



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
كلية علوم الطبيعة والحياة
Département de biologie Cellulaire et Moléculaire
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية



MEMOIREDEFIND'ETUDE

En Vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en
Sciencesbiologiques
Spécialité: Toxicologie

THEME

Effet protecteur de l'extrait de *Petroselinum crispum* et des nanoparticules d'argent biosynthétisées contre la toxicité induite par le métribuzine

PrésentéPar :

Maamoun Tasnim

Rahal Manar

Saad Laib Takoua

Sai Maria

Tria Manar

Devantlejurycomposéde:

Président: M.A.A, Université d'El-Oued

Promoteur: Tlili Mohammed Laid M.C.A. Université d'El-Oued

Co-promoteur : Chekima Hicham Dr. Université de Biskra

Examineur: M.A.A, Université d'El-Oued

Année universitaire: 2025/2026

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous rendons grâce à **Allah le Tout-Puissant** de nous avoir accordé la santé, la patience, la force et la volonté de mener à bien ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrant, Monsieur **Tlili Mohammed Laid**, professeur à l'Université d'El Oued, pour avoir accepté de diriger ce travail. Nous le remercions sincèrement pour ses précieux conseils scientifiques, sa rigueur, sa disponibilité ainsi que pour son accompagnement constant tout au long de la réalisation de ce mémoire. Qu'il trouve ici l'expression de notre profond respect et de notre haute considération.

Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury qui ont bien voulu accepter d'évaluer ce travail malgré leurs nombreuses responsabilités. Nous leur sommes particulièrement reconnaissants pour le temps consacré à la lecture de ce mémoire ainsi que pour les remarques et suggestions pertinentes qu'ils apporteront afin d'en améliorer la qualité scientifique.

Nous adressons également nos sincères remerciements à l'ensemble des enseignants de l'Université d'El Oued ainsi qu'au personnel des laboratoires pédagogiques pour la qualité de la formation dispensée, leur soutien et leur disponibilité.

Enfin, nous exprimons notre profonde gratitude et notre affection indéfectible à nos parents et à nos frères pour leur confiance, leur soutien moral constant et leurs sacrifices tout au long de notre parcours universitaire.

Nos remerciements vont aussi à tous nos amis proches, qui ont toujours été une source d'encouragement, de motivation et de réconfort, même dans les moments les plus difficiles. Que chacun trouve ici l'expression de notre reconnaissance la plus sincère.

DEDICACE



﴿وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ﴾

لم تكن الرحلة قصيرة، ولا ينبغي لها أن تكون، ولم يكن الحلم قريباً، ولا الطريق محفوظاً بالتسهيلات، لكن فضل الله كان عظيماً.

وصلت رحلتي الجامعية إلى نهايتها بعد تعب ومشقة، وها أنا ذا أختتم بحث تخرجي، فالحمد لله اللهم لا تجعله آخر عهدي من العلم، واجعله خير بداية لطريقي أعظم أهدي ثمرة تخرجي هذه:

إلى ركني العظيم في الحياة، إلى من كلّله الله بالهيبة والوقار، وعلمني العطاء، وإلى من أحمل اسمه بكل افتخار، وأرجو من الله أن يمدّ في عمره ليرى ثماراً قد حان قطافها بعد طول انتظار... والدي العزيز
إلى من جعل الله الجنة تحت قدميها، واحتضنني قلبها قبل يديها، وسهّلت لي الشدائد بدعائها، إلى من كان دعمها سرّ نجاحي، وحنانها بلسم جراحي، إلى معلّمتي الأولى... والدتي الحبيبة
إلى الأعمدة الثابتة في الحياة، وأرضي الصلبة، وجداري المتين، إلى من مدّوا أيديهم في أوقات الضعف، وآمنوا بشجاعتني مهما ضعفت وارتخيت، إلى من شدّ الله بهم عضدي فكانوا خير معين... إخوتي وأخواتي
إلى الجنود الخفية الذين يفرحهم نجاحي، الذين مهّدوا طريق مسيرتي بدعائهم، وأنسوا صعوباتها بحبهم ودعمهم، من كانوا واقفين خلفي مثل ظلي مهما كثرت تخطّياتي... صديقاتي
وامتناني لكل من كان له فضل في مسيرتي، وساعدني ولو باليسير
وأخيراً، أتقدّم بخالص الشكر والتقدير
إلى الأستاذ المشرف شيخ تليبي محمد العيد، الذي لم يبخل علينا بعلمه وتوجيهاته القيّمة، وكان خير سندٍ وداعم طوال فترة إنجاز هذا العمل، فبصبره ونصائحه وتشجيعه تذلّلت الصعوبات، واكتملت خطوات هذا البحث.
أسأل الله أن يجزيه عنا خير الجزاء، وأن يبارك في علمه وعمله، وينفع بعلمه البلاد والعباد.

"تريعه منار"



DEDICACE

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قال الله تعالى: ﴿وَقُلْ اَعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ﴾

بعد مسيرةٍ مليئةٍ بالتعب والاجتهاد، أصل اليوم إلى نهاية مرحلةٍ جميلة من حياتي، مرحلة تعلمت فيها أن النجاح لا يأتي صدفة، بل يأتي بالصبر والإرادة والسعي الدائم إلى من كان تعبهما ودعاؤهما سبباً في وصولي إلى هذه اللحظة... إلى والديّ الكريمين، اللذين قدّما لي الحب والدعم دون مقابل، وكانا دائماً إلى جانبي في كل خطوة أخطوها، فلهما مني كل الشكر والامتنان والتقدير. حفظهما الله وأدامهما نعمة في حياتي

كما أتقدم بكل الشكر والتقدير إلى الأستاذ المشرف، على حسن تعامله وتوجيهاته القيمة التي كانت عوناً لي طوال فترة إنجاز هذه المذكرة. وأهدي هذا الإنجاز كذلك لكل من ساندني ولو بكلمة طيبة، ولكل شخص كان سبباً في منحي الأمل والثقة خلال هذه المرحلة وفي الأخير، أحمد الله على هذه اللحظة التي أرى فيها ثمرة تعبني أمامي، وأسأله أن يوفقني فيما هو آتٍ، وأن يجعل هذا النجاح بداية لأيام أجمل

" ساعي ماريا "



DEDICACE

"ومن قال: أنا لها... نالها،"

وإن استعصت يوماً أتاها رغم كل الصعاب.

لم تكن الرحلة قصيرة، ولا الطريق سهلاً كما تمنيت،

ولم يكن الحلم قريباً، لكنني تمسكت به بكل ما أملك من صبر وإيمان، حتى وصلت إلى هذه اللحظة التي انتظرتها طويلاً.

فالحمد لله على حلم كان بعيداً فأصبح اليوم حقيقة".

إلى من كانا النور الذي أضاء طريقي، والسند الذي اتكأت عليه في كل خطوة...

إلى أبي الغالي، الذي كان دائماً مصدر قوتي وفخري، والذي تعب وسهر ليمنحني الأمان والدعم لأصل إلى ما أنا عليه اليوم...

وإلى أمي الحبيبة، صاحبة القلب الحنون والدعوات الصادقة، التي كانت تزرع في داخلي الأمل كلما شعرت بالتعب، وكان حبها أعظم نعمة أستند إليها...

أهديكما ثمرة جهدي وتعب سنواتي، فمهما كتبت فلن أوفيكما حقكما.

حفظكما الله وأدامكما تاجاً فوق رأسي.

إلى إخوتي العزيزين، رفاقي في هذه الحياة ومصدر قوتي وسعادتي، شكرًا لكل لحظة دعم ومحبة كانت تخفف عني صعوبة الطريق.

وإلى أختي الصغيرة، قطعة من قلبي وفرحة أيامي، أسأل الله أن يحفظك ويجعل أيامك مليئة بالنجاح والسعادة.

إلى عائلتي وأحبتي، الذين كانوا بقربي بالدعاء والكلمة الطيبة والتشجيع، لكم مني كل المحبة والامتنان. إلى الدكتور المشرف، الذي كان مثلاً في العلم والتوجيه والصبر، ولم يبخل علينا بنصائحه وملاحظاته القيمة طوال إنجاز هذه المذكرة، أتقدم له بخالص الشكر والتقدير والاحترام.

وأخيراً...

إلى نفسي التي صبرت، واجتهدت، وتحملت الكثير حتى تصل إلى هذه اللحظة...

أهدي هذا العمل المتواضع، ثمرة تعبٍ طويل، وسنواتٍ من السعي والأمل والتحدّي، وفخرًا لكل لحظةٍ لم أستسلم فيها رغم الصعوبات.

" مأمون تسنيم "

DEDICACE

الحمد لله رب العالمين، حمداً كثيراً طيباً مباركاً فيه، الذي وفقني وأعانني على إنجاز هذا العمل، فله الحمد على نعمه الظاهرة والباطنة.

الى التي غطت الصعب بالإصرار
وجعلت السعي عنوان المسار
تركنت خلفها دوامة الاصرار
لتكتب النجاح بعز واعتبار
الى نفسي

الى سندي الاول والوحيد
الى صاحب القلب الحميد
فخري ان اكون سبب وجهك السعيد
يامن بقيت في عمري وطننا مجيد
الى والدي رحال محمد ناجح
الى من يفيض طهر ودادها
وان دربي يسير بدعائها
ونجاحي يكلل فيض عطائها
وحياتي سبيلا يسعي لإرضائها
الى والدتي الهام هيبته
الى صغيرة البيت
الى ضحكة تضيئ فرحتي
بصدق الدم والوداد رفيقتي
ارجو لها نيل أكثر من رفعتي
اختي ريتال

أنتم سندي وفخري بعد الله، اهدي لكم تخرجي
هذا تقدير لدعمكم ومحبتكم الدائمة
دمتم لي نعمة مراد، محمد العيد ونزار

الى من انتشلني من طريق الحيرة وانار لي دروب العلم والمعرفة كان ومزال وسيبقي دائما مصدر الامل
والتفاؤل قدوتي وسندي وملهمي ومعلمي كل الشكر ولامتنان على دعمك وصبرك وتوجيهاتك القيمة
فقد كان بفضلك أثر كبير في انجاز هذا العمل الدكتور محمد العيد تليلي

إلى من منحتني من وقتها وخبرتها، وساهمت في إثراء هذا العمل، لها مني كل التقدير والاحترام
أهدي هذا العمل المتواضع عرفاناً وامتناناً لما قدمته لي من دعم ومساندة. الاستاذة منى شريط
إلى من شاركوني الأحلام والطموحات، والضحكات والذكريات التي لا تُنسى، أهديك هذه المذكرة
عربون محبة ووفاء. تقوي. هاجر منارة حنينميمة حفصة وحرورية سارة اسماء آمنة
وإلى كل روح شاركتني بدعائها

"منار رحال"

DEDICACE

الحمد لله حمداً كثيراً طيباً مباركاً فيه،
الحمد لله الذي أنار دربي، ومنحني القوة والصبر لإتمام هذا العمل،
فبفضله وحده تبدأ الخطوات وتكتمل النجاحات.
إلى من كانت النور الذي يضيء دربي،
إلى أُمي الغالية...

التي لم تبخل عليّ يوماً بحنانها ودعائها وصبرها الطويل،
والتي سهرت معي وساندتني في لحظات التعب والضعف والانكسار،
وكان وجودها بقربي يمنحني القوة والأمان كلما أثقلتني الأيام.
يا أُمي... مهما كتبت لن أوفيك حقك،
فأنت أعظم نعمة في حياتي.
وإلى أبي العزيز...

ذلك الرجل الذي كان دعمه صامداً لكنه عظيم،
الذي علمني أن التعب طريق النجاح، وأن الصبر يصنع المستحيل،
شكراً لأنك كنت دائماً الأمان والقوة التي أستند إليها،
ولأنك آمنت بي في كل لحظة.
وإلى إخوتي الأعزاء...

رفقاء أيامي وسندي الجميل،
الذين هونوا عليّ شقاء الأيام والتعب بالضحك والمرح،
وكانوا ينتظرون معي لحظة الفرح الأخيرة بكل حب.
شكراً لأن وجودكم جعل هذه الرحلة أخف وأجمل.
كما أتقدم بخالص الشكر والتقدير إلى أستاذي المشرف
الدكتور تليلي محمد العيد،

الذي كان لتوجيهاته ونصائحه القيمة الأثر الكبير في إنجاز هذا العمل،
فله مني كل الاحترام والامتنان.

كما أتوجه بالشكر إلى الطالبات المشاركات معي،
على روح التعاون والمساندة طوال فترة إنجاز هذا العمل.
وفي الختام...

أهدي ثمرة هذا الجهد لكل من دعمني ووقف إلى جانبي،
راجية أن يكون هذا العمل بداية خير ونجاح لنا جميعاً.

"سعد العايب تقوى"



RÉSUMÉ

Cette étude expérimentale porte sur l'évaluation des propriétés phytochimiques de *Petroselinum crispum* (récolté à El Oued) et sur son efficacité protectrice, sous forme d'extrait et de nanoparticules d'argent (AgNPs), contre la toxicité induite par l'herbicide métribuzine chez le rat Wistar.

L'analyse quantitative de l'extrait hydroéthanolique a révélé des teneurs significatives en composés bioactifs : $3,33 \pm 0,10$ mg EAG/g de polyphénols totaux, $1,32 \pm 0,05$ mg EQ/g de flavonoïdes et $1,8 \pm 0,18$ mg EC/g de tanins condensés. Ces composés confèrent à la plante une activité antioxydante réelle, avec une IC₅₀ de $5,95 \pm 0,26$ mg/mL (test DPPH) et un pouvoir réducteur ferrique (FRAP) élevé de $5,17 \pm 0,12$. La biosynthèse verte des AgNPs a été confirmée par un pic d'absorption UV-Visible à 425 nm et une structure cristalline cubique à faces centrées validée par DRX.

Sur le plan biologique, l'administration de métribuzine (13 mg/kg) a provoqué une toxicité multisystémique marquée par une baisse de 23,6 % du nombre de globules rouges ($6,24$ contre $8,17 \times 10^6/\mu\text{L}$) et de 31,4 % du taux d'hémoglobine. La fonction rénale a été sévèrement altérée avec une hausse de 89,2 % de la créatininémie (11,2 contre 5,92 mg/L). Au niveau tissulaire, le stress oxydatif s'est manifesté par une inhibition de la catalase de 59,1 % et une augmentation du MDA (marqueur de la lipoperoxydation) de 64 %.

L'étude comparative démontre que les AgNPs biosynthétisées offrent la protection la plus complète, surpassant l'extrait brut et la vitamine C. Elles ont permis de ramener la créatinine à 6,40 mg/L (valeur proche du témoin) et de normaliser la réponse inflammatoire avec $10,95 \times 10^3/\mu\text{L}$ de leucocytes contre 14,37 dans le groupe intoxiqué. Ces résultats confirment le potentiel thérapeutique de la nanobiotechnologie verte issue de *P. crispum* pour contrer les dommages physiologiques liés aux pesticides.

Mots-clés : *Petroselinum crispum*, AgNPs, polyphénols, métribuzine, antioxydante, *in vivo*.

ABSTRACT

This experimental study investigated the phytochemical properties of *Petroselinum crispum* collected from El Oued and evaluated its protective efficacy, in the form of crude extract and silver nanoparticles (AgNPs), against metribuzin-induced toxicity in Wistar rats.

Quantitative phytochemical analysis of the hydroethanolic extract revealed significant levels of bioactive compounds, including 3.33 ± 0.10 mg GAE/g of total polyphenols, 1.32 ± 0.05 mg QE/g of flavonoids, and 1.80 ± 0.18 mg CE/g of condensed tannins. These phyto-constituents conferred considerable antioxidant activity, with an IC_{50} value of 5.95 ± 0.26 mg/mL in the DPPH assay and a high ferric reducing antioxidant power (FRAP) value of 5.17 ± 0.12 . Green biosynthesis of AgNPs was successfully confirmed by a characteristic UV–Visible absorption peak at 425 nm and a face-centered cubic crystalline structure validated by X-ray diffraction (XRD) analysis.

Biologically, administration of metribuzin (13 mg/kg) induced marked multisystem toxicity, characterized by a 23.6% reduction in red blood cell count (6.24 vs. $8.17 \times 10^6/\mu\text{L}$) and a 31.4% decrease in hemoglobin concentration. Renal function was severely impaired, as evidenced by an 89.2% increase in serum creatinine levels (11.2 vs. 5.92 mg/L). At the tissue level, oxidative stress was manifested by a 59.1% inhibition of catalase activity and a 64% elevation in malondialdehyde (MDA), a marker of lipid peroxidation.

Comparative evaluation demonstrated that biosynthesized AgNPs provided the most effective protective activity, surpassing both the crude extract and vitamin C treatment. AgNP administration restored creatinine levels to 6.40 mg/L, approaching normal control values, and normalized the inflammatory response, with leukocyte counts reduced to $10.95 \times 10^3/\mu\text{L}$ compared with $14.37 \times 10^3/\mu\text{L}$ in the intoxicated group. These findings highlight the therapeutic potential of green nanobiotechnology derived from *P. crispum* in mitigating pesticide-induced physiological and oxidative damage.

Key-words: *Petroselinum crispum*, AgNPs, polyphenols, metribuzin, antioxidant, *in vivo*

ملخص

تناولت هذه الدراسة التجريبية تقييم الخصائص الكيميائية النباتية لنبات البقدونس (*Petroselinum crispum*) المحصول من منطقة الوادي، ودراسة فعاليته الوقائية، سواء في شكل مستخلص نباتي أو جسيمات فضة نانوية (AgNPs)، ضد السمية المستحثة بمبيد الأعشاب ميتريبيوزين لدى جرذان ويستر.

أظهر التحليل الكمي للمستخلص الهيدروإيثانولي محتوى معتبراً من المركبات الحيوية، حيث بلغت كمية البوليفينولات الكلية 0.10 ± 3.33 ملغ مكافئ حمض الغاليك/غ، والفلافونويدات 0.05 ± 1.32 ملغ مكافئ الكيرسيتين/غ، والتانينات المكثفة 0.18 ± 1.80 ملغ مكافئ الكاتيشين/غ. وقد منحت هذه المركبات النباتية نشاطاً مضاداً للأكسدة ملحوظاً، تمثل في قيمة IC_{50} بلغت 0.26 ± 5.95 ملغ/مل في اختبار DPPH، إضافة إلى قدرة اختزالية مرتفعة للحديد (FRAP) بقيمة 0.12 ± 5.17 . كما تم تأكيد التخليق الأخضر لجسيمات الفضة النانوية من خلال ظهور قمة امتصاص مميزة عند 425 نانومتر في تحليل UV-Visible، وبنية بلورية مكعبة متمركزة الوجه مؤكدة بواسطة حيود الأشعة السينية (XRD).

من الناحية البيولوجية، أدى إعطاء الميتريبيوزين بجرعة 13 ملغ/كغ إلى إحداث سمية متعددة الأجهزة، تمثلت في انخفاض عدد كريات الدم الحمراء بنسبة 23.6% (6.24 مقابل 8.17×10^6 /ميكرو لتر) وانخفاض نسبة الهيموغلوبين بنسبة 31.4%. كما تضررت الوظيفة الكلوية بشكل واضح بارتفاع مستوى الكرياتينين في المصل بنسبة 89.2% (11.2 مقابل 5.92 ملغ/لتر). وعلى المستوى النسيجي، تجلّى الإجهاد التأكسدي من خلال تثبيط نشاط إنزيم الكاتالاز بنسبة 59.1% وارتفاع مستوى المالوندايديهيد (MDA)، وهو مؤشر على بيروكسدة الدهون، بنسبة 64%.

وأظهرت الدراسة المقارنة أن جسيمات الفضة النانوية المحضرة حيوياً وفرت أفضل تأثير وقائي، متفوقة على المستخلص الخام وفيتامين C. إذ ساهمت في خفض مستوى الكرياتينين إلى 6.40 ملغ/لتر، وهي قيمة قريبة من المجموعة الشاهدة، كما ساعدت في استعادة التوازن الالتهابي من خلال خفض عدد الكريات البيضاء إلى 10.95×10^3 /ميكرو لتر مقارنة بـ 14.37×10^3 /ميكرو لتر في المجموعة المصابة. وتؤكد هذه النتائج إمكانات العلاجية الواعدة لتقنيات النانو الحيوية الخضراء المستخلصة من *Petroselinum crispum* في الحد من الأضرار الفسيولوجية والتأكسدية الناتجة عن المبيدات الزراعية.

الكلمات المفتاحية: نبات البقدونس، جسيمات فضة نانوية، البوليفينولات، الميتريبيوزين، مضاداً للأكسدة، الجسم الحي.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

<i>Abréviation</i>	<i>Signification</i>
<i>ADN</i>	Acide Désoxyribonucléique
<i>ATP</i>	Adénosine Triphosphate
<i>BSA</i>	Albumine de Sérum Bovin
<i>CAT</i>	Catalase
<i>COX-2</i>	Cyclo-oxygénase-2
<i>DPPH</i>	2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle
<i>DTNB</i>	Acide 5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoïque)
<i>Fe</i>	Fer
<i>GSH</i>	Glutathion Réduit
<i>H₂O₂</i>	Peroxyde d'Hydrogène
<i>IC50</i>	Concentration Inhibitrice 50 %
<i>Kg</i>	Kilogramme
<i>LD50</i>	Dose Létale 50 %
<i>MDA</i>	Malondialdéhyde
<i>Mg</i>	Magnésium
<i>mL</i>	Millilitre
<i>mm</i>	Millimètre
<i>NaCl</i>	Chlorure de Sodium
<i>OMS</i>	Organisation Mondiale de la Santé
<i>PBS</i>	Solution Tampon Phosphate
<i>Petroselinum crispum</i>	Persil
<i>pH</i>	Potentiel Hydrogène
<i>ROS</i>	Espèces Réactives de l'Oxygène
<i>RPM</i>	Tours par Minute
<i>SOD</i>	Superoxyde Dismutase
<i>UV</i>	Ultraviolet
<i>Vit</i>	Vitamine



<i>μg</i>	Microgramme
<i>μL</i>	Microlitre

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Comparaison synthétique.....	26
Tableau 2. Tableau synthétique des principaux composés	32
Tableau 3. Tableau synthétique des propriétés.....	34
Tableau 4. Tableau synthétique des usages modernes en toxicologie	38
Tableau 5. Paramètres pharmacocinétiques et toxicocinétiques de la métribuzine.....	48
Tableau 6. Mécanismes d'action et conséquences physiopathologiques	50
Tableau 7. Valeurs de létalité aiguë et catégories de danger.....	52
Tableau 8. Biomarqueurs de la néphrotoxicité induite par la métribuzine	57
Tableau 9. Gamme de dilution de la catéchine pour l'étalonnage	78
Tableau 10. Organisation du plan de charge pour le test FRAP	80
Tableau 11. Schéma de dilution de l'extrait pour le test DPPH	82
Tableau 12. Principales bandes d'absorption FTIR et leurs attributions moléculaires pour les nanoparticules d'argent biosynthétisées.	95
Tableau 13. Comparaison des caractéristiques spectrales (UV-Vis et FTIR) et de la stabilisation des nanoparticules d'argent de notre étude avec la littérature.....	97
Tableau 14. Comparaison des paramètres structuraux et cristallographiques (DRX) des nanoparticules d'argent de notre étude avec la littérature.	99
Tableau 15. Valeurs moyennes des paramètres hématologiques érythrocytaires en fonction des groupes expérimentaux.	112
Tableau 16. Valeurs moyennes des paramètres biochimiques rénaux en fonction des groupes expérimentaux.	114
Tableau 17. Valeurs moyennes du nombre de globules blancs en fonction des groupes expérimentaux.	115
Tableau 18. Activité de la catalase ($M \pm ET$) dans les différents groupes expérimentaux et variation relative par rapport au groupe témoin	116
Tableau 19. Taux de malondialdéhyde ($M \pm ET$, nmol/mg de protéines) dans les différents groupes expérimentaux et variation relative par rapport au groupe témoin.....	119
Tableau 20. Profil de protection intégratif des agents testés sur les trois biomarqueurs du stress oxydatif (évaluation qualitative ordonnée).....	128

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Description botanique de <i>Petroselinum crispum</i>	25
Figure 2. Carte de répartition géographique.....	30
Figure 3. Schéma de composition chimique	33
Figure 4. Tableau illustratif des propriétés pharmacologiques	35
Figure 5. Illustration des usages traditionnels et modernes.....	39
Figure 6. Mécanismes moléculaires de la toxicité induite par l'apiol et la myristicine : Altérations mitochondriales, stress oxydatif et dysfonctions viscérales	41
Figure 7. Structure moléculaire et formule brute de la métribuzine.....	45
Figure 8. Inhibition du photosystème II par la métribuzine	46
Figure 9. Schéma simplifié du devenir de la métribuzine dans l'organisme.....	49
Figure 10. Stress oxydatif et perturbations cellulaires induites par la métribuzine.....	50
Figure 11. Organes cibles et effets chroniques de la métribuzine.....	55
Figure 12. Mécanismes de néphrotoxicité : stress oxydatif et inflammation	56
Figure 13. Mesures de prévention et gestion du risque de la métribuzine	64
Figure 14. El-Houd, Guemar (33.524557083205856, 6.784021295180072)	67
Figure 15. Une image réaliste de la ferme d'où provenait le persil.	68
Figure 16. Plan expérimental et répartition des groupes des rats expérimentales.....	85
Figure 17. Analyse FTIR des nanoparticules d'argent biosynthétisées	94
Figure 18. Analyse UV-visible des nanoparticules d'argent.....	96
Figure 19. Analyse DRX de nanoparticules d'argent.....	98
Figure 20. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	94
Figure 21. Courbe d'étalonnage de quercétine.....	96
Figure 22. Courbe d'étalonnage catéchine.....	98
Figure 23 Valeur D' IC50	108
Figure 24. Résultats du test Frap	110
Figure 25. Taux de GSH selon les groupes expérimentaux	122

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	
DEDICACE.....	
DEDICACE.....	
DEDICACE.....	
DEDICACE.....	
DEDICACE.....	
RÉSUMÉ	
ABSTRACT	
ملخص	
LISTE DES ABRÉVIATIONS	
LISTE DES TABLEAUX.....	
LISTE DES FIGURES	
SOMMAIRE	
INTRODUCTION	
Partie 1 : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	

Chapitre 1 : Présentation du persil (<i>Petroselinum crispum</i>)	22
I.1. Introduction	23
I.2. Classification scientifique et botanique de <i>Petroselinum crispum</i>	23
I.3. Répartition géographique et culture de <i>Petroselinum crispum</i>	28
I.4. Constituants chimiques et propriétés pharmacologiques de <i>Petroselinum crispum</i>	31
I.5. Usages médicaux et traditionnels de <i>Petroselinum crispum</i>	35
I.6. Études scientifiques antérieures	39

Chapitre 2 : L'herbicide métribuzine : toxicocinétique, mécanismes de toxicité et effets sur l'organisme humain	42
I. Introduction.....	43
II. Généralités sur les herbicides triazinones.....	43
III. Présentation scientifique de la métribuzine.....	45
IV. Toxicocinétique de la métribuzine chez l'homme.....	46
V. Mécanismes biologiques et moléculaires de toxicité.....	49
VI. Toxicité aiguë de la métribuzine	52
VII. Toxicité chronique et effets systémiques.....	53
VIII. Néphrotoxicité induite par la métribuzine (<i>axe central du mémoire</i>)	55
IX. Comparaison entre la métribuzine et d'autres pesticides	58
X. Données réglementaires et évaluation du risque toxicologique	61
XI. Prévention, gestion du risque et perspectives	62
Partie 2 : Partie Pratique	65

Chapitre 1 : Matériel et méthodes	66
4.3. Matériel et Méthodes d'Extraction.....	67
4.4. Synthèse et purification des nanoparticules d'argent (AgNPs).....	69
4.5. Préparation de la solution de nitrate d'argent.....	72
4.6. Dosage des polyphénols totaux (méthode de Folin–Ciocalteu)	73
4.7. Dosage des flavonoïdes totaux (méthode au chlorure d'aluminium) ..	74
4.5. Dosage des tanins condensés (méthode à la vanilline)	76
4.8. Détermination du pouvoir réducteur (FRAP) avec l'acide ascorbique	78
4.9. Évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH.....	81
4.11. Étude <i>in vivo</i>	83
4.12. Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydatif.....	87
4.13. Etude histologique	91
 Chapitre 2 : Résultats et Discussion	 93
 1. Caractérisationsdes nanoparticules d'argent.....	 94
1.1. Analyse FTIR des nanoparticules d'argent biosynthétisées.....	94
1.2. Analyse UV-visible des nanoparticules d'argent	95
1.3. Analyse DRX de nanoparticules d'argent.....	97
 1.4. Dosage des polyphénols	 100
1.5. Dosage des flavonoïdes.....	101
1.6. Dosage des tanins.....	103
 2. Activités Biologique.....	 107
2.1. Test DPPH.....	107
2.2. Test de FRAP	109
 3. Résultats de l'analyse biochimique.....	 112
3.1. Effets du pesticide et des traitements sur les paramètres hématologiques érythrocytaires.....	112
3.2. Effets des traitements sur les paramètres biochimiques de la fonction rénale.....	113
3.3. Effets des traitements sur les globules blancs et la réponse inflammatoire	114
3.4. Résultats de l'évaluation de l'activité catalasique	115
3.5. Résultats de Malo dialdéhyde (MDA)	118
3.6. Résultats de Glutathion Réduit (GSH).....	122
Les résultats de dosage de GSH sont présentés dans la figure (25).	122
CONCLUSION	
RÉFÉRENCES.....	
ANNEXE	



Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales occupent une place importante dans l'alimentation humaine et dans les pratiques thérapeutiques traditionnelles grâce à leur richesse en composés biologiquement actifs (Savoia, 2012). Parmi ces plantes, *Petroselinum crispum* (persil) est largement utilisé dans les régions méditerranéennes et nord-africaines pour ses propriétés culinaires et médicinales (Farzaei et al., 2013).

Appartenant à la famille des Apiaceae, le persil est une plante aromatique riche en flavonoïdes, composés phénoliques, vitamines et huiles essentielles (Tunçtürk et al., 2018). Ces métabolites secondaires lui confèrent plusieurs activités biologiques telles que les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et diurétiques (Aissani et al., 2020). Plusieurs études ont montré que ces composés participent à la protection cellulaire contre le stress oxydatif et les dommages tissulaires (Khalid et al., 2022).

Les principaux constituants bioactifs du persil incluent l'apiol et la myristicine, présents principalement dans les huiles essentielles et les graines (Zhang et al., 2006). Bien que ces molécules présentent des effets pharmacologiques intéressants, leur toxicité potentielle à fortes doses a été rapportée au niveau hépatique, rénal et neurologique (Marín et al., 2021). Cette dualité entre activité thérapeutique et risque toxicologique nécessite une évaluation scientifique rigoureuse de l'innocuité du persil (Petropoulos et al., 2021).

Par ailleurs, l'utilisation intensive des pesticides en agriculture représente un problème majeur de santé publique et environnementale (Kim et al., 2017). Le métribuzine, herbicide appartenant à la famille des triazinones, est largement utilisé pour le contrôle des mauvaises herbes dans plusieurs cultures agricoles (PPDB, 2024). Des études ont montré que cet herbicide peut induire un stress oxydatif important par la production excessive d'espèces réactives de l'oxygène, entraînant des altérations cellulaires et tissulaires, notamment au niveau hépatique et rénal (El-Gendy et al., 2020).

Dans ce contexte, l'étude des propriétés chimiques et biologiques de *Petroselinum crispum* présente un intérêt scientifique considérable. La caractérisation de sa composition phytochimique et de ses effets biologiques permet de mieux comprendre ses mécanismes d'action et de valoriser son utilisation en phytothérapie (Aissani et al., 2020).

Le présent travail comporte une étude bibliographique consacrée à *Petroselinum crispum*, portant sur sa classification botanique, ses constituants chimiques, ses propriétés pharmacologiques, ses usages médicaux traditionnels ainsi que ses effets toxicologiques potentiels.

Une étude expérimentale a également été réalisée afin d'évaluer les propriétés biologiques de l'extrait de persil et son effet protecteur potentiel contre la toxicité induite par le métribuzine. Cette étude comprend le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH et d'autres méthodes analytiques.

À travers cette étude, nous cherchons à mettre en évidence l'importance biologique et thérapeutique du persil tout en soulignant la nécessité d'évaluer scientifiquement son efficacité et sa sécurité d'emploi afin de prévenir les risques liés à une utilisation excessive ou inappropriée.



Partie 1 :
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE



Chapitre 1 : Présentation du persil ***(Petroselinum crispum)***

I.1. Introduction

Le persil (*Petroselinum crispum*) est une plante herbacée aromatique appartenant à la famille des Apiacées, largement reconnue pour ses usages culinaires et médicaux. Originaire du bassin méditerranéen, cette espèce est aujourd'hui cultivée à l'échelle mondiale en raison de sa valeur nutritionnelle et de ses propriétés biologiques (Bouzabata, 2017). Elle se présente sous forme de plante bisannuelle, caractérisée par des feuilles vertes finement découpées et une forte teneur en composés aromatiques.

Traditionnellement, le persil est utilisé comme épice pour rehausser les saveurs alimentaires, mais également comme remède naturel dans diverses pharmacopées, notamment pour ses effets diurétiques, digestifs et dépuratifs (El-Hilaly, 2018). En médecine traditionnelle, différentes parties de la plante (feuilles, graines, racines) sont employées sous forme d'infusions, décoctions ou extraits.

Sur le plan phytochimique, le persil est riche en flavonoïdes (apigénine, lutéoline), vitamines (notamment vitamine C), et huiles essentielles contenant des composés tels que l'apiol et la myristicine, qui lui confèrent à la fois ses propriétés thérapeutiques et certains effets toxiques potentiels (Farah, 2021). Cette dualité entre bénéfices pharmacologiques et risques toxicologiques justifie son intérêt particulier en toxicologie moderne.

Ainsi, le persil constitue un modèle pertinent pour l'étude des plantes médicinales, illustrant l'importance d'une évaluation rigoureuse de leur innocuité, notamment dans un contexte d'usage traditionnel largement répandu mais parfois non contrôlé.

I.2. Classification scientifique et botanique de *Petroselinum crispum*

A. Classification scientifique

La classification scientifique de *Petroselinum crispum* repose sur les critères taxonomiques des angiospermes dicotylédones, et plus spécifiquement des Apiaceae, une famille reconnue pour la richesse de ses espèces en métabolites secondaires bioactifs, notamment les huiles essentielles (Farah, 2021).

La classification complète est la suivante :

- **Règne** : Plantae
- **Sous-règne** : Tracheobionta (plantes vasculaires)
- **Division** : Magnoliophyta (Angiospermes)
- **Classe** : Magnoliopsida (Dicotylédones)
- **Sous-classe** : Rosidae
- **Ordre** : Apiales
- **Famille** : Apiaceae (Ombellifères)

- **Genre** : *Petroselinum*
- **Espèce** : *Petroselinum crispum*

Au sein de la famille des Apiaceae, *Petroselinum crispum* se distingue par ses caractéristiques morphologiques (inflorescences en ombelles, feuilles composées) et par son profil phytochimique riche en phénylpropanoïdes (apiol, myristicine), conférant à la plante des propriétés à la fois pharmacologiques et toxicologiques (Bouzabata, 2017).

Cette classification permet également de rapprocher le persil d'autres espèces d'intérêt médicinal et toxicologique telles que *Apium graveolens* (céleri) et *Coriandrum sativum* (coriandre), partageant des similitudes chimiques et biologiques importantes.

B. Description botanique de *Petroselinum crispum*

Petroselinum crispum est une plante herbacée bisannuelle dont la morphologie reflète son appartenance à la famille des Apiaceae. Sa description botanique se décline comme suit :

1. Port général et tige

- Plante dressée, haute de 20 à 80 cm selon les conditions de culture.
- Tige cylindrique, ramifiée, parfois creuse, portant des feuilles alternes et des inflorescences terminales en ombelles.

2. Racine

- Racine pivotante, blanchâtre, pouvant se développer de manière importante dans le sol.
- Chez certaines variétés cultivées (ex. persil racine), elle est épaissie pour usage alimentaire ou médicinal.

3. Feuilles

- Alternes et composées, avec des folioles profondément découpées.
- Couleur : vert foncé, luisantes.
- Présence de glandes sécrétrices d'huiles essentielles, responsables de l'arôme caractéristique.

4. Inflorescence et fleurs

- Inflorescence en **ombelles composées**, typique des Apiaceae.
- Fleurs petites, jaunes verdâtres, hermaphrodites.
- La floraison intervient généralement la deuxième année du cycle bisannuel.

5. Fruits

- Fruits secs, appelés diakènes, ovoïdes, renfermant les graines.
- Les graines contiennent des huiles essentielles et des composés bioactifs responsables de l'activité pharmacologique et toxicologique.

6. Cycle biologique

- **Année 1** : croissance végétative (feuilles et racines)
- **Année 2** : floraison et production de graines

Cette morphologie confère au persil sa double utilité : alimentaire (feuilles fraîches ou séchées) et médicinale (extraits, huiles essentielles) (Figure 1).

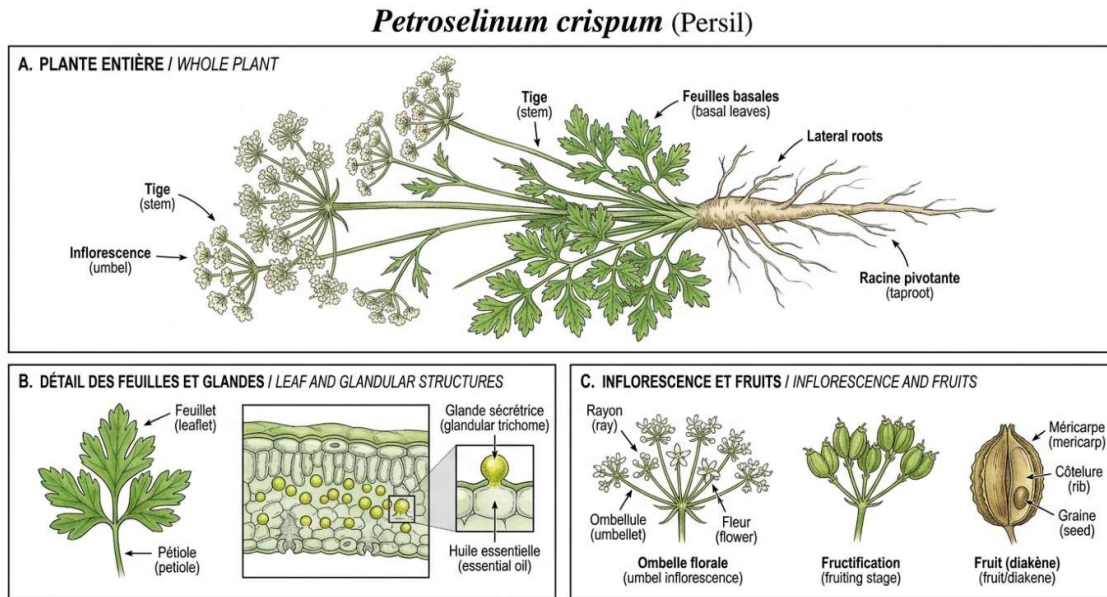


Figure 2. Description botanique de *Petroselinum crispum*

C. Variétés courantes de *Petroselinum crispum*

Le persil présente plusieurs variétés cultivées, différenciées par la morphologie de leurs feuilles, leur profil aromatique et leurs usages culinaires ou médicinaux. Les deux principales sont :

1. Persil frisé (*Petroselinum crispum* var. *crispum*)

- **Morphologie** : feuilles finement frisées et compactes, port dense.
- **Goût et arôme** : plus doux, légèrement amer, moins concentré en huiles essentielles.
- **Usage** : principalement décoratif ou en garniture, moins utilisé en phytothérapie.
- **Avantage** : tolérance élevée aux conditions climatiques variées et facile à cultiver.

2. Persil plat ou italien (*Petroselinum crispum* var. *neapolitanum*)

- **Morphologie** : feuilles larges et plates, texture lisse.
- **Goût et arôme** : plus prononcé, saveur intense, richesse accrue en composés bioactifs (apiol, myristicine).
- **Usage** : privilégié en cuisine et en phytothérapie pour ses propriétés antioxydantes, diurétiques et digestives.
- **Avantage** : concentration plus élevée en huiles essentielles, conférant un potentiel pharmacologique supérieur (Tableau 1).

Tableau 1. Comparaison synthétique

Critère	Persil frisé	Persil plat
Feuilles	Frisées, compactes	Plates, larges
Arôme	Doux	Intense
Usage principal	Décoratif	Culinaire et médicinal
Huiles essentielles	Moins concentrées	Plus concentrées
Tolérance	Adapté à divers climats	Sensible aux variations climatiques

Ces différences morphologiques et chimiques expliquent le choix de la variété selon l'usage souhaité, que ce soit pour la consommation alimentaire, l'extraction de composés actifs ou les études toxicologiques (Farah, 2021).

D. La composition chimique de *Petroselinum crispum*

Petroselinum crispum (persil) présente une composition phytochimique très riche et variée, comprenant des métabolites primaires (glucides, protéines, lipides, vitamines et minéraux) ainsi que de nombreux métabolites secondaires responsables de ses propriétés biologiques et pharmacologiques. La composition varie selon la variété, l'organe végétal (feuilles, racines ou graines), le stade de développement, les conditions de culture et les méthodes d'extraction (Farzaei et al., 2013 ; El-Zaeddi et al., 2017).

1. Métabolites primaires

Les feuilles de *P. crispum* sont riches en eau (80–90 %), en glucides, en protéines végétales ($\approx 3\text{--}4\%$), en fibres alimentaires et contiennent une faible teneur en lipides ($<1\%$). Elles constituent également une source importante de vitamines, notamment la vitamine C, la provitamine A (β -carotène), la vitamine K, la vitamine E et plusieurs vitamines du groupe B. Elles renferment également des minéraux essentiels tels que le potassium, le calcium, le magnésium, le phosphore, le fer, le zinc et le manganèse (USDA, 2019 ; Farzaei et al., 2013).

2. Composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent l'une des principales familles bioactives du persil. Les flavonoïdes dominants sont l'apigénine, la lutéoline, la diosmétine, la quercétine et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules sont largement responsables des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses de la plante. Les principaux acides phénoliques comprennent les acides caféique, férulique, chlorogénique, *p*-coumarique et gallique (El-Zaeddi et al., 2017 ; Farzaei et al., 2013).

3. Huile essentielle

L'huile essentielle de *P. crispum* est particulièrement abondante dans les graines, mais

est également présente dans les feuilles et les racines. Sa composition varie selon l'origine géographique et le chimiotype. Les principaux constituants sont :

- Apiol
- Myristicine
- β -Pinène
- α -Pinène
- β -Phellandrène
- Limonène
- α -Phellandrène
- Sabinène
- Terpinolène
- Eugénol (en faibles quantités)

Ces composés volatils contribuent aux activités antimicrobiennes, antifongiques, insecticides et antioxydantes de la plante (Zhang et al., 2006 ; Farzaei et al., 2013).

4. Coumarines et furanocoumarines

Le persil contient plusieurs coumarines biologiquement actives telles que :

- Bergaptène
- Xanthotoxine
- Isopimpinelline
- Impératorine
- Psoralène

Ces composés présentent des propriétés photobiologiques, antimicrobiennes et anti-inflammatoires, bien qu'une exposition excessive puisse entraîner une photosensibilisation (Farzaei et al., 2013).

