



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 غرداية

Université de Ghardaïa

كلية العلوم والتكنولوجيا

Faculté des Sciences et de la Technologie

قسم هندسة الطرائق

Département de Génie des Procédés

## Mémoire

Pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences et Technologie

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie Chimique.

## Thème

**Propriétés physico-chimie et biologique de l'extrait des feuilles  
de *Gossypium arboreum* et valorisation de leur déchet.**

Soutenue publiquement le 17/06/2021

Par

**LAKAS Manal**

**MEHAYA Hayat**

Devant le jury composé de :

Mr. BABA ARBI Ilias	MAA	Université de Ghardaïa	Encadreur
Dr. KHANE Yasmina	MCB	Université de Ghardaïa	Co-encadreue
Mr. Lakhedari Abdelhakim	MAA	Université de Ghardaïa	Examinateur
Mr. Adamou Youcef	MAA	Université de Ghardaïa	Examinateur

Année universitaire 2020/2021

## *Dédicace*

*Je le dédie ce travail :*

*À mes parents (HAFSA ET MOHAMED) Si je vous ai écrit mes remerciements dans une ligne d'or, je ne vous rembourserai pas une partie de vos efforts avec moi, merci Pour votre présence et votre soutien durant ces années d'études.*

*À toute ma famille (OMAR, MOHAMED TAHA MES GRAND PARENT Mes grands-mères Mes tantes et mes oncles).*

*A mon deuxième mère Tata KHADIDJA ABED.*

*À Mon professeur à l'école primaire MELAKH FATIMA qui était la raison de m'enseigner le premier ABC de l'étude.*

*À mon professeur AMINA BOUCHAREB qui a toujours participé à nous soutenir dans les moments difficiles de nos études.*

*À mes amis.*

*À tous ceux qui m'ont aidé dans carrière universitaire.*

**MANAL**

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à mes chers parents*

*A celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation*

*A ma mère*

*A celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les grands hommes*

*A mon père*

*A mes adorables sœurs : Samia, Malika, Amina, Fatima, Souad, Hadjer, Kaltoum, Mayloda, kanza.*

*A mes frères : Mouhamed lamine, Fares, Saïf, Azzedinne.*

*A les femmes de mes frères : Amel, Naïma.*

*A mes amies, surtout : Aïcha, Nadjet, Manal, Zineb, Djemaa, Saïda.*

*A mes tantes : Messaouda, Aïda.*

*A mes cousines : Fatima, Naïma, Khadija, Faïza.*

*et mes amies de toutes les 5 années du cursus*

**HAYAT**

## Remerciements

*Au terme de ce modeste travail, nous tendons à remercier "Allah" de nous donner le courage, la volonté, et la patience pour accomplir ce travail.*

*Je vous remercie à tous les membres du jury qui nous faire l'honneur de juger ce modeste travail. Cette mémoire n'aurait pas pu être réalisée sans la contribution de nombreuses personnes que nous tiens à remercier par ces quelques lignes.*

*D'abord, Je tiens avant tout à exprimer nous reconnaissance à Mr ILYAS BABA ARBI pour avoir accepté de nous encadrer dans cette étude. Nous la remercions pour son implication, son soutien et ses encouragements.*

*Nous remercier notre Co-encadreur, Melle YASMINA.KHANE maître d'assistant à l'université Ghardaïa, sans lui cette mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Nous adressons nos remerciements aux ingénieurs du laboratoire de labo Chimie et biologie « Djâbir et Imane, Hicham, Bachir... » qui nous a aidés à la réalisation de la partie pratique de notre mémoire.*

*Un grand merci à tous les profs de spécialités génies des procédés à l'université Ghardaïa « HELALI NAIMA, KHALED MANSOURI, ABD ELHAKIM LAKHDARI, YUCEF ADAMOU, HAMED BOUKHARI, SALAH AGOUN, AMAL TRABELSI, FARID TOUAITI, SOUAD KHAZEN, KARIMA MOULAI, IMANE RAACHE et Mme BOUAMER ... »*

*Merci à Travaillleurs de l'administration (SALIHA, HAKIMA, ABD ELFATAH, MOHAMED, KARIM) et aussi Merci aux bibliothécaires universitaires qui ont toujours partagé avec nous tous les moments heureux et aussi difficiles de notre carrière universitaire.*

*Merci à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de ce travail, et que je ne peux citer individuellement.*

## Résumé :

Le Cotonnier est connu depuis l'antiquité par ses multiples utilisations, compte tenu de l'intérêt que réserve la plupart des peuples du monde à ses fibres, nous avons décidé de faire une valorisation de l'une de ces parties négligées, à savoir les feuilles par une étude physico-chimie et bactériologique de l'extrait des feuilles de *Gossypium arboreum* et teste l'efficacité de leur déchet récupéré après l'extraction pour l'adsorption d'un colorant. L'étude phytochimique a révélé la présence de cinq grands groupes chimiques : les tanins, les alcaloïdes, les flavonoïdes les saponosides et les terpènes. L'extraction est réalisée en utilisant plusieurs solvants (Acétate d'éthyle et l'éther de pétrole et Chloroforme et n-butanol) par macération et on a identifié leurs propriétés physico-chimiques (teneur en eau, acidité, ...). Puis, nous avons testé l'activité antioxydante de différents extraits avec la méthode de réduction de DPPH et l'activité antibactérienne avec la méthode de diffusion par disque sur 3 souches bactérien, une bactérie gram positive (*Staphylococcus aureus*) et deux bactéries gram négative (*Escherichia coli*, *pseudomonas aeruginosa*) et un fungi (*candida albicans*). L'étude de l'activité antibactérienne a révélé une efficacité biologique moyenne varie selon le type des extraits.

**Mots clés :** *Gossypium arboreum*, solvant, antioxydant, antibactérienne, analyse physique chimique

## Abstract :

Cotton has been known since antiquity for its multiple uses, taking into account the interest that most peoples of the world has in its fibers and leaves, in this study, we have decided to make a valuation of one of these neglected parts, namely the leaves, by physicochemical and bacteriological studies the extract of the leaves of *Gossypium arboreum* and tests the effectiveness of their waste recovered after the extraction for the adsorption of dyes. The phytochemical studies checked out the presence of five major chemical groups: tannins, alkaloids, flavonoids, Saponosides, and terpenes. The extraction is carried out by using several solvents (ethyl acetate, petroleum ether, chloroform, and n-butanol) by maceration and their physicochemical properties have been identified (water content acidity ... etc.) After that, we tested the antioxidant activity of different extracts with the DPPH reduction method and the antibacterial activity with the method broadcast by disc on 3 bacterial strains, one gram-positive bacterium (*Staphylococcus aureus*) and two gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) and the fungus (*Candida albicans*). The study of the

antibacterial activity revealed average biological effectiveness varies according to the type of extracts.

**Key word:** *gossypium arboreum*, solvent, antioxidant, antibacterial, chemical physical analysis

## المخلص:

اشتهر القطن منذ العصور القديمة باستخداماته المتعددة، مع الأخذ في الاعتبار الاهتمام الذي يبديه معظم شعوب العالم بأليافه، فقد قررنا إجراء تقييم لأحد هذه الأجزاء المهمة، ألا وهو الأوراق من خلال دراسة فيزيائية وكيميائية وبكتريولوجية. من مستخلص أوراق نبات الجوسيبيوم أربوريوم واختبارات فعالية فضلاتها المستعادة بعد استخلاصها لامتناس الصبغة. كشفت الدراسة الكيميائية النباتية عن وجود خمس مجموعات كيميائية رئيسية هي التانينات، والقلويدات، والفلافونيدات، والصابونوزيدات، والتربينات. يتم الاستخلاص باستخدام العديد من المذيبات (أسيئات الإيثيل والأثير البترولي والكلوروفورم و n- بيوتانول) عن طريق النقع وقد تم تحديد خصائصها الفيزيائية والكيميائية (محتوى الماء، الحموضة، إلخ). بعد ذلك قمنا باختبار فعالية مضادات الأكسدة لمستخلصات مختلفة باستخدام طريقة تقليل DPPH والنشاط المضاد للبكتيريا بطريقة الانتشار القرصي على 3 سلالات بكتيرية، بكتريا موجبة واحدة (*Staphylococcus aureus*) واثنين من البكتيريا سالبة (*Escherichia coli*، *pseudomonas aeruginosa*) الفطريات (المبيضات البيضاء). كشفت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا أن متوسط الفعالية البيولوجية يختلف باختلاف نوع المستخلصات.

**الكلمات المفتاحية:** الجوسيبيوم أربوريوم، مذيب، مضاد للأكسدة، مضاد للجراثيم، تحليل كيميائي فيزيائي.

## Liste de tableaux :

Tableau 1 : Position systématique.....	7
Tableau 2 : Classification génétique de Gossypium.....	8
Tableau 3 : Composition chimique des parties de gossypium.....	8
Tableau 4 : Gossypium arboreum.....	11
Tableau 5 : Comparaison entre les métabolites primaires et les métabolites secondaires	16
Tableau 6 : Classification des terpénoïdes.....	21
Tableau 7 : Différentes applications de l'extraction liquide-liquide dans les industries..	25
Tableau 8 : principales différences entre les deux types d'adsorption .....	32
Tableau 9 : Propriétés de vert malachite.....	34
Tableau 10: Appareils et instruments .....	40
Tableau 11 : Produits utilisé .....	41
Tableau 12 : Avantages et inconvénients de quelques solvants d'extraction .....	41
Tableau 13 : Photochimie de les feuilles Gossypium arberum.....	51
Tableau 14 : Criblage des sels minéraux .....	63
Tableau 15 : Les résultats des analyses physico-chimiques .....	66
Tableau 16 : les tests phytochimique.....	70
Tableau 17 : criblage des sels minéraux .....	74
Tableau 18 : l'activité antibactérienne des différents extraits .....	79

## Liste de figure :

Figure 1 : Identification des caractéristiques de la famille des malvacées Parmi les plantes les plus importantes de cette famille : le gombo ; Hibiscus ; Malva rotundifolia; Althea; Gossypium. ....	5
Figure 2 : arbre de coton .....	6
Figure 3 : Répartition de coton dans le monde .....	6
Figure 7 : Gossypium arboreum .....	9
Figure 7 : Gossypium albescens .....	9
Figure 7 : Gossypium hirsutum .....	9
Figure 7 : Gossypium barbadense.....	9
Figure 8 : cycle de vie.....	10
Figure 9 : stades de croissance de plante .....	10
Figure 10 : Représente les constituants des parties de la plante étudiée.....	12
Figure 11 : Exemple de composés phénoliques.....	18
Figure 12 : exemple de flavonoïde.....	18
Figure 13 : Extraction simple.....	28
Figure 14 : Extraction à courant croisés .....	28
Figure 15 : Extraction à contre-courant .....	29
Figure 16 : vert de malachite .....	33
Figure 17 : organigramme descriptif de la méthodologie de travail.....	37
Figure 18 : Carte géographique de la zone d'étude a) la wilaya de Ghardaïa b) la région de gurara (Google map, 2021). ....	38
Figure 19 : Le site d'échantillonnage des feuilles de gossypium arboreum.....	39
Figure 20: photo des feuilles avant et après broyage.....	42
Figure 21 Préparation de l'extrait méthanol/eau de poudre des feuilles de gossypium arboreum .....	43
Figure 22 : Protocole de préparation de la poudre de feuilles de gossypium arboreum..	43
Figure 23: procéder de la manière .....	44
Figure 24: Protocole de préparation de l'extrait de poudre des feuilles de gossypium arboreum .....	45
Figure 25: a) éliminations du méthanol avec rota vapeur b) l'extrait récupéré .....	48



Figure 26: Dosage des polyphénols .	49
Figure 27 : Mécanisme de réaction de chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes.....	50
Figure 28 : Type des bactéries .....	54
Figure 29: Méthode de la diffusion en disque. ....	59
Figure 30 : les solutions préparées de verte malachite .....	59
Figure 31 : Déchet des feuilles de coton.....	60
Figure 32 : Spectrophotomètre UV visible de type Thermo Fisher Scientific (UviLine 9400C).....	61
Figure 33 : Spectre d'adsorption du vert malachite en solution aqueuse. ....	62
Figure 34 : courbe d'étalonnage .....	63
Figure 35 : la différence d'extraits.....	66
Figure 36 Taux d'humidité .....	67
Figure 37 : Variation de coefficient d'extinction spécifique $K_{232}$ et $K_{270}$ .....	68
Figure 38 : Teneurs en chlorophylles et carotènes exprimées en ppm de l'échantillon étudié.....	70
Figure 39 : Décoloration de la solution du DPPH du violet en jaune.....	75
Figure 40 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH des échantillons testés.....	75
Figure 41: histogrammes des valeurs de IC50 des échantillons testés en mg/ml et mg d'acide ascorbique/ml d'extrait L'activité antioxydante des feuilles est exprimée en IC <sub>50</sub> . .....	76
Figure 42 : dégradation de colorant de DPPH .....	77
Figure 43 : Diamètre des zones d'inhibition de l'activité microbienne des extraits préparés .....	80
Figure 44 : effet de temps de contact sur l'adsorption de verte malachite avec le déchet de l'extraction .....	82
Figure 45: Effet de la masse de déchet sur l'adsorption de verte malachite.....	83

## Liste des annexes :

Annex 1 : Biogeography of Gossypium.....	90
Annex 2 : Protocole d'extraction liquide-liquide à l'aide d'une ampoule à décanter .....	91
Annex 3 : taux d'humidité .....	92
Annex 4 : Détermination du pH.....	92
Annex 5 : Préparation des extraits .....	93
Annex 6 : Bactérienne.....	93
Annex 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques .....	94
Annex 8 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des Dosage des flavonoïdes.....	94
Annex 9 : : Courbe d'étalonnage de l'acide caféique pour le dosage des Dosage des Ortho-diphénol.....	95
Annex 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.....	95
Annex 11 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique. ....	96
Annex 12 : l'étape d' adsorption.....	97
Annex 13 : Activité antioxydant.....	98
Annex 14 : rata vapeur.....	100
Annex 15 : les vortex .....	100
Annex 16 : UV visible .....	100

## Liste des abréviations :

**DPPH** : radical 1, 1-Diphényl-2 picrylhydrazyl

**KOH** : Hydroxyde de potassium

**NaOH** : hydroxyde de soude

**Abs**: Absorbance.

**Eq AA** : équivalent d'acide ascorbique.

**Eq G**: Equivalent d'acide gallique.

**Eq C** : Equivalent en Catéchine.

**Eq Q** : Equivalent en Quercétine.

**pH** : Potentiel d'Hydrogène

**µl** : Microlitre.

**M** : Molaire (mol/l).

**t** : Temps.

**TR** : Taux de Réduction bactérienne.

**pH** : Potentiel d'Hydrogène

**nm** : Nanomètre

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice de 50 % de la population cellulaire

## Liste de Terminologie

**Soluté** : constituant à extraire

**Diluant** : liquide contenant les solutés

**Solution** : ensemble soluté + diluant

**Solvant** : liquide destiné à extraire les solutés

**Extrait** : phase issue de l'opération contenant les solutés extraits. Cette phase est riche en solvant.

**Raffinat** : phase résiduelle épuisée en soluté. Cette phase est riche en diluant.

**Phase lourde** : phase ayant la plus grande masse volumique.

**Phase légère** : phase ayant la plus faible masse volumique.

**Phase aqueuse /Phase organique** : ces termes sont liés à la nature du solvant et du diluant.

The background of the slide is a photograph of a plant with green, serrated leaves and several white flowers. Some flowers are in full bloom, while others are still in bud. The lighting is natural, suggesting an outdoor setting.

## **Table des matières**

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des Annex

Abréviation

Liste de Terminologie

INTRODUCTION

### CHAPITRE I: Généralité sur la gossypium

I. INTRODUCTION .....	4
II . Le coton .....	4
II.1. La famille de Malvacée .....	4
II.2. Description de la famille malvacées .....	4
II.3. Description de Le cotonnier, l'or blanc.....	5
II.4. Origine et répartition géographique de coton .....	6
III. généralité sur la gossypium .....	7
III.1. Description de <i>gossypium</i> .....	7
III. 2. Composition chimique .....	8
III. 3. Les quatre types de coton domestiqués .....	9
III. 4 . Cycle de vie .....	10
IV. <i>Gossypium arboreum</i> .....	11
IV .1. Descriptions botaniques de <i>Gossypium arboreum</i> .....	11
IV .2. L'importance des feuilles pour les plantes en général et pour le <i>Gossypium arboreum</i> en particulier .....	13
V. Utilisations du cotonnier .....	13

### CHAPITRE II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

I. Introduction .....	15
-----------------------	----

II. Généralités sur les métabolites .....	15
II.1. Un métabolite primaire .....	15
II.2. Les métabolites secondaires .....	15
II.3. Comparaison entre les métabolites primaires et les métabolites secondaires .....	16
II. Les métabolites secondaires .....	17
II.1. Classifications et fonctions des métabolites secondaires .....	17
III.1. 1 Les composés phénoliques des plantes .....	17
II .1. 2 Les composés azotés .....	19
II .1 .3 Les terpènes .....	20
II.2 Le rôle d'une métabolite secondaire .....	21
III. Généralité sur les méthodes d'extraction .....	22
IV. Les méthodes d'extraction .....	23
IV .1. Extraction solide liquide .....	23
IV .1.1. Principe de L'extraction solide-liquide .....	23
IV .1.2. Etapes d'une extraction liquide-solide .....	23
IV .1. 3. Domaines d'applications de l'extraction liquide-solide .....	24
IV .2. L'extraction liquide-liquide .....	24
IV .2.1. Les étapes d'extraction liquide-liquide .....	24
IV .2.2. Principe de l'extraction liquide-liquide .....	25
IV .2.3. Application de L'extraction liquide-liquide .....	25
IV .2.4. Avantage et inconvénient de l'extraction Liquide-Liquide .....	26
V. Les solvant .....	26
V.1. Choix du solvant .....	27
V.2. Classification des solvants .....	27
V.3. Différentes méthodes d'extraction au solvant .....	27
V.3.1. Extraction simple .....	27
V.3.2.Extraction multiple .....	28

**CHAPITRE III : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction**

I. Introduction .....	31
II. Définition d'adsorption .....	31
III. Types d'adsorption .....	31
III.1. Physisorption .....	31
III.2. Chimisorption .....	31
IV. Les colorant .....	32
IV.1. Classification des colorants .....	32
IV.1.1. classification chimique .....	32
IV.1.2. Classification tinctoriale .....	33
IV.2. Définition de vert malachite .....	33
IV.3. Propriétés de vert malachite .....	33
V. Cinétique d'adsorption .....	34
V. 1. Les étapes de la cinétique d'adsorption .....	34
VI. Domaine d'application de l'adsorption .....	35

#### **CHAPITRE IV : Materials et méthodes**

I. Objectifs du travail .....	36
II. Matériel végétal .....	38
II.1. Appareils et Produits .....	40
II.1.1. Appareils et instruments .....	40
II.1.2. Produits .....	41
III. Etude physicochimiques .....	42
III.1. Echantillonnage et extraction .....	42
III.1.1. Préparation de la poudre des feuilles de <i>gossypium arboreum</i> .....	42
III. 1.2. Extraits aqueux de poudre de <i>gossypium arboreum</i> .....	42
IV. Caractérisation physico-chimique des poudres de feuille obtenue .....	46
IV.1. Détermination de taux d'humidité la poudre (AFNOR, 1982) .....	46
IV.2. Détermination du pH .....	46
IV.3. Détermination de l'acidité titrable .....	46
IV.4. Détermination du coefficient d'extinction spécifique .....	47
IV.5. Extraction des composés phénoliques .....	48



IV.5.1. Préparation des extraits .....	48
IV.5.2. Dosage des composés phénoliques .....	49
V. Evaluation de l'activité antioxydante avec la méthode de DPPH .....	51
VI.Photochimie des feuilles <i>Gossypium arberum</i> .....	51
VII.Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique .....	53
VII.1.la méthode de diffusion sur Agar .....	53
VII.1.1. Généralité sur les bactéries « les fungi » .....	54
VIII.Adsorption de vert malachite .....	59
VIII.1. Préparation de solution de verte malachite .....	59
VIII.2.Préparation de biosorbant.....	59
VIII.3.Le protocole expérimental de l'adsorption .....	60
VIII.4.Spectrophotomètre UV-Visible .....	61
VIII.5.Préparation de courbe d'étalonnage .....	62
VIII.6.Criblage des sels minéraux .....	63
<b>CHAPITRE V: résultat et discussion</b>	
I.Préparation des extraits .....	65
II.Screening physico-chimiques .....	66
II.1. Caractérisation physico-chimique de poudre et l'extrait de la poudre des feuilles de <i>Gossypium arboreum</i> .....	66
III. Détermination de la teneur en pigments .....	69
IV.Constituants biochimiques avec les tests phytochimique .....	70
V. Extraction des composés phénoliques .....	72
v.1.Rendement de l'extraction méthanoïque.....	72
VI.Discussion de criblage des sels minéraux .....	73
VII.L'activité biologique de différent extrait des feuilles <i>gossypium arberum</i> .....	74
VII.1. L'évaluation de l'activité antioxydante .....	74
VII.2.L'évaluation de l'activité antibactérienne .....	78
VIII. Discussion d'adsorption .....	82

**Conclusion**

Référence et bibliographique

Annexes

The background of the slide is a photograph of a plant with green, serrated leaves and several white flowers. Some flowers are in full bloom, while others are still in bud. The lighting is natural, and the overall scene is a close-up of the plant's foliage and blossoms.

## **Introduction générale**

# Introduction

---

## Introduction :

Aujourd'hui le monde possède une flore riche et peu valorisée. Parmi cette végétation qui se raréfie, on trouve les plantes médicinales. Ces plantes sont valorisées d'un point de vue de leur potentiel chimique et biologique. <sup>(1)</sup>

Les plantes de La famille de Malvacée, c'est une famille de plantes dicotylédones comprenant 1 000 espèces réparties en plus de 100 genres elles sont prometteuses et constituent une grande source d'antioxydants et d'antibactériens naturels pour l'industrie pharmaceutique. En effet, La présence d'antioxydants dans l'élément médicinal est devenue essentielle pour obtenir la haute qualité et la sécurité d'humanité. <sup>(2)</sup>

Le cotonnier est le plus important groupe de plantes à fibres au monde. Il a été découvert au Pakistan dans l'Ancien Monde et fait probablement référence à *Gossypium arboreum* ; on estime qu'elle date d'environ 2300 ans avant J.-C<sup>(3)</sup>

Le coton est caractérisé par la biosynthèse de molécules qui constituent ce qu'on appelle l'extrait connu depuis longtemps pour leur activité antiseptique et thérapeutique dans la médecine populaire. La composition chimique des extraits est assez complexe et la nature de la fonction chimique du composé majoritaire (phénol, alcool, aldéhyde, cétone...) joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de leurs activités biologiques. <sup>(4)</sup>

Ceci nous a amené à nous pencher sur l'étude des activités biologique, antioxydant et antimicrobienne d'extraits de la plante de *Gossypium arboreum*. Cette espèce est cultivée en Asie et fréquemment utilisé en médecine traditionnelle africaine. Ses propriétés sont inestimables non disponibles chez d'autres espèces, telles que : la résistance aux maladies et la tolérance naturelle au stress. <sup>(5)</sup>

Dans le but de recyclage ces déchets, le reste de déchet récupérer après la préparation de l'extraction des feuilles de coton, peut valoriser pour fabriquer un adsorbant naturel, efficace, économique et moins polluants la purification des eaux. Par ailleurs, la valorisation des déchets de transformation des agro-ressources permet non seulement d'alléger l'impact écologique en

# Introduction

---

minimisant la pollution mais aussi de proposer de nouvelles opportunités permettant un développement économique durable de nombreux secteurs.

Le présent travail comprend quatre parties :

- La première partie est consacrée à la revue bibliographique ;
- La deuxième partie à la présentation du matériel et des méthodes d'études utilisées ;
- La troisième partie présente les résultats expérimentaux ;
- Enfin la quatrième partie concerne la discussion à la quelle fait suite la conclusion générale, et les références bibliographiques.



**Généralité sur**  
*Gossypium arboreum*

# Chapitre I : Généralités sur le gossypium

---

## I. INTRODUCTION :

Les humains ont toujours utilisé des fibres de coton asiatiques avant que son efficacité médicinale ne soit découverte, alors que de nos jours, les fibres ont été transformés en un tissu luxueux et doux porté par les présidents du Cameroun et donné en dot à la mariée, ce qui indique sa haute qualité. <sup>(6)</sup>

## **II . Le coton :**

Le coton est une plante vivace qui appartient à la famille des Malvacées, constitue une source de matières premières variées. On utilise ses racines, ses feuilles, ses fleurs, ses fruits et ses graines. Il existe plus de 50 types de cotonniers répartis dans le monde entier. <sup>(7)</sup>

### **II.1. La famille de Malvacée :**

Cette famille est comprenant 1 000 espèces réparties en plus de 100 genres. Elle est très importante à la fois sur le plan nutritionnel et sur le plan médical, et il y a aussi beaucoup de plantes ornementales comme Hibiscus. <sup>(8)</sup>

Ou du point de vue industriel on obtient le coton, qui contient des fibres utilisées dans de nombreuses industries textiles.

