

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieure et de la recherche scientifique

Université Saad Dahlab

Faculté des sciences

Département de chimie



Mémoire présenté :

en vue de l'obtention du diplôme de Master

CHIMIE DES PRODUITS NATURELS

CHEREF Akila

MEZIANI Nawel

Etude de l'activité antiradicalaire de l'oxyde de graphène réduit par des extraits de plantes

Soutenu le 12 juillet 2023 devant les membres du jury

Mr BOUTOUMI Hocine	Professeur	Président
Mr ZAHY Mohamed Reda	MCB	Examineur
Mme TOUAFEK Ouassila	MCA	Promotrice

Année universitaire : 2022/2023

Résumé

Le graphène, grâce à ses propriétés électroniques et mécaniques exceptionnelles, est crucial dans le développement de technologies avancées comme l'électronique flexible. De manière similaire, l'oxyde de graphène, en raison de sa surface chimiquement réactive, trouve une importance significative en catalyse, capteurs, et applications biomédicales. Ces matériaux ouvrent des perspectives novatrices, stimulant l'innovation scientifique et technologique dans divers domaines.

La réduction chimique de l'oxyde de graphène, réalisée avec des agents réducteurs tels que l'hydrazine ou le borohydrure de sodium, vise à éliminer les groupes oxygénés, restaurer la structure du graphène et moduler les propriétés du réduct en fonction des applications souhaitées.

Notre objectif principal est la réduction de l'oxyde de graphène ainsi que l'évaluation de l'activité antiradicalaire du rGO obtenus en utilisant des extraits de plantes.

La réduction de l'oxyde de graphène est réalisée par la vitamine C et trois extraits obtenus de l'espèce *Satureja calamintha*, appartenant à la famille *Lamiaceae*. Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes, ainsi que, l'activité antioxydante des différents extraits sont déterminés.

Les différents échantillons de l'oxyde de graphène réduit (rGO) sont caractérisés par l'analyse spectroscopie IR-FT et DRX.

L'étude de l'activité antiradicalaire de l'oxyde de graphène (GO) et l'oxyde de graphène réduit (rGO) est réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus montrent que l'oxyde de graphène réduit par la vitamine C présente l'activité la plus élevée, avec un IC_{50} égale 0.35 mg/ml.

Mots-clés : Activité antiradicalaire, Oxyde de graphène réduit, *Satureja calamintha*, IR-FT, DRX

Abstract

Graphene with its exceptional electronic and mechanical properties, is crucial in the development of advanced technologies such as flexible electronics. Similarly, graphene oxide, due to its chemically reactive surface, holds significant importance in catalysis, sensors, and biomedical applications. These materials offer innovative prospects, stimulating scientific and technological innovation across various fields.

The chemical reduction of graphene oxide, using reducing agents like hydrazine or sodium borohydride, aims to eliminate oxygen-containing groups, restore the graphene structure, and tailor the properties of the reduced graphene oxide (rGO) for specific applications.

Our primary objective is the reduction of graphene oxide and the assessment of the antiradical activity of the obtained rGO using plant extracts. Reduction is carried out using vitamin C and three extracts from the *Satureja calamintha* species of the Lamiaceae family. Total polyphenol and flavonoid content, along with the antioxidant activity of the extracts, are determined.

The various reduced graphene oxide (rGO) samples are characterized through IR-FT spectroscopy and X-ray diffraction (DRX) analysis. The study of the antiradical activity of graphene oxide (GO) and reduced graphene oxide (rGO) is conducted using the DPPH free radical trapping method. The results indicate that vitamin C-reduced graphene oxide exhibits the highest activity, with an IC₅₀ value of 0.35 mg/ml.

Keywords: Antiradical activity, Reduced graphene oxide, *Satureja calamintha*, IR-FT, DRX.

ملخص

تحظى الغرافين بأهمية كبيرة في تطوير التقنيات المتقدمة مثل الإلكترونيات المرنة بفضل خصائصها الإلكترونية والميكانيكية الاستثنائية. بالمثل، يكتسب أكسيد الغرافين أهمية كبيرة في مجالات مثل التحفيز الحفازي والاستشعار والتطبيقات الطبية بفضل سطحه الكيميائي النشط. يفتح هذان المادتان آفاقاً مبتكرة، محفزين الابتكار العلمي والتكنولوجي في مجموعة متنوعة من المجالات.

يهدف هدفنا الرئيسي إلى تقليل أكسيد الغرافين وتقييم النشاط المضاد للأكسدة للغرافين المخفض باستخدام مستخلصات نباتية. يتم تحقيق تقليل أكسيد الغرافين باستخدام فيتامين C وثلاثة مستخلصات مستخلصة من نوع *Satureja calamintha* ، التي تنتمي إلى عائلة *Lamiaceae*. يتم تحديد تراكيز البوليفينولات الكلية والفلافونويدات، بالإضافة إلى نشاط الأكسدة للمستخلصات المختلفة.

يتم توصيف العينات المختلفة من الغرافين المخفض (rGO) باستخدام تحليل الأشعة تحت الحمراء بالتحليل البلوري بواسطة الأشعة السينية (DRX). يتم إجراء دراسة لنشاط الأكسدة لأكسيد الغرافين (GO) والغرافين المخفض (rGO) باستخدام طريقة اصطياد الجذر الحر DPPH. تشير النتائج إلى أن أكسيد الغرافين المخفض بواسطة فيتامين C يظهر أعلى نشاط، بتركيز مثبط للنصف (IC50) يساوي 0.35 ملغ/م.

كلمات مفتاحية: نشاط مانع للجذور الحرة، أكسيد الغرافين المخفض، *Satureja calamintha*، تحليل الأشعة تحت الحمراء بالتحليلية الحمراء، (DRX) تحليل الأشعة السينية

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à ALLAH pour sa guidance infinie tout au long de notre projet de fin d'études.

Au terme de ce travail,

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers notre chère promotrice Mme TOUAFEK O. maitre de conférences à l'université Blida 1, pour son suivi et son énorme soutien tout au long de la réalisation de ce travail, pour le temps qu'elle a offert et pour son précieuse aide qu'elle nous a fournie.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mr Boutoumi, professeur à l'université Blida 1 qui a eu l'amabilité d'accepter d'être le président du jury, nous vous exprimons nos profondes reconnaissances.

Nos remerciements vont également à Mr Zahi, maitre de conférences à l'université Blida 1, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Nous adressons également nos vifs remerciements à Mme TOUAFEK N. maitre de conférences à l'école nationale supérieure de biotechnologie « Taoufik Khaznadar », Constantine, de nous avoir donné l'occasion de travailler sur ce sujet, en synthétisant l'oxyde de graphène (GO) au niveau de son laboratoire.

Nous ne laisserons pas passer cette occasion sans remercier tous les enseignants et le personnel de l'université Saad Dahlab et en particulier ceux du département de chimie, pour leur aide, leurs précieux conseils et l'intérêt qu'ils portent à notre formation.

Enfin, nous tenons à exprimer nos remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de ce modeste travail.

Dédicaces

Avec l'aide d'Allah le tout Puissant, Je dédie ce modeste travail :

A mes piliers d'amour, sources constantes d'encouragement, de soutien, de confiance et d'affection, mes chers parents.

A mon frère Mohamed et mes sœurs khaoula et Oumaima. A mes amies kenza et Aicha.

Pour leur aides et support dans les moments difficiles.

A mon cher cousin Amir. A toute ma famille.

A tous mes collègues de promotion 2023

-AKILA -

Dédicaces

Je dédie ce travail :

À l'étoile lumineuse qui éclaire mon chemin, je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance envers toi, ma mère, pour ton amour inconditionnel et tes innombrables sacrifices.

Au pilier central sur lequel je m'appuie, merci du fond du cœur, mon cher père, pour ton soutien indéfectible tout au long de ma vie.

À mes frères et sœurs, Mohand-said, Abdelhak, Imen et Ferial, avec qui j'ai partagé douceurs et amertumes, je vous remercie pour vos encouragements tout au long de ce parcours académique.

À mes grands-parents et à toute ma famille.

- Nawel -

Table de matière

Résumé.....	
Abstract.....	
ملخص.....	
Liste des tableaux.....	
Liste des figures.....	
Abréviations.....	
Introduction générale	1
CHAPITRE I : GENERALITIES SUR LE GRAPHENE ET SES DERIVES.....	
1.1 Introduction.....	3
1.2 Structure de graphène et de ses dérivés	4
1.3 Méthodes de synthèse du graphène	4
1.3.1 Synthèse épitaxiée sur le carbure de silicium	5
1.3.2 Dépôt chimique en phase vapeur (CVD).....	5
1.3.3 Synthèse organique	6
1.3.4. Exfoliation mécanique	6
1.3.5. Exfoliation électrochimique.....	7
1.3.6. Exfoliation Chimique.....	8
1.4. Propriétés physico-chimiques du graphène	8
1.4.1. Propriétés de conduction électrique	10
1.4.2 Propriétés de résistance mécanique	10
1.4.3. Propriété de transparence optique.....	10

Table de matière

1.4.4. Propriétés de la conductivité thermique.....	11
1.4.5. Propriétés électroniques	11
1.5. Structure d'oxyde de graphène	11
1.6. Méthodes de synthèse de d'oxyde de graphène (GO).....	12
1.6.1. Méthode de Brodie.....	12
1.6.2. Méthode de Staudenmaier	12
1.6.3. Méthode de Hummer	13
1.6.4. La méthode de Tour.....	14
1.7.1 Propriétés physico-chimiques du GO	14
1.8 Méthodes de synthèse de l'oxyde de graphène réduit	14
1.8.1. Synthèse d'oxyde de graphène réduit par la méthode chimique (C-RGO)	14
1.8.2. Méthodes de synthèse verte de l'oxyde de graphène réduit (rGO).....	15
1.8.2.1. Méthode à base de biomasse.....	15
1.8.2.2. Méthode à base d'extraits de plantes.....	15
1.8.2.3. Méthode à base de bactéries	15
1.8.2.4. Méthode à base d'électrochimie.....	16
1.8.2.5. Méthode d'exfoliation mécanique.....	16
1.8.2.6. Méthode à base de micro-ondes.....	16
1.8.2.7. Méthode d'irradiation laser	16
1.9. Méthode de Caractérisation du graphène et ses dérivés	16
1.9.1 Analyse par diffraction des rayons X (XRD)	16
1.9.2 Analyse FTIR.....	17

Table de matière

1.9.3Spectroscopie ultraviolet-visible (UV-Vis)	18
1.10.Activité biologique du graphène et ses dérivés.....	19
1.10.1..Activité antioxydante	21
1.10.2Activité antibactérienne	21
1.11.Application du graphène et ses dérivés.....	23
1.11.1Dans le domaine médical, biomédicale et pharmaceutique.....	23
1.11.1.1.Administration de médicaments gènes et traitement du cancer.....	23
1.11.1.1.2.Administration de médicaments	23
1.11.1.1.3Traitement du cancer	26
1.11. 1.1.4.Biodétection et bioimagerie	27
CHAPITRE II : RECHERCHE BIBIOGRAPHIQUE SUR L'ESPECE SATUREJA CALAMINTHA..	
2.1. Présentation de la famille des lamiacées	28
2 .2..Présentation du genre <i>satureja</i>	28
2.2.1..Description botanique et répartition géographique.....	28
2.2.2.Présentation du genre <i>Satureja</i>	29
2.2 .3.Composition chimique du genre <i>Satureja</i>	30
2.2.4. Propriétés biologique du genre <i>Satureja</i>	30
2.3.Présentation de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	31
2.3.1Description botanique et répartition géographique de l'espèce <i>Satureja calamintha</i> ...	31
2.3.2 Classification dans la systématique botanique.....	32

Table de matière

2.3.3. Composition chimique de <i>Satureja Calamintha</i>	32
3/Étude réalisée sur l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	33
3.1 Matériel végétal	33
3.2 Préparation des extraits	33
3.2.1 Préparation de l'extrait aqueux par reflux	33
3.2.2 Préparation des extraits par macération	33
3.2.3 Préparation de l'extrait hydro-méthanolique	33
3.2.4 Préparation de l'extrait butanolique.....	33
3.3. Calcul du rendement de l'extraction.....	35
3.4. Dosage des polyphénols totaux des extraits (EAq, EHM et EBU).....	35
3.5. Dosage des flavonoïdes totaux des extraits (EAq, EHM et EBU).....	37
3.6. Évaluation de l'activité anti-oxydante	39
3.6.1. Protocole expérimental.....	39
3.6.2. Résultats de l'activité antioxydante pour les trois extraits EAq, EHM et EBU.....	40
3.7 Étude réalisée sur l'oxyde de graphène.....	43
3.7.1 Calcul du rendement	44
3.8. Caractérisation des échantillons de l'oxyde de graphène et ses dérivés.....	44
3.8.1. Analyse FTIR.....	44
3.8.2. Analyse DRX.....	47
Étude de l'activité anti-radicalaire.....	49
Conclusion générale.....	53
Références Bibliographiques	54

Liste des tableaux

Tableau I. 1 : Propriétés physico-chimiques du graphène.....	9
Tableau I. 2 : Activité antibactérienne des GON affichant un diamètre d'inhibition de croissance en mm.....	22
Tableau I. 3 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) (en µg/100 µL) de GON et du standard ciprofloxacine.....	23
Tableau II. 1: Localisation géographique de quelques espèces appartenant au genre <i>Satureja</i>	29
Tableau II. 2 : Nom vernaculaire : Nepta, Sariette,tourete.....	32
Tableau III.1 : Aspect, couleur et rendement de différents extraits	35
Tableau III.2 : Taux de polyphénols existant dans les extraits (EAq, EHM et EBU) de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	37
Tableau III.3: Taux des flavonoïdes existant dans les extraits (EAq, EHM et EBU) de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	39
Tableau III.4 : Pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAq, EHM et EBU et du standard l'acide ascorbique (Vit C) ..	40
Tableau III.5: Valeurs IC50 et ARP des trois extraits EAq, EHM et EBU et du standard VitC.	42
Tableau III.6: Rendement des différents extraits	44
Tableau III.7 : Pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des produits Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO, VitC-rGO et GO	50
Tableau III.8: Valeurs IC50 et ARP du GO et rGO (Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO, VitC-rGO et GO).....	51

Liste des Figures

Figure I. 1 : Résumé graphique.....	4
Figure I.2 : Structure de GO et de rGO	4
Figure I.3 : Méthode ascendante (Bottom-up) et descendante (Top-down).....	5
Figure I.4 :Synthèse organique du graphène à partir de 10,10'-dibromo-9,9'-bi anthracène	6
Figure I.5 : Schéma présentant l'exfoliation mécanique	7
Figure I.6: Mécanisme de l'exfoliation électrochimique.....	7
Figure I.7: Les étapes de l'exfoliation chimique	8
Figure I.8: Schéma représentatif de la structure de GO.....	12
Figure I.9: Oxydation du graphite en graphène oxydé	13
Figure I.10: Représentation schématique de la méthode HU	13
Figure I.11: Photos numériques des matériaux.....	15
Figure I.12: Illustration des étapes de synthèse de l'oxyde de graphène réduit chimiquement.	17
Figure I.13: Modèles XRD de GO et rGO.....	18
Figure I.14 : Spectres FTIR de GO et rGO.....	19
Figure I.15: Spectres UV des deux matériaux	20
Figure I.16: Activité antibactérienne contre diverses souches bactériennes avant et après le chargement des GON.....	21
Figure I.17: Représentation schématique de l'encapsulation de DOX dans le conjugué NGO-PEG avec un anticorps anti-CD20.	22
Figure I.18: Représentation schématique de la synthèse de complexes GO-PEI-ADN par le biais d'interactions électrostatiques.....	24
Figure I.19 : Représentation schématique de l'encapsulation de DOX dans le conjugué NGO-PEG avec un anticorps anti-CD20	25
Figure I.20 : Représentation schématique de la synthèse de complexes GO-PEI-ADN par le	

Liste des Figures

biais d'interactions électrostatiques.....	26
Figure I.21 : illustration schématique	31
Figure II.1 : Photo de l'espèce de <i>Satureja calamintha</i>	34
Figure III.1 : Protocole d'extraction des métabolites secondaires de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	37
Figure III.2 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	39
Figure III.3 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	41
Figure III.4 : Courbes de pourcentage d'inhibition du DPPH des trois extraits EAq, EHM et EBU et du standard Vit C.	42
Figure III.5 : Histogramme des valeurs IC50 des trois extraits (EAq, EHM et EBU) et du standard Vit C.	42
Figure III.6 : Histogramme des valeurs ARP des trois extraits (EAq, EHM et EBU) et du standard Vit C.	42
Figure III.7 et III.8 :GO et rGO.....	43
Figure III.9 Spectres FTIR de Aq-rGO, Vit c r-Go et Go	45
Figure III.10 :Spectres FTIR de Hm- rGO, Vit c – rGO et GO	45
Figure III.11 : Spectres FTIR, Bu-rGO, VitC-rGO et Go	45
Figure III.12 : Spectres FTIR de Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO et GO	46
Figure III.13 : Spectre de DRX de l'Oxyde de Graphène.....	47
Figure III.14 : Spectres de DRX de Bu-rGO.....	47
Figure III.15 : spectre de DRX de HM-r GO	48
Figure III.16 : spectre de DRX de Aq- r GO.....	48.
Figure III.17 : Spectre de DRX du VitC-rGO.....	49
Figure III.18 :Mécanisme de capture du radical libre DPPH en molécule DPPHH en présence d'antioxydant	49
Figure III.19 : Courbes de pourcentage d'inhibition du DPPH des <i>quatre</i> produits Aq-RGO, Bu-RGO, HM-RGO et VitC-RGO	50

Liste des Figures

Figure III.20: Histogramme des valeurs IC50 du rGO (Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO et VitC-rGO).	51
Figure III.21: Histogramme des valeurs ARP des quatre produit Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO et VitC-rGO	52

Abréviations

Abs	Absorbance
ADN	Acide Désoxyribonucléique
BN	Nitruure de bore
CVD	Dépôt chimique en phase vapeur
DPPH	2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle
Eaq	Extrait aqueux
EBu	Extrait butanolique
Ehm	Extrait hydro-méthanolique
FC	Folin-Ciocalteu
FMO	Frontier Molecular Orbitals
GO	Oxyde de graphène
IC50	Concentration inhibitrice de 50 %
Inh	Inhibition
PEG	Polyéthylène Glycol
RGO ou rGO	Oxyde de graphène réduit
UV	Ultra-violet
IR	Infrarouge
DRX	Diffraction des rayons X

Introduction générale

Parmi les substances organiques disponibles dans le monde, le carbone est considéré comme l'élément que l'on trouve en abondance. L'Afrique occupe la première place dans la liste où le graphite arrive en tête en termes de disponibilité. Les nanomatériaux et la science associée permettent la synthèse, la fonctionnalité et la caractérisation de tous les métaux. [1]. La disponibilité abondante fait du carbone la principale source d'autres formes de carbone, à savoir le graphène, l'oxyde de graphène, le noir de carbone, le diamant.....

En 1986, Boehm et ses collaborateurs ont introduit le terme « graphène » à partir du graphite, le suffixe -ène désignant les hydrocarbures aromatiques polycycliques [2]. Non seulement le mot graphène provient du graphite, mais il est également généré physiquement à partir du graphite dans sa version monocouche. Au début du XIXe siècle, le chercheur allemand Friedrich Hofmann a été témoin de l'exfoliation et de l'intercalation du graphite avec des acides. Après de nombreuses années de recherches supplémentaires, en 2004, le graphène a attiré l'attention du monde entier [3,4].

Le graphène est un atome de carbone lié sp^2 sous forme de feuille plane qui est densément compacté comme un réseau en nid d'abeille cristallin. Son dérivé, l'oxyde de graphène (GO) (le graphite traité par la méthode d'oxydation) est un matériau prometteur en raison de ses excellentes propriétés conductrices et de sa grande surface spécifique.

Le graphène et l'oxyde de graphène ont attiré l'attention des chercheurs en raison de leurs excellentes et uniques propriétés optiques, électroniques, chimiques et mécaniques [5]. "Comment l'oxyde de graphène réduit peut-il améliorer l'efficacité antioxydante des extraits de plantes *Satureja calamintha* ?"

L'objectif de notre travail est la réduction d'oxyde de graphène ainsi que d'évaluer l'activité antioxydante de l'oxyde de graphène réduit en utilisant des extraits de plantes.

Dans cette étude, des extraits de plantes de *Satureja calamintha*, une espèce appartenant à la famille *Lamiaceae*, seront utilisés pour réduire l'oxyde de graphène. L'activité antioxydante sera évaluée en utilisant la méthode de piégeage du radical libre le DPPH

Ce mémoire comporte deux parties :

- La partie théorique contient deux chapitres ;

Le premier chapitre contient des données bibliographiques sur le graphène et ses dérivés, leurs méthodes de synthèse, les propriétés physico-chimiques et les applications du graphène et ses dérivés, l'oxyde de graphène (GO) et l'oxyde de graphène réduit (rGO).

Introduction générale

Le deuxième chapitre est consacré à une étude bibliographique, qu'il contient la description botanique, la composition chimique et l'activité biologique de l'espèce *Satureja calamintha*.

La partie expérimentale qui renferme la description des travaux et la discussion des résultats, elle contient dans une première partie, le protocole de la préparation des extraits à partir de l'espèce *Satureja calamintha*, le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits obtenus par le test de DPPH. Et la deuxième partie, la réduction de l'oxyde de graphène (GO) par la vitamine C et les extraits de *Satureja calamintha*, ainsi que, l'étude de l'activité anti-radicalaire de l'oxyde de graphène (GO) et l'oxyde de graphène réduit (rGO).

A la fin de ce mémoire, une conclusion générale résume les résultats obtenus au cours de cette étude.

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

Introduction

L'oxyde de graphène et ses dérivés ont suscité un intérêt considérable dans la communauté scientifique ces dernières années. En tant que matériau 2D, l'oxyde de graphène offre une combinaison unique de propriétés électriques, optiques, thermiques et mécaniques, qui le rendent extrêmement prometteur pour une large gamme d'applications allant de l'électronique flexible à la catalyse, en passant par les dispositifs optoélectroniques et les matériaux composites [6].

L'oxyde de graphène est un matériau dérivé du graphène, une seule couche d'atomes de carbone arrangés en une structure hexagonale. L'oxyde de graphène est obtenu en introduisant des groupes oxygène fonctionnels sur la surface du graphène, ce qui permet de conserver la structure en feuillet du graphène tout en modifiant ses propriétés physico-chimiques

Les propriétés de l'oxyde de graphène et de ses dérivés dépendent étroitement de la méthode de synthèse et des conditions expérimentales utilisées. Différentes méthodes ont été développées pour obtenir de l'oxyde de graphène, notamment l'oxydation chimique du graphène, l'oxydation thermique du graphène et la réduction chimique de l'oxyde de graphène. Chacune de ces méthodes permet de contrôler la composition chimique, la taille des feuilles, l'épaisseur, la pureté et les propriétés fonctionnelles du matériau final [8].