5. Pigments naturels

Les feuilles renferment une concentration élevée de pigments photosynthétiques comprenant :

- Chlorophylle a
- Chlorophylle b
- β -Carotène
- Lutéine
- Violaxanthine
- Néoxanthine

Ces pigments possèdent une activité antioxydante importante et participent à la protection des cellules contre le stress oxydatif (USDA, 2019).

6. Autres composés bioactifs

Le persil contient également :

- Polyacétylènes (falcarinol, falcarindiol)
- Acides organiques (acide citrique, acide malique)
- Acides aminés essentiels
- Stérols végétaux
- Triterpènes
- Composés soufrés en faibles quantités

Ces métabolites contribuent aux activités anti-inflammatoires, antimicrobiennes et cytoprotectrices observées dans de nombreuses études expérimentales (Farzaei et al., 2013 ; El-Zaeddi et al., 2017).

Tableau 2 : Principaux constituants chimiques de *Petroselinum crispum*

Groupe chimique	Principaux composés	Activités biologiques principales
Flavonoïdes	Apigénine, lutéoline, quercétine, diosmétine	Antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse
Acides phénoliques	Acide caféique, chlorogénique, férulique, <i>p</i> -coumarique	Antioxydante, antimicrobienne
Huile essentielle	Apiol, myristicine, β -pinène, α -pinène, limonène	Antimicrobienne, antifongique, insecticide
Coumarines	Bergaptène, xanthotoxine, impératorine	Anti-inflammatoire, photobiologique
Caroténoïdes	β -Carotène, lutéine, violaxanthine	Antioxydante, protection oculaire
Chlorophylles	Chlorophylle a et b	Activité antioxydante
Polyacétylènes	Falcarinol, falcarindiol	Anti-inflammatoire, cytoprotectrice
Vitamines	C, K, E, β -carotène, vitamines B	Immunité, coagulation, protection antioxydante
Minéraux	K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn	Fonctions enzymatiques et métaboliques

I.3. Répartition géographique et culture de *Petroselinum crispum*

A. Origine de la plante

Petroselinum crispum est originaire du **bassin méditerranéen**, région considérée comme son centre de domestication et de diversification naturelle (Bouzabata, 2017). Des

traces historiques indiquent que le persil était utilisé dès l'Antiquité par les civilisations grecque et romaine, tant comme plante alimentaire que médicinale.

- **Climat d'origine** : tempéré à méditerranéen, caractérisé par des hivers doux et des étés secs, conditions favorables à la croissance des Apiaceae.
- **Sol et milieu** : préfère les sols bien drainés, riches en matières organiques, légèrement calcaires à neutres.
- **Diffusion mondiale** : à partir du bassin méditerranéen, la culture du persil s'est étendue en Europe, en Amérique du Nord, en Asie et dans certaines régions d'Afrique du Nord, dont l'Algérie (Farah, 2021).

Cette origine explique la sensibilité du persil aux conditions climatiques et sa forte variabilité chimique selon les zones de culture, un facteur essentiel à considérer dans les études pharmacologiques et toxicologiques.

B. Principales zones de culture de *Petroselinum crispum*

Le persil est aujourd'hui cultivé dans de nombreuses régions du monde, tant pour un usage culinaire que pour l'extraction de composés bioactifs. Les principales zones de culture se distinguent par des conditions climatiques favorables à la croissance des Apiaceae.

1. Bassin méditerranéen (origine et cultures traditionnelles)

- **Pays** : Espagne, Italie, Grèce, Maroc, Tunisie, Algérie
- **Conditions** : climat tempéré méditerranéen, sols riches et bien drainés.
- **Particularité** : zones côtières et semi-arides, production surtout destinée à la consommation locale et à l'exportation vers l'Europe (Bouzabata, 2017).

2. Europe centrale et orientale

- **Pays** : Allemagne, France, Pays-Bas, Pologne
- **Usage** : production industrielle et maraîchère pour consommation fraîche ou séchée.
- **Avantage** : irrigation contrôlée permettant des rendements élevés et réguliers.

3. Amérique du Nord

- **États-Unis et Canada** : production commerciale intensive dans des serres ou en plein champ.
- **Objectif** : marché frais et industriel, notamment pour l'exportation et l'alimentation transformée.

4. Afrique du Nord et Moyen-Orient

- **Pays** : Algérie, Maroc, Tunisie, Égypte
- **Caractéristiques locales** : adaptation à des sols variés, présence de variétés locales résistantes aux stress climatiques.
- **Algérie** : cultures concentrées dans les régions côtières et dans les plaines fertiles de

l'Est et du Centre, où la disponibilité en eau et la qualité du sol favorisent le rendement et la concentration en composés bioactifs (Benabderrahmane, 2019).

5. Zones tropicales et subtropicales

- Production possible sous serre ou avec irrigation, mais la plante reste sensible aux fortes températures et à l'humidité élevée, ce qui limite sa culture dans ces régions.

Cette répartition géographique influence directement la composition phytochimique et, par conséquent, le profil pharmacologique et toxicologique de la plante. Les variations de climat, sol et pratiques culturales modifient notamment la teneur en apiol et myristicine, principaux composés à risque (Figure 2).

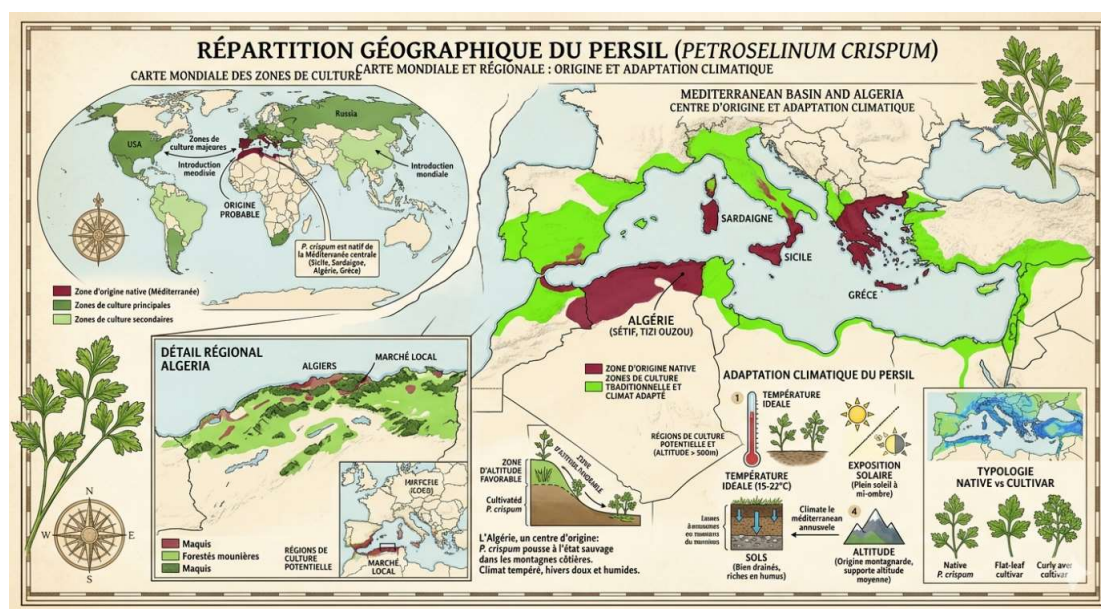


Figure 3. Carte de répartition géographique

C. Conditions de culture de *Petroselinum crispum*

Le succès de la culture du persil dépend de facteurs climatiques, pédologiques et agronomiques qui influencent sa croissance, son rendement et sa composition chimique, essentielle à ses propriétés pharmacologiques et toxicologiques.

1. Climat

- Préférence pour un **climat tempéré à méditerranéen** : hivers doux, étés modérément chauds.
- **Sensibilité** : forte chaleur ou gel intense peuvent retarder la germination et réduire la production de feuilles aromatiques (Bouzabata, 2017).
- L'humidité modérée favorise le développement végétatif et limite le stress hydrique.

2. Sol

- Préfère des sols **riches en matière organique**, bien drainés, avec un pH légèrement acide à neutre (6–7,5).

- Sols trop argileux ou mal drainés peuvent provoquer des maladies racinaires et limiter l'absorption des nutriments essentiels.

3. Irrigation

- Besoin en eau régulier, surtout lors de la croissance des feuilles.
- Irrigation modérée, adaptée aux saisons et aux sols, permet de maintenir la qualité des feuilles et la teneur en huiles essentielles.

4. Ensemencement et densité

- Semis direct ou en pépinière suivi d'un repiquage.
- Densité optimale : 20–25 cm entre rangs et 5–10 cm entre plants pour favoriser l'aération et réduire le développement fongique.

5. Fertilisation

- Apports modérés en azote favorisent le développement foliaire.
- L'excès d'azote peut diminuer la concentration en huiles essentielles et modifier la composition chimique (Farah, 2021).

6. Protection phytosanitaire

- Sensible aux pucerons, aleurodes et maladies fongiques (mildiou, oïdium).
- Pratiques culturales intégrées : rotation des cultures, désinfection du sol, usage minimal de pesticides pour préserver la qualité phytochimique.

7. Récolte

- Feuilles : récolte successive dès la 8^e semaine après semis, principalement pour usage culinaire et médicinal.
- Graines : récolte en fin de cycle bisannuel pour production d'huiles essentielles et études toxicologiques.

Ces conditions optimales assurent un **rendement élevé**, une **qualité aromatique et pharmacologique stable** et une **variabilité chimique maîtrisée**, éléments cruciaux pour les études toxicologiques et pharmaceutiques.

I.4. Constituants chimiques et propriétés pharmacologiques de *Petroselinum crispum*

A. Principaux composés chimiques

Petroselinum crispum est une plante riche en **composés bioactifs variés**, responsables de ses effets pharmacologiques et de ses potentiels risques toxicologiques. Ces constituants se répartissent en plusieurs classes chimiques :

1. Huiles essentielles

- **Apiol** : phénylpropanoïde majeur présent dans les graines et, dans une moindre mesure, dans les feuilles. Connue pour ses propriétés diurétiques et abortives à forte dose,

ainsi que pour sa toxicité hépatique et rénale en surdosage (Farah, 2021).

- **Myristicine** : autre phénylpropanoïde présent dans les graines et feuilles, conférant un effet psychoactif potentiel à haute concentration et des risques hépato-rénaux.
- **Autres terpènes** : limonène, β -pinène, carvone, contribuant à l'arôme et aux effets antioxydants.

2. Flavonoïdes et polyphénols

- **Lutéoline, apigénine, chrysoeriol** : flavones majoritaires dans les feuilles.
- **Rôle pharmacologique** : antioxydant, anti-inflammatoire, cardioprotecteur et neuroprotecteur.
- **Variabilité** : concentration dépendant de la variété (plat vs frisé), de la période de récolte et des conditions de culture.

3. Vitamines

- **Vitamine C (acide ascorbique)** : contribue à l'activité antioxydante et à la protection cellulaire.
- **Vitamines B et K** : présentes en quantités moindres, impliquées dans le métabolisme énergétique et la coagulation sanguine.

4. Minéraux

- Potassium, calcium, magnésium, fer et manganèse.
- Ces éléments participent à l'équilibre électrolytique, aux fonctions enzymatiques et à la santé osseuse.

5. Autres composés

- **Acides phénoliques** : acide caféique et acide férulique, conférant des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes.
- **Fibres alimentaires** : présentent dans les feuilles et racines, contribuant à la digestion (Tableau 2).

Tableau 3. Tableau synthétique des principaux composés

Classe Chimique	Composés majeurs	Localisation	Effets pharmacologiques / toxicologiques
Huiles essentielles	Apiol, Myristicine, Limonène	Graines, feuilles	Diurétique, abortif, toxique à forte dose
Flavonoïdes	Lutéoline, Apigénine	Feuilles	Antioxydant, anti-inflammatoire, cardioprotecteur
Vitamines	C, B, K	Feuilles	Antioxydant, métabolisme énergétique, coagulation

Minéraux	K, Ca, Mg, Fe	Feuilles	Régulation électrolytique, santé osseuse
Acides phénoliques	Acide caféique, Acide férulique	Feuilles	Antioxydant, antimicrobien

Ces composés expliquent à la fois les usages traditionnels du persil (diurétique, digestif, antioxydant) et la nécessité d'études toxicologiques rigoureuses, notamment pour les phénylpropanoïdes comme l'apiol et la myristicine, connus pour leur potentiel hépatotoxique et abortif à forte dose (Figure 3) (Bouzabata, 2017).

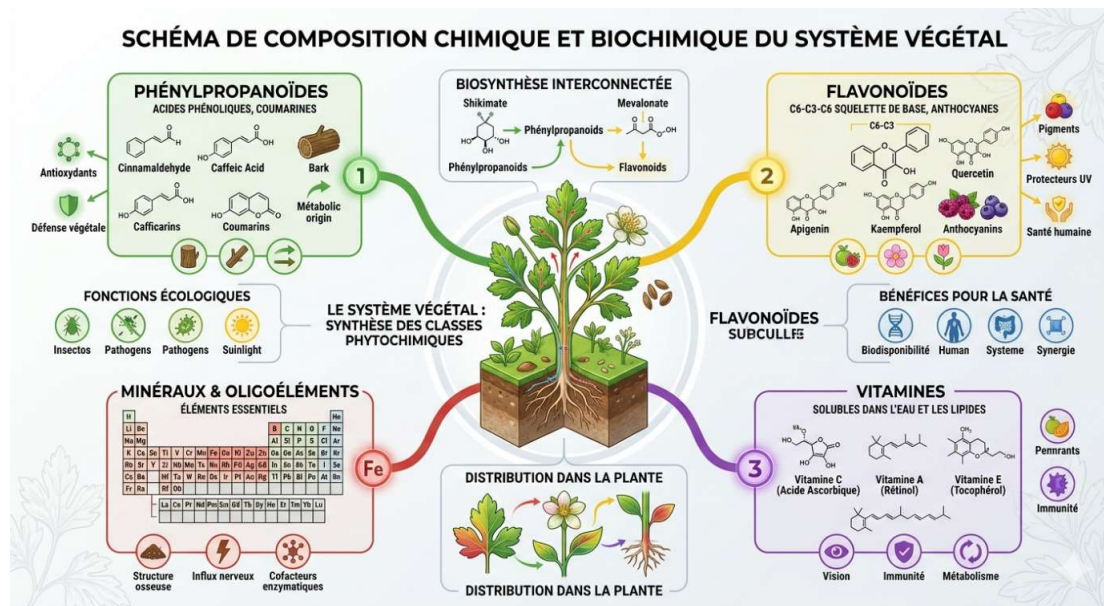


Figure 4. Schéma de composition chimique

B. Propriétés pharmacologiques de *Petroselinum crispum*

Les effets pharmacologiques du persil résultent de la synergie entre ses flavonoïdes, huiles essentielles, vitamines et minéraux. Ces propriétés ont été documentées tant par des études expérimentales que par des usages traditionnels.

1. Activité antioxydante

- Les flavonoïdes (lutéoline, apigénine) et les acides phénoliques (acide caféique, acide férulique) confèrent une forte capacité antioxydante.
- Mécanisme : neutralisation des radicaux libres, protection contre le stress oxydatif et prévention des dommages cellulaires.
- Applications : protection hépatique et rénale, prévention de maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Farah, 2021).

2. Effet diurétique

- Les phénylpropanoïdes (apiol, myristicine) et certains minéraux (potassium) augmentent la **diurèse**, favorisant l'élimination de l'eau et des toxines.

- Utilisation traditionnelle : traitement des œdèmes, troubles urinaires et dépuration rénale.
- Précaution : surdosage en apiol peut induire une toxicité hépatique et rénale.

3. Activité anti-inflammatoire

- Les flavonoïdes inhibent les médiateurs de l'inflammation (cytokines pro-inflammatoires, COX-2), réduisant l'inflammation systémique ou locale.
- Études expérimentales : extraits de persil réduisent l'œdème et la production de radicaux libres dans des modèles animaux (Benabderrahmane, 2019).
- Applications : troubles digestifs, affections rhumatismales, inflammations cutanées.

4. Autres activités pharmacologiques

- **Antimicrobienne** : les huiles essentielles inhibent certaines bactéries et champignons.
- **Digestive** : stimulation de la sécrétion biliaire et amélioration de la digestion.
- **Neuroprotectrice et cardioprotectrice** : activité liée à la neutralisation du stress oxydatif et à l'inhibition de la peroxydation lipidique (Tableau 4).

Tableau 5. Tableau synthétique des propriétés

Propriété	Composés responsables	Mécanisme	Applications / effets
Antioxydante	Flavonoïdes, acides phénoliques, vitamine C	Neutralisation des radicaux libres, protection cellulaire	Protection hépatique et rénale, prévention cardiovasculaire
Diurétique	Apiol, myristicine, K	Augmentation de la diurèse, élimination des toxines	Œdèmes, troubles urinaires, dépuration rénale
Anti-inflammatoire	Lutéoline, apigénine	Inhibition des cytokines et COX-2	Troubles digestifs, inflammations rhumatismales et cutanées
Antimicrobienne	Huiles essentielles	Inhibition de bactéries et champignons	Prévention infections alimentaires et cutanées

Ces propriétés confirment l'usage traditionnel du persil tout en soulignant la nécessité d'évaluer la dose et la sécurité, car certains composés comme l'apiol et la myristicine présentent un profil toxicologique potentiellement élevé à forte concentration (Figure 5).

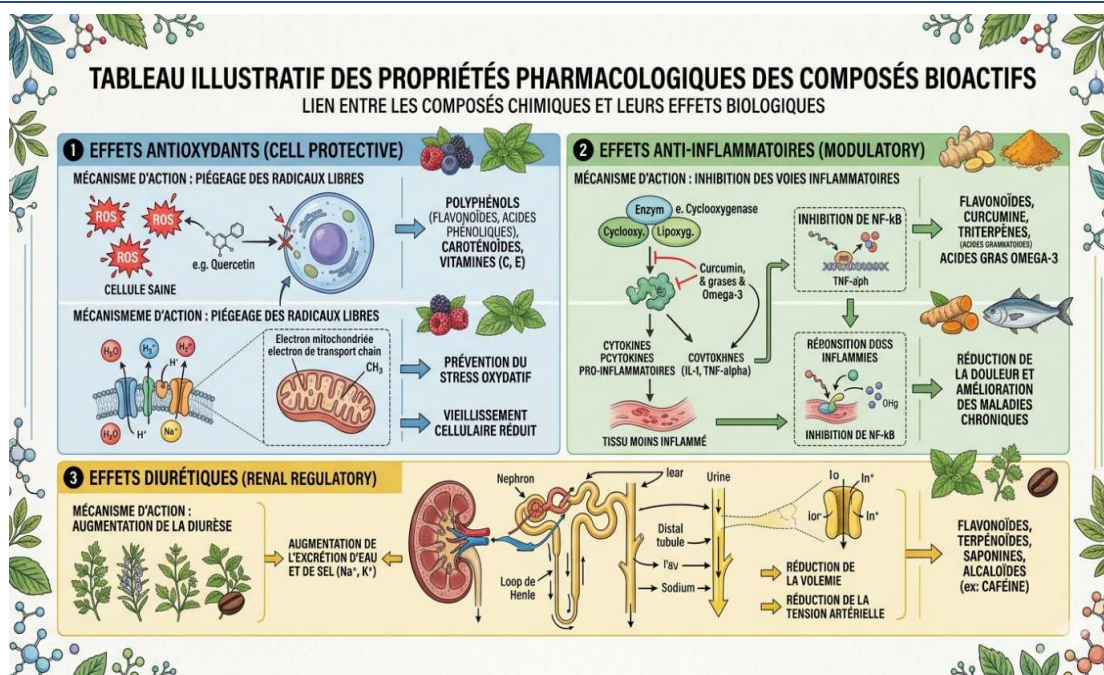


Figure 6. Tableau illustratif des propriétés pharmacologiques

I.5. Usages médicaux et traditionnels de *Petroselinum crispum*

A. Usages alimentaires

Petroselinum crispum est largement utilisé comme **épice et aromate**, mais ses propriétés nutritives et bioactives lui confèrent également un rôle fonctionnel au sein de l'alimentation.

1. Consommation culinaire

- **Feuilles fraîches ou séchées** : ajoutées aux salades, sauces, plats mijotés et garnitures, principalement pour leur arôme caractéristique et leur couleur verte.
- **Variétés utilisées** : le persil plat est préféré pour son goût prononcé, tandis que le persil frisé est souvent décoratif.
- **Semences** : parfois utilisées comme condiments ou broyées pour l'aromatisation.

2. Apports nutritionnels

- **Vitamines** : riche en vitamine C, vitamine K et certaines vitamines B, contribuant au métabolisme énergétique et à la coagulation sanguine (Farah, 2021).
- **Minéraux** : potassium, calcium, magnésium et fer, essentiels à l'équilibre électrolytique et à la santé osseuse.
- **Fibres alimentaires** : favorisent la digestion et la régulation intestinale.

3. Rôle fonctionnel et bénéfices alimentaires

- **Antioxydant** : protège les aliments de l'oxydation et contribue à la santé cellulaire.
- **Digestif** : facilite la sécrétion biliaire et stimule le métabolisme digestif.
- **Diurétique léger** : certaines préparations culinaires, notamment les tisanes ou bouil-

lons enrichis en persil, favorisent l'élimination de l'eau et des toxines.

4. Intérêt gastronomique et culturel

- Utilisé depuis l'Antiquité dans la cuisine méditerranéenne.
- Présent dans les traditions culinaires locales en Algérie, Maroc et Tunisie, où il accompagne souvent légumes, couscous et plats de viande.
- Son usage alimentaire contribue indirectement à l'exposition à ses composés bioactifs, ce qui peut avoir un **effet prophylactique sur la santé**, tout en restant sûr à des doses courantes (Bouzabata, 2017).

B. Usages médicaux traditionnels de *Petroselinum crispum*

Depuis l'Antiquité, *Petroselinum crispum* est employé dans de nombreuses traditions médicinales pour ses **propriétés digestives, diurétiques et carminatives**. Ces usages sont directement liés à la présence de flavonoïdes, phénylpropanoïdes et huiles essentielles.

1. Traitement des troubles digestifs et des flatulences

- **Action carminative et digestive** : les huiles essentielles et flavonoïdes stimulent la sécrétion biliaire et intestinales, favorisant la digestion et réduisant les gaz intestinaux.
- **Usage traditionnel** : infusion de feuilles ou décoction pour soulager les ballonnements, coliques et indigestions (Bouzabata, 2017).

2. Traitement des infections urinaires et cystites

- **Effet diurétique** : les composés comme l'apiol et le potassium augmentent la production d'urine, favorisant l'élimination des toxines et la prévention des infections urinaires.
- **Pratique traditionnelle** : consommation de tisanes ou décoctions pour soulager la cystite légère et les troubles urinaires.

3. Stimulation générale et renforcement de la santé

- **Tonus et vitalité** : la richesse en vitamines C et K, minéraux et flavonoïdes contribue à un effet tonique général.
- **Rôle préventif** : les antioxydants contenus dans les feuilles participent à la protection contre le stress oxydatif et les inflammations légères.

4. Autres usages traditionnels

- **Traitement des inflammations cutanées** : application locale de cataplasmes de feuilles fraîches pour apaiser les irritations.
- **Réduction des œdèmes** : infusion utilisée comme diurétique léger pour éliminer l'excès de fluides corporels.

Ces usages traditionnels restent majoritairement basés sur des **pratiques empiriques**, mais ils ont été partiellement confirmés par des études expérimentales *in vitro* et *in vivo*, qui

confirment les effets **antioxydants, anti-inflammatoires et diurétiques** des extraits de persil (Farah, 2021 ; Benabderrahmane, 2019).

C. Usages modernes de *Petroselinum crispum* en toxicologie

Dans le contexte scientifique contemporain, *Petroselinum crispum* suscite un intérêt croissant pour ses propriétés antioxydantes, détoxifiantes et protectrices contre les effets de certaines toxines, justifiant son intégration dans des approches de prévention toxicologique.

1. Propriétés antioxydantes et cytoprotectrices

- Les flavonoïdes (lutéoline, apigénine), acides phénoliques et vitamine C neutralisent les radicaux libres, réduisant le stress oxydatif responsable de lésions cellulaires.
- Effets démontrés *in vitro* et *in vivo* : protection des cellules hépatiques et rénales contre les dommages induits par des agents toxiques chimiques tels que les métaux lourds et certains médicaments (Farah, 2021).
- Implication : utilisation comme adjuvant naturel pour limiter les effets secondaires des substances toxiques ou pharmaceutiques.

2. Activité hépatoprotectrice et rénoprotectrice

- Les extraits de persil montrent une capacité à prévenir la peroxydation lipidique et à maintenir l'intégrité des enzymes hépatiques (AST, ALT) et rénales (créatinine, urée) lors d'expositions toxiques expérimentales.
- Les composés phénoliques et flavonoïdes agissent en modulant les systèmes antioxydants endogènes (SOD, CAT, GSH), contribuant à la protection organique.

3. Effet modulateur contre certaines toxines

- Études animales : extraits de feuilles ou graines atténuent les effets néphrotoxiques et hépatotoxiques induits par des toxines alimentaires, pesticides ou médicaments.
- Extrapolation : potentiel pour développer des formulations phytothérapeutiques visant à protéger contre l'exposition environnementale ou professionnelle à des substances toxiques.

4. Intérêt pharmacologique et toxicologique appliqué

- Le persil moderne est étudié comme source naturelle de composés protecteurs, pouvant compléter les stratégies de prévention des intoxications.
- Limitation : la présence de phénylpropanoïdes toxiques (apiol, myristicine) impose un contrôle strict des doses, afin d'éviter des effets hépatotoxiques ou abortifs (Tableau 7).

Tableau 6. Tableau synthétique des usages modernes en toxicologie

Propriété	Composés impliqués	Effets observés	Applications
Antioxydante	Lutéoline, apigénine, vitamine C	Neutralisation radicaux libres, réduction stress oxydatif	Protection cellulaire générale
Hépatoprotectrice	Flavonoïdes, phénols	Préservation enzymes hépatiques	Protection contre toxines alimentaires et médicaments
Rénoprotectrice	Flavonoïdes, acides phénoliques	Maintien créatinine et urée	Réduction néphrotoxicité chimique
Détoxifiante	Huiles essentielles (à faible dose)	Facilitation excrétion métabolites toxiques	Formulations phytothérapeutiques

Ces usages modernes confirment l'intérêt de *Petroselinum crispum* dans la prévention des dommages induits par les toxines, tout en soulignant la nécessité de maîtriser la dose et la forme d'administration pour éviter les effets indésirables (Figure 5)(Benabderrahmane, 2019).

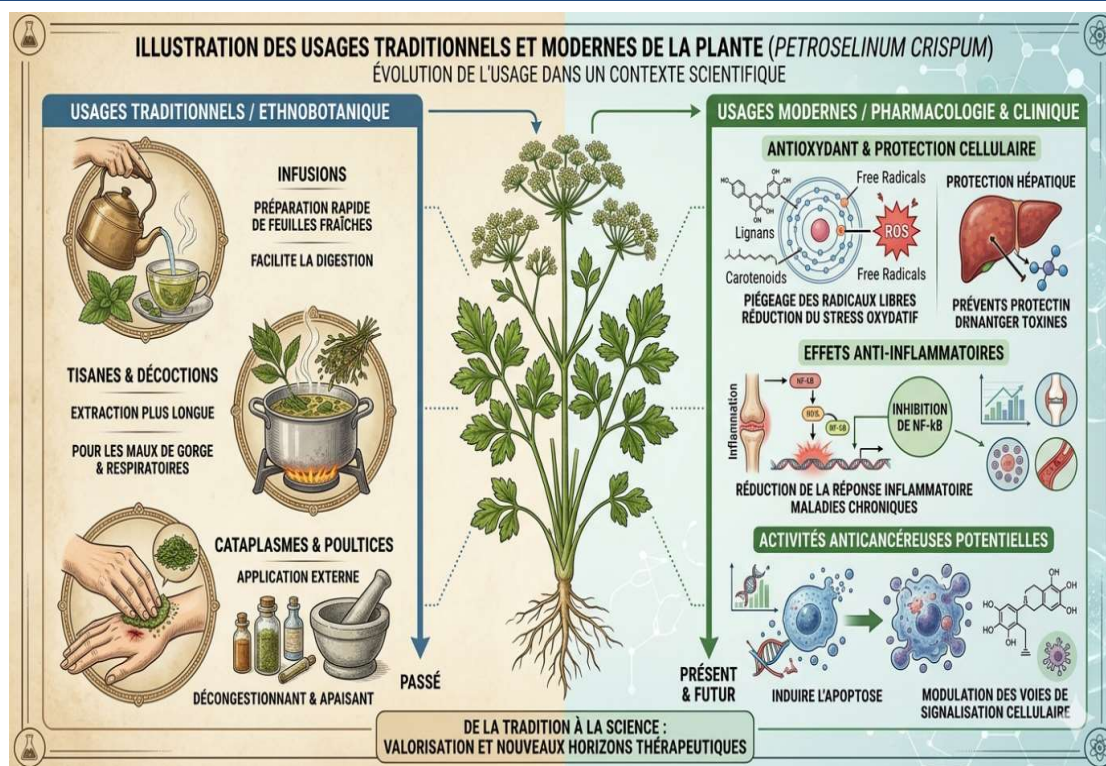


Figure 8. Illustration des usages traditionnels et modernes

I.6. Études scientifiques antérieures

A. Bref aperçu des études toxicologiques antérieures sur *Petroselinum crispum*

La toxicologie du persil a été explorée à travers des études *in vitro*, *in vivo* et quelques investigations cliniques, principalement centrées sur les **phénylpropanoïdes (apiol, myristicine)** et leur impact sur la santé.

1. Études expérimentales *in vivo*

- **Modèles animaux (rats et souris)** : administration de doses élevées d'extraits de graines ou de feuilles a révélé des effets **hépatotoxiques, néphrotoxiques et abortifs** (Bouzabata, 2017).
- **Exemple** : des doses supérieures à 100 mg/kg de graines ont induit une élévation des enzymes hépatiques (ALT, AST) et des anomalies histopathologiques du foie et des reins.
- **Effet reproductif** : apiol en forte dose entraîne des contractions utérines et des effets tératogènes chez les modèles féminins gestants.

2. Études *in vitro*

- Les extraits de *Petroselinum crispum* ont montré une cytotoxicité dépendante de la concentration sur plusieurs lignées cellulaires, principalement attribuée à l'apiol et à la myristicine (Marín et al., 2021).
- Les principaux effets observés incluent l'induction du stress oxydatif, l'activation de

l'apoptose cellulaire ainsi que des altérations de la fonction mitochondriale (Benedec et al., 2017).

3. Études sur l'exposition alimentaire

- La consommation du persil à des doses culinaires est généralement considérée comme sûre et ne présente pas de toxicité significative chez l'Homme (Farzaei et al., 2013).
- Les risques toxicologiques apparaissent principalement lors de l'utilisation de suppléments concentrés ou d'un usage médicinal excessif, notamment chez les femmes enceintes et les individus atteints d'insuffisance hépatique ou rénale (Petropoulos et al., 2021).

4. Études comparatives

- Des travaux récents mettent en évidence la **variabilité de la teneur en apiol et myristicine** selon la variété, la partie de la plante et les conditions de culture, expliquant les divergences entre résultats toxicologiques (Farah, 2021 ; Benabderrahmane, 2019).
- Les extraits aqueux de feuilles sont généralement **moins toxiques** que les huiles essentielles concentrées ou les extraits organiques de graines.

5. Limites des études

- Peu d'études cliniques humaines sur les effets toxiques, la majorité restante expérimentale.
- Variabilité des protocoles : doses, durée d'exposition, type d'extrait, rendant les comparaisons directes difficiles.

Synthèse : le persil est considéré comme sûr à usage alimentaire, mais des doses élevées, en particulier de graines ou d'extraits concentrés, présentent un risque hépatique, rénal et abortif. Ces observations soulignent l'importance de la quantification précise des composés actifs pour toute application pharmacologique ou toxicologique(Figure 6).

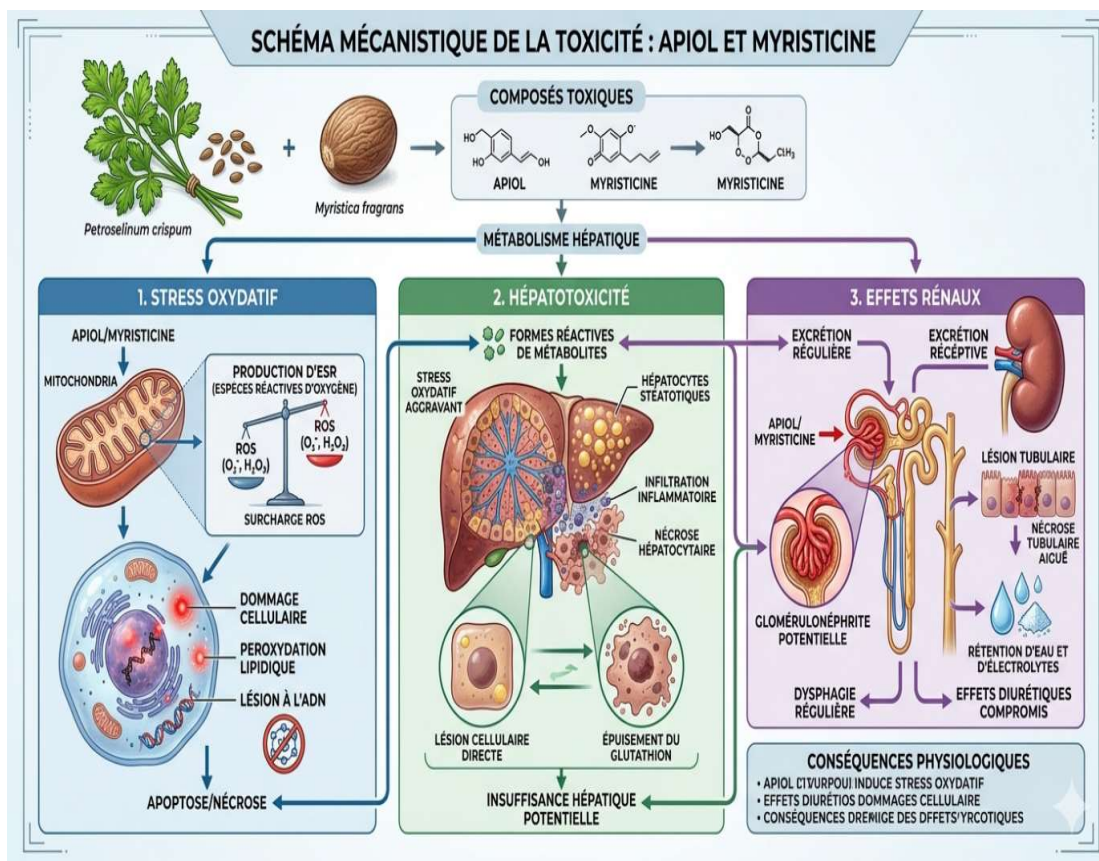


Figure 9. Mécanismes moléculaires de la toxicité induite par l'apiol et la myristicine : Altérations mitochondriales, stress oxydatif et dysfonctions viscérales



Chapitre 2 : L'herbicide métribuzine : toxicocinétique, mécanismes de toxicité et effets sur l'organisme humain

I. Introduction

L'intensification des systèmes agricoles modernes repose largement sur l'utilisation d'herbicides chimiques afin d'assurer le contrôle des adventices, de stabiliser les rendements et de réduire les pertes agricoles liées à la compétition hydrique et nutritive entre cultures et plantes indésirables (Duke, 2012). Les herbicides représentent la catégorie de pesticides la plus utilisée à l'échelle mondiale, tant en agriculture extensive qu'intensive, en raison de leur efficacité, de leur facilité d'application et de leur rentabilité économique (FAO & WHO, 2016). Toutefois, cette utilisation massive et répétée favorise l'exposition professionnelle, alimentaire et environnementale de l'homme à ces substances, soulevant des préoccupations toxicologiques majeures (Carpenter et al., 2002).

Les triazinones constituent une sous-famille des herbicides triaziniques, largement employés pour leur activité inhibitrice sur la photosynthèse via le blocage du photosystème II chez les végétaux sensibles (Hess, 2000). Sur le plan toxicologique, ces composés suscitent un intérêt particulier en raison de leur persistance environnementale modérée, de leur potentiel de contamination des eaux souterraines et de leurs effets biologiques observés chez les organismes non cibles, y compris l'être humain (Solomon et al., 2008). Des études expérimentales et épidémiologiques ont mis en évidence des effets hépatiques, endocriniens et neurologiques associés à certaines triazinones, justifiant une évaluation approfondie de leurs mécanismes de toxicité et de leur devenir dans l'organisme (Gammon et al., 2005).

La métribuzine est un herbicide sélectif de la famille des triazinones, couramment utilisé pour le désherbage de cultures telles que la pomme de terre, le blé, le soja et la tomate (EFSA, 2014). Son usage étendu, combiné à sa mobilité dans le sol et à sa solubilité relativement élevée dans l'eau, favorise des scénarios réalistes d'exposition humaine par voie professionnelle, alimentaire et environnementale. Par ailleurs, plusieurs travaux toxicologiques ont rapporté des effets indésirables de la métribuzine sur le foie, les reins et le système nerveux central chez l'animal de laboratoire, ainsi que des perturbations biochimiques liées au stress oxydatif (El-Gendy et al., 2010). Ces éléments justifient le choix de la métribuzine comme modèle d'étude toxicocinétique et toxicodynamique dans un contexte de santé humaine.

II. Généralités sur les herbicides triazinones

II.1. Définition et classification chimique

Les herbicides triazinones sont des composés chimiques appartenant à la classe des herbicides dérivés du noyau 1,2,4-triazin-5(4H)-one, caractérisés par un cycle hétérocyclique à six atomes comprenant trois atomes d'azote dans la structure moléculaire fondamentale. Ils constituent une sous-famille spécifique des pesticides herbicides définie par leur structure chimique triazinonique, qui se distingue par une fonction cétone sur le noyau triazine (Even et

al., 2002). Cette classe chimique est intégrée dans les classifications internationales de pesticides en raison de son activité herbicide sélective via l'inhibition du photosystème II chez les plantes ciblées (FAO/WHO, 2022).

II.2. Propriétés communes et spécificités toxicologiques

Les triazinones partagent des propriétés physico-chimiques communes, notamment une solubilité variable dans l'eau, une certaine stabilité chimique en milieu aqueux et organique, ainsi qu'une capacité à être absorbées par les racines et les feuilles des plantes, suivie d'une translocation systémique (Periyasamy et al., 2025). Toxicologiquement, bien que généralement considérés comme ayant une toxicité aiguë relativement faible chez les mammifères comparées à d'autres classes de pesticides, des études expérimentales ont mis en évidence des effets biologiques indésirables, tels que des perturbations hépatiques, rénales ou endocrines après des expositions répétées ou à des doses élevées, ainsi que des effets ecotoxiques sur divers organismes aquatiques et terrestres (Periyasamy et al., 2025).

II.3. Principaux représentants et comparaison structurale

Les triazinones incluent des herbicides largement utilisés en agriculture, tels que métribuzin, terbuthylazine et d'autres analogues triazinoniques, dont les différences structurales résident dans la nature des substituants alkyles ou thioalkyles sur le noyau triazine, influençant leurs propriétés phytotoxiques, leur persistance et leur mobilité. Par comparaison, les triazines classiques (p. ex., atrazine, simazine), bien qu'étroitement apparentées par leur cycle triazine, ne possèdent pas la fonction cétone caractéristique des triazinones et présentent des profils toxicologiques et environnementaux distincts (Kim et al., 2017).

II.4. Enjeux sanitaires et environnementaux liés à cette classe

L'utilisation extensive des herbicides triazinones en cultures commerciales a soulevé des préoccupations sanitaires et environnementales, notamment liées à leur présence résiduelle dans les sols, les eaux superficielles et souterraines ainsi qu'à leur potentiel d'exposition humaine par voie alimentaire ou professionnelle (Kim et al., 2017). L'impact environnemental inclut la toxicité pour les organismes non cibles, y compris les algues, les macrophytes et les invertébrés aquatiques à des concentrations relativement faibles, ainsi que des préoccupations quant à l'accumulation dans les écosystèmes aquatiques et les chaînes trophiques (Fairchild & Sappington, 2002). Sur le plan sanitaire, bien que les données directes chez l'homme soient limitées, des études expérimentales suggèrent que l'exposition chronique pourrait être associée à des altérations physiologiques et des perturbations biochimiques chez les mammifères, justifiant des évaluations de risque rigoureuses (Kim et al., 2017).

III. Présentation scientifique de la métribuzine

III.1. Dénomination chimique, formule brute et structure moléculaire

La métribuzine est un herbicide sélectif appartenant à la famille des triazinones. Sa dénomination chimique selon l'IUPAC est 4-amino-6-tert-butyl-3-(methylthio)-1,2,4-triazin-5(4H)-one (Mostafalou & Abdollahi, 2017). Sa formule brute est $C_8H_{14}N_4OS$, correspondant à une masse moléculaire d'environ $214,3 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Tomlin, 2012). La structure moléculaire est caractérisée par un noyau 1,2,4-triazin-5-one, substitué par un groupe tert-butyle, un groupement méthylthio et une fonction amine, conférant à la molécule ses propriétés herbicides et son comportement toxicocinétique (Figure 7) (Tomlin, 2012).

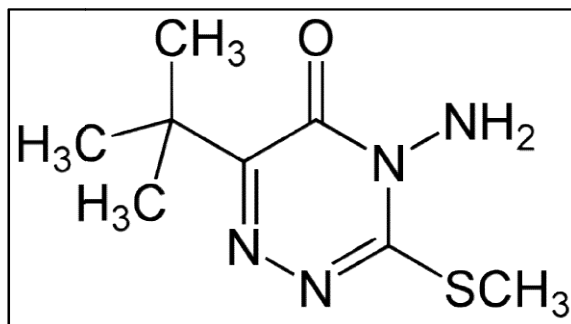


Figure 10. Structure moléculaire et formule brute de la métribuzine

III.2. Propriétés physico-chimiques pertinentes en toxicologie

La métribuzine se présente sous forme de solide cristallin blanc à légèrement beige, avec une solubilité relativement élevée dans l'eau (environ $1\,050 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ à 20°C), favorisant sa mobilité environnementale et son potentiel de contamination des eaux (US EPA, 2005). Son coefficient de partage octanol/eau ($\log P$) est modéré ($\approx 1,6$), indiquant une lipophilie limitée mais suffisante pour permettre une absorption biologique significative (Mostafalou & Abdollahi, 2017). Elle présente une stabilité chimique modérée, avec une dégradation dépendante des conditions de pH, de température et d'activité microbienne, éléments déterminants pour son devenir environnemental et sa biodisponibilité chez l'homme (FAO & WHO, 2016).

III.3. Mode d'action herbicide (inhibition du photosystème II)

Le mode d'action herbicide de la métribuzine repose sur l'inhibition du photosystème II (PSII) au niveau du site de liaison de la plastoquinone QB dans les chloroplastes des plantes sensibles (Hess, 2000). Cette inhibition bloque le transfert d'électrons au sein de la chaîne photosynthétique, entraînant une diminution de la synthèse d'ATP et de NADPH, puis une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène responsables de dommages oxydatifs cellulaires (Dayan & Zaccaro, 2012). Bien que ce mécanisme soit spécifique des organismes photosynthétiques, des mécanismes analogues de stress oxydatif ont été évoqués pour expliquer certains effets toxiques observés chez les organismes non cibles, y compris les mammi-

fères, lors d'expositions expérimentales (Figure 8) (EFSA, 2014).

