

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Ghardaïa



Faculté des Sciences et de la Technologies  
Département de Génie des procédés  
Mémoire représenté en vue de l'obtention du diplôme de

N° d'ordre  
N° de série

## MASTER

**Domaine:** *Sciences et Technologies*

**Filière:** *Génie des procédés*

**Spécialité:** *Génie chimique*

**Par:**

BEDJADJ Naimi

HOUARI Mohamed

## Thème

**ETUDE PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS DES  
CAPSULES DES GOSSYPIUM ARBOREUM ET  
LEUR ACTIVITÉS BIOLOGIQUES**

**Soutenu publiquement le 27/06/2019**

**Devant le jury :**

Hellali naima	Univ.Ghardaïa	Président
Adamou youcef	Univ.Ghardaïa	Examineur
Laghoutar Oum kelthoum	Univ.Ghardaïa	Examineur
Baba Arbi Ilias	Univ.Ghardaïa	Encadreur

**Année universitaire 2018/2019**



# DEDICACE

Je dédie ce travail à mes chers parents qui ont  
Contribué dans une large mesure à l'éducation et,  
pour tout mes frères et mes sœurs.

Je dédie également à tous les membres de ma famille;

Pour l'aider tout au long de mes études

Je dédie ce travail à tout mes amis

## **REMERCIEMENT**

*En préambule a ce mémoire , nous remercions*

*ALLAH qui nous aide et nous donne la patience et*

*Le courage durant nos années d'étude.*

*Tout le respect et les mots de remerciement à notre encadreur*

**BABA ARBI ILIAS**

*Nous remercions les membrues de jurys et les étudiants*

*De département de science et technologie*

*De université de Ghardaia .*

*Nous remercions les amis TAYEB, REDA*

*SOFIAN et SMAIL et tout les étudiants*

*Nous remercions tout les responsables des laboratoire*

*Nous remercions également tous personne*

*ayant contribué de prés ou de loin a la réalisation de ce travail.*

عُرف نبات القطن باستعمالاته المحدودة في الطب ، لكونه غير مستوطن في المنطقة، ، حيث تركز الاهتمام به على خيوطه والتخلي عن بقية أجزائه، ارتأينا أن نقوم بتثمين احد هذه الأجزاء المهمة بالدراسة الفيتوكيميائية و البيولوجية والمتمثل في اللوزيات الفحص الفيتوكيميائي بالاختبارات الأولية بين وجود العفصيات والقلويدات والفلافونويدات والصابونويدات السترويدات والتربينات، وعلى هذه النتائج قمنا باستخلاص هذه المركبات بواسطة اثر البترولي و الاسيتات و الكلوروفورم و البيتانول بعد عملية النقع بمزيج ميثانول /ماء قمنا باستخلاص المواد الفعالة بواسطة اثر البترولي اسيتات الإثيل و الكلوروفورم و البيتانول هذه المستخلصات الاربعة كانت محل الدراسة بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة والورقية،

الدراسة البيولوجية المضادة للبكتيريا للمستخلصات المحصل عليها اظهرت فعالية ضد البكتيريا بستثناء المستخلص الايثيري

**الكلمات المفتاحية :** اللوزيات ، مضاد للبكتيريا ، كروماتوغرافيا ، الفيتوكيميائي ، المستخلص الايثيري

## Résumé

Le coton était connu pour ses utilisations limitées en médecine, car il n'était pas endémique dans la région, il se concentrait sur ses fils et abandonnait le reste de ses parties. Nous avons pensé que nous devons évaluer l'une de ces parties négligées( capsule ) après les test photochimique présence de tanine, d'alcaloïdes, de flavonoïdes, , stéroïdes et de terpens. Ces résultats ont été extraits par l'effet du pétrole, de l'acétate, du chloroforme et n-butanol

Après la macération avec un mélange de méthanol et d'eau, nous avons extrait les substances actives par l'acétate d'éthyle, le chloroforme et le n-butanol, qui ont été étudiés par chromatographie sur papier mince et sur papier .après études biologiques antibactériennes les extraits ont démontré leur efficacité contre les bactéries en sauf l'extrait d'éther

mots cles : capsule ; antibactériennes ; chromatographie ; photochimique; l'extrait d'éther

## Abstract

Cotton was known for its limited use in medicine because it was not endemic in the region, it focused on its sons and abandoned the rest of its parts we thought we should evaluate one of these neglected parts (capsule)

After phytochemical test presence of tanine, alkaloids, flavonoids, steroids and turpines these results were extracted by the effect of petroleum, acetate, chloroform and n-butanol After the maceration with a mixture of methanol and water, we extracted the active substances with ethyl acetate, chloroform and n-betanol, which were studied by chromatography.after antibacterial biological studies the extracts have been shown to be effective against bacteria in the form of petroleum ether extract

Keys word: capsult ; antibacteriel ; chromatography ; phytochemical ; ether extract

## Liste des abréviations :

- **CCM** : Chromatographie sur couche mince
- **EP** : éther de pétrole
- **NH<sub>4</sub>OH**: Ammoniaque
- **UV**: Ultraviolet
- **FeCl<sub>3</sub>**: Chlorure ferrique
- **Fl-OH**: Flavonoids..

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Représente la plante étudiée.....	03
<b>Figure02</b> : Structure de base des flavonoïdes .....	05
<b>Figure03</b> : Les coumarines.....	07
<b>Figure 04</b> : Isoprène.....	07
<b>Figure 05</b> : Structure des stéroïdes.....	08
<b>Figure 06</b> : Structure générale des anthocyanes.....	09
<b>Figure 07</b> : Photo des capsules.....	11
<b>Figure 08</b> : Protocole d'extraction solide-liquide par éther de pétrole.....	15
<b>Figure 09</b> : Protocole d'extraction liquide-liquide.....	17
<b>Figure 10</b> : Les résultats des Tests préliminaires.....	23
<b>Figure 11</b> : Représente le extraite hydro alcoolique.....	24
<b>Figure 12</b> : Extrait de éther de pétrole.....	24
<b>Figure 13</b> : Extrait chloroforme.....	24
<b>Figure 14</b> : Représente la résultat de CCM de l'extrait de éther de pétrole.....	25
<b>Figure 15</b> : Représente la résultat l'extrait de chloroforme.....	26
<b>Figure 16</b> : Représente la résultat de CCM de l'extrait acétate.....	27
<b>Figure 17</b> : Représente l' analyse de CCM de n-butanol.....	28
<b>Figure 18</b> : Effet antibactérien de l'extrait d'acétate d'éthyle.....	29
<b>Figure 19</b> : Effet antibactérien de EP.....	29
<b>Figure 20</b> : Effet antibactérien de l'extrait chloroforme.....	30
<b>Figure 21</b> : Effet antibactérien de l'extraitde n-butanol.....	30

## Liste des tableaux

<b>Tableaux 01:</b> Classification du cotonnier <i>G.Arborescens</i> L.	04
<b>Tableaux 02:</b> Représente les appareils et les produit utilise pour mesuré le PH	11
<b>Tableaux 03:</b> Les Systèmes solvants utilisés pour la CCM	19
<b>Tableaux 04 :</b> Tests photochimiques préliminaires pour les extraits de plantes	22
<b>Tableaux 05 :</b> Rendements d'extraction	25
<b>Tableaux 06 :</b> Représente les analyse de CCM	29
<b>Tableaux 07 :</b> Testés un effet antibactérien de <i>Escherichia coli</i>	30



## Sommaire

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

### Chapitre I

I.1 Description du cotonnier (G.Arbores.L).....	3
I.2.Répartition géographique.....	3
I.3.Classification de cotonnier G.Arbores . L .....	4
I.4.Utilisation traditionnelle de plante du genre Gossypium.....	4
I.5. Principe active.....	4
I.5.1.Les polyphénols .....	4
I.5.2.Les flavonoïdes .....	5
I.5.2.1.Structure et classification .....	5
I.5.3.Les tanins.....	6
I.5.3.1.Localisation et distribution.....	6
I.5.3.2.Classification .....	6
I.5.4.Les coumarines .....	6
I.5.5. Alcaloïdes .....	7
I.5.6.Terpènes.....	7
I.5.7.Saponines.....	8
I.5.8.Stéroïdes (esters de stérols).....	8
I.5.9.Anthocyanes .....	8
I.5.10.Les glycosides.....	9
I.5.11.Les protéines.....	9

### Chapitre II

II.2. matériel végétale.....	11
II.3. Détermination de PH .....	11
II.4.Tests préliminaires .....	12
II.4.2.1. Les test chimique préliminaire.....	11
II.5. Détermination de PH .....	14
II.6.Tests préliminaires .....	18

II.7. I. Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	18
II.7.1.La Définition .....	16
II.7.2. Principe .....	16
II.7.2 Extraction par Ether de pétrole.....	16
II.7. 3.Extraction par Acétate d'éthyle.....	16
II.8. I. Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	18
II.8.1. Définition .....	18
II.8.3. Protocole expérimental de CCM.....	18
II.20.1.Activité antibactérienne .....	19

### **Chapitre III**

III.1. Tests photochimiques préliminaires pour les extraits de plantes .....	22
III.2.Les résultat de extraction.....	22
III.3. Après l'extraction on obtiens un extrait hydro alcoolique.....	24
III.4. Détermination de rendement d'extraction .....	24
III.5. Les résultat de CCM .....	25
Conclusion.....	31
Références.....	32

## **Introduction Générale**

Depuis plusieurs années, l'homme qui vit côte à côte avec les plantes, est habitué à les consommer pour leurs propriétés médicinales et nutritives. Les produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée aux différents secteurs d'activité tels que : le Cosmétique, la pharmacie, l'agroalimentaire, le phytosanitaire et l'industrie [1].