Les propriétés uniques de l'oxyde de graphène et de ses dérivés en font des candidats intéressants pour de nombreuses applications. En raison de sa grande surface spécifique, de sa conductivité élevée et de sa capacité à interagir avec d'autres matériaux, l'oxyde de graphène est largement utilisé dans les dispositifs électrochimiques tels que les supercondensateurs, les batteries lithium-ion et les cellules solaires. De plus, sa transparence optique, sa flexibilité et sa conductivité permettent son utilisation dans les écrans flexibles, les capteurs et les dispositifs électroniques souples [9].

Dans cette étude, nous nous intéresserons aux différentes méthodes de synthèse de l'oxyde de graphène, ainsi qu'à ses propriétés physiques et chimiques. Nous examinerons également les applications actuelles et émergentes de l'oxyde de graphène et de ses dérivés, en mettant en évidence les avantages et les défis associés à chaque domaine d'application. Enfin, nous discuterons des perspectives futures pour le développement et l'utilisation de l'oxyde de graphène dans divers secteurs technologiques [1].

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

I.1. Structure de graphène et de ses dérivés

Le graphène est constitué d'atomes de carbone hybridés sp^2 hexagonaux disposés dans une structure bidimensionnelle sur une grande surface de part et d'autre de l'axe du plan [11]. Les matériaux de la famille des graphènes comprennent plusieurs types : les couches de graphène, les nano feuilles de graphène, l'oxyde de graphène et l'oxyde de graphène réduit. Par comparaison avec les nanotubes de carbone à base de graphène, ces matériaux peuvent fournir plus de surface, en raison de la formation des liaisons hydrogène entre les groupes fonctionnels polaires sur la surface de l'oxyde de graphène et les molécules d'eau [12], une suspension colloïdale stable peut être atteinte, suggérant des avantages pour le potentiel biomédical.

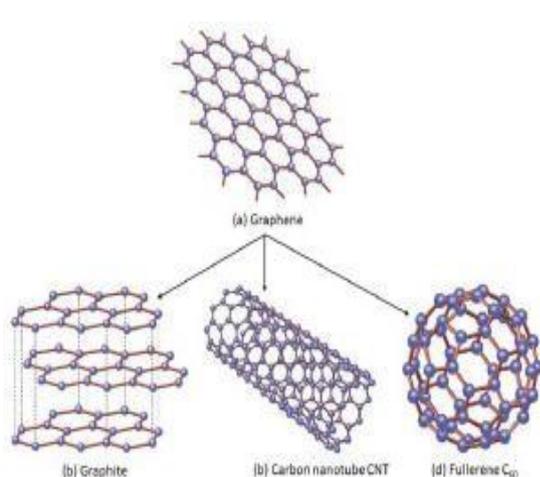


Figure I. 1: Résumé graphique [13]

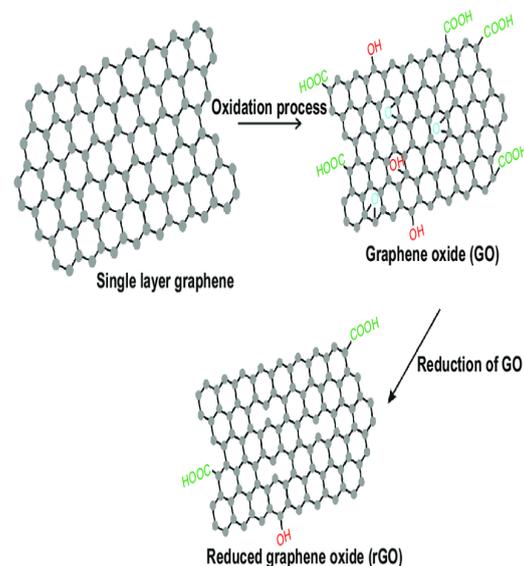


Figure I.2 : structure de GO et rGO [13]

I.1 Méthodes de synthèse du graphène

En général, les méthodes de synthèse pour la préparation de matériaux liés au graphène peuvent être divisées en deux principales catégories : ascendante et descendante [14].

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

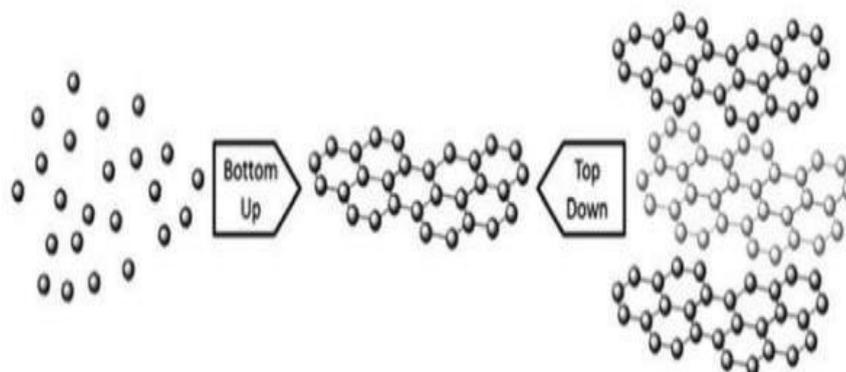


Figure I. 3 : Méthode ascendante (Bottom-up) et descendante (Top-down) [13].

Parmi ces méthodes, nous pouvons citer les suivantes :

I.1.1.Synthèse épitaxiée sur Carbure de silicium

C'est une technique qui permet d'obtenir du graphène à partir de la sublimation du carbure de silicium à haute température et très basse pression. C'est à dire qu'en chauffant le matériau entre 1000°C et 1500°C dans un système ultraviolet, il y a évaporation de silice laissant ainsi une surface riche en atomes de carbone qui se réorganiseront en une couche de graphène.

Étant donné que le matériau de base utilisé est de même type que le matériau désiré, ce processus est appelé hétéroépitaxie [12] le graphène sur la face a été vite exploité. En 2008, Lin et al [15] présentent des transistors RF intégrés à grande échelle avec fréquence de coupure record de 100 GHz.

I.1.2.Dépôt chimique en phase vapeur (CVD)

La deuxième technique implique la création de couches de graphène. En subissant un dépôt en phase chimique, des hydrocarbures comme le méthane, l'acétylène ou l'éthylène sont produits.

La vapeur est chauffée à des températures généralement comprises entre 700 et 900°C.

Le cobalt (Co) a une surface formée en mélangeant du platine, du fer, de l'iridium et du ruthénium. Le nickel et le cuivre sont deux éléments qui partagent une liaison chimique commune

Les propriétés des métaux sont similaires à celles des molécules d'hydrocarbures, ce qui conduit à la

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

décomposition du carbone atomique et à la recristallisation ultérieure du graphène. Wu et al [17] ont démontré en 2012 que le graphène CVD peut réaliser des transitions RF avec des fréquences de coupure allant jusqu'à 300 GHz pour les canaux courts, soutenant davantage l'utilisation du graphène dans l'électronique haute fréquence

I.1.3. Synthèse organique

Étant donné que les nanostructures de graphène peuvent être considérées comme de grosses molécules aromatiques, des nanostructures de graphène ont été formées à partir de différents petits blocs de construction moléculaires aromatiques à partir de 10,10'-dibromo-9,9'-bisanthracène en tant que précurseur on suivant les deux étapes. assembler [18].

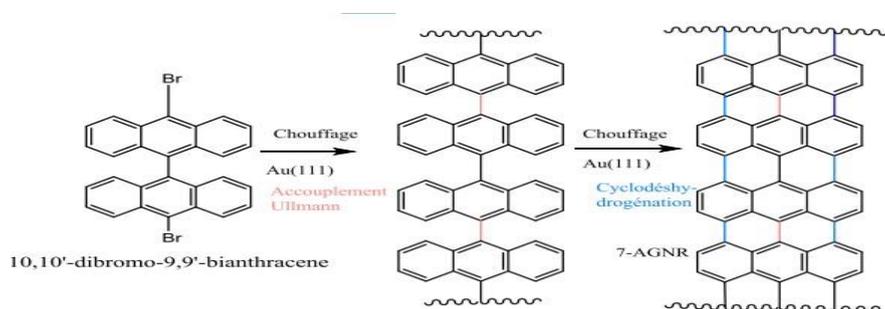


Figure I. 4 : Synthèse organique du graphène à partir de 10,10'-dibromo-9,9'-bi anthracène [19].

I.3.4. Exfoliation mécanique

L'exfoliation mécanique consiste à séparer une feuille de graphène du graphite de pyrolyse en vrac hautement orienté. La faible interaction de Van der Waals entre les feuilles de graphène permet d'isoler une seule couche de graphène avec une méthode simple utilisant du ruban adhésif. Cette méthode consiste à coller puis décoller une couche de ruban adhésif sur du graphite pour arracher plusieurs couches de graphène. En répétant ce processus plusieurs fois, on obtient du graphène monocouche. Bien que le graphène obtenu par cette méthode soit d'excellente qualité, le manque de reproductibilité du procédé et la petite taille des échantillons de graphène, autour de 100 microns, empêchent une production à l'échelle industrielle.

L'exfoliation mécanique est largement utilisée dans les laboratoires pour étudier les propriétés de base du graphène ou pour fabriquer des dispositifs optiques et électroniques nécessitant un graphène de haute qualité. Notons enfin que cette méthode est également utilisée pour produire d'autres cristaux bidimensionnels comme le nitrure de bore (BN) et le sulfure de molybdène (MoS₂) [20]

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

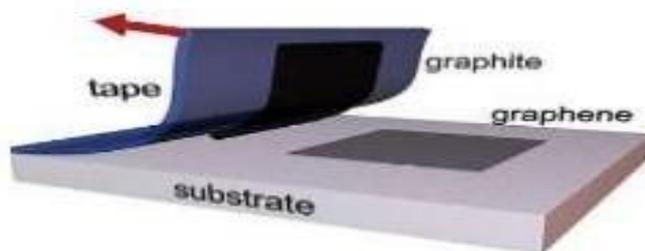


Figure 5 : Schéma présentant l'exfoliation mécanique [19].

I.3.5. Exfoliation électrochimique

L'exfoliation électrochimique du graphène peut être réalisée par un procédé électrochimique en milieu aqueux utilisant des solutions conductrices ioniques (électrolytes) telles que $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Na_2SO_4 , K_2SO_4 , FeSO_4 , NaNO_3 , NaClO_4 , KOH , etc. et une alimentation en courant continu sont utilisés pour induire des changements structurels et une exfoliation des précurseurs de graphène utilisés comme électrodes Graphène en couche L. Cette méthode offre la possibilité d'utiliser des vitesses de production relativement rapides, un potentiel de production à volume élevé à température ambiante/pression atmosphérique et des produits chimiques respectueux de l'environnement en éliminant les agents oxydants/réducteurs agressifs. [18].

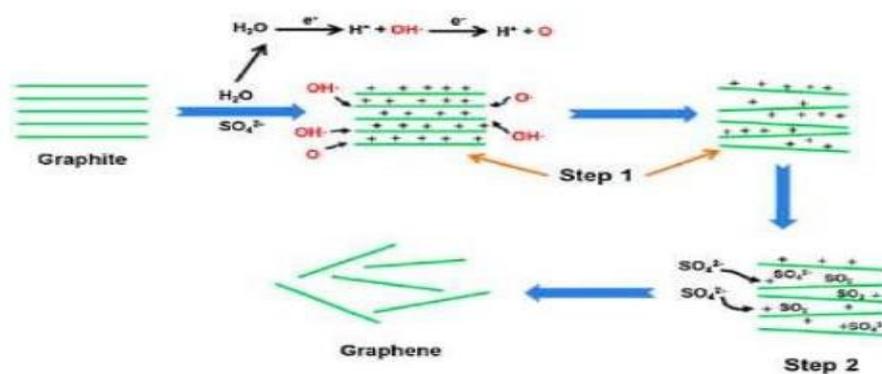


Figure I.6: Mécanisme de l'exfoliation électrochimique [21].

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

1.3.6 Exfoliation chimique

Aussi connue sous le nom de méthode Hummer modifiée, cette technique consiste à préparer une suspension colloïdale de graphène. Cette dernière se fait en plusieurs étapes (oxydation, purification, extraction, filtration et réduction). L'étape d'oxydation produit de l'oxyde de graphène à partir de graphite, d'un oxydant et d'un acide. Cela produit des groupes hydroxyde, époxy, carbonyle et carboxyle sur le substrat (graphite).

L'oxyde de graphite est purifié en oxyde de graphène à l'aide d'une étape de centrifugation (3000 tr/min) et d'une solution acide (mélange de piranha). Après cette étape, l'oxyde de graphène (GO) est extrait et filtré à l'aide d'un filtre en cellulose. L'oxyde de graphène est suspendu et mis dans un bain d'eau pour obtenir la solution d'oxyde de graphène (GO).

Cette solution est filtrée et exposée à l'hydrazine pour obtenir de l'oxyde de graphène réduit (GR ou RGO). Le film obtenu est ensuite transféré sur un substrat (lame de verre ou de SiO₂). L'étape suivante consiste à éliminer la cellulose de l'échantillon. Le nombre de couches de carbone et, plus précisément, l'épaisseur du film de graphène résultant dépend de la concentration de la solution d'oxyde de graphène [14]

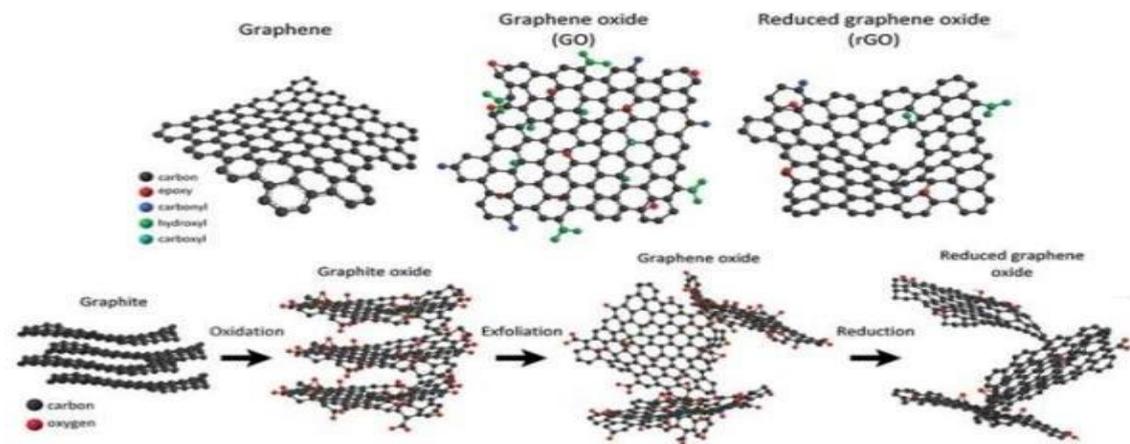


Figure I.7: Les étapes de l'exfoliation chimique. [19]

1.4. Propriétés physico-chimiques du graphène

Le graphène est une couche atomique. Une feuille bidimensionnelle (2D) d'atomes de carbone sp^2 . Il s'agit d'un nanomatériau aux propriétés intéressantes, résumées dans le tableau ci-dessous.

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

Tableau I. 1 : Propriétés physico-chimiques du graphène.

Propriétés	Valeurs	Références
Module de Young	1 (TPa)	[20]
Résistance mécanique	130 (MPa)	[20]
Conductivité thermique	$5 \cdot 10^3$ W/(m.K)	[21]
Conductivité électrique	$6 \cdot 10^3$ (S/cm)	[22]
Mobilité des charges	$2 \cdot 10^5$ (cm ² V ⁻¹ s ⁻¹)	[23]
Surface Spécifique	2600 (m ² /g)	[24]

Avec des propriétés physiques mesurées et prédites, il est facile de comprendre pourquoi

le graphène a été qualifié de « matériau miracle ». Une seule couche d'atomes de carbone, le graphène est le matériau le plus fin connu, mais il est imperméable aux gaz. [16] Plus résistant que l'acier (module de Young ~ 1 TPa). [18] Par ailleurs, la conductivité thermique du graphène à température ambiante (jusqu'à environ $5000 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$) est comparable à celle des faisceaux de nanotubes de carbone, ce qui en fait le deuxième conducteur thermique le plus connu. quelques diamants. . [23]

De plus, le graphène étant monocouche, il a une très grande surface théorique de $2630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, est presque transparent et n'absorbe que $\sim 2,3 \text{ \AA}$ de lumière blanche. [24] Le graphène a également présenté une excellente « flexibilité », récupérant ses propriétés électriques après pliage et dépliage. [25] .

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

1.4.1. Propriétés de conduction électrique

Les orbitales hybrides SP^2 reliant les atomes de carbone permettent un transport quasi balistique des électrons dans le graphène, avec des libres parcours moyens pouvant dépasser 1 micron à température ambiante et des mobilités électroniques de $\mu=200\,000\text{ cm}^2\text{ v}^{-1}\text{ s}^{-1}$

Lorsque le graphène est en suspension, tel les modes de transport permettent aux dispositifs électroniques tels que les transistors à base de graphène d'atteindre des vitesses de fonctionnement beaucoup plus élevées que les transistors à semi-conducteurs. Le graphène a une conductivité électrique intrinsèque très faible, mais elle n'est pas nulle. Cependant, le niveau de Fermi peut être modifié en appliquant un champ électrique, de sorte que le matériau est dopé de type p ou de type n en fonction de la polarisation appliquée. Cela rend le graphène très conducteur électroniquement, dépassant parfois celui du cuivre à température ambiante [20].

1.4.2. Propriétés de résistance mécanique

Le graphène a présenté un grand intérêt en raison de ces propriétés électronique, mais il est aussi tout à fait remarquable en ce qui concerne ses propriétés mécaniques. Ces propriétés découlent des liaisons covalentes qui sont formées entre les atomes de carbone, Les premières mesures sur les propriétés mécanique en été publiées en 2008, elles parlent d'une force de rupture de l'ordre de 40 nm^{-1} , le graphène a une excellente stabilité cela a été montré par la réalisation d'une membrane de graphène suspendu (sans la présence d'un substrat, ce qui affirme la stabilité de ce dernier, ce matériau est 100 fois plus résistant que l'acier. En plus de sa résistance mécanique il a la particularité d'être le matériau le plus élastique avec une élasticité égale à 0.5 tétra-pascal (TPA) donc il peut se plier puis déplier [22]

1.4.3. Propriété de transparence optique

Les propriétés optiques du graphène sont tout aussi fascinantes que les propriétés électroniques desquelles elles découlent. Il est nécessaire de noter que l'une des propriétés remarquables du graphène est sa transparence quasi-totale. En effet, une monocouche absorbe seulement 2,3%, i.e. transmet 97,7% de la lumière blanche, ce qui rend ce matériau très apprécié dans le domaine des substrats conducteurs transparents [28].

Par ailleurs, Nair et al. [9] ont montré que la transmission de la lumière diminuait de 2,3% pour chaque feuillet de graphène supplémentaire, information qui permet, théoriquement, de remonter au nombre de feuillets constitutifs d'un échantillon.

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

1.4.4. Propriétés de la conductivité thermique

Reconnu comme un cristal en deux dimensions, le graphène se distingue par sa conductivité thermique supérieure à celle du diamant. Sa capacité à ne pas interagir avec d'autres couches lui permet d'atteindre une conductivité thermique de 5000 W/m.K. De récentes découvertes ont démontré qu'une seule strate de graphène exfoliée sur du silicium peut maintenir une conductivité thermique excédant celle du cuivre, établissant le graphène comme le conducteur thermique le plus performant connu à ce jour.

Cette propriété offre un large éventail de possibilités dans le domaine de l'électronique, où la dissipation de la chaleur devient un enjeu majeur lors de la réduction de la taille des composants et de l'augmentation de leur densité. Les qualités thermiques exceptionnelles du graphène sont susceptibles d'améliorer significativement le contrôle de la chaleur [29]

1.4.5. Propriétés électroniques

Les propriétés électroniques du graphène sont également des applications exceptionnelles et prometteuses. Le graphène peut être comparé à un semi-conducteur, mais il peut aussi être comparé à un semi-métal. Le graphène, souvent appelé « semi-conducteur à gap nul », possède des porteurs de charge relativement mobiles car il n'y a pas de barrière énergétique à franchir entre les deux continus énergétiques. [26] Ainsi, les mobilités électroniques observées sont toujours dépendantes de la température, suggérant des valeurs maximales de l'ordre de 200 000 cm²/Vs à température ambiante pour le graphène monocouche quasi-parfait [30].

1.5. Structure d'oxyde de graphène

GO est dérivé de graphène avec différentes fonctionnalités d'oxygène. Dans GE, un atome d'oxygène se lie de manière covalente à un atome de carbone et passe de l'état hybride sp² à l'état hybride sp³ pour former GO. Dans le GO typique, le nombre d'atomes de carbone liés aux atomes d'oxygène dépasse le nombre d'atomes de carbone hybrides sp² intacts, modifiant les propriétés du graphène GO parent.

L'une des propriétés les plus importantes est l'hydrophilie. H. Capacité à dissoudre des colloïdes stables et à former des solutions aqueuses et non aqueuses. Le produit final du processus d'oxydation est de l'oxyde de graphite brun multicouches.

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

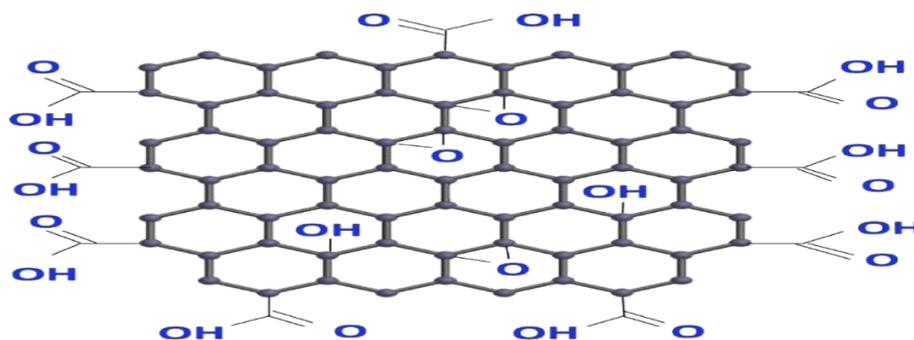


Figure I. 8: Schéma représentatif de la structure de GO [19].

1.6.Méthodes de synthèse de d'oxyde de graphène (GO)

La première synthèse de GO a été décrite par le baronnet Benjamin Collins Brodie (1859) dans une méthode connue sous le nom de "méthode de Brodie - réaction du graphite en vrac avec du chlorate de potassium (KClO_3) et de l'acide nitrique fumant (HNO_3+NO_2) [31].