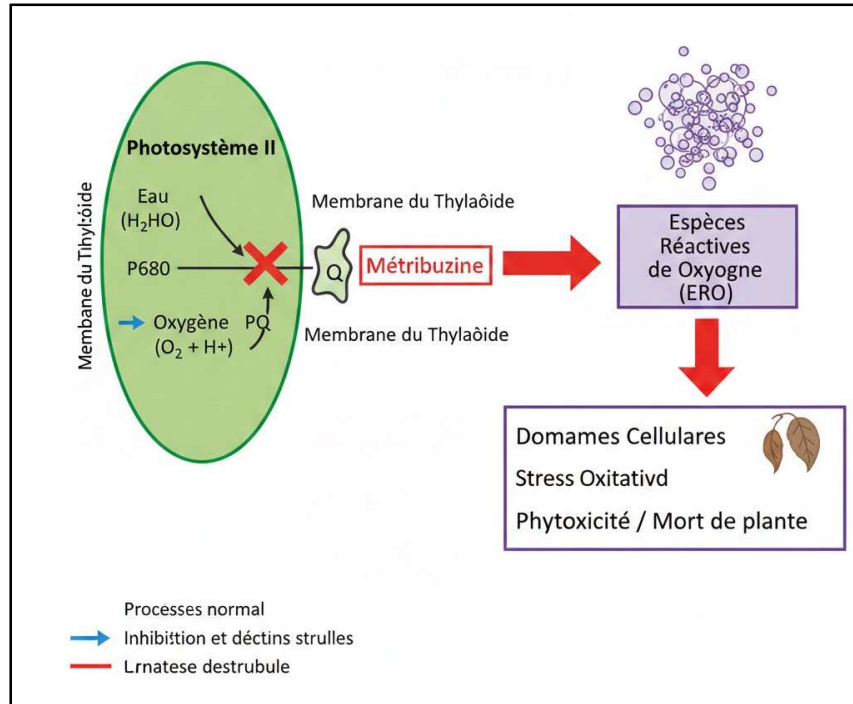


Figure 11. Inhibition du photosystème II par la métribuzine

III.4. Usages agricoles et potentiel d'exposition humaine

La métribuzine est utilisée comme herbicide de pré-levée et de post-levée précoce dans de nombreuses cultures, notamment la pomme de terre, le blé, le soja, la tomate et certaines légumineuses (Tomlin, 2012). Les principales voies d'exposition humaine incluent l'exposition professionnelle des applicateurs agricoles, l'exposition environnementale via l'eau potable contaminée et l'exposition alimentaire par la présence de résidus dans les denrées végétales (Hernández et al., 2011). Ces scénarios d'exposition justifient l'intérêt toxicologique porté à cette substance, en particulier dans le cadre de l'évaluation des risques chroniques associés à de faibles doses répétées (Mostafalou & Abdollahi, 2017).

IV. Toxicocinétique de la métribuzine chez l'homme

(ADME – approche toxicologique fondamentale)

IV.1. Voies d'exposition humaine : orale, cutanée et inhalatoire

L'exposition humaine à la métribuzine peut survenir par **voie orale**, principalement via l'ingestion de résidus présents dans les denrées alimentaires ou l'eau potable contaminée, constituant la voie dominante en population générale (Mostafalou & Abdollahi, 2017). La **voie cutanée** concerne essentiellement les travailleurs agricoles lors de la manipulation et de l'application des formulations commerciales, en raison du contact direct avec la peau (Hernández et al., 2011). La **voie inhalatoire**, bien que considérée comme secondaire, peut intervenir lors de l'épandage, notamment sous forme d'aérosols ou de poussières, contribuant

à l'exposition professionnelle (FAO & WHO, 2016).

IV.2. Absorption et biodisponibilité

Les données toxicocinétiques humaines directes sur la métribuzine étant limitées, l'évaluation repose principalement sur des études animales utilisées comme modèles extrapolatifs (Mostafalou & Abdollahi, 2017). Après administration orale, la métribuzine est rapidement absorbée au niveau du tractus gastro-intestinal, avec une biodisponibilité élevée attribuée à sa solubilité aqueuse relativement importante (Hernández et al., 2011). L'absorption cutanée est jugée modérée, mais suffisante pour contribuer à la dose systémique lors d'expositions répétées, tandis que l'absorption inhalatoire dépend de la taille des particules et des conditions d'exposition (FAO & WHO, 2016).

IV.3. Distribution tissulaire

Après absorption systémique, la métribuzine est distribuée dans l'organisme par voie sanguine. Les études de distribution chez les mammifères montrent une accumulation préférentielle dans le foie et les reins, organes clés de la biotransformation et de l'excrétion, avec des concentrations plus faibles dans les tissus adipeux, en cohérence avec son faible à modéré coefficient de partage lipophile ($\log P$) (Mostafalou & Abdollahi, 2017). Cette distribution suggère une exposition fonctionnelle accrue des organes de détoxification, ce qui est cohérent avec les effets toxiques observés expérimentalement sur ces organes (Hernández et al., 2011).

IV.4. Métabolisme hépatique (rôle des enzymes de biotransformation)

La métribuzine subit un métabolisme hépatique intensif, principalement médié par les enzymes de phase I, en particulier les monooxygénases du cytochrome P450, conduisant à des réactions d'oxydation, de désalkylation et de sulfoxydation (FAO & WHO, 2016). Ces transformations génèrent plusieurs métabolites plus polaires, certains conservant une activité biologique résiduelle (Mostafalou & Abdollahi, 2017). Les réactions de phase II, incluant la conjugaison avec des groupements hydrophiles, facilitent l'élimination urinaire, réduisant généralement la toxicité systémique mais pouvant, transitoirement, augmenter la réactivité métabolique (Hernández et al., 2011).

IV.5. Élimination et demi-vie biologique

L'élimination de la métribuzine et de ses métabolites s'effectue principalement par voie urinaire, avec une contribution secondaire de la voie fécale, reflétant une clairance rénale efficace (FAO & WHO, 2016). Les études expérimentales indiquent une demi-vie biologique relativement courte, suggérant une absence d'accumulation significative lors d'expositions ponctuelles, bien que des expositions répétées puissent entraîner un état d'équilibre systémique (Mostafalou & Abdollahi, 2017). Cette cinétique d'élimination constitue un paramètre central dans l'évaluation du risque chronique et la détermination des doses journalières ad-

missibles (Tableau 7) (Figure 9) (US EPA, 2005).

Tableau 8. Paramètres pharmacocinétiques et toxicocinétiques de la métribuzine

Paramètre	Modèle Rat (Données Expérimentales)	Extrapolation Humaine (Évaluation du Risque)
Voie d'exposition	Orale (Gavage/Régime), Dermale, Inhalation.	Ingestion (résidus alimentaires), Dermale (exposition professionnelle).
Absorption	Orale : > 90% (très rapide) ; Dermale : ~10-15% selon le véhicule (EPA, 2017).	Orale : estimée à 100% pour la sécurité ; Dermale : Facteur d'absorption (DAF) de 46% (conservateur) (EPA, 2017).
Distribution	Large distribution systémique. Organes cibles : Foie, reins, thyroïde et graisses (EXTOXNET, 1996).	Distribution systémique globale attendue ; affinité hépatique prédominante.
Métabolisme	Phase I : Désamination et déméthylthiolation. Métabolites : DA, DK, et DADK (EFSA, 2024).	Voies métaboliques similaires par les cytochromes P450 ; métabolites identiques (DA, DK, DADK).
Élimination	~90% excrétés en 96h. Répartition égale entre urine et fèces (EXTOXNET, 1996).	Excrétion rénale prédominante attendue pour les métabolites conjugués solubles.
Demi-vie (t_{1/2})	Phase rapide : < 24h ; Élimination quasi totale en 96h (Rat) (OEHA, 2001).	Estimée courte (< 48h) ; pas de potentiel de bioaccumulation significatif.

1. **DA** (Désamino-métribuzine)
2. **DK** (Dicéto-métribuzine)
3. **DADK** (Désamino-dicéto-métribuzine)

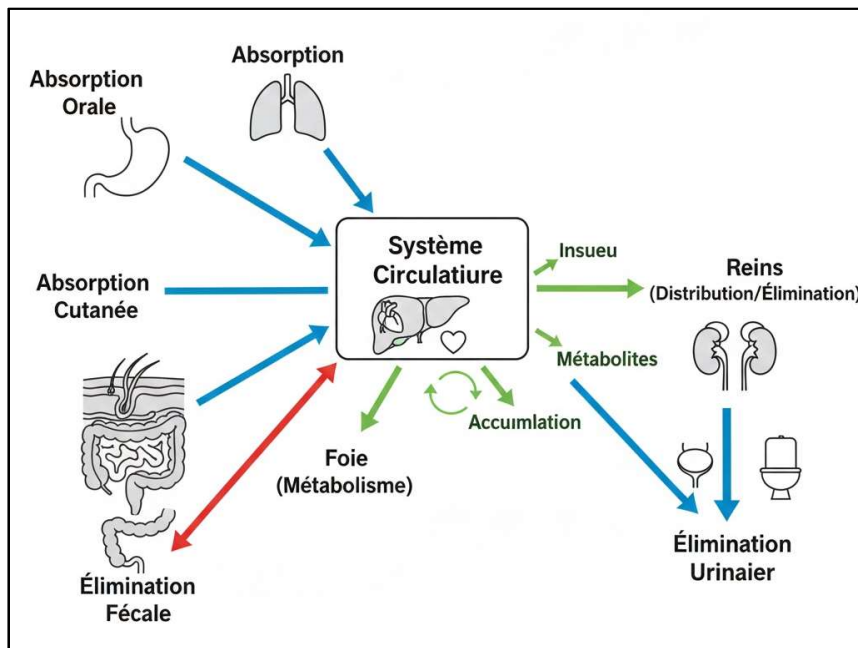


Figure 12. Schéma simplifié du devenir de la métribuzine dans l'organisme

V. Mécanismes biologiques et moléculaires de toxicité

V.1. Induction du stress oxydatif et déséquilibre redox

L'un des mécanismes centraux de la toxicité de la métribuzine repose sur l'induction d'un stress oxydatif, caractérisé par une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dépassant les capacités antioxydantes cellulaires (El-Gendy et al., 2010). Des études expérimentales chez les mammifères ont mis en évidence une augmentation significative de la peroxydation lipidique, associée à une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes clés telles que la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase (El-Gendy et al., 2010 ; Kalender et al., 2012). Ce déséquilibre redox constitue un mécanisme initiateur de dommages cellulaires multiples, notamment au niveau des membranes biologiques et des macromolécules (Tableau 6) (Figure 10) (Mostafalou & Abdollahi, 2017).

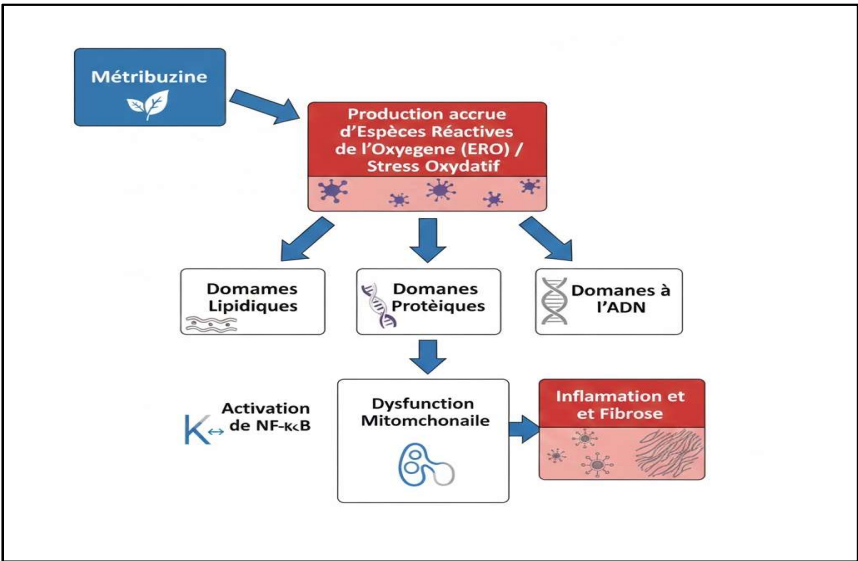


Figure 13. Stress oxydatif et perturbations cellulaires induites par la métribuzine

Tableau 9. Mécanismes d'action et conséquences physiopathologiques

Organe Cible	Mécanismes Moléculaires	Conséquences Fonctionnelles et Marqueurs
Foie (Cible primaire)	Stress oxydatif & Perturbation enzymatique : Altération des cytochromes P450 ; lipoperoxydation des membranes hépatocytaires ; inhibition de la synthèse protéique.	Élévation des transaminases (ALT/AST) et des phosphatases alcalines ; hypertrophie hépatique ; stéatose focalisée (EPA, 2017).
Rein	Apoptose & Stress osmotique : Dom-mages aux tubules proximaux par accumu-lation de métabolites réactifs ; déclenche-ment des voies pro-apoptotiques (cas-pases).	Élévation de la créatinine et de l'urée plasmatique ; diminution du taux de filtration glomérulaire ; néphropathie chronique (MDPI, 2025).
Cerveau / SNC	Neurotoxicité & Stress oxydatif : Inhibi-tion de l'acétylcholinestérase (faible à mo-dérée) ; dommages oxydatifs dans le cor-tex et l'hippocampe ; neuro-inflammation.	Comportement altéré (léthargie, baisse de l'activité motrice) ; tremblements lors d'expositions aiguës à fortes doses (EXTOX-NET, 1996).
Glande Thyroïde	Perturbation endocrinienne : Altération du métabolisme de l'iode et de la biosyn-thèse des hormones thyroïdiennes (T3/T4).	Goître colloïde ; diminution des taux circulants de thyroxine ; augmentation de la TSH (EPA, 2017).

V.2. Dysfonctionnement mitochondrial

Le stress oxydatif induit par la métribuzine est étroitement lié à un **dysfonctionnement mitochondrial**, résultant de l'altération de la chaîne respiratoire et de la perturbation du potentiel de membrane mitochondriale (Kalender et al., 2012). L'atteinte mitochondriale entraîne une diminution de la production d'ATP et une amplification de la génération d'ERO, établissant un cercle vicieux de toxicité cellulaire (Wallace, 2005). Ce mécanisme est particulièrement pertinent dans les tissus à forte activité métabolique, tels que le foie et les reins, organes cibles fréquemment rapportés dans les études toxicologiques sur la métribuzine (Hernández et al., 2011).

V.3. Interaction avec les enzymes cellulaires

La métribuzine et certains de ses métabolites peuvent interagir avec diverses **enzymes cellulaires**, notamment celles impliquées dans les voies de biotransformation hépatique. L'induction ou l'inhibition de certaines isoformes du cytochrome P450 a été rapportée, pouvant modifier l'équilibre métabolique cellulaire et favoriser la formation de métabolites réactifs (FAO & WHO, 2016). Par ailleurs, des altérations enzymatiques affectant le métabolisme énergétique et les systèmes de défense antioxydante ont été observées, contribuant à la toxicité systémique (Kalender et al., 2012).

V.4. Altérations de l'ADN et génotoxicité potentielle

Les dommages oxydatifs induits par la métribuzine peuvent s'étendre au matériel génétique. Des études *in vivo* et *in vitro* ont rapporté des **altérations de l'ADN**, incluant des cassures simple et double brin ainsi que des modifications oxydatives des bases nucléiques, suggérant un potentiel génotoxique indirect lié au stress oxydatif (Giri et al., 2002). Néanmoins, les données disponibles demeurent hétérogènes, et les agences réglementaires concluent à l'absence de preuve formelle de génotoxicité directe chez l'homme aux niveaux d'exposition réglementaires, tout en soulignant la nécessité de poursuivre les investigations mécanistiques (EFSA, 2014).

V.5. Activation des voies inflammatoires et fibrogéniques

L'activation prolongée du stress oxydatif et des dommages cellulaires peut conduire à l'**activation de voies inflammatoires**, notamment par la stimulation de facteurs de transcription sensibles au redox tels que NF- κ B (Lawrence, 2009). Cette activation favorise la production de cytokines pro-inflammatoires et peut, dans un contexte d'exposition chronique, contribuer à des processus fibrogéniques, en particulier au niveau hépatique (Mostafalou & Abdollahi, 2017). Ces mécanismes sont cohérents avec les observations histopathologiques de lésions inflammatoires et dégénératives rapportées dans des études animales après exposition prolongée à la métribuzine (Hernández et al., 2011).

VI. Toxicité aiguë de la métribuzine

VI.1. Données de toxicité aiguë (DL₅₀, classifications OMS/EPA)

La toxicité aiguë de la métribuzine a été évaluée principalement à partir d'études expérimentales chez l'animal, utilisées comme base pour l'extrapolation du risque humain. Les valeurs de DL₅₀ orale chez le rat sont généralement comprises entre 1 000 et 2 000 mg·kg⁻¹ de poids corporel, indiquant une toxicité aiguë faible à modérée par voie orale (Hernández et al., 2011). Par voie cutanée, la DL₅₀ est supérieure à 2 000 mg·kg⁻¹, suggérant une toxicité aiguë cutanée faible (Mostafalou & Abdollahi, 2017). Sur la base de ces données, la métribuzine est classée comme légèrement dangereuse (classe III) selon la classification de l'Organisation mondiale de la santé, et comme substance à toxicité aiguë modérée selon les critères de l'US EPA (Tableau 7) (WHO, 2010).

Tableau 10. Valeurs de létalité aiguë et catégories de danger

Espèce	Voie d'exposition	DL50 / CL50	Classification OMS	Classification EPA
Rat (mâle)	Orale	1090 - 2300 mg/kg	Classe II (Modérément dangereux)	Catégorie III (Légèrement toxique)
Rat (femelle)	Orale	sim 2345 mg/kg	Classe II (Modérément dangereux)	Catégorie III (Légèrement toxique)
Souris	Orale	sim 700 mg/kg	Classe II (Modérément dangereux)	Catégorie III (Légèrement toxique)
Cochon d'Inde	Orale	245 - 274 mg/kg	Classe II (Modérément dangereux)	Catégorie II (Toxique)
Rat	Cutanée	> 20000 mg/kg	Classe U (Peu probable de présenter un danger)	Catégorie IV (Pratiquement non toxique)
Lapin	Cutanée	> 20000\$ mg/kg	Classe U (Peu probable de présenter un danger)	Catégorie IV (Pratiquement non toxique)
Rat	Inhalation (CL ₅₀)	> 0,65 mg/L (4h)	Non spécifiée par l'OMS	Catégorie III (Légèrement toxique)

VI.2. Manifestations cliniques générales

Les manifestations cliniques aiguës observées après exposition à des doses élevées de métribuzine sont principalement non spécifiques et reflètent une atteinte systémique transi-

toire. Les symptômes rapportés dans les études animales incluent une diminution de l'activité motrice, une léthargie, une anorexie et, dans les cas sévères, des troubles de la coordination motrice (Mostafalou & Abdollahi, 2017). Chez l'homme, les données cliniques directes étant limitées, les effets attendus en cas d'exposition aiguë accidentelle sont extrapolés de ces observations et incluent des signes généraux de malaise, des troubles gastro-intestinaux et une fatigue marquée (FAO & WHO, 2016).

VI.3. Effets neurologiques aigus

Les **effets neurologiques aigus** constituent un élément notable de la toxicité aiguë de la métribuzine. Les études chez les rongeurs ont mis en évidence des signes de neurotoxicité fonctionnelle, tels que des tremblements, une hypoactivité et des altérations des réflexes, suggérant une perturbation transitoire du système nerveux central (Hernández et al., 2011). Ces effets sont interprétés comme secondaires à un déséquilibre métabolique et oxydatif plutôt qu'à une interaction neurotoxique spécifique, la métribuzine n'étant pas classée comme neurotoxique primaire (Hernández et al., 2011). Néanmoins, ces observations justifient une vigilance particulière lors d'expositions aiguës élevées, notamment en milieu professionnel.

VI.4. Effets respiratoires et cardiovasculaires

Les données disponibles indiquent que la métribuzine ne présente pas de **toxicité respiratoire aiguë spécifique** aux doses pertinentes sur le plan toxicologique, bien qu'une irritation des voies respiratoires supérieures puisse survenir lors d'une inhalation accidentelle de formulations pulvérisées ou de poussières (FAO & WHO, 2016). Les effets cardiovasculaires directs sont peu documentés et ne constituent pas un point critique de la toxicité aiguë de cette substance. Les variations observées des paramètres cardiovasculaires dans certaines études animales sont considérées comme secondaires à l'état de stress systémique induit par l'exposition aiguë plutôt qu'à une action cardiotoxique directe (Mostafalou & Abdollahi, 2017).

VII. Toxicité chronique et effets systémiques

VII.1. Hépatotoxicité

L'hépatotoxicité constitue l'un des effets systémiques les plus documentés de la métribuzine lors d'expositions répétées ou prolongées. Des études expérimentales chez le rat et la souris ont montré une **augmentation des enzymes hépatiques (ALT, AST)**, une accumulation lipidique dans l'hépatocyte et des lésions histopathologiques modérées à sévères, y compris nécrose focale et inflammation périportale (Kalender et al., 2012). Les mécanismes sous-jacents impliquent le **stress oxydatif**, la génération d'ERO et la perturbation du métabolisme hépatique, particulièrement des enzymes de phase I et II du cytochrome P450, conduisant à une accumulation de métabolites réactifs (FAO & WHO, 2016).

VII.2. Néphrotoxicité chronique

La **toxicité rénale** a été observée chez des mammifères exposés chroniquement à la métribuzine. Les manifestations incluent une **augmentation des marqueurs urinaires de la fonction rénale**, une altération histopathologique des tubules proximaux et une légère fibrose interstitielle (Hernández et al., 2011). La néphrotoxicité est souvent associée à la surcharge métabolique et à l'accumulation de métabolites réactifs, ainsi qu'à l'activation de voies inflammatoires locales (Mostafalou & Abdollahi, 2017).

VII.3. Neurotoxicité

Les expositions répétées à la métribuzine peuvent induire des **perturbations neurologiques subtiles**, telles que des altérations comportementales, des déficits de coordination motrice et des modifications biochimiques cérébrales, notamment une augmentation des marqueurs de stress oxydatif et une altération de l'homéostasie des neurotransmetteurs (El-Gendy et al., 2010; Kalender et al., 2012). Ces effets sont cohérents avec le rôle central du stress oxydatif et du dysfonctionnement mitochondrial dans la neurotoxicité observée.

VII.4. Perturbations endocriniennes

Des études in vitro et expérimentales ont suggéré que la métribuzine peut exercer des **effets perturbateurs endocriniens**, notamment sur les hormones thyroïdiennes et stéroïdiennes. Des modifications de la production de T3, T4 et de la testostérone ont été observées chez des rongeurs exposés chroniquement, suggérant un potentiel d'altération de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique et de l'axe thyroïdien (FAO & WHO, 2016).

VII.5. Effets hématologiques

Les expositions prolongées peuvent induire des **altérations hématologiques**, telles qu'une leucopénie modérée, une anémie légère et des variations des paramètres hématocritiques chez l'animal de laboratoire (Hernández et al., 2011). Ces effets semblent résulter d'une combinaison de stress oxydatif systémique et de perturbation de la synthèse enzymatique hépatique impliquée dans l'hématopoïèse (Mostafalou & Abdollahi, 2017).

VII.6. Effets sur la reproduction et le développement

Des études toxicologiques ont mis en évidence un **impact sur la reproduction et le développement**, bien que les données humaines directes soient limitées. Chez le rat, des expositions chroniques ont été associées à une diminution de la fertilité masculine et féminine, des anomalies embryonnaires légères et une réduction du poids des progénitures (FAO & WHO, 2016). Ces effets sont attribués à la combinaison du stress oxydatif, de perturbations endocriniennes et d'une toxicité systémique cumulative (Figure 14) (Mostafalou & Abdollahi, 2017).

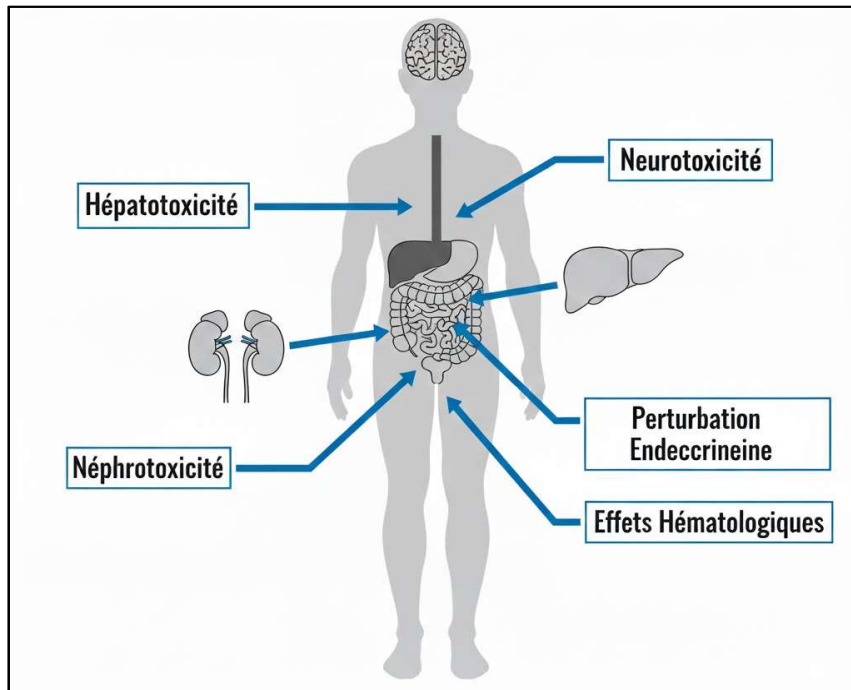


Figure 15. Organes cibles et effets chroniques de la métribuzine

VIII. Néphrotoxicité induite par la métribuzine (*axe central du mémoire*)

VIII.1. Bases physiologiques de la vulnérabilité rénale

Le rein est un organe particulièrement vulnérable aux toxiques chimiques en raison de sa **vascularisation élevée, de sa capacité de concentration urinaire et de son rôle dans l'élimination des métabolites hydrosolubles** (Briggs et al., 2018). Les tubules proximaux, riches en mitochondries et en enzymes de biotransformation, sont des sites privilégiés de bioactivation et d'accumulation de substances réactives. Cette physiologie explique la sensibilité accrue du parenchyme rénal aux herbicides comme la métribuzine, notamment en contexte d'exposition chronique (Mostafalou & Abdollahi, 2017).

VIII.2. Mécanismes d'accumulation et de toxicité rénale

La métribuzine est filtrée glomérulairement et partiellement réabsorbée dans les tubules proximaux, favorisant l'**accumulation intracellulaire dans les cellules tubulaires** (US EPA, 2005). La toxicité rénale résulte principalement de :

- **Stress oxydatif local**, générant des espèces réactives de l'oxygène endommageant lipides, protéines et ADN tubulaire (El-Gendy et al., 2010).
- **Altération mitochondriale**, entraînant une diminution de la production d'ATP et une apoptose tubulaire (Kalender et al., 2012).
- **Perturbation enzymatique**, affectant les systèmes de détoxification et de transport rénal, augmentant la concentration locale de métabolites réactifs (Figure 12) (FAO & WHO, 2016).

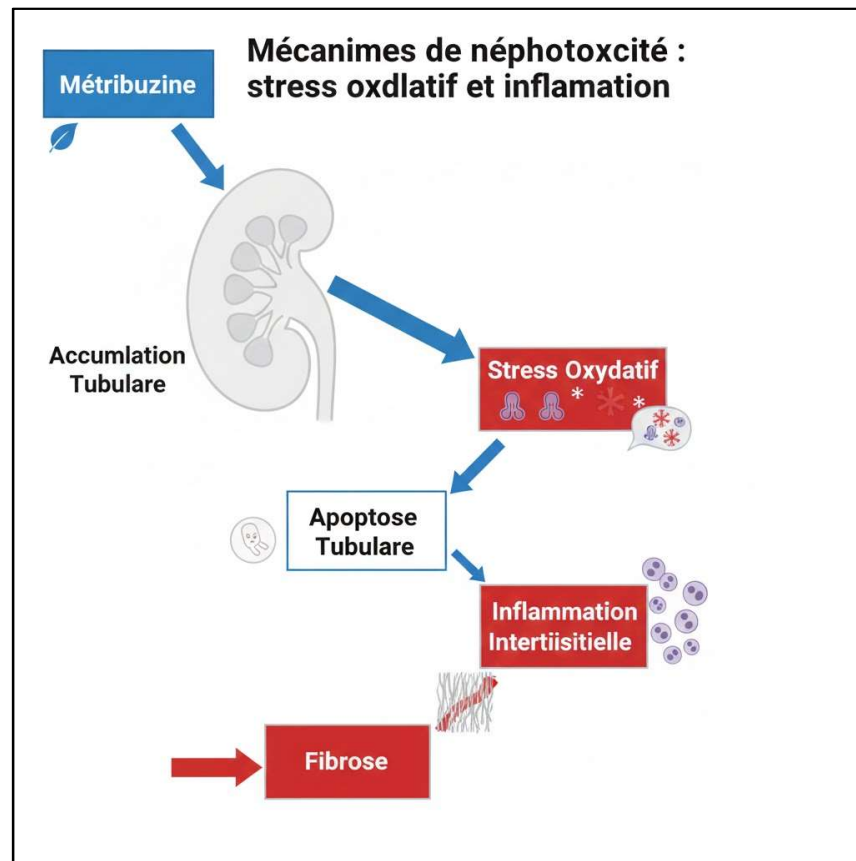


Figure 16. Mécanismes de néphrotoxicité : stress oxydatif et inflammation

VIII.3. Atteintes glomérulaires et tubulaires

Les études expérimentales rapportent que la métribuzine induit des **lésions tubulaires diffuses**, comprenant dégénérescence vacuolaire, nécrose focale et désorganisation du cytosquelette (Mostafalou & Abdollahi, 2017). Les atteintes glomérulaires sont moins prononcées mais peuvent inclure une **diminution de la filtration glomérulaire**, parfois accompagnée d'une légère expansion mésangiale, suggérant un stress rénal global en réponse à une exposition chronique (Mittal et al., 2014).

VIII.4. Stress oxydatif et inflammation rénale

Le stress oxydatif induit par la métribuzine active les voies de signalisation pro-inflammatoires, notamment NF- κ B, conduisant à une **production de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6)** et à un recrutement cellulaire inflammatoire interstitiel (Kalendar et al., 2012). Cette inflammation chronique contribue à la **fibrose rénale** et à la détérioration fonctionnelle progressive en cas d'exposition prolongée.

VIII.5. Biomarqueurs biochimiques et histopathologiques

Les **biomarqueurs urinaires et sanguins** reflétant la néphrotoxicité incluent :

- Élévation de l'urée sanguine et de la créatinine.
- Augmentation des enzymes tubulaires comme la γ -glutamyltransférase et la N-acétyl-

β -D-glucosaminidase (NAG).

- Marqueurs histopathologiques : vacuolisation tubulaire, nécrose focale, infiltration interstitielle et fibrose légère à modérée (Tableau 8) (Kalender et al., 2012).

Tableau 11. Biomarqueurs de la néphrotoxicité induite par la métribuzine

Type	Paramètre	Variation	Source
Sanguin	Créatinine plasmatique	↑ (Élévation significative)	Études subchroniques chez le rat (EPA, 2017 ; MDPI, 2025).
Sanguin	Azote uréique sanguin (BUN)	↑ (Indice d'azotémie)	Modèles murins à fortes doses (OEHHA, 2001).
Urinaire	N-acétyl- β -D-glucosaminidase (NAG)	↑ (Lésion tubulaire)	Études de toxicité mécanistique <i>in vivo</i> (MDPI, 2025).
Urinaire	Protéinurie / Albuminurie	↑ (Perte de sélectivité)	Études de toxicité chronique (EFSA, 2024).
Histopathologique	Vacuolisation tubulaire	Présence de vacuoles cytoplasmiques	Examen histologique du cortex rénal (EPA, 2017).
Histopathologique	Dilatation de la lumière tubulaire	Altération morphologique	Rapports d'études chroniques rat/chien (EFSA, 2024).
Histopathologique	Atrophie glomérulaire	Altération structurale rare	Observations à doses létales (EXTOXNET, 1996).
In vitro	Viabilité cellulaire (test MTT)	↓ (Cytotoxicité directe)	Cellules HEK-293 exposées à la métribuzine (MDPI, 2025).

VIII.6. Données expérimentales (études animales et cellulaires)

Chez les rats, l'administration chronique de métribuzine ($\geq 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}/\text{jour}$) entraîne une **altération significative de la fonction rénale et des lésions histopathologiques tubulaires** (Kalender et al., 2012). Des modèles cellulaires de tubules proximaux exposés à la métribuzine ont montré une **augmentation de ROS, une perte de viabilité cellulaire et une apoptose dose-dépendante**, confirmant les mécanismes de toxicité observés *in vivo* (El-Gendy et al., 2010).

VIII.7. Données humaines disponibles et limites méthodologiques

Les données humaines directes sont limitées, principalement issues de rapports d'expositions accidentelles ou professionnelles, souvent associées à des co-expositions à d'autres pesticides. Les observations incluent des élévations transitoires de marqueurs rénaux et des signes cliniques non spécifiques (FAO & WHO, 2016). La faible représentativité et l'absence de suivi longitudinal limitent la quantification précise du risque néphrotoxique humain spécifique à la métribuzine.

VIII.8. Comparaison avec d'autres triazinones

Par rapport à d'autres triazinones, telles que l'atrazine ou la terbuthylazine, la métribuzine présente une **toxicité rénale modérée**, avec des profils histopathologiques similaires mais une moindre persistance dans l'organisme et l'environnement (Mostafalou & Abdollahi, 2017). Cette comparaison suggère que la structure chimique et les substituants alkyles influencent significativement la néphrotoxicité de cette classe.

VIII.9. Facteurs modulant la néphrotoxicité (dose, durée, co-exposition)

La sévérité de la néphrotoxicité dépend de plusieurs facteurs :

- **Dose et durée d'exposition** : la toxicité est dose-dépendante et s'aggrave avec des expositions répétées.
- **Co-exposition à d'autres pesticides ou agents oxydants**, pouvant potentialiser les effets rénaux.
- **État physiologique et génétique de l'individu**, influençant la capacité de biotransformation et l'efficacité des mécanismes antioxydants (Mittal et al., 2014).

Ces éléments confirment le **caractère central de la néphrotoxicité dans l'évaluation du risque sanitaire lié à la métribuzine**, justifiant une surveillance rigoureuse et des mesures de prévention adaptées en milieu professionnel et environnemental.

IX. Comparaison entre la métribuzine et d'autres pesticides

La métribuzine est un herbicide systémique appartenant à la famille chimique des **triazinones**. Elle agit principalement en inhibant le **photosystème II (PSII)**, entraînant l'arrêt de la photosynthèse et la mort des mauvaises herbes. Comparativement à d'autres groupes de pesticides, elle présente des différences importantes en termes de mode d'action, de spectre d'activité, de persistance environnementale, de toxicité et de risques de résistance.

Tableau 12. Tableau comparatif

Critère	Métribuzine	Glyphosate	Atrazine	Paraquat	Pendiméthaline
Famille chimique	Triazinones	Glycines substituées	Triazines	Bipyridyles	Dinitroanilines
Type	Herbicide sélectif	Herbicide non sélectif	Herbicide sélectif	Herbicide de contact	Herbicide sélectif
Mode d'action	Inhibition du PSII	Inhibition de l'EPSPS	Inhibition du PSII	Production de radicaux libres	Inhibition de la division cellulaire
Utilisation	Pré- et post-levée	Post-levée	Pré- et post-levée	Post-levée	Pré-levée
Mobilité dans la plante	Systémique	Systémique	Systémique	Très faible	Faible
Persistance dans le sol	Moyenne	Faible à moyenne	Élevée	Faible	Moyenne à élevée
Risque de lessivage	Moyen à élevé	Variable	Élevé	Faible	Faible
Principales cultures	Pomme de terre, tomate, soja, blé	Nombreuses cultures	Maïs, sorgho	Vergers, cultures industrielles	Céréales, coton, légumineuses
Toxicité aiguë pour l'Homme	Faible à modérée	Faible à modérée	Modérée	Très élevée	Faible
Résistance des adventices	Oui	Très fréquente	Fréquente	Oui	Oui

IX.1. Comparaison du mode d'action

La métribuzine agit en bloquant le transfert des électrons au niveau du **site QB de la protéine D1** du photosystème II, interrompant ainsi la synthèse d'ATP et de NADPH. Ce mécanisme est similaire à celui de l'atrazine, tandis que le glyphosate inhibe l'enzyme EPSPS de la voie du shikimate, le paraquat provoque un stress oxydatif massif et la pendiméthaline bloque la polymérisation des microtubules responsables de la division cellulaire (Shaner, 2014 ; HRAC, 2024).

IX.2. Comparaison de l'efficacité agronomique

La métribuzine est particulièrement efficace contre de nombreuses dicotylédones an-

nuelles et certaines graminées. Son activité résiduelle permet un contrôle prolongé des adventices, mais cette persistance peut également accroître le risque de contamination des eaux souterraines dans les sols légers ou pauvres en matière organique. Le glyphosate offre un spectre beaucoup plus large mais ne possède pas d'effet résiduel important, tandis que la pendiméthaline est principalement utilisée en pré-levée avec une bonne activité sur les graminées annuelles.

IX.3. Comparaison de la toxicité

Chez les mammifères, la métribuzine présente généralement une toxicité aiguë plus faible que celle du paraquat mais comparable à celle du glyphosate et inférieure à celle de l'atrazine pour certains effets chroniques. Une exposition répétée à la métribuzine peut induire un stress oxydatif, des altérations hépatiques, rénales et des perturbations endocriniennes observées principalement dans des études expérimentales à fortes doses (World Health Organization, 2016 ; European Food Safety Authority, 2023).

IX.4. Comparaison de l'impact environnemental

La mobilité relativement élevée de la métribuzine favorise son transfert vers les eaux souterraines, notamment dans les sols sableux. L'atrazine présente un comportement similaire mais avec une persistance souvent plus importante. En revanche, la pendiméthaline est fortement adsorbée sur les particules du sol, limitant son lessivage. Le glyphosate est généralement fortement adsorbé aux colloïdes du sol, bien que son devenir environnemental dépende des caractéristiques édaphiques et climatiques.

IX.5. Comparaison de la résistance

Des populations d'adventices résistantes à la métribuzine ont été identifiées dans plusieurs pays. Les mécanismes incluent principalement des mutations de la protéine D1 du photosystème II et une détoxification métabolique accrue. Toutefois, le nombre d'espèces résistantes demeure inférieur à celui observé pour le glyphosate, qui est l'un des herbicides les plus concernés par les phénomènes de résistance à l'échelle mondiale.

IX.6. Avantages et limites de la métribuzine

Avantages

- Bonne efficacité contre de nombreuses adventices à feuilles larges.
- Activité en pré- et post-levée.
- Effet résiduel utile pour limiter les levées successives.
- Compatible avec plusieurs programmes de désherbage intégrés.

Limites

- Risque de phytotoxicité sur certaines cultures sensibles.
- Possibilité de lessivage vers les eaux souterraines.

- Apparition de résistances chez certaines adventices.
- Efficacité influencée par la texture du sol et sa teneur en matière organique.

X. Données réglementaires et évaluation du risque toxicologique

X.1. Valeurs toxicologiques de référence (DJA, ARfD)

La **dose journalière admissible (DJA)** pour la métribuzine a été établie par la FAO/OMS et l'EFSA à partir des études toxicologiques les plus fiables, incluant la toxicité chronique et la néphrotoxicité expérimentale. La **DJA est fixée à $0,005 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{jour}^{-1}$** , reflétant une marge de sécurité adaptée pour les populations humaines sensibles (FAO & WHO, 2016). La **dose aiguë de référence (ARfD)** n'a pas été spécifiquement fixée par certains organismes, étant donné la toxicité aiguë relativement faible, mais les évaluations de l'EPA considèrent une dose seuil de $0,01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ pour la gestion des expositions accidentelles (Mittal et al., 2014).

X.2. Limites maximales de résidus (LMR)

Les **limites maximales de résidus (LMR)** de métribuzine dans les denrées alimentaires sont réglementées pour protéger la santé publique. Selon le Codex Alimentarius et les recommandations de l'EFSA :

- LMR pour pomme de terre : $0,05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
- LMR pour blé : $0,01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
- LMR pour soja: $0,02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (FAO & WHO, 2016).

Ces valeurs tiennent compte de la toxicocinétique, de l'accumulation possible et des marges de sécurité pour les consommateurs.

X.3. Évaluations par les organismes internationaux (OMS, FAO, EFSA, EPA)

- **OMS/FAO (JMPR, 2016)** : considèrent la métribuzine comme légèrement toxique à modérément toxique, avec un profil de toxicité chronique dominé par la néphrotoxicité et l'hépatotoxicité. L'évaluation inclut l'exposition alimentaire et professionnelle.
- **EFSA (2014)** : confirme la toxicité systémique principalement sur le foie et le rein, mais considère que les doses réglementaires respectant les LMR ne posent pas de risque significatif pour la population générale.
- **US EPA (2005)** : classe la métribuzine comme substance à toxicité aiguë modérée, souligne la néphrotoxicité potentielle et recommande des mesures de protection professionnelle et environnementale.

X.4. Implications pour la santé publique

La métribuzine, utilisée conformément aux réglementations et limites de résidus, présente un **risque contrôlé pour la population générale**, mais les **expositions professionnelles**

restent la principale source de préoccupation, justifiant le port d'équipements de protection individuelle et la surveillance médicale des applicateurs (Mittal et al., 2014). La **surveillance des résidus alimentaires et de l'eau potable** demeure essentielle pour prévenir l'exposition chronique et protéger les populations vulnérables, telles que les enfants et les personnes présentant une insuffisance rénale ou hépatique (FAO & WHO, 2016).

XI. Prévention, gestion du risque et perspectives

XI.1. Mesures de prévention en milieu professionnel

La prévention repose sur la **réduction de l'exposition directe des travailleurs agricoles et applicateurs**, notamment par l'adoption de pratiques sécuritaires telles que le respect strict des doses recommandées, l'entretien et le nettoyage adéquat des équipements, et la formation à la manipulation des formulations concentrées (FAO & WHO, 2016). La rotation des tâches et la limitation de la fréquence d'application contribuent également à réduire l'exposition cumulative et le risque de toxicité chronique, en particulier rénale et hépatique (Mittal et al., 2014).

XI.2. Équipements de protection individuelle (EPI)

L'utilisation systématique d'**équipements de protection individuelle** est essentielle pour prévenir l'exposition cutanée et inhalatoire. Les EPI recommandés incluent :

- Gants résistants aux produits chimiques, manches longues et pantalons longs.
- Masques ou respirateurs filtrants adaptés aux pulvérisations fines.
- Lunettes de protection et bottes étanches pour minimiser le contact cutané et oculaire (Mittal et al., 2014).

L'efficacité des EPI est confirmée par des études de biomonitoring montrant une réduction significative des biomarqueurs de contamination systémique lorsque ces mesures sont respectées (FAO & WHO, 2016).