Les plantes sont à l'origine de nombreux médicaments et certains de leurs principes actifs entrent dans la composition de 70% des produits pharmaceutiques commercialisés dans les pays industrialisés. Le tiers restant est constitué de produits de synthèse [2]

Une plante médicinale contient un ensemble de principes actifs qui ont chacun un effet thérapeutique spécifique. L'action thérapeutique globale d'une plante ne se résume donc pas à un constituant isolé [3], de sorte que le corps humain puisse interagir avec elles dans sa forme naturelle. Cependant, les propriétés de la plupart des plantes sauvages sont encore inconnues.

La diversité des plantes dans le sud algérien inclut certaines espèces connues comme étant des utilisations limitées de la médecine traditionnelle, car elles ne sont pas implantées dans la région, comme le coton *Gossypium*, où l'attention est concentrée sur ses fils et abandonne le reste de ses parties, telles que les graines, les feuilles et les amandes en tant que déchets agricoles ou industriels.

La connaissance de la plante est une connaissance réelle, car elle définit ses caractéristiques et contrôle ses propriétés et son nom est à la base de la recherche scientifique. Il n'est pas exagéré de dire que connaître le nom de la plante est une connaissance valable et se distingue des autres. Les plantes et la non-vérification de son nom si difficile à lire, lecture distinction entre eux, entre autres, reste vague et ne cache pas ce que cet effet de mauvais effets sur l'abus et les utilisations, et les résultats du traitement [2].

Le but de cette étude est de découvrir les continents des extraits organique et aquatique des plantes, déterminer l'efficacité biologique des extraits comme anti-bactérien probable et antioxydant puis la valorisation d'une ressource naturelle possible spécifiquement les parties d'arbre de coton.

Chapitre I: Etude théorique de plante et ces classifications, les principes actifs comme les phénols, flavonoïdes et lipides par les méthodes d'extraction liquide-solide, liquide-liquide.

Chapitre II: Préparation de matière végétale, les tests préliminaires et l'utilisation de techniques d'extraction liquide-solide, liquide-liquide.

Chapitre III: L'étude d'efficacité biologique des extraits produits comme anti-bactérien. Et enfin une conclusion générale et des recommandations

# Chapitre I

### I.1 Description du cotonnier (*G.Arboresum.L*):

Le coton est composé de 54 types de cotonniers, de grandes fleurs jaunes ou blanches et de fruits conservateurs dans des rangées de 4 à 5 cellules, avec des fibres de coton et le nombre de 5 à 7 graines [ 5] , Les racines ont une profondeur de sol supérieure à 2 mètres. Leurs graines sont généralement ovales et sphériques et se présentent sous forme de graines noires.on trouve généralement le coton dans le monde en Égypte, en Inde, en Chine, en Asie centrale [ 6]



Figure01: Représente la plante étudiée 2

### I.2.Répartition géographique:

Les variétés cultivées originaires de l'Ancien Monde appartiennent à deux espèces, l'une plutôt asiatique (*G. arboreum*) et l'autre africaine (*G. herbaceum*). À présent, *G. arboreum* est cultivée principalement dans le indien, Chine et en Asie du Sud-Est ainsi que dans le sud de la péninsule Arabique et en Afrique orientale [7] , L'aire de distribution de *G. herbaceum* chevauche celle de *G. arboreum* dans certaines de ces régions (Arabie, Moyen Orient) bien que sa culture soit plus développée en Afrique du Nord et de l'Est [8].

### I.3. Classification de cotonnier *G. Arboreum* . L :

**Tableau 01:** Classification de cotonnier *G. Arboreum* . L : [5-6]

Nom scientifique: <i>Gossypium</i> Nom commun: coton	
Royaume	Plantes
Branchement	Angra spermes
Classe	Eudycotyledones
Ordre	Malvales
La famille	Malvacée
Genre	<i>Gossypium</i>
Espèce	<i>Arboreum.L</i>

### I.4. Utilisation traditionnelle de plante du genre *Gossypium*:

Dans quelques pays africaines le coton est utilisé principalement dans l'industrie textile et les huileries et pour l'alimentation du bétail.

A l'heure actuelle les cotonniers anciennement cultivés sont maintenus dans les champs de case pour un tissage artisanal et pour le traitement de la fièvre .

Les graines de coton sont oléagineuses et peuvent servir, après l'égrenage et divers traitements, comme produits alimentaires [9].

### I.5. Principe active :

#### I.5.1. Les polyphénols :

Les poly phénols sont impliqués dans des nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits , la variété de phénols, des composés simples comme l'acide molécule donnant par la synthèse de l'aspirine à naissance des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides les phénols ont des propriétés anti-inflammatoires et antiseptiques [12].

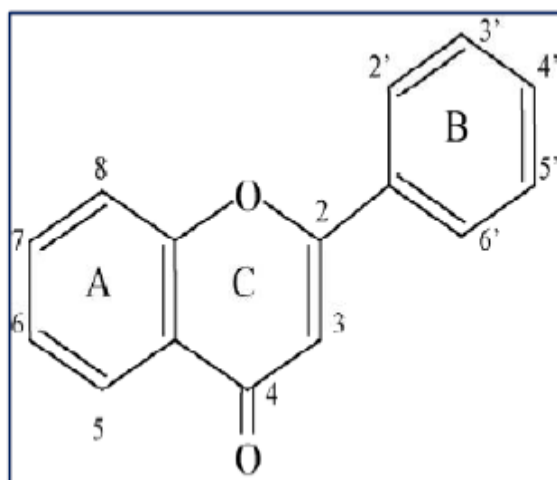
### I.5.2. Les flavonoïdes :

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ils sont formés d'un squelette de base à 15 carbones ces composés existent sous forme d'aglycones ou sous forme de glycosides et plus de 4000 structures sont connues à ce jour [13]. Les principaux aglycones sont représentés dans la figure 02 tous les flavonoïdes peuvent être regroupés en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central [14].

#### I.5.2.1. Structure et classification :

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-γ-pyrane [15] leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C [16].

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères [16]. Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont: flavones, isoflavandiols, flavondiols, anthocyanins. [17].



**Figure02:** Structure de base des flavonoïdes

### **I.5.3. Les tanins :**

Les tanins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones [18] ils ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités [19,20]

Les tanins jouent un rôle important dans les qualités organoleptiques et nutritionnelles des produits [21], ces tanins sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique [22].

#### **I.5.3.1. Localisation et distribution :**

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement Abondants, dans certaines familles comme les conifères, les Fagacée, les rosacée [23]

Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines [24] .

#### **I.5.3.2. Classification :**

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétiques: les tanins hydrolysables et les Tanins condensés [25].

### **I.5.4. Les coumarines :**

Les coumarines, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7- cinnamiques [26] elles existent sous forme libre ou liées à des sucres, la coumarine et ses dérivés ont des actions photo biologiques [27], comme ils ont un effet anti-oedémateux [27], acide facilement hydrolysable par des enzymes pour donner la coumarine. En cas de contamination par des champignons, les mélilots produisent un produit susceptible d'être métabolisé en un composé anticoagulant, le dicoumarol, c'est d'ailleurs à partir du modèle de ce composé végétal qu'on synthétise actuellement les anticoagulants coumariniques utilisés en médecine [28]



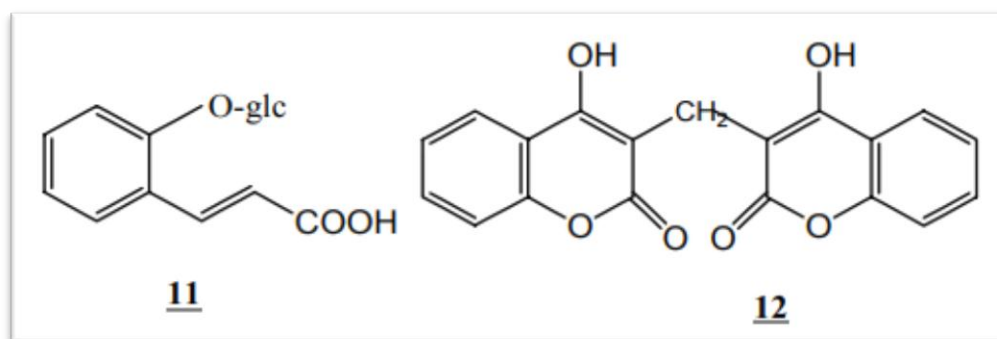


Figure03 : Les coumarines

### I.5.5. Alcaloïdes :

Le terme alcaloïde a été introduit par Meisner [25], sont des substances organiques d'origine naturelle renfermant de l'azote, généralement incorporé dans un système hétérocyclique, la plupart ont des propriétés basiques, il existe plusieurs types d'alcaloïdes, certains ont de structures simples, d'autres complexes d'une manière générale les alcaloïdes sont des substances intéressantes pour leurs activités pharmacologiques très variées ainsi que par leur toxicité [30-31].

### I.5.6. Terpènes :

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels de structure cyclique, largement répandus dans le règne végétal, provenant de la voie de l'acide mévalonique [32], leur particularité structurale est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone [33]. La famille des terpènes comprend des hormones, des pigments caroténoïdes des stérols (Ergostérol, cholestérol) des dérivés de stérols le latex (qui est à la base du caoutchouc naturel) ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles qui confèrent aux plantes leur parfum [34].