Un historique détaillé de l'invention de GO avec différents réactifs fumant de l'acide nitrique, de l'acide sulfurique concentré et du chlorate de potassium avec permanganate de potassium, acide chromique, gazeux dioxyde de chlore, heptoxyde de dimanganèse est rapporté dans un livre intitulé Graphene oxide : Fundamentals and applications [32].

L' est synthétisé à partir de graphite par oxydation avec des oxydants puissants tels que le chlorate de potassium (KClO_3), le permanganate de potassium (KMnO_4) et le nitrate de sodium solide (NaNO_3) dans des milieux acides concentrés tels que l'acide nitrique (HNO_3) et l'acide sulfurique (H_2SO_4) . [32]

1.6.1.Méthode de Brodie

L'oxyde de graphène réduit aurait été synthétisé par Brodie plus tôt en 1859 en traitant une suspension de Gr et d'acide nitrique fumant avec du chlorate de potassium à 60°C pendant 4 jours [31]. Cette méthode n'a pas été aussi efficace, car elle n'a pas été réalisée en une seule étape et dans un seul récipient [32]. Le produit résultant, il l'a appelé acide graphique, qui est devenu plus tard connu sous le nom de GO.

Le procédé présente un risque d'explosion en raison de l'utilisation de KClO_3 et de sa lente récupération. Cependant, cette méthode conduit à la stratification de la couche de base de Gr en un pli G par oxydation [32].

1.6.2.Méthode de Staudenmaier

La méthode Staudenmaier (ST) utilisait du graphite exfolié et l'ajoutait dans un mélange d'acide nitrique

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

fumant ($\text{HNO}_3 + \text{NO}_2$) et de H_2SO_4 à température ambiante en utilisant KClO_3 comme oxydant. Figure I. 9 Dans cette recherche, il a été rapporté que la réaction d'oxydation s'accélérait avec ajout plus rapide de KClO_3 et utilisation de 25g de graphite[33].

Le prolongement de la méthode ST est faite en utilisant du graphite en poudre au lieu du graphite exfolié et a trouvé des temps de réaction plus longs par rapport à la méthode ST ; de plus, une autre méthode qui implique le HNO_3 concentré au lieu de nitrique fumant. [33].

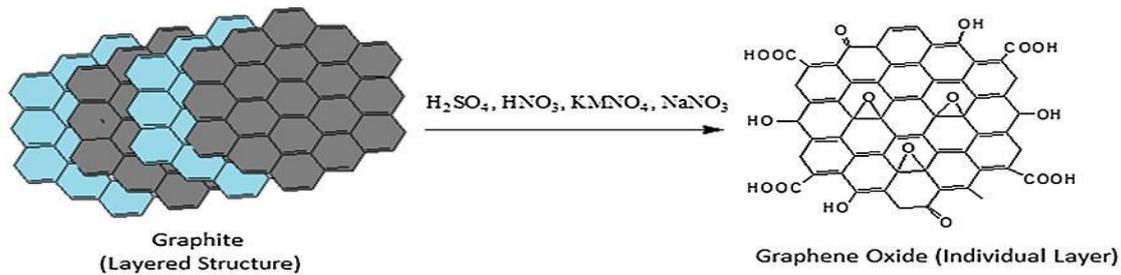


Figure I.9: Oxydation du graphite en graphène oxydé. [33]

1.6.3.Méthode de Hummer

Une tentative réussie de formation GO a été présentée par la méthode de Hummer HU.

Le H_2SO_4 concentré a été utilisé à la place du HNO_3 , et NaNO_3 et KMnO_4 a été utilisé dans cette méthode comme oxydant. • Le processus a été terminé en deux heures à une température inférieure à 45°C qui est en toute sécurité pour l'exécuter.

Une représentation schématique est illustrée à la Figure I. 10 La méthode HU est en effet bien meilleure et plus sûre que celle de Brodie et Les méthodes de Staudenmaier. [3

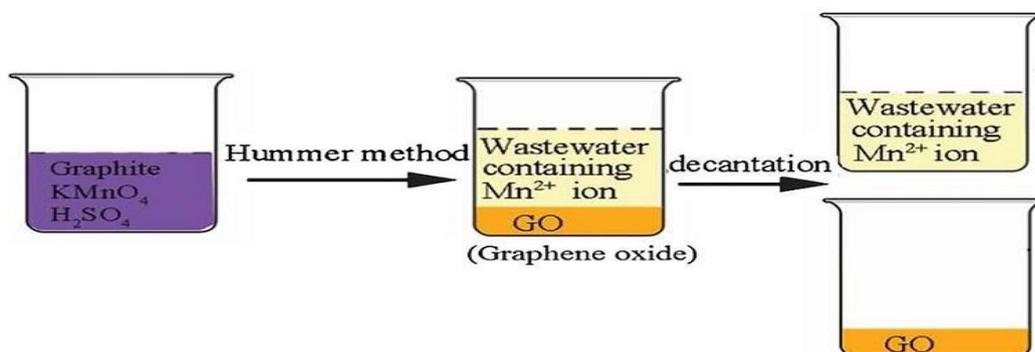


Figure I.10 : Représentation schématique de la méthode Hummer [34]

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

Ce protocole expérimental de la synthèse du GO par la méthode de Hummers est comme suit : Environ 1 g de poudre de graphite a été ajouté à 0,5 g de nitrate de sodium et d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) dans une fiole jaugée, et agité et baigné dans la glace pendant 30 minutes. Du permanganate de potassium (KMnO₄) a été progressivement ajouté à la solution sous agitation continue pendant 2 h, puis dilué avec 96 ml d'eau déminéralisée à une température élevée à 98 °C.

La réaction a été désactivée avec du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et la solution a été diluée. Rincer avec de l'acide chlorhydrique à 5 % (HCl) et de l'eau déminéralisée. Filtrer la solution à l'aide d'un système de filtration sous vide et sécher le précipité GO obtenu à 60 °C pendant 12 h. [35].

1.6.4. La méthode de Tour

Certaines modifications ont été apportées à Hummer, telles que l'utilisation d'une concentration élevée de KMnO₄ (2 fois) et l'utilisation d'un excès de H₂SO₄ et H₃PO₃ (environ 9 :1 en volume) pour l'oxydation de Gr sans NaNO₃. Cette modification, maintenant appelée Tour, permet d'éviter l'évolution de NO₂ et N₂O₄ qui sont toxiques et augmente le rendement du produit en introduisant un autre réactif, à savoir l'acide phosphorique H₃PO₃ [32].

1.7. Propriétés physico-chimiques du GO

Du fait de l'existence de sa structure d'empilement π - π , sa surface peut être amenée à interagir activement avec d'autres molécules similaires [36].

La disponibilité d'électrons π libres rend le graphène important dans interagissant avec les FMO (Frontier Molecular Orbitals) des molécules adjacentes lors de la réalisation de réactions électrophiles.

L'oxyde de graphène, étant moins hydrophobe, n'a que 30,7 ° comme angle de contact avec l'eau [31]. Avec le graphène les nanoparticules de platine pourraient servir de matériaux de support potentiels pour l'amélioration de la sensibilité dans capteurs de gaz. Les groupes fonctionnels et les défauts dans le graphène oxydé ont amélioré la mouillabilité et l'activité électrochimique qui pourrait être facilement utilisable pour des applications électrochimiques [38].

1.8. Méthodes de synthèse de l'oxyde de graphène réduit

L'oxyde de graphène (GO) a été synthétisé selon la méthode Hummer en utilisant le graphite obtenu dans le commerce [39, 40].

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

1.8.1. Synthèse d'oxyde de graphène réduit par la méthode chimique (C-RGO)

Dans la synthèse de l'oxyde de graphène réduit par la méthode chimique C-RGO, l'hydraté de l'hydrazine $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ est utilisé comme réducteur chimique. La réduction chimique est effectuée en utilisant le système de reflux.



Figure I. 11 : Photos numériques des matériaux [39]

1.8.2.1. Méthode à base de biomasse

Cette méthode utilise des matériaux biologiques, tels que les déchets agricoles, les coques de noix de coco ou les déchets de bois, pour produire de l'oxyde de graphène réduit. Les biomatériaux servent de source de carbone, tandis que des agents réducteurs naturels, tels que l'acide ascorbique ou l'acide hyaluronique, sont utilisés pour réduire l'oxyde de graphène. Cette approche est respectueuse de l'environnement et peut être mise à l'échelle pour une production commerciale [41].

1.8.2.2. Méthode à base d'extraits de plantes

Certains extraits de plantes contiennent des composés qui peuvent réduire l'oxyde de graphène. Par exemple, l'extrait de thé vert ou l'extrait de feuilles de mûrier blanc peuvent être utilisés comme agents réducteurs pour synthétiser l'rGO. Cette approche est respectueuse de l'environnement et offre une alternative verte aux méthodes conventionnelles [42].

1.8.2.3. Méthode à base de bactéries

Certaines bactéries, comme *Shewanella* sp. ou *Escherichia coli*, possèdent des capacités réductrices qui peuvent être exploitées pour réduire l'oxyde de graphène. Les bactéries peuvent réduire l'oxyde de graphène en utilisant des électrons provenant de leur métabolisme. Cette approche est considérée comme respectueuse de l'environnement et peut être utilisée pour synthétiser l'oxyde de graphène réduit à l'échelle du laboratoire [43].

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

1.8.2.4. Méthode à base d'électrochimie

Cette méthode utilise une électrode en graphite et un électrolyte pour réduire l'oxyde de graphène. L'application d'un potentiel électrique permet la réduction de l'oxyde de graphène, formant ainsi l'oxyde de graphène réduit sur l'électrode. Cette approche est respectueuse de l'environnement car elle ne nécessite pas de produits chimiques nocifs et peut être réalisée dans des conditions douces [44].

1.8.2.5. Méthode d'exfoliation mécanique

Cette méthode consiste à exfolier mécaniquement des flocons de graphite à l'aide d'une sonication ou d'un broyage pour obtenir de l'oxyde de graphène réduit. Aucun produit chimique n'est utilisé dans ce processus, ce qui en fait une méthode respectueuse de l'environnement [45].

1.8.2.6. Méthode à base de micro-ondes

Cette méthode utilise des micro-ondes pour réduire l'oxyde de graphène de manière rapide et efficace, sans avoir besoin de produits chimiques nocifs. Les micro-ondes génèrent une chaleur qui provoque la réduction de l'oxyde de graphène. Cette approche est considérée comme respectueuse de l'environnement car elle évite l'utilisation de solvants toxiques et réduit la consommation d'énergie [46].

1.8.2.7. Méthode d'irradiation laser

Cette méthode utilise un faisceau laser pour réduire sélectivement l'oxyde de graphène en oxyde de graphène réduit. L'irradiation laser provoque la décomposition de l'oxyde de graphène et la formation de liaisons carbone-carbone, conduisant à la réduction de l'oxyde de graphène. Cette méthode ne nécessite pas l'utilisation de produits chimiques et permet un contrôle précis de la réduction [47].

1.9. Méthode de caractérisation du graphène et ses dérivés

Les différentes techniques de caractérisation utilisées pour analyser le graphène et ses dérivés GO et rGO comprennent la diffraction des rayons X (XRD) (EDX), la spectroscopie infrarouge transformée de Fourier (FTIR), les images au microscope électronique à balayage (BEM) avec spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX) et des images au microscope électronique à transmission (TEM), l'ultraviolet-visible (UV), Raman [48].

1.9.1. Analyse par diffraction des rayons X (XRD)

Est une technique fiable pour la caractérisation morphologique de GO. Le motif, la forme et la cristallinité

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

de GO peuvent être évalués en utilisant cette analyse. En règle générale, GO montre de forts pics caractéristiques à 2θ valeurs de 10° , ce qui correspond au plan de réseau(001).

En raison de la répulsion électrostatique, l'intensité du pic est associée à la grande distance entre les feuillets G intercalaires issus de groupements fonctionnels électronégatifs. Ces groupes fonctionnels électronégatifs aidé à prévenir le réempilement des feuilles G dû aux interactions [49]. Les chercheurs ont

rappporté l'analyse des flocons de graphite Gr et de GO en utilisant le diffractomètre à rayons X avancé D8 de Bruker utilisant un rayonnement CuK monochromatique ($\lambda = 0,154 \text{ nm}$)[50, 51]. Des études antérieures ont examiné les modèles de flocons G et ALLEZ en utilisant XRD.

Il a été révélé à plusieurs reprises que le modèle de GO présentait un espacement $d = 0,961 \text{ nm}$, ont justifié la présence de groupements fonctionnels oxygénés comme une raison derrière la différence de ce modèle entre Gr et GO[52]. Cependant, Song et al. [53] ont rapporté que le modèle XRD de GO ne montrent pas de pics nets et présentent la configuration amorphe typique (Figure I.13).

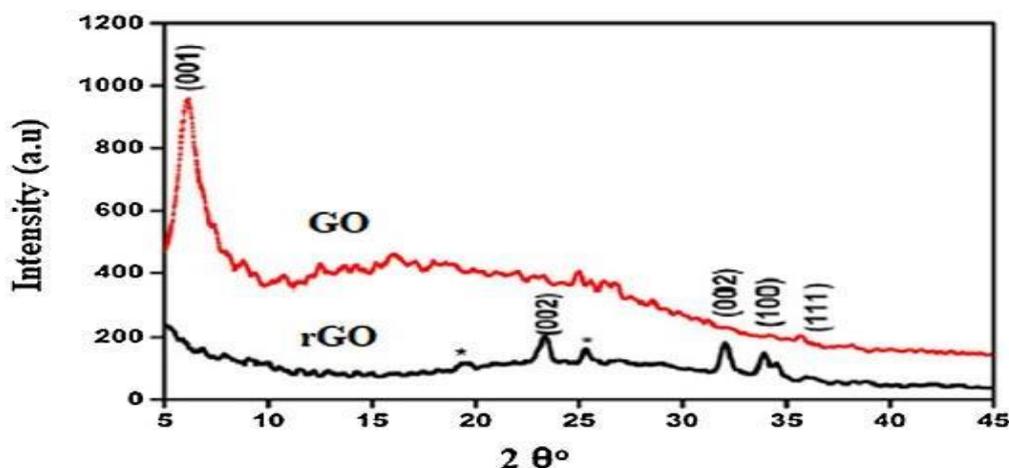


Figure I. 13 : Modèles XRD de GO et rGO][52]

Cependant, lors de la réduction de GO à rGO, le pic avec 2θ valeur de 10° disparaître pour donner $26,8^\circ$ et $42,7^\circ$, deux nouveaux sommets attribués aux plans (002) et (100) [54–56]. Ces pics étaient la preuve d'une réduction de G, qui survient en raison du réempilement des feuilles G. De plus, au moment de la réduction de GO, les fractions électronégatives oxygénées sont éliminées, ce qui conduit au réempilement des feuillets G attribuable aux – interactions [57].

1.9.2. Analyse FTIR

Le FTIR est une analyse efficace pour examiner les fractions fonctionnelles d'un matériau.[58]Gr, GO et

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

rGO peuvent être inspectés efficacement par les spectres FTIR. Monteserin et al, ont présenté l'analyse de Gr, GO et rGO à l'aide des spectres FTIR comme indiqué dans la Figure I.14.

On peut voir qu'aucune bande significative n'a été observée pour Gr, cependant, après le processus d'oxydation, plusieurs bandes caractéristiques ont été détectées en cas de GO [58–60].

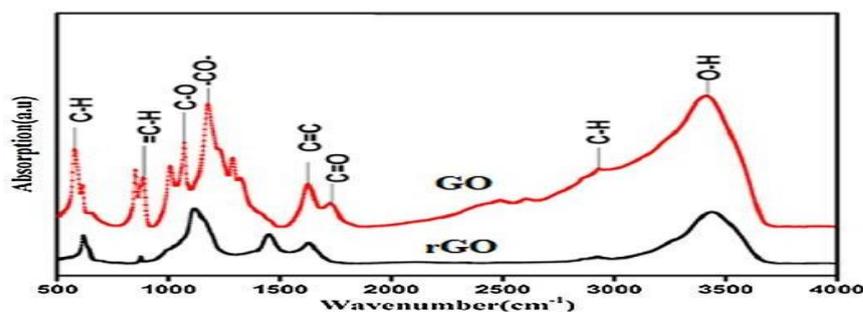


Figure I.14 : Spectres FTIR de GO et rGO [53]

Ces bandes ont été exposées en raison des bandes d'absorption de groupes fonctionnels oxygénés [54]. Une large bande est apparue à 3400 cm^{-1} , attribuée aux vibrations de liaison O-H/étirement des molécules d'eau et d'autres groupes fonctionnels hydroxyles dans le GO[55].

Les bandes observées à 2927 et 2849 cm^{-1} correspondaient à l'étirement symétrique et asymétrique de C-H en GO[56].

Les bandes à 1743 et 1210 cm^{-1} ont été attribués aux vibrations d'étirement C=O et C-O de

- Groupes COOH aux bords des feuilles GO, respectivement. Cependant, en cas de rGO, l'intensité de toutes les bandes susmentionnées réduit de manière significative en raison de l'élimination de l'oxygène fonctionnalisés [57]. Peu de bandes sont apparues à 1050 cm^{-1} exigible aux vibrations d'étirement de C-O-C des groupes époxy [58, 59]

1.9.3. Spectroscopie ultraviolet-visible (UV-Vis)

La spectroscopie UV-VIS peut révéler des groupes fonctionnels chromophores (c'est-à-dire des parties moléculaires contenant des paires d'électrons non liés facilement excitables).

Ceux-ci comprennent des groupes fonctionnels contenant de l'oxygène. La mesure peut être effectuée sur des échantillons liquides ou gazeux. Par conséquent, le graphène et GO doivent être dissous dans un solvant approprié. Les spectres UV-vis du graphène et du GO montrent généralement un pic associé aux liaisons aromatiques C-C. Ce pic est proche de 230 nm pour le GO et de 270 nm et pour le rGO, comme le montrent la Figure 5.

Dans la plupart des cas, un pic associé aux liaisons C-O est également observé à $\sim 300\text{ nm}$ dans les

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

échantillons GO [60, 61]. Bien que la méthode montre une distinction claire entre GO et rGO, elle ne convient pas pour déterminer le rapport C/O des échantillons GO

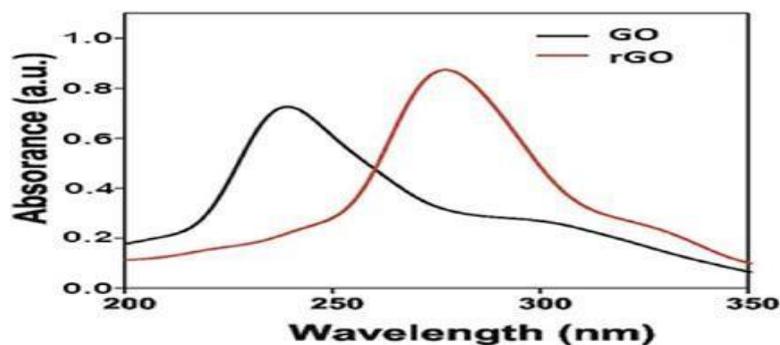


Figure I.15 : Spectres UV des deux matériaux [62]

1.10. Activité biologique du Graphène et ses dérivés

1.10.1 Évaluation de l'activité antioxydante

Méthode de Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

Le terme "activité antioxydante" décrit la résistance d'une substance à l'oxydation.

Les antioxydants naturels l'acide ascorbique (vitamine C), le bêta-carotène (provitamine A), la vitamine E et les antioxydants de synthèse (BHT, BHA) ont des groupes hydroxyphénol dans la plupart de leurs structures. Ces composés organiques ont la capacité de piéger les radicaux libres tels que l'hydroxyle (OH^*) et le superoxyde (O_2^*), leur conférant un pouvoir antioxydant [63].

1.10.2. Principe

La méthode est basée sur la réduction d'un radical libre très stable : la 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH) en présence d'un antioxydant donneur. Ce dernier est réduit à la forme hydrazine (non radicalaire) en acceptant un atome d'hydrogène [64].

La réduction des radicaux libres (DPPH) par les antioxydants peut être suivie par spectrophotométrie en mesurant la diminution d'absorbance à 517 nm provoquée par la présence d'un donneur d'hydrogène [65]. Lorsque l'électron célibataire s'apparie, le DPPH est initialement violet, mais il se décolore (Figure 4). La capacité des composés phénoliques à capter ces radicaux libres sans activité enzymatique est représentée par cette décoloration. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances phénoliques de nos extraits [66].

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

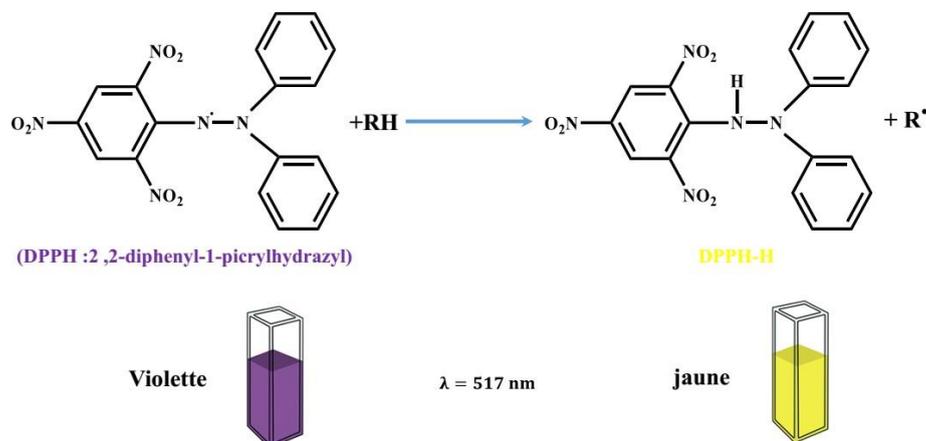


Figure I.16 : Réaction d'un donneur d'hydrogène (anti-oxydante) avec le radical DPPH)[67].

le Pourcentage d'inhibition du DPPH (I%) est calculé de la manière suivante[10] :

$$\text{Inh \%} = \left(\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \right) * 100$$

Inh % : Le pourcentage d'inhibition du DPPH,

A contrôle : L'absorbance du contrôle réactif (blanc),

A échantillon : L'absorbance de l'échantillon.

Les pourcentages d'inhibition ainsi déterminés, nous permettent de calculer la valeur du paramètre IC₅₀ (concentration d'inhibitrice de 50 %). Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité antioxydante [68]. Elle est obtenue à partir de l'équation de la courbe de l'activité anti-radicalaire (I%) en fonction de la concentration de l'antioxydant.

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement à l'aide des graphes, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés.