### **II.2. Description de la famille malvacées :**

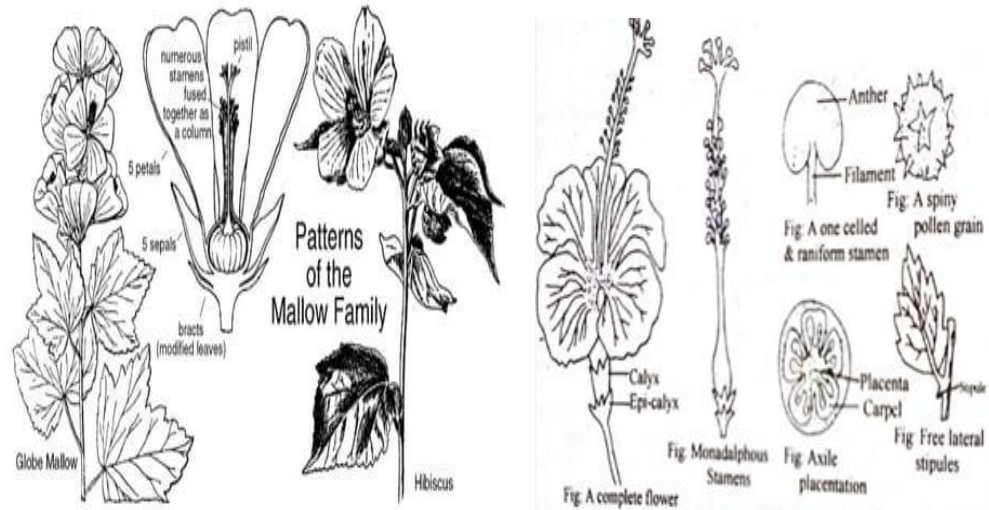
Comme mentionné précédemment, la famille de Malvacée se propage surtout dans les régions chaudes, et ce sont soit des arbustes, soit des plantes herbacées, les chercheurs ont longtemps remarqué du mucus dans ses tissus

Nous pouvons diviser ce type de plantes en plusieurs parties :

- ✓ Les feuilles : généralement grande taille avec un simple forme découpée
- ✓ La fleur : est régulière et inférieure, et elle se compose de 3 petites feuilles en coton
- ✓ La corolle : Partie de la fleur formée par l'ensemble de ses 5 pétales.
- ✓ Le pollen : de forme plus ou moins ovoïde, initialement contenus dans l'anthere à l'extrémité des étamines
- ✓ Gynoecium : C'est la partie de la fleur qui produit les ovules, qui à leur tour se transforment en fruits et en graines.

## Chapitre I : Généralités sur le gossypium

- ✓ Le fruit : est une structure de la plante qui contient des graines et les répand, notamment dans les enveloppes de graines, résultant de la croissance de l'ovaire et de ses transformations. <sup>(9)</sup>



**Figure 1** : Identification des caractéristiques de la famille des malvacées Parmi les plantes les plus importantes de cette famille : le gombo ; Hibiscus ; Malva rotundifolié ; Althéa ; Gossypium. <sup>(E.1)</sup>

### II.3. Description de Le cotonnier, l'or blanc :

Le cotonnier se distingue par ses feuilles lobées et ses grandes fleurs de différentes couleurs (jaune-blanc ...)

Les graines de coton sont conservées dans 4-5 compartiments, ces compartiments forment leurs fruits, le nombre de graines est de 5 à 8 graines dans chaque fruit.

Les racines de coton pénètrent profondément dans le sol et peuvent dépasser 2 mètres <sup>(10)</sup>





Figure 2 : arbre de coton

### II.4. Origine et répartition géographique de coton :

L'utilisation de coton par l'homme pour son habillement ou tout autre usage remonterait à la préhistoire ; le premier tissu en coton produit dans le monde daterait d'environ 3200 ans avant Jésus Christ. Aujourd'hui, 1 vêtement sur 2 vendu dans le monde est en coton ! <sup>(11)</sup>

Au nord-ouest de la Chine, la province du Xinjiang est le plus gros producteur mondial de coton. Il s'agit d'une région rurale et reculée du pays. Là-bas, les champs de coton se succèdent sur des milliers d'hectares. Tout a commencé il y a 50 ans, quand le leader Mao a décidé de développer l'industrie du coton en envoyant des milliers de chinois de l'Est coloniser le Xinjiang ; Cette plante se trouve généralement en Egypte, en Inde, en Chine et en Asie centrale... <sup>(12)</sup>



Figure 3 : Répartition de coton dans le monde <sup>(E.2)</sup>

# Chapitre I : Généralités sur le gossypium

---

## III. généralité sur la gossypium :



**Position systématique :**



Tableau 1 : Position systématique

Nom scientifique :	Gossypium
Nom connue (commercialisée) :	Cotonnier
Règne :	Plante
Sous règne :	Tracheobionta
Branchement :	Eudycotyledones
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopside
Sous classe :	Dillenidoe
Ordre :	Malvales
Famille :	Malvacées
Genre :	Gossupium
Espèce :	Arboreum.L
Tribu :	Hibisceae

### III.1. Description de gossypium :

Élément connu de la famille des malvacées ; C'est une plante vivace à longue durée de vie trouvée dans les climats arides tropicaux et subtropicaux caractérisés par les pluies de mousson, Il existe plus de 50 espèces : 46 d'entre eux sont diploïdes. <sup>(13)</sup>

Les scientifiques ont regroupé ces espèces génétiquement diploïdes en groupes évolutifs distincts appelés génomes, Cette classification était basée sur la similitude de la taille et de la structure du chromosome à l'aide de lettres alphabétiques de A à K. <sup>(14)</sup>

## Chapitre I : Généralités sur le gossypium

Tableau 2 : Classification génétique de *Gossypium*

Génomes	Emplacement principal	Espèce
A	Afrique/ Asie	2
B et F	Afrique	4
E	Arabe monde	7
C, G et K	Australie	17
D	Nouveau monde	13

### III. 2. Composition chimique :

Tableau 3 : Composition chimique des parties de *gossypium*

Composition chimique de la fibre de <i>gossypium</i>		Composition chimique des grains de <i>gossypium</i>		Composition chimique des feuilles de <i>gossypium</i>
Cellulose	95.00 %	Eau	7-14 %	Pectine
Protéine	1.6 %	Huile	15-25 %	Cellulose
Cire	0.9 %	Protein	15-27 %	Lignine
Sucre physiologies	0.3 %	Glucides	22-30 %	Calcium
Autre	2.2 %	Cellulose	14-22 %	Potassium
				Sodium
				Magnésium
				Soufre
				Phosphore

## Chapitre I : Généralités sur le gossypium

### III. 3. Les quatre types de coton domestiqués :

Depuis l'Antiquité, l'humanité a connu 4 principaux types de coton, On dénombre une trentaine d'espèces sauvages et quatre espèces cultivées : <sup>(E. 3)</sup>



**Figure 7 :** *Gossypium arboreum*

Syn: *Gossypium obtusifolium*, *Gossypium figarei*

**Distribution :** Amérique du sud, naturalisé ailleurs (régions tropicales). Cultures.



**Figure 7 :** *Gossypium albescens*

Syn: *Gossypium albescens*

**Distribution :** Asie, naturalisé ailleurs (régions tropicales). Cultures, friches



**Figure 7 :** *Gossypium barbadense*

Syn : *Gossypium acuminatum*,  
*Gossypium jumelianum*, *Gossypium frutescens*

**Distribution :** Amérique du sud, naturalisé ailleurs (régions tropicales à



**Figure 7 :** *Gossypium hirsutum*

Syn : *Gossypium mexicanum*

**Distribution :** Asie, naturalisé ailleurs (régions tropicales). Cultures, friches

# Chapitre I : Généralités sur le gossypium

## III. 4 . Cycle de vie :

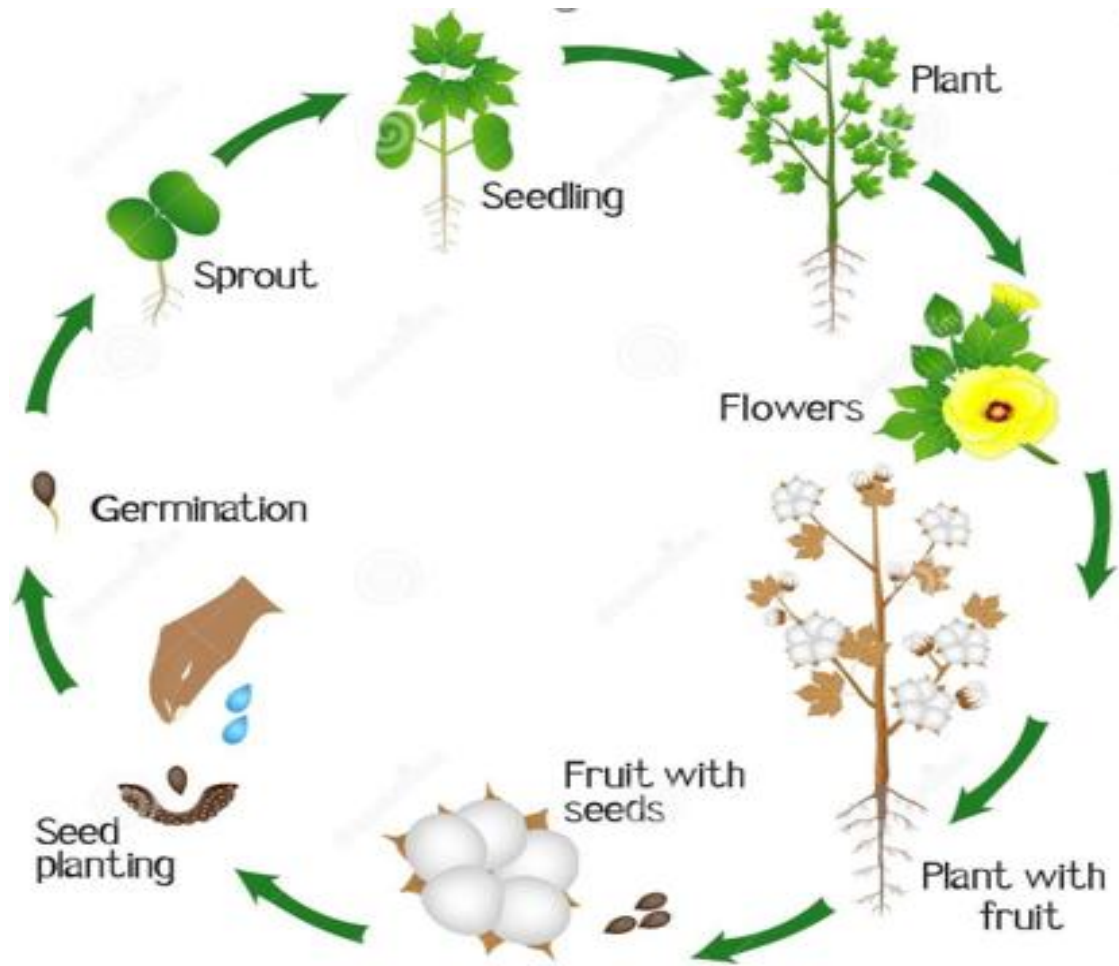


Figure 8 : cycle de vie <sup>(E. 4)</sup>



Figure 9 : stades de croissance de plante <sup>(E.5)</sup>

## Chapitre I : Généralités sur le gossypium

---

**IV. *Gossypium arboreum* :** Cette espèce est cultivée en Asie. Ses propriétés sont inestimables non disponibles chez d'autres espèces, telles que : la résistance aux maladies et la tolérance naturelle au stress. Ce qui a poussé les chercheurs à réfléchir sérieusement à en transférer les caractéristiques au reste de l'espèce, il constitue environ 4,3 % de la superficie globale du coton. <sup>(15)</sup>

Tableau 4 : *Gossypium arboreum*

Gossypium Arboreum	
Génome	A-diploïde
Hauteur de la plante	2-3 m Grand et maigre
Forme	Arbre avec de longues branches
Fleurs	Jaune avec une tache violette devenant complètement rouge ou violette
Longueur de fibre mm	9.5-25
Production mondiale	<2%

### IV .1. Descriptions botaniques de *Gossypium arboreum* :

- Arbuste à feuilles persistantes
- Hauteur : 2- 3 mètre
- Racine : jusqu'à 2,1 m de profondeur dans le sol avec des racines latérales denses se ramifiant
- Tige : une tige lisse, herbeuse, cylindrique, verte dans les premiers stades de croissance, puis durcit après maturation. La longueur de la tige varie entre 70 et 180 cm.
- Glandes : qui sont de deux types, les glandes internes et les glandes externes
- Fleur : simple, pentagonale, régulière, asymétrique, hermaphrodite, 8,2 cm de diamètre, changeante avec changement de type (longueur 25 mm)
- La graine : est de forme circulaire, de couleur brun foncé avec une tendance au noir. Ils portent du coton et des poils duveteux sur leur surface externe Les graines contiennent une huile à 30,20 % Il contient 20 % du gossypol c'est une substance toxique.

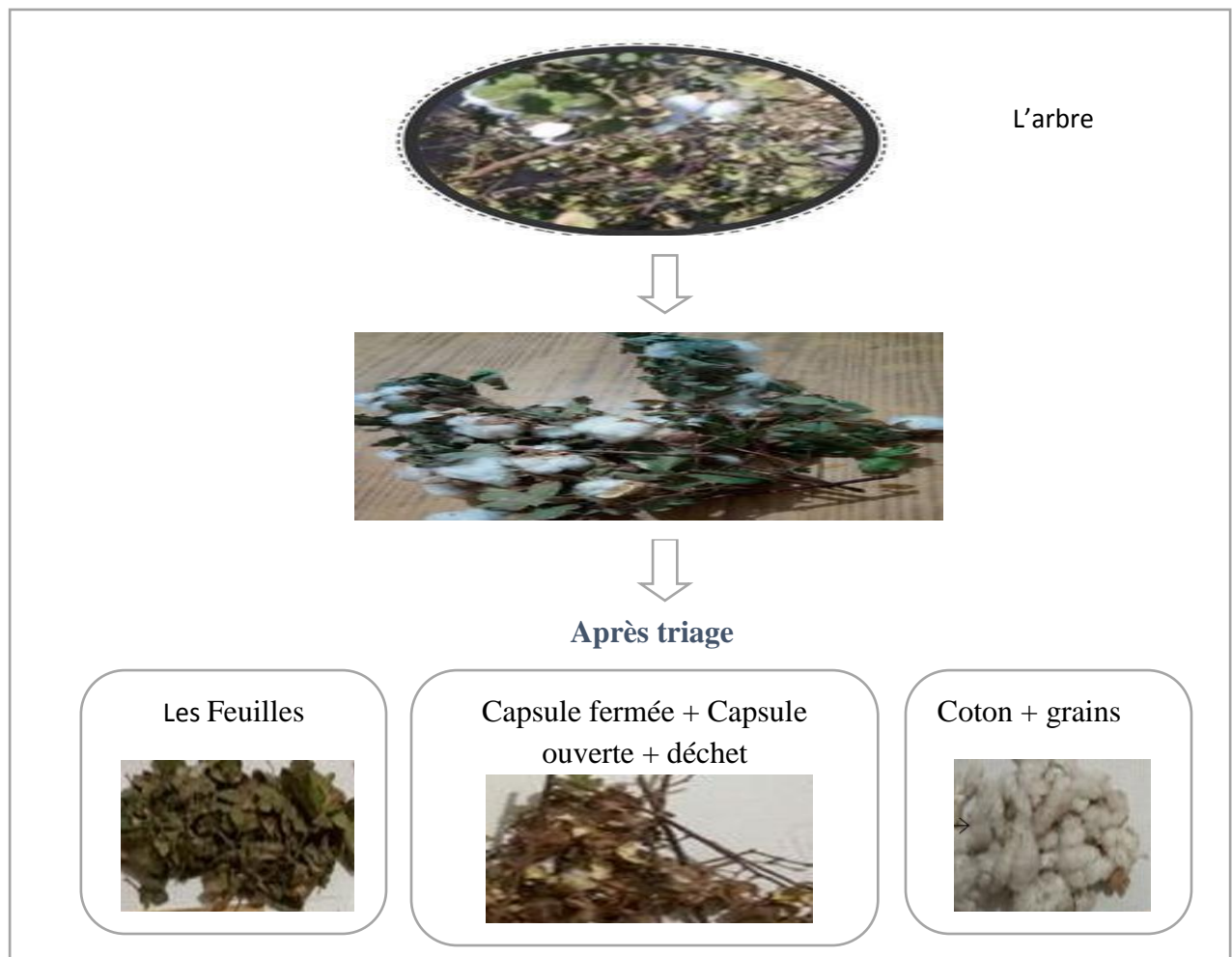
## Chapitre I : Généralités sur le gossypium

- Le fruit : est une boîte avec un couvercle épais composé de 3 à 5 compartiments qui ne s'ouvrent que 50-60 jours après la fécondation (longueur = 30 mm)
- Les fibres : sont une extension des cellules épidermiques de la graine sous la forme d'un long tube avec des parois allant du blanc brillant au blanc rougeâtre.
- Feuilles : les chercheurs ont comparé les feuilles du cotonnier aux feuilles de palmier elles apparaissent à la fin de chaque nouvelle branche et à côté de chaque fruit créé.

Ce sont des feuilles simples, à bords pleins, lobées et peu poilues

La couleur de la feuille est vert clair ou vert foncé. La feuille a généralement 5-6 petites feuilles

La forme de la feuille de la plante indique le type de coton et son groupe auquel elle appartient, elle nous aide à évaluer la qualité du coton, ce qui contribue à la réforme de la variété de coton. <sup>(16)</sup>



**Figure 10** : Représente les constituants des parties de la plante étudiée

## Chapitre I : Généralités sur le gossypium

---

### IV .2. L'importance des feuilles pour les plantes en général et pour le *Gossypium arboreum* en particulier :

Les feuilles sont la station de production d'énergie dans les plantes. Elle fournit à la plante l'énergie nécessaire pour grandir, produire des fleurs et former des graines.

La photosynthèse se déroule à son niveau, Chaque fois que la feuille est large et plat, cela lui permet de capter le maximum de lumière solaire, de conserver l'eau et de s'accrocher à la surface pour maintenir sa stabilité et son équilibre.

Parmi les rôles importants de cette partie vitale de la plante, nous mentionnons :

- Une nourriture végétarienne sûre pour de nombreux animaux.
- Maintient l'humidité des tiges et aide à protéger les plantes contre les insectes et la variabilité climatique
- Un miroir qui reflète la santé des plantes
- La principale et unique source d'oxygène que respirent les êtres vivants
- L'homme a utilisé les extraits de feuilles des plantes dans le traitement de santé <sup>(17)</sup>

### V. Utilisations du cotonnier :

- ✓ Il est utilisé dans le tissage textile, la fabrication de fils et cordes à coudre, de filets de pêche ;
- ✓ Rembourrage pour les automobiles, des explosifs, des plastiques et de la pellicule photo en panneaux de particules agglomérées au ciment ;
- ✓ L'industrie du papier pour la production de papier à écrire, d'édition et de dessin de la plus haute qualité ;
- ✓ L'huile de coton est utilisée dans la cuisine et dans la fabrication de produits alimentaires tels que la mayonnaise, la margarine et les salades ;
- ✓ Industrie du savon et des cosmétiques ;
- ✓ Lubrifiants et revêtements de protection ;
- ✓ Un mélange d'huile de coton et d'huile diesel peut également être utilisé dans les moteurs diesel ;
- ✓ Nourrir le bétail avec de la poudre de graines de coton ou des feuilles, en tenant compte de leur insensibilité au gossypol toxique ;



## Chapitre I : Généralités sur le gossypium

---

- ✓ Faire du compost agricole ;
- ✓ Utilisez des tiges sèches comme combustible domestique ;
- ✓ Teinture fleur utilisée pour colorer la peau de chèvre et le fil de coton ;
- ✓ La décoction de racine empêche les fausses couches ;
- ✓ Traitement du système lymphatique, prévention des saignements et antitumoral également ;
- ✓ Le jus de feuilles prévient la constipation, traite les nausées et les vomissements, traite les ulcères et traite la fièvre typhoïde ;
- ✓ Utilisez les feuilles chauffées comme pansement pour les maux de tête ;
- ✓ Diurétique et contrôle des naissances pour les hommes ;
- ✓ Il est utilisé pour la filtration et est un ingrédient dans les shampooings, le lait des babies et les déodorants ;
- ✓ Traiter les maux de gorge, les douleurs auriculaires et le traitement des champignons des doigts ;
- ✓ Régulation de la fréquence cardiaque et anti-diabète, aussi il soulage les crises d'asthme ;
- ✓ Un inhibiteur de corrosion. <sup>(18)</sup>



**Chapitre II : Généralités sur les  
métabolites et les méthodes  
d'extraction**

## **Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction**

---

### **I. Introduction :**

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux ; les organismes vivants (plantes, organismes marins, bactéries, ...) contiennent de nombreux métabolites de structure variées, dont la fonction biochimique n'est pas toujours connue, les métabolites ont diverses fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, un stimulant et des effets inhibiteurs sur les enzymes ; ils sont les produits intermédiaires du métabolisme. <sup>(19)</sup>

### **II. Généralités sur les métabolites :**

Dans le métabolisme de la plante, on a deux types de métabolites : primaire et secondaire

**II.1. Un métabolite primaire :** est présent dans de nombreux organismes. Il est un type de métabolite qui est directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule. Ce composé a généralement une fonction physiologique dans cet organisme. <sup>(20)</sup>

**II.2. Les métabolites secondaires :** appartiennent à des groupes chimiques. La notion de « métabolite secondaire » résultait initialement de trois groupes d'observations : d'abord une difficulté à attribuer à ces métabolites une fonction précise dans la physiologie de la plante, ensuite une répartition très inégale selon les végétaux. Ils sont des molécules organiques complexe synthétisées en petites quantités par les plantes autotrophène. Donc, ces produits sont très dispersés et très différents selon les espèces. Les métabolites secondaires ne sont pas directement impliqués dans le processus de croissance et de développement mais Ils jouer un rôle dans les relations entre les plantes et leur environnement, leurs interactions plantes-animaux et dans la défense contre les herbivores, les prédateurs et les pathogènes, comme agents allopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation. Ces molécules constituent un groupe de produits qui sont explorés pour des propriétés très divers : antioxydants, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antifongiques, analgésique ... etc. Qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines de la pharmacologie ou de l'agroalimentaire <sup>(21)</sup>

## Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

### II.3. Comparaison entre les métabolites primaires et les métabolites secondaires :

Tableau 5 : Comparaison entre les métabolites primaires et les métabolites secondaires <sup>(E,6)</sup>

Base de comparaison	Métabolites primaires	Métabolites secondaires
Sens	Les produits du métabolisme qui sont produits pendant la phase de croissance d'un organisme afin de remplir les fonctions physiologiques et soutiennent le développement global de la cellule sont appelés métabolites primaires.	Les produits finaux du métabolisme primaire qui sont synthétisés après la fin de la phase de croissance et qui sont importants dans les activités écologiques et autres de la cellule sont appelés métabolites secondaires.
Aussi connu sous le nom	Trophophase.	Idiophase.
Il se produit au	Phase de croissance.	État stationnaire.
Production	Celles-ci sont produites en grande quantité et leur extraction est aisée.	Celles-ci sont produites en petites quantités et leur extraction est difficile.
Occurrence	Même dans toutes les espèces, ce qui signifie qu'ils produisent les mêmes produits	Varie selon les espèces.
Importance	1.Ces produits sont utilisés dans les industries à des fins diverses. 2. Les produits primaires jouent un rôle important dans la croissance, la reproduction et le développement des cellules.	Les métabolites secondaires tels que les antibiotiques et les gibbérellines sont également importants. 2. Ils soutiennent également indirectement la cellule, en soutenant leur vie pendant une longue durée.
Exemples	Les vitamines, les glucides, les protéines et les lipides en sont quelques exemples.	Les phénoliques, les stéroïdes, les huiles essentielles, les alcaloïdes, les stéroïdes en sont quelques exemples

## Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

### II. Les métabolites secondaires :

Il existe trois grandes catégories :

**De type phénol** : tanins, lignine, flavonoïdes, polyphénol, stibènes ;

**De type azoté** : alcaloïdes, bêtalaine, hétérosides, cyonogènes et glucosinolates ;

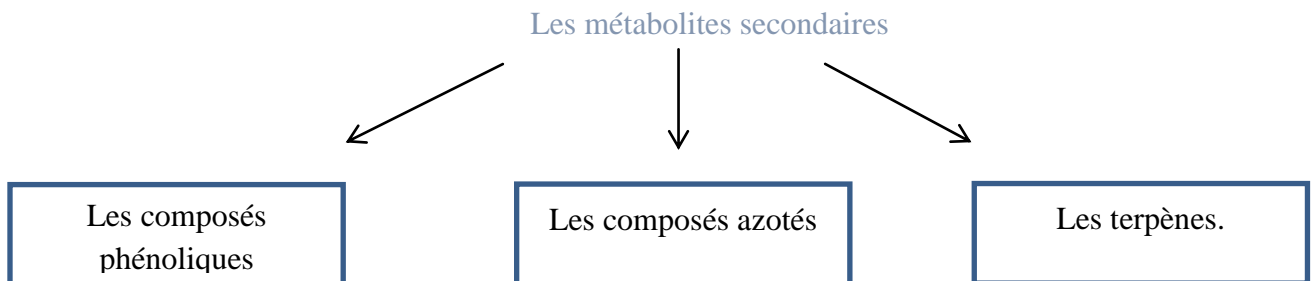
**De type terpènes** : contenus dans les huiles essentielles.