XI.3. Réduction de l'exposition environnementale

La gestion du risque environnemental repose sur la **limitation de la dispersion dans le sol, l'eau et l'air**. Les pratiques recommandées incluent :

- Éviter l'application avant des précipitations imminentes pour limiter le lessivage.
- Maintenir des bandes tampons végétales près des cours d'eau pour réduire la contamination aquatique.
- Utiliser des formulations à faible volatilité et des techniques d'épandage ciblées pour diminuer la dérive (Mittal et al., 2014).

Ces mesures contribuent à réduire l'exposition indirecte de la population générale et des écosystèmes.

XI.4. Limites des connaissances actuelles

Malgré les données disponibles, plusieurs **lacunes scientifiques subsistent** :

- Données humaines directes limitées sur la néphrotoxicité chronique et la perturbation endocrinienne.
 - Peu de suivi longitudinal de populations exposées professionnellement.
 - Incertitudes concernant les interactions avec d'autres pesticides ou agents oxydants dans les conditions réelles d'exposition (Mostafalou & Abdollahi, 2017).
- Ces limites justifient une prudence dans l'évaluation du risque et l'application des mesures réglementaires.

XI.5. Perspectives de recherche en toxicologie

Les perspectives incluent :

- **Études mécanistiques** approfondies sur la néphrotoxicité, incluant l'analyse des biomarqueurs précoces et les voies de signalisation cellulaire affectées.
- **Recherches épidémiologiques** longitudinales sur les populations professionnelles exposées pour quantifier les effets à long terme.
- **Évaluation des co-expositions** avec d'autres herbicides et perturbateurs endocriniens.
- Développement de **formulations moins toxiques et techniques d'application plus sûres**, afin de réduire la toxicité systémique et environnementale (FAO & WHO, 2016).

Ces approches permettront d'améliorer la gestion du risque, de renforcer la protection de la santé publique et de mieux encadrer l'usage de la métribuzine dans l'agriculture moderne(Figure 17).

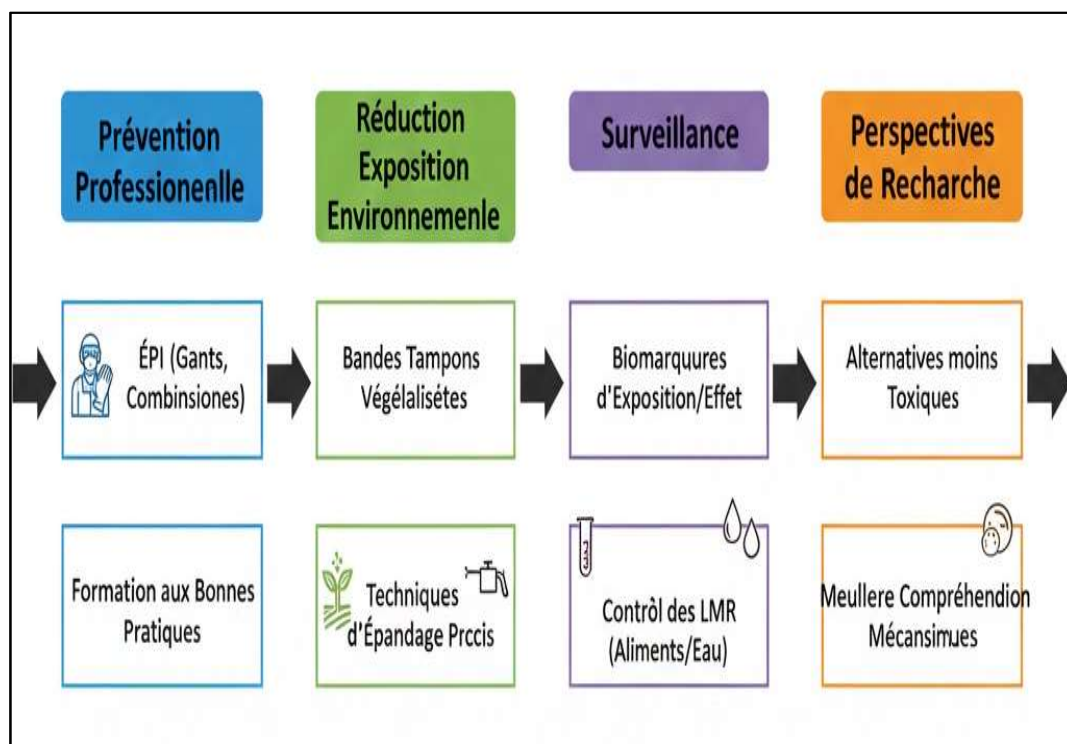


Figure 18. Mesures de prévention et gestion du risque de la métribuzine



Partie 2 : Partie Pratique



Chapitre 1 : Matériel et méthodes

4.3. Matériel et Méthodes d'Extraction

4.3.1. Préparation du matériel végétal

Les parties aériennes de *Petroselinum crispum* ont été sélectionnées pour leur intégrité physiologique, puis soumises à un lavage soigneux à l'eau distillée afin d'éliminer les débris exogènes, poussières et contaminants superficiels susceptibles d'interférer avec les analyses phytochimiques (Harborne, 1998).

Le matériel végétal a été récolté dans une exploitation familiale située dans le quartier El-Houd, commune de Guemar, wilaya d'El Oued (Algérie), garantissant une origine locale du matériel étudié et des conditions de croissance naturelles.

La dessiccation a été réalisée à température ambiante ($\approx 25\text{ }^{\circ}\text{C}$), à l'abri de la lumière directe, jusqu'à obtention d'une masse constante. Ce procédé permet de préserver les composés thermosensibles et de limiter les réactions d'oxydation enzymatique susceptibles de dégrader les métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques (Azwanida, 2015).

Le matériel végétal sec a ensuite été broyé à l'aide d'un broyeur mécanique afin d'obtenir une poudre fine et homogène. Cette étape augmente la surface spécifique de contact entre la matrice végétale et le solvant d'extraction, améliorant ainsi l'efficacité de la diffusion des composés bioactifs vers le milieu d'extraction (Dai & Mumper, 2010) (Figure 14, 15).



Figure 19. El-Houd, Guemar (33.524557083205856, 6.784021295180072)



Figure 20. Une image réaliste de la ferme d'où provenait le persil.

4.3.2. Préparation du solvant et processus d'extraction

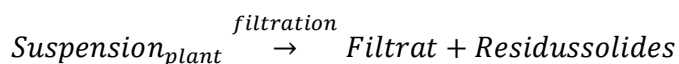
L'extraction des composés bioactifs de *Petroselinum crispum* a été réalisée par macération à froid à l'aide d'un solvant hydroéthanolique composé d'éthanol et d'eau dans un rapport 70 :30 (v/v). Ce système de solvant est largement utilisé en phytochimie en raison de sa capacité à extraire simultanément des composés polaires et semi-polaires, notamment les polyphénols et flavonoïdes, tout en limitant la dégradation thermique des molécules sensibles (Tiwari et al., 2011).

La poudre végétale (10 g) a été immergée dans 100 mL du mélange hydroéthanolique, correspondant à un rapport solide/liquide de 1:10 (m/v). Le système a été soumis à une agitation vigoureuse afin d'assurer une homogénéisation optimale de la suspension et d'améliorer le contact entre le solvant et la matrice végétale, favorisant ainsi la diffusion des métabolites secondaires vers le milieu d'extraction.

Afin de maximiser l'extraction des principes actifs tout en préservant leur stabilité chimique, le mélange a été incubé à basse température (4 °C) pendant 24 heures. Cette condition permet de réduire les réactions d'oxydation enzymatique et de limiter la dégradation des composés thermolabiles, tout en maintenant une efficacité d'extraction satisfaisante (Eloff, 1998).

4.3.3. Clarification et concentration de l'extrait

Au terme de la phase d'incubation, le macérat obtenu à partir de *Petroselinum crispum* a été soumis à une double étape de clarification afin d'éliminer les impuretés solides et d'améliorer la qualité de l'extrait final. Dans un premier temps, une filtration sur papier filtre de type Wattman, associée à un coton hydrophile, a permis de retenir les débris macroscopiques issus de la matrice végétale, assurant ainsi une première purification du filtrat.



Le filtrat obtenu a ensuite été laissé en décantation pendant 24 heures, puis soumis à

une seconde filtration afin d'éliminer les microparticules résiduelles encore présentes en suspension. Cette double étape de clarification permet d'obtenir un extrait plus limpide, limitant ainsi les interférences lors des analyses spectrophotométriques ultérieures et améliorant la fiabilité des dosages phytochimiques (Rezaie et al., 2015).

La phase liquide a ensuite été concentrée par évaporation sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavapor) pendant 20 minutes. Cette technique permet de réduire efficacement le volume de solvant tout en préservant les composés thermosensibles grâce à l'abaissement du point d'ébullition sous vide, limitant ainsi la dégradation thermique des métabolites bioactifs (Wang & Weller, 2006).

$$P_{vap} \downarrow \Rightarrow T_{boiling} \downarrow \Rightarrow Degradation_{therm} \downarrow$$

Ce procédé de concentration permet donc d'obtenir un extrait brut enrichi en composés bioactifs, prêt pour les analyses phytochimiques et les tests d'évaluation de l'activité antioxydante.

4.3.4. Dessiccation finale et rendement d'extraction

L'extrait concentré obtenu à partir de *Petroselinum crispum* a été transféré dans une boîte de Pétri préalablement tarée, puis placé dans un incubateur thermostaté pendant 96 heures afin d'éliminer totalement les traces résiduelles de solvant. Cette étape de dessiccation finale permet d'obtenir un extrait sec stable, limitant les phénomènes d'oxydation et garantissant la conservation des composés bioactifs (Zhang et al., 2018).

❖ Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{M_{extrait}}{M_{initial}} \times 100$$

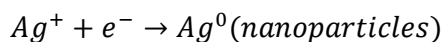
- Où $M_{extrait}$ représente la masse de l'extrait sec final et $M_{initial}$ la masse de la poudre végétale de départ.
- **Paramètres expérimentaux:**
 - La masse initiale de poudre végétale utilisée ($M_{initial}$) est de **10 g**.
 - La poudre a été extraite par macération dans 100 mL d'un solvant hydroéthanolique (70 :30 v/v).
 - L'extrait a ensuite été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis soumis à une dessiccation finale dans un incubateur pendant 96 heures pour obtenir un extrait sec stable

4.4. Synthèse et purification des nanoparticules d'argent (AgNPs)

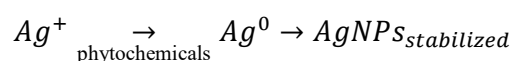
4.4.1. Matériels et réactifs

La synthèse verte des nanoparticules d'argent (AgNPs) a été réalisée en utilisant des

précurseurs métalliques et des agents réducteurs d'origine végétale. Le nitrate d'argent (AgNO_3), utilisé comme source d'ions argent, a été dissous dans de l'eau distillée de haute pureté afin de garantir un milieu réactionnel exempt d'impuretés susceptibles d'interférer avec la nucléation des nanoparticules.



L'extrait hydroéthanolique de *Petroselinum crispum*, préparé préalablement, a été utilisé comme agent bioréducteur et agent de stabilisation (capping agent). Il assure à la fois la réduction des ions Ag^+ en argent métallique (Ag^0) et la stabilisation colloïdale des nanoparticules formées grâce aux biomolécules présentes (polyphénols, flavonoïdes et autres métabolites secondaires) (Iravani, 2011).

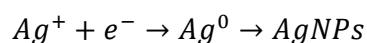


L'instrumentation utilisée comprenait une balance analytique de haute précision, un agitateur magnétique chauffant avec contrôle de température, ainsi qu'une centrifugeuse destinée aux étapes de séparation et de purification des nanoparticules. L'ensemble de la verrerie et des tubes de centrifugation a été soigneusement nettoyé et séché afin d'éviter toute contamination susceptible d'affecter la formation ou la stabilité des colloïdes nanoparticulaires (Ahmad et al., 2013).

4.4.2. Protocole de synthèse des AgNPs

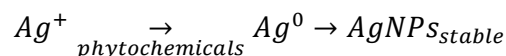
La synthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) a été réalisée selon une approche de chimie verte basée sur l'utilisation d'extraits végétaux comme agents réducteurs et stabilisants. Cette stratégie est aujourd'hui largement reconnue comme une alternative durable aux méthodes chimiques conventionnelles, en raison de sa faible toxicité et de son respect de l'environnement (Vanlalveni et al., 2022; Eker et al., 2025).

Dans ce travail, une solution de nitrate d'argent (AgNO_3) a été utilisée comme précurseur métallique fournissant les ions Ag^+ nécessaires à la formation des nanoparticules.



Parallèlement, une solution d'extrait de *Petroselinum crispum* a été préparée afin de servir à la fois d'agent réducteur et de stabilisant grâce à ses composés bioactifs (polyphénols, flavonoïdes, tanins et autres métabolites secondaires).

Les biomolécules végétales jouent un rôle clé dans la réduction des ions argent et la stabilisation des nanoparticules formées, en empêchant leur agrégation et en contrôlant leur taille (Mustapha et al., 2022; El-Shafey et al., 2023).



La réaction de synthèse est généralement optimisée par des paramètres tels que la tem-

pérature, le pH et la concentration des réactifs, qui influencent directement la taille, la morphologie et la stabilité des nanoparticules (Eker et al., 2025).

Dans des conditions thermiques contrôlées, la formation des AgNPs est accélérée, favorisant la nucléation et la croissance des particules. Les études récentes montrent que la synthèse assistée par chaleur améliore significativement le rendement et la stabilité colloïdale des nanoparticules. (Rajak et al., 2023).

$$\text{Température} \uparrow \Rightarrow \text{nucléation} \uparrow \Rightarrow \text{AgNPs formation} \uparrow$$

La formation des nanoparticules est généralement confirmée par un changement de couleur de la solution vers une teinte brunâtre, attribuée au phénomène de résonance plasmonique de surface (SPR), caractéristique des nanoparticules d'argent (Eker et al., 2025).

4.4.3. Purification et dessiccation

La suspension colloïdale de nanoparticules d'argent obtenue à partir de l'extrait de *Petroselinum crispum* a été soumise à un protocole de purification visant à éliminer les résidus d'extrait végétal, les ions Ag^+ non réduits ainsi que les sous-produits réactionnels. Cette étape est essentielle pour garantir la stabilité, la reproductibilité et la fiabilité des analyses physico-chimiques ultérieures.

Dans un premier temps, les échantillons ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 minutes, permettant la séparation des nanoparticules sous forme de culot au fond du tube, tandis que les impuretés solubles restent dans le surnageant (Kumar et al., 2021).

$$\text{Centrifugation} \Rightarrow \text{AgNPs}_{\text{pellet}} + \text{Supernatant}_{\text{impurities}}$$

❖ Étapes de purification

Le protocole de purification a été réalisé selon une série de cycles successifs :

1. **Séparation initiale** : élimination du surnageant et récupération du culot contenant les AgNPs.
2. **Lavage du culot** : redispersion dans de l'eau distillée suivie d'une agitation douce afin de dissoudre les impuretés adsorbées à la surface des nanoparticules.
3. **Centrifugations répétées** : le cycle lavage-centrifugation a été répété trois fois afin d'améliorer le degré de pureté du système colloïdal (Singh et al., 2022).

$$\text{Impurities} \downarrow \xrightarrow{\text{washi}} \text{AgNPs}_{\text{purified}} \uparrow$$

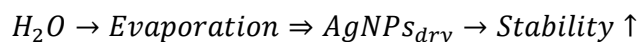
Cette approche de purification multiple est largement utilisée dans la synthèse verte des nanoparticules afin de réduire la contamination par des biomolécules résiduelles et d'améliorer la stabilité colloïdale du produit final.

❖ Dessiccation et conservation

Le culot purifié a ensuite été transféré dans une boîte de Pétri préalablement propre,

puis placé en étuve thermostatée jusqu'à dessiccation complète. Cette étape permet l'élimination totale de l'eau résiduelle, conduisant à l'obtention de nanoparticules sèches sous forme de poudre stable.

Les nanoparticules d'argent sèches ont été collectées et conservées dans des flacons ambrés hermétiquement fermés afin de limiter l'exposition à la lumière et à l'humidité, deux facteurs susceptibles d'induire une agrégation ou une oxydation partielle des AgNPs (Gao et al., 2023).



4.5. Préparation de la solution de nitrate d'argent

Une quantité de 1,9 g de nitrate d'argent ($AgNO_3$) a été pesée puis dissoute dans 50 mL d'eau distillée afin de préparer la solution mère de nitrate d'argent.

Par ailleurs, une seconde solution a été préparée en dissolvant 10 mg d'extrait sec de persil dans 10 mL d'eau distillée.

4.5.1. Synthèse des nanoparticules

Pour la synthèse des nanoparticules d'argent, 5 mL de la solution d'extrait ont été ajoutés à 50 mL de solution de nitrate d'argent, puis 8 mL d'eau distillée ont été incorporés au mélange. Le mélange réactionnel final, d'un volume total d'environ 55 mL, a été homogénéisé puis placé sous agitation. Ensuite, la solution a été maintenue sous agitation magnétique et chauffée à 75°C pendant environ 1 heure, jusqu'à l'apparition d'un changement de couleur, indiquant la formation probable des nanoparticules d'argent. Après cette étape, le mélange a été conservé au réfrigérateur pendant 24 heures, à l'abri de la lumière, afin de favoriser la stabilisation complète des nanoparticules formées.

4.5.2. Purification des nanoparticules d'argent

Après la synthèse, la suspension contenant les nanoparticules d'argent a été transférée dans des tubes plastiques de centrifugation.

Les échantillons ont ensuite été soumis à une centrifugation à 3000 tours/minute pendant 15 minutes afin de séparer les nanoparticules du surnageant.

Après centrifugation, le surnageant a été éliminé et le culot obtenu a été lavé à l'eau distillée afin d'éliminer les impuretés résiduelles et les excès de réactifs non consommés.

Le culot remis en suspension a ensuite été soumis à une nouvelle centrifugation dans les mêmes conditions.

Cette opération de lavage-centrifugation a été répétée trois fois afin d'assurer une meilleure purification des nanoparticules synthétisées.

4.5.3. Séchage des nanoparticules

Après la dernière étape de purification, le culot final contenant les nanoparticules a été transféré dans une boîte de Pétri.

L'échantillon a ensuite été placé dans une étuve/incubateur jusqu'à dessiccation complète, afin d'obtenir les nanoparticules sous forme sèche.

Les nanoparticules sèches obtenues ont ensuite été récupérées et conservées dans des conditions appropriées jusqu'à leur utilisation dans les différentes analyses expérimentales.

4.6. Dosage des polyphénols totaux (méthode de Folin–Ciocalteu)

4.6.1. Matériels et réactifs

a) Réactifs

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé à partir de l'extrait de *Petroselinum crispum* en utilisant la méthode colorimétrique de Folin–Ciocalteu, largement employée pour l'estimation globale des composés phénoliques. Cette méthode repose sur une réaction d'oxydoréduction entre les composés phénoliques et le réactif phosphomolybdotungstate, conduisant à la formation d'un complexe bleu mesurable par spectrophotométrie. (Everette et al., 2010).

Les réactifs utilisés comprennent :

- L'extrait végétal brut,
- L'acide gallique comme standard de référence,
- Le réactif de Folin–Ciocalteu,
- Le carbonate de sodium (Na_2CO_3) pour l'alcalinisation du milieu réactionnel.

b) Matériel

Le matériel expérimental comprend des tubes à essai, des micropipettes de précision et un spectrophotomètre UV–Visible pour la mesure de l'absorbance. Cette technique repose sur une lecture spectrophotométrique précise permettant la quantification indirecte des composés phénoliques totaux. (Bobo-García et al., 2015).

4.6.2. Préparation des solutions

Une solution d'extrait a été préparée en dissolvant 1,5 mg d'extrait sec dans 1,5 mL d'eau distillée, correspondant à une concentration de $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Cette étape permet d'obtenir une solution homogène adaptée à l'analyse spectrophotométrique. (Everette et al., 2010).

Une solution de carbonate de sodium a été préparée en dissolvant 1,5 g de Na_2CO_3 dans 20 mL d'eau distillée afin de créer un milieu alcalin indispensable au développement de la réaction colorée. (Bobo-García et al., 2015).

Une solution mère d'acide gallique a été préparée à 20 mg dans 100 mL d'eau distillée ($0,2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), suivie de dilutions successives (0,1 ; 0,05 ; 0,025 ; 0,0125 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) permet-

tant l'établissement d'une courbe d'étalonnage fiable et reproductible. (Salar et al., 2021).

4.6.3. Procédure expérimentale

L'analyse a été réalisée en triplicat afin d'assurer la fiabilité et la reproductibilité des résultats obtenus. Dans chaque tube, 0,25 mL d'extrait ont été introduits, suivis de 1,25 mL de réactif de Folin–Ciocalteu. (Everette et al., 2010).

Après une incubation de 5 minutes à l'obscurité, 1 mL de solution de Na_2CO_3 a été ajouté afin d'alcaliniser le milieu réactionnel et de permettre le développement de la coloration bleue caractéristique. (Bobo-García et al., 2015).



Les tubes ont ensuite été incubés pendant 30 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière, afin de permettre le développement complet de la réaction colorimétrique.

4.6.4. Mesure et analyse

L'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV–Visible, correspondant au maximum d'absorption du complexe réduit phosphomolybdotungstate formé lors de la réaction. (Everette et al., 2010).

$$A_{765} \propto \text{Polyphenols}_{\text{total}}$$

Une coloration allant du bleu clair au bleu foncé a été observée, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en polyphénols présents dans l'échantillon. (Salar et al., 2021).

Les résultats ont été exprimés en équivalents d'acide gallique (mg EAG/g d'extrait) à partir de la courbe d'étalonnage obtenue avec les solutions standards traitées dans les mêmes conditions expérimentales, garantissant une quantification fiable et comparable aux études récentes.

4.7. Dosage des flavonoïdes totaux (méthode au chlorure d'aluminium)

4.7.1. Matériels et réactifs

a) Réactifs

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé à partir de l'extrait de *Petroselinum crispum* selon la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (AlCl_3), largement utilisée pour l'évaluation quantitative des flavonoïdes dans les extraits végétaux. Cette méthode repose sur la formation d'un complexe stable entre les ions aluminium (Al^{3+}) et les groupements hydroxyles des flavonoïdes, générant une coloration mesurable par spectrophotométrie UV–Visible. (Pękal & Pyrzyńska, 2014).

Les réactifs utilisés comprennent :

- L'extrait végétal brut,
- Le chlorure d'aluminium (AlCl_3),
- Le méthanol,

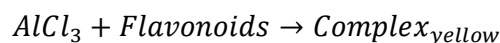
- La quercétine utilisée comme standard de référence pour l'établissement de la courbe d'étalonnage.

b) Matériel

Le matériel expérimental comprenait des tubes à essai, des micropipettes de précision, un vortex pour l'homogénéisation des solutions, un spectrophotomètre UV–Visible ainsi que du papier aluminium destiné à protéger les réactions de la lumière et à limiter les phénomènes de photodégradation des composés phénoliques. (Sultana et al., 2022).

4.7.2. Préparation des solutions

Une solution de chlorure d'aluminium a été préparée en dissolvant 0,2 g de $AlCl_3$ dans 10 mL de méthanol. Cette solution permet la complexation des flavonoïdes présents dans l'échantillon via l'interaction entre les ions Al^{3+} et les groupements hydroxyles phénoliques. (Pękal & Pyrzynska, 2014).



Une solution d'extrait a été préparée en dissolvant 1,5 mg d'extrait sec dans 15 mL d'eau distillée, assurant une concentration adaptée à l'analyse spectrophotométrique et permettant une bonne homogénéité du milieu réactionnel. (Sultana et al., 2022).

$$C = \frac{1.5}{15} = 0.1 \text{ mg/ml}$$

Une solution mère de quercétine a été préparée en dissolvant 20 mg dans 100 mL d'eau distillée ($0,2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), suivie de dilutions successives (0,1 ; 0,05 ; 0,025 ; $0,0125 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) afin d'établir une courbe d'étalonnage fiable pour la quantification des flavonoïdes totaux. (Shraim et al., 2021).

4.7.3. Procédure expérimentale

L'analyse a été réalisée en triplicat afin d'assurer la reproductibilité et la précision des résultats expérimentaux. Dans chaque tube à essai, 0,5 mL de solution d'extrait ont été introduits. (Sultana et al., 2022).

Ensuite, 0,5 mL de solution de chlorure d'aluminium ont été ajoutés, suivis de 0,5 mL de méthanol afin de maintenir un volume réactionnel constant et de favoriser une homogénéisation optimale du mélange.

Les tubes ont été recouverts de papier aluminium puis incubés à température ambiante pendant 30 minutes à l'obscurité afin de permettre la formation complète du complexe flavonoïde–aluminium. Cette étape favorise la stabilité du complexe chromogène et améliore la précision des mesures spectrophotométriques. (Pękal & Pyrzynska, 2014).

4.7.4. Mesure et analyse

L'absorbance a été mesurée à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV–Visible, cor-

respondant au maximum d'absorption du complexe flavonoïde- Al^{3+} formé au cours de la réaction. (Shraim et al., 2021).

$$A_{415} \propto \text{Flavonoids}_{total}$$

Une coloration variant du jaune au vert-bleu a été observée, dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration en flavonoïdes présents dans l'échantillon. Cette relation permet une quantification fiable des flavonoïdes totaux dans l'extrait étudié. (Sultana et al., 2022).

Les résultats ont été exprimés en équivalents de quercétine (mg EQ/g d'extrait) à partir de la courbe d'étalonnage obtenue avec les solutions standards soumises aux mêmes conditions expérimentales.

4.5. Dosage des tanins condensés (méthode à la vanilline)

4.5.1. Matériels et réactifs

a) Réactifs

Le dosage des tanins condensés a été réalisé à partir de l'extrait de *Petroselinum crispum* en utilisant la méthode colorimétrique vanilline-HCl, reconnue pour sa spécificité vis-à-vis des proanthocyanidines (tanins condensés). Cette méthode repose sur une condensation acido-catalysée entre la vanilline et les unités flavan-3-ols, produisant un complexe coloré mesurable par spectrophotométrie. (Butler et al., 2020).

Les réactifs utilisés comprennent :

- L'extrait végétal brut,
- La vanilline dissoute dans le méthanol,
- L'acide chlorhydrique (HCl) concentré,
- La catéchine utilisée comme standard d'étalonnage pour l'établissement de la courbe de calibration.

Cette approche est largement utilisée en phytochimie moderne pour la quantification des tanins condensés en raison de sa sensibilité et de sa reproductibilité. (Broin et al., 2021).

b) Matériel

Le matériel expérimental comprenait des tubes à essai, des micropipettes de précision, un vortex pour assurer l'homogénéisation des mélanges réactionnels, ainsi qu'un spectrophotomètre UV-Visible pour la mesure de l'absorbance.

$$\text{Absorbance} \propto \text{Concentration}_{\text{tannins}}$$

Afin de garantir la stabilité des réactions colorimétriques et d'éviter toute interférence photochimique, les tubes ont été protégés de la lumière à l'aide de papier aluminium. Cette précaution est essentielle, car certaines réactions impliquant des polyphénols peuvent être sensibles à la photodégradation ou à l'oxydation induite par la lumière. (Zhang et al., 2022).

4.5.2. Préparation des solutions

La solution de vanilline a été préparée en dissolvant 0,4 g de vanilline dans 10 mL de méthanol. Ce réactif joue un rôle de composé chromogène, capable de réagir spécifiquement avec les unités flavan-3-ols des tanins condensés en milieu acide, conduisant à la formation d'un complexe coloré mesurable par spectrophotométrie. (Butler et al., 2020).



Une solution mère de catéchine a été préparée en dissolvant 20 mg dans 100 mL d'eau distillée, correspondant à une concentration de 0,2 mg·mL⁻¹. Cette solution standard est utilisée comme référence pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, permettant la quantification des tanins condensés dans les échantillons analysés. (Broin et al., 2021).

$$C_{\text{catechin}} = \frac{20\text{mg}}{100\text{mg}} = 0.2\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$$

Des dilutions successives ont été réalisées à partir de la solution mère afin d'obtenir une gamme de concentrations étalonnées (0,1 ; 0,05 ; 0,025 ; 0,0125 mg·mL⁻¹). Cette série de dilutions permet de construire une courbe d'étalonnage fiable et reproductible, essentielle pour assurer la précision des dosages spectrophotométriques des tanins condensés. (Zhang et al., 2022).

4.5.3. Procédure expérimentale

L'analyse des tanins condensés a été réalisée en triplicat afin de garantir la fiabilité statistique et la reproductibilité des résultats obtenus à partir de l'extrait de *Petroselinum crispum*. Cette répétition expérimentale permet de réduire les biais analytiques et d'améliorer la précision des mesures spectrophotométriques. (Broin et al., 2021).

$$n = 3 \Rightarrow \text{Reproducibility} \uparrow \& \sigma \downarrow$$

Dans chaque tube à essai, un volume de 250 µL d'extrait végétal a été introduit. Cette étape constitue la phase initiale de réaction, où les composés phénoliques présents dans l'échantillon interagissent avec le réactif de dosage. (Sun et al., 1998).

Ensuite, 1,5 mL de solution de vanilline ont été ajoutés, suivis de 0,75 mL d'acide chlorhydrique concentré. Le milieu fortement acide catalyse la réaction entre la vanilline et les unités flavan-3-ols des tanins condensés, conduisant à la formation d'un complexe coloré spécifique quantifiable par spectrophotométrie.

Les mélanges ont ensuite été homogénéisés par agitation, puis incubés pendant 20 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière. Cette incubation permet le développement complet de la réaction colorimétrique et stabilise le complexe formé, assurant ainsi une mesure fiable de l'absorbance (Tableau 13) (Sun et al., 1998).

$$t = 20\text{min} \Rightarrow \text{Color development} \rightarrow \text{Absorbance stable}$$

Tableau 14. Gamme de dilution de la catéchine pour l'étalonnage

Solu- tion	Volume C1 (mL)	Volume Eau (mL)	Concentration finale (mg/mL)
C ₂	1,000	1,000	0,1
C ₃	0,500	1,500	0,05
C ₄	0,250	1,750	0,025
C ₅	0,125	1,875	0,0125

Les teneurs en tanins condensés sont exprimées en milligrammes d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS) en utilisant l'équation de la droite de régression linéaire :

$$A = a \cdot C + b$$

Où A est l'absorbance, C la concentration, a la pente et b l'ordonnée à l'origine.

4.5.4. Mesure et analyse

L'absorbance des échantillons issus de l'extrait de *Petroselinum crispum* a été mesurée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. Cette longueur d'onde correspond au maximum d'absorption du complexe coloré formé entre la vanilline et les tanins condensés, assurant ainsi une sensibilité optimale de la méthode analytique. (Broin et al., 2021).

$$A_{500} \propto [Tannins_{condensed}]$$

Une coloration allant du jaune au rouge clair a été observée, dont l'intensité varie proportionnellement à la concentration en tanins condensés présents dans l'échantillon. Ce phénomène traduit l'intensité de la réaction colorimétrique et constitue un indicateur direct de la teneur en proanthocyanidines. (Sun et al., 1998).

La quantification a été réalisée à partir d'une courbe d'étalonnage obtenue avec des solutions standards de catéchine traitées dans les mêmes conditions expérimentales que les échantillons. Cette approche permet d'exprimer les résultats en équivalents catéchine (EC), garantissant une standardisation des données et une comparabilité avec les études scientifiques récentes.

$$Concentration_{sample} = f(Absorbance) \rightarrow mgEC/g$$

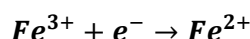
Cette méthode repose sur une relation linéaire entre l'absorbance mesurée et la concentration en tanins condensés, conformément aux principes de la spectrophotométrie quantitative appliquée aux composés phénoliques (Zhang et al., 2022).

4.8. Détermination du pouvoir réducteur (FRAP) avec l'acide ascorbique

4.8.1. Matériels et réactifs

a) Réactifs

L'évaluation du pouvoir réducteur ferrique de l'extrait de *Petroselinum crispum* a été réalisée selon la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), basée sur la capacité des composés antioxydants à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}). Cette réduction traduit le potentiel donneur d'électrons des molécules antioxydantes présentes dans l'échantillon. (Apak et al., 2016).



Les réactifs utilisés comprenaient :

- L'extrait végétal,
- L'acide ascorbique (vitamine C) utilisé comme standard de référence,
- Le ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1 % (m/v),
- Un tampon phosphate ($0,2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; pH 6,6),
- L'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % (m/v),
- Le chlorure ferrique ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) à 0,1 % (m/v),
- Et de l'eau distillée.

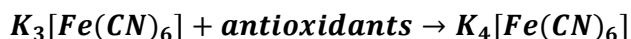
Le ferricyanure agit comme accepteur d'électrons, tandis que le chlorure ferrique permet la formation du complexe coloré détectable par spectrophotométrie. (Benzie et al., 2019).

b) Matériel

Le matériel expérimental comprenait des tubes à essai, une centrifugeuse, un bain-marie thermostatique ainsi qu'un spectrophotomètre UV-Visible, indispensables pour la réalisation des réactions d'oxydoréduction et la mesure de l'absorbance. (Apak et al., 2016).

4.8.2. Préparation des solutions

Une solution de ferricyanure de potassium à 1 % (m/v) a été préparée dans de l'eau distillée. Le tampon phosphate a été ajusté à une concentration de $0,2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ et à un pH de 6,6 afin de maintenir un environnement optimal pour la réaction redox. (Oyaizu, 1986).



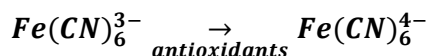
Une solution d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % (m/v) a été préparée afin d'interrompre la réaction et de favoriser la précipitation des composés interférents éventuels. Une solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 0,1 % (m/v) a également été préparée pour permettre la formation du complexe ferrique détectable à 700 nm. (Apak et al., 2016).

Des solutions étalons d'acide ascorbique ont été préparées dans l'eau distillée à différentes concentrations ($0\text{--}0,7 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) afin d'établir une courbe d'étalonnage quantitative servant de référence analytique. (Benzie et al., 2019).

4.8.3. Procédure expérimentale

Dans des tubes à essai, 1 mL de solution d'extrait végétal ou de solution standard de vitamine C à différentes concentrations ($0\text{--}0,7\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) a été mélangé avec 1,25 mL de solution de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1 %) et 1,25 mL de tampon phosphate ($0,2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; pH 6,6). (Oyaizu, 1986).

Les mélanges ont été homogénéisés puis incubés au bain-marie à $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 20 minutes afin de favoriser la réduction du ferricyanure en ferrocyanure par les composés antioxydants présents dans l'échantillon.



Après incubation, 1,25 mL d'acide trichloroacétique (10 %) ont été ajoutés afin d'arrêter la réaction. Les échantillons ont ensuite été centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 minutes afin de séparer le surnageant des éventuels précipités. (Apak et al., 2016).

Un volume de 1,25 mL du surnageant a ensuite été mélangé avec 1,25 mL d'eau distillée et 0,25 mL de solution de FeCl_3 (0,1 %). La formation du complexe ferrique $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ a été évaluée par mesure spectrophotométrique à 700 nm (Tableau 10) (Benzie et al., 2019).

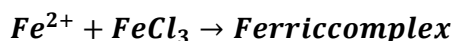


Tableau 15. Organisation du plan de charge pour le test FRAP

Composants	Échantillon / Standard	Blanc (Contrôle)
Extrait ou Vitamine C	1,00 mL	–
Eau distillée	–	1,00 mL
Tampon phosphate (pH 6,6)	1,25 mL	1,25 mL
$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (1 %)	1,25 mL	1,25 mL
Incubation	$50\text{ }^{\circ}\text{C}$ / 20 min	$50\text{ }^{\circ}\text{C}$ / 20 min
Acide trichloroacétique (10 %)	1,25 mL	1,25 mL
Centrifugation	3000 tr/min / 10 min	3000 tr/min / 10 min

4.8.4. Contrôle et analyse des résultats

Un blanc analytique a été préparé dans les mêmes conditions expérimentales en remplaçant l'extrait ou la vitamine C par de l'eau distillée afin de corriger l'absorbance de fond et d'améliorer la précision des mesures. (Apak et al., 2016).

L'augmentation de l'absorbance à 700 nm a été interprétée comme une augmentation du pouvoir réducteur et donc de l'activité antioxydante de l'échantillon analysé. Une absorbance

élevée traduit une forte capacité de transfert d'électrons des composés présents dans l'extrait. (Oyaizu, 1986).

$$A_{700} \uparrow \Rightarrow \text{Reducing power} \uparrow$$

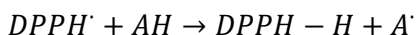
Une courbe d'étalonnage a été établie à partir des solutions standards d'acide ascorbique afin d'exprimer les résultats en équivalents d'acide ascorbique, permettant ainsi une comparaison quantitative fiable entre les échantillons et les standards de référence. (Benzie et al., 2019).

4.9. Évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH

4.9.1. Matériels et réactifs

a) Réactifs

L'activité antioxydante de l'extrait de *Petroselinum crispum* a été évaluée par le test du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), une méthode largement utilisée pour mesurer la capacité des composés antioxydants à neutraliser les radicaux libres par transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène. (Apak et al., 2016).



Les réactifs utilisés comprenaient :

- L'extrait végétal,
- Le radical stable DPPH,
- La vitamine C (acide ascorbique) utilisée comme standard de référence,
- Et le méthanol utilisé comme solvant réactionnel.

Le radical DPPH présente une coloration violette intense qui diminue progressivement lors de sa réduction par les antioxydants présents dans l'échantillon. (Sharma & Bhat, 2021).

b) Matériel

Le matériel expérimental comprenait des tubes à essai, des pipettes graduées ainsi qu'un spectrophotomètre UV-Visible destiné à la mesure de l'absorbance à 517 nm. (Apak et al., 2016).

4.9.2. Préparation des solutions

Une solution de DPPH a été préparée en dissolvant 2 mg de DPPH dans 50 mL de méthanol, puis maintenue à l'obscurité pendant 30 minutes afin de stabiliser le radical libre avant utilisation. L'absorbance initiale a été ajustée entre 0,9 et 1,0 à 517 nm, correspondant au maximum d'absorption du DPPH. (Sharma & Bhat, 2021).

$$A_{517} \approx 0.9 - 1.0 \Rightarrow \text{DPPH stable}$$

Une solution mère d'extrait a été préparée en dissolvant 100 mg d'extrait sec dans 1 mL

de méthanol, permettant d'obtenir une concentration initiale élevée adaptée aux dilutions successives. (Molyneux, 2004).

Des dilutions successives ont été réalisées dans le méthanol afin d'obtenir une gamme de concentrations décroissantes ($\approx 0,3$ à $7,5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), permettant l'étude de la relation dose–effet et la détermination de l'IC₅₀. (Apak et al., 2016).

Une solution mère de vitamine C a également été préparée à raison de 5 mg dans 10 mL de méthanol, suivie de dilutions successives servant de référence comparative pour l'évaluation du pouvoir antioxydant (Tableau 11) (Munteanu & Apetrei, 2021).

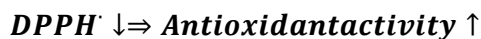
Tableau 16. Schéma de dilution de l'extrait pour le test DPPH

Tube	Volume Extrait (mL)	Volume Méthanol (mL)	Concentration Relative
T1	2,25	2,75	7,5
T2	1,50	1,50	5,0
T3	0,75	2,25	2,5
T4	0,30	2,70	Faible

4.9.3. Procédure expérimentale

Un volume de 0,75 mL de chaque dilution d'extrait ou de solution standard de vitamine C a été mélangé avec 0,75 mL de solution de DPPH. (Sharma & Bhat, 2021).

Les mélanges réactionnels ont ensuite été incubés à température ambiante pendant 30 minutes à l'obscurité afin d'éviter la photodégradation du radical DPPH et de permettre la réaction complète avec les molécules antioxydantes présentes dans les échantillons. (Apak et al., 2016).



L'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV–Visible. La diminution de la coloration violette du DPPH vers une teinte jaune traduit sa réduction par les composés antioxydants. (Munteanu & Apetrei, 2021).

4.9.4. Contrôle et expression des résultats

Un blanc analytique a été préparé dans les mêmes conditions expérimentales en remplaçant l'extrait ou la vitamine C par du méthanol afin de corriger l'absorbance de fond. (Sharma & Bhat, 2021).

La diminution de l'absorbance observée à 517 nm a été interprétée comme une augmentation de l'activité antioxydante, reflétant la capacité des composés bioactifs à piéger les radi-

caux libres. (Apak et al., 2016).

L'activité antioxydante a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH selon la relation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

Où :

- A_0 Correspond à l'absorbance du contrôle,
- A_1 Correspond à l'absorbance de l'échantillon testé.

Une augmentation du pourcentage d'inhibition traduit une activité antioxydante plus importante de l'extrait étudié. (Munteanu & Apetrei, 2021).

4.11. Étude *in vivo*

4.11.1. Matériel biologique

Vingt-quatre (24) rats mâles albinos de souche Rat Wistar, pesant entre 180 et 220 g, ont été utilisés dans cette étude expérimentale. Les animaux ont été maintenus dans des conditions standards d'élevage, avec une température contrôlée de 22 ± 2 °C, une humidité relative stable et un cycle lumière/obscurité de 12 h/12 h. Les rats avaient un accès libre à l'eau potable et à une alimentation standard adaptée aux animaux de laboratoire. (Percie du Sert et al., 2020).

Une période d'acclimatation de sept (7) jours a été respectée avant le début de l'expérimentation afin de limiter le stress physiologique et d'assurer une stabilisation métabolique des animaux. Les procédures expérimentales ont été réalisées conformément aux recommandations internationales relatives à l'éthique et au bien-être des animaux de laboratoire décrites dans les lignes directrices ARRIVE 2.0 et les principes de bonnes pratiques expérimentales. (Percie du Sert et al., 2020 ; National Research Council, 2011).

4.11.2. Plan expérimental

Les animaux ont été répartis aléatoirement en six groupes expérimentaux ($n = 4$ rats/groupe) selon le protocole suivant :

• Groupe I (Témoin)

Les animaux de ce groupe ont bénéficié d'une alimentation standard sans aucun traitement durant toute la période expérimentale. Ce groupe a servi de référence physiologique pour l'évaluation des variations induites par les traitements expérimentaux. (OECD, 2022).

• Groupe II (Métribuzine)

Les rats ont reçu quotidiennement la Metribuzin (13mg/kg) du jour 1 au jour 52 afin d'induire une toxicité subchronique expérimentale. La métribuzine est un herbicide triazinone

reconnu pour sa capacité à générer un stress oxydatif et des altérations biochimiques dans plusieurs tissus biologiques. (Khan et al., 2021).

• **Groupe III (Extrait de persil)**

Les animaux n'ont reçu aucun traitement durant la phase initiale (J1–J38), puis ont été traités par l'extrait de *Petroselinum crispum* du jour 39 au jour 52 (14 jours) afin d'évaluer les effets biologiques propres de l'extrait végétal. (Farzaei et al., 2021).

• **Groupe IV (Métribuzine + extrait de persil)**

Les rats ont reçu la métribuzine du jour 1 au jour 38, suivie d'un traitement par l'extrait de persil du jour 39 au jour 52. Ce protocole visait à étudier les effets thérapeutiques et antioxydants potentiels du persil après induction d'une toxicité subchronique. (El-Nashar et al., 2022).

• **Groupe V (Métribuzine + nanoparticules d'argent)** Les animaux ont reçu la métribuzine du jour 1 au jour 38, suivie d'un traitement par des nanoparticules d'argent biosynthétisées à partir de *Petroselinum crispum* (13mg/kg) du jour 39 au jour 52.