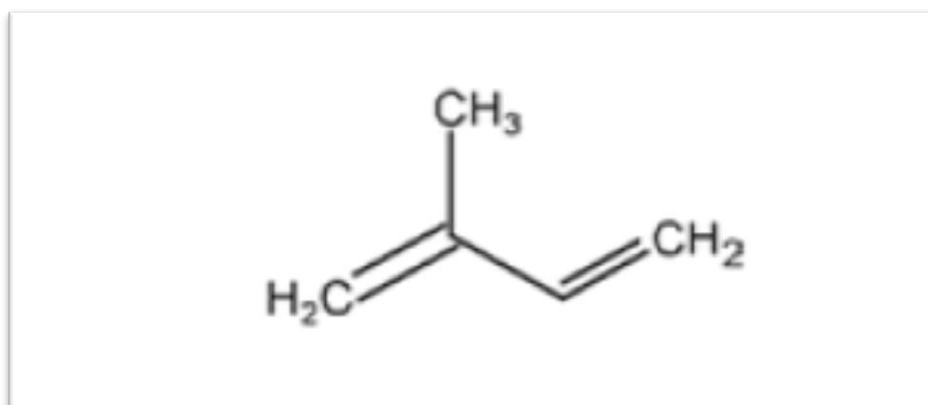


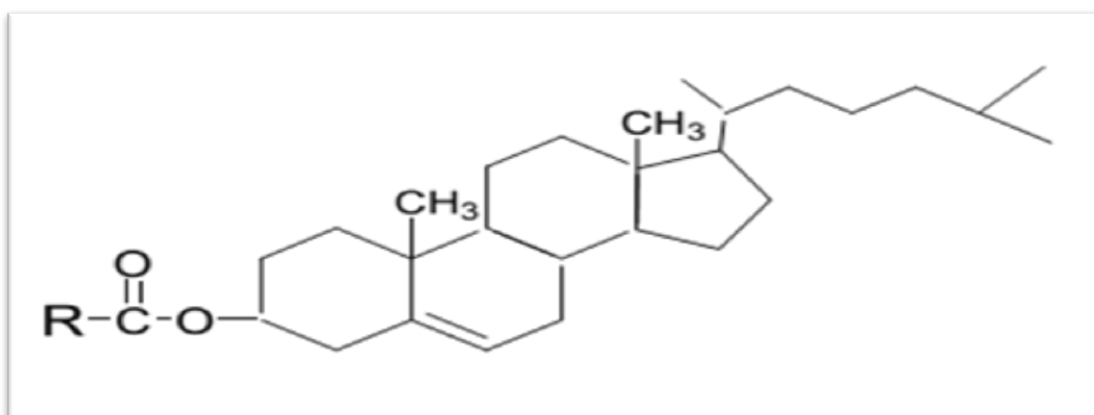
Figure 04 : Isoprène

**I.5.7.Saponines :**

Les saponines constituent un groupe largement répandus dans le règne végétal ou des animaux inférieur marins [35] la structure chimique des saponines est constituée d'un groupe aglycone de nature triterpénoïdique ou stéroïdique et d'une ou plusieurs chaînes saccharidiques (glycosides) [36] le nom saponine est dérivé du nom latin *sapo* qui veut dire savon car ces molécules forment des mousses quand elles sont agitées dans de l'eau due à la nature de saponine amphiphilique, par la présence d'une liaison entre la sapogénine lipophile et les chaînes saccharidiques hydrophilique [37], structurellement, les saponines peuvent être classés en deux groupes selon la nature de la génine les saponines à génines triterpéniques, de loin les plus nombreux existant chez les angiospermes dicotylédones et chez certains animaux marins et celles à génines stéroïdiques, presque exclusivement présentes chez les angiospermes monocotylédones [38].

**I.5.8.Stéroïdes (esters de stérols):**

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, ils sont synthétisés à partir d'un Triterpène acyclique le squalène bien qu'ils soient généralement modifiés et qu'ils possèdent moins de 30 atomes de carbone [39].

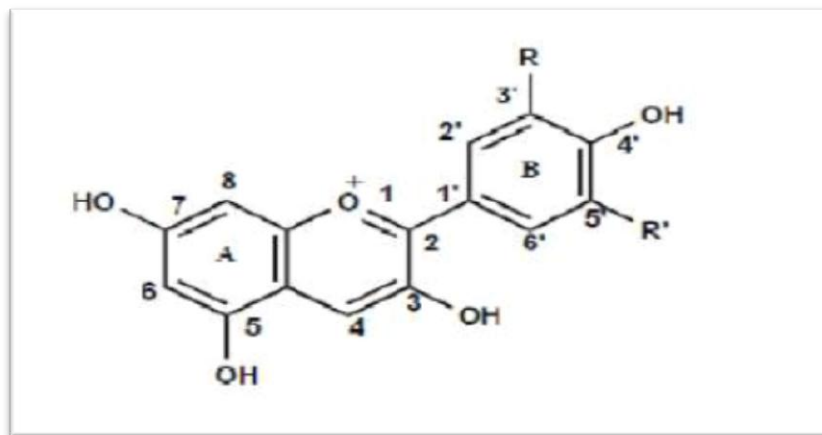


**Figure05 :** Structure des stéroïdes

**I.5.9.Anthocyanes :**

Les anthocyanes sont des pigments naturels qui donnent les couleurs à de nombreuses plantes. Leur aptitude à se solubiliser facilement dans les milieux aqueux offre des possibilités très larges dans le domaine industriel ils sont responsables de la coloration (orange, rose, rouge et bleue) de certaines fleurs (tulipe, orchidée) et fruits (pomme, , raisin). leurs génines (anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2- phénylbenzopyrylium une propriété importante

de ces composés réside dans leur aptitude antioxydante et de nombreuses études sur leurs activités biologiques en témoignent [40].



**Figure06** : Structure générale des anthocyanes

### I.5.10. Les glycosides :

Les glycosides sont des substances organiques complexes qui résultent de l'établissement d'une composante osidique et d'une composante non osidique (aglycone ou la génine)[41].

Il existe un très grand nombre d'hétérosides végétaux certains sont très répandus tandis que l'existence d'autres est limitée à quelques centaines d'espèces ou même à un seul genre ou à une seule espèce [42].

### I.5.11. Les protéines :

Les protéines jouent également un rôle structural et participent au renouvellement des tissus végétaux en industries agroalimentaires, les protéines végétales occupent une place de choix tant par leur valeur et propriété nutritionnelle par rapport la source animale [43].

Les protéines Les protéinoplastes sont des organites spécialisés et spécifiques des cellules végétales, ils contiennent des corps cristallins de protéines dont certaines peuvent être des enzymes les protéinoplastes sont présents dans de nombreuses graines [44].

# Chapitre II

**II.2. matériel végétale:**

Nous avons récolté le cotonnier (*G arboreum l*) (capsules) 2019 dans la région Metlili de (Ghardaia) a 45 km de sud de la wilaya de Gharadia .



**figures 07** : Photo des capsules

**II.3. Détermination de PH :**

Nous mettons 5 g de produit séchée dans 50 ml d eau distillée de PH= 7 le mélange dans agitateur duré de 10 min après mesuré le PH par PH mètre.

**Tableau 02** : Représente les appareils et les produit utilise pur mesuré le PH

<b>appareil et instrument</b>	<b>Produit</b>
Agitateur	5 g de poudre de capsule
PH mètre	50 ml de eau distillé de PH =7

#### II.4. Tests préliminaires :

Les méthodes de séparation chimique sont des outils sur lesquels l'analyste chimique dépend de la séparation des composants de l'échantillon à analyser afin que nous puissions étudier sa formule moléculaire ou son estimation la distinction est faite entre les méthodes de séparation qui dépendent par la base physique telle que les méthodes de filtration et de séparation qui dépendent par la base chimique telle que la sédimentation, sur des bases physicochimiques comme les méthodes d'extraction et les méthodes de chromatographie.

On prend 20 g de matière sèche (capsule) et nettoyer les impuretés après coupé a petite parti pour facilité l'opération de broyage ensuite nous traitants et nosire la capsule broyé par (méthanol / eau) pendant (8/2) 24 heure.

##### II.4.2.1. Les test chimique préliminaire :

Avant de déterminer les principes actifs, nous avons effectué une série des tests initiaux afin de déterminer et limiter les différentes substances actives contenues dans la capsule.

- **Test sur les phlobatannins :**

On prend 2ml de extrait hydro alcoolique et ajout 2 ml de HCL ( 1% ) avec chauffage [ 52].

- **Test sur le terpène :**

On prend 2 ml de extrait hydro alcoolique et ajout 2 ml Acetic anhydride (  $C_4H_6O_3$  ) et ajout 2 goutte  $H_2SO_4$  [52].

- **Test sur les stéroïdes :**

On prend 2 ml de extrait hydro alcoolique et ajouter 2 ml de  $CHCl_3$  et 2 ml de  $H_2SO_4$  [52].

- **Test sur les flavonoïde :**

On prend 1ml de extrait hydro alcoolique et ajout goutte 1 ml de sulfate  $Pb(OH)_4$  de 10 % . [52].

- **Test sur les coumarines :**

On prend 2ml de extrait hydro alcoolique et 3 ml de solution NAOH 10%

Préparation de solution hydroxyde sodiums NAOH 10 % (10 g de NAOH délier dans 100 ml de eau).