Les classifications sont généralement basées sur

La **nature biochimique des molécules**, leurs propriétés et **effets biologiques** et/ou de leur **origine biosynthétique** <sup>(22)</sup>

#### II.1. Classifications et fonctions des métabolites secondaires :

Nous pouvons classer les métabolites secondaires en trois groupes, chacune renferme une très grande diversité biologique :



#### III.1. 1- Les composés phénoliques des plantes :

Les composants phénoliques sont des métabolismes secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, grains).

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. Ils peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stressés variés <sup>(23)</sup>

## Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

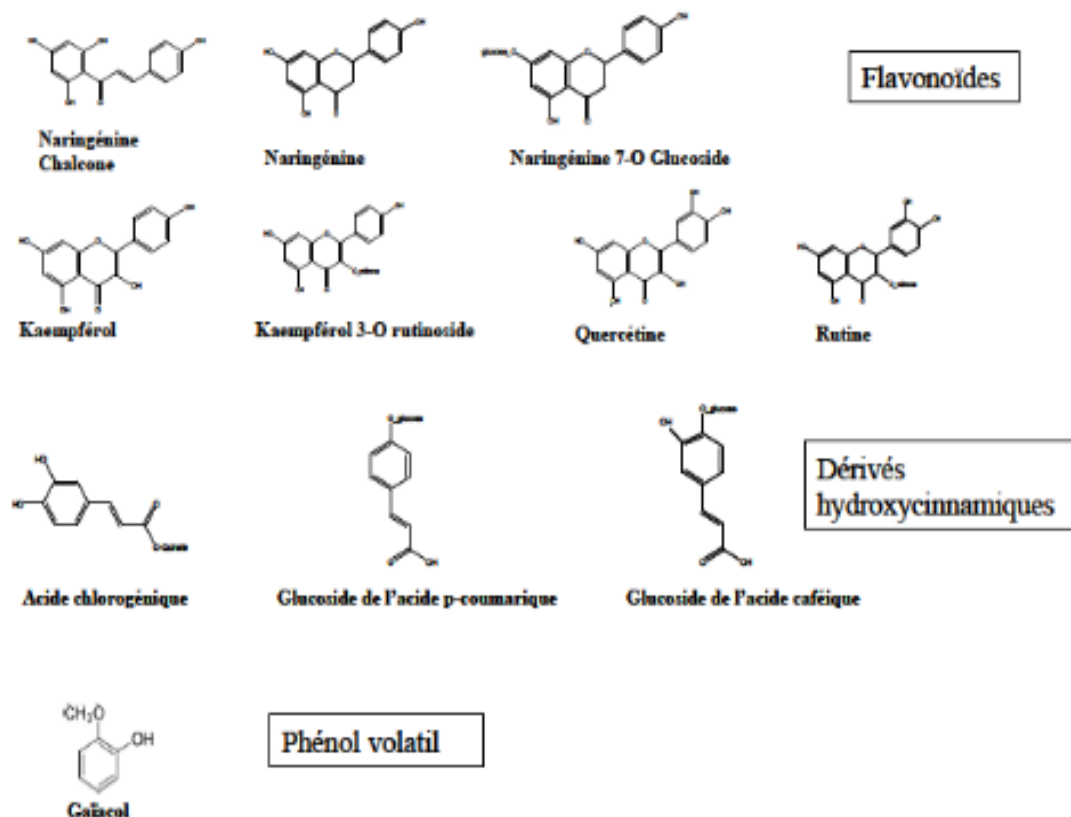


Figure 11 : Exemple de composés phénoliques <sup>(E.7)</sup>

### II.1.1.1.les flavonoïdes :

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal, Ce sont des substances poly phénoliques de faible poids moléculaire <sup>(24)</sup>

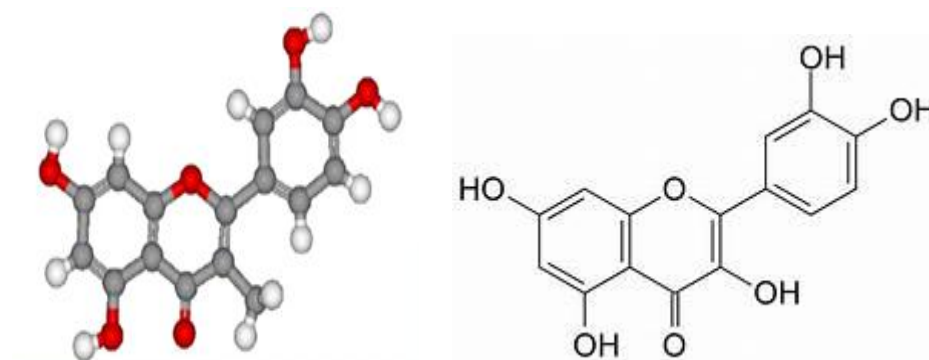


Figure 12 : exemple de flavonoïde <sup>(E.8)</sup>

## Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

---

### A. Classification de flavonoïdes :

- Flavanols ;
- Flavanones ;
- Flavones ;
- Flavonols ;
- Anthocyanidines.

### B. Les principales catégories de flavonoïdes :

Sont définies par :

- 1- La présence ou l'absence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3 du cycle C
- 2- La présence de fonctions cétones, alcools et méthoxy. <sup>(25)</sup>

#### II.1.1.2 Tanins :

Polyphénols complexes (tanins) : Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles, le terme « tanin » regroupe les composés phénoliques complexes d'origine végétale, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000.

A cette définition correspondent 2 classes de tanins différentes par leur structure aussi bien que par leur origine biosynthétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés. <sup>(26)</sup>

### II .1. 2. Les composés azotés :

#### II. 1. 2. 1. Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des composés azotés d'origine végétale, basiques qui précipitent avec des réactifs iodométriques (réactif de Dragendorff) et qui sont biologiquement actifs. Environ 12000 composés sont synthétisés à partir des acides aminés.

On distingue généralement :

- **Les alcaloïdes vrais**, Ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais qui sont d'un point de vue de la biosynthèse dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle
- **Les proto-alcaloïdes**, qui dérivent d'acides aminés mais l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, les amines biologiques sont considérées comme des amines

## Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

---

simples dont le système hétérocyclique ne contient pas de l'azote, et ils sont solubles dans l'eau.

- **Les pseudo-alcaloïdes :** Sont des métabolites présentant les caractéristiques des vrais alcaloïdes, excepté leur origine biosynthétique, Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

Il existe une très grande diversité de sous-familles d'alcaloïdes, qui ont été classés en fonction de leurs origines biosynthétiques et de la nature des hétérocycles azotés ou bien selon leur structure moléculaire <sup>(27)</sup>

### II.1 .2 .2 Classification selon la structure moléculaire :

- Des phénylalanines ;
- Des alcaloïdes isoquinoléiques ;
- Des alcaloïdes quinoléiques ;
- Des alcaloïdes pyridiques et pipéridiques ;
- Des alcaloïdes dérivés du tropane ;
- Des alcaloïdes stéroïdes.

### II .1 .3 Les terpènes :

Au moins 15 000 terpénoïdes ont été décrits, et des milliers d'autres attendent indubitablement une découverte, ils sont classés parmi les substances Secondaires importantes du métabolisme chez les végétaux. Mais la synthèse des terpènes n'est pas propre à la plante, car on peut rencontrer certains terpènes chez les animaux.

Les terpénoïdes sont formés par la polymérisation des unités à 5 atomes de carbone ils sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou non.

Ils sont appelés aussi isoprénoïdes car leur dégradation thermique libère le gaz isoprène, Ils sont responsables de la couleur et l'odeur des plantes et des épices. <sup>(28)</sup>

#### II.1.3.1. Classification :

Selon la structure des composés terpéniques, on peut les classer en :



## Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

- Terpènes acycliques ;
- Terpènes monocycliques ;
- Terpènes bicycliques. <sup>(29)</sup>

Tableau 6 : Classification des terpénoïdes

Nom	N° unité 5×C	Exemple de molécule
<b>Emiterpènes</b>	1	Isoprène
<b>Monoterpènes</b>	2	Aromes volatiles, parfums
<b>Sesquiterpènes</b>	3	Phytoalexines
<b>Diterpènes</b>	4	Phytol , giberellines phytoalexines
<b>Triterpènes</b>	5	Brassinostéroïdes stérols de membranes certaines toxines
<b>Tétraterpènes</b>	8	Caroténoïdes
<b>Polyterpènes</b>	>8	Plastoquinones , ubiquinones polymère (latex)

### II.2 Le rôle d'un métabolite secondaire :

De nombreux métabolites secondaire ont la particularité de dégager de fortes odeurs : Ils sont utilisés comme antiseptiques et dans certains domaines comme la cosmétique et comme un agent anti-cancéreux

- Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores ;
- Attraction des pollinisateurs ;
- Ils participent à des réponses allélopathiques ;
- Ils sont des molécules qui sont aussi très utiles pour l'homme, comme colorants, arômes, antibiotiques, herbicides, drogues etc. <sup>(30)</sup>

### ❖ Activités biologiques des extraits des feuilles :

## **Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction**

---

Les études sur la composition chimique des extraits des feuilles en relation avec le screening de leurs activités biologiques sont abondantes. Il est établi dans de nombreux travaux que l'activité des extraits des feuilles est en rapport avec les composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre leurs constituants. <sup>(31.32.33)</sup>

### **❖ Activités antioxydants :**

Certains constituants des extraits des feuilles présentent un pouvoir antioxydant très marqué. Les résultats montrent que les extraits des feuilles *Gossypium arboreum* constituent une bonne source d'antioxydants naturels recherchés pour leur innocuité relative.

Les extraits des feuilles *Gossypium arboreum*. Elles sont caractérisées par une teneur élevée en monoterpènes responsables de l'activité antioxydante. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir. <sup>(34)</sup>

### **❖ Activités antibactériennes :**

Les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique, leurs propriétés antimicrobiennes sont généralement efficaces contre une large gamme de microorganismes, ces propriétés sont utiles pour les infections chez les humains. <sup>(35)</sup>

### **❖ Activités antifongiques :**

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les extraits des feuilles *Gossypium arboreum* ou leurs composés actifs pourraient être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire <sup>(36)</sup>.

## **III. Généralité sur les méthodes d'extraction :**

L'extraction est une opération unitaire utilisée pour extraire sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange initial, sur la base de propriétés chimiques ou physiques.

L'homme utilise des colorants, des parfums, des arômes, et des extraits de produits naturels depuis la haute Antiquité.

L'extraction consiste à transférer un composé d'une phase à une autre :

- D'une phase liquide à une autre phase liquide.

## **Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction**

---

- D'une phase solide à une phase liquide. <sup>(37)</sup>

### **IV. Les méthodes d'extraction :**

- Décoction (infusion) ;
- Au CO<sub>2</sub> supercritique ;
- Macération ;
- Hydro distillation ou entraînement à la vapeur ;
- Distillation ;
- Extraction par solvant
  - 1- Extraction directe
  - 2- Extraction liquide-liquide <sup>(38)</sup>

#### **IV .1. Extraction solide liquide :**

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. La macération, l'infusion et la décoction sont des méthodes d'extraction solide-liquide.

Pratiquement, il est impossible de dissoudre un seul composé, d'autres constituants de la phase solide ont été entraînés avec lui, quel que soit le solvant utilisé. En laboratoire de chimie organique, on utilise parfois des appareils plus efficaces, les extracteurs de Soxhlet et de Kumagawa, qui fonctionnent en continu. <sup>(39)</sup>

##### **IV .1.1. Principe de L'extraction solide-liquide :**

L'extraction solide-liquide consiste à faire passer une substance d'un solide vers un solvant dans lequel elle est soluble et dont elle sera facilement isolable.

Le processus nécessite un long contact du solvant avec le solide préalablement broyé avant extraction. <sup>(40)</sup>

##### **IV .1.2. Etapes d'une extraction liquide-solide :**

Généralement, l'extraction en phase solide se déroule en quatre étapes :

- La première étape est le conditionnement par des lavages préliminaires afin d'éliminer les contaminants ;

## Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

---

- La seconde étape est la fixation de l'analyte (sorption en surface et en profondeur) ;
  - L'étape suivante est le lavage de la phase solide afin d'éliminer les interférents faiblement retenus ;
  - La dernière étape est celle de l'élution. Il est préférable d'utiliser un éluant modérée capable d'entraîner la totalité du soluté et en évitant la dégradation de la matrice solide.
- (41)

### IV .1. 3. Domaines d'applications de l'extraction liquide-solide :

La principale application de l'extraction liquide-solide est dans le domaine analytique, c'est une méthode préliminaire très utile pour la préparation des échantillons selon les besoins suivants :

- Enrichissement de l'analyte ;
- Elimination des espèces indésirables. L'extraction en phase solide permet d'éliminer l'excès de contaminants ;
- Conservation des échantillons : la plupart des méthodes de dosage se font en solution ou l'environnement chimique de l'analyte est perturbé. <sup>(42)</sup>

**IV .2. L'extraction liquide-liquide :** est l'une des techniques de préparation d'échantillons les plus anciennes. C'est une opération fondamentale de transfert de matière entre deux phases liquides non miscibles, sans transfert de chaleur. Cette technique permet d'extraire une substance dissoute dans un solvant, à l'aide d'un autre solvant, appelé solvant d'extraction, dans lequel elle est plus soluble. Le solvant initial et le solvant d'extraction ne doivent pas être miscibles. L'extraction liquide-liquide est réalisée par le contact intime du solvant avec la solution dans des appareils destinés à mélanger les deux phases (ampoules, colonnes, mélangeurs). La séparation des phases s'obtient par décantation gravimétrique ou centrifuge. <sup>(43)</sup>

#### IV .2.1. Les étapes d'extraction liquide-liquide :

Les principales étapes sont :

- Extraction du soluté ;
- Lavage du solvant qui permet de retirer certaines impuretés extraites et ainsi améliorer la sélectivité du procédé.

## Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

Récupération du soluté de l'extrait. Ceci peut être fait par distillation, suivie d'une précipitation selon la nature et les propriétés physico-chimiques du soluté et du solvant <sup>(44)</sup>

### IV .2.2. Principe de l'extraction liquide-liquide :

Du fait que l'eau ne s'évapore pas facilement, l'espèce chimique est difficilement récupérable si elle est en solution dans l'eau. Dans ce cas, il faut utiliser un solvant organique dans lequel la substance est très soluble (beaucoup plus que dans l'eau), celle-ci va passer de l'eau au solvant organique. Il faut que l'eau et le solvant organique ne soient pas miscibles. <sup>(45)</sup>

### IV .2.3. Application de L'extraction liquide-liquide :

L'extraction liquide-liquide a pour but de concentrer, de séparer et de purifier. Parmi les nombreuses applications, on cite :

- Recyclage des solvants ;
- Purification des principes actifs (ex : la pénicilline, les antibiotiques, les vitamines A, B12 et C, les aliments alimentaires dans le domaine pharmaceutique) ;
- Extraction des métaux (cuivre, molybdène, vanadium, tungstène, chrome) dans l'industrie d'hydrométallurgie ;
- Récupération de l'uranium. <sup>(46)</sup>

Tableau 7 : Différentes applications de l'extraction liquide-liquide dans les industries.

Application et état d'activités de l'extraction liquide-liquide						
Industrie	Pétrochimique	Chimique	Alimentaire et Pharmaceutique	Métallurgique	Nucléaire	Nucléaire
Applications	*Production d'aromatiques *Purification du pétrole *Alkylation	*synthèse de Polymère Fibres,	*Récupération des antibiotiques et Vitamines * Purification des	*Récupération et purification des métaux	*Traitement des déchets	*Traitement des eaux polluées *Récupération et recyclage de sous-produits.

## Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

		Pesticides, Herbicides ...	produits génétiques			
<b>Activités</b>	Optimisation de Procédés	Optimisation et développement du procédé	Optimisation et développement du procédé	Recherche de solvants plus efficaces	Développement de procédés	Optimisation et développement du procédé

### IV .2.4. Avantages et inconvénients de l'extraction Liquide-Liquide :

#### Les avantages :

- Grande capacité de production pour une consommation d'énergie réduite ;
- Sélectivité, en particulier quand d'autres procédés ne conviennent pas ou sont plus chers ;
- Des produits thermosensibles peuvent être traités à température ambiante ;
- Cas de produits lourds et très dilués, et en particulier pour des solutions aqueuses.

#### Les inconvénients :

- Nécessité de grands volumes de solvants ;
- Le solvant ne doit pas être miscible avec l'eau difficile à automatiser. <sup>(46)</sup>

### V. Les solvants :

Le solvant est le milieu dans lequel s'effectue la réaction, mais il n'entre pas dans celle-ci. Le solvant a la capacité de dissoudre d'autres substances sans les changer chimiquement et sans se modifier lui-même. Chaque solvant a des propriétés différentes qui sont les conséquences de sa structure moléculaire. Un solvant se caractérise par :

- sa miscibilité à l'eau ;
- sa constante d'acidité ( $PK_a$ , ou l'aptitude à créer des liaisons hydrogène) ;

## Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

---

- sa constante diélectrique (le caractère dissociant du solvant) ;
- sa densité et sa volatilité ;
- sa toxicité.

### V.1. Choix du solvant :

Le choix du solvant obéit à trois critères et nécessite la connaissance d'un paramètre physique caractéristique de ce solvant.

- **Etat physique du solvant** : Le solvant doit être liquide à la température et à la pression où l'on réalise l'extraction.
- **Miscibilité du solvant** : Le solvant doit être non miscible à la phase qui contient initialement le composé à extraire.
- **Solubilité** : Le composé à extraire doit être très soluble dans le solvant. C'est-à dire, beaucoup plus soluble dans le solvant que dans le milieu où il se trouve initialement (milieu aqueux en général).
- **Densité du solvant** : Il est nécessaire de connaître les paramètres car c'est lui qui détermine si la phase organique, contenant le composé à extraire, se trouve au-dessus ou en dessous de la phase aqueuse (à éliminer) dans l'ampoule à décanter
- une solubilité négligeable dans le raffinat.
- un impact minimal vis-à-vis de l'environnement, de la sécurité et de la tenue des matériaux

### V.2. Classification des solvants :

Il n'existe pas de classement officiel des solvants. Ceux-ci peuvent être classés selon leurs similitudes de groupement chimiques :

- ✓ Solvants protiques et polaires ;
- ✓ Solvants aprotiques et dipolaires ;
- ✓ Solvants aprotiques et apolaires ;
- ✓ Solvants aprotiques et peu polaires. <sup>(47)</sup>

### V.3. Différentes méthodes d'extraction au solvant :

#### V.3.1. Extraction simple :

On utilise une certaine quantité d'un solvant qui ne doit pas être miscible avec le diluant, mais être miscible avec le soluté.

Le mélange non homogène est alors décanté en deux phases non miscibles :

## Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

- l'extrait, contenant majoritairement du solvant et le soluté extrait ;
- le raffinat contenant majoritairement du diluant, ainsi que le soluté non extrait.

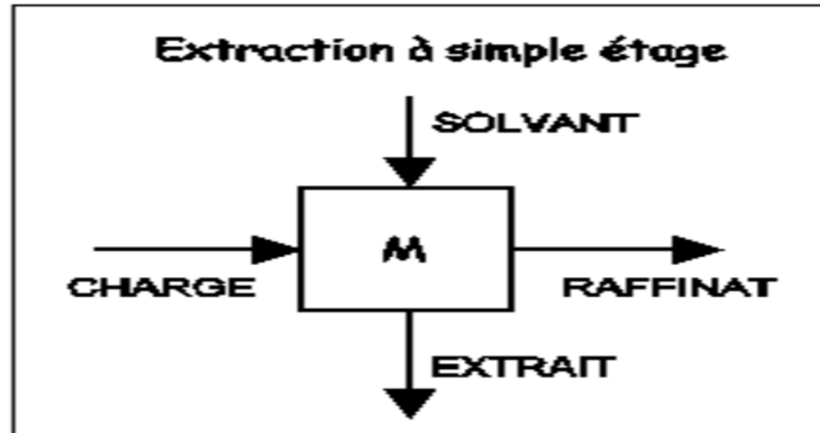


Figure 13 : Extraction simple

### V.3.2.Extraction multiple :

#### V.3.2.1. Extraction à courant croisés :

Dans une extraction à courant croisés, ici à 3 étages, le solvant est Réparti pour réaliser 3 extractions successives, la première sur la charge, la seconde sur le premier raffinat, la troisième sur le second raffinat.

On obtient en fin d'opération un raffinat et 3 extraits à 3 compositions différentes, le premier étant le plus concentré en soluté, le dernier le moins concentré. <sup>(48)</sup>

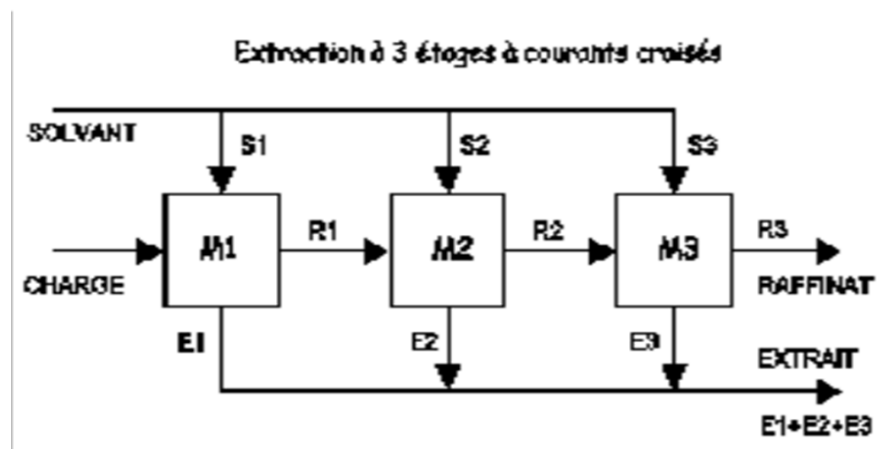


Figure 14 : Extraction à courant croisés



## Chapitre II : Généralités sur les métabolites et les méthodes d'extraction

### V.3.2. 2. Extraction à contre-courant :

Dans une extraction à contre-courant, ici à 3 étages, on réalise 3 extractions successives en utilisant comme solvant l'extrait de l'étage suivant. On obtient en fin d'opération un raffinat et un extrait (ici E1 sortant de l'étage n°1). Cette méthode donne un meilleur rendement qu'une extraction à simple étage ou à courant croisé avec le même nombre d'étages et la même quantité de solvant. <sup>(49)</sup>

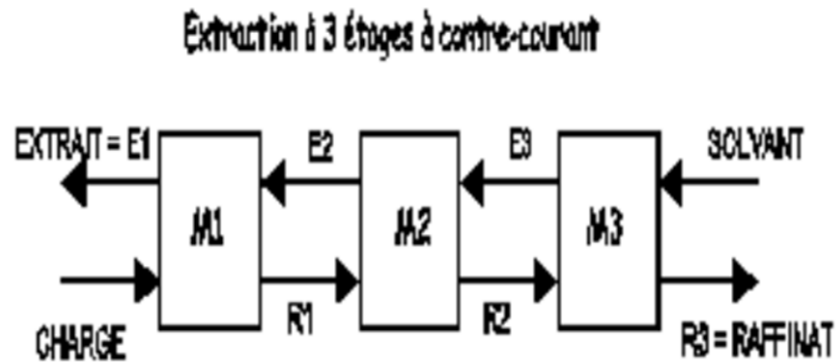


Figure 15 : Extraction à contre-courant

The background of the slide is a photograph of a plant with green, heart-shaped leaves and several flowers. Some flowers are white, and one is a vibrant pink. The plant appears to be growing in a natural, outdoor setting.

## **Chapitre III : Recyclage des déchets**

## Chapitre III : recyclage des déchets

---

Dans ce chapitre nous allons exposer les notions générales portées sur le procédé d'adsorption

### **I. Introduction :**

L'adsorption est un procédé de traitement, bien adapté pour éliminer une très grande diversité de composés toxiques dans notre environnement. C'est un phénomène qui consiste en l'accumulation d'une substance à l'interface entre deux phases (gaz-solide, gaz-liquide, liquide-solide, liquide-liquide, solide-solide). Il a son origine dans les forces d'attraction intermoléculaires, de nature et d'intensité variées.

La nature des liaisons formées ainsi que la quantité d'énergie dégagée lors de la rétention d'une molécule à la surface d'un solide permettent de distinguer deux types d'adsorption : adsorption physique et adsorption chimique [El Azzouzi., 1999 ; Rachidi., 1994; Mechrafi, 2002].<sup>(50)</sup>

### **II. Définition d'adsorption :**

Le phénomène d'adsorption est le résultat de l'interaction d'une molécule ou d'un atome libre (l'adsorbat) avec une surface (adsorbant). En effet, toute surface est constituée d'atomes n'ayant pas toutes leurs liaisons chimiques satisfaites.

### **III. Types d'adsorption :**

#### **III.1. Physisorption :**

Ce type d'adsorption résulte à basses températures de l'établissement d'un échange de forces de faible énergie entre la surface d'un solide et des molécules à proximité de cette surface. Elle résulte des forces de Van Der Waals.