Nous pouvons déduire l'activité anti-radicalaire (ARP) de nos extraits en calculant l'inverse des valeurs des IC₅₀ trouvées.

$$\text{ARP} = \frac{1}{\text{IC}_{50}}$$

ARP : Puissance anti-radicalaire.

IC₅₀ : Concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH.

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

1.10.3. Activité antioxydante

Les capacités antioxydantes des GON synthétisés ont été examinées en utilisant le radical DPPH [69]. La capacité des GON à piéger le radical DPPH s'est améliorée lorsque la concentration des GON testés est passée de 31,2 à 1000 $\mu\text{g/ml}$. Il a été proposé que les caractéristiques antioxydantes du matériau carboné provoquent un arrangement d'adduits radicalaires sur les sites de carbone sp^2 , ce qui délocalise le spin à travers le squelette de graphène conjugué et conduit à l'annihilation du radical par transfert d'électrons ou don d'hydrogène à partir de groupes fonctionnels [70–75]. Les GON neutralisent le radical libre DPPH. Les activités de piégeage des radicaux DPPH des GON et de l'acide gallique ont également été comparées et il a été constaté que les GON donnaient 60% de RSA avec $\text{IC}_{50} = 235 \mu\text{g/ml}$ alors que l'acide gallique standard présentait 80% de RSA avec $\text{IC}_{50} = 64,7 \mu\text{g/ml}$ à une concentration de 1000 $\mu\text{g/ml}$.

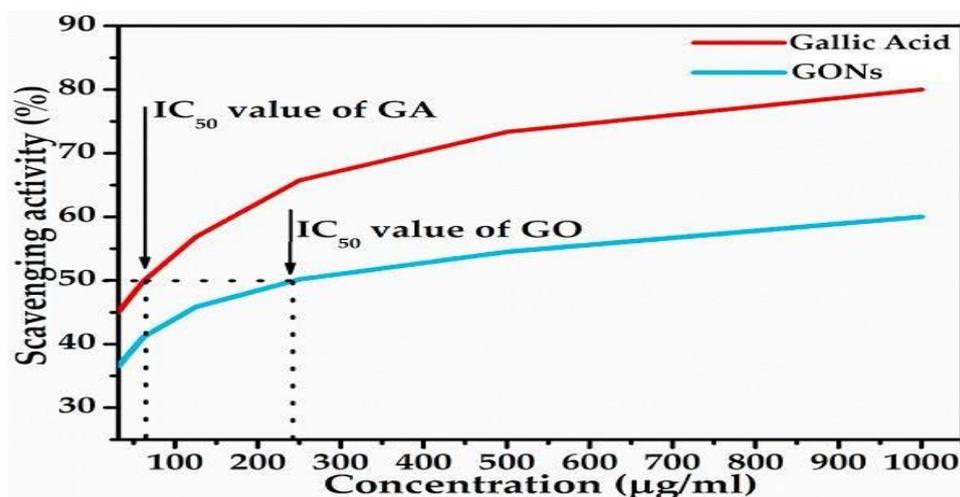


Figure I.17 : L'activité antioxydante de l'acide gallique et des GON avec leurs valeurs IC_{50} [70].

1.10.4 Activité antibactérienne

Plusieurs travaux concernant l'activité antibactérienne du GO et ses dérivés ont été effectués.

Dans une étude [70] l'activité antibactérienne des GON a été testée contre quatre souches bactériennes en utilisant la méthode de diffusion en puits d'agar, comme décrit dans le protocole Figure I.17 [71], [72]. Il a été constaté que les GON étaient moins efficaces pour les bactéries Gram négatives, ne donnant qu'un effet d'inhibition de 23 à 30 % (tableau 2).

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

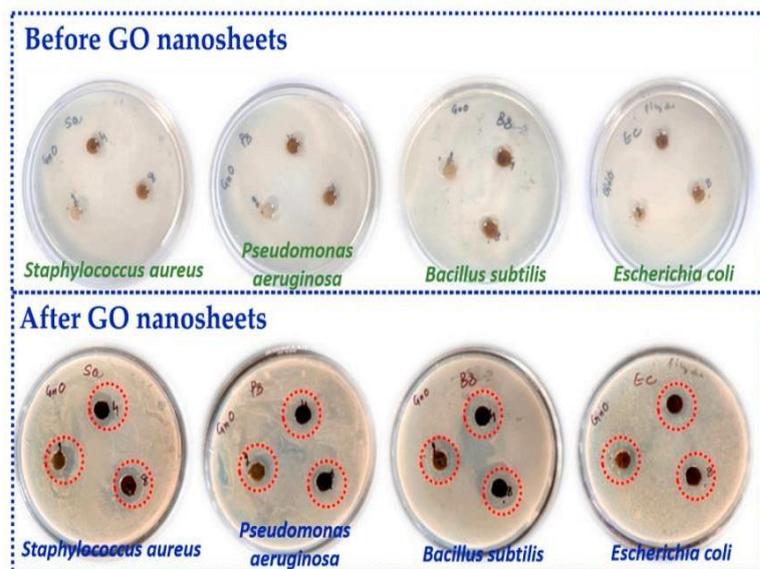


Figure I.18 : Activité antibactérienne contre diverses souches bactériennes avant et après le chargement des GON [73]

Tableau I .2 : Activité antibactérienne des GON affichant un diamètre d'inhibition de croissance en mm [74]

Solutions	conc (mg/ml)	Bactérie gram positive		Bactérie gram négative	
		<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Graphene oxide nanosheets	8	25± 0,75	21±0,86	14±0,75	16±0,57
	4	23±0,86	20±0,75	12±0,86	15±0,45
	2	21±0,57	17±0,75	10±0,45	12±0,86
Ciprofloxacin	2	42±0,57	40±0,45	42±0,5	41±0,57

Pour comparer davantage l'activité antibactérienne de GON avec l'antibiotique standard, les valeurs de CMI des deux produits ont été comparées comme illustré dans le tableau 3. L'effet antibactérien contre les souches testées a été trouvé remarquable pour les GON qui ont montré des valeurs de CMI allant jusqu'à 0.125 µg/µL alors que la ciprofloxacine prise comme standard a montré des valeurs de CMI dans la plage de 0.0312µg/ µL.

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

Tableau I. 3 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) (en $\mu\text{g}/100 \mu\text{L}$) de GON et du standard ciprofloxacine [75].

Solutions	Bactérie gram positive		Bactérie gram négative	
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
GONs	12,5	25	100	100
Ciprofloxacine	3,12	3,12	3,12	3,12

1.11. Application du graphène et ses dérivés

Diverses options d'applications technologiques du graphène sont rapportées dans la littérature, comme possible nano filtre moléculaire ou nano capteur de gaz, dans la création de dispositifs électroniques, ou encore dans des applications biomédicales.[74]

Le graphène, avec ses propriétés exceptionnelles, trouve de nombreuses applications dans divers secteurs industriels et technologiques.

En électronique, il est utilisé pour fabriquer des transistors, des microprocesseurs et des encres conductrices, améliorant ainsi les performances des dispositifs électroniques. Dans le domaine de l'énergie renouvelable, le graphène est intégré aux panneaux solaires pour augmenter leur efficacité et produire davantage d'énergie [75].

L'industrie automobile utilise également le graphène dans les batteries des véhicules électriques, augmentant ainsi leur autonomie et réduisant les temps de charge, améliorant ainsi les performances de ces véhicules. En somme, le graphène est largement utilisé dans l'électronique, l'énergie renouvelable et l'automobile en raison de ses multiples avantages [76].

1.11.1 Dans le domaine médical, biomédicale et pharmaceutique

1.11.1.1 Administration de médicaments gènes et traitement du cancer

1.11.1.1.1. Administration de médicaments

Le GO, produit par oxydation vigoureuse du graphite par la méthode Hummers, est un nanotransporteur idéal pour l'administration efficace de médicaments et de gènes.

Le GO utilisé pour l'administration de médicaments est généralement de 1 à 3 couches (1-2 nm d'épaisseur), avec une taille allant de quelques nanomètres à plusieurs centaines de nanomètres [77].

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

Les caractéristiques structurales uniques, telles que le sp² grand et planaire² Domaine carboné hybride, surface spécifique élevée (2630 m²/g) et les groupes contenant de l'oxygène enrichi confèrent à GO une excellente biocompatibilité, une solubilité et une stabilité physiologiques, ainsi qu'une capacité de chargement de médicaments ou de gènes par conjugaison chimique ou par des approches de physisorption. De plus, les groupes COOH et OH réactifs du GO facilitent la conjugaison avec divers systèmes, tels que, les polymères, les biomolécules l'ADN, les protéines.[78].

Des recherches ont été menées pour explorer l'utilisation de l'oxyde de graphène (GO) conjugué avec des nanoparticules de Fe₃O₄ en tant que nano-transporteur pour administrer des médicaments anticancéreux insolubles dans l'eau dans les cellules.

Dans cette approche, l'ONG a été conjugué avec une molécule de polyéthylène glycol anticancéreux (PEG) à six bras terminés par une amine. Ensuite, le médicament insoluble dans l'eau, le SN38, a été chargé sur la surface de l'ONG par adsorption non covalente par empilement π - π . L'ONG fonctionnalisée avec du PEG chargé de SN38 a démontré une cytotoxicité élevée pour les cellules HCT-116, avec une puissance environ 1000 fois supérieure à celle du CPT-11. Dans une autre étude, le même groupe a examiné l'administration ciblée de médicaments chimiques dans les cellules en utilisant un conjugué de l'ONG et du PEG appelé Rituxan [79].

Figure I.19 et Figure I.20. Ces travaux ont également démontré que la libération de médicament à partir de la surface GO dépendait du pH, ce qui suggère la possibilité d'une libération de médicament à pH contrôlé.

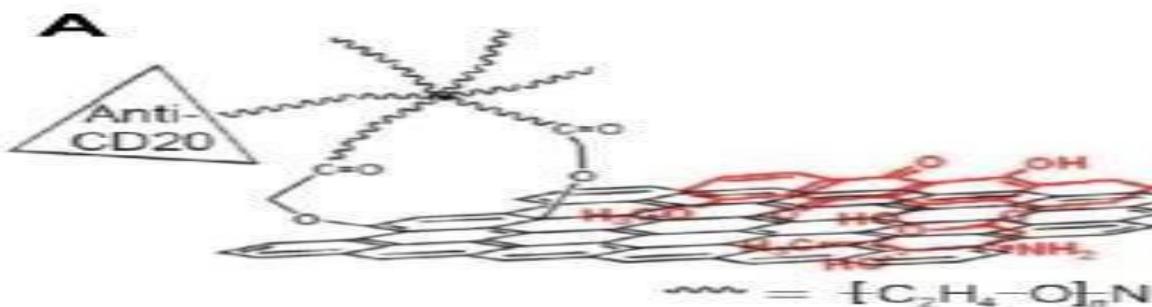


Figure I.19 : Représentation schématique de l'encapsulation de DOX dans le conjugué NGO-PEG avec un anticorps anti-CD20.

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

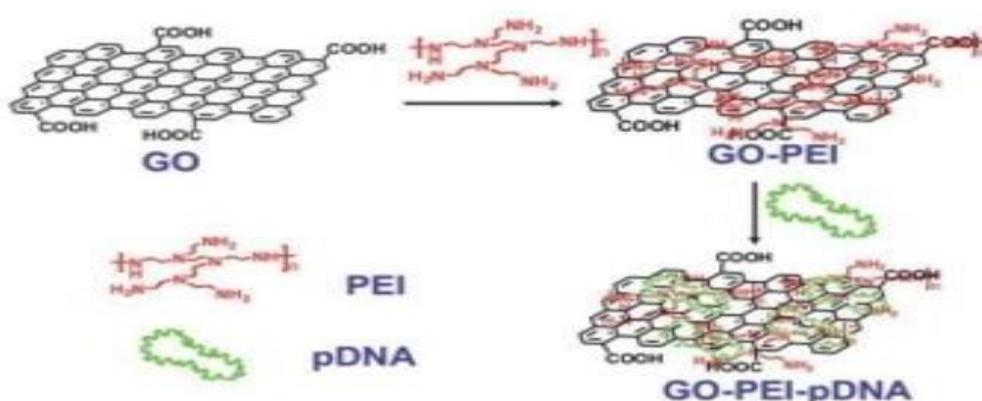


Figure I.20: Représentation schématique de la synthèse de complexes GO-PEI-ADN par le biais d'interactions électrostatiques.

La thérapie génique est une approche nouvelle et prometteuse pour le traitement de diverses maladies causées par des maladies génétiques, notamment la fibrose kystique, la maladie de Parkinson et le cancer. Une thérapie génique réussie nécessite des porteurs de gènes qui

Protègent ; ADN de la dégradation des nucléases et facilitent ; absorption de ADN cellulaire avec une efficacité de transfection élevée. Récemment, plusieurs études ont examiné l'utilisation de graphène oxyde (GO) modifié par du polyéthylène (PEI) pour l'administration de gènes. Dans une procédure illustrée à *Figure I.19*, le GO conjugué avec du PEI chargé positivement permet la condensation de l'ADN plasmidique sur sa surface par interaction électrostatique due au polymère cationique. Ces études ont démontré que l'ajout de PEI à GO réduisait considérablement la cytotoxicité du polymère cationique et améliorait l'efficacité de la transfection [80],

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

1.11.1.1.2. Traitement du cancer

De nombreuses avancées ont été réalisées dans l'utilisation du graphène pour l'administration de médicaments *in vitro*, comme cela a été mentionné précédemment. Cependant, pour une utilisation clinique dans le traitement du cancer et d'autres maladies, il est essentiel d'étudier le comportement *in vivo* du graphène chargé de médicaments. Des chercheurs ont réalisé des études approfondies dans ce domaine [82]

Pour la première fois étudié l'absorption tumorale *in vivo* et la thérapie photothermique avec PEGylated GO en utilisant des modèles murins tumoraux xénotransplantés. Ils ont observé une absorption tumorale très élevée du GO modifié par PEG en raison du ciblage passif tumoral très efficace du GO causé par l'effet EPR.

De plus, sous l'irradiation laser proche infrarouge (NIR) de faible puissance sur la tumeur, une destruction tumorale très efficace a été obtenue [82].

En utilisant une forte absorbance de GO dans la région NIR (Figure I.21).

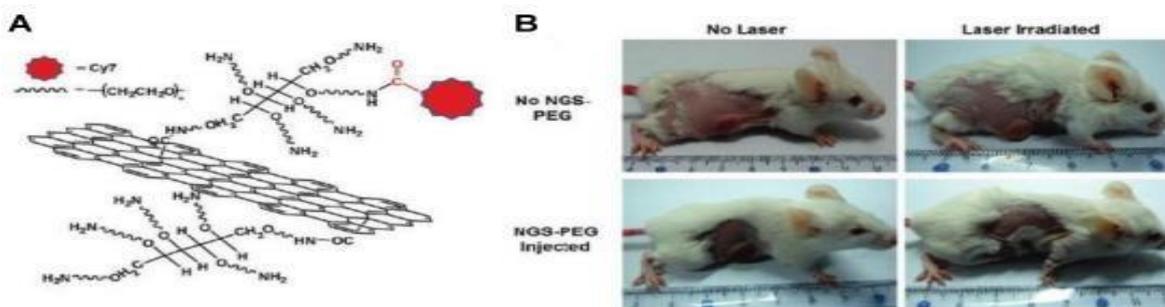


Figure I.21: Illustration schématique du NGs fonctionnalisé PEG et photo de tumeur sur des souris après de divers traitements

Une étude antérieure a décrit l'utilisation d'acide folique et de graphène oxydé conjugué à un photosensibilisateur à porphyrine chargé d'acide sulfonique pour cibler la thérapie photodynamique (PDT). La PDT est une technique prometteuse pour traiter diverses maladies, y compris le cancer, en raison de ses caractéristiques attrayantes telles qu'une faible toxicité et une grande stabilité dans des conditions physiologiques. Dans cette étude, le graphène oxydé a été chargé de manière efficace avec un photosensibilisateur appelé Chlorin e6, grâce à des interactions hydrophobes et un empilage π - π . Ce système a permis une accumulation significative du photosensibilisateur dans les cellules tumorales, ce qui a conduit à un effet photodynamique remarquable, dépendant de la concentration, sur les cellules cancéreuses sous irradiation. [81]

Chapitre I : Généralités sur le graphène et ses dérivés

1.11.1.1.3. Biodétection et bioimagerie :

L'exploration des faisabilités du graphène oxydé (GO) en imagerie biologique avec des modalités optiques et magnétiques vient de commencer récemment. Un groupe de recherche a étudié l'utilisation du GO réduit (rGO) greffé à de la gélatine marquée avec un colorant fluorescent pour l'imagerie cellulaire et l'administration de médicaments[83].

Récemment, les chercheurs ont commencé à préparer des GO plus petits (d'une taille de 10nm ou moins), souvent appelés points quantiques de graphène (GQD), à partir de l'oxydation chimique du graphite.

Ces GQD présentent une fluorescence intrinsèque et peuvent être utilisés à des fins de bioimagerie. En outre, La propriété de fluorescence ascendante des GQD leur permet d'être excités dans la région NIR, ce qui rend la biodétection et l'imagerie in vitro et in vivo efficaces, sûres et sans interférence de l'autofluorescence des cellules, organes ou tissus de cette région [84].

Chapitre II : Recherche bibliographique sur l'espèce *Satureja calamintha*

2.1. Présentation de la famille des Lamiacées

Les *Lamiacées*, également appelées Labiées, comptent environ 258 genres et 6 900 espèces dans le monde, mais la plupart d'entre elles sont concentrées dans le bassin méditerranéen, comme le thym, la lavande, le romarin [85].

Ancien nom des *Lamiacées* : Labiées est dérivé du nom latin "labium", signifiant lèvres, en raison de la forme particulière de la fleur [86, 87].

Les plantes de la famille des *Lamiacées* sont largement utilisées pour leurs applications culinaires, cosmétiques et médicinales [88] par exemple : l'origan, le romarin, la sauge et le thym sont des assaisonnements typiques de la région méditerranéenne.

Les *Lamiacées* sont une très grande famille de plantes aromatiques, connues pour leur diversité et leurs propriétés médicinales. Il comprend plusieurs espèces qui sont utilisées en médecine, en parfumerie et en guérison (thérapie) depuis l'Antiquité [89]. Les huiles essentielles récupérées des espèces de la famille Lamiacée ont été utilisées contre différentes maladies comme les troubles intestinaux et la bronchite [90].

Les plantes de la famille des *Lamiacées* sont riches en huiles essentielles qui possèdent des propriétés médicinales importantes sont : anti-infectieux antispasmodique, tonique, aide à la digestion, la cicatrisation, etc. Les plantes appartenant à cette famille contiennent de nombreux composés chimiques tels que les terpénoïdes, les iridoïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les stérols et les diterpènes [91].

Les plantes de la famille des *Lamiacées* sont largement utilisées pour leurs applications culinaires, cosmétiques et médicinales. Par exemple, l'origan, le romarin, la sauge et le thym sont des assaisonnements typiques de la région méditerranéenne [93].

2.2. Présentation du genre *Satureja*

2.2.1 Description botanique et répartition géographique :

Le genre, *Satureja* (salé) englobe plus de 200 différents espèces d'herbes ou d'arbustes qui sont souvent aromatiques et qui sont largement présents dans la région méditerranéenne, en Asie et dans certains pays certaines parties des États-Unis [85]. Partout dans le monde, fleurs, feuilles, tige et les graines de la plupart des espèces de *Satureja* sont traditionnellement utilisés pour diverses maladies et complications telles que crampes gastro-intestinales, nausées, diarrhée, douleurs musculaires, et les maladies infectieuses. En raison des caractéristiques aromatiques, les feuilles et les parties aériennes de ce genre possèdent Goûts distinctifs mais agréables.

La plupart des espèces salées contiennent de l'huile essentielle dans leurs parties botaniques. Le

Chapitre II : Recherche bibliographique sur l'espèce *Satureja calamintha*

rendement en huile essentielle dépasse souvent 5% en différentes espèces de ce genre [87]. En ce qui concerne la présence de monoterpènes tels que le thymol, le carvacrol et cymène dans les huiles essentielles totales [88], ces métabolites ont entraîné l'indication d'activités antimicrobiennes contre aliments, plantes et agents pathogènes humains. Flavonoïdes, tanins, Les acides et les exsudats sont d'autres composés connus de la sarriette. Basé sur la présence de tous ces métabolites, propriétés pharmacologiques telles qu'antioxydant, anti-inflammatoire et analgésique, et une activité anti-hypercholestérolémies ont également été démontrées [89].

Tableau II.1 : Localisation géographique de quelques espèces appartenant au genre *Satureja* [88]

Espèces	Localisation et caractéristique
<i>Satureja badorensis</i> Batt (<i>Calaminta grandiflora</i>)	Dans les forêts humides des montagnes. Rare dans le massif des babor (nord de l'Algérie à Béjaya)
<i>Satureja candidissima</i> Briq.	Rocailles calcaires. Commune dans le secteur oranais et ses environs.
<i>Satureja pomelii</i> Briq.	Commune dans les forêts. Rare dans le massif des babor. (Nord de l'Algérie à Béjaya)
<i>Satureja hispidula</i> Maire.	Forêts de chêne-liège. Très rare à l'est de Collo.
<i>Satureja calamintha</i> ssp. <i>nepeta</i> L (<i>Calamintha nepeta</i>)	Assez rare dans le Tell surtout en montagne.
<i>Satureja calamintha</i> ssp. <i>adscendens</i> Jord.	Très commune dans tout le Tell (Sahara)
<i>Satureja calamintha</i> ssp. <i>Silvatica</i> Briq.	Rare dans le massif des babor Hauts Plateaux. Rare à l'est de Collo.

2.2.2. Présentation du genre *Satureja*

Les espèces du genre *Satureja* sont des plantes herbacées, annuelles ou vivaces, aromatiques aux feuilles vertes ou gris-vert et poussent dans des milieux secs, ensoleillés, caillouteux et rocheux [91].

Chapitre II : Recherche bibliographique sur l'espèce *Satureja calamintha*

Ce genre est épiciée qui peut également être cultivée comme plante ornementale. En effet, le terme "*Satureja*" vient du mot latin "satura" pour pot de fleur (ornement). Il est très populaire en Algérie et au Maroc comme remède contre la toux, les indigestions et les infections respiratoires bénignes [94].

Plusieurs travaux ont été réalisés sur le genre *Satureja* que les auteurs attribuent à la présence d'huiles essentielles], de flavonoïdes, de tanins, d'acides phénoliques (acide rosmarinique, acide caféique) et de saponines [95]

2.2.3 Composition chimique du genre *Satureja*

De nombreuses espèces de *Satureja* ont été soumises à des études chimiques approfondies jusqu'à présent, ce qui a conduit à l'isolement d'une multitude de métabolites secondaires. Les recherches phytochimiques menées sur le genre *Satureja* ont permis d'identifier et d'isoler divers flavonoïdes et terpènes [93].