- **Test sur les alcaloïdes :**

On prend 50 ml de extrait hydro alcoolique et évaporai jusqu'a 5 ml et ajoute 8 ml de HCL 10 % après ajoute 0,5 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> après filtré les impureté par 2ml HCL 10 % après on prendre 3 ml de solution filtre et ajoute gout lette dragon d'or [52].

- **Test sur les saponines :**

Methode 1: on prend 5 ml de extrait hydro alcoolique et ajout 5 ml de eau avec chauffage [52].

Methode 2: prendre 5 ml de extrait hydro alcoolique et ajout goutte de oil de olive [52].

- **Test sur les Anthocyanine :**

2 ml d'extrait + 2 ml de HCL + solution de NH<sub>3</sub> [52].

- **Test sur Carbohydrates :**

2 ml d'extrait+ 2 ml de A et B solution +chauffante [52].

- **Test sur protéines :**

1ml d'extrait+ 1ml h<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré [52].

- **Test sur emodins :**

2 ml d'extrait + 2 ml de NH<sub>4</sub>OH + 3 ml de benzène [52].

- **Test sur glycosides :**

2 ml d'extrait + 2 ml de CHCL<sub>3</sub> + 2 ml de CH<sub>3</sub>COOH [52].

- **Teste sur tannins :**

On prend 2ml de extrait hydro alcoolique et ajoute 2 ml eau distille chaude et ajout la solution  $FeCl_3$  de 5 % [52].

### **II.5.Technique d'extraction :**

L'extraction est une technique de séparation en génie chimique, elle utilise un moyen d'extraction pour séparer sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange sur la base de ces propriétés chimiques et/ou physiques, le moyen d'extraction doit être non ou peu miscible avec les composants principaux du mélange alors que le composé à extraire doit posséder plus d'affinité avec le moyen d'extraction avec les composants principaux du mélange suivant la manière et le moyen utilisé, on a plusieurs techniques [45].

#### **II.5.1.L'extraction solide-liquide :**

##### **II.5.1.1.Définition :**

L'extraction solide-liquide est un phénomène lent qui permet d'extraire une substance présente dans un solide pour la faire passer dans un solvant liquide on peut utiliser successivement des liquides dont le pouvoir solvant vis-à-vis des constituants de la phase solide est différent (dissolution fractionnée) la macération et la décoction sont des méthodes d'extraction solide-liquide [48].

##### **II.5.1.2.Principe d'extraction :**

On fait l'extraction solide-liquide pour extraire les principe active après fait extraction liquide- liquide pour obtenir les extraits.

##### **II.5.1.3.Principe macération :**

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple elle consiste la à mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée cette technique est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction la macération commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat , Après une étape de diffusion du solvant à l'intérieur des cellules végétales le processus continue avec la solubilisation de composés bioactifs qui vont migrer



de la matrice végétale vers le solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint [49].

**II.5.1.4. Mode opératoire:**

On émerge le matériel végétal (100g de capsule) dans 250 ml de EP pour éliminer les lipides, puis on filtre par papier filtre et abandonne EP avec l'eur extrait, ensuite autre macération par (méthanol/eau) (70/30) 700 ml méthanol et 300 ml eau, répéter l'opération trois fois avec renouvellement de solvant chaque 24 heures, après utilisé la rota vapeur pour éliminer le méthanol et enfin traité l'extrait hydro alcoolique par 50 ml eau distille chaude pendant 24 heure.

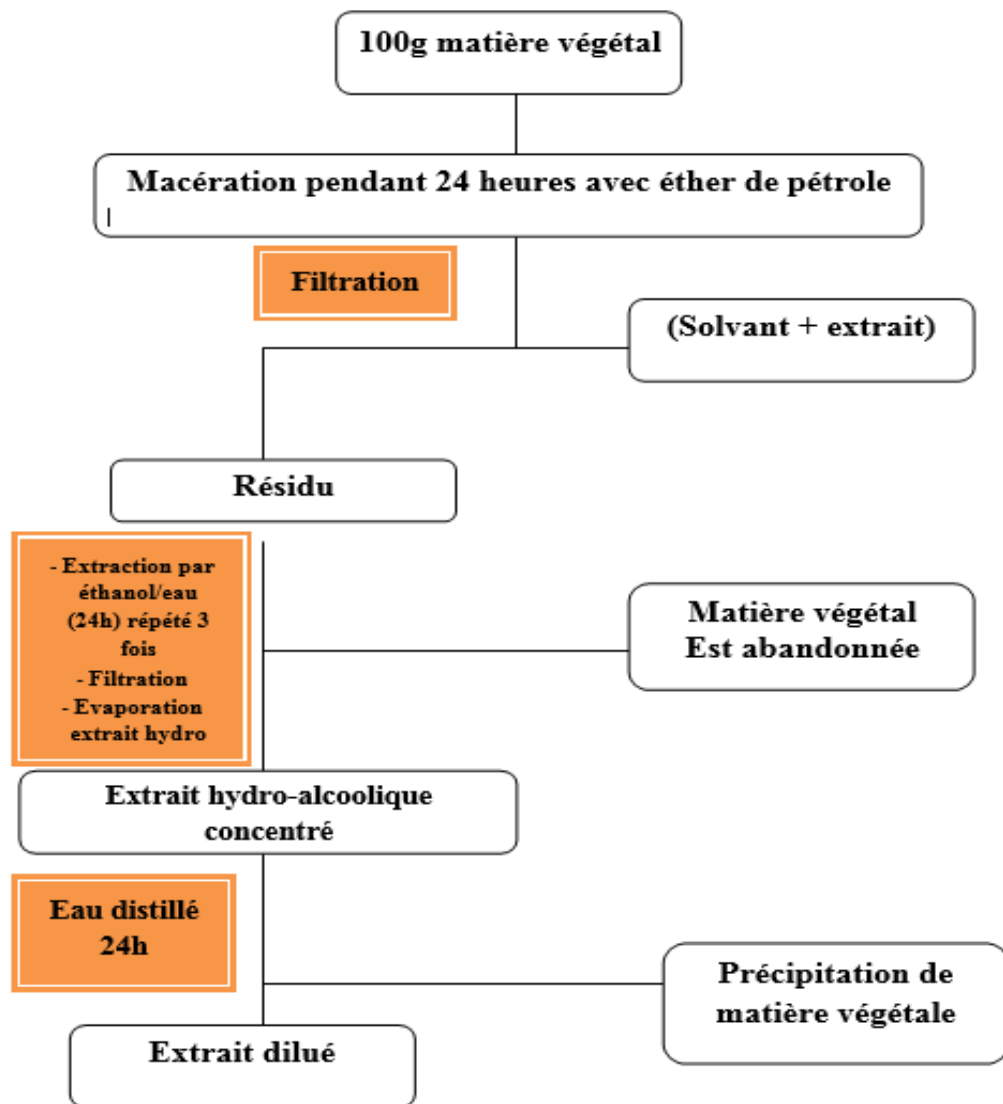


Figure 08 : Protocole d'extraction solide-liquide par éther de pétrole

**II.5.2. Extraction liquide-liquide :****II.5.2.1.La définition :**

L'extraction liquide-liquide permet d'extraire une substance dissoute dans un solvant, dans des appareils destinés à mélanger les deux phases (ampoules, colonnes, mélangeurs). La séparation des phases s'obtient par décantation gravimétrique ou centrifuge [46]. L'extraction liquide-liquide est la succession de plusieurs étapes. La première étape est la mise en contact des deux phases. Pour augmenter la surface d'échange, la phase à extraire et la phase d'extraction sont mélangées. La seconde étape consiste à obtenir l'équilibre du système (saturation de la phase d'extraction) qui est régi par les lois de la diffusion et de la solubilité [47].

**II.5.2.2. Principe :**

L'extraction consiste à faire passer un produit d'un solvant dont il est difficile à séparer (eau) à un autre solvant dont il sera facilement isolable (solvant organique).

**II.5.2.3.1. Extraction par Ether de pétrole:**

Le EP extrait les aglycones et les flavonoïdes les lipides, on ajoute 100 ml de EP à la phase aqueuse après agiter et laisse le mélange jusqu'à stabiliser, on obtient 2 phases organique (extrait d'éther de pétrole) et phase aqueuse .

**II.5.2.3.2 .Extraction par Chloroforme:**

On ajoute 86 ml avec agitation et laisser reposer jusqu'à obtenir 2 phases répète trois fois.

Le chloroforme extrait les terpènes, coumarines, flavonoïdes.

**II.5.2.3.3.Extraction par Acétate d'éthyle:**

On ajoute 100 ml avec agitation et laisser reposer jusqu'à obtenir 2 phases répète un fois. L'acétate extrait les mono-o-glucosides et partiellement les di-o-glucosides.

**II.5.2.3.4 Extraction par N-Butanol :**

On ajoute 86 ml à l'extrait avec agitation répète trois fois.