#### **III.2. Chimisorption :**

L'adsorption chimique est due à la formation d'une liaison chimique, covalente plus permanente, entre l'adsorbat et la surface de l'adsorbant. Les molécules chimisorbées ne peuvent pas, dans ce cas, bouger librement à la surface. Elle génère de fortes énergies d'adsorption et est favorisée par les températures élevées<sup>(51)</sup>

## Chapitre III : recyclage des déchets

---

Tableau 8 : principales différences entre les deux types d'adsorption

Critère de comparaison	Adsorption physique	Adsorption chimique
Nature des interactions	Liaisons faibles de Van Der Waal	Liaisons chimiques
Chaleur d'adsorption $ \Delta H_{ads} $	<40 kJ/mole	>40 kJ/mole
Activation du processus	Processus non activé	Processus activé
Cinétique du processus	Spontanée	Appréciable
Réversibilité	Complètement réversible	Souvent irréversible
Spécificité	Non spécifique	Spécifique
Distance d'équilibre Mol-Surface	4 à 6 Å	<3 Å
Nombre de couches adsorbées	Mono- ou polymoléculaire	Monomoléculaire
Température du processus	Basse température	Température élevée

### IV. Les colorant :

Un colorant est un produit capable de teindre une substance d'une manière durable, les matières colorantes se caractérisent par leur capacité à absorber les rayonnements lumineux dans le spectre visible (400 à 700 nm). Cette absorbance est déterminée grâce à un spectrophotomètre qui donne l'absorbance du colorant en fonction d'une longueur d'onde <sup>(52)</sup>

#### IV.1. Classification des colorants :

##### IV.1.1. Classification chimique :

Le classement des colorants selon la classification chimique repose sur la structure de groupe chromophore :

- Les colorants triphénylméthanes ;
- Les colorants nitrés ;
- Colorants phtalocyanines ;
- Les colorants indigoïdes ;
- Les colorants xanthines ;

## Chapitre III : recyclage des déchets

---

- Colorants anthraquinoniques.

### IV.1.2. Classification tinctoriale :

- Les colorants acides ou anioniques ;
- Les colorants basiques ou cationiques ;
- Les colorants développés ou azoïques insolubles ;
- Les colorants de cuve ;
- Les colorants réactifs ;
- Les colorants directs ;
- Les colorants à mordant ;
- Les colorants dispersés. <sup>(53)</sup>

### IV.2. Définition de vert malachite :

Le **vert de malachite** (ou vert d'aniline, ou vert de diamant B) est un produit colorant bleu-vert toxique bleu-vert. <sup>(54)</sup>

### IV.3. Propriétés de vert malachite :



Figure 16 : vert de malachite <sup>(E.9)</sup>

## Chapitre III : recyclage des déchets

---

Tableau 9 : Propriétés de vert malachite

vert malachite	
Nom français :	Chlorure de N-(((Diméthylamino)-4Phényl)Phénylméthylène)-4cyclohexadiène-2,5ylidène-1)N-méthyl méthaniminium
Formule moléculaire brute :	C <sub>23</sub> H <sub>25</sub> ClN <sub>2</sub>
Densité :	3,9 à 4,0
Masse molaire :	364,911 ± 0,023 g/mol
Pka	1,3

### V. Cinétique d'adsorption :

L'étude de l'adsorption d'un composé sur un adsorbant nous permet d'examiner l'influence de plusieurs paramètres physicochimiques :

- a) du temps de contact ;
- b) de l'agitation ;
- c) de la température ;
- d) du pH du milieu ;
- e) de la dose appliquée du solide ;
- f) de la concentration initiale du substrat.

#### V. 1. Les étapes de la cinétique d'adsorption :

La connaissance des paramètres de l'équilibre d'adsorption permet de déduire les capacités d'adsorption d'un support. Le transfert d'un adsorbat de la phase liquide vers un site d'adsorption, fait intervenir les étapes suivantes :

- 1<sup>ère</sup> étape : transfert de l'adsorbat de la phase liquide vers la couche limite du film liquide liée à la particule solide (par convection ou diffusion). Etape très rapide ;

## Chapitre III : recyclage des déchets

---

- 2<sup>ème</sup> étape : Transfert de l'adsorbat à travers le film liquide vers la surface externe de l'adsorbant. Etape rapide ;
- 3<sup>ème</sup> étape : Diffusion à l'intérieur de la particule d'adsorbant selon deux voies, sous l'influence du gradient de concentration. Etape lente ;
- 4<sup>ème</sup> étape : adsorption dans un micropore. Etape très rapide. <sup>(55)</sup>

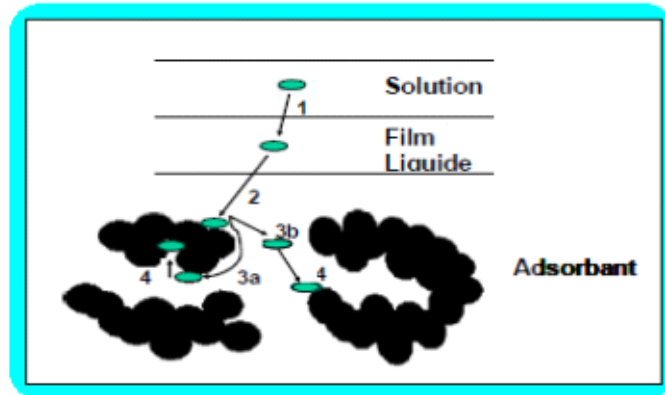


Figure 16 : Les étapes de la cinétique d'adsorption <sup>(E.10)</sup>

### VI. Domaine d'application de l'adsorption :

Séchage ;

Traitement des huiles ;

Traitement des gaz ;

Industrie textile ;

Décoloration et traitement des eaux. <sup>(56)</sup>



**Chapitre IV :**  
**Matériels et méthodes**



## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

Ce chapitre a été rédigé dans le but de la description de différentes étapes expérimentales, les techniques et dispositifs qui ont été utilisés pour obtenir les résultats qui ont été étudiés et discutés au cours de cette étude.

### I.Objectifs du travail :

Ce travail expérimental a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique de génie des procédés 2 et au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Ghardaïa

L'objectif recherché à travers ce travail est d'obtenir un extrait des feuilles de *gossypium arboreum* et de prouver son efficacité biologique car nous avons constaté qu'il est généralement négligé et non exploité par les producteurs.

Nous visons également à prouver si l'exploitation des feuilles peut apporter des améliorations bénéfiques à la composition des différents extraits de cette plante, pour se faire nous avons procédé par :

- La collecte des feuilles de *gossypium arboreum* cultivé.
- Extraction des feuilles suivie par une évaluation de qualité de chaque extrait (les paramètres : acidité, indice de peroxyde, les acides gras, les pigments, les composés phénoliques et l'activité biologique)

La méthodologie du présent travail est décrite dans l'organigramme suivant :

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

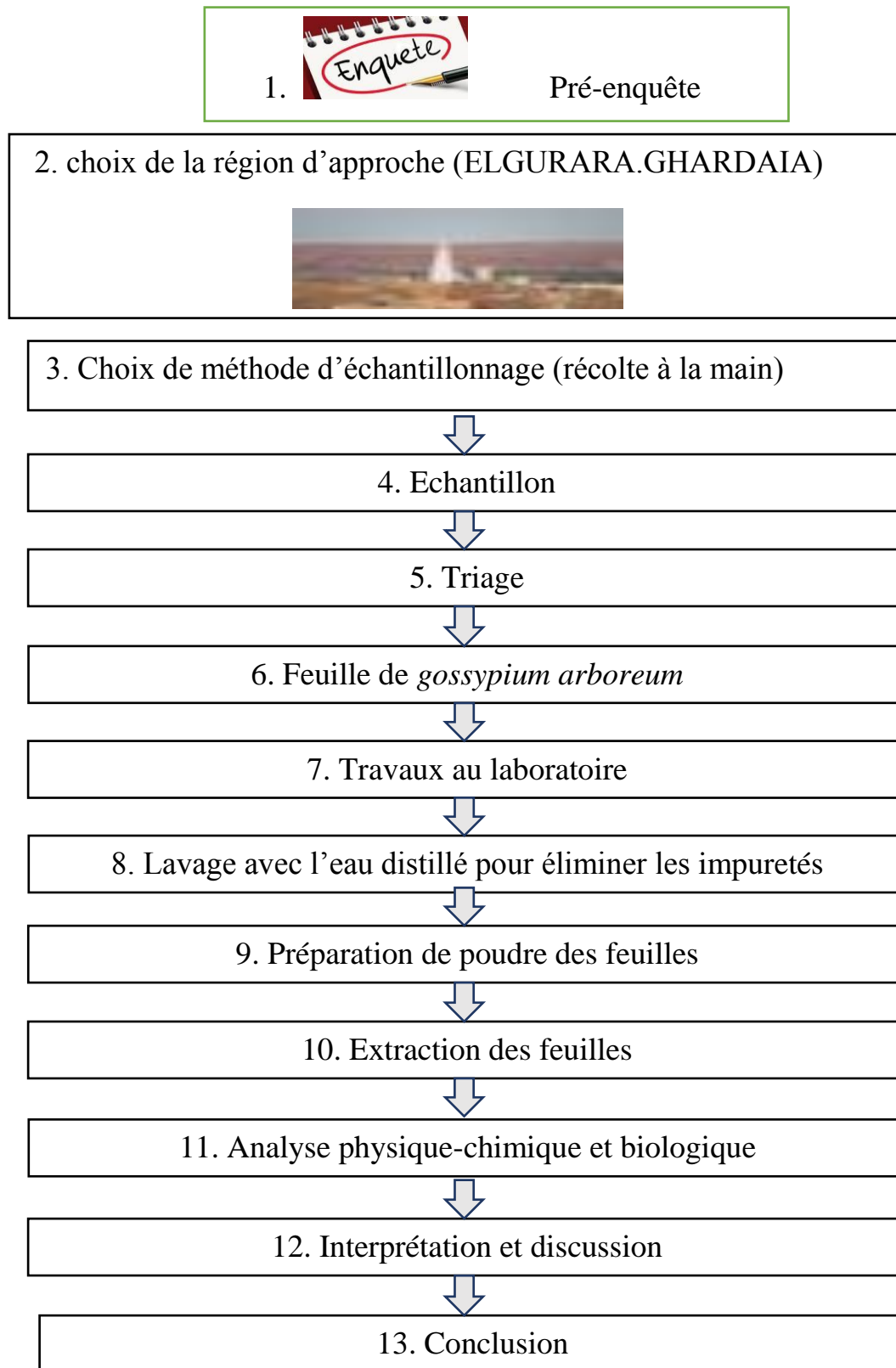


Figure 17 : organigramme descriptif de la méthodologie de travail

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

### II. Matériel végétal :

La récolte des feuilles de *gossypium arboreum* a été effectuée au mois de février 2021 D'une ville appelée ELGURARA II est situé à 270 km de l'état de Ghardaïa. Les échantillons récoltés à la main à hauteur d'Homme à 08h Les feuilles ont été nettoyées, et séchées pendant 15 jours à l'ombre. Elles ont été ensuite pesées, broyées grossièrement et récupérées dans des sacs propres.



Figure 18 : Carte géographique de la zone d'étude a) la wilaya de Ghardaïa b) la région de gurara (Google map, 2021).

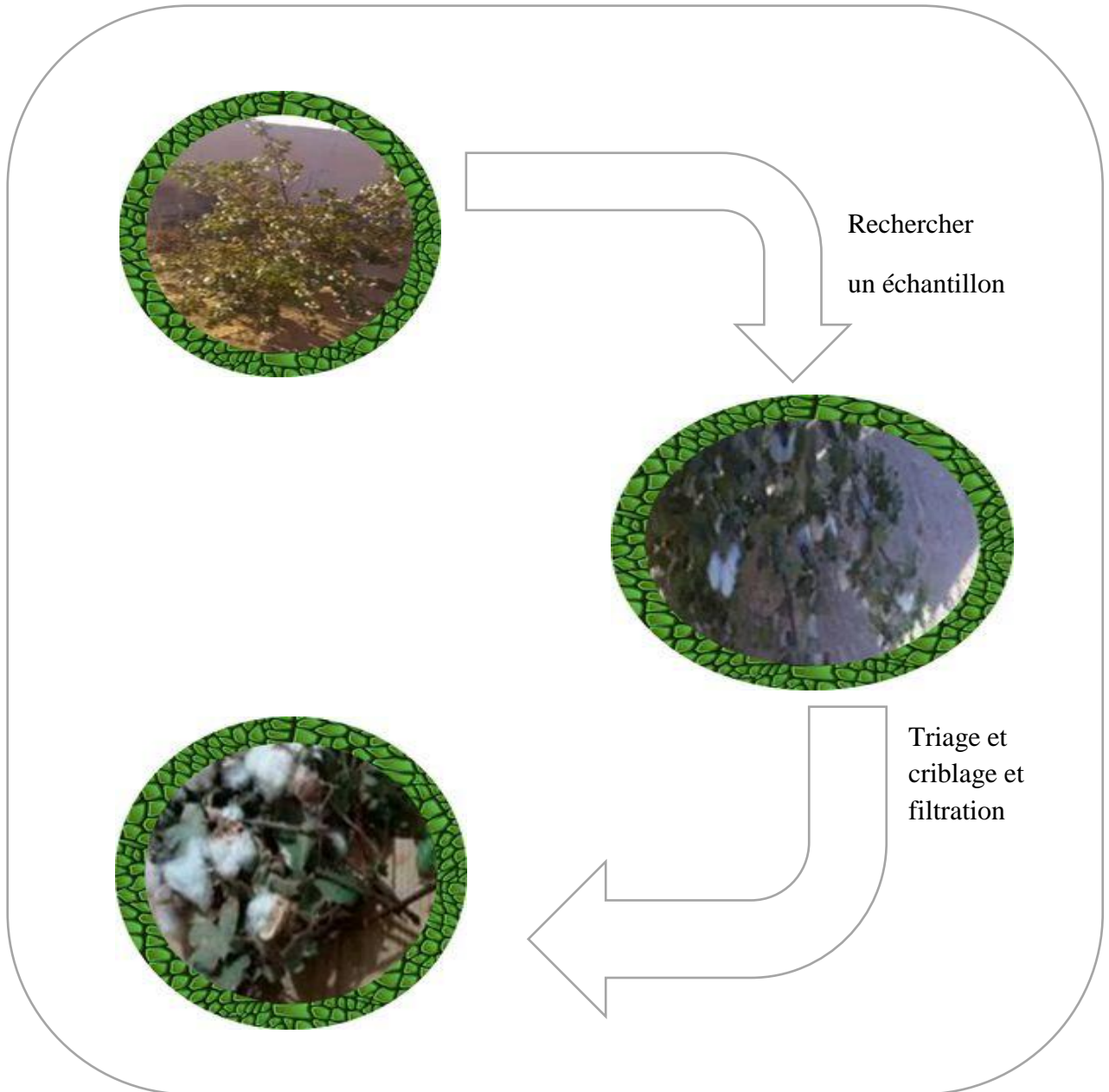


Figure 19 : Le site d'échantillonnage des feuilles de *Gossypium arboreum*

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

### II.1. Appareils et Produits :

#### II.1.1. Appareils et instruments :

Tableau 10: Appareils et instruments

Appareils et matériels	Caractérisations
Rota vapeur	230 V. 50 Hz .1300w .20.210°c
Ampoule à décanter.	250 ml
Ballons pour le rota-vapeur.	(250ml→1000ml)
Etuve	
Balance électronique.	Maxcap 2100 g readability 0.01
UV. Visible	Uviline 9400 C
Broyeur	
Spectrophotomètre ultraviolet-visible	
Micropipette	
Le vortex	
Chambre noire	
PH mètre	
Mixeur	
Verrerie	
Dispositif d'étalonnage	
Boite pétrie, pinces, écouvillon, autoclave, disque 'papier Whitman', pied a coulisse numérique, bec benzène .	

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

### II.1.2 Produits :

Tableau 11 : Produits utilisé

Méthanol. (CH <sub>3</sub> -OH)	Acétate de sodium
Acétate d'éthyle. (CH <sub>3</sub> COOCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )	Chlorure d'aluminium(AlCl <sub>3</sub> )
Chloroforme (CHCl <sub>3</sub> )	Acide ascorbique
Ether de pétrole 40-60 C°	Solution de Folin
Acide gallique monohydrate (C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub> , H <sub>2</sub> O)	Carbonate de sodium(Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )
DPPH	HCl
Eau distillée (H <sub>2</sub> O)	n-Butanol
Molybdate	

Tableau 12 : Avantages et inconvénients de quelques solvants d'extraction

solvant	Formule chimique	Température d'ébullition	Masse volumique	Avantage	Inconvénient
Ether de pétrole	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> -CH <sub>3</sub>	35-60°C	0,653 g/ml	Facile à éliminer	Produit dangereux pour l'environnement
Chloroforme	CHCl <sub>3</sub>	62 °C	1,49 g/cm <sup>3</sup>	Ininflammable	Produit extrêmement toxique
Acétate d'éthyle	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	77,1 °C	902 kg/m <sup>3</sup>	Peu toxique	Hautement inflammable
n-butanol	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	117 °C	0,8 g·cm <sup>-3</sup>	Une alternative à l'éthanol Excellent carburant	Substance nocive

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

### III. Etude physicochimiques :

#### III.1. Echantillonnage et extraction :

##### III.1.1. Préparation de la poudre des feuilles de *gossypium arboreum* :

Après obtention des feuilles fraîches de la plante *gossypium arboreum*, elles sont séchées à l'air libre mais à condition que en s'assurant qu'elles sont protégées de l'exposition à l'attaque des impuretés et non exposées au soleil (température ambiante)



Figure 20: photo des feuilles avant et après broyage

##### III. 1.2. Extraits aqueux de poudre de *gossypium arboreum* :

La macération est une opération unitaire de séparation qui consiste à laisser la poudre d'un matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

Le matériel végétal dans ce cas est la poudre des feuilles de *gossypium arboreum*, (50 g de poudre). Les composés phénoliques sont extraits par macération dans un mélange éthanol-eau (70/30) trois fois avec renouvellement de solvant chaque 24 heures,

Extraction à froid : le poudre des feuilles de *gossypium arboreum* est placée dans le mélange (méthanol / eau) à température normale pendant une journée complète (24 heures).

Nous filtrons le mélange et gardons le filtrat afin de répéter le processus trois fois afin d'obtenir l'extraction maximale possible.

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

Prise en compte de l'obligation de renouveler à chaque fois le solvant utilisé



Figure 21 Préparation de l'extrait méthanol/eau de poudre des feuilles de *Gossypium arboreum*

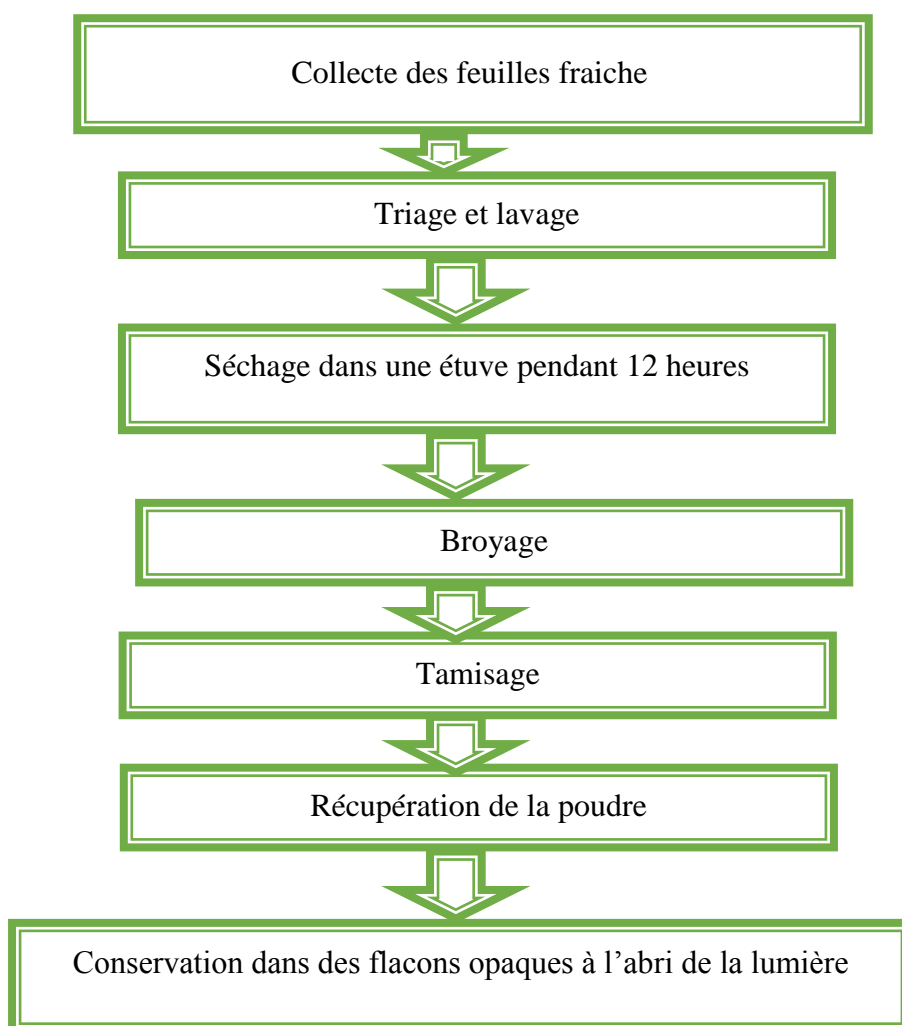


Figure 22 : Protocole de préparation de la poudre de feuilles de *Gossypium arboreum*



## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

Réalisation pratique de l'extraction par solvant :

On peut procéder de la manière suivante :

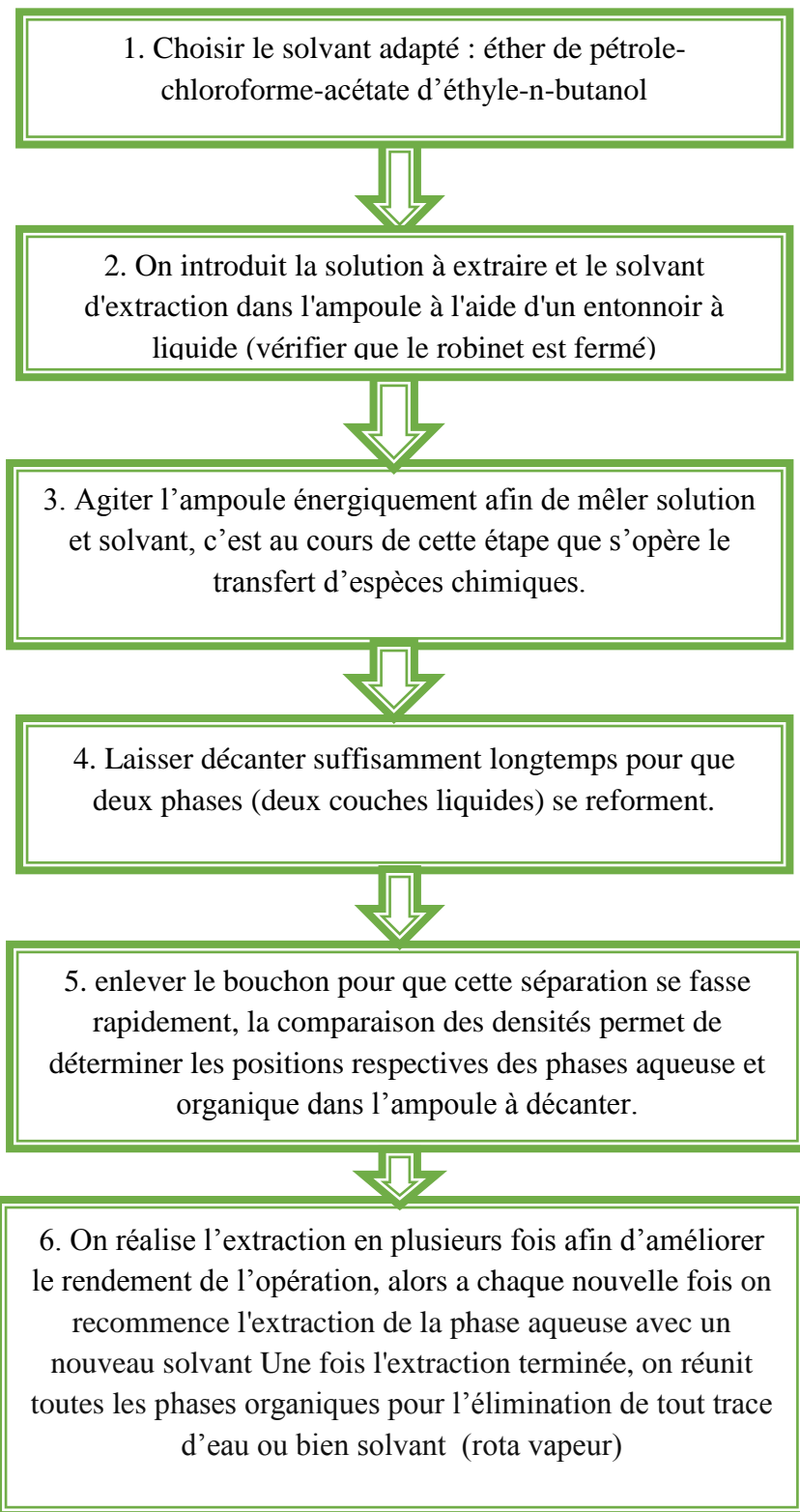


Figure 23: procéder de la manière

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

L'extraction par solvant consiste à faire passer, par solubilisation, la substance à extraire dans un solvant. Celui-ci peut être de l'eau, mais généralement il s'agira d'un solvant organique: Ether de pétrole, Chloroforme, Acétate d'éthyle, n-butanol.