Des chercheurs ont réussi à extraire quatre flavonoïdes à partir de la partie aérienne d'une plante appelée *Satureja Atropatana Bonge*, qui est une espèce appartenant au genre *Satureja*. Les flavonoïdes isolés sont les suivants : un composé appelé 5,6,3'-trihydroxy-7,8,4'-triméthoxyflavone, un autre composé connu sous le nom de 5,6-dihydroxy-7,8,3',4'-tétraméthoxyflavone ou 5-desméthoxynobiletine, un composé nommé 5,6,4'-trihydroxy-7,8,3'-triméthoxyflavone ou thymonine, et enfin la lutéoline [94].

Une autre étude réalisée par un groupe de chercheurs a été menée pour isoler des flavones lipophiles à partir des feuilles de 24 genres différents de la famille des *Lamiaceae*, y compris le genre *Satureja*. Les résultats de cette étude ont permis d'identifier deux flavones spécifiques : la 5,6,4'-trihydroxy-7,8,3'-triméthoxyflavone, également appelée thymonine, et la 5,6,4'-trihydroxy-7,3'-diméthoxyflavone. Ces découvertes ont contribué à notre compréhension des composés chimiques présents dans ces plantes et à leur potentiel d'application en tant que substances lipophiles [94].

Les recherches menées par Baldovini et al sur l'huile essentielle de *Satureja calamintha* ont révélé une importante variabilité chimique. En Corse, trois types chimiques distincts ont été identifiés [92].

2.2.4. Propriétés biologiques du genre *Satureja*

Des études ont montré que l'extrait à l'éther de pétrole de l'espèce *Satureja montana* L. subsp. *Kitaibelii* présente une activité antimicrobienne significative, tandis qu'aucune activité antioxydante n'a été observée. En outre, il a été découvert que des études ont mis en évidence les propriétés hypolipidémiques des flavonoïdes extraits d'une plante appelée *Satureja hortensis* [92].

Ces résultats soulignent l'intérêt potentiel des extraits de *Satureja* dans le domaine de la lutte contre les microorganismes pathogènes et la gestion des niveaux de lipides dans l'organisme. Une étude réalisée par Satrani et al sur une population de *Calamintha nepeta* originaire du Maroc a révélé que son huile essentielle contenait principalement du *p*-cymène (20,9%), du γ -terpinène (18,7%) et du thymol (34,94%)

Chapitre II : Recherche bibliographique sur l'espèce *Satureja calamintha*

comme composants majoritaires. Quant à l'espèce originaire de Serbie, l'huile essentielle étudiée par Kitic et al était principalement composée de pulégone (75,5%), d'oxyde de piperitone (6,0%), de menthone (5,3%) et de menthol (4,3%). D'autres composés présents en quantités significatives comprenaient le néomenthol (33%) et l'isomenthone (19,6%) [95].

Ces résultats mettent en évidence la diversité de la composition chimique des huiles essentielles de *Calamintha nepeta* selon leur origine géographique, avec des variations dans les composés majoritaires identifiés.

2.3. Présentation de l'espèce *Satureja calamintha*

Satureja calamintha est une plante à l'arôme doux de menthe, appartenant à la famille des

Lamiacées. Son odeur est fraîche et herbacée.[92]

C'est une herbe aromatique, largement utilisée dans les préparations culinaires (soupes, sauces, etc.) pour sa digestion et son antitoxicité. En effet, il facilite la digestion en stimulant la production de bile et en empêchant la fermentation dans les intestins [96].

La plupart des espèces salées contiennent de l'huile essentielle dans leurs parties botaniques. En ce qui concerne la présence de monoterpènes tels que le thymol, le carvacrol et cymène dans les huiles essentielles totales [92], ces métabolites ont entraîné l'indication d'activités antimicrobiennes contre aliments, plantes et agents pathogènes humains. Flavonoïdes, tanins, Les acides et les exsudats sont d'autres composés connus de la sarriette.

Basé sur la présence de tous ces métabolites, propriétés pharmacologiques telles qu'antioxydant, anti-inflammatoire et analgésique, et une activité anti- hypercholestérolémique [94].



Figure II.I : Photo de l'espèce de *Satureja calamintha*.

2.3.1 Description botanique et répartition géographique de l'espèce *Satureja calamintha*

Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq. (Syn: *Calamintha nepeta*), pousse spontanément dans plusieurs

Chapitre II : Recherche bibliographique sur l'espèce *Satureja calamintha*

région de l'Algérie, notamment en montagne jusqu'à 1500 mètres d'altitude Cette espèce est une petite plante vivace au parfum de menthe, dont la hauteur ne dépasse pas 40 cm. Les tiges sont douces et poilues avec des feuilles opposées, des pétioles moyens, légèrement dentés. Les fleurs, visibles de juillet à octobre, sont d'une belle couleur rose ou violette.[95]

Des études réalisées sur l'espèce *Satureja calamintha* ont rapporté que l'huile essentielle de cette plante possède des activités antibactériennes et antifongiques [96]

2.3.2 Classification dans la systématique botanique

Tableau II.2 : Nom vernaculaire : Nepta, Sariette, tourete.[97]

Règne	Plantae
Embranchement	<i>Spermatophytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Labiées</i>
Genre	<i>Satureja</i>
Espèce	<i>S. Calamintha</i>

2.3.3. Composition chimique de *Satureja calamintha*

Les plantes produisent des métabolites appelés "métabolites secondaires", qui diffèrent des métabolites primaires tels que les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés varient selon les espèces et, bien que leurs rôles restent encore mal compris, il est évident qu'ils jouent un rôle dans les interactions entre les plantes et les organismes vivants qui les entourent.

Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution entre les plantes et les organismes vivants, tels que les parasites, les pathogènes, les prédateurs, les pollinisateurs et les disséminateurs. Ces différentes interactions ont conduit à une grande diversification des composés secondaires [98].

Chapitre III partie expérimental

Notre travail expérimental est divisé en deux parties :

La première partie concerne l'étude réalisée sur l'espèce *Satureja calamintha*, qui renferme l'extraction, le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes, ainsi que l'étude de l'activité antioxydante des extraits obtenus, par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

La deuxième partie contient l'étude de l'activité anti radicalaire des extraits obtenus de la réduction de l'oxyde de graphène par les extraits de la plante *Satureja calamintha*.

3/Étude réalisée sur l'espèce *Satureja calamintha*

3.1. Matériel végétal

L'espèce étudiée a été récoltée de la région de la wilaya de Jijel. L'espèce récoltée est triée puis séchée à l'air libre, à l'ombre et à température ambiante pendant une semaine, ensuite la matière végétale est conservée en vue de procéder aux différentes manipulations.

3.2. Préparation des extraits

Dans cette étude, trois extraits sont préparés selon des modes d'extraction différents, en macération ou à reflux. Le protocole expérimental suivi pour la préparation de chaque extrait est décrit ci-dessous :

3.2.1. Préparation de l'extrait aqueux par reflux

Dans cette méthode, une quantité de 15 g de plante est soumise à une extraction sous reflux à une température de 100°C, en utilisant 150 ml d'eau en tant que solvant. Le système est maintenu en reflux pendant une période d'une heure afin de faciliter la libération des composés solubles dans la plante. Une fois cette étape terminée, la solution obtenue est soumise à une filtration pour séparer les particules solides, permettant ainsi la récupération du filtrat. Par la suite, ce filtrat est soumis à une évaporation complète jusqu'à l'obtention d'un résidu sec, c'est l'extrait aqueux (EAQ).

3.2.2.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique

Un échantillon de 10 g de plante préalablement découpée en petits morceaux est placé en macération à température ambiante, en présence de 100 ml d'un mélange de solvants méthanol/eau avec un rapport volumique de 80/20. La macération, qui consiste à permettre aux constituants de la plante de se dissoudre dans le solvant, est réalisée pendant une période de 48 heures. Après ce temps de contact, la solution est filtrée afin d'éliminer les particules solides, ce qui permet de récupérer le liquide ou le filtrat. Cette opération est répétée deux fois. Ensuite, le filtrat obtenu est soumis à une évaporation complète jusqu'à l'obtention d'un résidu sec, qui contient les composés extraits de la plante. C'est l'extrait hydro-méthanolique, noté (EHM).

3.2.2.2. Préparation de l'extrait butanolique

100g du matériel végétal ont subi une macération dans un mélange de solvants (MeOH / eau: 80 / 20 : V/V). Cette macération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant, pendant 24 heures. Après concentration sous vide,

Chapitre III partie expérimental

l'extrait hydro-alcoolique a subi des extractions successives de type liquide-liquide, en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le n-hexane, le chloroforme, l'acétate d'éthyle puis le n-butanol. Chaque extraction est répétée trois fois en employant une ampoule à décanter. Le protocole d'extraction est présenté sur la Figure III.1.

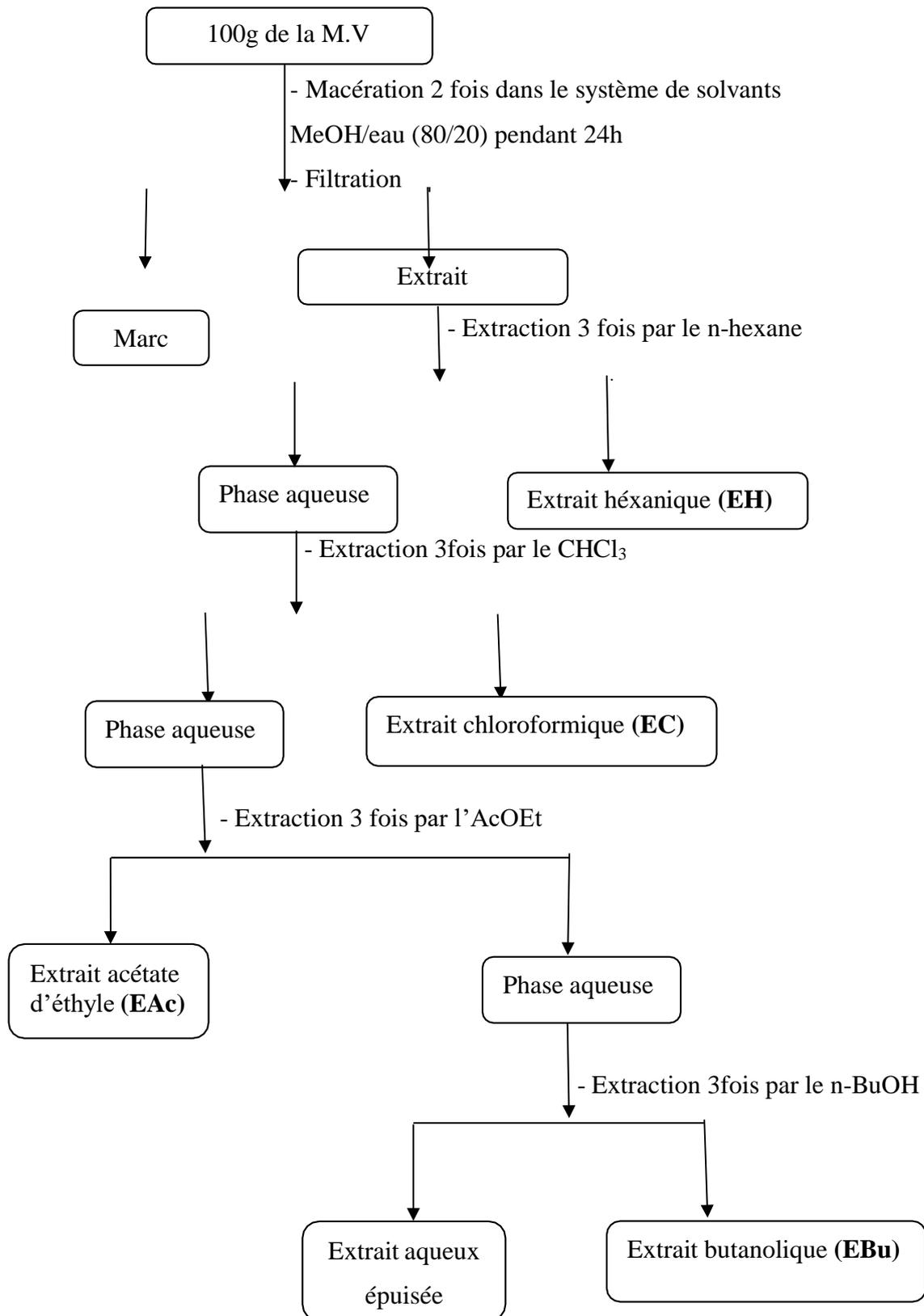


Figure III.1: Protocole d'extraction des métabolites secondaires de l'espèce *Saturejacalamintha*

Chapitre III partie expérimental

3.3. Calcul du rendement de l'extraction

Le rendement est le rapport entre le poids d'extrait et le poids de la plante sèche à traiter. Le pourcentage de rendement pour chaque extrait a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{M_{ext}}{M_{mv}} \times 100$$

R (%) : Rendement de l'extrait.

M_{ext} : le poids d'extrait en gramme.

M_{mv} : le poids de la matière végétale sèche à traiter.

L'utilisation de différentes méthodes d'extraction, nous a permis d'obtenir des extraits qui ont des caractéristiques différentes (aspect, couleur et rendement).

Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau III.1 ; Aspect, couleur et rendement de différents extraits.

Extrait	Aspect	Couleur	Masse (g)	Masse mv (g)	Rendement %
EAq	Visqueux	Miel	2,46	15	16,4
EHM	Visqueux	Verdâtre	1,01	10	10,1
EBu	Pâteux	Miel	8,565	100	8,56

Nous constatons que les rendements des trois extraits sont élevés et varient d'un extrait à un autre. Les pourcentages sont compris entre 16,4 et 8,56%. L'extrait aqueux (EAq) a donné le meilleur rendement (16,4%) suivi par l'extrait hydro-méthanolique (EHM) (10,1%) et enfin l'extrait butanolique (EBu) avec un pourcentage de (8,56%).

3.4. Dosage des polyphénols totaux des extraits (EAq, EHM et EBU)

Le dosage des polyphénols totaux des trois extraits (EAq, EHM et EBU) a été effectué à l'aide du test de Folin-Ciocalteu, qui implique l'utilisation d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀) [98]. Lorsque les phénols s'oxydent, cet acide est réduit en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration résultante présente une absorption maximale comprise entre 725 et 765 nm [99]. Les phénols ont été quantifiés à l'aide d'un spectrophotomètre UV, où l'acide gallique a été utilisé comme étalon à une longueur d'onde de 765 nm. Dans le cadre de cette étude, nous avons réalisé le dosage des polyphénols pour les trois extraits (EBu, EHM, EAq), en suivant le protocole décrit ci-dessous [101].

Chapitre III partie expérimental

Préparation de la solution de Folin-Ciocalteu « FC »

Après avoir ajouté 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu à une fiole contenant 9 ml d'eau distillée, la solution est soigneusement agitée et conservée à l'abri de la lumière dans un réfrigérateur.

Préparation de solution de carbonate de sodium (7,5%)

Une quantité de 7,5 grammes de carbonate de sodium a été introduite dans une fiole de 100 ml, une quantité appropriée d'eau pure a été ajoutée et l'ensemble a été agité jusqu'à une dissolution complète. Ensuite, la fiole a été remplie jusqu'au trait de jauge.

Préparation du blanc (contrôle négative)

Dans un protocole expérimental, un volume de 100 microlitres du réactif FC est combiné avec 200 microlitres de méthanol et 750 microlitres de Na₂CO₃ à une concentration de 7,5 %. Le mélange obtenu est agité et incubé à l'obscurité, à température ambiante, pendant une durée de 2 heures.

Préparation de standard (contrôle positive)

Pour préparer les différentes dilutions, nous commençons par dissoudre 4 mg d'acide gallique dans 2 ml de méthanol, ce qui nous donne une solution mère de concentration de 2 mg/ml.

Préparation des échantillons

Pour chaque extrait de la plante *Satureja calamintha* (butanolique, aqueux et hydro-méthanolique), nous avons préparé une solution mère en mélangeant 1 mg d'extrait avec 2 ml de méthanol, ce qui nous donne une concentration de (0,5 mg/ml).

Test réalisé

Dans cette expérience, nous avons effectué les étapes suivantes de manière méthodique et professionnelle. Tout d'abord, nous avons mélangé 1 ml de réactif FC avec 0,2 ml de l'extrait, suivi de l'ajout de 0,750 ml de Na₂CO₃ à 7,5 %. Le mélange obtenu a été soigneusement agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant une durée de deux heures. Par la suite, nous avons mesuré l'absorbance à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV. Enfin, la teneur en composés phénoliques, est déterminée par la relation suivante : $T = \frac{C \times V}{M}$

T : teneur des composés phénoliques (mg d'équivalents d'acide gallique par g d'extrait brute).

C : concentration d'extrait équivalent d'acide gallique (mg/ml).

V : volume d'extrait (ml).

M : poids d'extrait brute utilisé (g).

Courbe d'étalonnage

Chapitre III partie expérimental

La quantification des polyphénols a été réalisée en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations allant de 0,25 mg/ml jusqu'à 2 mg/ml.

La teneur en polyphénols a été exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait brute (mgEAG/gE).

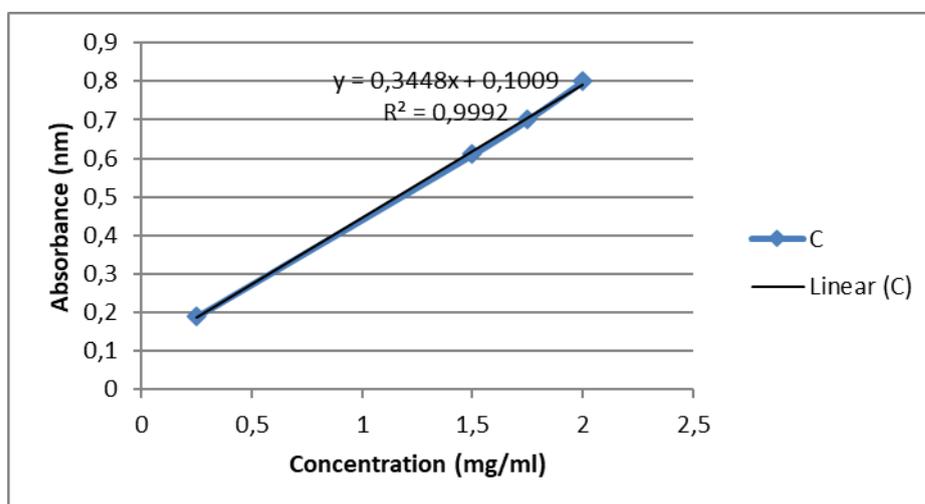


Figure III.2 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique [100]

Les résultats obtenus de ce dosage pour les trois extraits étudiés (EAq, EHM et EBU) sont présentés dans le tableau III. 2.

Tableau III.2 : Taux de polyphénols existant dans les extraits (EAq, EHM et EBU) de l'espèce *Satureja calamintha*

Extrait	Teneur en polyphénols totaux en (mgEAG/gE)
EAq	643.9
EHM	237.9
EBu	610.6

D'après ces résultats, nous avons observé que les extraits aqueux et butanolique sont plus riches en polyphénols que l'extrait hydro-méthanolique.

3.5. Dosage des flavonoïdes totaux des extraits (EAq, EHM et EBU)

Le dosage des flavonoïdes Totaux des extraits (EAq, EHM et EBU) a été réalisé par la méthode de chlorure d'aluminium $AlCl_3$.

Dans cette méthode, la quantification des flavonoïdes dans les extraits repose sur la formation d'un complexe extrêmement stable entre le chlorure d'aluminium et les groupes oxygène situés sur les atomes

Chapitre III partie expérimental

de carbone 4 et 5 des flavonoïdes [102].

Préparation de la solution de chlorure d'Aluminium

Dans un bécher, une quantité de 1 gramme de chlorure d'aluminium est ajoutée à 10 millilitres de méthanol. Le mélange est vigoureusement agité jusqu'à ce que le chlorure d'aluminium se dissolve complètement.

Préparation du blanc

Dans un milieu expérimental, 1 ml d'eau pure est combiné avec 1 ml de chlorure d'aluminium à une concentration de 10%. Le mélange est soigneusement agité puis incubé à l'abri de la lumière, à température ambiante, pendant une durée de 30 minutes.

Préparation du standard ou contrôle positive

Pour préparer la solution mère de la quercétine à une concentration de 2 mg/ml, nous dissolvons avec précision 4 mg de quercétine dans 2 ml de méthanol. Cette solution est utilisée ultérieurement pour préparer des différentes dilutions allant de 0,25 mg/ml à 2 mg/ml.

Préparation de l'échantillon

Les extraits obtenus de l'espèce *Satureja calamintha* (butanolique, aqueux et hydro-méthanolique) ont été préparés en mélangeant 1 mg d'extrait avec 5 ml de méthanol, ce qui a permis d'obtenir une concentration de (0,2 mg/ml).

Test réalisé

1 ml d'extrait est mélangé avec 1 ml de chlorure d'aluminium à 10%, Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes et l'absorbance est mesurée à 430 nm par un spectrophotomètre UV.

La teneur des composés flavonoïdes est déterminée selon l'équation suivante

$$T = \frac{C \times V}{M}$$

T : teneur des flavonoïdes (mg équivalent de quercétine par g d'extrait brute).

C : concentration d'extrait équivalent à la quercétine (mg/ml).

V : volume d'extrait (ml).

M : poids d'extrait brute utilisé (g).

Courbe d'étalonnage

Chapitre III partie expérimental

La quantification des Flavonoïdes a été réalisée en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par la quercétine à différentes concentrations allant de 0,25 mg/ml jusqu'à 2 mg/ml. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait brute (mgEQ/gE).