Le n-butanol extrait di-o-glycosides, les tri-o-glycosides et les c-glycosides

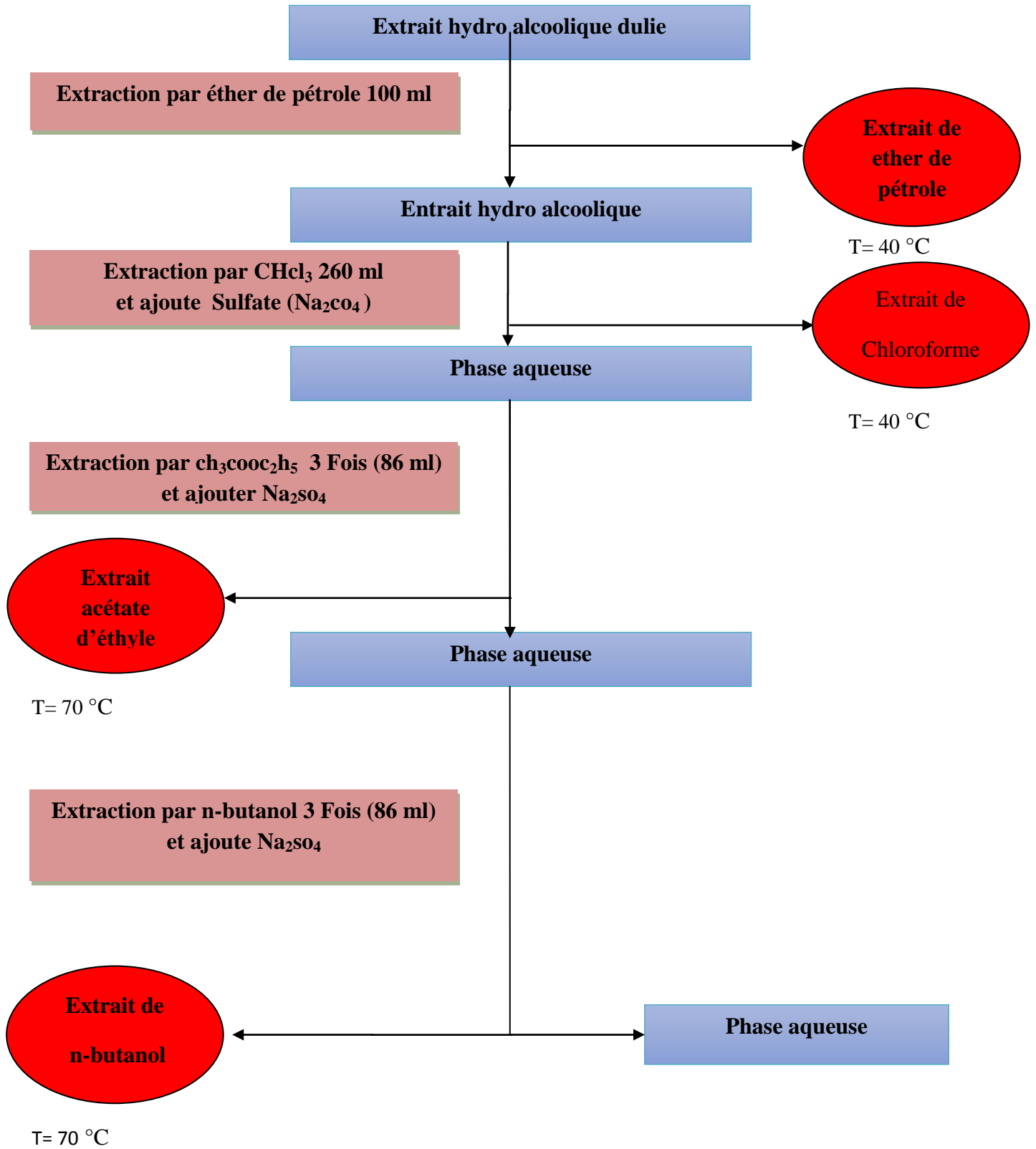


Figure 09: Protocole d'extraction liquide-liquide

**II.6. Détermination de rendement d'extraction:**

Le rendement d'extraction est déterminé par la formule suivante :

$$R\% = \frac{M_{\text{ext}} * 100}{M_{\text{sch}}}$$

**R:** est la rendement

**M ext:** est la masse de extrait après évaporation en g

**M sch:** est la masse sèche la plante en g

**II.7. I. Chromatographie sur couche mince (CCM) :****II.7.1. Définition :**

La chromatographie est une méthode biochimique très utilisé en biologie notamment dans la séparation et la mise en évidence des constituants d'un mélange [50].

**II.7.2. Principe :**

Le principe de cette méthode est basé sur la répartition sélective des constituants à séparer entre deux phases, la phase mobile et la phase stationnaire.

La chromatographie sur couche mince repose sur des phénomènes d'adsorption et la répartition des constituants dans ce cas est en fonction :

- de la nature de la phase mobile,
- de la nature de la phase stationnaire,
- des propriétés physico-chimiques des constituants à séparer [51].

**II.7.3. Protocole expérimental de CCM :**

La cuve : un bécher contenant l'éluant de hauteur d'environ 1 cm, elle doit être fermée pour éviter l'évaporation d'éluant.

La plaque de chromatographie de taille 2.5\*6.5 cm est recouverte par gel de silice.

Tracer la ligne de dépôt Les dépôts ne émergé pas é dans l'éluant.

Déposer les échantillons avec une pipette, après sécher les dépôts avec un séchoir.

**Tableau 03:** les Systèmes solvants utilisés pour la CCM

Extrait	Système solvant
Phase éther de pétrole	hexane/chcl3/aeoet (4: 4 : 1)
Phase chloroforme	CHCl <sub>3</sub> /Acétone (19.5 : 0.5)
Phase acétate d'éthyle	Acétate éthyle/ méthanol (19: 1)
Phase n-butanol	CHCl <sub>3</sub> / méthanol (18.5 : 1.5)

### II.8.1. Activité antibactérienne :

Les composés phénoliques sont doués d'un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne. À partir de là, on a testé nos extraits a déférence souches bactérienne.

#### II.8.1.Objectif :

Déterminer parmi les extraits préparés ceux qui avaient la plus grande activité inhibitrice des bactéries.

#### II.8.2.Principe :

L'activité antimicrobienne des extraits était testée *in vitro* par la méthode de diffusion sur gélose.

#### II.8.3.Souches bactérienne :

Seul souches bactérienne ont été choisie pour leur haute pathogénicité et leur multi résistance. (E. coli) responsables d'infections graves chez l'homme et dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques. Elles sont activées à 37 °C par repiquage sur milieu gélosé Muller-Hinton (MH).

**II.8.4.Mode opératoire :**

-la préparation des disque sou forme coup de 3mm sur papier 3 mm de diamètre du papier, après fait stérilisons à température 120 ° pendant pendant 24 heure.

- placé les 4 extraits dans les disques.

-Prépare le milieu vivant des bactéries dans la température 0 ° C.

- plaçons les bactéries au milieu

-Pendant Pendentif Gardez-le à 37 degrés 24 heures

**Lecture des résultats**

Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre d'inhibition des bactéries autour des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié.

# Chapitre III

**III.1. Détermination de PH**

A partir de PH mètre le PH = 7.4

**III.2. Tests photochimiques préliminaires pour les extraits de plantes :**

**Tableau5 :** Représente les groupes chimiques qui existent dans cette plante

le composé	résultat attendu	Résultat obtenu
Protéines	Couleur mauve	-
Carbohydrates	Précipitations rouges	++
Glycosides	La couleur pourpre a tendance à être bleu et rouge	-
Saponines	formation mousse Forme un émulsion	+
Terpène	Couleur rouge foncé	++
Coumarines	couleur jaune	+
Alcaloïdes	dépôt rouge	+
Tanines	Précipitations vert	+
Anthocyanines	couleur rouge rose à violet	+
les flavonoïdes	la couleur est rouge ou orange	++
emodins	la couleur est rouge	-
Stéroïdes	Précipitations vert	+
Phlobatanine	Précipitations rouge	+

(-) Absenc

(+) moyen

(++) fort

**Discutions de résultat :**

A partir les teste préliminaires on remarque la présence de tout les principe active que on a définie dans la capsule de cotonne sauf le protéine et le glycoside .





**Figure 10** : Les résultats des Tests préliminaires

III.3. Les résultats de l'extraction :

Après l'extraction on obtient un extrait hydro alcoolique



Figure 11 : Représente l'extrait hydro alcoolique

III.3.1. Le résultat de l'extraction liquide-liquide :