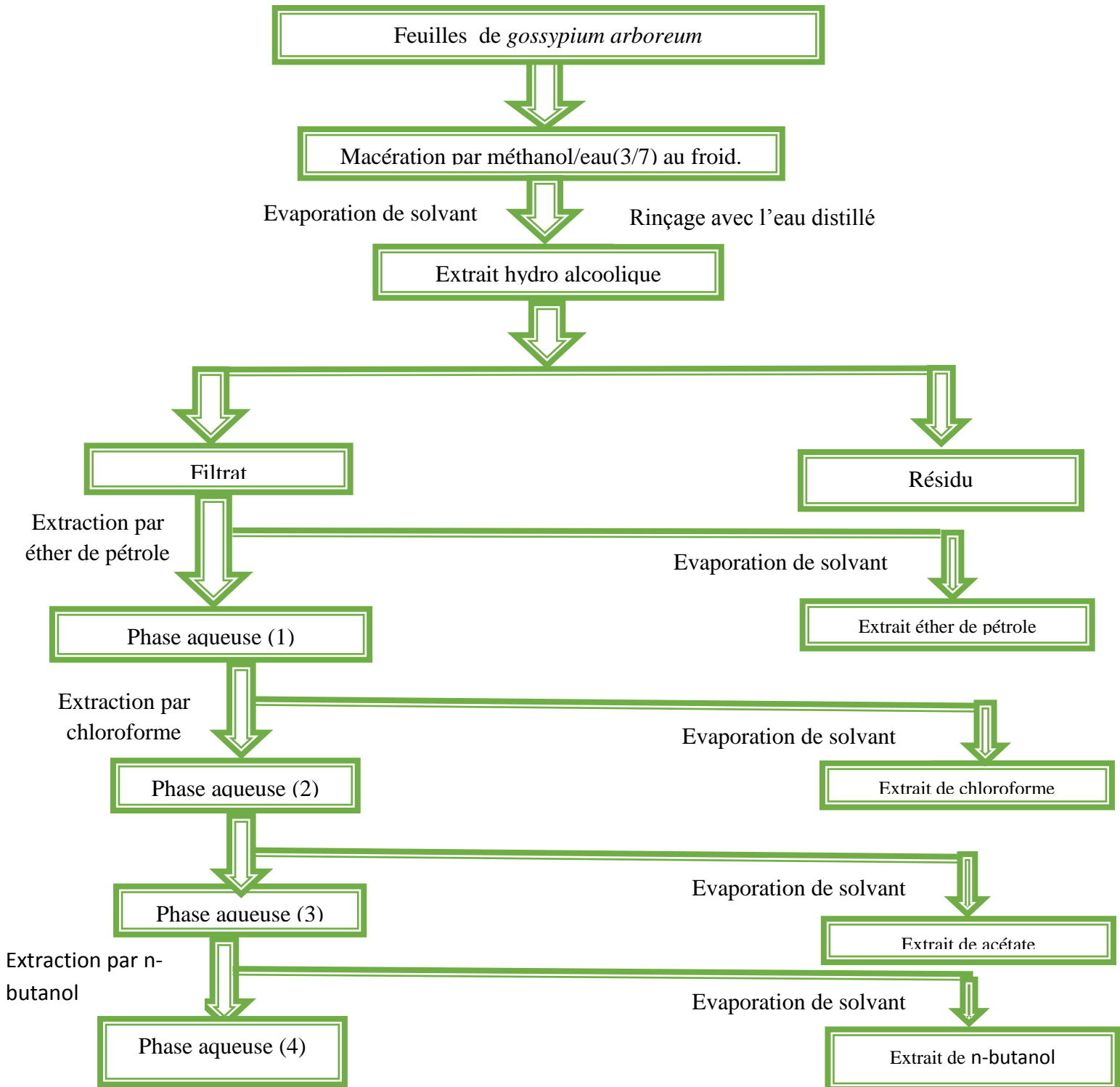


Figure 24: Protocole de préparation de l'extrait de poudre des feuilles de *Gossypium arboreum*

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

### IV. Caractérisation physico-chimique des poudres de feuille obtenue :

#### IV.1. Détermination de taux d'humidité la poudre (AFNOR, 1982) :

Le taux de l'humidité de la matière végétal a été déterminé par la méthode « NF T 60-305, juin (1976) normalisé, décrite par AFNOR 1982. <sup>(58)</sup>

10g des feuilles broyées pesés et chauffée à une température de  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  dans une étuve jusqu'à obtention d'une masse constante pendant 24 heures. L'échantillon est ensuite pesé avec précision, après avoir refroidis à température ambiante dans un dessiccateur,

Le taux d'humidité exprimé en pourcentage est calculé selon la formule suivant :

$$H\% = ((M_1 - M_2) * 100) / P$$

Dans laquelle :

$M_1$  : masse de l'ensemble capsule et la matière végétale avant étuvage(g).

$M_2$  : masse de l'ensemble capsule et la matière végétale après étuvage(g).

$P$  : masse de la prise d'essai(g).

#### IV.2. Détermination du pH :

Le pH est mesuré en suivant la méthode décrit par la norme AFNOR (NF V 05-108, 1970)

On mélange 3g de poudre avec 75mL d'eau distillé, avec une agitation (30min) et chauffage dans un bain-Marie à  $60^\circ\text{C}$ . La valeur de pH de la solution obtenue après filtration est lue directement sur le pH mètre.

#### IV.3. Détermination de l'acidité titrable :

La méthode appliquée est adapté aux feuilles d'olivier à partir de la procédure décret dans la norme AFNOR (NF V 05-101, 1974)

On place 1g de la poudre dans une fiole conique avec 10mL d'eau chaude. Cette fiole est adaptée à un réfrigérant à reflux afin de chauffer le contenu au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement, le contenu de la fiole conique est transféré à une fiole jaugée de 250mL et complété jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidie. Mélanger bien, puis filtré.

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

On verse 50 ml de filtrat dans un bécher, sont titré avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1N, en présence de 2 à 3 gouttes de phénolphaléine, jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

L'acidité titrable, est déterminée selon la formule suivante :

$$A = (25 \cdot V_1 \cdot 100) / (M \cdot 10 \cdot V_0)$$

**Ou :** **M** : est la masse en (g) de poudre prélevée ; **V<sub>0</sub>** : est le volume en ml de la prise d'essai (50ml) ; **V<sub>1</sub>** : est le volume en ml de la solution d'hydroxyde de sodium a **0.1N** utilise.

### IV.4.Détermination du coefficient d'extinction spécifique :

Pour réaliser cet examen spectrophotométrique on utilise l'ultraviolet pour obtenir des indications sur la qualité d'une matière étudiée.

La détermination de l'absorbance à 232 nm et au voisinage de 270 nm permet la détection des produits d'oxydation des acides gras insaturés, et des produits secondaires d'oxydation ayant une structure triénique en particulier des cétones et dicétones, qui absorbent la lumière vers 270nm.  
(59)

#### ➤ Mode opératoire

Les diènes et les trines conjugués sont à doser dans les poudres selon la norme du Conseil Oléicole International (2011) :

- 0,1 g de l'échantillon est dissout dans 10 ml du cyclohexane. Après homogénéisation, on mesure les extinctions  $K_{232}$  et  $K_{270}$ .
- L'absorbance se fait à 232 nm et 270 nm avec à un spectrophotomètre UV
- La lecture se fait dans une cuve en quartz
- Les valeurs du coefficient d'extinctions spécifiques à 232 nm et 270 nm sont calculées selon la formule suivante :

$$K = A_k / C \cdot S$$

Où : **A<sub>k</sub>** : Absorbance à la longueur d'onde k.

**C** : Concentration de la solution en g/100 ml.

**S** : Chemin optique (1 cm)

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

### IV.5 .Extraction des composés phénoliques :

**Principe d'extraction :** La rupture des tissus végétaux et la diffusion a pour but de libérer les polyphénols de la matrice végétale.

#### IV.5.1. Préparation des extraits :

3g de la poudre sont extraits à partir de 50 ml de méthanol avec une agitation magnétique pendant 12 heures à température ambiante (25°C) et à l'abri de la lumière puis filtrés avec du papier filtre.

Les filtrats sont mis dans des béchers, ensuite, séchés à l'aide d'une étuve à 40°C jusqu'à l'obtention d'un poids stable. Les extraits sont pesés après l'évaporation pour estimer le rendement d'extraction comme suit :

$$\text{Taux de la matière extraite (\%)} = ((P_1 - P_0) / E) \times 100$$

Où :

$P_1$  : poids de bécher vide(g).

$P_0$  : poids de bécher après l'évaporation (g).

$E$  : poids d'échantillon (g).

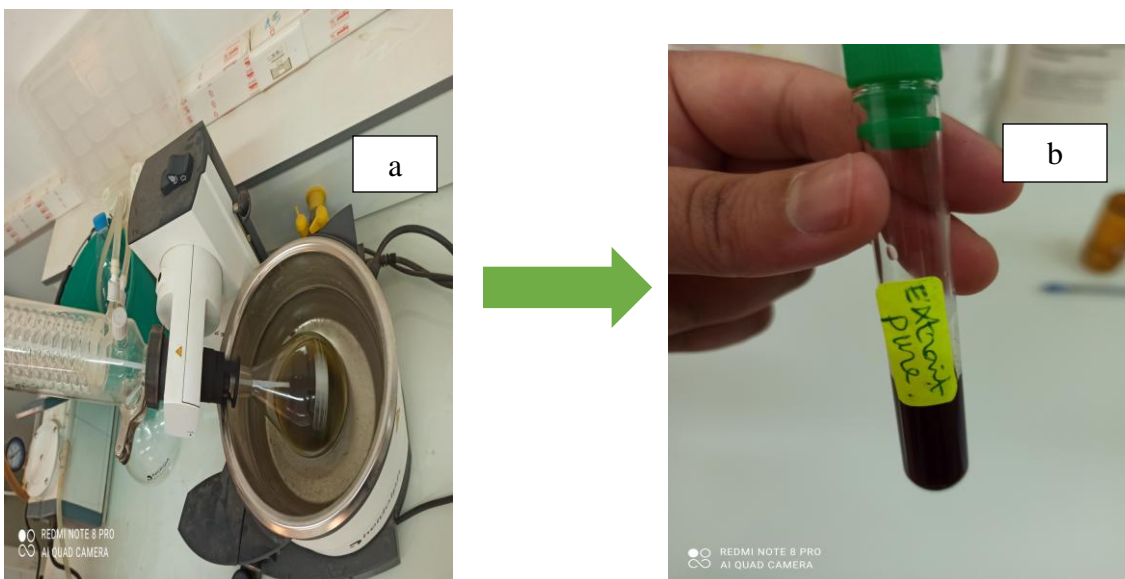


Figure 25: a) éliminations du méthanol avec rota vapeur b) l'extrait récupéré

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

### IV.5.2. Dosage des composés phénoliques :

#### A- Dosage des poly phénols totaux :

La concentration des phénols totaux a été déterminée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu avec spectrophotométrie UV-visible et a été décrit en 1965 par Singleton et Rossi.

##### ➤ Mode opératoire

Une quantité de 100 µl des échantillons (des extraits des feuilles) sont mélangés avec 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu fraîchement préparé (dilué 10 fois) et incubées à température ambiante dans l'obscurité. Après 2min, 1,5 ml de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (20%) sont ajoutés. Le mélange final subit une agitation à l'aide d'un vortex.

Un blanc, contenant tous les réactifs, excepté l'échantillon qui est remplacé par le méthanol, est préparé dans les mêmes conditions.

Après 2 heures d'incubation à l'obscurité, la lecture est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm.

La détermination de la concentration en polyphénols totaux est effectuée en se basant sur une courbe d'étalonnage  $y = Ax + b$  réalisée en parallèle par l'acide gallique. L'acide gallique est utilisé comme standard pour préparer une gamme étalon dans la marge de concentration 0-2 mg/ml, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. La teneur des polyphénols totaux ont été exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme. <sup>(60)</sup>

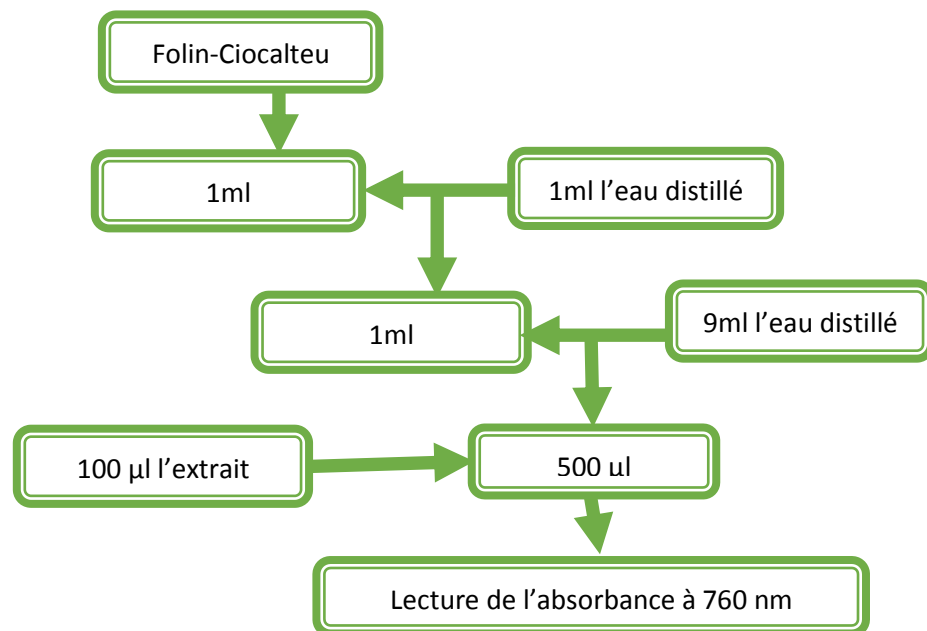


Figure 26: Dosage des polyphénols.

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

### b- Dosage de la concentration en Ortho-diphénol :

La concentration en *ortho*-diphénols des extraits méthanoliques des échantillons est déterminée suivant le protocole de Mateos. Cette méthode est basée sur la formation de complexes entre les *ortho*-diphénols et les ions molybdates.

A 4 ml d'extrait méthanolique, sont ajoutés 1 ml d'une solution de molybdate de sodium dihydraté à 5% dans l'éthanol-eau (v/v). Le mélange est agité vigoureusement et après 15 mn d'incubation à l'obscurité, l'absorbance des solutions phénoliques est mesurée à 370nm.

### C- Dosage de la concentration en flavonoïde :

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la complexation des flavonoïdes par l'aluminium suite à la chélation de métaux ( $Al^{3+}$ ) utilisés sous forme de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), par les groupements OH.

Le chlorure d'Aluminium forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes comme le montre la figure (27)

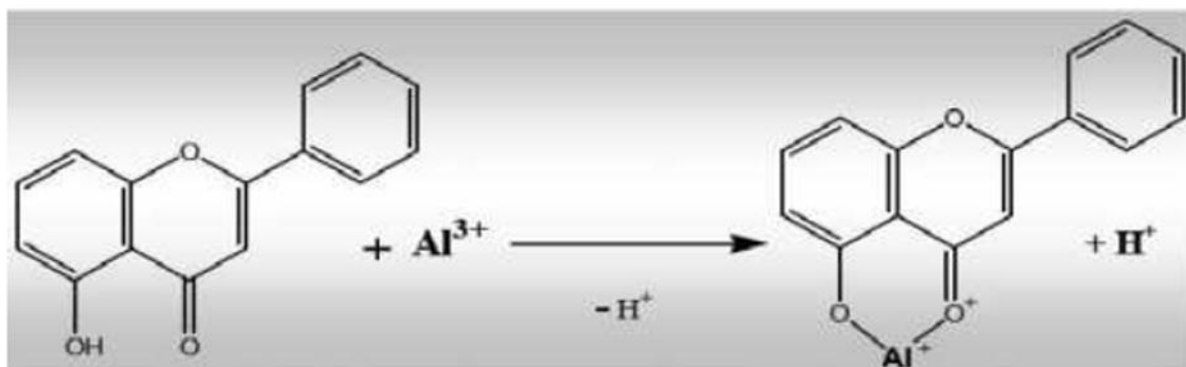


Figure 27 : Mécanisme de réaction de chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes

2 ml de jus ou des extraits méthanoliques sont mélangés avec 2 ml de solution de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ , 6  $H_2O$ ) (2%). Puis homogénéiser et laisser au repos pendant 15 min à température ambiante à l'obscurité. Le blanc est préparé dans les mêmes conditions. Après 2 heures d'incubation à l'obscurité, la lecture est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm.

La quantité de flavonoïdes contenue dans notre échantillon est calculée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercitrine (1mg/ml). La quercitrine est utilisée comme

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

standard pour préparer une gamme étalon dans la marge de concentration 0 - 250 mg L<sup>-1</sup> (Annexe 9).

### V. Evaluation de l'activité antioxydante avec la méthode de DPPH :

L'activité antiradicalaire de DPPH a été déterminée en se basant sur les essais décrits par Brand-Williams et al avec quelques modifications. Ainsi, dans un volume de 1 ml, on prépare différentes concentrations de l'extrait à tester dans le méthanol, on ajoute, ensuite 2 ml de la solution de DPPH. De concentration 0,1 mM. Après agitation vigoureuse, le mélange est incubé pendant 1 heure à l'obscurité et à température ambiante, puis l'absorbance est mesurée à 515 nm par un spectrophotomètre UV- visible. Une solution contenant 1 ml méthanol et 2 ml de DPPH. Considérée comme blanc analytique est préparée en parallèle.

L'estimation de l'activité antiradicalaire est exprimée par la valeur du pourcentage d'inhibition (%I) calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\%I = [(Abs_0 - Abs_1)/Abs_0] \times 100$$

**Avec :** **Abs<sub>0</sub>** : absorbance du blanc analytique.

**Abs<sub>1</sub>** : absorbance de la solution en présence d'extrait.

La courbe donnant la variation du (%I) en fonction des différentes concentrations de l'extrait, permet de déterminer l'activité antiradicalaire ou EC<sub>50</sub> (Efficient Concentration 50%), définie comme étant la quantité d'extrait nécessaire pour diminuer de moitié la concentration initiale de DPPH

### VI. Photochimique des feuilles *Gossypium arboreum* :

Concernant l'étude phytochimique, neuf tests préliminaires ont été réalisés selon le protocole mis au point référencé dans le tableau, qui a permis d'effectuer un criblage phytochimique qualitatif de la plante. <sup>(61)</sup>

Tableau 13 : Photochimique de les feuilles *Gossypium arboreum*

N°	Composé	Mode d'action	de la part de	Le résultat attendu
----	---------	---------------	---------------	---------------------



## Chapitre IV : Matériels et méthodes

<b>1</b>	Proteins	2ml extract + 5 drops NaOH(5%) + 5 drops CuSO <sub>4</sub> (1%)+ heat	<i>Sumbul et al Samejo</i>	La couleur violette apparaît
<b>2</b>	Carbohydrates	2ml extrait + 10ml H <sub>2</sub> O + 2 drops Ethanolic $\alpha$ -naphthol (20%) +2ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (conc.)	<i>Yadarand Agarwala et Pandith</i>	Apparition d'un précipité rouge
<b>3</b>	Glycosides	2ml extract + 2ml CHCl <sub>3</sub> + 2ml CH <sub>3</sub> COOH	<i>Molisch's Test</i>	La couleur violette à bleue et rouge apparaît
<b>4</b>	Saponins	(a) 5ml extrait + 5ml H <sub>2</sub> O + heat (b) 5ml extract + Olive oil (few drops)	<i>Foam Test</i>	aspect de mousse forme émulsion
<b>5</b>	Terpenoids	2ml extrait + 2ml (CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O + 2-3 drops conc. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	<i>Braymer's Test</i>	Apparition d'une couleur rouge foncé
<b>6</b>	Coumarins	2ml extrait + 3ml NaOH (10%)	<i>Liebermann's Test</i>	La couleur jaune apparaît
<b>7</b>	Steroids	2ml extrait + 2ml CHCl <sub>3</sub> + 2ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (conc.)	<i>Salkowski Test</i>	Un anneau brun rougeâtre se forme à la jonction
<b>8</b>	Flavonoids	1ml extrait + 1ml Pb(OAc) <sub>4</sub> (10%)	<i>Braymer's Test</i>	La couleur jaune apparaît
		2ml extrait + 2ml CH <sub>3</sub> OH + Mg + 2-3 drops HCl	<i>Samejo, Sumbul</i>	Aspect rouge ou orange
<b>9</b>	Phlobatannins	2ml extract + 2ml HCl (1%) + heat	<i>Salkowski Test</i>	Un précipité rouge apparaît
<b>10</b>	Tanins	2ml extrait + 2ml H <sub>2</sub> O + 2-3 drops FeCl <sub>3</sub> (5%)	<i>Braymer's Test</i>	Aspect vert foncé

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

11	Anthraquinones	3ml extrait + 3ml Benzene + 5ml NH <sub>3</sub> (10%)	<i>Xanthoproteic Test</i>	Une couleur violette ou rouge apparaît dans la couche d'ammoniac
12	Leucoanthocyanine Turns	5ml extrait + 5ml Isoamyl alcohol	<i>Borntrager's Test</i>	Couche organique rouge
13	Alkaloid	2ml extract + few drops of Hager's reagent	<i>Hager's Test</i>	Un précipité jaune apparaît
14		2ml extract + 5ml HCl + drops Drakndorfe	<i>Al-Daihan</i> <i>Al-Faham et al</i>	précipité orange
15	Emodins	2ml extrait + 2ml NH <sub>4</sub> OH + 3ml Benzene	<i>Xanthoproteic Test</i>	L'apparition du rouge
16	Anthocyanins	2ml extract + 2ml HCl (2N) + NH <sub>3</sub>	<i>Borntrager's Test</i>	Couleur rouge-rose à bleu-violet

### VII- Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique :

Les extraits des feuilles et les solvants utilisés sont testés sur différentes bactéries afin d'évaluer l'activité antimicrobienne.

#### VII- 1.la méthode de diffusion sur Agar :

##### A- Matériel :

##### Les souches bactériennes pathogènes :

Les trois souches bactériennes choisies pour tester l'activité antimicrobienne de notre extrait, ont été fournies par l'American Type Culture Collection (ATCC), et ont été obtenues de laboratoire de microbiologie du Centre Universitaire d'Ain Témouchent et Le Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) à l'Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger.

Les germes qui ont été choisies sont les suivants :

Des Bactéries à **gram positif** :

✓ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Des Bactéries à **gram négatif** :

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* CIP 22.
- ✓ *Escherichia coli* ATCC 25922.

Le fungi *Candida albicans* a été isolé à partir des patients présentant une infection bactérienne au sein de laboratoire de Bactériologie Ibn Roched, et ont été authentifiés par biologiste de laboratoire de microbiologie de l'université de biologie de Sidi Bel Abbés. Elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 h, à l'obscurité et à 30 °C.

### VII- 1.1. Généralité sur les bactéries « les fungi » :

Les bactéries sont des procaryotes à structure cellulaire très simples, sans noyau organisé ni de chloroplastes. Leur photosynthèse est anaérobique. L'énergie nécessaire à leur métabolisme est fournie par des réactions d'oxydo-réduction des substances organiques <sup>(62)</sup>.

- **Type des bactéries :**

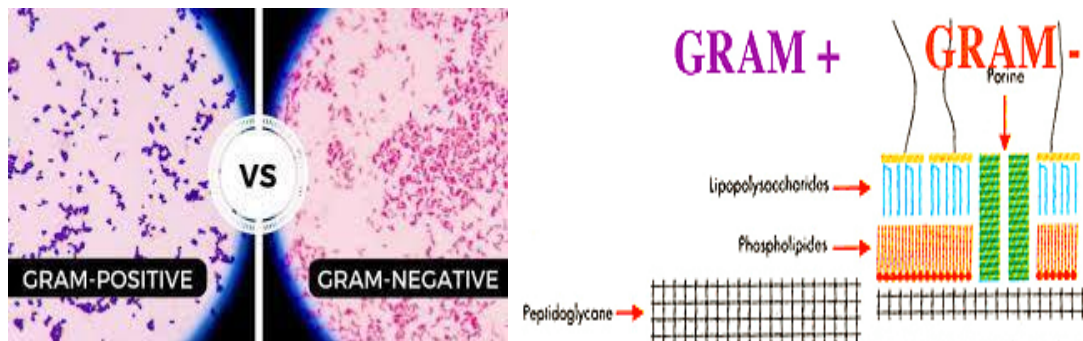






Figure 28 : Type des bactéries

Les Souches testées	Caractères bactériologiques	Habitats	Pouvoir pathogène
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	Gram -	-Le tube digestif	Son réservoir naturel est l'homme et tous les animaux à sang chaud.

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

			<p>, <i>Escherichia coli</i> peut aussi devenir un agent pathogène responsable de différents types d'infections : infections urinaires, diarrhées, cholécystites. Il peut aussi être impliqué dans des infections nosocomiales. <sup>(E.11)</sup></p>
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.</p> 	<p>Gram -</p>	<p>-Eau et sols humides -Surface des Végétaux</p>	<p>Pathogène opportuniste isolé essentiellement chez des patients présentant une immunodéficience locale ou générale (brulés, cancéreux) <sup>(E.12)</sup></p>
<p><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p> 	<p>Gram +</p>	<p>- Les fosses nasales - La gorge - Le tube digestif</p>	<p>il peut devenir pathogène et être responsable d'infections cutanées : furoncles, panaris, abcès, impétigo... Et de certaines infections ORL : angines, otites, sinusites... <sup>(E.13)</sup></p>
<p><i>Candida albicans</i></p> 	<p>Fungi</p>	<p>dans le tube digestif de l'homme, des mammifères et des oiseaux.</p>	<p>Les lésions cutanées et unguéales proviennent d'une contamination digestive. Celles du tube digestif, en particulier celles de l'oropharynx, sont consécutives à des causes générales (SIDA ...). Les septicémies surviennent lors de gestes médicaux ou chirurgicaux</p>

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

			(intraveineuse, pose de cathéters, chirurgie cardiaque, chirurgie digestive, transplantation d'organes ...) ou sur un terrain immunodéprimé. <sup>(E.14)</sup>
--	--	--	--

- **Les antibiotiques de référence :**

Nous avons utilisé un antibiotique comme référence : Gentamycine « **GEN** et **Nystatine** »

### 1.2. Milieu de culture :

□ Milieu de culture liquide :

- ✓ Bouillon Muller-Hinton (BMH)
- ✓ Bouillon Saboureaux (BS)

Le milieu Sabouraud (Sigma- Aldrich)

□ Milieu de culture solide :

- ✓ Gélose Mueller Hinton (MH) (Sigma- Aldrich)

Elle porte les caractéristiques suivantes :

- Infusion de viande de boeuf : 300,0 ml
- Peptone de caséine : 17,5 g
- Amidon de maïs : 1,5 g
- Agar : 17,0 g
- pH = 7,4
- 38g de poudre
- 1L d'eau distillé.