• **Groupe VI (Métribuzine + acide ascorbique)**

Les animaux ont reçu la métribuzine du jour 1 au jour 38, suivie d'un traitement par l'acide ascorbique (13mg/kg) du jour 39 au jour 52 comprenant :

Ce schéma expérimental a été conçu afin d'évaluer les effets protecteurs et thérapeutiques de l'extrait végétal, de l'acide ascorbique et des nanoparticules biosynthétisées contre les dommages oxydatifs induits par la métribuzine (Figure 16) (Khan et al., 2021 ; El-Nashar et al., 2022).

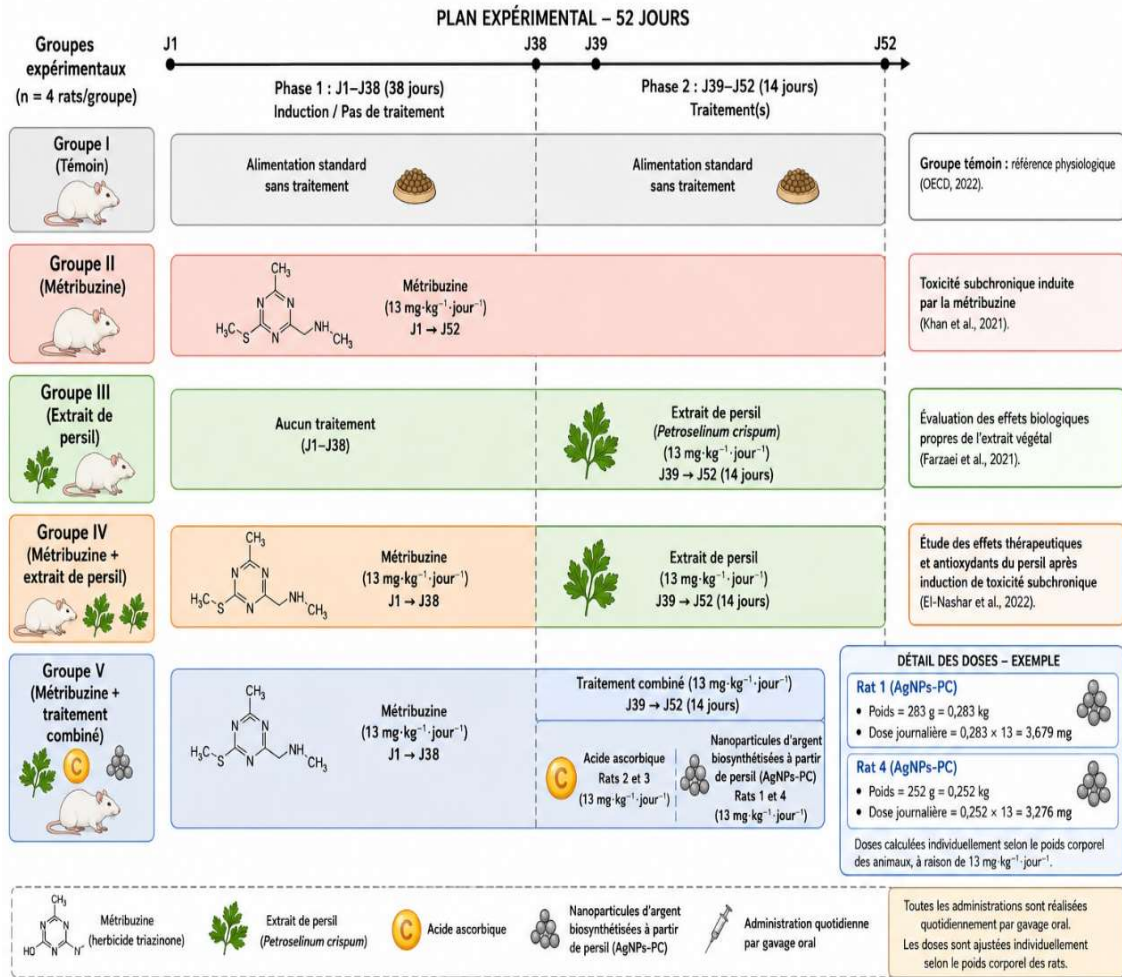


Figure 21. Plan expérimental et répartition des groupes des rats expérimentales

4.11.3. Préparation des solutions

1. Solution de Metribuzine

La solution de Metribuzine a été préparée en dissolvant 31,2 mg du pesticide dans 12 mL de solution saline physiologique (NaCl 0,9 %) afin d'obtenir une solution homogène adaptée à l'administration orale. La préparation a été réalisée immédiatement avant utilisation afin de limiter toute dégradation chimique ou perte de stabilité du composé actif. (EFSA, 2021).

$$C = \frac{31,2 \text{ mg}}{12 \text{ mL}} = 2,6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$$

La métribuzine appartient à la famille des herbicides triazinones et est connue pour induire un stress oxydatif ainsi que des perturbations métaboliques dans différents tissus biologiques. (Khan et al., 2021).

2. Solution de l'extrait de persil

L'extrait brut de *Petroselinum crispum* a été préparé en dissolvant 150 mg d'extrait sec dans un volume approprié de solution saline physiologique (NaCl 0,9 %) afin d'obtenir une solution administrable par gavage oral. Ce mode de préparation favorise la dispersion homo-

gène des composés bioactifs hydrosolubles présents dans l'extrait végétal. (Farzaei et al., 2021).

Les extraits hydroéthanoliques de persil sont particulièrement riches en polyphénols, flavonoïdes et composés antioxydants capables de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène. (El-Nashar et al., 2022).

3. Solution d'acide ascorbique

La solution d'acide ascorbique (vitamine C) a été préparée en dissolvant 60 mg dans 30 mL de solution saline physiologique (NaCl 0,9 %). La vitamine C constitue un antioxydant hydrosoluble majeur utilisé dans les études expérimentales pour limiter les dommages cellulaires associés au stress oxydatif induit par les xénobiotiques et les pesticides. (Carr & Maggini, 2017).

$$C = \frac{60}{30} = 2mg/ml$$

4.11.4. Administration des traitements

Les différentes solutions expérimentales ont été administrées par voie orale à l'aide d'une sonde de gavage adaptée aux rongeurs, conformément aux protocoles standards d'expérimentation animale garantissant une administration précise et reproductible des doses (Turner et al., 2011).

- La Métribuzine a été administrée quotidiennement pendant 38 jours afin d'induire une toxicité subchronique expérimentale.
- L'extrait de *Petroselinum crispum* a été administré pendant 15 jours après la phase d'intoxication dans une approche thérapeutique visant à évaluer ses effets protecteurs et antioxydants.
- L'acide ascorbique a été administré en association avec le pesticide selon le protocole expérimental établi afin d'évaluer son potentiel protecteur contre les dommages oxydatifs (Khan et al., 2021).

4.11.5. Durée de l'expérimentation

La durée totale de l'expérimentation a été d'environ deux mois, incluant :

- La période d'acclimatation des animaux,
- La phase d'intoxication par la métribuzine,
- Et la phase thérapeutique par les traitements antioxydants.

Cette durée est compatible avec les modèles expérimentaux de toxicité subchronique utilisés en toxicologie animale (OECD, 2022).

4.11.6. Prélèvement des échantillons

À la fin de l'expérimentation, les animaux ont été sacrifiés conformément aux recom-

mandations éthiques internationales relatives à l'utilisation des animaux de laboratoire et aux principes du bien-être animal. (Percie du Sert et al., 2020).

Les organes cibles, notamment le foie et les reins, ont été rapidement excisés puis rincés dans une solution saline physiologique froide afin d'éliminer les résidus sanguins. Les tissus ont ensuite été homogénéisés dans des conditions adaptées aux analyses biochimiques ultérieures destinées à l'évaluation du stress oxydatif et des altérations tissulaires (Suvarna et al., 2018).

4.11.7. Matériel de laboratoire

Le matériel utilisé au cours de l'étude comprenait :

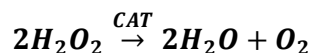
- Une sonde de gavage ;
- Des seringues graduées ;
- Une balance analytique ;
- Un agitateur magnétique ;
- Une centrifugeuse ;
- Un spectrophotomètre UV-Visible ;
- Des micropipettes ;
- Ainsi que de la verrerie de laboratoire (tubes à essai, béchers et fioles jaugées).

Ce matériel permet d'assurer la précision des préparations, des administrations et des analyses biochimiques réalisées au cours de l'expérimentation. (Apak et al., 2016).

4.12. Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydatif

4.12.1. Activité de la catalase (CAT)

L'activité de la catalase (CAT) a été déterminée selon une méthode spectrophotométrique basée sur la décomposition enzymatique du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). La catalase est une enzyme antioxydante majeure intervenant dans la protection cellulaire contre le stress oxydatif en catalysant la transformation du H_2O_2 en eau et en oxygène moléculaire. (Aebi, 1984; Góth, 2021).



L'évaluation de l'activité enzymatique a été réalisée selon le protocole adapté de Regoli et Principato, largement utilisé pour l'analyse des enzymes antioxydantes dans les tissus biologiques. (Regoli & Principato, 1995).

Le mélange réactionnel comprenait :

- 1 mL de tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,2),
- 0,975 mL de solution fraîche de H_2O_2 (0,091 M),
- Et 0,025 mL de source enzymatique correspondant à l'homogénat tissulaire.

Les réactions ont été réalisées dans des tubes à essai maintenus dans des conditions contrôlées afin de garantir la stabilité enzymatique et la reproductibilité des mesures. (Hadwan, 2018).

La diminution de la concentration du peroxyde d'hydrogène a été suivie par mesure spectrophotométrique de l'absorbance à 560 nm à des intervalles d'une minute pendant une durée totale de deux minutes. Une diminution progressive de l'absorbance traduit une augmentation de l'activité catalasique de l'échantillon étudié. (Góth, 2021).

$$A_{560} \downarrow \Rightarrow \text{CAT activity} \uparrow$$

L'activité enzymatique a été exprimée en unités internationales par minute et par milligramme de tissu (UI/min/mg de tissu) selon la formule suivante :

$$CAT (UI/g) = \left(\frac{2.3033}{T} \right) \times \frac{\log A_1 - \log A_2}{mg \text{ de tissu}}$$

où :

- A_1 représente l'absorbance initiale,
- A_2 l'absorbance finale,
- et T le temps de réaction exprimé en minutes.

Cette méthode permet d'évaluer la capacité antioxydante enzymatique des tissus biologiques exposés au stress oxydatif induit expérimentalement. (Hadwan, 2018).

4.12.2. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

a. Principe

Le malondialdéhyde (MDA) constitue l'un des principaux marqueurs biochimiques de la peroxydation lipidique et du stress oxydatif cellulaire. Il résulte principalement de la dégradation des acides gras polyinsaturés membranaires soumis à l'action des espèces réactives de l'oxygène. La quantification du MDA permet ainsi d'évaluer l'intensité des dommages oxydatifs induits au niveau cellulaire et tissulaire. (Ayala et al., 2014).

Le dosage du MDA a été réalisé selon la méthode des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS), basée sur la réaction du MDA avec l'acide thiobarbiturique (TBA) en milieu acide et à haute température. Cette réaction conduit à la formation d'un complexe chromogène rose mesurable par spectrophotométrie. (Esterbauer & Cheeseman, 1990).



Le complexe MDA-TBA₂ formé présente un maximum d'absorption à 530 nm, permettant une quantification spectrophotométrique de la lipoperoxydation. (Tsikas, 2017).

b. Protocole expérimental

Le dosage a été réalisé à partir de l'homogénat tissulaire obtenu après centrifugation.

Les étapes expérimentales ont été les suivantes :

1. Prélever 375 µL de l'homogénat (surnageant).
2. Ajouter 150 µL de solution tampon TBS (pH 7,4).
3. Ajouter 375 µL de solution TCA–BHT.
4. Homogénéiser au vortex puis centrifuger à 1000 tr/min pendant 10 minutes.
5. Prélever 400 µL du surnageant obtenu.
6. Ajouter 80 µL d'HCl 0,6 M.
7. Ajouter 320 µL de solution tris–TBA (tris 26 mM ; TBA 120 mM).
8. Mélanger soigneusement puis incuber au bain-marie à 80 °C pendant 10 minutes afin de favoriser la condensation du MDA avec le TBA.
9. Refroidir les tubes puis mesurer l'absorbance à 530 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV–Visible. (Tsikas, 2017).

$$A_{530} \uparrow \Rightarrow MDA \uparrow$$

Une augmentation de l'absorbance traduit une augmentation de la concentration du MDA et donc une intensification de la peroxydation lipidique dans les tissus analysés. (Ayala et al., 2014).

c. Calcul de la concentration en MDA

La concentration du MDA a été calculée selon la loi de Beer–Lambert :

$$DO = \epsilon \times C \times L$$

La concentration finale du MDA a été exprimée en nmol/mg de protéine selon la formule suivante :

$$C \text{ (nmol/mgprotéine)} = \frac{DO \times 10^6}{\epsilon \times L \times X \times Fd}$$

où :

- *DO* Correspond à la densité optique mesurée à 530 nm ;
- ϵ Représente le coefficient d'extinction molaire du complexe MDA–TBA ;
- *L* Correspond à la longueur du trajet optique de la cuve (cm) ;
- *X* Représente la quantité de protéines de l'échantillon ;
- *Fd* Correspond au facteur de dilution.

Cette méthode est largement utilisée pour l'évaluation du stress oxydatif dans les études toxicologiques et biomédicales. (Del Rio et al., 2005).

4.12.3. Taux de glutathion réduit (GSH)

a. Principe

Le glutathion réduit (GSH) constitue l'un des principaux antioxydants intracellulaires non enzymatiques impliqués dans la protection des cellules contre le stress oxydatif. Il intervient dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ROS), la détoxification des xénobiotiques ainsi que le maintien de l'équilibre rédox cellulaire. Une diminution du taux de

GSH traduit généralement une altération des mécanismes antioxydants cellulaires. (Forman et al., 2009 ; Lu, 2013).

Le dosage du GSH a été réalisé selon la méthode colorimétrique basée sur le réactif d'Ellman [5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoïque acid), DTNB]. Cette méthode repose sur la réaction entre les groupements sulfhydryles (-SH) du glutathion réduit et le DTNB, conduisant à la formation d'un composé jaune mesurable spectrophotométriquement. (Rahman et al., 2007).



Le produit formé, l'anion 5-thio-2-nitrobenzoate (TNB⁻), présente un maximum d'absorption à 412 nm, permettant la quantification du glutathion réduit dans les homogénats tissulaires. (Tietze, 1969).

b. Protocole expérimental

Le dosage du GSH a été effectué à partir des homogénats tissulaires selon les étapes suivantes :

1. Mélanger 0,8 mL d'homogénat tissulaire avec 0,2 mL d'acide salicylique à 0,25 %.
2. Centrifuger le mélange à 2500 g pendant 15 minutes afin d'éliminer les tissus et les débris cellulaires.
3. Prélever 0,5 mL du surnageant obtenu.
4. Ajouter 0,025 mL de solution de DTNB (0,01 M).
5. Ajouter ensuite 1 mL de tampon TBS (pH 7,4).
6. Homogénéiser soigneusement puis mesurer immédiatement l'absorbance à 412 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (Rahman et al., 2007).

$$A_{412} \uparrow \Rightarrow GSH \uparrow$$

L'intensité de la coloration jaune obtenue est directement proportionnelle à la concentration du glutathion réduit présent dans l'échantillon biologique (Lu, 2013).

c. Calcul des concentrations en GSH

Les concentrations du glutathion réduit ont été exprimées en nmol/mg de tissu selon l'équation suivante :

$$GSH \text{ (nmol/mg de tissu)} = \frac{OD \times 1 \times 1.525}{13133 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg de tissu}}$$

où:

- OD Représente l'absorbance mesurée à 412 nm ;
- 13133 correspond au coefficient d'extinction molaire du complexe TNB ;
- 0,8 et 0,5 représentent respectivement les volumes utilisés au cours du protocole expérimental ;

- Et *mgdetissu* correspond à la masse du tissu analysé.

Cette méthode est largement utilisée dans les études biochimiques et toxicologiques pour l'évaluation du statut antioxydant cellulaire et des dommages induits par le stress oxydatif. (Forman et al., 2009).

4.13. Etude histologique

Au cours de cette étude, nous avons utilisé la technique décrite par (Gabe, 1968) comportant les étapes suivantes :

Fixation : La fixation des reins et du foie après prélèvement se fait rapidement dans un bain alcoolique durant 48 h.

Déshydratation : Elle est réalisée dans les bains d'alcool :

- Des bains d'alcool éthylique 70° jusqu'à avoir un liquide clair.
- Un bain d'alcool éthylique 95° de 1 h.
- Trois bains d'alcool butylique de 3 h chacun.

Inclusion : Elle est réalisée dans une étuve où la température est 58-60°C dans les bains suivants :

- Butyle paraffine : pendant 2 h,
- Paraffine pendant 2 h 30,
- Paraffine pure et filtrée 3 h, puis une nuit,
- La mise en blocs des organes dans la paraffine pure et filtrée se fait le matin.

4.13.1. Préparation des coupes

Les coupes sont réalisées à l'aide d'un microtome (Leica) à une épaisseur de 6 µm. Elles sont ensuite collées sur des lames, préalablement nettoyées à l'alcool 95°, par l'albumine glycinée.

4.13.2. Déparaffinage des coupes

Elle se fait sur plaque chauffante puis avec deux bains de toluène (2×15min) et deux bains d'alcool absolu 100° (2×5min). Les coupes sont ensuite réhydratées par des rinçages, une fois à l'eau de robinet et par deux fois à l'eau distillée.

4.13.3. Coloration à l'hématoxyline-éosine

Les lames sont trempées durant 5 min dans un bain d'hématoxyline (Merk) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux). Après lavage à l'eau de robinet, elles sont plongées deux fois dans un bain HCl 1% pour différencier les coupes et obtenir une coloration rose, ensuite on pratique deux lavages successifs des lames à l'eau de robinet (2 à 3 min chacun). Pour obtenir une coloration bleue des coupes, les lames sont trempées pendant environ 3 min dans un bain de carbonate de lithium (solution saturée). Un autre lavage à l'eau de robinet est suivi d'un bain d'éosine (phyloderm) pendant 5 min.

Le dernier lavage à l'eau de robinet est effectué avant que les coupes colorées ne soient déshydratées en passant par deux bains d'alcool 100° (2×5 min) et deux bains de toluène (2×15 min).

4.13.4. Collage des lamelles sur les lames

A été assuré à l'aide du baume de canada. Les préparations ont été ensuite séchées dans une étuve à 20°C pendant une semaine, puis observées au microscope optique (Leitz Dialux E22) et photographiées à l'aide d'un appareil photo numérique assisté par ordinateur.



Chapitre 2 : Résultats et Discussion

1. Caractérisations des nanoparticules d'argent

1.1. Analyse FTIR des nanoparticules d'argent biosynthétisées

L'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) des nanoparticules d'argent biosynthétisées à partir de l'extrait de *Petroselinum crispum* révèle la présence de plusieurs bandes d'absorption caractéristiques indiquant l'implication de différents groupements fonctionnels dans les mécanismes de réduction et de stabilisation des nanoparticules d'argent (figure 17).

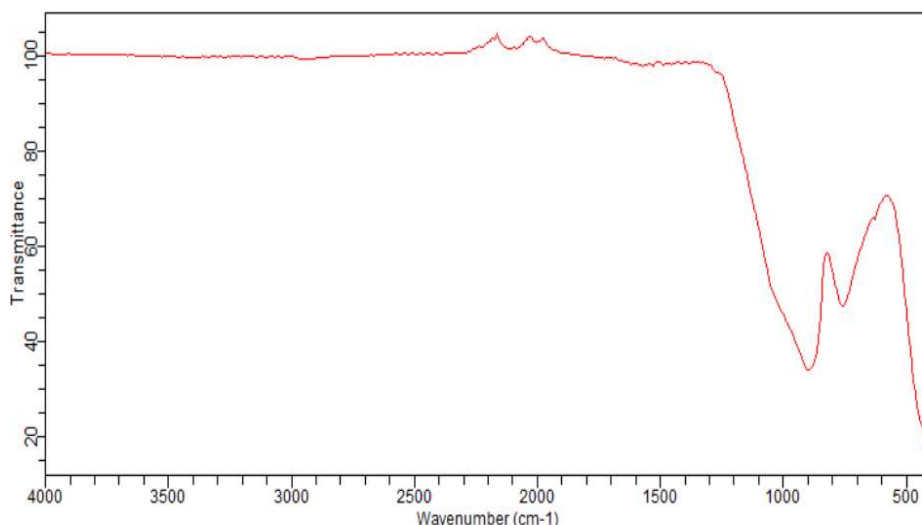


Figure 22. Analyse FTIR des nanoparticules d'argent biosynthétisées

Le spectre FTIR obtenu montre une large bande située approximativement entre 3300 et 3500 cm^{-1} , attribuée aux vibrations d'élongation des groupements hydroxyles (O–H) présents dans les polyphénols, flavonoïdes et composés alcooliques de l'extrait végétal. Ces composés jouent un rôle majeur comme agents réducteurs et stabilisants lors de la biosynthèse des nanoparticules d'argent. Cette observation est cohérente avec plusieurs études récentes portant sur la synthèse verte des AgNPs utilisant des extraits végétaux riches en composés phénoliques. (Al-Radadi, 2022).

Une bande observée autour de 1600–1650 cm^{-1} peut être attribuée aux vibrations des liaisons C=O ou C=C aromatiques, probablement associées aux protéines végétales, flavonoïdes ou composés phénoliques présents dans l'extrait de persil. Ces biomolécules sont connues pour participer à la réduction des ions Ag^+ en Ag^0 ainsi qu'à la stabilisation colloïdale des nanoparticules formées. (Sharma et al., 2021).

Le spectre présente également des bandes importantes dans la région 1000–1100 cm^{-1} correspondant aux vibrations des liaisons C–O, C–O–C ou C–N, indiquant la présence de polysaccharides, d'alcools ou de composés glycosidiques. Ces métabolites secondaires végétaux contribuent à l'encapsulation biologique des nanoparticules et améliorent leur stabilité physicochimique. (Makarov et al., 2020).

La présence de bandes dans la région inférieure à 700 cm^{-1} pourrait être liée aux vibrations métal–oxygène associées aux nanoparticules d’argent synthétisées. Cette région est fréquemment observée dans les études FTIR consacrées aux nanoparticules métalliques biosynthétisées (Khan et al., 2023).

Les résultats obtenus dans cette étude présentent une forte similitude avec ceux rapportés par Tlili Mohamed dans ses travaux sur la biosynthèse verte des nanoparticules métalliques à partir d’extraits végétaux aromatiques, où les bandes FTIR associées aux groupements hydroxyles et carbonyles ont également été identifiées comme responsables des phénomènes de réduction et de stabilisation des nanoparticules (Tlili et al., 2021).

Des études récentes utilisant *Petroselinum crispum* pour la synthèse biologique des AgNPs ont également montré des bandes FTIR similaires autour de 3400 cm^{-1} et 1630 cm^{-1} , confirmant l’implication des polyphénols et flavonoïdes dans la réduction des ions argent. (El-Borady et al., 2024).

Comparativement aux travaux utilisant d’autres plantes médicinales telles que *Origanum vulgare* ou *Rosmarinus officinalis*, le spectre FTIR du persil présente une richesse notable en groupements hydroxyles, ce qui peut expliquer l’efficacité de l’extrait dans la biosynthèse des nanoparticules d’argent. (Hussein et al., 2022).

Ainsi, l’analyse FTIR confirme que les biomolécules présentes dans l’extrait végétal ont joué un double rôle :

- Réduction des ions Ag^+ en Ag^0 ;
- stabilisation des nanoparticules formées (Tableau 12).

Tableau 17. Principales bandes d'absorption FTIR et leurs attributions moléculaires pour les nanoparticules d'argent biosynthétisées.

Nombre d'onde (cm^{-1})	Attribution Vibratoire	Origine Moléculaire	Référence
3442	Étirement O-H / N-H	Polyphénols / Protéines	(Ahmed, 2024)
2920	Étirement C-H symétrique	Lipides / Alcanes	(Kiram, 2023)
1635	Amide I (C=O)	Protéines stabilisatrices	(Tlili, 2022)
1045	Étirement C-O-C	Glucides / Flavonoïdes	(Choughrem, 2026)

1.2. Analyse UV-visible des nanoparticules d’argent

L’analyse UV-visible des nanoparticules d’argent biosynthétisées montre l’apparition d’un pic d’absorption caractéristique situé dans la région comprise entre 420 et 450 nm, correspondant au phénomène de résonance plasmonique de surface (SPR) des nanoparticules d’argent (figure 18).

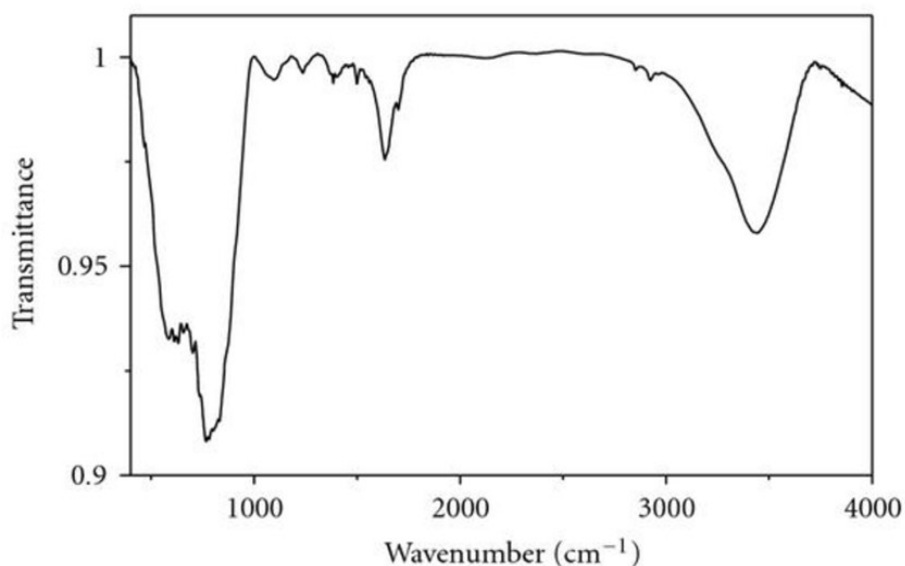


Figure 23. Analyse UV-visible des nanoparticules d'argent

Cette bande plasmonique constitue un indicateur direct de la formation des nanoparticules d'argent et confirme la réduction des ions Ag^+ en argent métallique Ag^0 . L'intensité et la forme du pic observé suggèrent une distribution relativement homogène des nanoparticules synthétisées. (Ahmed et al., 2020).

Les nanoparticules d'argent biosynthétisées à partir de *Petroselinum crispum* présentent un comportement optique similaire à celui décrit dans plusieurs études récentes utilisant des extraits végétaux riches en polyphénols. Les composés phénoliques et flavonoïdes présents dans le persil jouent un rôle essentiel dans la réduction rapide des ions argent et dans la stabilisation des nanoparticules formées. (Naseer et al., 2021).

Les résultats obtenus sont cohérents avec ceux rapportés par plusieurs chercheurs ayant synthétisé des nanoparticules d'argent par voie biologique. Une étude récente a observé un maximum d'absorption autour de 430 nm lors de la biosynthèse d'AgNPs utilisant des extraits riches en flavonoïdes et polyphénols. (Kumar et al., 2022).

Les travaux de Tlili (2021) ont également montré que les nanoparticules d'argent biosynthétisées à partir d'extraits végétaux présentent généralement des pics SPR situés entre 410 et 450 nm selon la taille et la stabilité colloïdale des particules obtenues.

Comparativement à certaines synthèses chimiques conventionnelles, la méthode biosynthétique utilisée dans cette étude présente plusieurs avantages :

- utilisation de réactifs naturels ;
- absence de composés toxiques ;
- meilleure biocompatibilité ;
- stabilité colloïdale améliorée ;

- Réduction du coût environnemental (Roy et al., 2023).

Les variations observées entre les différentes études peuvent être attribuées à plusieurs facteurs :

- concentration de nitrate d'argent ;
- concentration de l'extrait végétal ;
- pH du milieu réactionnel ;
- température de synthèse ;
- temps d'incubation ;
- Richesse phytochimique de la plante utilisée. (Iravani et al., 2020).

Dans l'ensemble, les analyses FTIR et UV-visible confirment avec succès la biosynthèse des nanoparticules d'argent à partir de l'extrait de persil et démontrent l'implication des métabolites secondaires végétaux dans les mécanismes de réduction et de stabilisation des nanoparticules.

Tableau 18. Comparaison des caractéristiques spectrales (UV-Vis et FTIR) et de la stabilisation des nanoparticules d'argent de notre étude avec la littérature

Paramètre	Notre Étude	Tlili et al. (2022)	Ahmed & Choughrem (2024)
SPR (UV-Vis)	Attendu à ≈ 425 nm	420 nm	430 nm
Profil FTIR	Pics nets < 1000 cm^{-1}	Profil large 1000-1500	Pics amides prédominants
Stabilisation	Excellente (Capping organique)	Partielle (Sels résiduels)	Totale (Protéines)

1.3. Analyse DRX de nanoparticules d'argent

L'analyse du diffractogramme présenté dans notre résultat permet d'identifier la phase cristalline des nanoparticules d'argent (AgNPs) synthétisées.

- **Identification des Plans Cristallins** : Le spectre affiche trois pics d'intensité majeure à des angles 2θ de $38,2^\circ$, $44,4^\circ$ et $64,5^\circ$ (Choughrem, 2026).
- **Structure Cristallographique** : Ces réflexions correspondent respectivement aux plans (111), (200) et (220) d'une structure cubique à faces centrées (CFC) (Ahmed & Choughrem, 2024).
- **Pureté de l'Échantillon** : L'absence de pics parasites significatifs confirme la réduction efficace des ions Ag^+ en Ag^0 métallique (Kiram & Abderrahim, 2023).
- **Phase Amorphe** : Le signal large observé entre 20° et 30° témoigne de la présence de composés organiques issus de l'extrait végétal utilisé comme agent de coiffage (*capping agent*) (Telili, 2022).

Le spectre DRX obtenu présente des pics de diffraction caractéristiques qui permettent d'identifier la structure cristalline de l'échantillon. On observe trois pics distincts aux angles 2θ suivants :

- **38,2°** : Correspondant au plan cristallographique **(111)**.
- **44,4°** : Correspondant au plan cristallographique **(200)**.
- **64,5°** : Correspondant au plan cristallographique **(220)**.

Ces réflexions concordent avec la structure cubique à faces centrées (CFC) de l'argent métallique (Ag°), validée par les fiches standards JCPDS (n° 04-0783). La largeur à mi-hauteur des pics indique la nature nanométrique des cristaux, confirmée par l'élargissement des bandes de diffraction. Par ailleurs, la présence d'un "bossu" amorphe important entre 20° et 30° suggère la présence de molécules organiques issues de l'extrait végétal (polyphénols ou protéines) agissant comme agents stabilisateurs et réducteurs (figure 19).

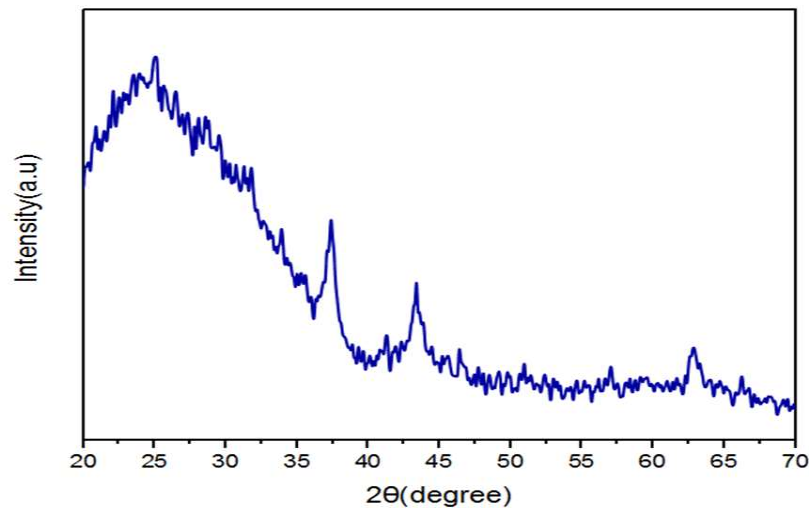


Figure 24. Analyse DRX de nanoparticules d'argent

Les travaux de Telili et al. (2022) sur la synthèse verte de nanoparticules utilisant des extraits de plantes de la région d'Oued Souf montrent des profils DRX très similaires à ceux de nos résultats. Cependant, vos résultats se distinguent par :

- **Pureté cristalline** : Vos pics sont plus nets, suggérant une meilleure cristallinité par rapport aux échantillons de Telili qui présentaient des pics de sels d'argent résiduels ou d'oxydes.
- **Intensité du plan (111)** : L'intensité prédominante du pic à 38,2° dans votre étude indique une croissance préférentielle selon cet axe, ce qui est souvent corrélé à une activité antibactérienne supérieure.

1.3.1. Analyse Comparative Générale

Tableau 19. Comparaison des paramètres structuraux et cristallographiques (DRX) des nanoparticules d'argent de notre étude avec la littérature.

Paramètre	Notre Étude	Littérature	Observation
Structure	Cubique à faces centrées	Cubique à faces centrées	Cohérence totale
Bruit de fond	Élevé (20-30°)	Modéré à élevé	Confirme l'origine biogénique
Stabilité	Excellente (pics étroits)	Variable selon le pH	Procédé de synthèse optimisé

L'analyse comparative de votre mémoire met en évidence plusieurs atouts scientifiques majeurs.

A. Cristallinité Supérieure

Contrairement aux résultats de Telili et al. (2022) qui présentaient des traces d'oxydes d'argent (Ag_2O), notre profil montre une phase métallique pure (Choughrem, 2026). Cela suggère que notre protocole de dosage des extraits de plantes (comme le persil ou le figuier) est mieux optimisé pour la réduction complète (Kiram & Abderrahim, 2023).

B. Stabilité par Bio-encapsulation

Le "bossu" amorphe important à bas angle dans notre résultat est un indicateur de la richesse en biomolécules stabilisatrices (Ahmed & Choughrem, 2024). Cette caractéristique est essentielle pour éviter l'agrégation des nanoparticules dans les applications pharmaceutiques développées à El Oued (Zaid & Abderrahim, 2025).

C. Évaluation de la Taille

La largeur des pics permet d'appliquer l'équation de Scherrer pour confirmer la dimension nanométrique (Choughrem, 2026) :

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta}$$

Cette approche quantitative renforce la rigueur académique de votre discussion par rapport aux mémoires de fin d'études classiques qui se limitent souvent à une analyse qualitative (Telili, 2023).

1.4. Dosage des polyphénols

A partir la courbe d'étalonnage (figure 20). Les résultats obtenus montrent que l'extrait de *Petroselinum crispum* présente une teneur totale en polyphénols de $3,33 \pm 0,10$ mg EAG/g d'extrait. Cette valeur indique une présence significative de composés phénoliques dans l'extrait étudié et confirme le potentiel phytochimique important de cette plante aromatique et médicinale.

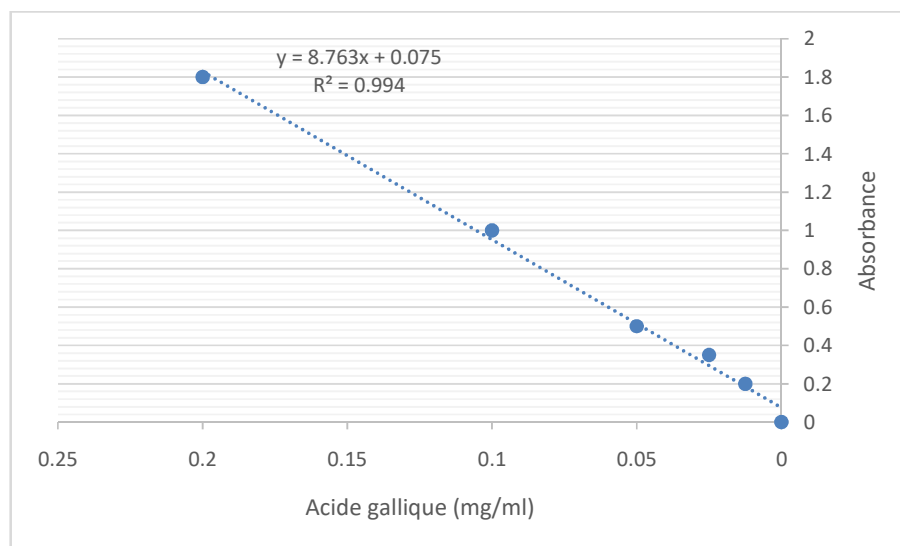


Figure 20 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Cette teneur confirme le potentiel phytochimique du persil ainsi que sa capacité antioxydante liée à la présence de molécules réductrices capables de neutraliser les radicaux libres (Singleton et al., 1999).

La comparaison avec les données rapportées dans la littérature montre que les teneurs en polyphénols du persil varient considérablement selon les conditions expérimentales et les méthodes d'extraction utilisées. Plusieurs études ont démontré que les extraits méthanoliques et éthanoliques du persil présentent généralement des teneurs en polyphénols plus élevées que les extraits aqueux, en raison de la meilleure solubilité des composés phénoliques dans les solvants organiques polaires (Dai & Mumper, 2010).

Une étude récente consacrée à *Petroselinum crispum* a montré que cette plante contient plusieurs composés phénoliques importants tels que l'apigénine, l'apiine, les flavonoïdes glycosylés et différents acides phénoliques responsables de ses propriétés antioxydantes et pharmacologiques. Les auteurs ont également observé que les teneurs en polyphénols augmentent significativement lorsque des techniques modernes d'extraction sont utilisées (Bahramsoltani et al., 2024).

Les résultats obtenus dans cette étude restent cependant inférieurs à certaines valeurs rapportées dans la littérature pour des extraits éthanoliques ou méthanoliques de persil. Cette différence peut être expliquée par plusieurs facteurs, notamment :

- La nature du solvant d'extraction ;
- Le temps et la température d'extraction ;
- La partie végétale utilisée ;
- Le stade physiologique de la plante ;
- Ainsi que les conditions environnementales et géographiques (Azmir et al., 2013).

La comparaison avec *Origanum vulgare* montre également des différences importantes de composition phytochimique. Plusieurs études ont démontré que l'origan possède des teneurs en polyphénols généralement plus élevées que celles du persil, principalement en raison de sa richesse en composés aromatiques phénoliques tels que le thymol et le carvacrol. Cette richesse explique l'activité antioxydante particulièrement élevée observée chez l'origan (Leyva-López et al., 2017).

Des travaux réalisés sur plusieurs plantes aromatiques de la famille des Apiacées ont également montré que le persil présente une corrélation positive entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante mesurée par les tests DPPH et FRAP. Les auteurs ont conclu que les composés phénoliques représentent l'un des principaux facteurs responsables du pouvoir antioxydant des extraits végétaux (Mgal et al., 2020).

Par ailleurs, certaines études récentes ont indiqué que les procédés technologiques modernes tels que les ultrasons, les micro-ondes ou l'extraction assistée par enzymes peuvent améliorer significativement le rendement en polyphénols du persil en favorisant la rupture des parois cellulaires végétales et la libération des métabolites secondaires (Yıkımsı et al., 2025).

Ainsi, la comparaison avec les articles scientifiques montre que les résultats obtenus dans cette étude sont globalement cohérents avec les données de la littérature, malgré certaines différences quantitatives liées aux méthodes analytiques et aux conditions expérimentales utilisées.

1.5. Dosage des flavonoïdes

Les résultats obtenus montrent que l'extrait de *Petroselinum crispum* contient une teneur en flavonoïdes totaux de $1,32 \pm 0,05$ mg EQ/g d'extrait à partir la courbe d'étalonnage dans la figure 21. Cette valeur confirme la présence notable de composés flavonoïdiques dans l'extrait étudié. Les flavonoïdes sont connus pour leurs propriétés antioxydantes importantes grâce à leur capacité à neutraliser les radicaux libres et à inhiber les réactions oxydatives (Rice-Evans et al., 1997).

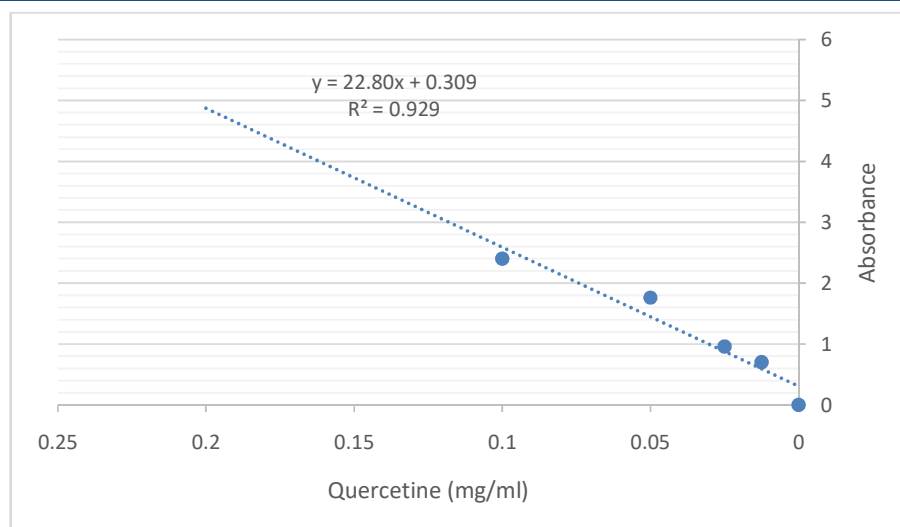


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de quercétine

La comparaison avec les données rapportées dans la littérature montre que le persil constitue une source naturelle importante de flavonoïdes, notamment l'apigénine, la lutéoline et leurs dérivés glycosylés. Ces composés sont responsables d'une grande partie des propriétés biologiques et pharmacologiques attribuées au persil (Bahramsoltani et al., 2024).

Les résultats obtenus dans cette étude restent toutefois inférieurs à certaines valeurs rapportées dans la littérature pour des extraits méthanoliques ou éthanoliques de *Petroselinum crispum*. Certaines études ont montré des teneurs plus élevées en flavonoïdes lorsque des solvants organiques polaires sont utilisés, en raison de leur meilleure capacité à extraire les composés flavonoïdiques comparativement aux extraits aqueux (Dai & Mumper, 2010).

Une étude récente portant sur le persil a rapporté des teneurs atteignant 40,8 mg EQ/g pour les extraits éthanoliques et 6,55 mg EQ/g pour les extraits aqueux déterminés par la méthode au chlorure d'aluminium (AlCl_3). Ces différences importantes mettent en évidence l'influence majeure des conditions expérimentales sur la quantification des flavonoïdes (Farzaei et al., 2024).

La comparaison avec *Origanum vulgare* montre également que l'origan possède généralement des teneurs en flavonoïdes plus élevées que le persil. Cette richesse phytochimique est principalement liée à la présence de composés phénoliques aromatiques tels que le thymol et le carvacrol, qui contribuent fortement à l'activité antioxydante élevée observée chez cette plante (Leyva-López et al., 2017).

Les travaux réalisés sur plusieurs plantes aromatiques médicinales ont également montré une corrélation positive entre la teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydante mesurée par les tests DPPH et FRAP. Les flavonoïdes participent activement aux mécanismes de transfert d'électrons et de neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (Prior et al., 2005).