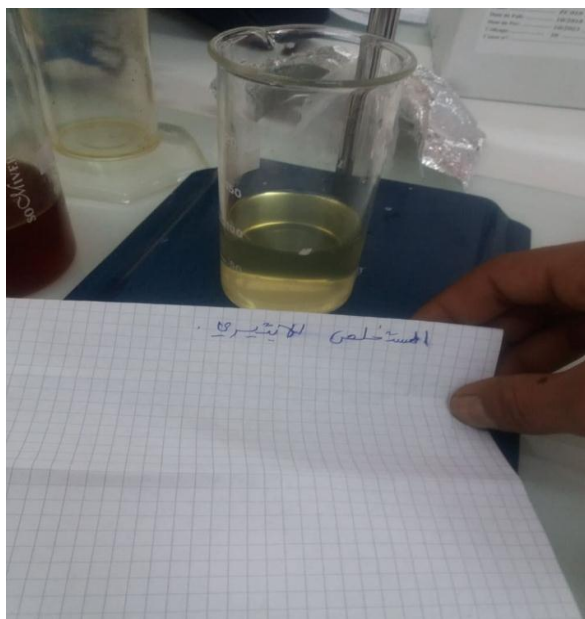


Figure 12 : Extrait d'éther de pétrole

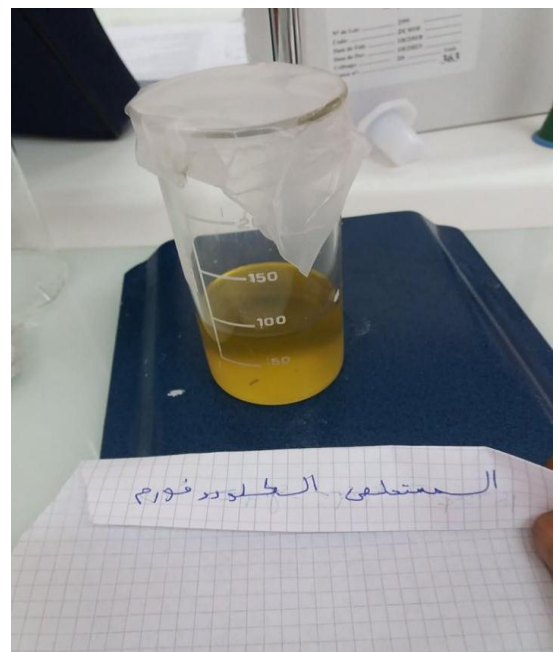
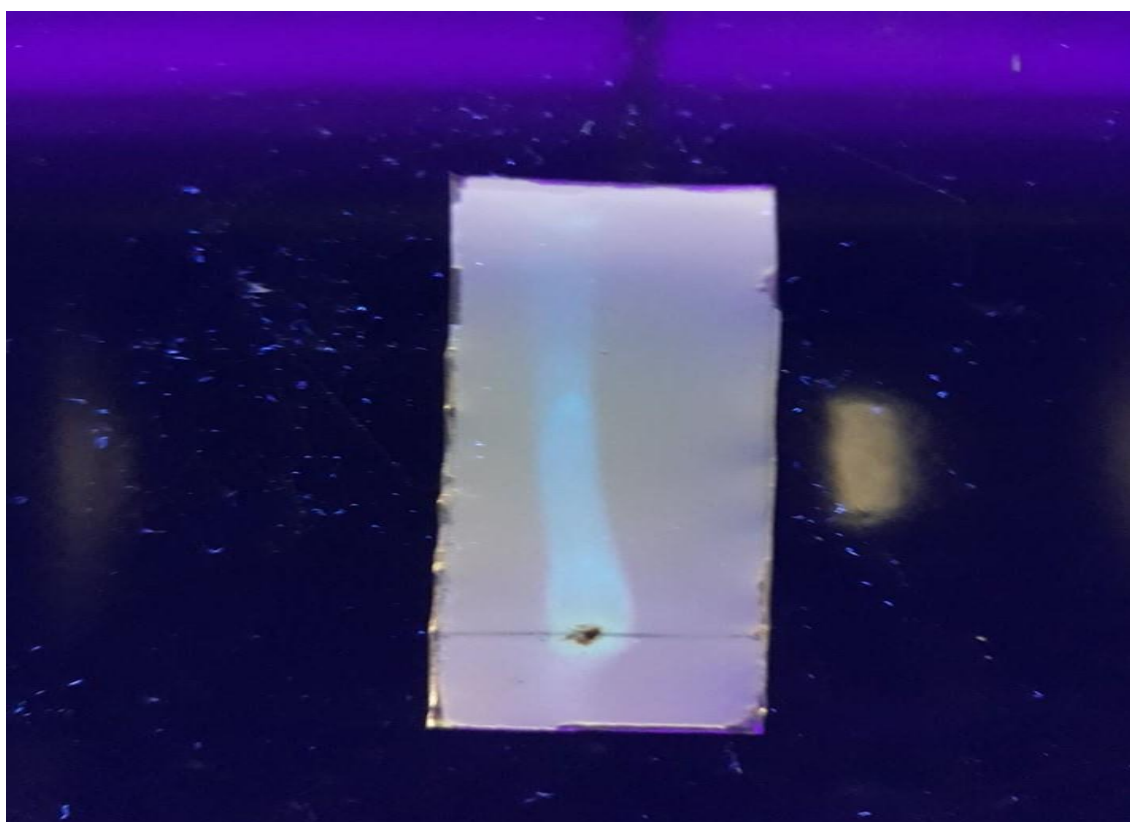


Figure 13 : L'extrait de chloroforme

**III.4. Détermination de rendement d'extraction :****Tableau 05 :** Rendements d'extraction

Extrait	Rendement(%)
Ether de pétrole	0,2
Chloroforme	0,37
Acétate	0,12
n-butanol	0,4

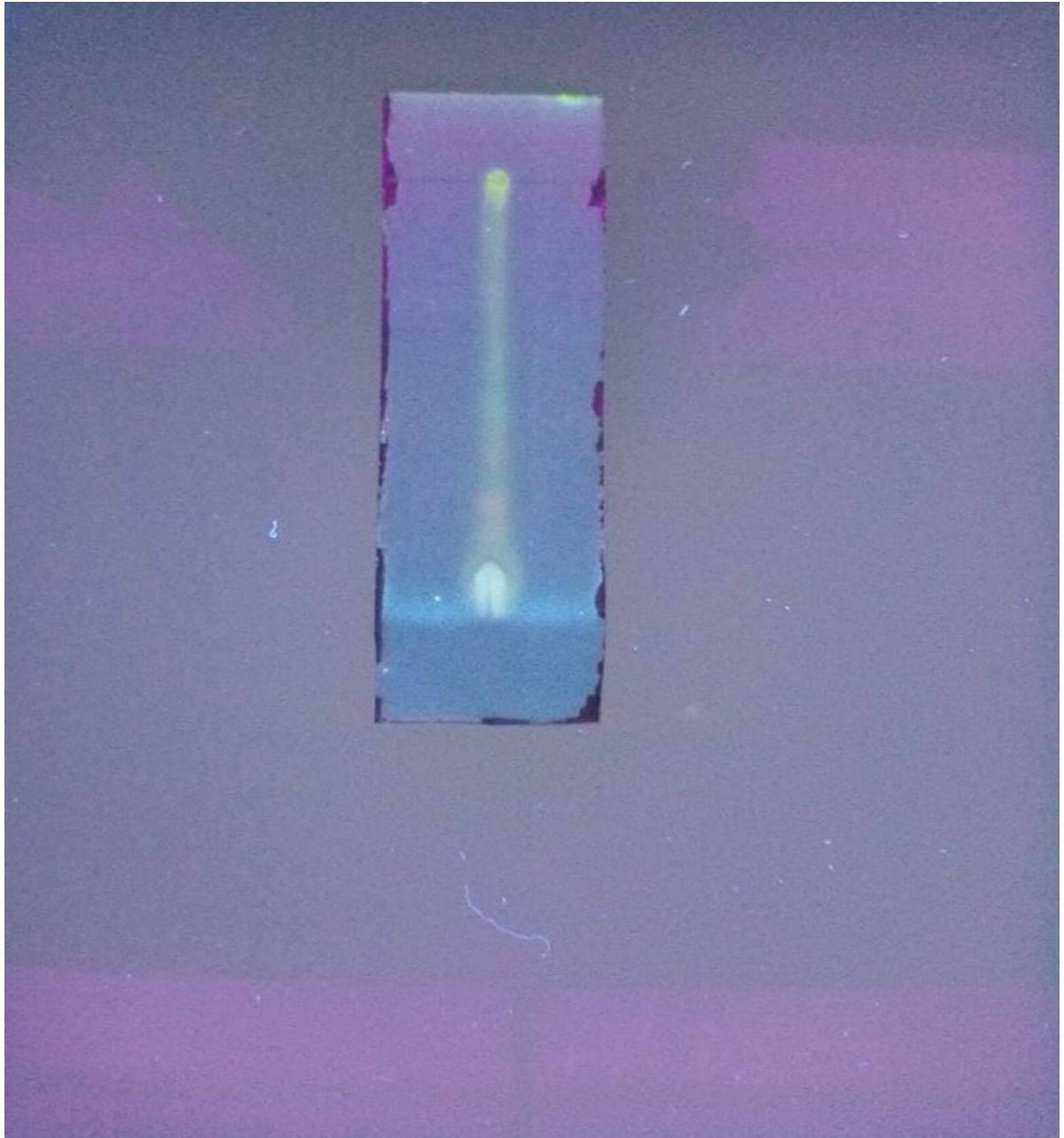
A partir les tableaux **05** on remarque le rendement de Acétate grand que l'outre extrait de Valeur 85 %, et observe le rendement de EP grand que le rendement de n-butanol et Chloroforme avec valeur de 69 %.