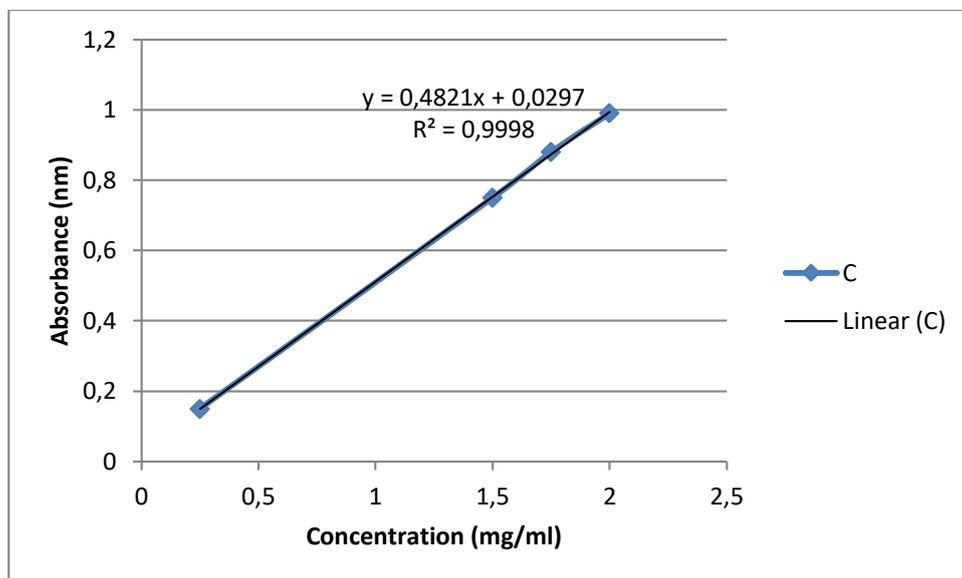


Figure III.3 : Courbe d'étalonnage de la quercétine [100]

Les résultats obtenus de ce dosage pour les trois extraits étudiés (EAq, EHM et EBU) sont présentés dans le tableau 3.

Tableau III.3 : Taux des flavonoïdes existant dans les extraits (EAq, EHM et EBU) de l'espèce *Satureja calamintha*.

Extrait	Teneur en flavonoïdes totaux en (mgEAG/gE)
EAq	164
EHM	84.3
EBu	179.7

D'après ces résultats, nous avons observé que l'extrait aqueux est plus riche en flavonoïdes et aussi l'extrait butanolique à une teneur importante que l'extrait hydro-méthanolique.

Enfin, les résultats obtenus du dosage (tableaux III. 2 et III. 3), nous a permis de conclure que les extraits aqueux et butanolique renferment des teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes élevés et très proches, tandis que l'extrait hydro-méthanolique contient une teneur faible. D'après la bibliographie, la nature de solvant d'extraction joue un grand rôle dans la composition des extraits [103].

3.6. Évaluation de l'activité antioxydante

Chapitre III partie expérimental

3.6.1. Protocole expérimental

Préparation de la solution de DPPH

La solution de DPPH est préparée par la dissolution de 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.

Préparation de contrôle négatif (Blanc)

1.5 ml de la solution DPPH avec 1.5 ml de méthanol, placé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes. La mesure de l'absorbance est effectuée à 517 nm par spectrophotomètre UV-Visible.

Préparation de la solution d'acide ascorbique (solution standard)

La solution de l'acide ascorbique (Vitamine C) est utilisée comme contrôle positif, est préparée par dissolution de 2 mg de Vit C dans 2 ml de méthanol, ensuite des dilutions à différentes concentrations en (mg/ml) sont préparées à partir de cette solution. Enfin, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre et dans les mêmes conditions que l'échantillon testé.

Préparation des solutions d'extraits

On prépare une solution mère (2 mg de l'extrait dans 2 ml méthanol) de concentration de 2 mg/ml, pour les trois extraits. Suit par la suite des dilutions pour en avoir différentes concentrations allant de 0,0156 mg/ml à 2 mg/ml.

Test de DPPH

On introduit 1.5 ml de chaque solution de l'extrait à étudier dans un tube à essai sec, et on lui ajoute 1.5 ml de la solution méthanolique de DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité et à la température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

3.6.2. Résultats de l'activité antioxydante pour les trois extraits EAq, EHM et EBU

L'activité antioxydante de nos extraits a été évaluée par la méthode de DPPH. Une solution méthanolique de DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) présente une coloration violette sombre, en présence d'un antioxydant, la forme réduite de DPPH-H confère à la solution une couleur jaune, et par conséquent une diminution de l'absorbance. Le changement de la couleur de la solution méthanolique de DPPH en présence de chacun des extraits à tester a été évalué par spectrophotométrie UV-Visible et mesurée à 517 nm. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard : l'acide ascorbique (Vit C).

Tableau III.4 : Pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits EAq, EHM et EBU et du standard l'acide ascorbique (Vit C).

Chapitre III partie expérimental

Concentration (mg/ml)		0,0156	0,0312	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2
EAq	Abs	0,25	0,233	0,113	0,049	0,011	0,021	0,027	0,044
	% Inh	31,318	35,989	68,956	86,53	96,97	94,23	92,58	87,91
EHM	Abs	0,293	0,16	0,042	0,024	0,032	0,028	0,041	0,065
	% Inh	21,657	57,219	88,770	93,582	91,443	92,513	89,037	82,620
EBu	Abs	0,225	0,111	0,034	0,029	0,028	0,035	0,04	0,061
	% Inh	37,845	69,337	90,607	91,988	92,265	90,331	88,950	83,149
Vit C	Abs	0,3	0,23	0,2	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
	% Inh	39,879	53,907	59,919	65,931	65,931	65,931	65,931	65,931

les résultats obtenus par ce test du DPPH permettent de tracer les courbes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits bruts (EAq, EHM et EBU) et du standard Vit C (Figure III.4).

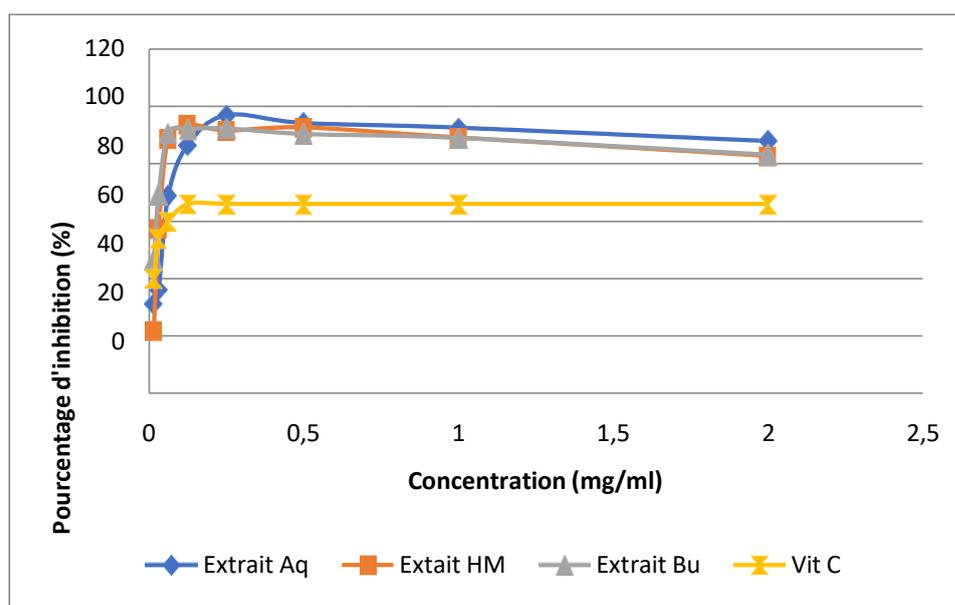


Figure III.4 : Courbes de pourcentage d'inhibition du DPPH des trois extraits EAq, EHM et EBU et du standard Vit C.

L'étude de Figure III.4 montre que le pourcentage d'inhibition dépend fortement de la concentration du substrat, comme c'est le cas pour l'extrait de plante ainsi que pour la vitamine C. Plus précisément, une augmentation de la concentration de l'échantillon a entraîné une augmentation du pourcentage d'inhibition du substrat libre. Radicaux libres, augmentant ainsi l'activité anti-radicalaire.

Pour l'acide ascorbique (Vit C), le pourcentage d'inhibition augmente et cette augmentation est proportionnelle à la concentration de la solution jusqu'à la fin de l'expérience ou jusqu'à ce que le

Chapitre III partie expérimental

pourcentage d'inhibition se stabilise.

Les valeurs des IC₅₀ et ARP des extraits étudiés et du standard, sont indiqués dans le tableau 5 et sous forme d'histogramme dans les figures III.5 et III.6

Tableau III.5 : Valeurs IC₅₀ et ARP des trois extraits EAq, EHM et EBU et du standard VitC.

Extrait	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
E Aq	0,04465	22,396
E HM	0,02846	35,137
E Bu	0,0225	45,45
Vit C	0,02	50

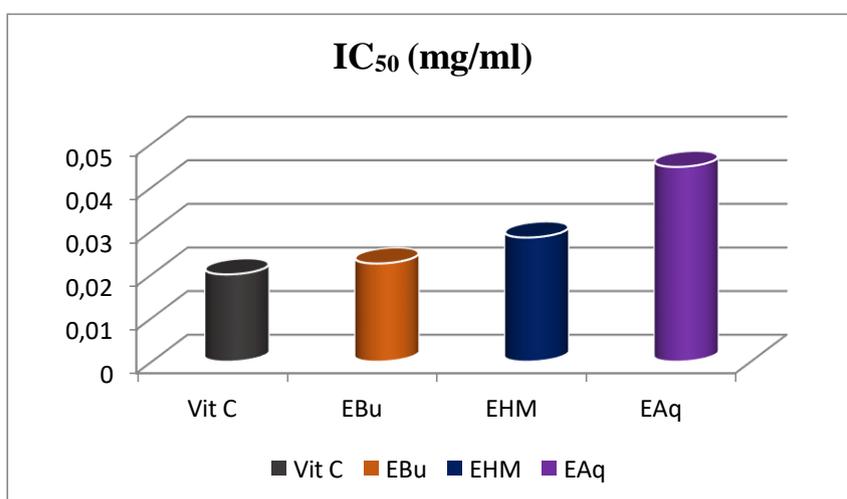


Figure III.5: Histogramme des valeurs IC₅₀ des trois extraits (EAq, EHM et EBU) et du VitC.

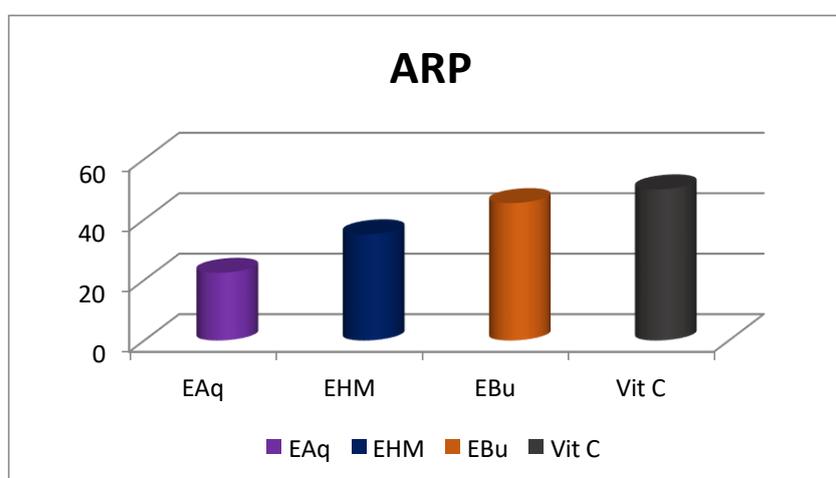


Figure III.6: Histogramme des valeurs ARP des trois extraits (EAq, EHM et EBU) et du standard Vit C.

D'une façon générale, les trois extraits testés (EAq, EHM et EBU) ont provoqué une diminution plus au

Chapitre III partie expérimental

moins importante de l'absorbance à 517 nm selon leurs concentrations.

Ainsi, ces trois extraits ont montré un pouvoir de piégeage de radical DPPH important avec un pourcentage d'inhibition élevé pour la plupart des concentrations.

Comme figurant dans le tableau précédent, l'antioxydant de standard naturel (Vit C) et les trois extraits

(EBu, EHM et EAq), possèdent une activité antioxydante puissante avec une IC_{50} de l'ordre de 0.02, 0.0225, 0.02846 et 0.04465 respectivement et cela permet de conclure que l'antioxydant naturel la Vitamine C possède une assez bonne activité anti-radicalaire par rapport aux extraits.

Ces résultats montrent également, un meilleur effet antioxydant de l'extrait aqueux (EAq) à une concentration de 0.25 mg/ml, car environ 96,97 % de DPPH sont inhibés.

Une étude réalisée par Bougandoura et Bendimerad en 2012 [102], sur des extraits méthanolique et aqueux de *Satureja calamintha*, montre que les extraits aqueux et méthanolique sont dotés d'un pouvoir antioxydant modéré, leur IC_{50} respectivement est de 1,876 et 2,075 mg/ml, mais relativement faible que celle d'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 0,134mg/ml.

Notre extrait Aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* montre un IC_{50} égale 0,04465mg/ml et 0,02846 mg/ml respectivement supérieur à celle de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 0,02$ mg /ml).

3.7. Etude réalisée sur l'oxyde de graphène

3.7.1. Réduction de l'oxyde de graphène par des extraits de *Satureja calamintha*

Dans cette partie l'oxyde de graphène a été réduit par les 3 extraits (EAq, EHM, et EBU) obtenus de l'espèce *Satureja calamintha*. La réduction du GO par la Vitamine C est également réalisée et prise comme référence.

Protocole expérimentale

Le mode opératoire adopté [104] pour la réduction de l'oxyde de graphène (GO) par les trois extraits (EBu, EAq et EHM), préparés à partir de l'espèce *Satureja calamintha*, ainsi que par la vitamine C est décrit comme suit :

Dans un ballon de 500 ml, on introduit 300 mg d'oxyde de graphène et 300 ml d'eau distillé. Le mélange est placé dans un bain à ultrasons pendant 15 minutes.

Chapitre III partie expérimental

Ensuite, 900 mg d'extrait de plante sont ajoutés au mélange précédent et l'agitation, dans le bain à ultrasons, est maintenue pendant 45 minutes. Enfin, le mélange est chauffé à 80°C pendant 3 heures. La



fin de la réaction est déterminée lorsque la couleur du mélange réactionnel change du marron en noir.

Figure III.7 : oxyde de graphène

Figure III.8 : oxyde de graphène réduit

Après refroidissement, on procède à la centrifugation du mélange obtenu pendant une durée de 30 minutes, à une vitesse maximale de 6000 tours par minute. Ensuite, le précipité (l'oxyde de graphène réduit RGO) est filtré et lavé avec 50 ml d'eau distillée jusqu'à l'obtention d'une eau claire.

3.7.2. Calcul du rendement

Le pourcentage de rendement pour les extraits a été calculé par la formule suivante:

$$R(\%) = \frac{M}{m} * 100$$

R (%) : Rendement de l'extrait.

M : la masse de produit obtenu (rGO).

m : la masse de réactif (GO).

Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Chapitre III partie expérimental

Tableau III.6: Rendement des différents extraits

Produits	Masse de produit obtenu rGO (mg)	Rendement (%)
VitC-rGO	72	24
HM-rGO	69,9	23,33
Bu-rGO	54	18
Aq-rGO	42,6	14,2

Nous constatons que les rendements des quatre produits sont élevés et varient d'un produit à un autre. Les pourcentages enregistrés sont compris entre 14,2% et 24%. Le produit (VitC-rGO) a donné le meilleur rendement (24%) suivi par (HM-rGO) avec 23,33% puis le produit (Bu-rGO) avec 18% et en fin le produit (Aq-rGO) avec un pourcentage de 14,2%.

3.8. Caractérisation des échantillons de l'oxyde de graphène et ses dérivés

3.8.1. Analyse FTIR

Pour la détermination de la composition chimique des quatre produits (Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO, VitC-rGO et GO) on a utilisé l'appareil spectromètre Thermo Scientifique qui est doté d'un logiciel avancé qui permet d'obtenir des résultats précis et fiables en analysant.

Les données collectées. Il est capable de détecter et d'identifier différents éléments, composés ou structures moléculaires présents dans un échantillon.

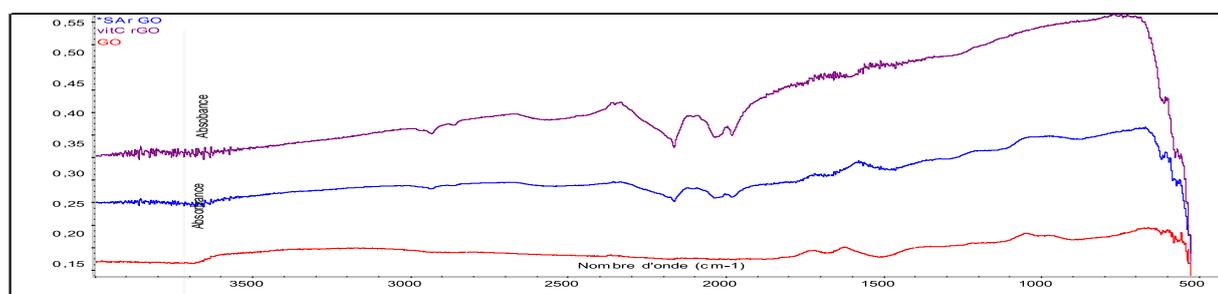


Figure III.9 : Spectres FTIR de Aq-rGo, Vit c r-Go et Go

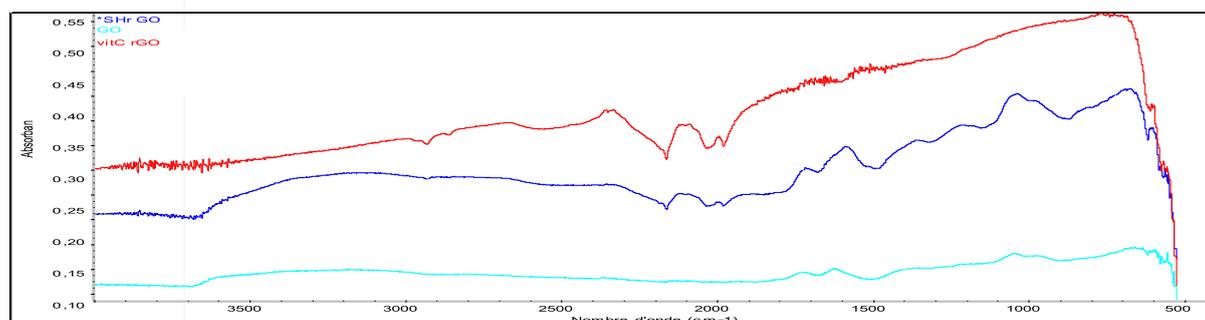


Figure III. 10 : Spectres FTIR de Hm- rGO, Vit c – rGO et GO

Chapitre III partie expérimental

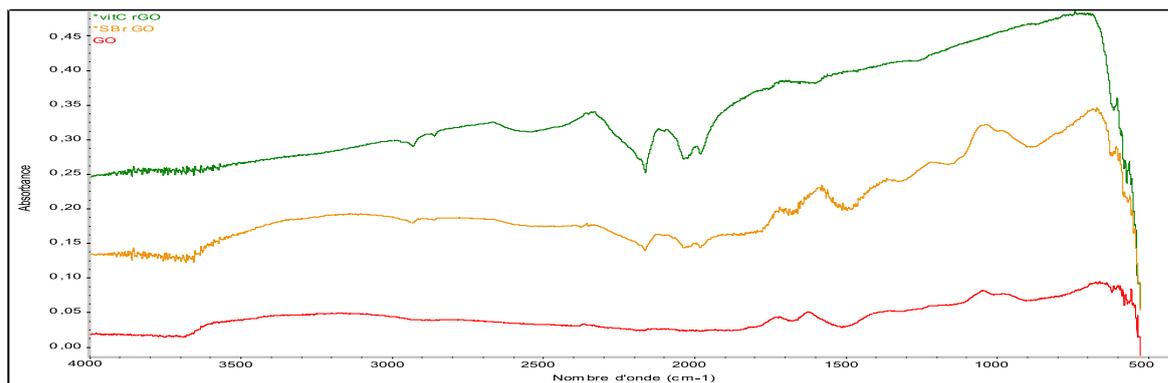


Figure III.11: Spectres FTIR, Bu-rGO, VitC-rGO et Go

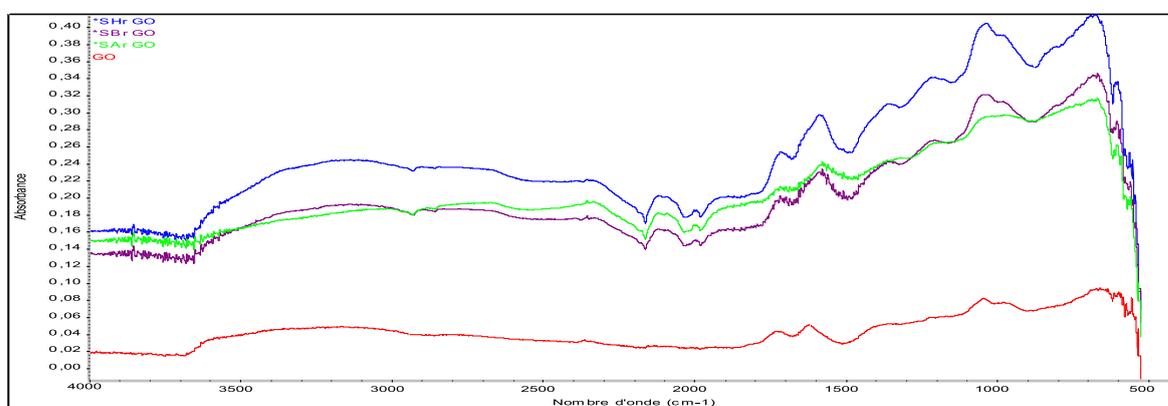


Figure III.12 : Spectres FTIR de Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO et GO.

L'analyse des spectres FT-IR permet de déterminer les groupes fonctionnels présents à la surface du graphène oxyde (GO) à différentes étapes de réduction du GO, en utilisant les extraits aqueux (Aq), l'acide hydrométallurgique (Hm), le butanol (Bu) et l'acide ascorbique (VitC).

Les résultats des spectres FT-IR ont été obtenus à température ambiante, dans la plage de 500 cm^{-1} à 4000 cm^{-1} . Le spectre FT-IR de GO présente généralement des pics d'absorption à 3600 cm^{-1} et 1400 cm^{-1} , qui sont attribués aux vibrations d'étirement des groupes O-H et C-O des acides carboxyliques présents sur les bords du GO. Le pic principal à environ 1200 cm^{-1} correspond à l'étirement vibrant des groupes C-O-C de l'époxyde. De plus, les pics à 1617 cm^{-1} et 1500 cm^{-1} suggèrent respectivement la présence de liaisons C=C et C=O dans le GO, confirmant ainsi la structure chimique du GO.

Les spectres FT-IR de rGO (graphène réduit) révèlent une diminution de l'intensité du pic à 1500 cm^{-1} , ce qui indique l'élimination des groupes C=O lors de la réduction du GO. Cela confirme que de nombreux

Chapitre III partie expérimental

groupes oxygène ont été éliminés pendant la transformation de GO en rGO, ce qui conduit à une réduction de la fonctionnalité oxygénée.