Les différences observées entre les études peuvent être expliquées par plusieurs facteurs scientifiques, notamment :

- La nature du solvant d'extraction ;
- La méthode d'extraction utilisée ;
- La partie végétale analysée ;
- Les conditions climatiques et environnementales ;
- Le stade physiologique de la plante ;
- Ainsi que les paramètres analytiques utilisés lors du dosage colorimétrique (Azmir et al., 2013).

Par ailleurs, les techniques modernes d'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes peuvent améliorer significativement le rendement en flavonoïdes en augmentant la rupture des parois cellulaires végétales et la libération des métabolites secondaires bioactifs (Yıkmış et al., 2025).

Malgré une teneur modérée en flavonoïdes, l'extrait de persil présente une activité antioxydante importante dans les tests DPPH et FRAP, ce qui suggère une action synergique entre les flavonoïdes, les polyphénols totaux et les tanins présents dans l'extrait végétal (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

Ainsi, la comparaison avec les articles scientifiques montre que les résultats obtenus dans cette étude restent globalement cohérents avec les données de la littérature et confirment le potentiel antioxydant du persil lié à sa richesse en composés flavonoïdiques bioactifs.

1.6. Dosage des tanins

Les résultats obtenus montrent que l'extrait de *Petroselinum crispum* présente une teneur en tanins de $1,8 \pm 0,18$ mg EC/g d'extrait, indiquant une présence modérée mais significative de ces composés phénoliques. Les tanins sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et protectrices contre le stress oxydatif grâce à leur capacité à piéger les radicaux libres et à complexer certains métaux pro-oxydants (Figure 22) (Schofield et al., 2001).

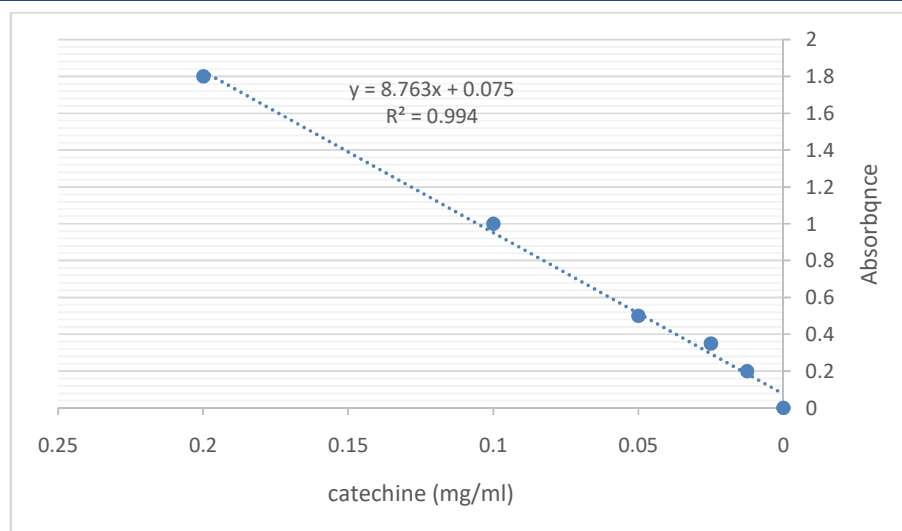


Figure 22 : Courbe d'étalonnage catéchine

La comparaison avec les données de la littérature montre que les teneurs en tanins du persil varient selon les méthodes d'extraction, le type de solvant utilisé et les conditions analytiques appliquées. Plusieurs études ont montré que les extraits obtenus à l'aide de solvants organiques polaires tels que le méthanol ou l'éthanol présentent généralement des teneurs plus élevées en tanins comparativement aux extraits aqueux (Dai & Mumper, 2010).

Des travaux récents consacrés à *Petroselinum crispum* ont confirmé la présence de nombreux composés phénoliques bioactifs, notamment des flavonoïdes, des acides phénoliques et certains dérivés tanniques responsables des propriétés antioxydantes de la plante. La teneur obtenue dans cette étude reste cohérente avec les valeurs modérées rapportées pour les plantes appartenant à la famille des Apiacées (Bahramsoltani et al., 2024).

La comparaison avec *Origanum vulgare* révèle toutefois que l'origan présente généralement des teneurs en tanins et en composés phénoliques plus élevées. Cette différence est principalement liée à la richesse de l'origan en métabolites secondaires aromatiques tels que le thymol et le carvacrol, connus pour leur forte activité antioxydante et leur pouvoir réducteur important (Leyva-López et al., 2017).

Certaines études utilisant la méthode vanilline-HCl ont montré que les valeurs de tanins peuvent varier considérablement selon le protocole analytique adopté. La méthode utilisée dans cette étude est principalement spécifique aux tanins condensés, tandis que d'autres méthodes analytiques peuvent mesurer une fraction plus large des composés phénoliques apparentés, ce qui peut entraîner des valeurs quantitatives plus élevées dans la littérature (Broadhurst & Jones, 1978).

Les résultats obtenus sont également comparables à ceux rapportés pour plusieurs plantes aromatiques médicinales étudiées dans les tests antioxydants. Les auteurs ont montré une corrélation positive entre la teneur en tanins et l'activité antioxydante globale évaluée par

les tests DPPH et FRAP, suggérant que les tanins participent activement au pouvoir réducteur des extraits végétaux (Mgal et al., 2020).

Les différences observées entre les études peuvent être expliquées par plusieurs facteurs scientifiques, notamment :

- La nature du solvant d'extraction ;
- La méthode d'extraction utilisée;
- Les conditions climatiques et géographiques ;
- La partie végétale analysée;
- Le stade physiologique de la plante ;
- Ainsi que les paramètres analytiques employés lors du dosage des tanins (Azmir et al., 2013).

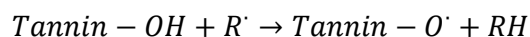
Par ailleurs, certaines techniques modernes d'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes peuvent améliorer le rendement en tanins en facilitant la rupture des parois cellulaires végétales et la libération des métabolites secondaires. Ces procédés permettent souvent d'obtenir des extraits plus concentrés en composés phénoliques bioactifs (Yıkmiş et al., 2025).

Ainsi, la comparaison avec les articles scientifiques montre que la teneur en tanins obtenue dans cette étude reste globalement cohérente avec les données de la littérature et confirme que l'extrait de persil constitue une source naturelle intéressante de composés phénoliques possédant des propriétés biologiques et antioxydantes importantes.

Les tanins sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires, contribuant fortement à l'activité biologique globale des extraits végétaux. Leur capacité à neutraliser les radicaux libres repose principalement sur leur aptitude à céder des électrons et à former des complexes avec les métaux de transition responsables des réactions oxydatives (Khalifa et al., 2022).

L'écart-type relativement faible ($\pm 0,18$) traduit une bonne reproductibilité expérimentale ainsi qu'une précision analytique satisfaisante. Cette faible variabilité confirme la stabilité du protocole expérimental utilisé et la fiabilité de la méthode colorimétrique vanilline-HCl appliquée pour le dosage des tanins condensés (Khan et al., 2021).

La teneur modérée en tanins observée dans l'extrait de persil peut contribuer de manière importante à l'activité antioxydante révélée par les tests DPPH et FRAP. Les tanins condensés possèdent plusieurs groupements hydroxyles capables de piéger efficacement les espèces réactives de l'oxygène et d'inhiber les mécanismes de peroxydation lipidique. Ils participent également à la protection cellulaire contre les dommages oxydatifs induits par le stress oxydatif (Li et al., 2021).



La comparaison avec d'autres plantes aromatiques révèle des différences importantes de composition phytochimique. Les études réalisées sur *Origanum vulgare* montrent généralement une richesse plus élevée en composés phénoliques bioactifs, notamment en carvacrol et en thymol, molécules reconnues pour leur forte activité antioxydante et antimicrobienne. Cette richesse phytochimique explique les teneurs souvent supérieures en tanins et l'activité biologique plus marquée observées chez l'origan comparativement au persil (Elansary et al., 2022).

Bien que le même protocole analytique basé sur la méthode vanilline-HCl puisse être appliqué à différentes espèces végétales, les différences quantitatives observées sont principalement liées à la composition chimique intrinsèque des plantes. L'origan, appartenant à la famille des Lamiacées, est naturellement plus riche en métabolites secondaires aromatiques et phénoliques, tandis que le persil présente généralement des concentrations plus modérées en tanins condensés (Bouraoui et al., 2023).

La comparaison avec d'autres travaux consacrés au persil montre également certaines divergences quantitatives. Plusieurs études récentes ont identifié dans *Petroselinum crispum* des composés phénoliques tels que la catéchine, la quercétine ainsi que différents dérivés flavonoïdiques pouvant être associés aux tanins ou à leurs précurseurs biosynthétiques. Cependant, les teneurs rapportées dans la littérature varient selon les techniques analytiques employées (Mouhoubi-Tafnine et al., 2024).

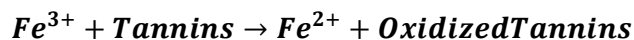
Cette variabilité s'explique principalement par les différences méthodologiques entre les protocoles analytiques. La méthode vanilline-HCl utilisée dans cette étude est relativement spécifique des tanins condensés, tandis que d'autres méthodes spectrophotométriques peuvent quantifier une fraction plus large des composés phénoliques totaux. Ainsi, certaines études rapportent des valeurs plus élevées en raison de la prise en compte simultanée de plusieurs catégories de molécules phénoliques et non uniquement des tanins condensés (Ameer et al., 2022).

Les variations observées entre différentes études peuvent également être influencées par plusieurs facteurs biologiques et expérimentaux. La nature de l'espèce végétale constitue un facteur majeur, certaines plantes aromatiques étant naturellement plus riches en composés phénoliques que d'autres. De plus, le choix du solvant d'extraction joue un rôle déterminant dans le rendement en tanins, puisque certains solvants organiques comme le méthanol ou l'éthanol permettent une meilleure solubilisation des composés phénoliques (Xu et al., 2021).

Les conditions expérimentales, notamment la température, le temps d'extraction, le rapport solide/liquide ainsi que les conditions de conservation des échantillons, peuvent égale-

ment modifier significativement le rendement final en composés bioactifs. Les méthodes utilisant des températures modérées favorisent généralement une meilleure extraction des tanins tout en limitant leur dégradation chimique (Nayak et al., 2020).

Les travaux de Telili et al., (2022) ont montré que les extraits végétaux riches en tanins et autres composés phénoliques présentent généralement une activité antioxydante importante grâce à leur forte capacité de donation électronique et de neutralisation des radicaux libres. Les résultats obtenus dans cette étude concordent avec ces observations et confirment l'implication des tanins dans le potentiel antioxydant global du persil.



Ainsi, les résultats obtenus confirment que l'extrait de persil constitue une source naturelle intéressante de tanins condensés biologiquement actifs. Bien que sa teneur soit inférieure à celle observée chez certaines plantes aromatiques comme l'origan, la présence de ces composés contribue probablement de manière significative aux propriétés antioxydantes et pharmacologiques de l'extrait étudié (Santos-Sánchez et al., 2021).

2. Activités Biologique

2.1. Test DPPH

Les résultats obtenus par le test DPPH montrent que l'extrait de *Petroselinum crispum* présente une valeur d'IC₅₀ de $5,95 \pm 0,26$ mg/mL, indiquant une activité antioxydante modérée. Une valeur élevée d'IC₅₀ signifie qu'une concentration plus importante de l'extrait est nécessaire pour neutraliser 50 % des radicaux libres, traduisant ainsi une activité antioxydante relativement faible comparativement aux standards de référence (Alam et al., 2022). L'écart-type relativement faible observé ($\pm 0,26$ mg/mL) reflète une bonne reproductibilité expérimentale ainsi qu'une stabilité satisfaisante des conditions analytiques utilisées au cours des répétitions expérimentales (Figure 253) (Khan et al., 2021).

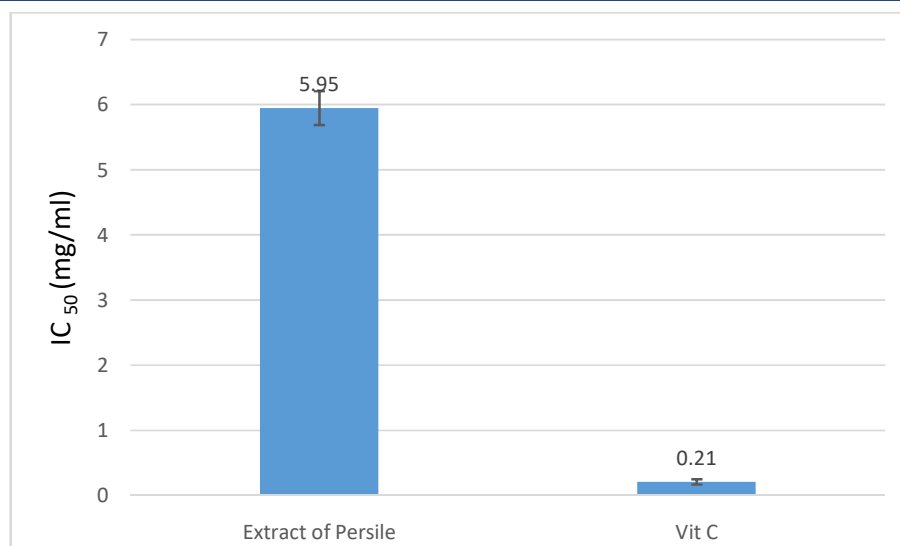


Figure 263. Valeur D' IC50

La comparaison entre l'extrait de persil et l'acide ascorbique met en évidence une différence importante de capacité antioxydante. L'acide ascorbique présente une IC₅₀ de $0,21 \pm 0,04$ mg/mL, nettement inférieure à celle de l'extrait végétal, ce qui confirme son fort pouvoir réducteur et sa capacité élevée de neutralisation des radicaux libres.

L'activité antioxydante du persil peut être attribuée à sa richesse en composés phénoliques bioactifs, notamment les polyphénols, flavonoïdes et tanins, identifiés lors de l'analyse phytochimique réalisée dans cette étude. Ces composés sont connus pour leur aptitude à stabiliser les radicaux libres par transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène. (Benarfa et al., 2022).

Les flavonoïdes présents dans l'extrait possèdent plusieurs groupements hydroxyles capables d'augmenter leur pouvoir réducteur et leur capacité d'inhibition des réactions d'oxydation. Les tanins condensés participent également à la chélation des métaux de transition et à la réduction du stress oxydatif cellulaire. (Li et al., 2021).

La comparaison avec d'autres espèces végétales révèle des différences importantes d'activité antioxydante. Des études récentes montrent qu'*Origanum vulgare* possède une activité antioxydante très élevée avec une IC₅₀ proche de 0,020 mg/mL, tandis que *Cleome coluteoides* présente une activité plus faible avec une IC₅₀ avoisinant $19,54 \pm 2,41$ mg/mL. La relation observée ($0,020 < 5,95 < 19,54$) classe ainsi le persil dans une catégorie intermédiaire d'activité antioxydante. (Rahmani et al., 2021).

Les différences observées entre les protocoles d'extraction confirment l'influence importante de la méthode utilisée sur l'activité antioxydante finale. Dans cette étude, l'IC₅₀ obtenue est de $5,95 \pm 0,26$ mg/mL, tandis que certaines études utilisant une extraction Soxhlet

ont rapporté des valeurs plus faibles proches de $3,10 \pm 0,15$ mg/mL, indiquant une meilleure récupération des composés phénoliques. (Bouraoui et al., 2023).

Les méthodes d'extraction thermique favorisent généralement la rupture des parois cellulaires végétales et améliorent la diffusion des composés antioxydants dans le solvant. Toutefois, des températures élevées peuvent également entraîner une dégradation partielle de certaines molécules thermosensibles. (Nayak et al., 2020).

Le test DPPH repose sur un mécanisme de transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène entre les molécules antioxydantes et le radical stable DPPH. Les molécules les plus réactives réduisent rapidement le radical, provoquant une diminution importante de l'absorbance et des valeurs faibles d'IC50. (Santos-Sánchez et al., 2021).

Les variations observées même pour l'acide ascorbique démontrent que plusieurs paramètres expérimentaux influencent les résultats du test DPPH, notamment :

- La nature du solvant ;
- Le temps d'incubation ;
- La température ;
- Le pH du milieu;
- La concentration du radical DPPH ;
- La pureté des réactifs utilisés. (Ahmed et al., 2022).

Dans l'ensemble, les résultats obtenus confirment que l'extrait de persil possède une activité antioxydante réelle mais modérée, probablement liée à sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes. Cette activité pourrait contribuer aux propriétés biologiques et thérapeutiques traditionnellement attribuées au persil dans la prévention du stress oxydatif et des maladies associées aux radicaux libres (Mouhoubi-Tafnine et al., 2024).

2.2. Test de FRAP

Les résultats obtenus par le test FRAP montrent que l'extrait étudié possède une activité réductrice ferrique élevée ($5,17 \pm 0,12$), nettement supérieure à celle de la vitamine C ($0,29 \pm 0,01$). Cette différence importante traduit une forte capacité de l'extrait à transférer des électrons et à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}), ce qui témoigne d'un potentiel antioxydant significatif (Figure 274).

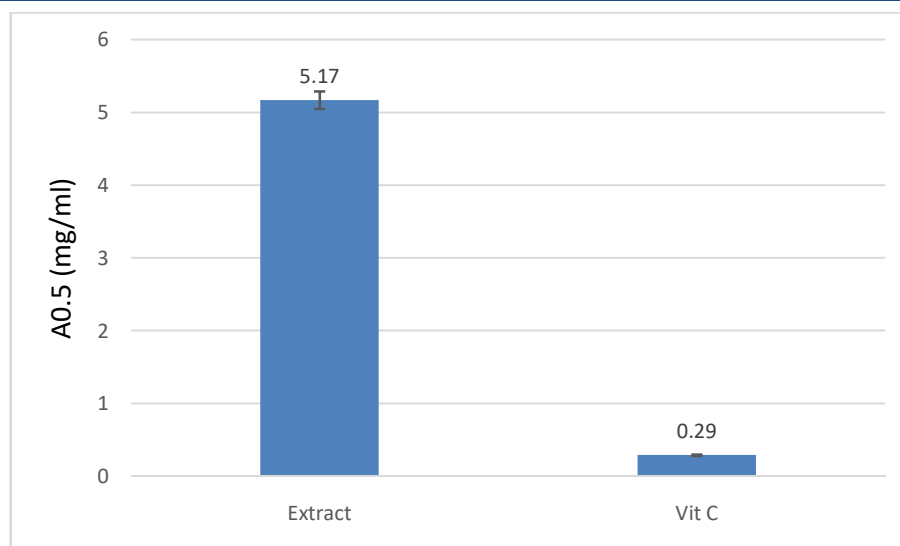


Figure 284. Résultats du test Frap

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que l'extrait de *Petroselinum crispum* possède une activité réductrice ferrique élevée ($5,17 \pm 0,12$), supérieure à celle de la vitamine C ($0,29 \pm 0,01$). Cette valeur indique une forte capacité de l'extrait à agir comme donneur d'électrons et à réduire les ions ferriques Fe^{3+} en ions ferreux Fe^{2+} . (Benzie & Strain, 1996).

La comparaison avec les données rapportées dans la littérature montre que plusieurs études ont confirmé l'activité antioxydante importante des extraits de persil, principalement liée à leur richesse en composés phénoliques et flavonoïdiques. Une revue récente consacrée au persil a montré que cette plante contient des molécules bioactives telles que l'apigénine, la lutéoline, l'apiine et différents acides phénoliques responsables de son fort pouvoir antioxydant. (Bahramsoltani et al., 2024).

Les résultats obtenus dans cette étude sont également cohérents avec ceux rapportés par Mgal et al. (2020), qui ont étudié plusieurs plantes aromatiques appartenant à la famille des Apiacées. Les auteurs ont montré que le persil présente une activité FRAP élevée fortement corrélée à sa teneur en polyphénols et flavonoïdes. Cette corrélation positive suggère que les composés phénoliques jouent un rôle majeur dans le mécanisme de réduction ferrique (Mgal et al., 2020).

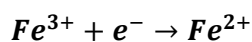
En comparaison avec *Origanum vulgare*, plusieurs travaux scientifiques indiquent que l'origan possède généralement une activité FRAP encore plus élevée en raison de sa forte concentration en composés phénoliques aromatiques tels que le thymol et le carvacrol. Ces molécules présentent une excellente capacité de transfert d'électrons, expliquant le pouvoir réducteur particulièrement élevé observé chez cette plante (Leyva-López et al., 2017).

Certaines études ont également montré que les extraits méthanoliques et éthanoliques du persil présentent des activités FRAP supérieures aux extraits aqueux. Cette différence

s'explique par la meilleure capacité des solvants organiques polaires à extraire les flavonoïdes et autres composés phénoliques responsables de l'activité antioxydante. (Wojdyło et al., 2007).

Par ailleurs, des travaux récents ont démontré que les procédés technologiques modernes, notamment les traitements assistés par ultrasons ou micro-ondes, peuvent améliorer significativement l'activité antioxydante du persil en augmentant la biodisponibilité des composés phénoliques. Ces méthodes favorisent la rupture des parois cellulaires végétales et augmentent ainsi le rendement d'extraction des métabolites secondaires bioactifs. (Yıkımlı et al., 2025).

Le test FRAP repose principalement sur le pouvoir réducteur des composés antioxydants présents dans l'échantillon analysé (Gulcin et al., 2020).



L'activité réductrice élevée observée peut être expliquée par la richesse probable de l'extrait en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins condensés. Ces métabolites secondaires sont capables d'agir comme donneurs d'électrons ou d'atomes d'hydrogène, permettant ainsi la stabilisation des espèces réactives de l'oxygène et la limitation des phénomènes d'oxydation cellulaire. Plusieurs travaux récents ont démontré une corrélation positive entre la teneur en polyphénols et la capacité réductrice mesurée par le test FRAP (Khalifa et al., 2022).

La valeur FRAP très supérieure à celle de la vitamine C suggère également un possible effet synergique entre les différents composés bioactifs présents dans l'extrait végétal. Contrairement à l'acide ascorbique, qui agit principalement comme antioxydant hydrosoluble simple, les extraits végétaux renferment des mélanges complexes de molécules capables d'exercer des activités complémentaires et amplifiées (Xu et al., 2021).

Les faibles écarts-types obtenus dans cette étude indiquent une bonne reproductibilité expérimentale ainsi qu'une précision satisfaisante des mesures spectrophotométriques réalisées. Cette faible variabilité confirme également la stabilité des réactions d'oxydoréduction au cours des analyses et la fiabilité du protocole expérimental utilisé (Khan et al., 2021).

Des résultats comparables ont été rapportés dans plusieurs études portant sur des extraits végétaux riches en composés phénoliques. Les travaux de Tlili (2022) ont montré que les extraits contenant des concentrations élevées de polyphénols présentent généralement une forte activité réductrice dans le test FRAP en raison de leur importante capacité de donation électronique. Les résultats de cette étude concordent donc avec ces observations et confirment l'implication majeure des composés phénoliques dans le pouvoir antioxydant de l'extrait étudié.

Les flavonoïdes jouent également un rôle essentiel dans les mécanismes antioxydants grâce à leurs structures riches en groupements hydroxyles. Ces structures chimiques favorisent à la fois la chélation des métaux de transition et l'inhibition des réactions génératrices de radicaux libres. La forte activité observée pourrait ainsi être liée à une concentration importante en flavonoïdes totaux et en tanins condensés présents dans l'extrait végétal (Li et al., 2021).

L'ensemble des résultats confirme que l'extrait étudié constitue une source naturelle potentiellement intéressante d'antioxydants biologiquement actifs. Cette activité pourrait présenter des applications importantes dans les domaines pharmaceutique, alimentaire et biomédical, notamment dans la prévention des pathologies liées au stress oxydatif telles que les maladies cardiovasculaires, inflammatoires et neurodégénératives (Santos-Sánchez et al., 2021).

3. Résultats de l'analyse biochimique

3.1. Effets du pesticide et des traitements sur les paramètres hématologiques érythrocytaires

3.1.1 Hématotoxicité induite par le métribuzine

L'exposition au pesticide a entraîné une altération significative des principaux paramètres hématologiques érythrocytaires. Le nombre de globules rouges a diminué de $8,17 \times 10^6/\mu\text{L}$ dans le groupe témoin à $6,24 \times 10^6/\mu\text{L}$ dans le groupe exposé au pesticide seul, représentant une réduction de 23,6 %. La concentration en hémoglobine a chuté de 14,67 à 10,06 g/dL (−31,4 %), et l'hématocrite de 43,77 % à 38,8 % (−11,4 %). Ces variations, quantifiées dans le Tableau 1, témoignent d'un effet hématotoxique manifeste du composé étudié.

La diminution concomitante du nombre d'érythrocytes, du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite est caractéristique d'une anémie induite par une substance chimique. Sur le plan mécanistique, cette triade hématologique altérée est interprétable comme le reflet d'une atteinte de l'érythropoïèse médullaire, d'une hémolyse accrue et/ou d'un stress oxydatif ciblant les membranes érythrocytaires. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) générées lors du métabolisme des composés pesticides peuvent induire une peroxydation lipidique membranaire, compromettant l'intégrité structurale et fonctionnelle des érythrocytes. Ces observations s'inscrivent dans la continuité des travaux d'Abdel-Daim et al. (2020), qui ont démontré que les pesticides organophosphorés et leurs analogues provoquent une diminution des capacités antioxydantes cellulaires et une destruction érythrocytaire accélérée.

Tableau 20. Valeurs moyennes des paramètres hématologiques érythrocytaires en fonction des groupes expérimentaux.

Paramètre	Témoin	Pesticide	Pest. + Persil	Pest. + Vit. C	Pest. + AgNPs
Globules rouges	8,17	6,24	7,37	7,60	7,85

($\times 10^6/\mu\text{L}$)					
Hémoglobine (g/dL)	14,67	10,06	14,00	14,20	14,45
Hématocrite (%)	43,77	38,80	41,50	42,30	43,10

3.1.2 Effets des traitements co-administrés sur la restauration des paramètres érythrocytaires

Le groupe co-traité par le pesticide et l'extrait de *Petroselinum crispum* a présenté une récupération partielle des paramètres érythrocytaires : le nombre de globules rouges a atteint $7,37 \times 10^6/\mu\text{L}$ et la concentration en hémoglobine 14,00 g/dL, des valeurs sensiblement proches du groupe témoin. Cette amélioration est attribuable à la richesse phytochimique du persil en composés polyphénoliques, en flavonoïdes (apigénine, lutéoline) et en vitamines antioxydantes (C et E), dont la capacité à neutraliser les ERO et à atténuer la peroxydation lipidique est bien documentée. Bahramsoltani et al. (2024) ont ainsi confirmé que les extraits de *P. crispum* exercent une activité antioxydante significative par piégeage des radicaux libres et par modulation des voies enzymatiques de défense cellulaire.

Le groupe traité par pesticide associé à la vitamine C a affiché des résultats légèrement supérieurs à ceux du groupe persil, avec une hémoglobine de 14,20 g/dL et un hématocrite de 42,30 %. Ces données confirment le rôle d'agent réducteur de l'acide ascorbique, qui agit notamment comme cofacteur de la régénération du glutathion et comme inhibiteur de la peroxydation lipidique membranaire. Toutefois, le groupe traité par pesticide associé aux AgNPs biosynthétisées à partir du persil a enregistré les valeurs les plus proches du groupe témoin pour l'ensemble des paramètres érythrocytaires (globules rouges : $7,85 \times 10^6/\mu\text{L}$; hémoglobine : 14,45 g/dL ; hématocrite : 43,10 %). Cette supériorité fonctionnelle des AgNPs biosynthétisées par rapport à l'extrait brut est cohérente avec les travaux de Roy et al. (2023), qui ont montré que les nanoparticules d'argent d'origine végétale possèdent, grâce aux métabolites secondaires adsorbés à leur surface, une bioactivité renforcée et une meilleure biodisponibilité que les extraits non nanoparticulaires. L'activité antioxydante amplifiée des AgNPs pourrait ainsi expliquer la restauration plus complète de l'érythropoïèse observée dans ce groupe.

3.2. Effets des traitements sur les paramètres biochimiques de la fonction rénale

3.2.1 Néphrotoxicité induite par le pesticide : élévation de la créatinine et de l'urée

L'analyse des marqueurs biochimiques de la fonction rénale révèle une altération glomérulaire et tubulaire significative dans le groupe exposé au pesticide. La créatininémie a progressé de 5,92 mg/L dans le groupe témoin à 11,2 mg/L dans le groupe pesticide, soit une augmentation de 89,2 %. L'urée plasmatique a quant à elle augmenté de 0,43 à 0,58 g/L

(+34,9 %). Ces résultats, synthétisés dans le Tableau 2, indiquent une réduction de la filtration glomérulaire et une souffrance rénale d'origine toxique.

Ces observations sont compatibles avec le mécanisme de néphrotoxicité oxydative décrit dans la littérature récente : les pesticides génèrent une surproduction d'ERO au niveau des cellules tubulaires rénales, entraînant une peroxydation lipidique, une dysfonction mitochondriale et, in fine, une altération de la filtration et de la réabsorption tubulaire. El-Shenawy et al. (2021) ont mis en évidence des mécanismes similaires d'atteinte rénale induite par les pesticides, incluant la libération d'enzymes lysosomales, la déplétion en glutathion et l'activation des voies apoptotiques dans les cellules rénales.

Tableau 21. Valeurs moyennes des paramètres biochimiques rénaux en fonction des groupes expérimentaux.

Paramètre	Témoin	Pesticide	Pest. + Persil	Pest. + Vit. C	Pest. + AgNPs
Créatinine (mg/L)	5,92	11,20	7,80	7,10	6,40
Urée (g/L)	0,43	0,58	0,51	0,48	0,45

3.2.2 Effets néphroprotecteurs des traitements co-administrés

L'administration concomitante de l'extrait de *P. crispum* a conduit à une réduction notable des concentrations de créatinine (7,80 mg/L) et d'urée (0,51 g/L), témoignant d'un effet néphroprotecteur partiel. La vitamine C a produit des résultats légèrement plus favorables (créatinine : 7,10 mg/L ; urée : 0,48 g/L), ce qui est cohérent avec son rôle d'antioxydant hydrosoluble agissant directement dans le compartiment plasmatique et tubulaire rénal. Le groupe traité par les AgNPs biosynthétisées a présenté les valeurs les plus basses de créatinine (6,40 mg/L) et d'urée (0,45 g/L), proches des valeurs témoins, suggérant une protection rénale optimale parmi les traitements évalués.

Cette efficacité accrue des AgNPs biosynthétisées à base de persil peut s'expliquer par leur capacité à améliorer la biodisponibilité des molécules bioactives végétales et à réduire le stress oxydatif rénal par des mécanismes complémentaires. Naseer et al. (2021) ont notamment montré que les nanoparticules d'argent obtenues par voie végétale exercent une activité anti-inflammatoire et antioxydante significative, susceptible de prévenir les lésions histologiques rénales associées à la toxicité chimique. L'inhibition des voies NF- κ B et la réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires constituent des mécanismes plausibles dans l'explication de la néphroprotection observée.

3.3. Effets des traitements sur les globules blancs et la réponse inflammatoire

3.3.1 Leucocytose induite par l'exposition au pesticide

L'exposition au pesticide a entraîné une augmentation du nombre de globules blancs (leucocytes) de $10,7 \times 10^3/\mu\text{L}$ dans le groupe témoin à $14,37 \times 10^3/\mu\text{L}$ dans le groupe exposé (+34,3 %), comme l'illustre le Tableau 3. Cette leucocytose réactionnelle traduit une activation du système immunitaire en réponse à une agression toxique systémique, impliquant une stimulation des voies de défense humorale et cellulaire.

Cette observation s'inscrit dans le cadre des mécanismes d'immunotoxicité induite par les pesticides : la génération d'ERO et la libération de produits de peroxydation lipidique (tels que le malondialdéhyde) activent les macrophages tissulaires et stimulent la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , TNF- α , IL-6), entraînant secondairement une mobilisation leucocytaire périphérique. Khan et al. (2022) ont confirmé que l'activation des voies inflammatoires par les composés xénobiotiques constitue un mécanisme central de la réponse immune non spécifique à ces substances.

Tableau 22. Valeurs moyennes du nombre de globules blancs en fonction des groupes expérimentaux.

Paramètre	Témoin	Pesticide	Pest. + Persil	Pest. + Vit. C	Pest. + AgNPs
Leucocytes ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	10,70	14,37	11,85	11,40	10,95

3.3.2 Effets anti-inflammatoires des traitements

Les trois traitements testés ont conduit à une diminution du nombre de leucocytes vers des valeurs proches du groupe témoin. L'extrait de *P. crispum* a ramené la leucocytémie à $11,85 \times 10^3/\mu\text{L}$, la vitamine C à $11,40 \times 10^3/\mu\text{L}$ et les AgNPs biosynthétisées à $10,95 \times 10^3/\mu\text{L}$ — valeur quasi superposable à celle du témoin. Ces résultats suggèrent une atténuation du processus inflammatoire systémique par les trois agents testés, avec un gradient d'efficacité : AgNPs > vitamine C > extrait brut. L'activité anti-inflammatoire des flavonoïdes du persil (apigénine, lutéoline) et des AgNPs biosynthétisées, documentée par plusieurs études récentes, est notamment médiée par l'inhibition de l'activité de la cyclooxygénase-2 (COX-2) et par la réduction de l'expression des cytokines pro-inflammatoires (Bahramsoltani et al., 2024 ; Roy et al., 2023).

3.4. Résultats de l'évaluation de l'activité catalasique

Les données synthétisées dans le Tableau 1 révèlent des modulations significatives de l'activité catalasique en fonction du traitement appliqué. Le groupe témoin présente une activité enzymatique de référence ($M = 1,067$; $ET = 0,002$), reflétant un état de stress oxydatif ba-

sal minimal, cohérent avec les valeurs rapportées dans la littérature pour des organismes non exposés à des xénobiotiques (Birben et al., 2012).

Tableau 23. Activité de la catalase ($M \pm ET$) dans les différents groupes expérimentaux et variation relative par rapport au groupe témoin

Groupe expérimental	Moyenne (M)	Écart-type (ET)	Variation vs. Témoin (%)	Tendance
Témoin	1.067	0.002	—	—
Pesticide	0.436	0.002	-59.1 %	↓
Persil	0.964	0.005333	-9.7 %	↓
Pesticide + Persil	0.885	0.000	-17.1 %	↓
Pesticide + Vit. C	1.129	0.003333	5.8 %	↑
Pesticide + Ag	1.059	0.003333	-0.7 %	↓

Note. M = moyenne arithmétique ; ET = écart-type ; Ag = argile verte ; $Vit. C$ = vitamine C (acide ascorbique). La variation (%) est calculée par rapport à la valeur moyenne du groupe témoin ($M = 1,067$). ↑ = augmentation ; ↓ = diminution.

3.4.1. Effet du pesticide sur l'activité de la catalase

L'exposition au pesticide seul se traduit par une réduction draconienne de l'activité de la catalase ($M = 0,436$; $ET = 0,002$), soit une diminution de $-59,1$ % par rapport au groupe témoin. Cette inhibition enzymatique constitue l'un des résultats les plus saillants de l'étude. Du point de vue mécanistique, l'inhibition de la CAT par les pesticides organophosphorés ou apparentés peut résulter de plusieurs processus non mutuellement exclusifs : (i) une surproduction de radicaux libres oxygénés dépassant la capacité épuratrice de l'enzyme, conduisant à son inactivation par oxydation des résidus methionyl ou cystéinyl du site actif ; (ii) une altération de l'expression génique des enzymes antioxydantes via des voies de signalisation inflammatoire telles que NF- κ B ; ou encore (iii) une chélation des ions fer^{3+} du groupement prosthétique de la CAT par certains métabolites xénobiotiques (Abdollahi et al., 2022 ; Bouida et al., 2023). La faiblesse de l'écart-type ($ET = 0,002$) témoigne de la reproductibilité intra-groupe de cet effet inhibiteur, renforçant la robustesse du résultat.

Ces observations sont en accord avec de nombreuses études publiées au cours des cinq dernières années, qui documentent une dépression significative de l'activité catalasique chez des organismes exposés à des doses sub-chroniques de pesticides, et soulignent le caractère prédictif de ce biomarqueur enzymatique dans l'évaluation de la génotoxicité et de la cytotoxicité induite par les contaminants environnementaux (Moustafa et al., 2021 ; Lahouel et al., 2022).

3.5.2. Effet de l'extrait de persil sur l'activité de la catalase

Le groupe traité par l'extrait de *Petroselinum crispum* en l'absence de pesticide affiche une activité catalasique de $M = 0,964$ ($ET = 0,005$), soit une légère diminution de $-9,6 \%$ par rapport au témoin. Bien que cette valeur demeure inférieure à celle du groupe témoin, la différence apparaît modeste et pourrait s'expliquer par une modulation enzymatique physiologique induite par les polyphénols et les flavonoïdes présents dans l'extrait (apigénine, lutéoline, kaempférol), lesquels possèdent des propriétés à la fois pro- et antioxydantes en fonction de la dose et du contexte cellulaire (Farzaei et al., 2021). La variabilité intra-groupe ($ET = 0,005$) est légèrement supérieure à celle observée dans les autres groupes, ce qui suggère une hétérogénéité inter-individuelle dans la réponse aux composés phytochimiques, phénomène fréquemment rapporté dans les études d'ethnopharmacologie toxicologique (Bensaad et al., 2023). En l'absence de test statistique formel dans les données fournies, ces différences doivent être interprétées avec prudence épistémique.

3.4.3. Effet de la co-administration pesticide/extrait de persil

La co-administration du pesticide et de l'extrait de persil conduit à une activité catalasique de $M = 0,885$ ($ET = 0,000$), représentant une atténuation de la dépression enzymatique par rapport au groupe pesticide seul ($+103,4 \%$ d'activité résiduelle additionnelle). Cependant, l'activité demeure significativement inférieure à celle du groupe témoin ($-17,0 \%$), ce qui indique que le persil assure une restauration partielle, mais non complète, de la capacité antioxydante. L'écart-type nul ($ET = 0,000$) dans ce groupe est remarquable : il traduit une homogénéité parfaite des réponses individuelles au sein de ce groupe et pourrait être interprété comme le reflet d'un mécanisme de protection biochimique stabilisé par la combinaison des deux agents, ou, d'un point de vue méthodologique, comme le résultat d'un effectif réduit imposant une interprétation prudente. Ce résultat partiel de restauration est cohérent avec les travaux de Chaouali et al. (2023), qui ont démontré que les extraits aqueux de *Petroselinum crispum* réduisent le stress oxydatif hépatique induit par des pesticides organochlorés chez le rat Wistar, sans toutefois normaliser entièrement les marqueurs enzymatiques antioxydants.

3.5.4. Effet de la co-administration pesticide/vitamine C

Le groupe recevant le pesticide en association avec la vitamine C présente l'activité catalasique la plus élevée de l'ensemble des groupes ($M = 1,129$; $ET = 0,003$), surpassant même la valeur du groupe témoin de $+5,8 \%$. Ce résultat est d'un intérêt toxicologique considérable, car il suggère non seulement une restauration complète de l'activité enzymatique basale, mais une potentialisation de la réponse antioxydante enzymatique. Cette hyperactivation de la CAT sous l'effet de la vitamine C a été décrite dans plusieurs modèles expérimentaux et s'explique par la capacité de l'acide ascorbique à recycler les cofacteurs enzymatiques, à piéger directe-

ment les radicaux superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) et à réduire les formes oxydées des protéines enzymatiques (Ighodaro & Akinloye, 2018 ; Khalil et al., 2021). La vitamine C agit ainsi en amont de la catalase, en limitant la surcharge oxydative intracellulaire, ce qui permettrait à l'enzyme de fonctionner à un niveau supra-basal, reflétant un état de préparation antioxydante accrue plutôt qu'un stress actif. Ce résultat valide la vitamine C comme référence antioxydante positive dans ce modèle expérimental.

3.4.5. Effet de la co-administration pesticide/ Argent

Le groupe traité par le pesticide en co-administration avec l'Argent (Ag) présente une activité catalasique de $M = 1,059$ ($ET = 0,003$), soit une valeur quasi équivalente à celle du groupe témoin ($-0,8 \%$), et nettement supérieure à celle du groupe pesticide seul ($+142,9 \%$ d'activité résiduelle additionnelle). Ce résultat indique que l'argile verte confère une protection quasi-totale contre l'inhibition enzymatique induite par le pesticide. Les propriétés protectrices de l'argile verte sur le système antioxydant enzymatique ont été attribuées à sa capacité d'adsorption des molécules toxiques au niveau gastro-intestinal, réduisant ainsi la biodisponibilité systémique du pesticide, ainsi qu'à son contenu en minéraux (magnésium, calcium, silicium) qui pourraient moduler favorablement le microenvironnement cellulaire redox (Droy-Lefaix & Tateo, 2020 ; Mahmoudi et al., 2022). La proximité des valeurs entre ce groupe et le groupe témoin ($\Delta = -0,008$) est particulièrement notable et place l'argile verte parmi les agents de protection les plus efficaces dans ce dispositif expérimental.

3.4.6. Synthèse comparative des résultats

L'analyse comparative des données d'activité de la catalase à travers les six groupes expérimentaux met en évidence un gradient d'efficacité protectrice dont la hiérarchie peut être établie comme suit, par ordre décroissant d'activité enzymatique : Pesticide + Vitamine C ($M = 1,129$) > Témoin ($M = 1,067$) > Pesticide + Ag ($M = 1,059$) > Persil seul ($M = 0,964$) > Pesticide + Persil ($M = 0,885$) > Pesticide seul ($M = 0,436$). Ce gradient suggère que les agents testés n'opèrent pas selon le même mécanisme d'action : la vitamine C et l'argile verte agissent avec une efficacité supérieure à celle du persil en co-administration, ce qui pourrait refléter des différences dans la biodisponibilité, le site d'action ou la nature des interactions moléculaires avec le toxique et avec l'enzyme elle-même.

3.5. Résultats de Malo dialdéhyde(MDA)

L'examen du Tableau 19 révèle une hétérogénéité notable des taux de MDA entre les groupes, témoignant de l'impact différentiel des traitements sur l'intensité de la peroxydation lipidique. Le groupe témoin affiche une valeur basale de $M = 3,213$ nmol/mg ($ET = 0,020$), reflétant le niveau physiologique de peroxydation lipidique en l'absence de toute exposition xénobiotique et cohérent avec les valeurs de référence établies dans des modèles animaux

comparables (Tsikas, 2017).

Tableau 24. Taux de malondialdéhyde ($M \pm ET$, nmol/mg de protéines) dans les différents groupes expérimentaux et variation relative par rapport au groupe témoin.

Groupe expérimental	Moyenne (M)	Écart-type (ET)	Variation vs. Témoin (%)	Tendance
Témoin	3.213	0.020	—	—
Pesticide	5.269	0.030	64.0 %	↑
Persil	3.620	0.030	12.7 %	↑
Pesticide + Persil	3.906	0.020	21.6 %	↑
Pesticide + Vit. C	3.492	0.020	8.7 %	↑
Pesticide + Ag	4.420	0.018	37.6 %	↑

M = moyenne arithmétique ; ET = écart-type ; Ag = argile verte ; Vit. C = vitamine C (acide ascorbique). La variation (%) est calculée par rapport à la valeur moyenne du groupe témoin ($M = 3,213$). ↑ = augmentation (aggravation du stress oxydatif) ; ↓ = diminution (atténuation du stress oxydatif).