- ✓ Gélose sabouraud

- 1g de peptone
- 4g de glucose
- 1.5 g d'agar-agar
- 100 mL d'eau distillé.

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

### 2. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne et antifongique de nos produits synthétisés, a été évaluée in vitro, sur différentes souches bactériennes et fongiques, par la méthode de diffusion en milieu solide

#### 2.1. Conservation des souches étudiées :

Les souches référentielles sont conservées à 4 °C dans des tubes stériles contenant 10 ml Mueller Hinton (MH) inclinée pour les bactéries et Gélose sabouraud pour la souche fongique (levure)

#### 2.2. Ensemencement des souches conservées :

Dans un endroit stérile et à partir de la souche conservée, un ensemencement a été fait sur des boîtes pétri contenant de la gélose de M-H pour les bactéries et Gélose sabouraud pour la souche fongique, puis incubation de 24h à 37°C.

#### 2.3. Préparation des suspensions microbiennes :

##### 2.3.1. Préparation des suspensions bactériennes :

Une ansée de colonies bien isolées (deux à trois colonies) est mise dans un tube à vis contenant 10 ml de Bouillon Muller-Hinton puis laissé incuber à 37 °C pendant 18h, pour favoriser leur croissance bactérienne.

##### 2.3.2. Préparation des suspensions fongiques :

La levure a été repiquée dans le BS (Bouillon Sabouraud) à 30 °C pendant 48h, pour favoriser leur croissance.

##### 2.3.3. Ajustements de la charge microbienne :

Après 18h, Une suspension de 24 h (37°C) est préparée avec de Bouillon sélectif, diluée et ajustée la densité optique (DO) pour chaque souche à l'aide d'un spectrophotomètre (**JENWAY 6715 UV/ Vis. Spectrophotomètre**) dans une longueur d'onde de 625 nm avec un intervalle compris entre [0.08- 0.1] l'équivalent de  $10^8$  UFC/ml pour les bactéries, et dans une longueur d'onde de 530 nm avec un intervalle compris entre [0.12 - 0.15] l'équivalent de 1 à  $5 \times 10^6$  UFC/ml pour *Candida albicans* (**Pensini et al, 2003 ; NCCLS, 2001**).

- **Préparation des disques :**

Les extraits sont d'abord dilués avec l'eau distillée qui sont ensuite stérilisés à l'autoclave (121 °C pendant 15 minutes).

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

Des disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre sont imprégnés avec 20µl de chaque solution mère, correspondant respectivement. Finalement on prépare des disques imprégnés d'eau distillée stérile.

- **Repiquage des souches bactériennes :**

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum.

- a. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque (aromatogrammes) :**

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits préparés. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. La technique utilisée est une modification de la méthode de Hayes et Markovic <sup>(63)</sup> telle que décrite par Bauer *et al.* <sup>(64)</sup> et reprise par BARRY *et al.* <sup>(65)</sup>. Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé avec extrait dilué, sur un tapis bactérien au tout début de sa croissance et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de l'extrait, est ainsi déterminé.

La suspension bactérienne de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland ( $10^6$ ) unités formant colonie par millilitre (UFC/mL) est préparée puis diluée au 1/100. 20 ml de milieu gélosé MHA sont coulés par boîte de Pétri. 02 ml d'inoculum sont déposés sur chaque boîte. Après une imprégnation de 5 minutes, l'excédent d'inoculum est éliminé par aspiration. A la surface de chaque boîte, quatre disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre (bioMérieux) sont déposés. Deux essais sont réalisés : un disque imbibé avec 20µl des extraits et deux témoins sont réalisés : un témoin négatif avec 30µl d'eau distillée et le solvant de l'extraction stérile et un témoin positif avec l'antibiotique. Les boîtes sont laissées 1 heure à température ambiante puis retournées et incubées pendant 24 heures à 37°C pour les bactéries et 30°C pour fungi <sup>(66)</sup>. Après incubation, le diamètre d'inhibition est mesuré en millimètres, disque inclus. Chaque test est réalisé trois fois au cours de trois expériences successives.

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

---

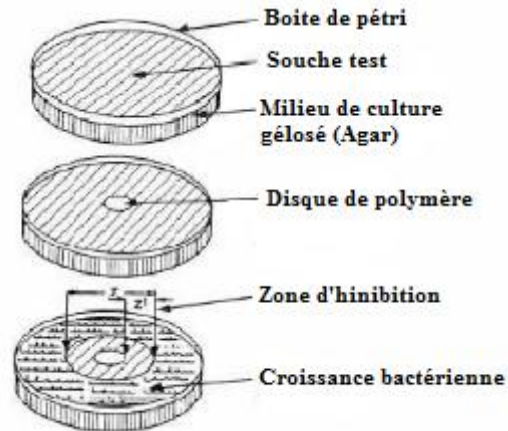


Figure 29: Méthode de la diffusion en disque. <sup>(E.15)</sup>

### VIII. Adsorption de vert malachite :

#### **VIII.1. Préparation de solution de verte malachite :**

On dissout une quantité de vert de malachite dans 100 ml d'eau distillée, puis pris 10 ml de la solution et l'avons diluée dans 250 ml d'eau distillée.

A partir de solution mère déjà préparées nous avons préparé une solution diluée des concentrations  $0,4 \cdot 10^{-5}$  mol/l des solutions préparées,



Figure 30 : les solutions préparées de verte malachite

#### **VIII.2. Préparation de biosorbant :**





Figure 31 : Déchet des feuilles de coton

- Récupération de déchet des feuilles de coton à la fin de l'extraction.
- Lavage avec eau distillé et séchage dans étuve à 60 °C pendant 48h.

### VIII.3. Le protocole expérimental de l'adsorption :

Les tests d'adsorption ont été réalisés à différents paramètres à savoir la masse d'adsorbant,  $m$  (0.5 mg), la concentration initiale en colorant,  $C_0$  ( $4 \cdot 10^{-5}$  mol/l) à la température ambiante, le temps de contact dans un intervalle de 60-120 min avec une du pH (6.9), le volume de la solution du vert malachite est maintenu constant (100 ml), sous une agitation de 500rpm. Les échantillons prélevés sont centrifugés à 500rpm pendant 5 min. Les mesures de l'absorbance ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre type JENWAY série 6800 UV-Visible à une longueur d'onde maximum d'absorption du vert malachite ( $\lambda = 664.5$  nm). La concentration résiduelle est calculée à l'aide de la courbe d'étalonnage. La quantité du BM adsorbée par unité de masse de sciure de bois de vigne activé et le taux d'élimination sont calculés par les équations suivantes :

$$Q = \frac{C_0 - C_e}{m} \times V \quad \dots\dots\dots (1)$$

$$R\% = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

Avec :

**Q** : Quantité adsorbé (mmol/g)

**C<sub>0</sub>** : Concentration initiale en colorant à t = 0 en (mol/l)

**C<sub>e</sub>** : Concentration à l'équilibre en (mol/l)

**m** : masse de l'adsorbant (g)

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

V : volume de la solution (L)

### VIII.4. Spectrophotomètre UV-Visible :

Pour le dosage de nos différentes solutions nous avons utilisé un spectrophotomètre UV-Visible de type Thermo Fisher Scientific, modèle: UviLine 9400C. La spectrophotométrie d'adsorption étant une méthode qui consiste à mesurer l'atténuation de la lumière traversant un milieu pour pouvoir déterminer les concentrations des substances absorbants. Cette technique est utilisée dans notre étude pour la quantification de solutions de phénol et des colorants (verte de malachite) benzène à différentes concentrations avant et après adsorption par le Spectrophotomètre UV-visible

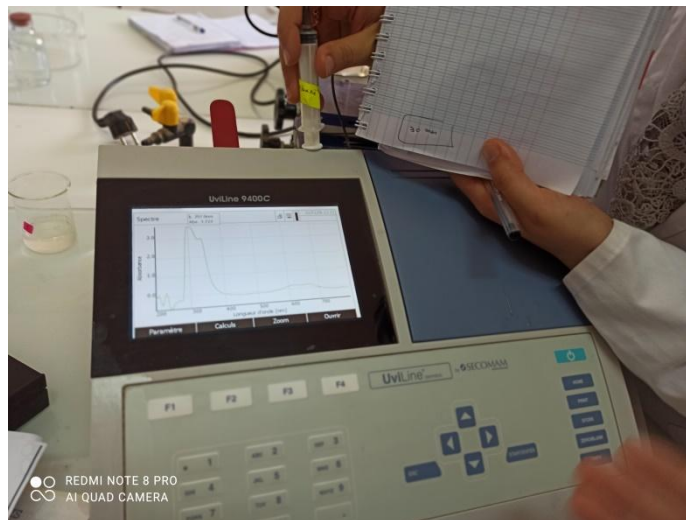


Figure 32 : Spectrophotomètre UV visible de type Thermo Fisher Scientific (UviLine 9400C).

#### a) Détermination de la longueur d'onde d'adsorption maximale ( $\lambda_{max}$ ) :

La longueur d'onde maximale d'adsorption ( $\lambda_{max}$ ), a été déterminée par l'établissement du spectre visible d'un échantillon d'une solution de  $4 \cdot 10^{-5}$  mol/l en de vert malachite

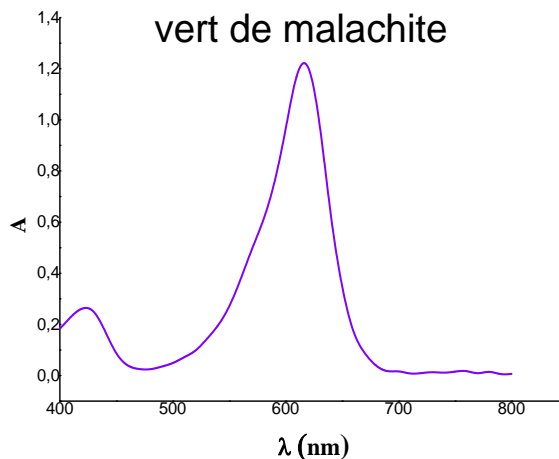


Figure 33 : Spectre d'adsorption du vert malachite en solution aqueuse.

### b) vérification de la loi de Beer-Lambert :

Lorsqu'un faisceau de rayonnement monochromatique incident d'intensité  $I_0$  traverse une substance colorée ou bien organique, une absorption d'énergie a lieu de sorte que l'intensité du faisceau incident émergent  $I$  est plus faible. Cette absorption monochromatique suit la loi de Beer-Lambert qui s'exprime comme suite :

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

**A** : absorbance

**I** : Intensité du faisceau émergent (A)

**I<sub>0</sub>** : Intensité du faisceau incident (A)

Pour établir la courbe d'étalonnage, nous avons mesuré à la longueur d'onde maximale, les absorbances des échantillons des solutions de colorant et de phénol avec différentes concentrations, préparées à partir de la solution mère.

### VIII.5. Préparation de courbe d'étalonnage :

Pour calculer la concentration de phénol restant après adsorption, on utilise la courbe d'étalonnage, on commence par établir une droite d'étalonnage (Absorbance = f (C)) à partir de solutions de concentrations connues du composé à doser pour un pH normal.

## Chapitre IV : Matériels et méthodes

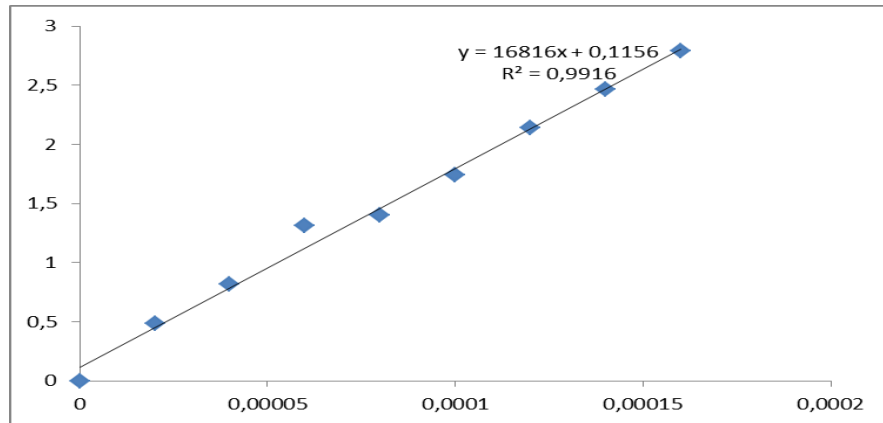


Figure 34 : courbe d'étalonnage

### VIII.6. Criblage des sels minéraux :

On a fait le dosage de différents sels dans l'extrait aqueux des feuilles de *gossypium arboreum* et raffinat récupéré à la fin de l'extraction successive avec le spectrophotomètre UV visible a des longueurs d'onde donnés

Tableau 14 : Criblage des sels minéraux

	$\lambda(\text{nm})$
<b>Aluminum</b>	544
<b>Calcium</b>	468
<b>Iron</b>	562
<b>Manganese</b>	450
<b>Nitrates</b>	481
<b>Phosphates</b>	713
<b>Potassium</b>	515
<b>Sulfates</b>	639
<b>Zinc</b>	621
<b>Phenol</b>	507
<b>Magnesium</b>	509

The background of the slide is a photograph of a plant with green, serrated leaves and several white flowers. Some flowers are in full bloom, while others are still in bud. The lighting is natural, suggesting an outdoor setting.

## **Résultat et discussion**

## Chapitre V : résultat et discussion

---

Afin de récupérer les feuilles de *Gossypium arboreum*, une étude approfondie a été réalisée sur leurs extraits avec différents solvants. Nous avons d'abord fait des tests physico-chimiques et ensuite vérifié sa capacité comme un antioxydant et antimicrobienne naturelle.

### I. Préparation des extraits :

L'extraction de principes actifs de ces métabolites est une étape très importante dans leur isolement, et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal (Quy Diem Do et al., 2014) aussi bien que dans leur identification (Mahmoudi et al., 2013). Elle est influencée par sa nature chimique, la méthode utilisée, la taille d'échantillon étudié, ainsi que la présence de substances interférentes (Stalikas, 2005).

Selon la littérature consultée, le mode d'extraction peut influencer sur les caractéristiques quantitative et qualitative des extraits, signalent que le choix du mode d'extraction dépend essentiellement de leur domaine d'application (alimentaire, pharmaceutique, ...). (Nkhili, 2009). Dans ce travail, nous avons utilisé la méthode de macération, c'est une méthode d'extraction utilisée en médecine traditionnelle.

L'extraction par macération avec différents solvants (l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle, n-butanol) a fourni des extraits ayant différentes colorations.

D'après Quy Diem Do et al., 2014, l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique<sup>(67)</sup>.

## Chapitre V : résultat et discussion



Figure 35 : la différence d'extraits

Donc la différence de couleur peut être liée à la composition chimique de chaque extraits et dépend de solvant utilisé (l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle, n-butanol). Le rôle de différents solvants utilisés sont : l'éther de pétrole qui élimine la chlorophylle et les lipides, stérols puis par le chloroforme qui extrait les produits volatiles les terpènes, les coumarines, et l'acétate d'éthyle pour les flavonoïdes libres et les flavonoïdes monosaccharides enfin l'extraction par le n-butanol entraîne les composés polaires et les flavonoïdes polysaccharides. <sup>(68)</sup>

### II. Screening physico-chimiques :

#### **II.1. Caractérisation physico-chimique de poudre et l'extrait de la poudre des feuilles de *Gossypium arboreum* :**

Les résultats des analyses physico-chimiques des poudres et l'extrait des feuilles de *Gossypium arboreum* est donnée dans les tableaux suivants :

Tableau 15 : Les résultats des analyses physico-chimiques

Paramètres	La poudre
Taux d'humidité (teneur en eau g/100g)	74.81
Ph	6.16
Acidité meq de NaOH /100g	0.45

## Chapitre V : résultat et discussion

coefficient d'extinction spécifique	K232	45.9
	K270	214.3
La teneur en pigments	Chlorophylle (en ppm)	23.05
	Carotènes (en ppm)	66.06
composés phénoliques	Rendement de l'extraction (en %)	1.41
	Polyphénols totaux (mg éq AG/L)	1.616±0.0008
	ortho-diphénols(mg éq CA/L)	3.620±0.0038
	Flavonoïdes (mg éq Q/L)	0.17±0.1343

### III. Déterminie La teneur en eau :

Il est généralement fait pour mieux conserver la poudre en réduisant la teneur en eau.

Dans notre étude, La teneur en eau de poudre des feuilles du coton est 74.81% ce qui indique que cette espèce est riche en eau.

■ matières sèches ■ humidité

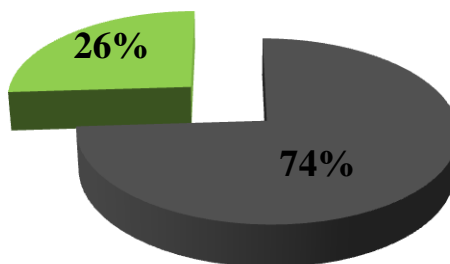


Figure 36 Taux d'humidité



## Chapitre V : résultat et discussion

### III.1. pH et acidité

La poudre analysée présente un pH 6.16 est légèrement acide.

### III.2. L'acidité titrable

L'acidité de la poudre analysée est égale presque 0.45 meq de NaOH par 100g de la matière sèche.

### III.3. Le coefficient d'extinction spécifique :

La détermination des coefficients ( $K_{232}$ ,  $K_{270}$ ) d'absorbance dans l'ultraviolet, renseigne sur la présence ou l'absence de produits d'oxydation primaires et secondaires dans les feuilles. Les données recueillis par le coefficient d'extinction spécifique sont consignées dans le tableau 15 et expliquer par la figure 37.

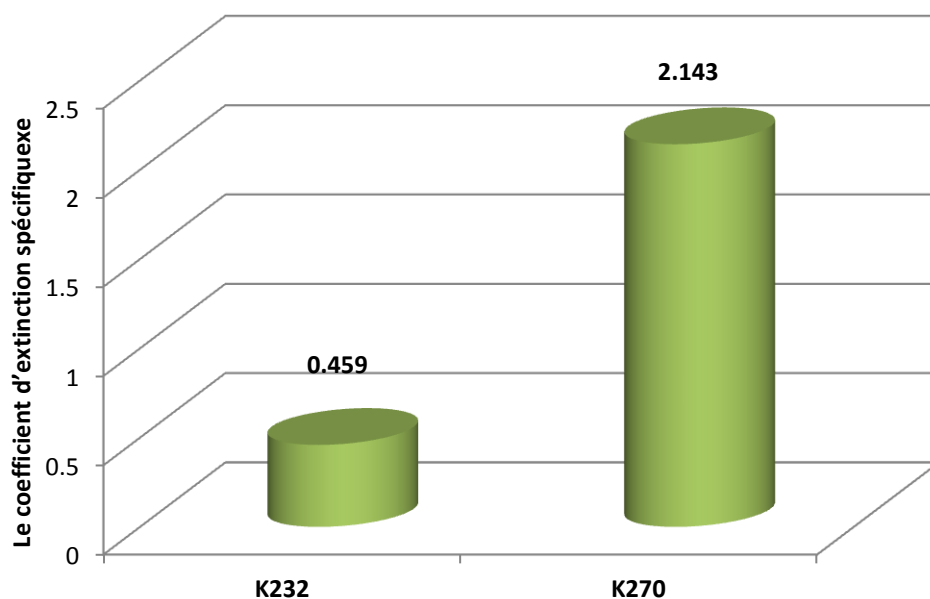


Figure 37 : Variation de coefficient d'extinction spécifique  $K_{232}$  et  $K_{270}$

D'après les valeurs obtenues, on remarque que le poudre des feuilles présente une extinction spécifique  $K_{270}$  et  $K_{232}$  moyen donc cet extrait reste consommable est possède une certain activité antioxydant.

## Chapitre V : résultat et discussion

---

### III.4. Détermination de la teneur en pigments :

Les lipides, utilisés comme corps gras alimentaires ou industriels, sont constitués d'un ensemble hétérogène de familles chimiques comportant des triglycérides (triacylglycérols), des diglycérides, des mono glycérides, des phospholipides, des acides gras libres, des stérols, des esters de stérols, des alcools, des pigments (caroténoïdes, chlorophylles), des tocophérols, des hydrocarbures...

L'extrait des feuilles Contient des composés qui lui confèrent ses qualités organoleptiques et nutritionnelles.

Parmi ces composés mineurs les pigments, qui en raison de leur caractère antioxydant dans l'obscurité et peroxydant dans la lumière, semblent jouer un rôle important dans la stabilité oxydative des feuilles au cours de son stockage et dans la préservation de sa qualité.

Deux sortes de pigments sont présentes dans l'extrait des feuilles : les chlorophylles et les caroténoïdes.

### III.5. La teneur en chlorophylle :

La chlorophylle dépend de plusieurs facteurs comme le facteur génétique, le stade de maturité, la qualité de fruits, le procès d'extraction et les conditions de stockage <sup>(69,70)</sup>.

Nos résultats révèlent que la poudre renferme une quantité plus élevée en chlorophylles soit en moyenne 23.05 ppm.

### III.6. La teneur en carotènes :

Les caroténoïdes ont des effets notables sur la stabilité de ce produit au cours de son stockage <sup>(71)</sup>. Les résultats des teneurs en caroténoïdes enregistrées sont dressés dans la figure 38, montrent que l'extrait de poudre présente une concentration plus importante de  $\beta$  carotène de l'ordre de 66.06 ppm.

Les chlorophylles peuvent avoir un effet négatif (effet peroxydant) lors du stockage d'extrait, les caroténoïdes sont importants du point de vue nutritionnel. Le  $\beta$ - carotène est considéré comme une provitamine.

## Chapitre V : résultat et discussion

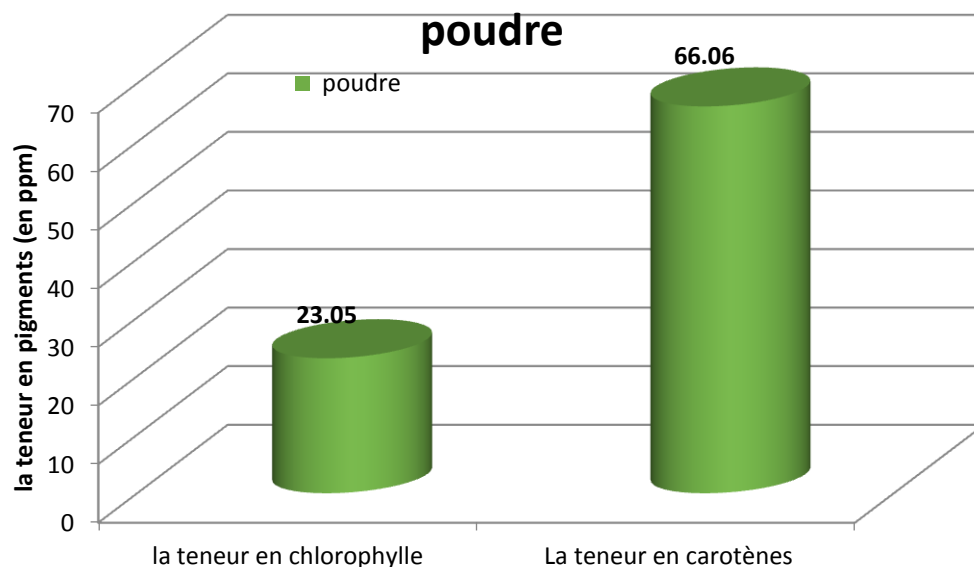


Figure 38 : Teneurs en chlorophylles et carotènes exprimées en ppm de l'échantillon étudié

### IV. Constituants biochimiques avec les tests phytochimique

- Le screening phytochimique a été utilisé pour déterminer la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires.

Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur les feuilles de coton présentés dans le (Tableau 16).

Tableau 16 : les tests phytochimique

N°	Composé	Le résultat obtenu
1	Proteins	-
2	Carbohydrates	-
3	Glycosides	+
4	Saponins	++++

## Chapitre V : résultat et discussion

---

5	Terpenoids	+++
6	Coumarins	+/-
7	Steroids	+++
8	Flavonoids	+++
9	Phlobatannins	+++
10	Tanins	+++
11	Anthraquinones	+
12	Leucoanthocyanine Turns	-
13	Alkaloid	-
14	Emodins	-
15	Anthocyanins	+++

Les tests ont montré que les saponines, Saponins, Terpenoids, Steroids, Flavonoïdes, Phlobatannins, Tanins, Anthocyanins et les tannins sont présent en grande quantité. Les Glycosides, Anthraquinones, se retrouvent sous forme de trace ; et les Proteins, Carbohydrates, Leucoanthocyanine Turns, Alcaloïde et les Emodins sont absentes.