**III.5. Les résultat de CCM :****CCM pour l'extrait Ether de pétrole :****Figure14 :** Représente la résultat de CCM de l'extrait de éther de pétrole

**Discussion :**

A partir cette figures on remarque la présence de 1 tache de colleur Blue

**Chloroforme resultat**

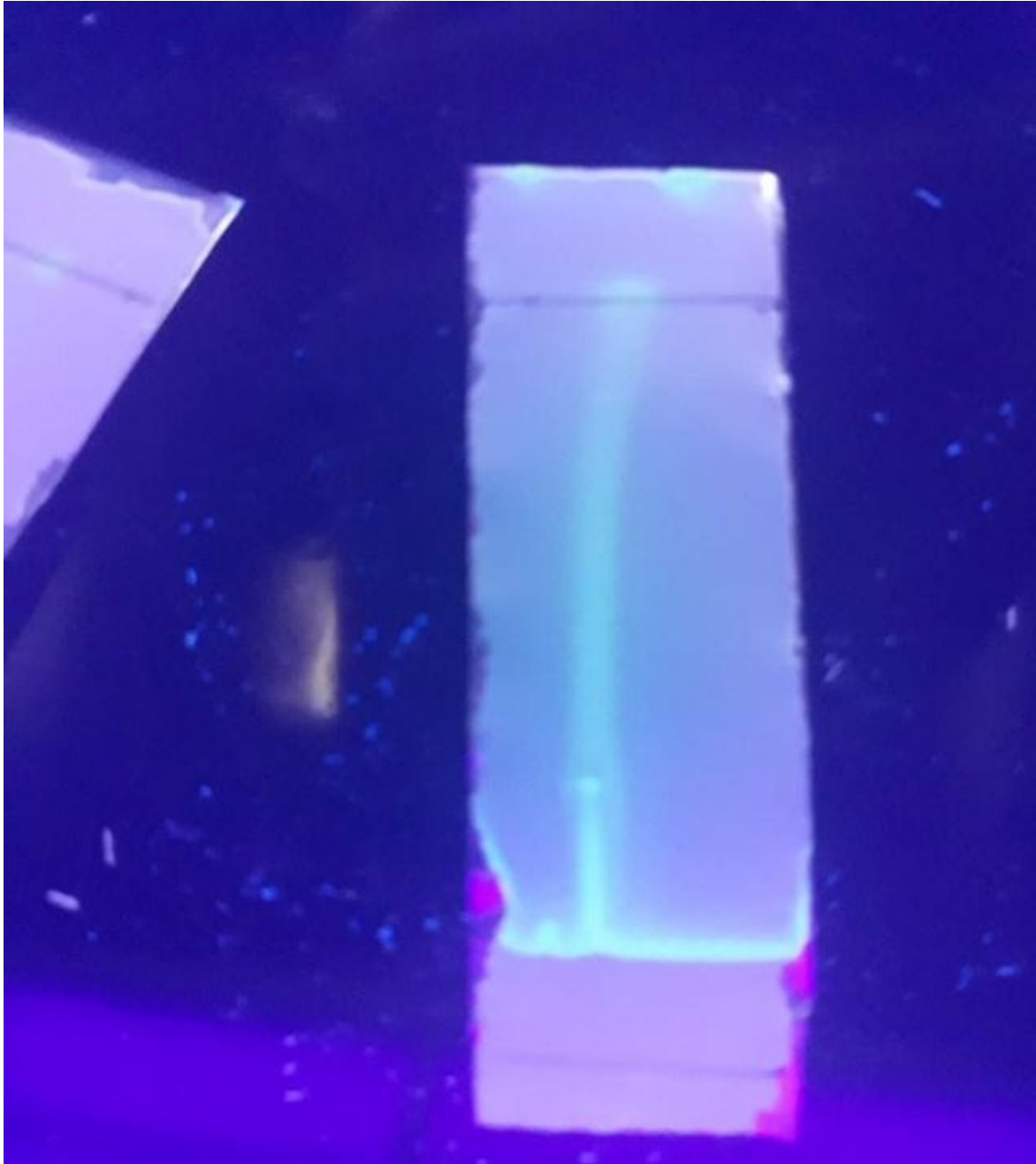


**Figure15 :** Représente la résultat l'extrait de chloroforme

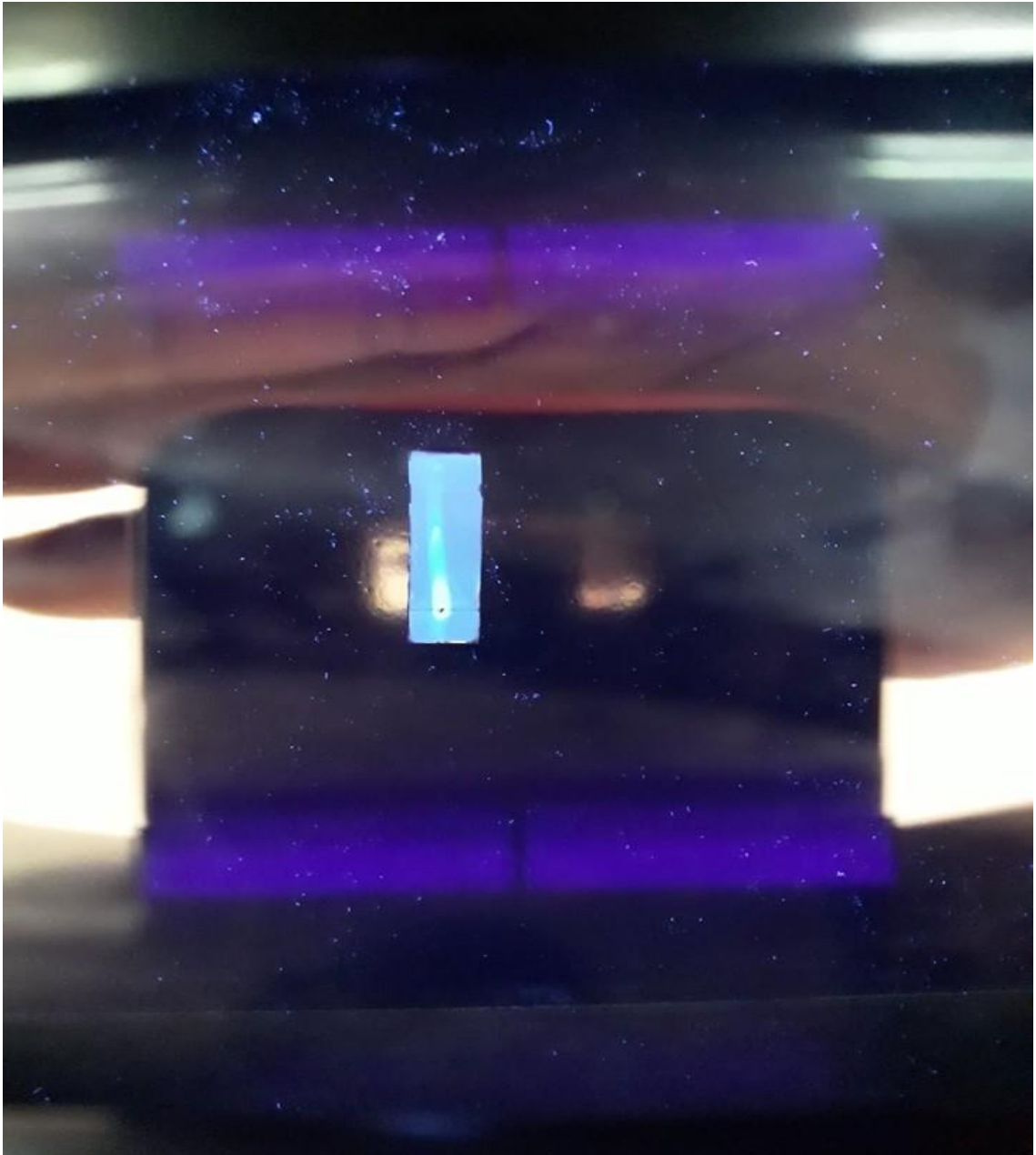
**Discussion :**

on observe 2 taches le premier de couleur marron et le deuxième jaune

**Acétate Résultat ;**



**Figure 16 :** Représente la résultat de CCM de l'extrait acétate

**N-butanol Résultat**

**Figure 17 :** Représente l'analyse de CCM de n-butanol

**Discussion :**

On observe 3 taches le premier Marron et le deuxième vert et le troisième jaune

Tableaux 06 : Représente les analyse de CCM:

Extrait organique	Système	Nombre de spot	Uv
éther de pétrole	Hexane/ CHCl <sub>3</sub> / acitone (4,4,1)	1 2	Blue Jougne
Chloroforme	CHCl <sub>3</sub> / Acétone (19,5/0,5)	1 2	Marron Jaune
acétate d'éthyle	Acétate/méthanol (19/1)	1 2	Marron jaune
n-butanol	CHCl <sub>3</sub> / méthanol (18,5/1,5)	1 2 3	Marron vert jaune

### III.6. Test d'activité antibactérienne :

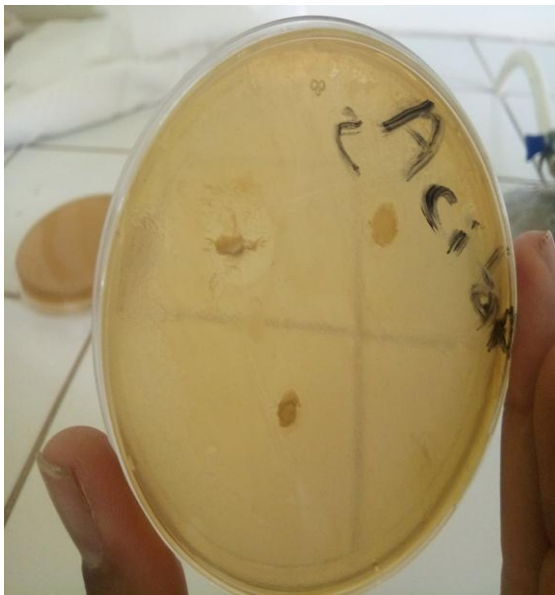


Figure 18 : Effet antibactérien de l'extrait d'acétate d'éthyle



Figure 19 : Effet antibactérien de EP



Figure 20 : Effet antibactérien de l'extrait chloroforme



Figure 21: Effet antibactérien de l'extrait de n-butanol

Tableaux 07 : Test d'effet antibactérien d'Escherichia coli :

Les extraits	Résultat
Chcl3	Sensible
EP	Résistant
n-butanol	Sensible
Acétate	Sensible

**Discussion :**

A partir le tableau précédent on remarque que l'acétate d'éthyle et chloroforme et n-butanol testés d'effet antibactérien (Escherichia coli) est sensible et l'extrait d'EP est résistance.