Les spectres de Aq-rGO et VitC-rGO montrent l'apparition de pics supplémentaires par rapport au spectre de GO. Les pics situés à 2900 cm^{-1} correspondent à la fonction aldéhyde, tandis que ceux à 2200 cm^{-1} correspondent au groupement alcyne. Ces observations suggèrent la présence de ces groupes fonctionnels spécifiques dans les échantillons Aq-rGO et VitC-rGO, probablement dus à l'introduction de ces groupes pendant la réduction du GO.

En résumé, l'analyse des spectres FT-IR permet de suivre les modifications des groupes fonctionnels à la surface du GO lors de sa réduction en rGO. Les pics caractéristiques d'absorption d'O-H, C-O, C=C et C=O confirment la structure chimique du GO, tandis que la diminution du pic à 1500 cm^{-1} dans le rGO

indique la réduction des groupes C=O.

3.8.2. Analyse DRX

DRX est une technique importante pour analyser la structure cristalline, l'identification de phase et le paramètre de réseau de GO et rGO.

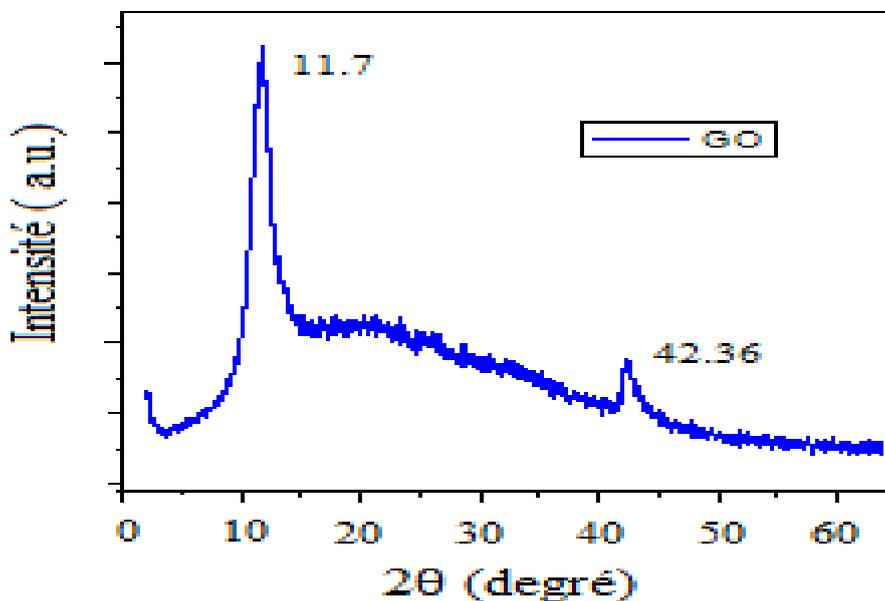


Figure III.13: Spectre de DRX de l'Oxyde de Graphène (GO pur).

On observe sur le spectre DRX de l'Oxyde de Graphène (GO), Figure III.13, un pic de diffraction au voisinage de 10° , situé à 11.7° correspondant à diffraction de la famille des plans (001), avec une distance interplanaire de $0,75\text{ nm}$. Ce pic est indicateur d'oxydation du graphite et de sa transformation en oxyde de graphène.

Chapitre III partie expérimental

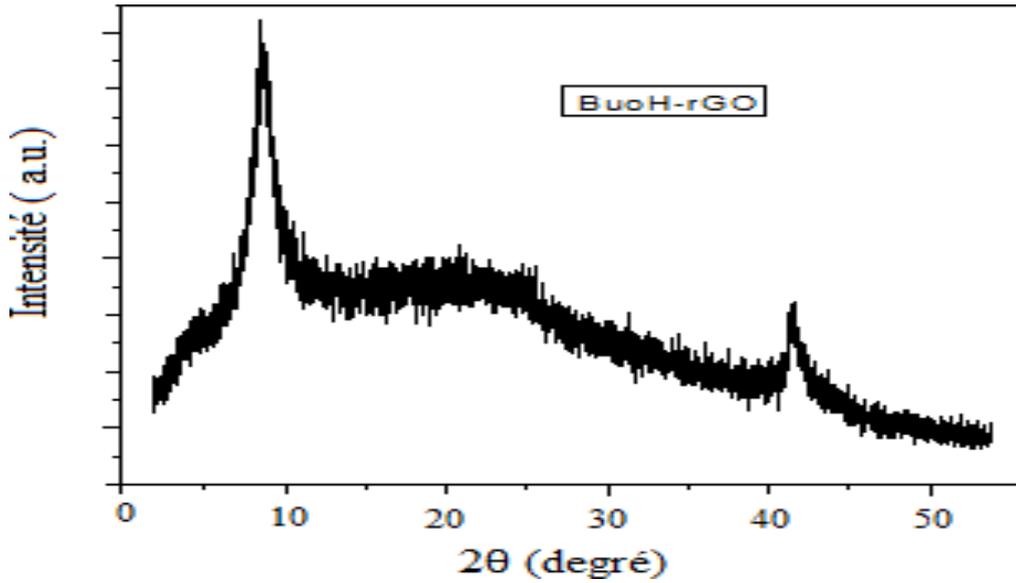


Figure III.14 :spectre de DRX de BuoH-rGO

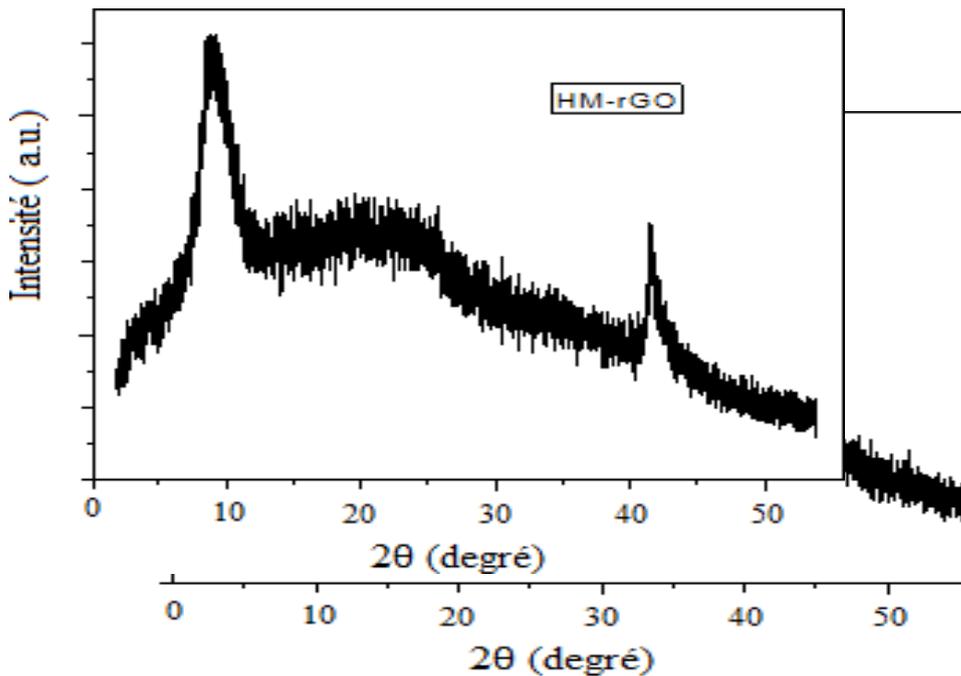


Figure III.15 : spectre de DRX de HM-RGO

Figure III.16: Spectre de DRX de Aq-rGO

Les figures III.14 et III.15 : présente les spectres de DRX du Bu-rGO et HM-rGO respectivement. On observe dans ces deux types d'échantillons des pics larges à $2\theta=21.5^\circ$, $2\theta=22.3^\circ$ et $2\theta=25^\circ$, dans lesquels la distance interplanaire est réduite à 0.48 nm, 0.47nm et

0.42 nm pour le Bu-rGO, HM-rGO et Aq-rGO respectivement. On note aussi l'apparition d'un pic de GO situé vers $2\theta= 10^\circ$ indiquant une réduction partielle de l'oxyde de graphène.

Chapitre III partie expérimental

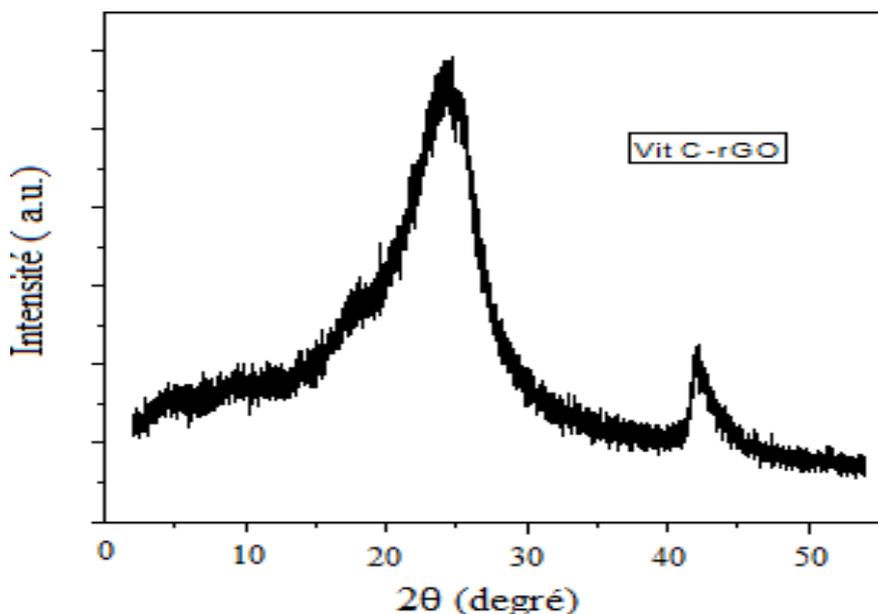


Figure III.17: Spectre de DRX du VitC-rGO

Figure III.17 présente le spectre de DRX du GO réduit par la vitamine-C, on observe un pic de diffraction intense situé à $2\theta = 24.4^\circ$ dans lequel la distance interplanaire (inter-réticulaire) est réduite à 0.43 nm en raison de l'élimination des groupes fonctionnels oxygénés. On remarque également la présence d'un pic moins intense à $2\theta = 43^\circ$ suggérant la présence d'un plan de graphène (001). On note aussi l'absence du pic indicateur d'oxydation au voisinage de 10° pour la vitamine-C, ce qui confirme une meilleure réduction de ce type d'échantillon en comparaison avec les échantillons HM-rGO, BuOH-rGO et Aq-rGO.

3.9. Etude de l'activité anti-radicalaire

L'activité anti-radicalaire de l'oxyde de graphène et l'oxyde de graphène réduit par la Vit Cet les trois extraits (Aq, HM et Bu) a été effectuée par la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

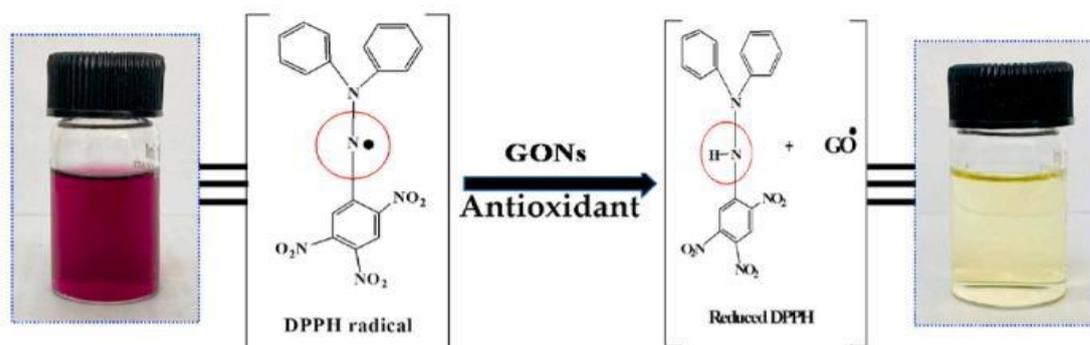


Figure III.18 :Mécanisme de capture du radical libre DPPH en molécule DPPHH en présence d'antioxydant [105].

Chapitre III partie expérimental

Nous avons adopté le même mode opératoire déjà décrit pour la détermination de l'activité antioxydante des extraits de la plante *Satureja calamintha*.

Le test DPPH est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité de piégeage des radicaux libres.

Le DPPH est souvent l'un des substrats les plus largement utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante, car sa forme radicalaire est stable et facile à analyser, ce qui en fait une méthode simple et souvent utilisée.

Tableau III. 7: Pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des produits Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO, VitC-rGO et GO.

Concentration (mg/ml)		0,0156	0,0312	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2
VitC-rGO	Abs	0,433	0,415	0,406	0,371	0,299	0,141	0,015	-
	% Inh	6,479	10,367	12,311	19,870	35,421	69,546	96,760	-
HM-rGO	Abs	0,325	0,277	0,264	0,225	0,202	0,180	0,168	0,149
	% Inh	4,411	18,529	22,352	33,823	40,588	47,058	50,588	56,176
Bu-rGO	Abs	0,434	0,419	0,405	0,377	0,351	0,319	0,266	0,189
	% Inh	1,363	4,772	7,954	14,318	20,227	27,500	39,545	57,045
Aq-rGO	Abs	0,335	0,330	0,321	0,301	0,275	0,252	0,232	0,160
	% Inh	0,593	2,077	4,747	10,682	18,397	25,222	31,157	52,522
GO	Abs	0,500	0,483	0,471	0,463	0,450	0,439	0,395	0,294
	% Inh	18,032	20,819	22,786	24,098	26,229	28,032	35,245	51,803

Les résultats obtenus par ce test du DPPH permettent de tracer les courbes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des quatre produits Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO, VitC-rGO et GO (figures III.19).

Chapitre III partie expérimental

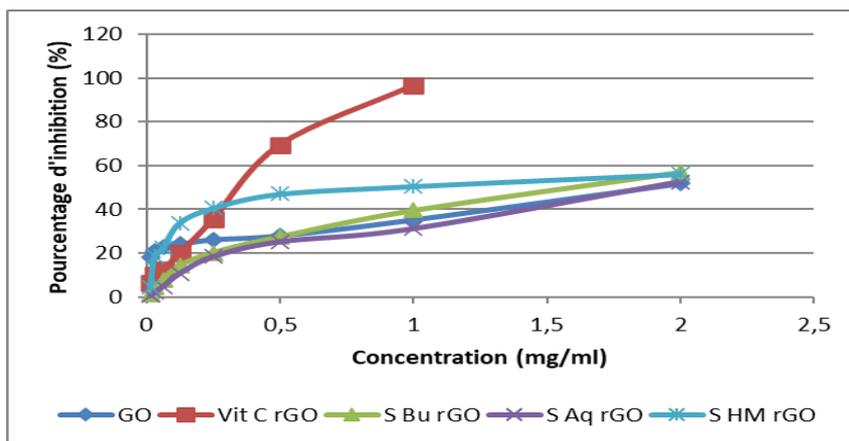


Figure III.19 : Courbes de pourcentage d'inhibition du DPPH des *quatre* produits Aq-RGO, Bu-RGO, HM-RGO et VitC-RGO

Nous observons que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'échantillon jusqu'à un seuil où le pourcentage d'inhibition se stabilise avec l'élévation de la concentration.

L'IC₅₀ est calculée graphiquement à partir de la courbe d'activité antioxydant. Les courbes ont été construites à partir du pourcentage d'inhibition des différentes concentrations utilisées pour chaque produit (Figures III.23).

Les valeurs d'IC₅₀ obtenus pour le GO et ses dérivés réduits sont présentées dans le tableau III.8

Tableau III.8: Valeurs IC₅₀ et ARP du GO et rGO (Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO, VitC-rGO et GO).

Extrait	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
Aq-rGO	1,89	0,529
Bu-rGO	1,98	0,50
HM-rGO	0,88	1,13
VitC-rGO	0,35	2,85

Ces résultats sont représentés sous forme d'Histogramme dans les figures III.24 et III.25

Chapitre III partie expérimental

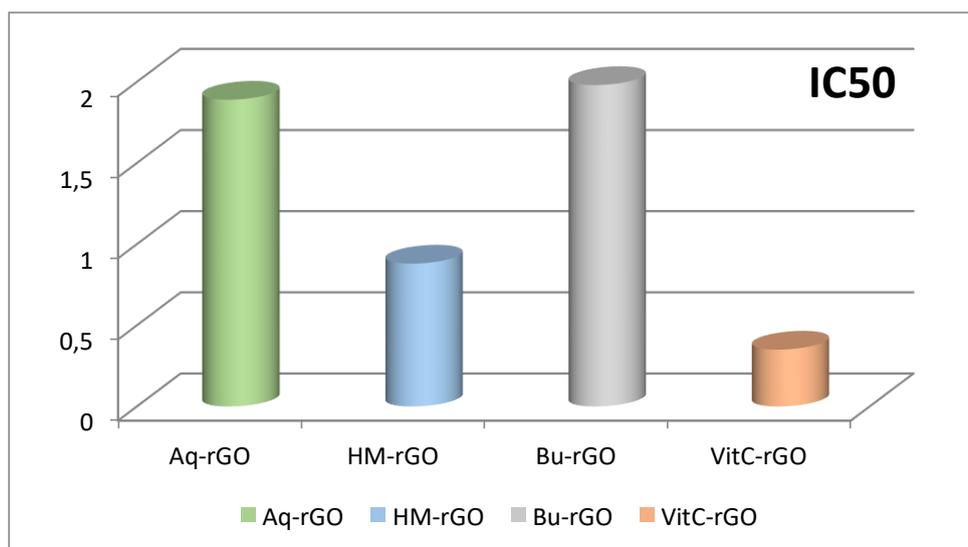


Figure III.20 : Histogramme des valeurs IC50 du rGO (Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO et VitC-rGO).

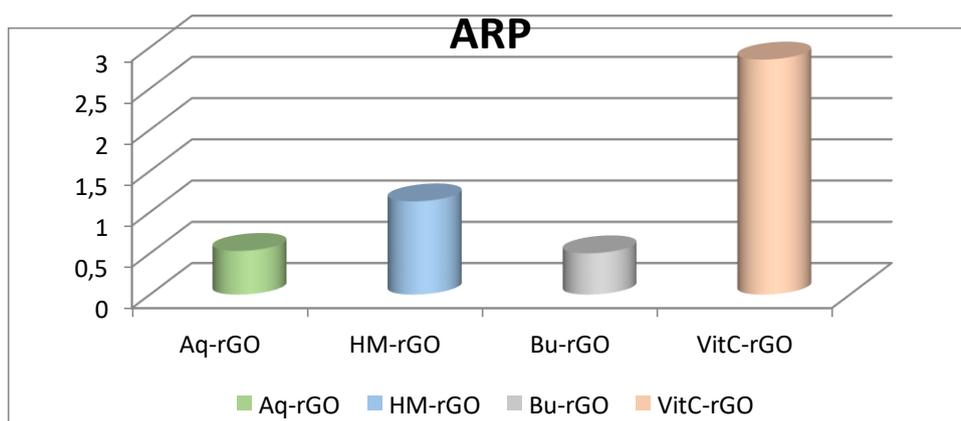


Figure III.21: Histogramme des valeurs ARP des quatre produit Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO et VitC-rGO.

D'une façon générale, les quatre échantillons du le GO et rGO (Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO et VitC-rGO) ont provoqué une diminution plus au moins importante de l'absorbance du DPPH à 517 nm.

Ainsi, ces quatre produits ont montré un pouvoir de piégeage de radical DPPH important avec un pourcentage d'inhibition élevé pour la plupart des concentrations.

D'après les résultats d'IC50 reportés dans le tableau III.8 et la figures III.24 et III.25, l'oxyde de graphène réduit par la Vit C (VitC-rGO) montre l'activité anti-radicalaire la plus élevée avec un IC50 de l'ordre de (0,35 mg/ml), suivi par le GO réduit par l'extrait (HM-rGO) avec un IC50 égale 0,88 mg/ml. Par ailleurs, le GO réduit par l'extrait Bu et Aq ont présentés une activité anti-radicalaire faible avec des IC50 égales (1,89 mg/ml et 1,98 mg/ml) respectivement par rapport à celles trouvées dans les rapports précédents.

Chapitre III partie expérimental

Ces résultats nous permettent de classer l'activité anti-radicalaire du GO et rGO selon l'ordre suivant :

VitC-rGO > HM-rGO > Aq-rGO > Bu-rGO.

Développement de produits antioxydants naturels. Ces résultats pourraient avoir un impact significatif sur les industries pharmaceutiques et cosmétiques, ainsi que sur le domaine de la santé, en fournissant des solutions plus durables et efficaces pour lutter contre les effets néfastes des radicaux libres.

Par comparaison avec la littérature, nous avons remarqué que les valeurs de l'activité anti-radicalaire obtenues dans notre étude (entre 31.15 et 50.58 % à la concentration de 1 mg/ml), sont nettement supérieures à celles obtenues dans l'étude de Bensouici et al. [106].

Cette dernière, a montré que l'activité anti-radicalaire de tous les échantillons de l'oxyde de graphène réduit chimiquement, déterminée par la méthode de DPPH, possèdent une activité qui ne dépasse pas 40% à des concentrations de 4mg/ml.

Conclusion générale

Cette étude s'est concentrée sur l'évaluation de l'activité antiradicalaire de l'oxyde de graphène réduit (rGO) à partir d'extraits de la plante *Satureja calamintha*. Les résultats obtenus soulignent l'importance de l'utilisation des extraits de plantes naturelles dans la préparation de nanocomposites fonctionnels dotés de propriétés antioxydantes.

Dans cette étude, trois extraits de la plante *Satureja calamintha* sont préparés selon des modes d'extraction différents, en macération ou à reflux en utilisant des solvants de polarité différentes.

L'activité antioxydante des extraits (EAq), (EHM) et (EBu) et du standard Vit C a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats révèlent que la Vit C possède une activité plus élevée avec une IC_{50} de 0.02 mg/ml que l'extrait (Bu) avec une IC_{50} de 0.0225 mg/ml. Les extraits (HM) et (Aq) donnent une faible activité avec une IC_{50} de 0.02846 mg/ml et 0.04465 mg/ml respectivement.

Ensuite, l'oxyde de graphène a été réduit par trois extraits (EAq, EHM et EBU) obtenus à partir de l'espèce *Satureja calamintha*. La réduction du GO par la vitamine C a également été réalisée et a servi de référence.

Concernant l'activité anti-radicalaire des produits (Aq-rGO, Bu-rGO, HM-rGO, VitC-rGO et GO) et du standard Vit C a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats révèlent que la Vit C possède une activité plus élevée avec une IC_{50} de 0,35 mg/ml que l'extrait (HM-rGO) avec une IC_{50} de 0,88 mg/ml. Les extraits (Aq-rGO) et (Bu-rGO) donnent une faible activité avec une IC_{50} de 1,89 mg/ml et 1,98 mg/ml respectivement.