Donc, l'extrait des feuilles *gossypium arboreum* se caractérise par des mélanges complexes de métabolite secondaire.

## Chapitre V : résultat et discussion

---

### V. Extraction des composés phénoliques :

Les composés phénoliques jouent un rôle très important dans la caractérisation et la valeur nutritionnelle de l'extrait. Ils sont importants pour la stabilité oxydative et l'activité antioxydant, ils peuvent utiliser comme antioxydants.

Ces composés sont affectés par les conditions climatiques, le stade de maturité et le stockage<sup>(72)</sup>. L'étude quantitative de l'extrait brut méthanoïque au moyen des dosages spectrophotométries, avait pour objectif la détermination de la teneur totale de polyphénols.

### VI. Rendement de l'extraction méthanoïque :

L'extraction hydro-méthanoïque des polyphénols à partir l'extrait aqueux de poudre des feuilles de *Gossypium arboreum* cultivés séchées a permis d'obtenir des extraits riches aux différents composants Biochimiques.

D'après les rendements en composants extraites des échantillons étudiés, on s'aperçoit clairement que l'extraction hydro- méthanoïque a donné un rendement qui varie d'un échantillon à une autre. Les résultats obtenus montrent que l'ajout de la poudre entraîne une augmentation significative du rendement.

#### **VI.1. Concentration des polyphénols :**

Nous déterminer les concentrations des extraits obtenus à partir des poudres des feuilles en utilisant la courbe d'étalonnage d'acide gallique (Annexe 8) et la concentration des flavonoïdes en utilisant la courbe d'étalonnage de quercitrine (Annexe 9) et l'ortho diphénol avec la courbe d'étalonnage de acide cafique (Annexe 10)

#### **VI.2. La concentration de polyphénols totaux :**

Les résultats du dosage de polyphénols totaux révèlent que notre extrait est riche en composés phénoliques avec un taux de  $1.616 \pm 0.0008$  mg équivalent acide gallique par L d'extrait. La période de récolte des et le système d'extraction de l'extrait sont aussi des facteurs qui influencent la teneur en composés phénoliques<sup>(73)</sup>.

#### **VI.3. La concentration en Ortho-diphénol :**

Les ortho diphénols (comme l'acide caféique), présents dans l'extrait sont considérés comme des antioxydants naturels qui protègent l'extrait contre l'oxydation. Ils lui confèrent une meilleure stabilité lors du stockage, une saveur amère et une sensation de piquant.<sup>(74)</sup> Les teneurs en ortho-diphénols égal 3.645 (mg éq CA/L).

## Chapitre V : résultat et discussion

---

### VI.4. La teneur des flavonoïdes :

Le dosage de flavonoïdes totaux montre que la teneur de l'extrait renferme  $0.17 \pm 0.1343$  mg .Eq quercetine / mg

En générale, les tests physico-chimiques effectués sur l'extrait aqueux de poudre des feuilles cultivées ont justifié que les feuilles ne sont pas riches en : polyphénols totaux et flavonoïdes. La période de récolte des et le système d'extraction de l'extrait sont aussi des facteurs qui influencent la teneur en composés phénoliques. <sup>(73)</sup>

### VII. Discussion de criblage des sels minéraux :

Le tableau suivant (N° 14) dans la partie matériel et méthode illustre que l'extrait aqueux des feuilles *Gossypium arboreum* et le raffinat. Constitue de sel minéraux qui sont : sulfate, phosphate, calcium, manganèse, magnésium, phénol, en grande quantité ; et iron, aluminium en quantités moyennes ; sauf zinc il est présente à une faible quantité de l'extrait aqueux des feuille et absent dans le raffinat .

## Chapitre V : résultat et discussion

---

Tableau 17 : Criblage des sels minéraux

	<b>Les extrait aqueux</b>	<b>Raffinat</b>
<b>Aluminium</b>	0.46mg /l	2.02 mg /l
<b>Calcium</b>	>200 mg /l	>200 mg /l
<b>Iron</b>	1.70 mg /l	0.66 mg /l
<b>Manganese</b>	7.71 mg /l	>8.00 mg /l
<b>Nitrates</b>	3.22 mg /l	35.8 mg /l
<b>Phosphates</b>	1.03 mg /l	119.1 mg /l
<b>Potassium</b>	6.05 mg /l	5.01 mg /l
<b>Sulfates</b>	79 mg /l	< 10 mg /l
<b>Zinc</b>	0.61 mg /l	/
<b>Phenol</b>	5.97 mg /l	4.91 mg /l
<b>Magnesium</b>	8.8 mg /l	7.1 mg /l

### VII.L'activité biologique de différent extrait des feuilles *gossypium arboreum* :

#### VII.1. L'évaluation de l'activité antioxydante :

L'activité anti radicalaire a été étudiée avec Piégeage des radicaux DPPH°. Ce radical est stable et la capacité des antioxydants à donner un atome d'hydrogène est suivie par la réduction de coloration du radical, a été suivie avec spectrophotomètre UV-visible à 517 nm. L'acide ascorbique est utilisé comme standard pour préparer la gamme d'étalonnage.

## Chapitre V : résultat et discussion

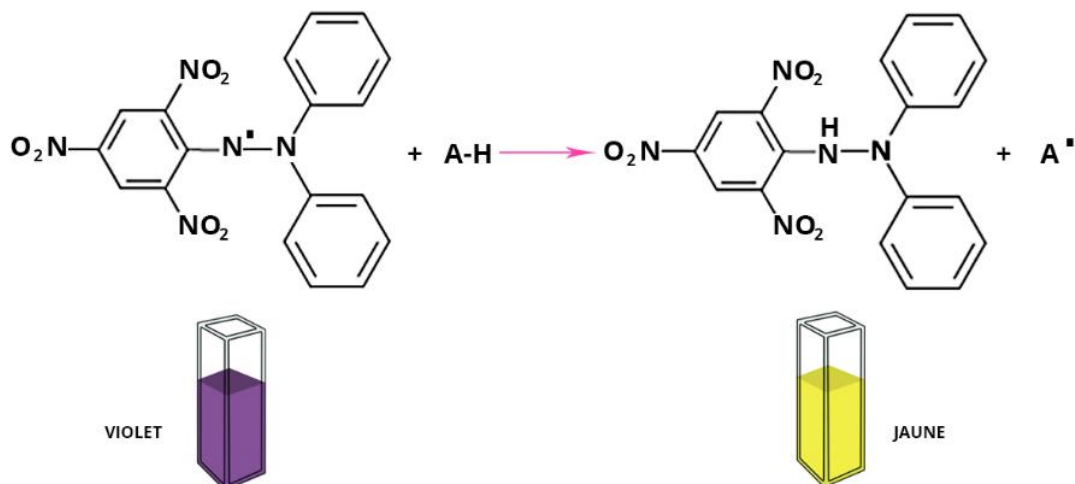


Figure 39 : Décoloration de la solution du DPPH du violet en jaune <sup>(E.16)</sup>

Ensuite, nous avons déterminé les  $CE_{50}$  des échantillons étudiés à partir des équations des régressions linéaires des graphes représentés dans l'annexe.  $CE_{50}$  est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. Les valeurs inférieures de  $CE_{50}$  indiquent l'efficacité de l'échantillon et ainsi un pouvoir antioxydant plus fort. En générale, Les extraits les plus riches en métabolites secondaires talques les polyphénols totaux les flavonoïdes, les tanines ... manifestent les activités les plus importantes contre le radical DPPH.

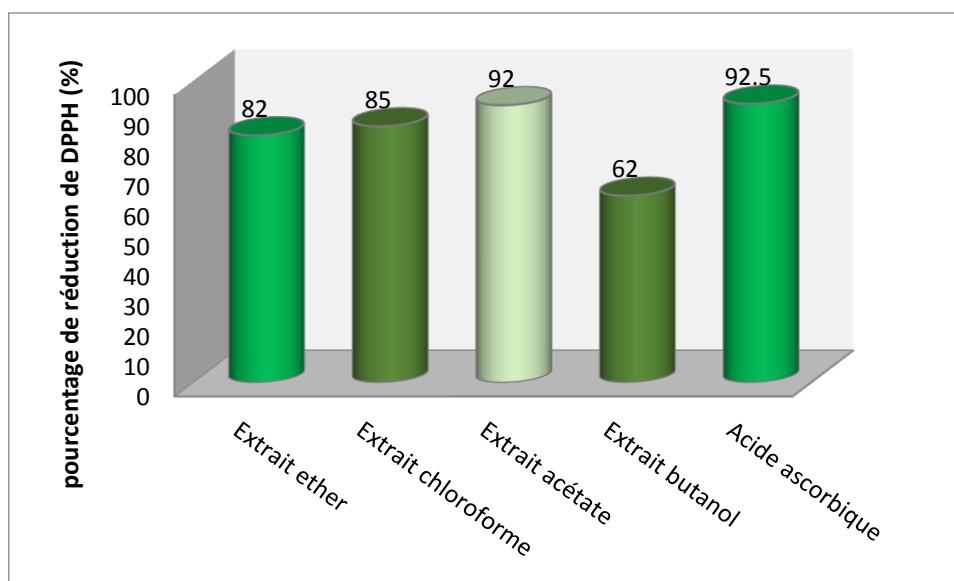


Figure 40 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH des échantillons testés.



## Chapitre V : résultat et discussion

La valeur maximale du pouvoir scavenger du DPPH des extraits testés est entre 62% et 92.5% à la concentration de 10 mg/ml. Rapportent que les feuilles de coton possèdent des activités antiradicalaires.

L'activité antioxydante des extraits était proportionnelle aux concentrations et les valeurs  $IC_{50}$  inférieure reflétaient une plus grande action protectrice (Figure 40 Et 41).

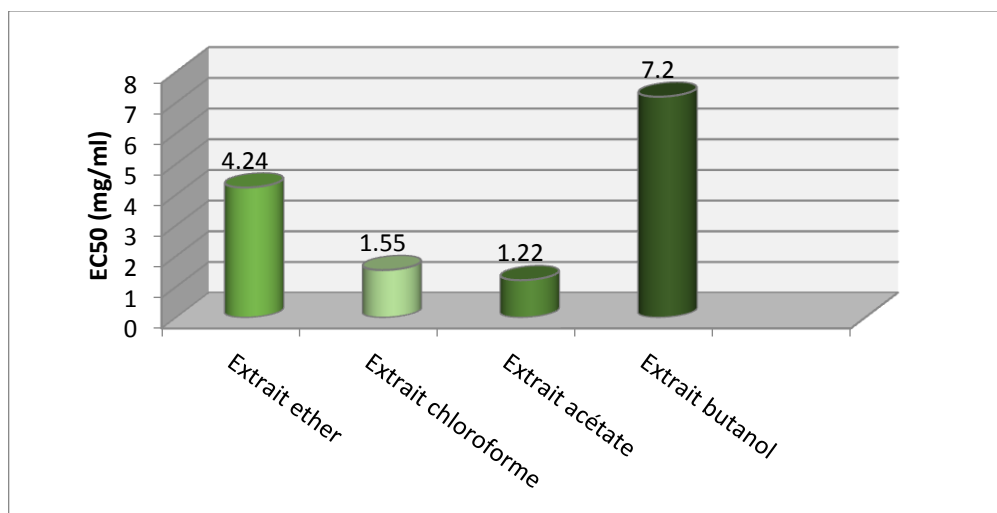
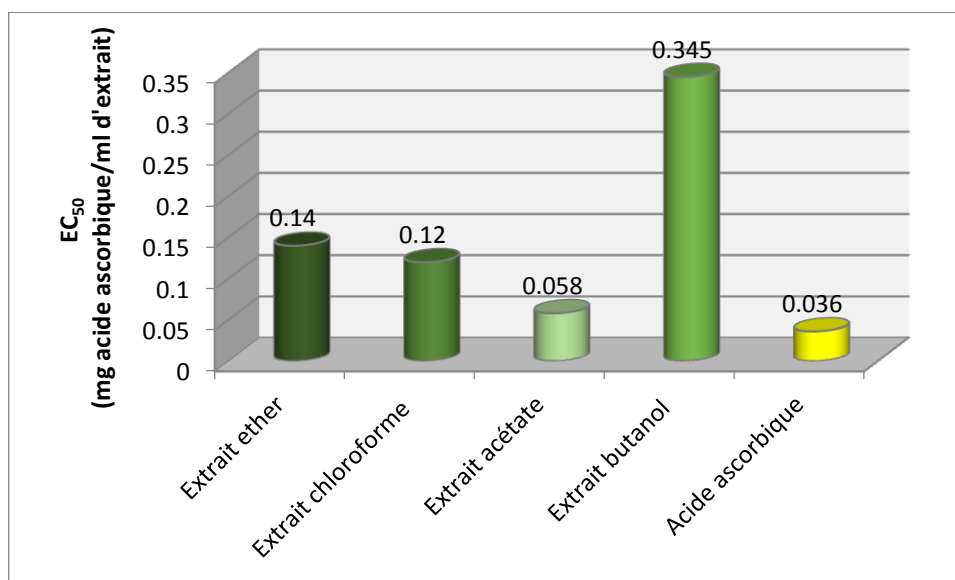


Figure 41: histogrammes des valeurs de  $IC_{50}$  des échantillons testés en mg/ml et mg d'acide ascorbique/ml d'extrait L'activité antioxydante des feuilles est exprimée en  $IC_{50}$ .

## Chapitre V : résultat et discussion

Ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats. Il définit la concentration de l'échantillon à tester qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH°. En suivant l'EC<sub>50</sub>, la capacité de balayage de radical libre DPPH° est classée dans l'ordre : acide ascorbique > extrait acétate > extrait chloroforme > extrait éther > extrait butanol ; D'après ces résultats, nous pouvons déduire que l'activité antiradicalaire de l'extrait de n-butanol est plus importante par rapport les autres extraits.

Ces résultats nous permettent de déduire que cette différence qui est attribuée à la différence des compositions chimique de chaque extrait qui montrent l'existence composés phénoliques et les substitués des phénols dans les feuilles de coton.

D'après les résultats obtenus, on peut en conclure que l'activité antioxydante des extraits des feuilles de gossypium arboreum est particulièrement faible comparativement au témoin, l'acide ascorbique qui sont caractérisés respectivement par des IC<sub>50</sub> de 0.036 mg/ml.

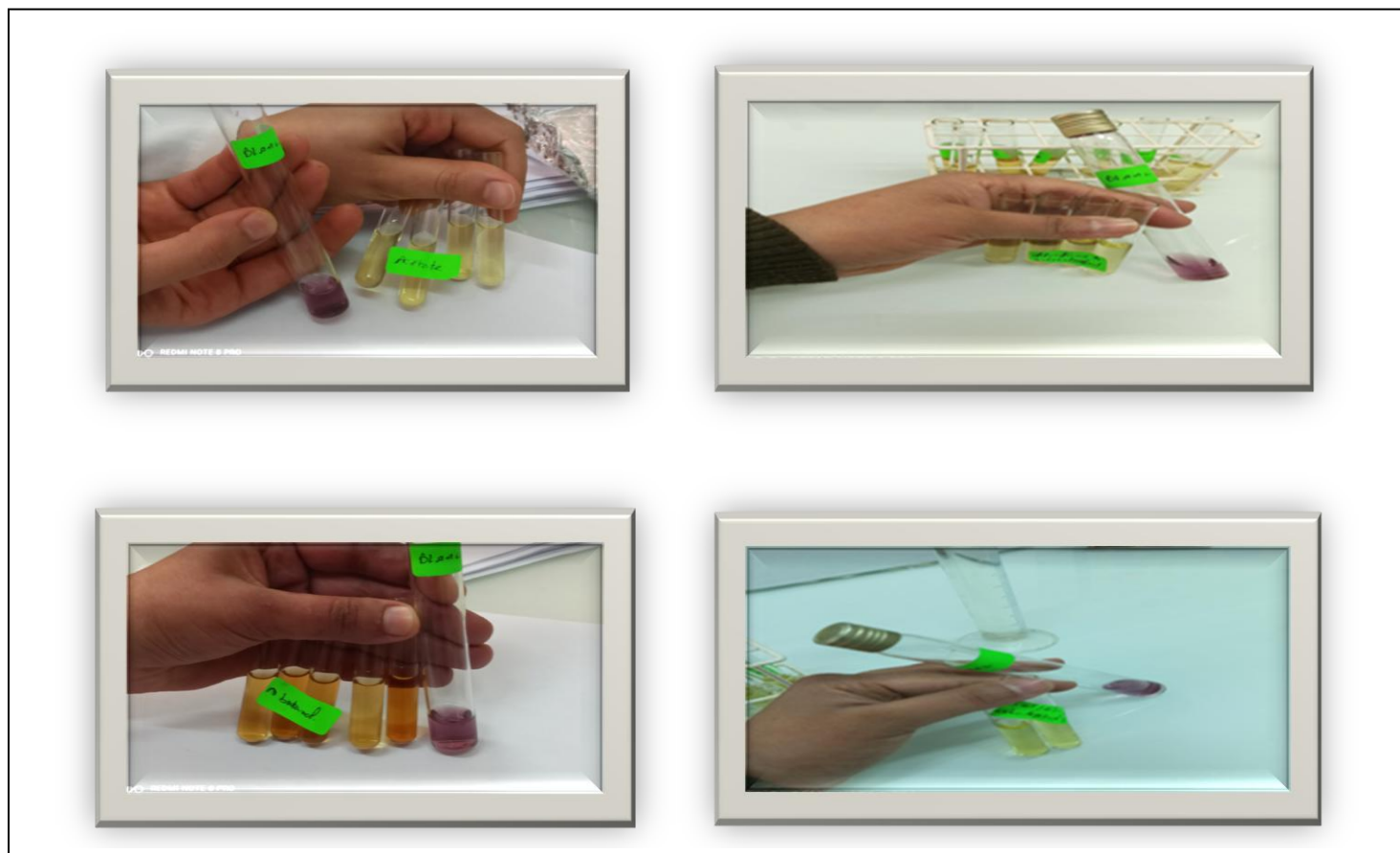


Figure 42 : dégradation de couleur de DPPH

## Chapitre V : résultat et discussion

---

### VII.2. L'évaluation de l'activité antibactérienne :














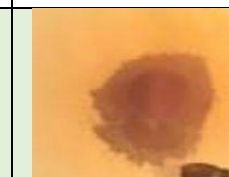


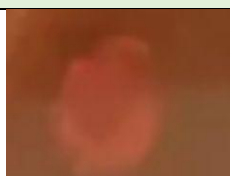

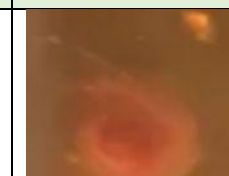
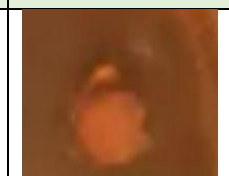
Le tableau ci-dessous reporte les valeurs en mm des zones d'inhibitions atteintes

#### Résultats de l'activité antibactérienne et antifongique

L'activité antibactérienne et antifongique des extraits des feuilles *Gossypium arboreum* et les solvants utilisés sont réalisées avec 3 souches bactériennes : Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) et Gram positif (*S. aureus*) et un champignon (*Candida albicans*) selon la méthode de diffusion en milieu solide. Le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne qui apparaît autour du disque avec les différentes souches étudiées sont reportés le tableau et histogramme ci-dessous et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts. Les disques d'antibiotiques

## Chapitre V : résultat et discussion

Tableau 18 : l'activité antibactérienne des différents extraits

	1 éther de pétrole	2 Chloroforme	3 Acétate d' éthyle	4 n-butanol	5 Raffinat
E.C					
P.A					
S.A					
C.A					

## Chapitre V : résultat et discussion

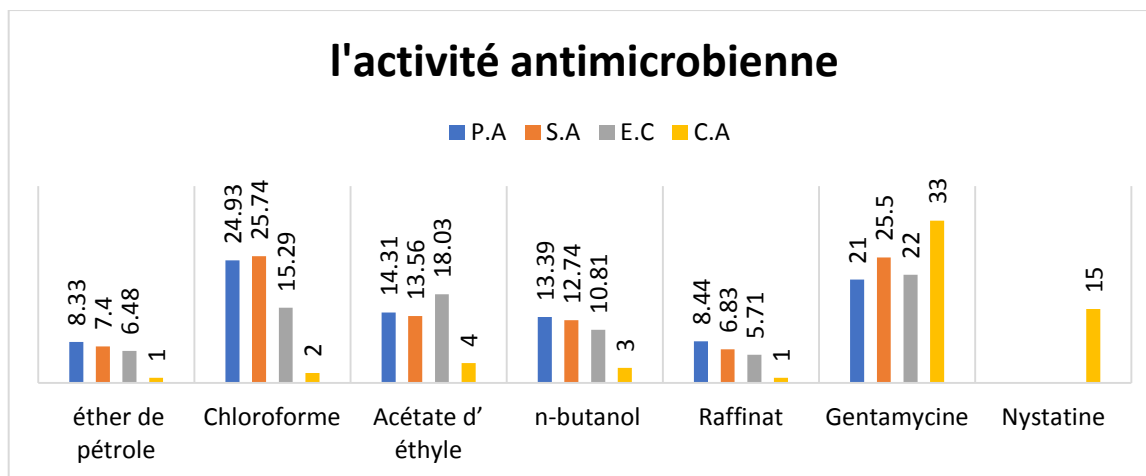


Figure 43 : Diamètre des zones d'inhibition de l'activité microbienne des extraits préparés Selon Ponce et al. <sup>(75)</sup>, le diamètre des zones d'inhibition renseigne sur la sensibilité d'une bactérie, donc les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité :

- Souche résistante ( $D < 8 \text{ mm}$ )
- Souche sensible ( $9 \text{ mm} \leq D \leq 14 \text{ mm}$ )
- Souche très sensible ( $15 \text{ mm} \leq D \leq 19 \text{ mm}$ )
- Souche extrêmement sensible ( $D > 20 \text{ mm}$ )

Après 24 heures d'incubation, les résultats de l'examinassions de l'activité antimicrobienne de l'extrait des feuilles de coton et les solvants et les antibiotiques montrent que les souches bactériennes utilisés sont sensibles à cet antibiotique testé avec des diamètres entre 21 mm et 25.5 mm contre le Gentamycine. Ce qui concerne *C. albicans*, une sensibilité élevée à Gentamycine avec de diamètre de 33 mm et 15.5 contre Nystatine. En effet, l'absence de zone d'inhibition dans les boîtes test ensemencées avec les bactéries et en présence des solvants testés

En plus Les diamètres de la zone d'inhibition montrent que les souches microbiennes examinées ont des sensibilités différentes vis-à-vis aux extraits étudiés, même s'il s'agit de deux souches d'un même gram bactérien.

Le bactérie *Escherichia Coli* a été exhibé une grande sensibilité avec Chloroforme, Acétate d'éthyle avec 18 mm et modérément avec n-butanol et Chloroforme contraire avec l'éther de pétrole. L'activité antimicrobienne maximale enregistrée par l'essai de chloroforme contre

## Chapitre V : résultat et discussion

---

*Pseudomonas aeruginosa* (et staphylococcus et meilleur par port l'antibiotique Gentamycine qui suggère que la substance active réside dans cet extrait avec un effet à large spectre. Et dans le cas des souches incubés avec l'extrait de l'éther de pétrole et raffinat le diamètre ne dépassant pas 9 mm qui traduit leur résistance à l'extrait étudié.

D'après les résultats, le fungi *Candida albicans* montre une résistance contre les extraits étudiés donc les extraits des feuilles de coton.

Ces résultats confirment que l'efficacité optimale d'un extrait dépend plus de la qualité des principes actifs, qu'il renferme, que leur quantité elle-même. En plus, d'autre chercheur affirme que chaque composé agit différemment sur microorganisme, c'est-à-dire qu'un composé peut avoir une action très importante sur un germe et une action moindre ou nulle sur un autre.

Il faut souligner que les différences dans les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique d'une substance végétale dépendent de plusieurs facteurs qui peuvent influencer la composition chimique d'une plante telle que la nature de l'espèce, l'origine géographique, le solvant et le mode d'extraction. <sup>(76)</sup>

# Chapitre V : résultat et discussion

## VII. Discussion d'adsorption :

Effet du temps de contact :

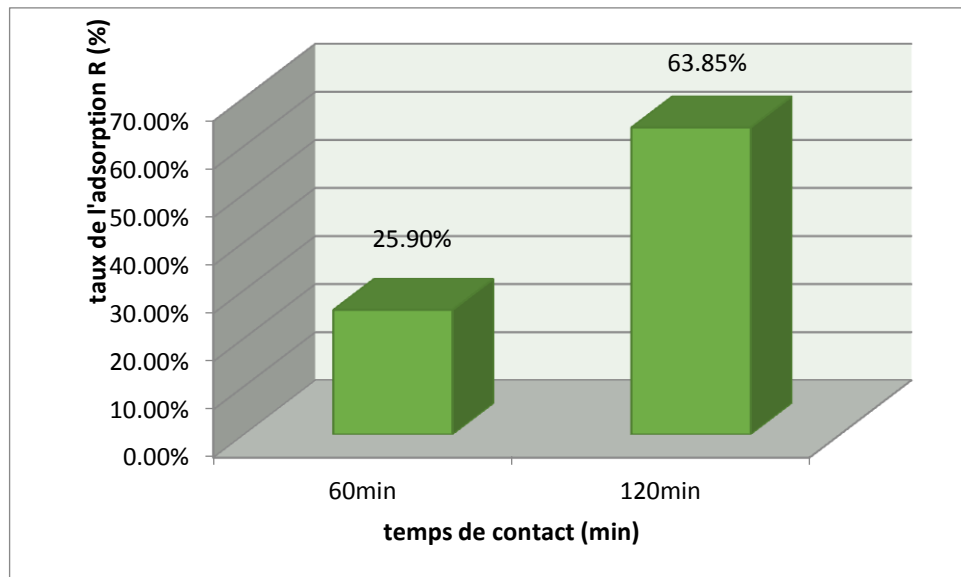
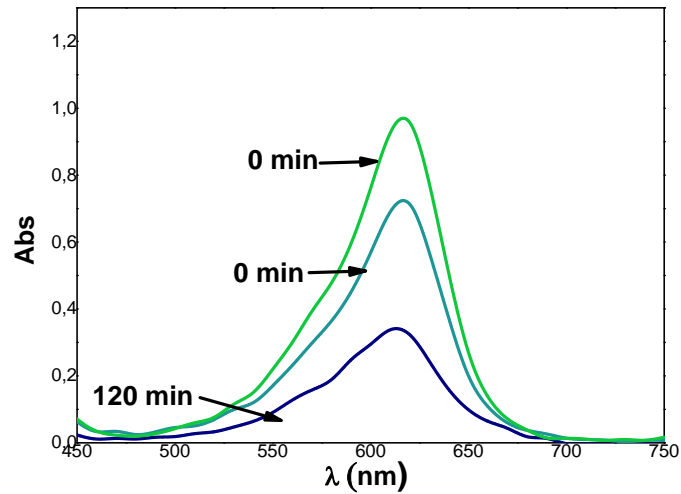


Figure 44 : effet de temps de contact sur l'adsorption de verte malachite avec le déchet de l'extraction.