## **Conclusion Générale**

Dans ce travail on a étudié le coton (capsule) cultivé dans le sud Algérienne, partir de série des tests préliminaires on trouve que il a des bénéfices médical, il contient des composant primaires, et métabolisme secondaire, comme flavonoïde, tanine, poly phénol et le terpène.

L'extraction solide\_liquide suivie de l'extraction liquide\_liquide nous permet d'extraire le principe actif

Nous avons peut separer les composant à l'aide de chromatographie CCM.

l'evaluation de l'activite microbienne montrent que les extraits sensible

Al'essort de ces résultats, les extrits de contonnier peut être utilisé comme agent antimicrobien

## Références

- [1] Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans  $H_2SO_4$  0.5 M 16 Soutenu le : 30 Juin 2012 devant le jury composé
- [2]. Etude des plantes médicinales de niafunke (region Tombouctou) Photochimie et pharmacologie de *Maerua crassifolia* Forsk. (Capparidacée) A-M. Diallo. (2005)Thèse de Doctorat. Université de Bamako.125p
- [3] Plantes médicinales, Dr. Halimi Abdelkader, Algérie, 1997, p.
- [4] Plantes florales (Origination - Evolution - Classification). Maison de la pensée arabe. Shukri Ibrahim Saad, Première édition. 1994, pp. 468-472
- [5] Introduction à la classification des plantes à fleurs. P, Mohamed Salama , Al-Dar International Publishing et Distribution Le Caire, Egypte, 1994, pp. 161-1162
- [6] Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante cynodon *Dactylon-L* chiendent, K. Benwqhi .*mémoire de magister. Université de Ouargla, pp 15 – 17 .*
- [7] le Cotton fil des temps des marchés & des cultures“ .«center de coopération international en recherché agronomique pour le développement .Paris.2006.P4-5
- [8] p, émérite. “Flore et végétation de Sahara“.; CNRS éditions ;Paris.1991,2004.P326
- [9] Etude des Alcaloïdes dans le coloquinte *colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (wilaya de Ouargla), N. CHAOUCH ; (2001), *mémoire de magister; Université de Ouargla, p 44*
- [10] : Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council* , Bahorun, T. (1997) *Réduit, Mauritius*. 83-94.
- [11] Martin S., Andriantsitohaina R. (2002) Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 51:304-315.
- [12] Coure de méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles Polyphénols », K. Dehak., 2013, Univ. Kasdi Merbah, Ouargla.

- [13] Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante cynodon Dactylon-L chiendent, ] P. K. Benwqhi *mémoire de magister. Université de Ouargla, pp 15 – 16*
- [14] Etude Quantitative Des Flavonoides Des Graines Caminum Cuminum Et Les Feuilles De Rosmarinus Officinalis Et L'évaluation De L'activité Biologique , Athamena Sauad ,(Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en biologie) ,Université El Hadj lakhdar-Batna (2008 ), P17 ,19
- [15] Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities, Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A.R., Simonic M., Knez Z Food chemistry, 2005, 89(2): 191-198.
- [16, Les phytonutriments bioactifs, Ed. Yves Dacosta,] Dacosta Y.Paris, 2003, p. 317.
- [17] Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in Escherichia coli, Effendi L., Yajun Y., Metabolic
- [18] Khanbabae K., Ree T. R., Tannins: Classification and Defenition, Journal of Royal Society of Chemistry, Journal of Royal Society of Chemistry, 2001, 18: 641-649.
- [19] Caractérisation physico-chimique et évolution du brunissement de la datte « D-N » au cours de la maturation. Thèse Mag. Yahiaoui K, 1999. I.N.A. El-Harrach
- [20] Caractérisation physico-chimique et évolution du brunissement de la datte « D-N » au cours de la maturation. Thèse Mag. Yahiaoui K, 1999. I.N.A. El-Harrach
- [21] Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Dacosta, E. (2003) Paris, 317p.
- [22] Konig M, Seholz E, Hartmann R, Lehmann W, Rimpler H. Ellagitannins and complex tannins from *Quercus patroae* bark. J. Nat. Prodcut. 1994, 57: 1411-15.
- [23] Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A. M., Le préparateur en pharmacie dossier, 2ème Ed. TEC&DOC, Paris, 2001, p. 275.
- [24] Khanbabae K., Ree T. R., Tannins: Classification and Defenition, Journal of Royal Society of Chemistry, Journal of Royal Society of Chemistry, 2001, 18: 641-649.
- [25] Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales –, 3ème Ed. Techniques et documentations, Bruneton J. Paris, 1999, p. 227-310-312-313-314, 494.
- Haslam E,1998. Preatical polyphénolics: from structure to molecular recognition and physiological action, Cambridge University press, Combridge
- [26] Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d''espèces du Genre Genista (Fabaceae) : G. saharae, G. ferox. Thèse de Doctorat en chimie organiques. BENAYACHE F.(2005). Université MentouriConstantine. Algérie. 199 p

- [27] ] Ficher, F. C., Van Doorne, H. Lim, M. I. et Svendsen, A. B. (1976), *Phytochemistry*, vol. 30, pp. 1078-1079.
- [28] Les plantes sources de médicaments phlébotropes, la lettre de la phlébologie. Hostettmann, K. (1992), Zyma SA, Nyon, 25
- [29] Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Bruneton, J. (1999) ,3eme édition, éditeur Technique et Documentation, Paris., 2001, p. 255.
- [30] Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. Richter, G. (1993), Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.
- [31] Alkaloids. Chemical and biological perspectives. Pelletier, S. W. (1983), Edition John Wiley, New York.
- [32] 1991- Chimie des substances odorantes. Technique et Documentation Lavoisier. . TEISSEIRE P.L, Paris : 298-299.
- [33]. - Physiologie végétale. HOPKINGS W.G. 2003,2ème Ed. Ed De Boeck. Espagne:139-276
- [34] phytochimie de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora*..Belbache H. 1994 Mémoire de magister en Chimie organique, université mentouri constantine: 15-16.
- [35] Saponins. Chemistry and pharmacology of natural products . Hostettmann K et Marston A., 1995.*Cambridge University Press*, Cambridge, isbn-10: 0521020174, p 1, 2
- [36] Les saponines de *Madhuca Longifolia* en tant que substances indésirables dans l'alimentation animale. EFSA., 2009. Avis du groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire .*The EFSA Journal*, 979, 2-3.
- [37] Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. . Augustin J.M., Kuzina Vera., Andersen S.B et Bak S., 2011. *Phytochemistry*, 72, 435–457.
- [38]
- Isolation of secretory cells from plant glandular trichonies and their use in biosynthetic studies of monoterpenes and other glan. Gerhenson J, McCaskill D., Rajaonarivony J., Mihaliak C., Karp F., Croteau R., 1991-
- [39] An unusual ribosomal DNA sequence from *Gossypium gossypoides* reveals ancient, cryptic, intergenomic introgression, WENDEL, J. F., A. SCHNABEL, T. SEELAN. 1995. *Molecular phylogenetics and Evolution*,4 (3) : 298-313
- [40] Bessas - Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. A., Benmoussa L. Kerarma M., 2007, Mémoire d'ingénieur enbiologie. université djillali liabes, (sidi bel-abbès): 14-17.

- [41] Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. Bruneton J., 1993. Lavoisier 2ème édition: 535-545.
- [42] Abrégé de phytochimie . Guignard J.L., Cosson L., Henry M., 1985. Ed Masson : 175-203.
- [43] induced de composition of lipide hydroperoxides to endogenous genotoxins. Seon Hwa, L., Oe, T. et Blair, I. A. (2001). V itamin C- Science 292(5524): 2083-2086.
- [44]. Guignard J.L., Cosson L., Henry M., 1985. Abrégé de phytochimie. Ed Masson : 175-203.
- [44] Chromatographie sur couche mince, K. Randeraim; (1971), éd. *Augustins*, 87-
- [45]. Castaneda-ovando A., Pacheco-Hernández M.L., Elena Páez-Hernández M.E., Rodríguez J.A., Carlos Andrés Galán-Vida C.A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chemistry*, 113(4): 859–871.
- [46] Evaluation of the Antimycotic Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Aesculus hippocastanum*—An In Vitro Study. Anitha et al. (2011).. *Int. J. Drug Dev. & Res. July-Sep2011*, 3(3), 335-338.
- [47] The isolation of aromatic materials from plant product, R.J. Brian M.L., 1995..
- [48] Extraction liquide-solide de Zn(II) en milieu acétate par des résines amberlite XAD imprégnée d'extractant organophosphoré , F. Zaoui, Thèse de magister. Tlemcen-Algérie, 2002. [22]. V. Camel, Solid Phase Extraction of traces elements, *Spectrochimica Acta Part B* 58, 2003, 1177–1233
- [49]An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and AromaticPlants. In: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) *Extraction Technologies,for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre For Science and High Technology,Trieste, Italy* , p :21-54.
- [50] Etude des profils bactériostatiques etbactéricides d'extraits végétaux vis-à-vis de germes pathogènes impliquees dans la contamination des denrées alimentaires d'origine animale. Bassole H.N., kabore Z.I., Traore A.S. (2001). *Pharm Méd Trad* : 113-122.
- [51] activité antibactérienne des polyphénols et flavonoïdes d'extraits à partir deux plantes médicinales : artémisia herba alba et ocimum basilicum sur escherichia coli et staphylococcus aureus. . Rihane K et Benlaharche R. (2013) *Mémoire de master université mentouri constantine*.
- [52] preliminary phytochemical test for plant extracts, MANJULIKA yadav, SANJUKTA chatterji,SHARAD kumar gupta and GEETA watal (2014) vol 6 ,issue 5,539-542 page 540