L'activité antioxydante la plus élevée est celle obtenue de la réduction de l'oxyde de graphène par la vitamine C, avec un pourcentage de 96.76% à la concentration de 1 mg/ml.

Enfin, l'analyse des résultats nous a permis de suggérer que les extraits de *Satureja calamintha* peuvent agir comme des agents réducteurs efficaces lors de la synthèse du rGO, améliorant ainsi ses propriétés antioxydantes. Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives pour l'utilisation de matériaux nanocomposites à base de rGO dans des applications antioxydantes potentielles.

En somme, cette recherche offre des perspectives prometteuses pour l'utilisation de nanocomposites à base d'oxyde de graphène réduit obtenus à partir d'extraits de plantes dans le développement de produits antioxydants naturels. Ces résultats pourraient avoir un impact significatif sur les industries pharmaceutiques et cosmétiques, ainsi que sur le domaine de la santé, en fournissant des solutions plus durables et efficaces pour lutter contre les effets néfastes des radicaux

Références bibliographiques

- [1] Abdullah, R. and B. Fakieh, Health care employees' perceptions of the use of artificial intelligence applications: survey study. *Journal of medical Internet research*, 2020. **22**(5): p. e17620.
- [2] Hira, S.A. and K.H. Park, Nitrogen-doped zeolitic imidazolate framework and particle-reduced graphene oxide composites as electrochemical sensors and battery-type supercapacitors. *ACS Applied Nano Materials*, 2021. **4**(8): p. 7870-7878.
- [3] Kahriz, P.K., et al., Influence of synthesized functionalized reduced graphene oxide aerogel with 4, 4'-methylenedianiline as reducing agent on electrochemical and pseudocapacitance performance of poly orthoaminophenol electroactive film. *Electrochimica Acta*, 2020. **354**: p. 136736.
- [4] Flouda, P., et al., *Highly multifunctional dopamine-functionalized reduced graphene oxide supercapacitors*. *Matter*, 2019. **1**(6): p. 1532-1546.
- [5] Marand, N.A., et al., *Solution combustion synthesis of nickel sulfide/reduced graphene oxide composite powders as electrode materials for high-performance supercapacitors*. *Journal of Energy Storage*, 2021. **39**: p. 102637.
- [6] Xu Du, I.S., A. Barker, and E.Y. Andrei, *Approaching ballistic transport in suspended graphene*. *Nat. Nanotechnol*, 2008. **3**: p. 491-495.
- [7] Bolotin, K., K. Sikes, and Z. Jiang, *Klima, MG Fudenberg, J. Hone, P. Kim, and HL Stormer*. *Solid State Commun*, 2008. **146**: p. 351.
- [8] YE, J.A.N.D., Synthèse et application du graphène en tant que mousse absorbante de contaminations en milieu aqueux et ainsi qu'électrode pour la détection électrochimique du peroxyde d'hydrogène 2016 .GRA
- [9] Nair, R.R., et al., *Fine structure constant defines visual transparency of graphene*. *science*, 2008. **320**(5881): p. 1308-1308
- [10] Bass, M., et al., *Optics: Vol. 4, Set: Optical Properties of Materials, Nonlinear Optics, Quantum Optics* 2009: McGraw-Hill Professional Pub.
- [11] Novoselov, K.S., et al., *Electric field effect in atomically thin carbon films*. *science*, 2004. **306**(5696): p. 666-669.
- [12] Sanchez, V.C., et al., *Biological interactions of graphene-family nanomaterials: an interdisciplinary review*. *Chemical research in toxicology*, 2012. **25**(1): p. 15-34.
- [13] Iqbal, A.A., et al., *Graphene-based nanocomposites and their fabrication, mechanical properties and applications*. *Materialia*, 2020. **12**: p. 100815
- [14] N'Diaye, J.A., Synthèse et application du graphène en tant que mousse absorbante de contaminants en milieu aqueux et ainsi qu'électrode pour la détection électrochimique du peroxyde d'hydrogène. 2016.

Références bibliographiques

- [15] Hsieh, C.-J., et al. *A dual coordinate descent method for large-scale linear SVM*.in *Proceedings of the 25th international conference on Machine learning*. 2008.
- [16] Meng, N., *Fabrication et caractérisation de transistors à base de Graphène NanoRuban en vue d'application haute fréquence*, 2011, Lille 1
- [17] Wu, Y., et al., *High-frequency, scaled graphene transistors on diamond-like carbon*. *Nature*, 2011. **472**(7341): p. 74-78.
- [18] Rania, M., *Synthese et fonctionnalisation de l'oxyde de graphène réduit*. 2018.
- [19] Haddad Yousra, S.A., *SYNTHESE CHIMIQUE ET ELECTROCHIMIQUE DE COMPOSITES MIXTES*. 2021.
- [20] Duigou, O., *Développement de la croissance de graphène par CVD sur cobalt, analyses morphologique et structurale*, 2015, Université Paris Saclay (COMUE).
- [21] Parvez, K., et al., *Exfoliation of graphene via wet chemical routes*. *Synthetic Metals*, 2015. **210**: p. 123-132.
- [22] Salvatore, M., et al., *Synthesis and characterization of highly intercalated graphite bisulfate*. *Nanoscale Research Letters*, 2017. **12**: p. 1-8.
- [23] Ikram, R., B.M. Jan, and W. Ahmad, *An overview of industrial scalable production of graphene oxide and analytical approaches for synthesis and characterization*. *Journal of Materials Research and Technology*, 2020. **9**(5): p. 11587-11610.
- [24] Arshad, A., et al., *A review on graphene based nanofluids: Preparation, characterization and applications*. *Journal of Molecular Liquids*, 2019. **279**: p. 444-484.
- [25] Hummers Jr, W.S. and R.E. Offeman, *Preparation of graphitic oxide*. *Journal of the American chemical society*, 1958. **80**(6): p. 1339-1339.
- [26] Yusoff, F., K. Suresh, and W.M. Khairul, *Synthesis and characterization of reduced graphene oxide/iron oxide/silicon dioxide (rGO/Fe₃O₄/SiO₂) nanocomposite as a potential cathode catalyst*. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 2022. **163**: p. 110551.
- [27] Rashi, *Exploring the methods of synthesis, functionalization, and characterization of graphene and graphene oxide for supercapacitor applications*. *CERAMICS INTERNATIONAL*, 2023. **49**(1): p. 40-47.
- [28] Shahabi Nejad, M., S. Behzadi, and H. Sheibani, *Fabrication of ultra-small ruthenium nanoparticles on porous modified reduced graphene oxide and*

Références bibliographiques

- [29] Urbanová, V., et al., *A facile graphene oxide based sensor for electrochemical detection of neonicotinoids*. Biosensors and Bioelectronics, 2017. **89**: p. 532-537.
- [30] Novoselov, K.S., et al., *Room-temperature quantum Hall effect in graphene*. science, 2007. **315**(5817): p. 1379-1379.
- [31] Brodie, B.C., *XIII. On the atomic weight of graphite*. Philosophical transactions of the Royal Society of London, 1859(149): p. 249-259
- [32] Dimiev, A.M. and S. Eigler, *Graphene oxide: fundamentals and applications* 2016: John Wiley & Sons.
- [33] Staudenmaier, L., *Verfahren zur darstellung der graphitsäure*. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, 1899. **32**(2): p. 1394-1399.
- [34] Kohlschütter, V. and P. Haenni, *Zur Kenntnis des graphitischen Kohlenstoffs und der Graphitsäure*. Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie, 1919. **105**(1): p. 121-144.
- [35] Hofmann, U. and A. Frenzel, *Quellung von Graphit und die Bildung von Graphitsäure*. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series), 1930. **63**(5): p. 1248-1262.
- [36] Hamdi, H., *Zur Kenntnis der kolloidchemischen Eigenschaften des Humus: dispersoidchemische Beobachtungen an Graphitoxyd*, 1943, ETH Zurich.
- [37] Hofmann, U. and E. König, *Untersuchungen über graphitoxyd*. Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie, 1937. **234**(4): p. 311-336.
- [38] Sadeghinezhad, E., et al., *A comprehensive review on graphene nanofluids: Recent research, development and applications*. Energy Conversion and Management, 2016. **111**: p. 466-4
- [39] Hulagabali, M.M., G.R. Vesmawala, and Y.D. Patil, *Synthesis, characterization, and application of graphene oxide and reduced graphene oxide and its influence on rheology, microstructure, and mechanical strength of cement paste*. Journal of Building Engineering, 2023. **71**: p. 106586.
- [40] Akhavan, O., K. Bijanzad, and A. Mirsepah, *Synthesis of graphene from natural and industrial carbonaceous wastes*. RSC Advances, 2014. **4**(39): p. 20441-20448.
- [41] Shahid, M.M., et al., *An electrochemical sensing platform based on a reduced graphene oxide-cobalt oxide nanocube@ platinum nanocomposite for nitric oxide detection*. Journal of Materials Chemistry A, 2015. **3**(27): p. 14458-14468.
- [42] Dreyer, D.R., A.D. Todd, and C.W. Bielawski, *Harnessing the chemistry of graphene oxide*. Chemical Society Reviews, 2014. **43**(15): p. 5288-5301.
- [43] Feizi, S., et al., *Reduced graphene oxide/polymethyl methacrylate (rGO/PMMA) nanocomposite for real time gamma radiation detection*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment, 2019. **940**: p. 72-77.

Références bibliographiques

- [44] Song, J., X. Wang, and C.-T. Chang, *Preparation and characterization of graphene oxide*. Journal of Nanomaterials, 2014. 2014.
- [45] Gaines, L., et al. *Life-cycle analysis for lithium-ion battery production and recycling*. in *Transportation Research Board 90th Annual Meeting, Washington, DC*. 2011
- [46] Shahid, M.M., et al., *Enhanced electrocatalytic performance of cobalt oxide nanocubes incorporating reduced graphene oxide as a modified platinum electrode for methanol oxidation*. RSC Advances, 2014. **4**(107): p. 62793-62801.
- [47] Al-Gaashani, R., et al., *XPS and structural studies of high quality graphene oxide and reduced graphene oxide prepared by different chemical oxidation methods*. Ceramics International, 2019. **45**(11): p. 14439-14448.
- [48] Sharma, N., et al. *Synthesis and characterization of graphene oxide (GO) and reduced graphene oxide (rGO) for gas sensing application*. in *Macromolecular Symposia*. 2017. Wiley Online Library.
- [49] Ismail, Z., *Green reduction of graphene oxide by plant extracts: A short review*. Ceramics International, 2019. **45**(18): p. 23857-23868.
- [50] Monteserín, C., et al., *Effects of graphene oxide and chemically-reduced graphene oxide on the dynamic mechanical properties of epoxy amine composites*. Polymers, 2017. **9**(9): p. 449.
- [51] Korucu, H., et al., *Homogeneous graphene oxide production with the variance reduction techniques: Taguchi method with the principal component analysis*. Vibrational Spectroscopy, 2019. **104**: p. 102967.
- [52] Luo, D., et al., *An improved method to synthesize nanoscale graphene oxide using much less acid*. Materials Today Physics, 2019. **9**: p. 100097.
- [53] Emiru, T.F. and D.W. Ayele, *Controlled synthesis, characterization and reduction of graphene oxide: A convenient method for large scale production*. Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences, 2017. **4**(1): p. 74-79.
- [54] Verma, S. and R.K. Dutta, *A facile method of synthesizing ammonia modified graphene oxide for efficient removal of uranyl ions from aqueous medium*. RSC Advances, 2015. **5**(94): p. 77192-77203
- [55] Marcano, D.C. and D.V. Kosynkin, Berlin, JM Sinitskii, A. Sun, Z. Slesarev, A. Alemany, LB Lu and JM Tour. Improved synthesis of graphene oxide. *Acs Nano*, 2010. **4**(8): p. 4806.
- [56] Tambe, P., *Synthesis and characterization of acid treated reduced graphene oxide*. Materials Today: Proceedings, 2022. **49**: p. 1294-1297.
- [57] Al-Gaashani, R., et al., *Effects of preparation temperature on production of graphene oxide by novel chemical processing*. Ceramics International, 2021. **47**(7): p. 10113-10122.

Références bibliographiques

- [58] Aliyev, E., et al., *Structural characterization of graphene oxide: Surface functional groups and fractionated oxidative debris*. Nanomaterials, 2019. **9**(8): p. 1180.
- [59] Dong, S., et al., *Self-assembled hollow sphere shaped Bi₂WO₆/RGO composites for efficient sunlight-driven photocatalytic degradation of organic pollutants*. Chemical Engineering Journal, 2017. **316**: p. 778-789.
- [60] Çiplak, Z., N. Yildiz, and A. Çalimli, *Investigation of graphene/Ag nanocomposites synthesis parameters for two different synthesis methods*. Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures, 2015. **23**(4): p. 361-370.
- [61] Li, D., et al., *Processable aqueous dispersions of graphene nanosheets*. Nature nanotechnology, 2008. **3**(2): p. 101-105.
- [62] Loryuenyong, V., et al., *Preparation and characterization of reduced graphene oxide sheets via water-based exfoliation and reduction methods*. Advances in Materials Science and Engineering, 2013. **2013**.
- [63] Singleton, V.L., Rossi, J.A., Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. 1965.
- [64] Zeghad, N., Etude de contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique et évaluation de leur activité antibactérienne, mémoire de magister. Université Mentour Constantine. 2009.
- [65] Kujala, T.S., Lopnen, J.M., Klila, K.D., Phenolic and betacyanins in red beetroot: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. 2000.
- [66] Topçu, G., Ay, A., Billici, A., Sarihurkucu, C., Ozrurk, M., Ulubelen, A., A new flavone from antioxidant extracts of Pistacia terebinthus, food chemistry. 2007. **103**.
- [67] Antolovich, M., et al., Methods for testing antioxidant activity. Analyst, 2002. **127**(1): p. 183-198.
- [68] Labiod, R., Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta*: activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. PhD. Université de Annaba, Algérie, 2016.
- [69] Qi, X., et al., *Size-specified graphene oxide sheets: ultrasonication assisted preparation and characterization*. Journal of materials science, 2014. **49**: p. 1785-1793.
- [70] Politano, G.G., et al., *Physical investigation of electrophoretically deposited graphene oxide and reduced graphene oxide thin films*. Journal of Applied Physics, 2016. **120**(19): p. 195307.
- [71] Blois, M.S., *Antioxidant determinations by the use of a stable free radical*. Nature, 1958. **181**: p. 1199-1200.
- [72] Qiu, Y., et al., *Antioxidant chemistry of graphene-based materials and its role in oxidation protection technology*. Nanoscale, 2014. **6**(20): p. 11744-11755.

Références bibliographiques

- [73] Lee, Y.-M., et al., *Enhanced antioxidant activity of bioactives in colored grains by nano-carriers in human lens epithelial cells*. *Molecules*, 2018. **23**(6): p. 1327.
- [74] Rajeswari, R. and H.G. Prabu, *Synthesis characterization, antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities of ZnO nanorods on reduced grapheneoxide*. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 2018. **28**: p. 679-693.
- [75] Suresh, D., et al., *Cinnamon supported facile green reduction of graphene oxide, its dye elimination and antioxidant activities*. *Materials Letters*, 2015. **151**: p. 93-95.
- [76] Goyat, R., et al., *Modified low-temperature synthesis of graphene oxide nanosheets: Enhanced adsorption, antibacterial and antioxidant properties*. *Environmental Research*, 2022. **215**: p. 114245.
- [77] Kaur, K., et al., *Synthesis of some novel oxazolidinone-thiazole hybrids as potential antimicrobial, antioxidant and UV mediated DNA damage protecting agents*. *Medicinal Chemistry Research*, 2016. **25**: p. 2237-2249.
- [78] Kamal, R., et al., *Synthesis, characterization and in vitro antimicrobial evaluation of some novel hydrazone derivatives bearing pyrimidinyl and pyrazolyl moieties as a promising heterocycles*. *Medicinal Chemistry Research*, 2015. **24**: p. 2551-2560.
- [79] O. Eminagaoglu *et al.*, 'The in vitro antioxidative properties of the essential oils and methanol extracts of *Satureja spicigera* (K. Koch.) Boiss. and *Satureja cuneifolia* ten', *Food Chem*, vol. 100, no. 1, 2007, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.09.054
- [80] S. Momtaz and M. Abdollahi, 'An update on pharmacology of *Satureja* species; from antioxidant, antimicrobial, antidiabetes and anti-hyperlipidemic to reproductive stimulation', *International Journal of Pharmacology*, vol. 6, no. 4, 2010, doi: 10.3923/ijp.2010.346.353.
- [81] M. Kurkcuoglu, G. Tumen, and K. H. C. Baser, 'Essential oil constituents of *Satureja boissieri* from Turkey', *Chem Nat Compd*, vol. 37, no. 4, 2001, doi: 10.1023/A:1013714316862.
- [82] S. Burt, 'Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review', *International Journal of Food Microbiology*, vol. 94, no. 3, 2004. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.
- [83] M. Amalou, F. Dadkhah, A. Salehia, H. Farsam, and A. R. Dehpour, 'An anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of hydroalcoholic extract of *Satureja khuzistanica* Jamzad extract', *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 8, no. 1, 2005.
- [84] D. Mchedlishvili, Z. Kuchukashvili, T. Tabatadze, and G. Davitaia, 'Influence of flavonoids isolated from *Satureja hortensis* L. on hypercholesterolemic rabbits', *Indian J Pharmacol*, vol. 37, no. 4, 2005, doi: 10.4103/0253-7613.16577.
- [85] Benoît Boachon, 'Phylogenomic Mining of the Mints Reveals Multiple Mechanisms

Références bibliographiques

Contributing to the Evolution of Chemical Diversity in Lamiaceae', *Mol Plant*, vol. Volume 11, no. Issue 8, 6, 2018.

[86] N. Bougandoura and N. Bendimerad, 'Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq.', *Nature & Technologie*, vol. 9, no. juin, 2013.

[87] F. Jafari, F. Ghavidel, and M. M. Zarshenas, 'A Critical Overview on the Pharmacological and Clinical Aspects of Popular *Satureja* Species', *JAMS Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, vol. 9, no. 3. 2016. doi: 10.1016/j.jams.2016.04.003.

[88] M. José Pérez-Alonso, A. Velasco-Negueruela, and J. A. López Sáez, 'THE VOLATILES OF TWO CALAMINTHA SPECIES GROWING IN SPAIN, C. SYLVATICA BROMF. AND C. NEPETA (L.) SAVI.', *Acta Hortic*, no. 333, 1993, doi:10.17660/actahortic.1993.333.31.

[89] D. Ristorcelli, F. Tomi, and J. Casanova, 'Essential oils of *calamintha nepeta* subsp. *Nepeta* and subsp. *Glandulosa* from Corsica (France)', *Journal of Essential Oil Research*, vol. 8, no. 4, 1996, doi: 10.1080/10412905.1996.9700641.

[90] I. Bros, M. L. Soran, R. D. Briciu, and S. C. Cobzac, 'HPTLC quantification of some flavonoids in extracts of *Satureja hortensis* L. obtained by use of different techniques', in *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*, 2009. doi: 10.1556/JPC.22.2009.1.5.

[91] D. I. VÂRBAN, M. DUDA, R. VÂRBAN, and S. MUNTEAN, 'Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis* L. Culture', *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture*, vol. 66, no. 2, 1970, doi: 10.15835/buasvmcn-agr:4236.

[92] L. Panizzi, G. Flamini, P. L. Cioni, and I. Morelli, 'Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae', *J Ethnopharmacol*, vol. 39, no. 3, 1993, doi: 10.1016/0378-8741(93)90032-Z.

[93] S. Perrucci, F. Mancianti, P. L. Cioni, G. Flamini, I. Morelli, and G. Macchioni, 'In vitro antifungal activity of essential oils against some isolates of *Microsporum canis* and *Microsporum gypseum*', *Planta Med*, vol. 60, no. 2, 1994, doi: 10.1055/s-2006-959448.

[94] A. Giweli, A. M. Džamic, M. Sokovic, M. S. Ristic, and P. D. Marin, 'Antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *satureja thymbra* growing wild in libya', *Molecules*, vol. 17, no. 5, 2012, doi: 10.3390/molecules17054836.

Références bibliographiques

- [95] KERBOUCHE-HAMMOUM Lamia, 'Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles et d'extraits non volatils de sarriette (*Satureja calamintha* Scheele), d'origan (*Origanum floribundum* Munby), de germandrée (*Teucrium polium* Briq.) et de khella (*Ammi visnaga* Lamk). ', Ecole Nationale Supérieure Agronomique, alger, 2015.
- [96] F. Valerio, G. N. Mezzapesa, A. Ghannouchi, D. Mondelli, A. F. Logrieco, and E. V. Perrino, 'Characterization and Antimicrobial Properties of Essential Oils from Four WildTaxa of Lamiaceae Family Growing in Apulia', *Agronomy*, vol. 11, no. 7, 2021, doi: 10.3390/agronomy1107143
- [97] Sabah Chermat and Rachid Gharzouli, 'Quézel, P., & Santa, S. 1962–1963: Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Vol. 1, 2. CNRS, Paris, 566, 1170.', *J Mater Sci Eng A*, vol. 5, no. 2, 2015.
- [98] Burits, M. and F. Bucar, Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*, 2000. **14**(5): p. 323-328.
- [99] Molyneux, P., The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 2004. **26**(2): p. 211-219.
- [100] Salhi Aicha , Morseli Romaisa 'Evaluation du potentiel antioxydant des fractions de l'extrait chloroformique de l'espèce *salvia officinalis* L , 2022
- [101] Rao, V., *Phytochemicals as Nutraceuticals-Global Approaches to their role in Nutrition and Health* 2012.
- [102] Sharififar, F., et al., In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food control*, 2007. **18**(7): p. 800-805.
- [103] Bougandoura, N. and N. Bendimerad, Effet Antifongique Des Extraits Aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp.(*Nepeta*) briq. 2012.
- [104] Ismail, Z., Green reduction of graphene oxide by plant extracts: A short review. *Ceramics International*, 2019. **45**(18): p. 23857-23868.
- [105] Vinay, S., et al., *Rauvolfia tetraphylla* (devil pepper)-mediated green synthesis of Ag nanoparticles: applications to anticancer, antioxidant and antimutagenic. *Journal of Cluster Science*, 2019. **30**: p. 1545-1564.
- [106] Bensouici, A., et al., Decoration of Reduced Graphene Oxide with Magnesium Oxide during Reflux Reaction and Assessment of Its Antioxidant Properties. *C*, 2022. **8**(4): p. 49.