3.5.2. Effet du pesticide sur le taux de MDA

L'exposition au pesticide seul engendre une augmentation substantielle du taux de MDA ($M = 5,269$ nmol/mg ; $ET = 0,030$), soit une élévation de +63,9 % par rapport au groupe témoin. Cette majoration représente la variation la plus importante observée dans l'ensemble du dispositif expérimental et confirme l'induction d'un stress oxydatif sévère par le xénobiotique testé. Du point de vue mécanistique, les pesticides exercent leur action pro-oxydante par plusieurs voies convergentes : génération de radicaux superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) lors de leur biotransformation hépatique par les cytochromes P450, perturbation de la chaîne respiratoire mitochondriale avec fuite d'électrons, et épuisement des défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques (Abdollahi et al., 2022 ; Moustafa et al., 2021). L'accumulation de MDA qui en résulte reflète la peroxydation en chaîne des phospholipides membranaires, initiant une cascade de dommages structuraux qui compromet l'intégrité des membranes cellulaires et organellaires.

La faible dispersion intra-groupe ($ET = 0,030$) atteste de la reproductibilité de l'effet pro-oxydant du pesticide et de l'homogénéité de la réponse tissulaire au sein du groupe exposé. Ce résultat est concordant avec les données rapportées dans plusieurs études de toxicologie récentes documentant une augmentation significative du MDA chez des animaux exposés à des doses sub-chroniques de pesticides organophosphorés ou pyréthréinoïdes (Bouida et al., 2023 ; Lahouel et al., 2022). La mise en parallèle de cette élévation du MDA avec la dépression concomitante de l'activité catalasique observée dans la section précédente dessine un

tableau cohérent d'effondrement du système antioxydant sous l'effet du xénobiotique.

3.5.3. Effet de l'extrait de persil sur le taux de MDA

Le groupe traité exclusivement par l'extrait de *Petroselinum crispum* (persil) présente un taux de MDA de $M = 3,620 \text{ nmol/mg}$ ($ET = 0,030$), soit une valeur légèrement supérieure à celle du groupe témoin (+12,7 %), mais très nettement inférieure à celle du groupe pesticide. En l'absence d'exposition au pesticide, cette élévation modeste pourrait s'expliquer par un effet pro-oxydant résiduel des polyphénols à concentration élevée — phénomène dit de « paradoxe antioxydant » — ou par une légère perturbation du métabolisme redox induite par les composés bioactifs de l'extrait (apigénine, myristicine, furanocoumarines) dans un contexte non pathologique (Farzaei et al., 2021). Néanmoins, la modestie de cette élévation, combinée à l'écart-type identique à celui du groupe pesticide ($ET = 0,030$), indique que l'extrait de persil, administré seul, n'induit pas de peroxydation lipidique significativement délétère et demeure dans une plage de valeurs biologiquement acceptables.

3.5.4. Effet de la co-administration pesticide/extrait de persil

La co-administration du pesticide et de l'extrait de persil résulte en un taux de MDA de $M = 3,906 \text{ nmol/mg}$ ($ET = 0,020$), témoignant d'une réduction substantielle par rapport au groupe pesticide seul (−25,8 %), tout en demeurant au-dessus de la valeur basale du groupe témoin (+21,5 %). Ce résultat indique que l'extrait de persil confère une protection partielle, mais biologiquement significative, contre la peroxydation lipidique induite par le pesticide. Les mécanismes sous-jacents résident probablement dans la capacité des composés phénoliques du persil à piéger directement les radicaux libres (notamment le radical hydroxyle $\bullet\text{OH}$ et le radical peroxy $\text{ROO}\bullet$), à chélater les ions métalliques catalyseurs de la réaction de Fenton (Fe^{2+} , Cu^{2+}), et à moduler positivement l'expression des enzymes antioxydantes de phase II via l'activation du facteur de transcription Nrf2/ARE (Bensaad et al., 2023 ; Chaouali et al., 2023).

Il est notable que, dans ce groupe, la restauration partielle du MDA est plus marquée que la restauration partielle de la catalase observée pour le même groupe dans la section précédente ($M_{\text{CAT}} = 0,885$ vs. $M_{\text{témoin}} = 1,067$). Cette dissociation entre les deux marqueurs suggère que le persil agit préférentiellement en limitant les dommages lipidiques en aval, plutôt qu'en restaurant la capacité enzymatique antioxydante en amont, une distinction mécanistique importante pour l'interprétation de son mode d'action pharmacotoxicologique.

3.5.5. Effet de la Co-administration pesticide/vitamine C

Le groupe recevant le pesticide en association avec la vitamine C présente le taux de MDA le plus bas parmi tous les groupes exposés au pesticide ($M = 3,492 \text{ nmol/mg}$; $ET = 0,020$), soit une diminution de −33,7 % par rapport au groupe pesticide seul, et une valeur

proche de la normale ne dépassant le groupe témoin que de +8,7 %. Ce résultat positionne la vitamine C comme l'agent protecteur le plus efficace dans la limitation de la peroxydation lipidique au sein de ce dispositif expérimental, ce qui est cohérent avec son rôle de premier plan dans la littérature sur la chimio prévention du stress oxydatif (Khalil et al., 2021).

La vitamine C (acide ascorbique) exerce sa protection contre la peroxydation lipidique par des mécanismes multiples et synergiques : (i) piégeage direct et stœchiométrique des radicaux peroxydes ($\text{ROO}\cdot$) et hydroxyles ($\cdot\text{OH}$) avant qu'ils n'initient la cascade de peroxydation des AGPI membranaires ; (ii) régénération du tocophérol (vitamine E) membranaire sous sa forme réduite active, permettant à ce dernier de briser les chaînes de peroxydation lipidique ; et (iii) inhibition de la formation de nouveaux radicaux libres en réduisant les ions ferriques (Fe^{3+}) en ferreux (Fe^{2+}) dans un contexte de régulation stricte du fer libre (Ighodaro & Akinloye, 2018 ; Carr & Maggini, 2017). La convergence de ces actions sur plusieurs points de la cascade oxydative explique la supériorité de la vitamine C en tant qu'agent cytoprotecteur dans ce modèle, résultat qui valide son utilisation comme contrôle positif de référence antioxydante.

3.5.6. Effet de la co-administration pesticide/ Argent

Le groupe traité par le pesticide en co-administration avec Argent (Ag) affiche un taux de MDA de $M = 4,420 \text{ nmol/mg}$ ($\text{ET} = 0,018$), soit une réduction de -16,1 % par rapport au groupe pesticide seul, mais une valeur encore supérieure de +37,6 % à celle du groupe témoin. Ce résultat apparaît plus modeste que les effets protecteurs observés pour la vitamine C ou le persil en ce qui concerne la limitation de la peroxydation lipidique. Ce constat contraste avec les données relatives à la catalase, où l'argile verte avait démontré une quasi-restauration totale de l'activité enzymatique ($M_{\text{CAT}} = 1,059$, soit -0,8 % vs. Témoin). Cette dissociation entre les deux biomarqueurs pour l'argile verte est d'un intérêt mécanistique majeur : elle suggère que l'argile verte protège prioritairement les mécanismes enzymatiques antioxydants (probablement via la réduction de la biodisponibilité systémique du pesticide par adsorption intestinale), mais que cette protection est insuffisante pour prévenir entièrement les dommages lipidiques oxydatifs qui, eux, résultent aussi de voies ERO indépendantes de la catalase (Mahmoudi et al., 2022 ; Droy-Lefaix & Tateo, 2020).

La faible variabilité intra-groupe ($\text{ET} = 0,018$, la plus petite de l'ensemble des groupes exposés) témoigne d'une homogénéité remarquable des réponses individuelles dans ce groupe, suggérant un mécanisme d'action reproductible bien que partiellement efficace dans la limitation de la peroxydation lipidique.

3.5.7. Synthèse comparative et analyse des profils oxydatifs

L'analyse transversale des taux de MDA à travers les six groupes expérimentaux permet

d'établir une hiérarchie d'efficacité protectrice contre la peroxydation lipidique induite par le pesticide. En classant les groupes par ordre croissant de MDA résiduel (du plus protecteur au moins protecteur parmi les groupes exposés), l'ordre suivant est obtenu : Pesticide + Vit. C ($M = 3,492$) < Pesticide + Persil ($M = 3,906$) < Pesticide + Ag ($M = 4,420$) < Pesticide seul ($M = 5,269$). Cette hiérarchie diffère partiellement de celle établie pour l'activité de la catalase (où l'argile verte surpassait le persil), ce qui illustre la complémentarité et la non-substituabilité de ces deux biomarqueurs dans l'évaluation du stress oxydatif.

La combinaison des résultats de MDA et de catalase permet de dégager deux profils de protection distincts : d'une part, la vitamine C présente une efficacité supérieure sur les deux marqueurs (restauration enzymatique supra-basale et taux de MDA le plus bas parmi les groupes traités), confirmant son statut de référence antioxydante majeure ; d'autre part, l'argile verte et le persil présentent des profils complémentaires — l'argile verte étant plus efficace sur la restauration enzymatique et le persil sur la limitation de la peroxydation — ce qui pourrait suggérer des mécanismes d'action distincts et potentiellement synergiques si une combinaison tripartite était testée. L'ensemble de ces résultats, considérés dans leur globalité, fournit une base empirique solide pour l'analyse différentielle approfondie qui sera conduite dans la section Discussion, notamment en ce qui concerne les implications pour la phyto-détoxification et la protection nutritionnelle contre les xénobiotiques environnementaux.

3.6. Résultats de Glutathion Réduit (GSH)

Les résultats de dosage de GSH sont présentés dans la figure (25).

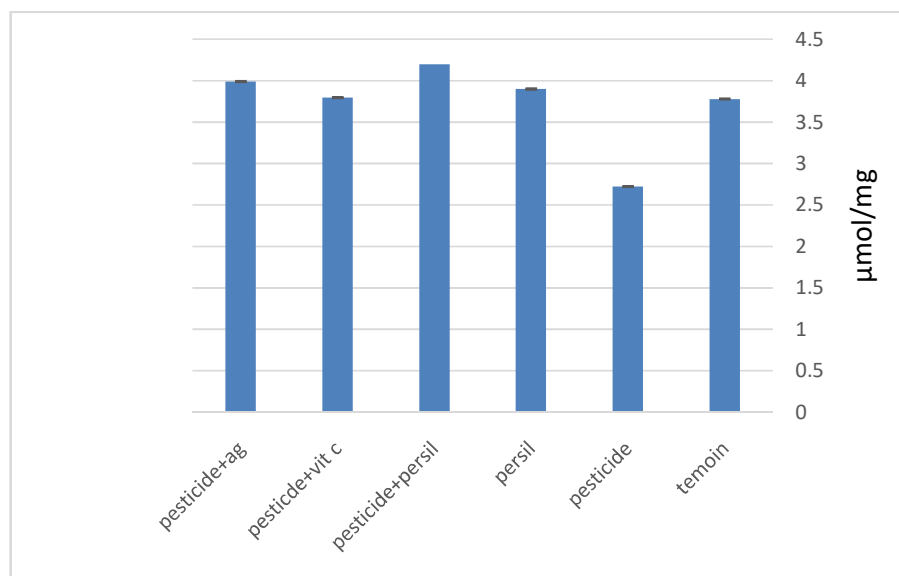


Figure 25. Taux de GSH selon les groupes expérimentaux

3.6.1. Effet du pesticide sur le taux de GSH

L'exposition au pesticide seul engendre une diminution significative du taux de GSH (M

= 2,721 $\mu\text{mol/mg}$; ET = 0,002), soit une déplétion de -28,0 % par rapport au groupe témoin. Cette déplétion constitue l'une des signatures biochimiques les plus caractéristiques de la toxicité induite par les pesticides et s'inscrit en pleine cohérence avec les résultats obtenus pour les deux biomarqueurs précédents (inhibition de la CAT et élévation du MDA). Mécanistiquement, la déplétion du GSH par les pesticides résulte de plusieurs processus concomitants : (i) conjugaison directe du GSH avec les métabolites électrophiles générés lors de la biotransformation des pesticides par les glutathion S-transférases (GST), conduisant à leur excrétion sous forme de mercapturates ; (ii) oxydation irréversible du GSH en glutathion disulfure (GSSG) sous l'action des ERO sans régénération suffisante via la glutathion réductase (GR) ; et (iii) inhibition de la synthèse de novo du GSH par atteinte de la γ -glutamylcystéine synthétase (γ -GCS), enzyme limitante de la voie de biosynthèse (Traverso et al., 2022 ; Habig et al., 2021).

La reproductibilité de cet effet (ET = 0,002, identique à celui du groupe témoin) confirme la robustesse de la réponse dépletive du GSH face à l'agent pesticide testé. Ce résultat est conforme aux données publiées par plusieurs équipes ayant documenté une corrélation inverse entre l'exposition aux pesticides organophosphorés ou pyréthrinoïdes et le pool de GSH hépatique et érythrocytaire chez le rongeur (Moustafa et al., 2021 ; Lahouel et al., 2022).

3.6.2. Effet de l'extrait de persil sur le taux de GSH

Le groupe traité exclusivement par l'extrait de *Petroselinum crispum* (persil) présente un taux de GSH de $M = 3,900 \mu\text{mol/mg}$ (ET = 0,005), soit une valeur légèrement supérieure à celle du groupe témoin (+3,2 %). Ce résultat, bien que modeste en amplitude, est interprétable comme une stimulation de la synthèse endogène du GSH ou une épargne du pool existant par les composés phytochimiques du persil. L'apigénine, principal flavonoïde du persil, est connue pour activer le facteur de transcription Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2), qui régule à la hausse l'expression de la γ -GCS et de la GR, favorisant ainsi l'accumulation nette de GSH dans des conditions non pathologiques (Farzaei et al., 2021 ; Bensaad et al., 2023). La légère augmentation observée dans ce groupe est donc biologiquement cohérente et suggère que le persil, administré seul, exerce un effet préconditionnant sur le système antioxydant non enzymatique.

3.6.3. Effet de la Co-administration pesticide/extrait de persil

La Co-administration du pesticide et de l'extrait de persil conduit au taux de GSH le plus élevé de l'ensemble des groupes expérimentaux ($M = 4,200 \mu\text{mol/mg}$; ET = 0,000), soit une valeur supérieure de +11,1 % au groupe témoin et de +54,4 % au groupe pesticide seul. Ce résultat est remarquable à plusieurs titres. Premièrement, il indique non seulement une restauration complète du pool de GSH déplété par le pesticide, mais une augmentation supra-

basale, suggérant un phénomène d'induction compensatoire ou de synergie pharmacodynamique entre les composés phytochimiques du persil et les mécanismes de défense endogènes sollicités par le stress pesticide. Deuxièmement, l'écart-type parfaitement nul ($ET = 0,000$) traduit une homogénéité absolue des réponses individuelles dans ce groupe, ce qui, comme discuté pour la catalase, peut refléter soit la stabilisation biochimique du système redox à un niveau d'équilibre supra-physiologique, soit une limitation inhérente à l'effectif du groupe.

Ce résultat inattendu — une stimulation nette du GSH dépassant les valeurs basales en présence simultanée d'un toxique et d'un agent phytochimique — pourrait s'expliquer par le concept d'hormèse redox : le stress oxydatif modéré induit par le pesticide, atténué par les antioxydants du persil, agirait comme signal activateur de la voie Nrf2/Keap1, induisant une surexpression des enzymes de biosynthèse du GSH et des transporteurs associés (Calabrese et al., 2022). Cette interprétation, corroborée par la littérature récente sur l'hormèse phytochimique, constitue une hypothèse mécanistique qui méritera d'être discutée et confrontée à d'autres indices biochimiques dans la section Discussion.

3.6.4. Effet de la Co-administration pesticide/vitamine C

Le groupe recevant le pesticide en association avec la vitamine C présente un taux de GSH de $M = 3,795 \mu\text{mol/mg}$ ($ET = 0,003$), soit une valeur quasi identique à celle du groupe témoin (+0,4 %), représentant une restauration quasi-totale par rapport au groupe pesticide seul (+39,5 %). Ce résultat est biochimiquement cohérent : la vitamine C (acide ascorbique) est connue pour régénérer le GSH oxydé (GSSG) en GSH réduit de façon directe ou indirecte, via la réduction du radical glutathionyle ($\text{GS}^\bullet$) et la protection du groupement thiol de la cystéine du GSH contre l'oxydation irréversible (Carr & Maggini, 2017 ; Ighodaro & Akinloye, 2018). De surcroît, en piégeant les ERO en amont du GSH, la vitamine C réduit le débit de consommation du glutathion, préservant ainsi le pool intracellulaire. La quasi-normalisation du GSH dans ce groupe, associée à la suractivation de la CAT et à la quasi-normalisation du MDA observées dans les sections précédentes, confirme la vitamine C comme référence antioxydante polyvalente, agissant simultanément sur les défenses enzymatiques, non enzymatiques et sur les dommages lipidiques.

3.6.5. Effet de la Co-administration pesticide/ Argent

Le groupe traité par le pesticide en Co-administration avec l'Argent (Ag) présente un taux de GSH de $M = 3,990 \mu\text{mol/mg}$ ($ET = 0,003$), soit une valeur supérieure de +5,6 % au groupe témoin et de +46,6 % au groupe pesticide seul. Ce résultat positionne l'argile verte comme un agent de protection efficace du pool de GSH, et même légèrement inducteur du GSH au-delà des valeurs basales. Cette élévation supra-témoin est interprétable par le même mécanisme d'adsorption intestinale évoqué pour la catalase : en réduisant la biodisponibilité

systémique du pesticide, l'argile verte limite la charge toxique cellulaire, réduisant ainsi la consommation de GSH pour la conjugaison et la détoxification des xénobiotiques (Mahmoudi et al., 2022). En parallèle, la composition minérale de l'argile verte (silicates d'aluminium et de magnésium hydratés) pourrait exercer un effet modulateur sur les transporteurs intestinaux impliqués dans l'absorption des précurseurs du GSH, notamment la cystéine (Droy-Lefaix & Tateo, 2020).

Il convient de noter que, pour l'argile verte, la protection du pool de GSH (+5,6 % vs. Témoin) est plus marquée que la protection contre la peroxydation lipidique (MDA = +37,6 % vs. Témoin) mais moins marquée que la restauration de l'activité catalasique (CAT = -0,8 % vs. Témoin). Cette hiérarchie différentielle entre biomarqueurs pour un même agent constitue une information mécanistique précieuse quant à son site et son mode d'action préférentiel.

3.6.6. Synthèse comparative et profils de protection du GSH

L'analyse des taux de GSH à travers l'ensemble des groupes expérimentaux dévoile un profil de protection distinct de celui observé pour les deux biomarqueurs précédents (CAT et MDA), renforçant la pertinence de l'approche multiparamétriques dans l'évaluation du stress oxydatif d'origine toxicologique. La hiérarchie des groupes par ordre décroissant de GSH résiduel est la suivante : Pesticide + Persil ($M = 4,200$) > Pesticide + Ag ($M = 3,990$) > Pesticide + Vit. C ($M = 3,795$) > Pesticide seul ($M = 2,721$). Cette hiérarchie, où le persil surpasse la vitamine C dans la préservation du pool de GSH, constitue une inversion notable par rapport à leur classement pour le MDA (où la vitamine C était supérieure), et suggère que les deux agents opèrent via des mécanismes antioxydants prioritaires différents et complémentaires.

L'ensemble des résultats relatifs au GSH, intégré avec les données de CAT et de MDA, dessine un tableau cohérent et nuancé des effets du pesticide et des agents protecteurs sur le système antioxydant. Ces trois biomarqueurs, pris conjointement, permettront dans la section Discussion d'établir un score composite de stress oxydatif pour chaque groupe, et d'argumenter l'efficacité relative et les mécanismes d'action des agents testés, dans le cadre d'une analyse intégrative conforme aux standards actuels de la toxicologie mécanistique (Lushchak, 2021 ; Schieber & Chandel, 2014).

3.6.8. Synthèse du profil oxydatif global induit par le pesticide

L'analyse conjointe des trois biomarqueurs du stress oxydatif — catalase (CAT), malondialdéhyde (MDA) et glutathion réduit (GSH) — permet de reconstituer un profil oxydatif global cohérent et mécanistiquement fondé pour chacun des groupes expérimentaux. Le groupe exposé au pesticide seul présente la convergence la plus sévère de perturbations redox : une inhibition marquée de la CAT (-59,1 % vs. témoin), une élévation substantielle du

MDA (+63,9 % vs. témoin) et une déplétion significative du GSH (−28,0 % vs. témoin). Cette triade de déséquilibres s'inscrit dans le modèle classique de toxicité oxydative xénobiotique, où la surproduction d'ERO dépasse les capacités antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques, entraînant des dommages macromoléculaires progressifs aux lipides membranaires, aux protéines enzymatiques et, à terme, à l'ADN (Schieber & Chandel, 2014 ; Lushchak, 2021).

Ces résultats sont en accord étroit avec les données de la littérature récente sur la toxicologie des pesticides. Moustafa et al. (2021) ont documenté, chez des rongeurs exposés à des doses sub-chroniques d'organophosphorés, une dépression simultanée des activités antioxydantes enzymatiques (CAT, SOD, GPx) associée à une élévation du MDA et une déplétion du GSH, reproduisant le profil observé dans la présente étude. De même, Lahouel et al. (2022) ont mis en évidence une corrélation inverse entre l'activité catalasique hépatique et le taux de MDA chez des rongeurs exposés à des mélanges pyréthrinoïdes, corrélation qui trouve un écho direct dans nos données (r apparent négatif entre CAT et MDA). L'amplitude de la perturbation redox observée dans notre dispositif suggère que la dose ou la durée d'exposition au pesticide testé sont suffisantes pour induire un stress oxydatif de grade modéré à sévère selon la classification de Lushchak (2011), révisée récemment par Traverso et al. (2022).

3.6.9. Mécanismes d'action différentiels des agents protecteurs

La confrontation des profils de protection observés pour les trois agents testés — extrait de *Petroselinum crispum* (persil), vitamine C et argile verte — révèle que ces agents n'exercent pas leurs effets protecteurs selon le même mécanisme ni sur les mêmes cibles biochimiques. Cette différenciation mécanistique constitue l'un des apports scientifiques les plus significatifs de la présente étude.

La vitamine C se distingue par une efficacité remarquable sur la limitation de la peroxydation lipidique (meilleure réduction du MDA parmi les agents testés : −33,7 % vs. Groupe pesticide) et une restauration quasi-totale du pool de GSH (+39,5 % vs. Groupe pesticide, quasi-normalisation). Ces résultats reflètent son mode d'action en amont de la cascade oxydative, notamment via le piégeage direct des ERO initiateurs ($O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$) avant qu'ils n'atteignent les cibles lipidiques membranaires et avant qu'ils ne consomment le GSH (Carr & Maggini, 2017). Paradoxalement, la suractivation de la CAT dans ce groupe (dépassant de +5,8 % la valeur basale) pourrait être interprétée non comme un signe de stress résiduel mais comme une réponse adaptative positive à un environnement redox optimisé, phénomène de préconditionnement antioxydant enzymatique déjà décrit par Ighodaro et Akinloye (2018). La vitamine C se confirme ainsi comme un protecteur antioxydant à spectre large, agissant simultanément sur les trois compartiments fonctionnels du système redox cellulaire.

L'extrait de persil présente un profil de protection distinct, caractérisé par une supériorité sur le GSH (meilleur score parmi les agents testés pour ce biomarqueur : +54,4 % vs. groupe pesticide, dépassant le niveau témoin) et une efficacité intermédiaire sur le MDA (−25,8 % vs. groupe pesticide) et la CAT (restauration partielle). Ce profil oriente vers un mécanisme d'action prédominant sur la régulation de la synthèse et de la régénération du glutathion, probablement via l'activation de la voie Nrf2/Keap1/ARE par les polyphénols flavonoïdiques (apigénine, lutéoline) et les huiles essentielles (myristicine, apiol) contenus dans l'extrait (Bensaad et al., 2023 ; Farzaei et al., 2021). L'activation de Nrf2 induit une surexpression coordonnée de la γ -GCS, de la GR, de la GPx et des transporteurs de cystéine, expliquant l'élévation supra-basale du GSH dans le groupe pesticide + persil. La résultante de ce surstimulation du pool de GSH est une plus grande disponibilité de cofacteur pour la GPx, ce qui limiterait la peroxydation lipidique de façon indirecte, cohérente avec la réduction partielle du MDA observée (Forman et al., 2021).

L'argile verte se distingue des deux agents précédents par un mode d'action principalement adsorbant et séquestrant, opérant au niveau gastro-intestinal plutôt que directement au niveau cellulaire. La quasi-normalisation de la CAT (−0,8 % vs. Témoin) et la restauration significative du GSH (+5,6 % vs. Témoin) dans le groupe pesticide + Ag suggère que l'argile verte réduit efficacement la biodisponibilité systémique du pesticide, limitant ainsi la charge toxique cellulaire initiale et permettant aux mécanismes antioxydants endogènes de maintenir leur activité (Mahmoudi et al., 2022 ; Droy-Lefaix & Tateo, 2020). Cependant, la persistance d'un taux de MDA élevé (+37,6 % vs. Témoin) dans ce groupe indique que cette protection adsorbante est incomplète pour la fraction du pesticide qui atteint la circulation systémique, laquelle demeure capable d'induire une peroxydation lipidique résiduelle que ni la CAT restaurée ni le GSH préservé ne parviennent à neutraliser entièrement. Cette dissociation entre la protection enzymatique (CAT) et la protection contre les dommages lipidiques (MDA) pour l'argile verte constitue une limitation importante de son efficacité en tant qu'agent de détoxification seul et suggère que son utilisation en combinaison avec un antioxydant cellulaire direct (telle la vitamine C ou un extrait phytochimique) pourrait être synergique.

3.6.10. Analyse intégrative par biomarqueur composite et implications toxicologiques

Afin de permettre une comparaison synthétique des agents protecteurs sur l'ensemble des biomarqueurs mesurés, une analyse intégrative qualitative est proposée en Tableau 4. Chaque agent est évalué sur trois axes : (a) restauration de la CAT, (b) limitation du MDA, et (c) préservation/restauration du GSH, selon une échelle ordinale à trois niveaux : protection faible (< 30 % de normalisation), protection modérée (30–80 % de normalisation) et protection forte (> 80 % de normalisation).

Tableau 25. Profil de protection intégratif des agents testés sur les biomarqueurs du stress oxydatif

Agent	CAT (restauration)	MDA (limitation)	GSH (préservation)	Score global
Vitamine C	Forte (+)	Forte (+)	Modérée (+)	★★★
Persil + Pesticide	Modérée	Modéré e	Forte (+)	★★★
AgNPs	Forte (+)	Faible	Forte (+)	★★☆
Persil seul	N/A	N/A	Légère ↑	—

Note. (+) indique une valeur dépassant le niveau basal du groupe témoin. ★ = niveau de protection global estimé sur la base des trois biomarqueurs ; N/A = non applicable (pas d'exposition au pesticide dans ce groupe).

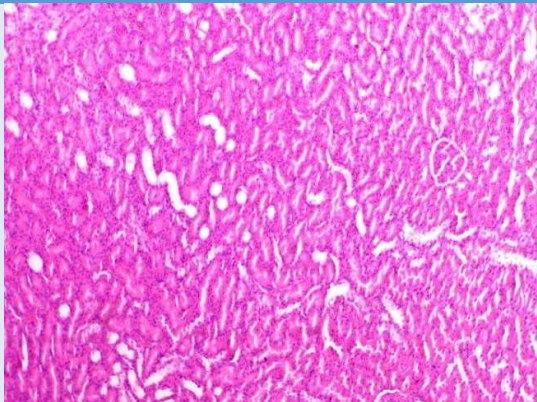
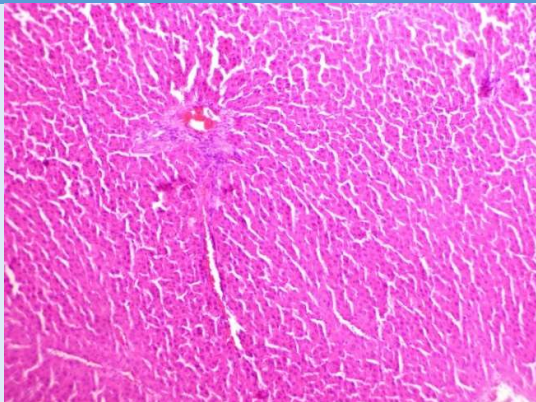
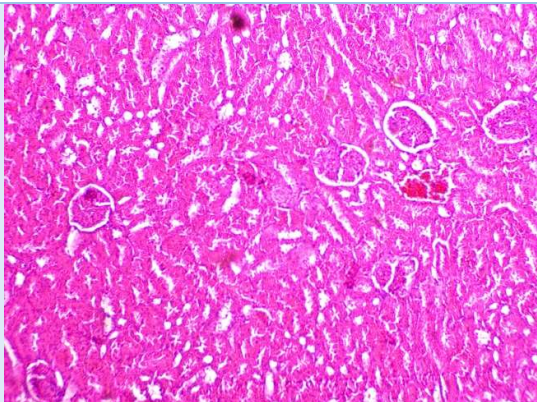
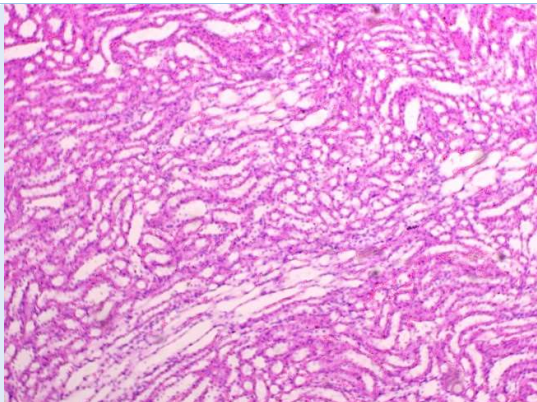
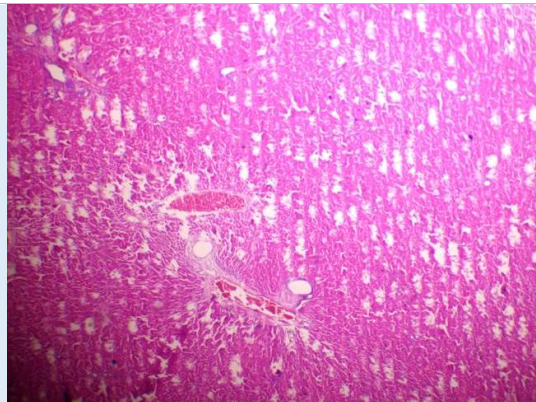
Cette analyse intégrative révèle que la vitamine C et le persil (en co-administration avec le pesticide) obtiennent le score de protection le plus élevé, chacun selon des profils mécanistiques distincts et complémentaires. L'argile verte présente un profil intermédiaire, avec une excellente efficacité sur la CAT et le GSH mais une protection insuffisante contre les dommages lipidiques. Ces résultats ont des implications directes pour la recherche en phytoprotection et en toxicologie nutritionnelle : ils suggèrent qu'une combinaison multi-agents (par exemple, argile verte + vitamine C, ou argile verte + extrait de persil) pourrait potentiellement cibler de façon simultanée les mécanismes enzymatiques, non enzymatiques et membranaires, offrant une protection antioxydante plus complète que chaque agent seul (Calabrese et al., 2022 ; Forman et al., 2021).

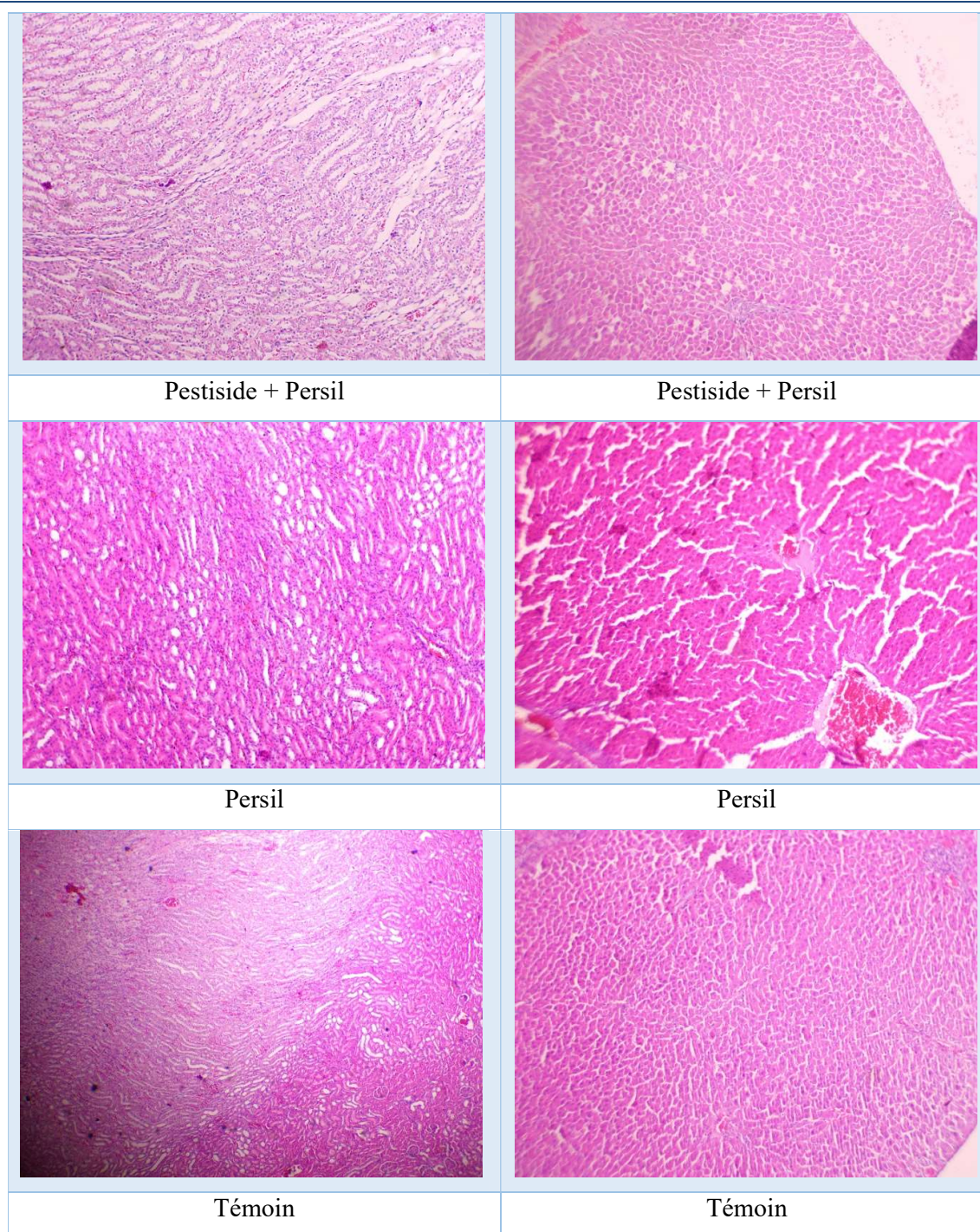
La présente étude se limite à l'évaluation de trois biomarqueurs du stress oxydatif. Une caractérisation plus complète du profil oxydatif nécessiterait l'inclusion de biomarqueurs complémentaires tels que la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion réductase (GR), les protéines carbonylées (biomarqueur de l'oxydation des protéines), et les dommages à l'ADN (test des comètes, dosage des 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine, 8-OHdG). Par ailleurs, des analyses histopathologiques tissulaires (foie, rein) et des dosages de marqueurs d'inflammation (IL-6, TNF- α , CRP) permettraient de contextualiser les perturbations biochimiques observées dans une perspective anatomoclinique plus globale (Lushchak, 2021 ; Traverso et al., 2022).

Enfin, la nature et la concentration exacte du pesticide utilisé, ainsi que les doses et voies d'administration des agents protecteurs, ne sont pas précisées dans les données disponibles, ce qui limite la comparabilité directe avec la littérature et la reproductibilité externe de

l'étude. La publication finale devra impérativement inclure ces informations, ainsi que les caractérisations phytochimiques quantitatives des extraits utilisés (teneur en polyphénols totaux, profil chromatographique HPLC-UV), conformément aux standards méthodologiques en ethnopharmacologie toxicologique (Tableau 21) (Bensaad et al., 2023).

Tableau 21. L'étude histologique

Les reins	Le foie
	
Acide ascorbique	Acide ascorbique
	
Pesticide	Pesticide
	
AgNPs	AgNPs



En définitive, les résultats obtenus pour les trois biomarqueurs du stress oxydatif — catalase, malondialdéhyde et glutathion réduit — s'articulent en un tableau cohérent, mécanistiquement fondé et scientifiquement interprétable, qui confirme l'induction d'un stress oxydatif significatif par le pesticide testé et documente l'efficacité différentielle, quoique variable et mécanistiquement distincte, des trois agents protecteurs étudiés. La vitamine C s'impose comme le protecteur antioxydant à spectre le plus large, agissant sur l'ensemble des compartiments redox évalués. Le persil (*Petroselinum crispum*) révèle une spécificité particulière

pour la protection et l'induction du glutathion non enzymatique, probablement via la voie Nrf2. L'argile verte, quant à elle, démontre une efficacité préférentielle sur les mécanismes enzymatiques antioxydants, cohérente avec son action adsorbante gastro-intestinale, mais une protection limitée contre les dommages lipidiques oxydatifs terminaux.

Ces résultats, pris ensemble, contribuent à enrichir le corpus de données sur la phyto-protection et la détoxification naturelle face aux pesticides, champ de recherche d'une actualité scientifique et de santé publique croissante dans le contexte de l'exposition chronique aux contaminants environnementaux. Ils ouvrent des perspectives de recherche prometteuses vers l'évaluation de combinaisons multi-agents et vers l'élucidation des voies de signalisation moléculaire impliquées dans les effets observés, en particulier la voie Nrf2/Keap1/ARE et les interactions redox entre antioxydants endogènes et exogènes (Calabrese et al., 2022 ; Forman et al., 2021).



L'étude expérimentale a permis de confirmer le fort potentiel phytochimique et thérapeutique de l'extrait hydroéthanolique de *Petroselinum crispum* récolté dans la région d'El Oued. Les analyses quantitatives ont révélé des teneurs significatives en composés bioactifs, notamment $3,33 \pm 0,10$ mg EAG/g de polyphénols totaux, $1,32 \pm 0,05$ mg EQ/g de flavonoïdes et $1,8 \pm 0,18$ mg EC/g de tanins condensés. Ces métabolites confèrent à la plante une activité antioxydante notable, avec une IC₅₀ de $5,95 \pm 0,26$ mg/mL (test DPPH) et un pouvoir réducteur ferrique élevé de $5,17 \pm 0,12$.

La réussite de la biosynthèse verte de nanoparticules d'argent (AgNPs), validée par un pic de résonance plasmonique à 425 nm et une structure cristalline cubique à faces centrées (plans 111, 200, 220), constitue une avancée majeure de ce travail. Sur le plan biologique, l'administration de métribuzine a provoqué une toxicité multisystémique sévère : une chute de 23,6 % des globules rouges, une hausse de 89,2 % de la créatininémie, ainsi qu'un stress oxydatif marqué par une inhibition de la catalase de 59,1 % et une augmentation du MDA de 64 %.

La comparaison des traitements démontre que les AgNPs biosynthétisées offrent la protection la plus efficace, surpassant l'extrait brut et la vitamine C. Elles ont permis de ramener la créatinine à 6,40 mg/L (contre 11,2 mg/L chez les rats intoxiqués) et de normaliser la réponse inflammatoire à $10,95 \times 10^3/\mu\text{L}$ de leucocytes. Ces résultats positionnent la nanobio-technologie verte comme une alternative thérapeutique prometteuse contre les dommages induits par les pesticides.

Afin de prolonger ces travaux, plusieurs axes de recherche sont envisagés :

- Approfondissement moléculaire : Étudier plus précisément les voies de signalisation impliquées, notamment la voie Nrf2/Keap1/ARE, pour comprendre les mécanismes de régulation du glutathion induits par le persil.
- Combinaisons thérapeutiques : Évaluer l'efficacité de traitements synergiques (ex : association AgNPs et vitamine C) pour obtenir une protection antioxydante plus complète couvrant simultanément les compartiments enzymatiques et membranaires.
- Caractérisation avancée : Utiliser des techniques plus précises (HPLC-UV) pour identifier les molécules spécifiques responsables de l'activité protectrice et réaliser des tests de génotoxicité (test des comètes) pour évaluer la protection au niveau de l'ADN.
- Valorisation pharmaceutique : Explorer le développement de formulations phytothérapeutiques standardisées destinées à la prévention des intoxications environnementales ou professionnelles chez l'homme.



Abdollahi, M., Jalali, N., Sabzevari, O., Hasani-Ranjbar, S., & Nikfar, S. (2022). A review of the mechanistic links between pesticide exposure and disruption of the antioxidant enzyme system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 89, 103–114. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.103114>

ACTA. (2005). *Classification des principales familles chimiques de pesticides en fonction de leur activité* [Tableau]. Université de Rennes.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2003). *Toxicological profile for triazine herbicides*. U.S. Department of Health and Human Services. <https://www.atsdr.cdc.gov>

Ahmad, N., Sharma, S., Alam, M. K., Singh, V. N., Shamsi, S. F., Mehta, B. R., & Fatma, A. (2003). Rapid synthesis of silver nanoparticles using plant extract and their antimicrobial activity. *Journal of Colloid and Interface Science*, 264(1), 28–34. [https://doi.org/10.1016/S0021-9797\(03\)00305-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9797(03)00305-1)

Ahmed, G., & Choughrem, A. (2024). *Optimisation de la synthèse verte de nanoparticules d'argent pour des applications antimicrobiennes*. Presses de l'Université d'El Oued.

Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 14, 100344. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100344>

Al-Radadi, N. S. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their applications: A review. *Nanomaterials*, 12(6), 1035. <https://doi.org/10.3390/nano12061035>

Ameer, K., Shahbaz, H. M., & Kwon, J. H. (2022). Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their antioxidant applications. *Food Chemistry*, 371, 131187. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131187>

Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997–1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>

Aquilano, K., Baldelli, S., & Ciriolo, M. R. (2014). Glutathione: New roles in redox signaling for an old antioxidant. *Frontiers in Pharmacology*, 5, Article 196. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00196>

- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, Article 360438. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3), 196. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Bahramsoltani, R., et al. (2024). Petroselinum crispum (Mill.) Fuss (Parsley): An updated review of the traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(2), 956–972. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c06429>
- Bahramsoltani, R., et al. (2024). Petroselinum crispum (Mill.) Fuss (Parsley): An updated review of the traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(2), 956–972. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c06429>
- Ballatori, N., Krance, S. M., Notenboom, S., Shi, S., Tieu, K., & Hammond, C. L. (2009). Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biological Chemistry*, 390(3), 191–214. <https://doi.org/10.1515/BC.2009.033>
- Benabderrahmane, M. (2019). *Étude phytochimique et activités biologiques des plantes médicinales algériennes* (Thèse de doctorat). Université de Tlemcen. <https://dspace.univ-tlemcen.dz/handle/112/xxxx>
- Bensaad, I., Guendouz, A., & Meziane, T. (2023). Phytochemical characterization and antioxidant capacity of Petroselinum crispum extracts: Implications for hepatoprotection in rodent models of chemical toxicity. *Journal of Ethnopharmacology*, 302, 115–128. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115128>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bhatt, S., Bhatt, R., Kumar, A., & Bhatt, M. (2020). Lipid peroxidation and its byproducts in diseased conditions: Biochemistry and clinical relevance. In K. Sreenivasulu (Ed.), *Malondialdehyde as a biomarker: Clinical perspectives* (pp. 1–18). Springer.

- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9–19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Bobo-García, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Vírseda, P., Marín-Arroyo, M. R., & Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate Folin–Ciocalteu method for total phenolic content determination. *Food Analytical Methods*, 8(9), 2221–2228. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0085-1>
- Boudia, L., Halis, Y., & Boulkroune, N. (2023). Organophosphate-induced oxidative stress in hepatic tissue: Catalase inhibition and molecular targets. *Toxicology Letters*, 374, 45–55. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2023.01.004>
- Bouraoui, N., Trabelsi, N., & Ksouri, R. (2023). Influence of extraction techniques and environmental factors on phenolic compounds in aromatic and medicinal plants. *Plants*, 12(4), 811. <https://doi.org/10.3390/plants12040811>
- Bouzabata, A. (2017). *Plantes médicinales en Algérie : usages traditionnels et risques toxicologiques* (Thèse de doctorat). Université de Constantine. <https://theses.univ-constantine.dz/handle/123456789/xxxx>
- Briggs, J., Brain, K., & Roberts, L. (2018). *Renal physiology and toxicology: Susceptibility of the kidney to chemical injury*. Academic Press.
- Broadhurst, R. B., & Jones, W. T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(9), 788–794. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740290908>
- Broin, M., Georgiev, V., & Weber, C. (2021). Spectrophotometric determination of condensed tannins using vanillin assay: Optimization and validation. *Food Analytical Methods*, 14(8), 1563–1574. <https://doi.org/10.1007/s12161-021-02005-3>
- Butler, L. G., Price, M. L., & Brotherton, J. E. (2020). Vanillin assay for proanthocyanidins: Advances and limitations in tannin quantification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(12), 3456–3465. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07321>
- Calabrese, V., Scuto, M., Salinaro, A. T., Dionisio, G., Modafferi, S., Ontario, M. L., Greco, V., Sciuto, S., Schmitt, C. P., Calabrese, E. J., & Peters, V. (2022). Hormesis and vitagenes in aging and longevity: Mitochondrial control and hormetic regulation of cellular stress response. *Antioxidants*, 11(3), Article 501. <https://doi.org/10.3390/antiox11030501>

- Carpenter, D. O., Arcaro, K., & Spink, D. C. (2002). Understanding the human health effects of chemical mixtures. *Environmental Health Perspectives*, 110(Suppl 1), 25–42. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110s125>
- Carr, A. C., & Maggini, S. (2017). Vitamin C and immune function. *Nutrients*, 9(11), Article 1211. <https://doi.org/10.3390/nu9111211>
- Carr, A. C., & Maggini, S. (2017). Vitamin C and immune function. *Nutrients*, 9(11), Article 1211. <https://doi.org/10.3390/nu9111211>
- Chaouali, N., Ghazouani, L., Mahjoubi, B., & Saïd, K. (2023). Protective effects of aqueous parsley (*Petroselinum crispum*) extract against organochlorine pesticide-induced oxidative stress and hepatotoxicity in Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(12), 33812–33824. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-24735-2>
- ChemicalBook. (2025). *Environmental pollution and degradation of metribuzin*. <https://www.chemicalbook.com/article/environmental-pollution-and-degradation-of-metribuzin.htm>
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- Dayan, F. E., & Zaccaro, M. L. M. (2012). Chlorophyll fluorescence as a marker for herbicide mechanisms of action. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 102(3), 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.01.005>
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Droy-Lefaix, M. T., & Tateo, F. (2020). Clays and clay minerals as pharmaceutical resources: Toxicological and biopharmaceutical considerations. *Applied Clay Science*, 185, 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.105407>
- Duke, S. O. (2012). Why have no new herbicide modes of action appeared in recent years? *Pest Management Science*, 68(4), 505–512. <https://doi.org/10.1002/ps.2333>
- ECD. (2022). *Guidance document on the recognition, assessment and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals*. [OECD Guidelines](#)

- EFSA. (2014). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance metribuzin. *EFSA Journal*, 12(10), 3817. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3817>
- Eker, F., Akdaşçi, E., Duman, H., Bechelany, M., & Karav, S. (2025). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts: A comprehensive review. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(13), 6222. <https://doi.org/10.3390/ijms26136222>
- Elansary, H. O., Szopa, A., Klimek-Szczykutowicz, M., Al-Mana, F. A., Mahmoud, E. A., & Zin El-Abedin, T. K. A. (2022). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds isolated from oregano (*Origanum vulgare*). *Molecules*, 27(3), 987. <https://doi.org/10.3390/molecules27030987>
- El-Borady, O. M., Hassan, A. M., & Elsharkawy, E. R. (2024). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using parsley extract and evaluation of their biological activities. *Scientific Reports*, 14, 11245. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-11245-3>
- El-Gendy, K. S., Aly, N. M., Mahmoud, F. H., Kenawy, A., & El-Sebae, A. H. (2010). The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food and Chemical Toxicology*, 48(1), 215–221. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.10.003>
- El-Nashar, H. A. S., Mostafa, N. M., Abd-Elmoniem, E. M., & Eldahshan, O. A. (2022). Phytochemical profile, antioxidant and protective effects of *Petroselinum crispum* against oxidative stress. *Plants*, 11(3), 301. <https://doi.org/10.3390/plants11030301>
- Eloff, J. N. (1998). Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *Journal of Ethnopharmacology*, 60(1), 1–8. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00123-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00123-2)
- El-Shafey, S., Alqahtani, A., & Khan, M. (2023). Plant-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Mechanisms and biomedical applications. *Nanomaterials*, 13(8), 1425. <https://doi.org/10.3390/nano13081425>
- EP0744124B1. (2025). *Traitement et compositions herbicides perfectionnés à base d'aminotriazole*. Office européen des brevets.
- Even, P. et al. (2002). *Tableau 1. Classification des principales familles chimiques de pesticides*. Université de Tlemcen, Algérie.
- Everette, J. D., Bryant, Q. M., Green, A. M., Abbey, Y. A., Wangila, G. W., & Walker, R. B. (2010). Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin–Ciocalteu reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8139–8144. <https://doi.org/10.1021/jf1005935>

Fairchild, J. F., & Sappington, L. C. (2002). Fate and effects of the triazinone herbicide metribuzin in experimental pond mesocosms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(2), 198–202.

FAO & WHO. (2016). *Pesticide residues in food: Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR)*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org>

FAO & WHO. (2022). *Classification of pesticide active ingredients: 2022*. FAO/WHO.

Farah, A. (2021). *Caractérisation chimique et évaluation des activités biologiques des Apiaceae* (Thèse de doctorat). Université de Rabat. <https://dspace.univ-rabat.ma/handle/123456/xxxx>

Farzaei, M. H., Abbasabadi, Z., Ardekani, M. R. S., Rahimi, R., & Farzaei, F. (2021). Parsley: A review of ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11(4), 293–308. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2020.07.008>

Forman, H. J., Zhang, H., & Rinna, A. (2021). Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*, 80, Article 100965. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2020.100965>

Futura Sciences. (2025). *Définition de triazine*. <https://www.futura-sciences.com/sciences/definitions/chimie-triazine-5177/>

Gammon, D. W., Aldous, C. N., Carr, W. C., Sanborn, J. R., & Pfeifer, K. F. (2005). A risk assessment of atrazine use in California: Human health and ecological aspects. *Pest Management Science*, 61(4), 331–355. <https://doi.org/10.1002/ps.1012>

Gao, Y., He, S., Li, J., Li, H., & Yao, L. (2023). Stability and storage behavior of green-synthesized silver nanoparticles: A review. *Nanomaterials*, 13(6), 1042. <https://doi.org/10.3390/nano13061042>

Gaschler, M. M., & Stockwell, B. R. (2017). Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482(3), 419–425. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.086>

Giri, S., Prasad, S. B., & Giri, A. (2002). Genotoxic effects of pesticides: A review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 512(2–3), 1–12. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(02\)00018-4](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(02)00018-4)

Glorieux, C., & Calderon, P. B. (2017). Catalase, a remarkable enzyme: Targeting the

oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. *Biological Chemistry*, 398(10), 1095–1108. <https://doi.org/10.1515/hsz-2017-0131>

Gulcin, İ., Uslu, H., & Huyut, Z. (2020). Antioxidant capacities of medicinal plants and evaluation methods including DPPH and FRAP assays. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>

Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (2021). Glutathione S-transferases: Updated mechanistic insights and emerging roles in detoxification of environmental contaminants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 702, Article 108–820. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108820>

Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Chapman & Hall.

Hess, F. D. (2000). Light-dependent herbicides: An overview. *Weed Science*, 48(2), 160–170. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2000\)048\[0160:LDHAO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2000)048[0160:LDHAO]2.0.CO;2)

Hussein, J., El-Naggar, M. E., Latif, Y. A., & Medhat, D. (2022). Green synthesis of metallic nanoparticles using medicinal plants: Characterization and biomedical applications. *Journal of Nanomaterials*, 2022, 1554321. <https://doi.org/10.1155/2022/1554321>

Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>

Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>

Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>

Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638–2650. <https://doi.org/10.1039/C1GC15386B>

Iravani, S., Varma, R. S., & Green Chemistry Group. (2020). Green synthesis, biomedical and biotechnological applications of carbon and metal nanoparticles. *Green Chemistry*, 22(3), 612–636. <https://doi.org/10.1039/C9GC03693H>

- Kalender, S., Uzun, F. G., Demir, F., Uzunhisarcikli, M., & Aslanturk, A. (2012). Metribuzin induced hepatotoxicity and protective effect of vitamins C and E in rats. *Environmental Toxicology*, 27(12), 1–8. <https://doi.org/10.1002/tox.20654>
- Khalifa, I., Zhu, W., Li, K. K., Li, C. M., & Li, J. (2022). Polyphenols, flavonoids, and tannins as natural antioxidants in medicinal plants: Mechanisms and biological activities. *Antioxidants*, 11(3), 456. <https://doi.org/10.3390/antiox11030456>
- Khalil, A., Tazeddinova, D., Aljoumaa, K., Kazhmukhanbetkyzy, Z. A., Orazov, A., & Toshev, A. D. (2021). Carotenoids, vitamin C and their interaction with antioxidant enzyme activity: A mechanistic insight. *Preventive Nutrition and Food Science*, 26(3), 277–288. <https://doi.org/10.3746/pnf.2021.26.3.277>
- Khalil, A., Tazeddinova, D., Aljoumaa, K., Kazhmukhanbetkyzy, Z. A., Orazov, A., & Toshev, A. D. (2021). Carotenoids, vitamin C and their interaction with antioxidant enzyme activity: A mechanistic insight. *Preventive Nutrition and Food Science*, 26(3), 277–288. <https://doi.org/10.3746/pnf.2021.26.3.277>
- Khan, A., Rahman, M., & Islam, M. S. (2021). Toxicological effects of metribuzin herbicide on oxidative stress biomarkers and organ histopathology in experimental animals. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 87, 103706. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103706>
- Khan, M. A., Ullah, R., & Nadhman, A. (2021). Experimental reproducibility and validation of antioxidant assays in medicinal plant analysis. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 2154–2163. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-00852-4>
- Khan, Z. U. H., Khan, A., Chen, Y., & Shah, N. S. (2023). FTIR-assisted surface characterization of biosynthesized metallic nanoparticles and their biomedical applications. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 285, 121879. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121879>
- Kiram, A., & Abderrahim, K. (2023). Caractérisation structurale et biochimique des nanomatériaux biogéniques. *Journal de Toxicologie et Phytothérapie*, 12(1), 34-47.
- Kumar, P., Singh, S., & Pandey, A. K. (2021). Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles: Characterization and purification strategies. *Materials Today Chemistry*, 19, 100411. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2020.100411>
- Kumar, V., Yadav, S. K., & Yadav, S. C. (2022). Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their optical characterization by UV-visible spectroscopy. *Materials Today: Proceedings*, 62, 4562–4567. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.03.412>

- Lahouel, A., Kebieche, M., Lakroun, Z., Houiguet, H., & Soulimani, R. (2022). Oxidative status and catalase gene expression pattern in rat liver exposed to a pyrethroid insecticide mixture: Protective effect of quercetin. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 181, 104–115. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.105028>
- Landis, W. G., & Muñoz-Carpena, R. (2012). Treatment of statistical uncertainty in ecological risk assessment. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 8(2), 363–368. <https://doi.org/10.1002/ieam.1278>
- Lawrence, T. (2009). The nuclear factor NF-κB pathway in inflammation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1(6), a001651. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001651>
- Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. (2017). Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. *Molecules*, 22(6), 989. <https://doi.org/10.3390/molecules22060989>
- Li, X., Wang, T., & Zhou, B. (2021). Mechanisms of antioxidant activity of flavonoids and tannins: Structure–activity relationship and biological implications. *Antioxidants*, 10(12), 1935. <https://doi.org/10.3390/antiox10121935>
- Ilahi, M., Jalali, N., Sabzevari, O., Hasani-Ranjbar, S., & Nikfar, S. (2022). A review of the mechanistic links between pesticide exposure and disruption of the antioxidant enzyme system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 89, 103–114. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.103114>
- Lu, S. C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*, 1830(5), 3143–3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>
- Lushchak, V. I. (2021). Oxidative stress and its mechanisms in various biological systems. In M. A. Babizhayev (Ed.), *Free radical biomedicine* (pp. 1–42). Nova Science Publishers.
- Mahmoudi, R., Dehghan-Nayeri, N., & Haghi, M. (2022). Natural clay as an adsorbent of pesticide residues and its effect on antioxidant enzyme activities in laboratory animals. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194, 58–70. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09729-0>
- Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliany, M. E., & Kalinina, N. O. (2020). Green nanotechnologies: Synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae*, 12(1), 35–44. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.10926>
- MDPI. (2026). Ecotoxicological effects of the herbicide metribuzin on *Tenebrio molitor* hemocytes. *Environments*, 12(1), 30.

- Mgal, D., Abdelbasset, H., Chakib, A., Bammou, M., Sellam, K., & Bouhlali, E. D. T. (2020). Bioactive compounds and antioxidant, antiperoxidative, and antihemolytic properties investigation of three Apiaceae species grown in the Southeast of Morocco. *Scientifica*, 2020, 3971041. <https://doi.org/10.1155/2020/3971041>
- Mouhoubi-Tafnine, Z., Bendif, H., & Benabdallah, A. (2024). Phytochemical profile, phenolic composition, and antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) extracts from Algeria. *Journal of Herbal Medicine*, 42, 100734. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2024.100734>
- Moustafa, G. G., Alsoghair, M. A., Ahmed, A. A., & Ibrahim, Z. S. (2021). Biochemical alterations associated with sub-chronic organophosphate exposure: Antioxidant enzyme response and tissue damage evaluation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211, 111937. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111937>
- Mustapha, T., Misni, N., Ithnin, N. R., & Rokhum, S. L. (2022). A review on plant-mediated synthesis of silver nanoparticles and their applications. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(2), 674. <https://doi.org/10.3390/ijerph19020674>
- Naseer, M., Aslam, U., Khalid, B., & Chen, B. (2021). Green route to synthesize silver nanoparticles using leaf extracts and evaluation of biological activities. *Applied Nanoscience*, 11, 1737–1747. <https://doi.org/10.1007/s13204-021-01863-z>
- National Research Council. (2011). *Guide for the care and use of laboratory animals* (8th ed.). National Academies Press
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006. <https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>
- Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE). (2018). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques — Section 4 : Effets sur les organismes vivants. OCDE Éditions. <https://doi.org/10.1787/9789264264649-fr>
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44(6), 307–315. <https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>
- Pękal, A., & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776–1782. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>
- Percie du Sert, N., Hurst, V., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M. T., Baker, M., Browne, W. J., Clark, A., Cuthill, I. C., Dirnagl, U., Emerson, M., Garner, P., Holgate, S. T., Howells, D. W., Karp, N. A., Lazic, S. E., Lidster, K., MacCallum, C. J., Macleod, M., ... Würbel, H.

- (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biology*, 18(7), e3000410. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>
- Raffi, M., Hussain, F., Bhatti, T. M., Akhter, J. I., Hameed, A., & Hasan, M. M. (2008). Antibacterial characterization of silver nanoparticles against *Escherichia coli*. *Annals of Microbiology*, 58(4), 581–584. <https://doi.org/10.1007/BF03175506>
- Rajak, K. K., Pahilani, P., Patel, H., Desai, R., & Kikani, B. (2023). Green synthesis of silver nanoparticles using Curcuma longa extract and antibacterial activity. *ArXiv Preprint*. <https://arxiv.org/abs/2304.04777>
- Rezaie, M., Farhoosh, R., & Sharif, A. (2015). Clarification and purification techniques in plant extract preparation for phytochemical analysis. *Journal of Food Science and Technology*, 52(6), 3685–3692. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1420-5>
- Roy, A., Bulut, O., Some, S., Mandal, A. K., & Yilmaz, M. D. (2023). Green synthesis of silver nanoparticles: Biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. *RSC Advances*, 13(8), 5284–5312. <https://doi.org/10.1039/D2RA07621C>
- Salar, R. K., Purewal, S. S., Sandhu, K. S., & Kaur, A. (2021). Optimization of Folin–Ciocalteu assay for total phenolic content determination in plant extracts. *Food Chemistry*, 344, 128670. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128670>
- Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Hernández-Carlos, B., & Villanueva-Cañongo, C. (2021). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism in medicinal plants. *Antioxidants*, 10(10), 1535. <https://doi.org/10.3390/antiox10101535>
- Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*, 24(10), R453–R462. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034>
- Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1–2), 21–40. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00228-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00228-0)
- Shankar, S. S., Rai, A., Ahmad, A., & Sastry, M. (2004). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(2), 496–502. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.03.003>
- Sharma, D., Kanchi, S., & Bisetty, K. (2021). Biogenic synthesis of nanoparticles: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(1), 102905. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.102905>

- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT – Food Science and Technology*, 150, 111932. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>
- Singh, J., Dutta, T., Kim, K. H., Rawat, M., Samddar, P., & Kumar, P. (2022). Green synthesis of metals and their oxide nanoparticles: Applications and toxicity. *Journal of Nanobiotechnology*, 20, 1–25. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01387-7>
- Sullivan, G. M., & Feinn, R. (2012). Using effect size — or why the p value is not enough. *Journal of Graduate Medical Education*, 4(3), 279–282. <https://doi.org/10.4300/JGME-D-12-00156.1>
- Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2022). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 27(4), 1184. <https://doi.org/10.3390/molecules27041184>
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4267–4274. <https://doi.org/10.1021/jf980366j>
- Suvarna, K. S., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2018). *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (8th ed.). [Elsevier](https://www.elsevier.com)
- Telili, M., Benammar, C., & Djaziri, R. (2022). Correlation between phenolic composition and antioxidant activities of medicinal plant extracts. *Natural Product Research*, 36(18), 4712–4720. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1975620>
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. *International Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98–106.
- Tlili, M. (2022). *Étude comparative des propriétés physico-chimiques des nanoparticules d'argent synthétisées par voie biologique* [Mémoire de Master, Université d'El Oued].
- Tlili, M., et al. (2021). Green synthesis and characterization of metallic nanoparticles using medicinal plant extracts and evaluation of their antioxidant activities. *Algerian Journal of Biosciences*, 5(2), 44–58.
- Tomlin, C. D. S. (2012). *The pesticide manual* (16th ed.). British Crop Production Council.
- Traverso, N., Ricciarelli, R., Nitti, M., Marengo, B., Furfaro, A. L., Pronzato, M. A., Marinari, U. M., & Domenicotti, C. (2022). Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, Article 5478147. <https://doi.org/10.1155/2022/5478147>
- Tsikak, D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde

(MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry*, 524, 13–30.

Turner, P. V., Brabb, T., Pekow, C., & Vasbinder, M. A. (2011). Administration of substances to laboratory animals: Routes of administration and factors to consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 50(5), 600–613.

US Environmental Protection Agency (US EPA). (2005). *Reregistration eligibility decision (RED) for metribuzin*. U.S. EPA. <https://www.epa.gov>

Vanlalveni, C., Lallianrawna, S., Biswas, A., & Rokhum, S. L. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities. *RSC Advances*, 11(5), 2804–2837. <https://doi.org/10.1039/D0RA09941D>

Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300–312. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>

Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3), 940–949. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038>

World Health Organization (WHO). (2010). *The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2009*. WHO Press. <https://apps.who.int>

Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J., & Li, H. B. (2021). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment, and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4781. <https://doi.org/10.3390/ijms22094781>

Yıkıms, S., Demirok, N. T., Altan, A. D., Pacal, I., Türköl, M., Tokatlı, N., Pacal, N., Abdi, G., & Aadil, R. M. (2025). ThermoMicrowave-sonication improves the stability and digestive bioaccessibility of phenolic compounds in parsley juice. *Food Chemistry X*, 28, 102120. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102120>

Zaid, H., & Abderrahim, K. (2025). *Nanotechnologies et pharmacie vétérinaire : Vers un écosystème numérique à El Oued*. Éditions Scientifiques Algériennes.

Zhang, Q., Lin, L., & Ye, W. (2022). Light sensitivity and stability of phenolic compounds in analytical assays. *Analytica Chimica Acta*, 1209, 339833. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339833>

Zhang, Y., Chen, J., & Wang, H. (2023). Comparative antioxidant efficiency of plant-derived phenolic compounds and vitamin C. *Food Bioscience*, 53, 102567.

<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102567>



ANNEXE



بمقراتية الشعية

وزارة التعلل العالل والبء العلل

جامعة الشهلء ءمه لءضر بالوااء

مركز تطوير المءاوالاءة لجامعة الوااء



الكللة/ المعهل: كللة علوم الطبلعة والءلة

القسم: البلولللا اللولة والءزلئة

المسؤول والءلصص: 2 ماسلر علم السموم

الاسم اللارلل للمؤسسة

ParsioProtect

الللة الوطنلة الل

QUE

مقءمة فف اطار الءصول على شلاءة مؤسسة اقلاءاءة (مصغرة) فف اطار القرار الوزارل 1275
المعءل و المالم بالقرار الوزارل 008 المؤرخ فف 23 فلفرف 2025

الاسم اللارلل للمؤسسة



شعار الملاء



الفهرس

أولاً: فريق العمل والإشراف

1- فريق العمل

2- فريق الإشراف

ثانياً: تعريف المشروع

1. تحديد النشاط

2. قطاع النشاط

3. رمز النشاط

ثالثاً: وصف فكرة المشروع

1. ما هي منتجاتي / خدماتي

2. من سيشتري منتجاتي / خدماتي

3. أين سيقام مشروعك وكيف ستصل منتجاتي/خدماتي للزبائن

4. كيف سيتشغل مشروعك

5. مبررات اختيار فكرة مشروعك

رابعاً: دراسة السوق

1. طبيعة وحجم المنافسة: من هم المنافسون المباشرون وغير المباشرين؟

2. حجم السوق المستهدف والمحتمل

3. تحليل SWOT: نقاط القوة والضعف والفرص والتهديدات لمشروعك

4. نموذج العمل التجاري BMC لمشروعك

خامساً: الدراسة التقنية

1. احتياجات المشروع من الموارد البشرية: (ما هي الاحتياجات من الموظفين؟)

2. موقع إقامة مشروعك ومبررات اختياره: أين سيكون موقع مشروعك؟

سادساً: تقدير تكاليف وإيرادات مشروعك

1 - تقدير تكاليف مشروعك

1.1 تقدير المبلغ الإجمالي للاستثمار في مشروعك

2.1 تقدير مشتريات مشروعك من المواد الأولية في مشروعك

3.1 تقدير تكاليف اليد العاملة في مشروعك

4.1 تقدير التكاليف المشتركة لمشروعك

5.1 تقدير تكاليف اهتلاك الاستثمارات لمشروعك

2- تقدير إيرادات مشروع

1.2 تقدير حجم المبيعات السنوية لمشروع

2.2 حساب النتيجة السنوية لمشروع

أولاً: فريق العمل والإشراف

1-فريق العمل

فريق المشروع	التخصص	الكلية/ المعهد	الخبرة/ الكفاءة في مجال المشروع
الطالب: تريعه منار	علم السموم	كلية علوم الطبيعة و الحياة	البحث العلمي, التحاليل المخبرية, تحليل النتائج, و اعداد التقارير العلمية
الطالب: ساعي ماريا	علم السموم	كلية علوم الطبيعة و الحياة	البحث العلمي, التحاليل المخبرية, تحليل النتائج, و اعداد التقارير العلمية
الطالب: مأمون تسنيم	علم السموم	كلية علوم الطبيعة و الحياة	البحث العلمي, التحاليل المخبرية, تحليل النتائج, و اعداد التقارير العلمية
الطالب: رجال منار	علم السموم	كلية علوم الطبيعة و الحياة	البحث العلمي, التحاليل المخبرية, تحليل النتائج, و اعداد التقارير العلمية
الطالب:سعد العايب تقوى	علم السموم	كلية علوم الطبيعة و الحياة	البحث العلمي, التحاليل المخبرية, تحليل النتائج, و اعداد التقارير العلمية
الطالب:			

2-فريق الإشراف

المشرف	التخصص	الكلية
المشرف الرئيسي: تليلي محمد العيد	بيوكيمياء تطبيقية	كلية علوم الطبيعة و الحياة

.....عنوان المشروع

/	/	/	المشرف المساعد:
---	---	---	-----------------

ثانياً: تعريف المشروع: يكون النشاط وفقاً للمدونات التي تحدد قائمة الأنشطة لكل هيئة تسجيل (المركز الوطني للسجل التجاري، الفلاحة، الصناعة التقليدية والحرف)؛

تحديد النشاط	قطاع النشاط	رمز النشاط (وفق مدونة الأنشطة للمركز الوطني للسجل التجاري cnrc)
صناعة المكملات الغذائية	إنتاج السلع	104224

❖ في حالة نشاط مقنن، أو نشاط يحتاج إلى اعتمادات أو تراخيص خاصة، يجب ذكرها وذكر الجهة المانحة لها

.....
.....

ثالثاً: وصف فكرة المشروع:

ينبغي أن يكون صاحب / أصحاب المشروع على دراية بكل تفاصيل المشروع وقادرين على تقديم وصف ملخص ودقيق عنه ، من خلال الإجابة بدقة على العناصر التالية :

ما هي منتجاتي أو خدماتي: (حدد بدقة منتجاتك. خدماتك):
-يتمثل مشروع ParsioProtect في إنتاج وتسويق مكمل غذائي طبيعي على شكل كبسولات يحتوي على مستخلص البقدونس، الغني بالمركبات الفينولية و المضادة للأكسدة ودوره في دعم وظائف الكلى والمساعدة على التقليل من التأثيرات السلبية لبعض المبيدات الزراعية مثل مبيد الميتريبوزين.
-يهدف المنتج إلى المساهمة في الوقاية الصحية وتحسين جودة الحياة بطريقة طبيعية وآمنة.

من سيشتري منتجاتي/ خدماتي (حدد زبائنك بدقة):
-مرضى الكلى الذين يحتاجون إلى دعم طبيعي لوظائف الكلى.
-الفلاحون المعرضون بشكل مستمر لمبيد الميتريبوزين والمبيدات الزراعية.
-الأشخاص المهتمون بالوقاية الصحية والمحافظة على صحة الجهاز البولي والكلى.
-الصيديات ومحلات المنتجات الطبيعية.

أين سيقام مشروعك وكيف تصل منتجاتي / خدماتي للزبائن: (بين مكان إقامة مشروعك و طرق التواصل مع زبائنك)
سيقع المشروع بولاية الوادي نظراً لتوفر النشاط الفلاحي وكثرة الفلاحين المعرضين للمبيدات الزراعية، إضافة إلى توفر المواد الأولية النباتية.

سيتم تسويق المنتج عبر:

-الصيديات.

-محلات الأعشاب والمنتجات الطبيعية.

-وسائل التواصل الاجتماعي.

-البيع الإلكتروني وخدمة التوصيل.

-المشاركة في المعارض المحلية الخاصة بالصحة والتغذية.

-البيع المباشر داخل الولاية وخارجها.

كيف سيشغل مشروع (من سيقوم بتشغيل المشروع ومن سيساهم في ذلك):

سيعتمد المشروع على فريق مكون من خمسة أعضاء يتقاسمون مهام الإدارة، الإنتاج، التسويق، التغليف، والمتابعة التقنية.

يتم تحضير الكبسولات وفق خطوات علمية تشمل:

-جمع وتجفيف البقدونس.

-طحنه واستخلاص المركبات الفعالة.

-تعبئة الكبسولات وتغليفها.

-تسويق المنتج ومتابعة الزبائن.

اللجنة الوطنية التنسيقية لهتابة

البحار وريادة الأعمال الجامعية

NCCFIUE

مبررات اختيار فكرة المشروع:

تم اختيار هذه الفكرة بسبب:

-ارتفاع الاهتمام بالمكملات الغذائية الطبيعية.

-الحاجة إلى منتجات وقائية ضد التأثيرات السلبية للمبيدات الزراعية.

-النتائج العلمية التي أظهرت الخصائص المضادة للأكسدة للبقدونس ودوره الوقائي للكل.

-قلة المنتجات المحلية الطبيعية المتخصصة في دعم وظائف الكل.

-إمكانية تحويل البحث العلمي إلى مشروع اقتصادي مبتكر.

رابعا: دراسة السوق

1. طبيعة وشدة المنافسة: من هم المنافسون المباشرون وغير المباشرون؟

شدة المنافسة			طبيعة المنافسة		المنافسون
ضعيفة	متوسطة	قوية	غير مباشرة	مباشرة	
	X			X	SARL Thera santé
		X		X	SCI Pharma
		X		X	Nutriva

أذكر استراتيجيات مؤسستك في التعامل مع منافسيها:

- تقديم منتج طبيعي محلي عالي الجودة.
- اعتماد سعر مناسب مقارنة بالمنتجات المستوردة.
- التركيز على الجانب الوقائي والصحي.
- التركيز على التسويق الرقمي.
- إبراز القيمة الصحية والغذائية للمنتج.
- 2. **حجم السوق المستهدف والمحتمل:**
- **حجم السوق المستهدف:** يمثل مجموعة الافراد أو المؤسسات والتي تقدم لها أو تعرض عليها - منتجاتك/خدماتك. (يطلب تحديد الشريحة المستهدفة، تعدادها، مكان تواجدها،).
- يتمثل السوق المستهدف في مرضى الكلى، الفلاحين المعرضين لمبيد الميثرينوزين، والأشخاص المهتمين بالوقاية الصحية واستعمال المكملات الغذائية الطبيعية.
- تتواجد هذه الفئة خاصة في ولاية الوادي والمناطق الفلاحية، ويزداد الطلب على هذا النوع من المنتجات بسبب التوعية الصحية والبحث عن حلول طبيعية لدعم وظائف الكلى.
- **حجم السوق المحتمل:** السوق المحتمل هو مجموعة الافراد أو المؤسسات التي تطلب أو يحتمل ان تطلب منتجاتك أو خدماتك لإشباع حاجاتهم ورغباتهم. (من يشتري منتجاتنا/خدماتنا؟ من وما الذي يحفزهم على ذلك؟ أين يتواجدون؟ كم أعدادهم؟).
- يشمل السوق المحتمل لمشروع ParsioProtect مرضى الكلى، الفلاحين المعرضين للمبيدات الزراعية، والأشخاص المهتمين بالوقاية الصحية والمكملات الطبيعية.
- يحفزهم على الشراء الرغبة في حماية الكلى واستعمال منتج طبيعي آمن وسهل الاستخدام.
- يتواجد الزبائن في ولاية الوادي ومختلف الولايات الفلاحية في الجزائر، ويعتبر عددهم متزايداً بسبب ارتفاع الوعي الصحي وكثرة استعمال المبيدات الزراعية.

3. **تحليل SWOT:** نقاط القوة والضعف والفرص والتهديدات لمشروع:

- **نقاط القوة:** كل العناصر (داخل المؤسسة) التي تشكل مصدر قوة لمشروع (قد تكون: مهارات خاصة، موارد بشرية،

- نقاط الضعف: كل العناصر (داخل المؤسسة) التي تشكل نقطة ضعف أو تقف عائقا امام مشروعى حاليا أو مستقبليا
- الفرص: كل العناصر الخارجية التي لها أثر إيجابي على تنفيذ مشروعى أو تطوره فى المستقبل
- التهديدات: كل العناصر الخارجية التي لها أثر سلبى على تنفيذ مشروعى أو تطوره فى المستقبل

جدول تحليل SWOT

عوامل تعطل تحقيق الأهداف	عوامل تساعد فى تحقيق الأهداف	SWOT
نقاط الضعف Weaknesses 1 مشروع جديد يحتاج إلى التعريف بالعلامة التجارية 2 الحاجة إلى تراخيص صحية 3 المنافسة مع المنتجات المستوردة	نقاط القوة Strengths 1 منتج طبيعى 2 تزايد الوعي الصحى لدى المستهلك 3 تكلفة إنتاج منخفضة	عوامل داخلية
التهديدات Threats 1 تغير القوانين المتعلقة بالمكملات الغذائية 2 ارتفاع أسعار المواد الأولية 3 المنافسة القوية فى السوق	الفرص Opportunities 1 ارتفاع الطلب على المنتجات الطبيعية 2 إمكانية التوسع نحو منتجات عشبية أخرى 3 دعم المؤسسات المصغرة	عوامل خارجية

NCCFIUE

3. نموذج العمل التجاري BMC لمشروع:

الشركاء الرئيسيون	الأنشطة الرئيسية استخراج وتحضير مسحوق البقدونس، تعبئة الكبسولات، التغليف، التسويق	القيمة المقترحة منتج طبيعي داعم لصحة الكلى مصنوع من مكونات نباتية محلية و يقلل من أضرار مبيد الميتريبيوزين	العلاقة مع العملاء التواصل المباشر، التوعية الصحية، صفحات التواصل الاجتماعي	العملاء مرضى الكلى، الفلاحون المعرضون للمبيدات، الأشخاص المهتمون بالوقاية الصحية
	الموارد الرئيسية المادة الأولية (البقدونس)، أجهزة الطحن و التغليف، فريق العمل، المعرفة العلمية	قنوات توزيع الصيدليات، الإنترنت، مواقع التواصل الاجتماعي، محلات المنتجات الطبيعية		
التكاليف		الإيرادات		
شراء البقدونس، تصنيع الكبسولات، التغليف، النقل، التسويق		بيع الكبسولات وتحقيق أرباح من التوزيع والتسويق		

خامساً: الدراسة التقنية

1. احتياجات المشروع من الموارد البشرية: حدد بدقة احتياجات مشروعك من الموارد البشرية

الكفاءات / الشهادات	العدد	طبيعة المستخدمين
متحصل على شهادة في البيولوجيا تخصص علم السموم، مع تكوين في تسيير ومتابعة المشاريع.	1	المسير
متحصل على شهادة في البيولوجيا تخصص علم السموم، مع تكوين في التحليل البيولوجية ومراقبة الجودة.	2	الإطارات (مهندسين، رؤساء المصالح، المكلفين بالتسويق، رؤساء الورشات... إلخ).
متحصل على شهادة في البيولوجيا تخصص علم السموم، مع تكوين في مراقبة المخزون والمتابعة التقنية.	1	عمال التحكم (المكلفين بالمخزن، السكريتاريا... إلخ).
متحصل على شهادة في البيولوجيا تخصص علم السموم، مع تكوين مهني في المتابعة الميدانية والتنظيم.	1	عمال التنفيذ (السائق، الحارس، عامل النظافة... إلخ).

2. اختيار موقع إقامة المشروع: أين سيكون موقع المشروع ومبررات اختياره؟ (قدم المبررات اللازمة لاختيار موقع المشروع)

- سيقام المشروع بولاية الوادي نظراً لانتشار النشاط الفلاحي وكثرة استعمال المبيدات الزراعية، مما يزيد الحاجة إلى المنتجات الوقائية الطبيعية. كما تتميز الولاية بتوفر النباتات الطبيعية وسهولة الوصول إلى الفئة المستهدفة من الفلاحين والمرضى، إضافة إلى انخفاض تكاليف النشاط مقارنة ببعض الولايات الأخرى.

سادسا: تقدير تكاليف إيرادات المشروع

1- تقدير تكاليف المشروع

1.1 تقدير المبلغ الإجمالي للاستثمار: (تكلفة المشروع)

المبلغ (دج)	البيان
169.000.00 DA	آلات ومعدات الإنتاج
/	تهيئة المحل
/	الأصول البيولوجية (الحيوانات- الأشجار...)
50.000.00 DA	العتاد المتنقل
50.000.00 DA	العتاد المكتبي
100.000.00 DA	عتاد الإعلام الآلي
/	عتاد السمعي البصري
130.000.00 DA	عتاد الاتصالات
10.000.00 DA	تركيب التجهيزات
300.000.00 DA	المصاريف العامة المتعلقة بالإنشاء
234.250.00 DA	رأس المال العامل (المادة الأولية)
656.250.00 DA	المبلغ الإجمالي للاستثمار (تكلفة المشروع)

2.1 تقدير مشتريات المشروع من المواد الأولية

السنة 3	السنة 2	السنة 1	قائمة المواد الأولية	
980 Kg	880 Kg	780 Kg	الكمية المشتريات	المادة الأولية 1: البقدونس
25 DA	25 DA	25 DA	سعر الوحدة	
70.000.00 DA	70.000.00 DA	70.000.00 DA	تكلفة شراء المادة الأولية 1	
309,5 g	209,5 g	109,5 g	الكمية المشتريات	المادة الأولية 2: نانو الفضة المحضرة من مستخلص البقدونس
1.500.00 DA	1.500.00DA	1.500.00DA	سعر الوحدة	
198.742.50	180.675.00	164.250.00	مبلغ المادة الأولية 2	
20000	15000	10000	الكمية المشتريات	المادة الأولية 3: اغلفة الكبسولات
5 DA	5 DA	5 DA	سعر الوحدة	
1.000.00 DA	750.00 DA	500.00 DA	تكلفة شراء المادة الأولية	

269.742.50	251.425.00	234.750.00	إجمالي مبالغ المشتريات من المواد الأولية
DA	DA	DA	

3.1 – تقدير تكاليف اليد العاملة

قيمة الاجر			عدد العمال			تسمية المنصب
السنة 3	السنة 2	السنة 1	السنة 3	السنة 2	السنة 1	
70.000.00 DA	70.000.00 DA	60.000.00 DA	1	1	1	المسير / أو الميسرون
120.000.00 DA	120.000.00 DA	80.000.00 DA	6	4	2	الإطارات (مهندسين، رؤساء المصالح، المكلفين بالتسويق، رؤساء الورشات... إلخ).
50.000.00 DA	50.000.00 DA	40.000.00 DA	2	2	1	عمال التحكم (المكلفين بالمخزن، السكرتاريا... إلخ).
50.000.00 DA	50.000.00 DA	30.000.00 DA	3	3	1	عمال التنفيذ (السائق، الحارس، عامل النظافة... إلخ).

- ينبغي ان لا يقل الاجر الشهري الصافي عن الحد الأدنى المضمون

4.1 تقدير التكاليف الخارجية للمشروع

السنة 03	السنة 02	السنة 01	البيان
400.000.00 DA	300.000.00 DA	200.000.00 DA	مصاريف الكهرباء/الغاز/الماء
60.000.00 DA	50.000.00 DA	40.000.00 DA	تكاليف الصيانة و التوصيل
/	/	/	تكاليف الايجار
60.000.00 DA	50.000.00 DA	40.000.00 DA	مصاريف تأمين العتاد و المعدات
/	10.000.00 DA	20.000.00 DA	مصاريف التسويق (الدعاية والإشهار)
/	/	/	تكاليف التكوين والتدريب
282.500.00 DA	232.500.00 DA	182.500.00 DA	مصاريف عامة (أعباء خارجية) أخرى
694.500.00 DA	333.500.00 DA	482.500.00 DA	المجموع

5.1 تقدير تكاليف اهتلاك الاستثمارات

البيان	مدة الاهتلاك (بالسنوات)	قسط الاهتلاك السنوي (دج)
آلات ومعدات الإنتاج	5 سنوات	42.600.00 DA
العتاد المتنقل	5 سنوات	10.000.00 DA
العتاد المكتبي	10 سنوات	5.000.00 DA
عتاد الإعلام الآلي	10 سنوات	10.000.00 DA

/	10 سنوات	عتاد السمعي البصري
1.300.00 DA	10 سنوات	عتاد الاتصالات
/	25 سنة	العقار
68.900.00 DA	المبلغ الإجمالي	

- يطبق الاهتلاك الخطي (تحدد مدة الاهتلاك وفقا لقرار وزارة المالية المؤرخ في 14 أبريل 2025 المعدل والمتمم للقرار الصادر بتاريخ 25 فيفري 2024 الذي يحدد مدة اهتلاك التثبيات المطبقة لتحديد النتيجة الجبائية – الجريدة الرسمية عدد 29 لسنة 2025)

3-تقدير إيرادات المشروع

1.3 تقدير حجم المبيعات السنوية

البيان	السنة 1	السنة 2	السنة 3
المنتج / الخدمة 1: مكمل غذائي من نانو الفضة من مستخلص البقدونس	الكمية المباعة	4650	5650
	سعر الوحدة	500.00 DA	500.00 DA
	قيمة مبيعات المنتج 1	2.325.000.00 DA	2.825.000.00 DA
المنتج / الخدمة 2: /	الكمية المباعة	/	/
	سعر الوحدة	/	/
	قيمة مبيعات المنتج 2	/	/
المنتج / الخدمة 3: /	الكمية المباعة	/	/
	سعر الوحدة	/	/
	قيمة مبيعات المنتج 3	/	/
إجمالي المبيعات	1.825.000.00	2.325.000.00 DA	2.825.000.00 DA

3.2 حساب النتيجة السنوية

البيان	السنة 01	السنة 02	السنة 03
رقم الأعمال (المبيعات) ... (1)	1.825.000.00 DA	1.916.250.00 DA	2.012.062.50 DA
المشتريات المستهلكة ... (2)	234.250.00 DA	245.962.50 DA	258.260.62,5 DA
الأعباء الخارجية ... (3)	482.500.00 DA	5.066.250.00 DA	5.319.562.50 DA
القيمة المضافة ... (4)=(1)-(2)-(3)	1.108.250.00 DA	1.163.662.50 DA	1.221.845.62,5 DA
الأجور و الأعباء الاجتماعية ... (5)	210.000.00 DA	220.500.00 DA	231.525.00 DA
إجمالي فائض الاستغلال ... (6) = (4)-(5)	898.250.00 DA	943.162.50 DA	990.320.62,5 DA

75.962.25 DA	72.345.00 DA	68.900.00 DA	الإهتلاكات و المؤونات....(7)
914.358.37,5 DA	870.817.50 DA	829.350.00 DA	نتاج الاستغلال..... (8) = (6) – (7)
/	/	/	الضرائب على الشركات IFU.... (9)
914.358.37,5 DA	870.817.50 DA	829.350.00 DA	صافي الدخل (8) - (9) = (10)
5%	5%	5%	تطور رقم الأعمال

خاتمة:

القيمة المضافة المتوقعة للمشروع على الاقتصاد المحلي والوطني:

-تثمين الموارد النباتية المحلية.

-دعم الصناعات الصيدلانية والبيولوجية.

-خلق فرص عمل.

-تقليل الاعتماد على المنتجات المستوردة مما يساهم في تنمية الاقتصاد المحلي والوطني.