D'après la figure 44, on remarque que l'intensité de Pic de vert malachite vers 618 nm a été diminué et le taux d'élimination du colorant augment en fonction du temps de contacte, on peut constater que le taux d'adsorption à la minute 60 est 25,60 % et à 120 minute est 63,85 %. On remarque que les premières minutes le processus d'adsorption est rapide selon la disponibilité de

## Chapitre V : résultat et discussion

---

sites actifs (pores) à la surface de biosorbant (le déchet de l'extraction) au cours de temps l'adsorption est devenue plus lente.

### L'effet de la masse de déchet d'extraction des feuilles de coton :

D'après les résultats présentés dans la figure 45. Le pourcentage d'adsorption augmente de 45.19 % à 81.2 % avec l'augmentation de la masse de déchets de 1 mg à 2.5 mg. On peut constater aussi que la vitesse d'adsorption est proportionnelle à la masse. Ceci revient à la grande disponibilité des sites actifs libres

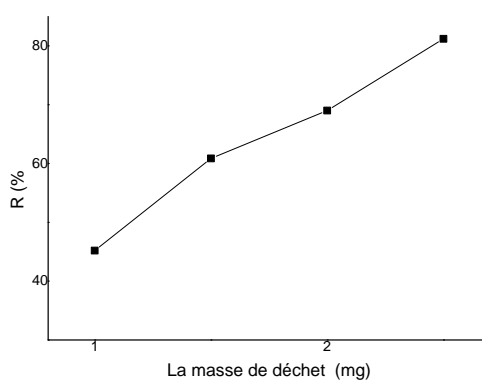


Figure 45 : Effet de la masse de déchet sur l'adsorption de verte malachite



The background of the slide is a photograph of a plant with green, serrated leaves and several white flowers. Some flowers are in full bloom, while others are still in bud. The lighting is natural, and the overall scene is outdoors.

## **Conclusion générale**

## Conclusion général

---

L'utilisation des plantes en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche scientifique, donc le présent travail est intéressé aux effets antioxydants et antibactériens des extraits des feuilles de plante *Gossypium arboreum* de la région de Ghardaïa.

L'objet de notre travail a porté sur l'évaluation physico-chimique et activité biologique de l'extrait de feuille de coton, et l'utilisation de déchet récupéré comme adsorbant naturelle pour éliminer la verte malachite.

Dans ce travail, nous avons effectué l'extraction solide-liquide afin d'extraire les composés secondaires avec la méthode de macération avec une solution éthanol-eau. Ensuite, nous avons réalisé une extraction liquide-liquide avec différents solvants de différent polarité (éther de pétrole, chloroforme, acétate, n-butanol).

L'étude des caractéristiques physico-chimiques des échantillons a été réalisée par la mesure de pH l'acidité libre, la mesure du peroxyde, l'évaluation du coefficient d'extinction spécifique, le dosage de la quantité de chlorophylle et de carotène et les tests photochimique a été montre la richesse des extraits en saponines, terpenoids, stéroïdes, flavonoïdes, phlobatannins et les tanins.

L'activité anti oxydante des extraits a été déterminée par la méthode de DPPH et les résultats de test monte un faible pouvoir antioxydante par apport l'acide ascorbique. En suit, nous avons testé les extrait pour son activité anti microbienne contre des bactéries gram positive (*S. aureus*) et gram négative (*E. coli* et *P. aeruginosa*) et un fungi avec la méthode de diffusion de disque et les résultats de notre étude montrent l'importance *Gossypium arboreum* possède un activité antibactérienne varie selon les type d'extrait et la souche bactérienne.

Enfin, Dans le but de valorisation de déchet, le déchet récupéré après l'extraction a été utilisé comme un adsorbant naturel pour éliminer la verte malachite dans la solution aqueuse.

The background of the slide is a photograph of a plant with green, serrated leaves and several flowers. Some flowers are white with yellow centers, while others are pink. The plant appears to be growing in a natural, outdoor setting.

## **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

- (1) Chaker EL KALAMOUNI. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées.2010. THÈSE En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE
  - (2) C.woyne smith. 1999. Cotton origin, history. technology and product
  - (3) Economic plant of India. 1989. Vishnu saran Agraw
  - (4) Brink .M et achigan darko .2012. plantes à fibre P 218
  - (5) Société de développement et des fibres textiles .2012 qualité de fibre de coton / Bamako
  - (6) Andrew. H. pater son. Edition. 2009. genetics and génomes coton
  - (7) Hutchinson, J. B., Silow, R. A., and Stephens, S. G. The Evolution of Gossypium and the Differentiation of the Cultivated Cottons. 1947. 160 p
  - (8) James MCD, Stewart derrack M, osterhuis James. physiology of cotton
  - (9) . الزراعة والبيطرة المجلد 15 ص47. محمد عبد العزيز
  - (10) M. Brink, EG achgan-dako. 2012. fibres plant resources of tropical Africa
  - (11) Ammad abbas. Mehbob. u. rahman . 2015 characterization of indigenous gossypium arborum L genotypes for various fiber quality traits
  - (12) directorate plant production .2016.cotton production gurdel
  - (13) Christopher .viot 2015. Domestication and vorietaal diversification of old world cultivated cotton (gossypium sp) in the antiquity
  - (14) khushboo selhi .2014.genetic improveement of gossypium arboreum L using molecular markers ; status and development meeds.
  - (15) Venkatesh N. Kulkarni.2009. The Worldwide Gene Pools of Gossypium arboreum L. and G. herbaceum L., and Their Improvement
  - (16) Diqiu Liu.2005. Genetic Diversity of Asian Cotton (Gossypium arboreum L.) in China Evaluated by Microsatellite Analysis
  - (17) Jules Carles.1959. La nutrition de la plante
  - (18) M me GUESSOUM Salima.2020. Plantes à intérêt industriel
  - (19) Jean jacques macheix .2005. les composés phénoliques des végétaux
  - (20) Mr. BENSLAMA A.2015. substances d'origine végétale
  - (21) Sabrina Krief.2004. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées
-

## Références bibliographiques

---

- (22) Y.P.S.Bajaj .1999.biotechnology in agriculture and forestry 43.
  - (23) houria bechlen. 2018. étude phytochimique et biologie de deux plantes médicinales algériennes
  - (24) Toucfer ouassila .2010. étude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algériens
  - (25) Achat sabiha.2013.polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques
  - (26) Bouta oui Nassima. 2012. Recherche et détermination structure de métabolites secondaire de matricaria chamomilla (asterc étude de la phase acétate d'éthyle)
  - (27) Dr Sahraoui W. cours les alcaloïdes
  - (28) François Nsemi MUANDA.2010.identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques
  - (29) Elkolli Meriem.2016. cours : structure et activités substances naturelles : principes et applications
  - (30) Sabelle foury.1986. role écophysiological des metabolites secondaires
  - (31) Cushnie TP, Hamilthoh VES, Lamb AJ. Microbiol. Res. 2003; 158(4):281-289  
Debuigue.G, 1972, Dictionnaire des plantes qui guérissent, Paris, Larousse, 256 p.
  - (32) Essawi T, Srour M (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. J Ethnopharm 70:343–9
  - (33) Tehami, W. (2017). Caractérisation Phytochimique Et Evolution Du Potentiel Antioxydant, Antimicrobien Et Anti-Inflamatoire De Salvia Argentea (Thèse De Doctorat).Université Djilali Liabes, Sidi Bel Abbes.
  - (34) A. Favier (2003) Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 108-115.
  - (35) Jean-Yves Chabrier. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Sciences pharmaceutiques. 2010. fahal-01739123f
  - (36) Lamia Aouar.2012.Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes
  - (37) Daniel Morvan.2009. Génie Chimique Les opérations unitaires: Procédés industriels, Cours et exercices corrigés
-

## Références bibliographiques

---

- (38) Marcel Loncin.1961. Les opérations unitaires du génie chimique
- (39) Daniel Toueix. 2008. Opérations unitaires du génie des procédés: dans l'enseignement secondaire, BEP et Bac
- (40) . Maurice Vigneron. 1954. Fractionnements par solvants, extraction solide-liquide, extraction liquide-liquide, fractionnements par chromatographie d'adsorption et de répartition, échanges d'ions
- (41) Ed. Techniques Ingénieur. 1969. Extraction Liquide-Liquide
- (42) Hakim Alilou.2016. Techniques Chimiques Pour La Biologie
- (43) Stéphane Bostyn, Olivier Chedeville, Henri Fauduet.2019. Génie chimique et des procédés - 2e année: Procédés de séparation et de réaction
- (44) J. L. Humphrey, G. E. Keller II. 2001. "Procédés de séparation - Techniques, sélection, Dimensionnement", Ed. Dunod, Paris,
- (45) H.Fouduet. 2012."Principaux fondamentaux du génie des procédés et de la technologie chimique"
- (46) Lavoisier, Paris, J.Lietol .2004."Le génie chimique à l'usage des chimistes ", Lavoisier,Paris, 2009.D.Donovan "les opérations unitaires" Ellipses
- (47) J.D. Seader .1998."Separation process principles", Ed. Wiley, New-York, .
- (48) R.E. Treybal.1980 "Mass transfer operations" 3rd edition, Ed. McGraw-Hill, New-York,
- (49) Bernard Grandjean.2013. distillation et extraction Volume 1
- (50) . Melle Nouzha BOUZIANE.2007. ELIMINATION DU MERCAPTOBENZOTHIAZOLE
- (51) PAR VOIE PHOTOCHEMIE ET PAR ADSORPTION SUR LA BENTONITE ET LE CHARBON ACTIF EN POUDRE
- (52) Melle BENAÏSSA Asma.2012. Etude de la faisabilité d'élimination de certains
- (53) Colorants textiles par certains matériaux déchets d'origine naturelle
- (54) Melle BOUDERGA Meryem.2015. ADSORPTION DU VERT MALACHITE PAR DES COMPOSITES «ALGINATE/BENTONITE»
- (55) Karl W., Chimie organique. Edition Eyrolles, (1981).
- (56) The Society of Dyers and Colourists. Colour Index. Revised third edition (1975).
- (57) GUESMIA SOUAD.2015. L'ADSORPTION DES COLORANTS (BLEU DE METHYLENE ET CHROME III) SUR LA BENTONITE
-

## Références bibliographiques

---

- (58) AFNOR (NF), 1982. Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et alimentation animale dans la région méditerranéenne. P:1- 20.
- (59) K. Bouhadjra (2011), étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur les légumes jus de fruits. Ed. AFNOR, magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- (60) Ribéreau-Gayon P .1968. Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dunod, Paris 254 pp.
- (61) Manjullika Yadav, Sanjukta chatterji . 2014. Preliminary photochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine
- (62) Hayes, J-E., Allen,A., Brunton,N., O'Grady,M-N., Kerry,J-B.2011.. Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. Food Chemistry, vol.126, pp. 948–955.
- (63) A.Hayes and B. Markovic, (2002) Toxicity of Australian essential oil *Backhoisia citriodora* Part 1 antimicrobial activity and invitro cytotoxicity. Food Chem. Toxicol., 4: 949-964.
- (64) A.W. Bauer, W.M.M. Kirby, T.C. Sherris, and M. Truck, (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method, American Journal of Clinical Pathology, 45, p. 493 - 496.
- (65) A.L. Barry and C. Thornsberry, (1985) Susceptibility test, diffusion test procedure, American Journal of Clinical Pathology, 19, p. 492 - 500.
- (66) A. A. Adesokan, M.A. Akanji and M.T. Yakubu, (2007) Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark, African Journal of Biotechnology, 6 (22), p. 2502 - 2505.
- (67) Lehout roumeissa . Laib maya. 23.06.2015. comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso
- (68) Rahim et al . 1juin2015. Contribution à l'étude des extraits de graines de *Gossypium arboreum* et leur effet antimicrobien sur certaines bactéries pathogènes
-

## Références bibliographiques

---

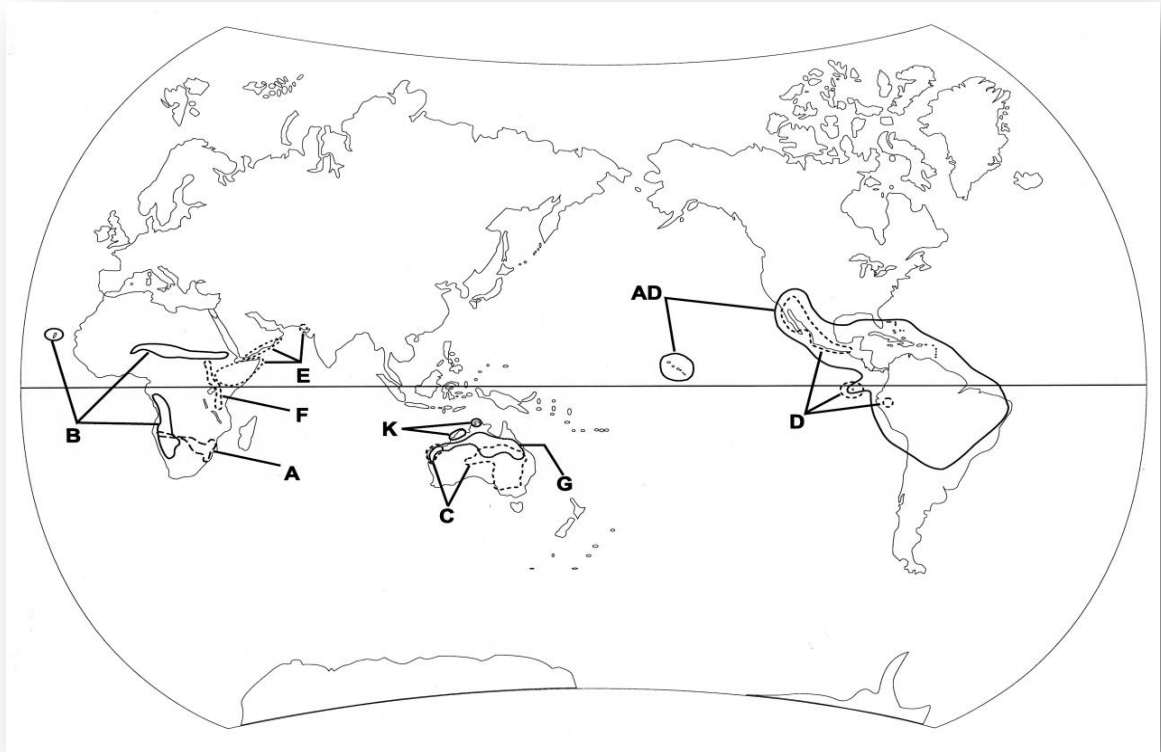
- (69) Malheiro R., Casal S., Teixeira H., Bento A. and Pereira J. A. 2013. Effect of Olive Leaves Addition during the Extraction Process of Overmature Fruits on Olive Oil Quality. *Food Bioprocess Technology*, 6:509–521.
- (70) H *Diraman*, H *Dibeklioğlu*, Characterization of Turkish virgin olive oils produced from early harvest olives *Journal of the American Oil Chemists' Society* 86 (7), 663-674, 2009. 85.
- (71) BENTEKAYA I., HASSOUNA M. (2007). Effets des chlorophylles, du bêta-carotène, de l'alphatocophérol, du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive tunisienne. 14 (1) : 60-67.
- (72) Bouaziz M., Fki I., Jemai H., Ayadi M. and Sayadi, S. 2008. Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from chemlali olive leaves. *Food Chemistry*, 108: 253-262.
- (73) Brahmi F., Mechri B., Dhibi M. & Hammami, M. 2013. Variations in phenolic compounds and antiradical scavenging activity of *Olea europaea* leaves and fruits extracts collected in two different seasons. *Industrial Crops and Products*, 49: 256–264.
- (74) TANOUTI K., SERGHINI CAID H., ABID M., MIHAMOU A., KHIAR M., HACHEM M., BAHETTA Y., ELAMRANI A. (2011). Les Technologies de laboratoire. 6 (23) : PP 58.
- (75) Ponce A.G; Fritz.R ; Del Valle. C ; et Roura.S.I. Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic swiss chard. *Society of food science and technology (Elsevier)*. 36 : 679-984, 2003.
- (76) Melle. Fatiha yahla et Ibtissem telmsani . Etude de l'activité antimicrobienne des extraits d'une Plante médicinale "mentha suaveolens" de la region d'ain – témouchent
-



### Références électroniques :

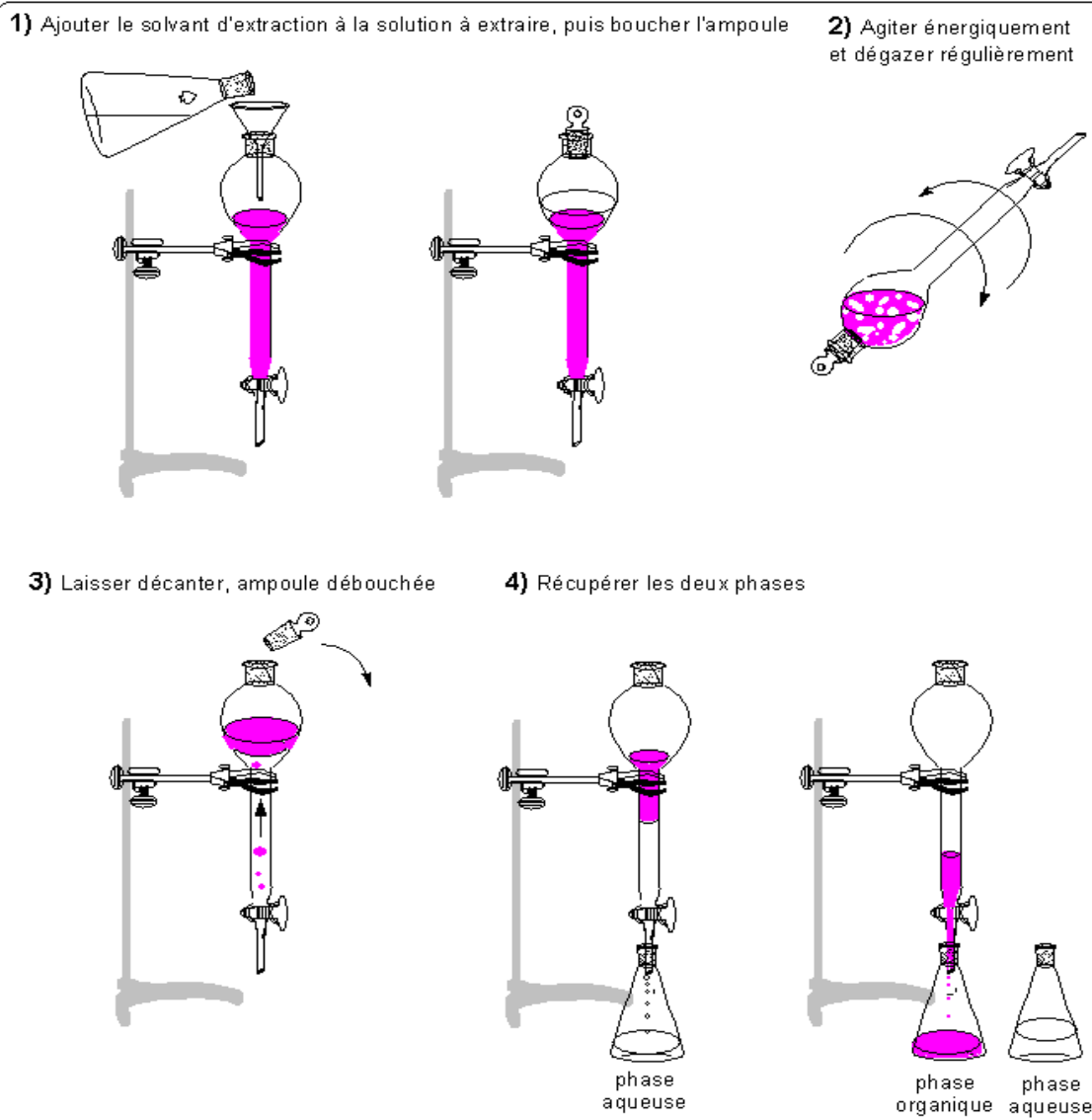
- (E.1) [https://www.wildflowers-and-weeds.com/Plant\\_Families/Malvaceae\\_pics/Malvaceae.jpg](https://www.wildflowers-and-weeds.com/Plant_Families/Malvaceae_pics/Malvaceae.jpg)
  - (E.2) [https://almerja.com/medea/images/x39\\_7.png.pagespeed.ic.Sus39IH3Fn.webp](https://almerja.com/medea/images/x39_7.png.pagespeed.ic.Sus39IH3Fn.webp)
  - (E.3) [https://www.plantes-botanique.org/espece\\_gossypium\\_barbadense](https://www.plantes-botanique.org/espece_gossypium_barbadense)
  - (E.4) <https://images.app.goo.gl/SmXSKDg9cBzjRhFw8>
  - (E.5) <https://images.app.goo.gl/BKJjWQvGrTQBopdZ7>
  - (E.6) <https://fr.gadget-info.com/difference-between-primary-metabolites>
  - (E.7) [https://www.memoireonline.com/01/14/8533/m\\_Etude-de-lactivite-antioxydante-de-la-tomate-sechee10.html](https://www.memoireonline.com/01/14/8533/m_Etude-de-lactivite-antioxydante-de-la-tomate-sechee10.html)
  - (E.8) <https://fr.scribd.com/presentation/98951952/flavonoides-estefaniatorrejon>
  - (E.9) <https://images.app.goo.gl/ss5KfC6qG5xVy96o9>
  - (E.10) <https://dynavive.eu/TrtClassiques/Purification/Adsorption.png>
  - (E.11) <https://www.antibio-responsable.fr/bacteries/colibacille>
  - (E.12) <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/resistlacta/POLY.Chp.14.html>
  - (E.13) <https://www.antibio-responsable.fr/bacteries/staphylocoque-dore>
  - (E.14) <http://coproweb.free.fr/mycoweb/texte/144.htm>
  - (E.15) <https://images.app.goo.gl/7HKwk4LnTCizqncj7>
  - (E.16) <https://images.app.goo.gl/1wsevZU5rdLReQa6A>
-

[Les annexes](#)



Annex 1 : Biogeography of Gossypium

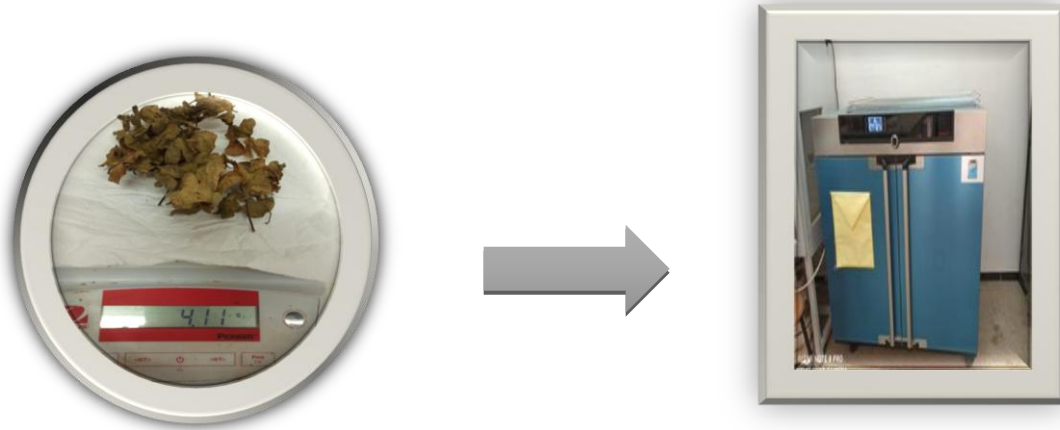
**1. Protocole d'extraction liquide-liquide à l'aide d'une ampoule à décanter :**



Annex 2 : Protocole d'extraction liquide-liquide à l'aide d'une ampoule à décanter

**I- Caractérisation physico-chimique des poudres de feuille :**

**I.1. Détermination de taux d'humidité de la poudre :**



Annex 3 : taux d'humidité

**I.2. Détermination du pH :**



Annex 4 : Détermination du pH

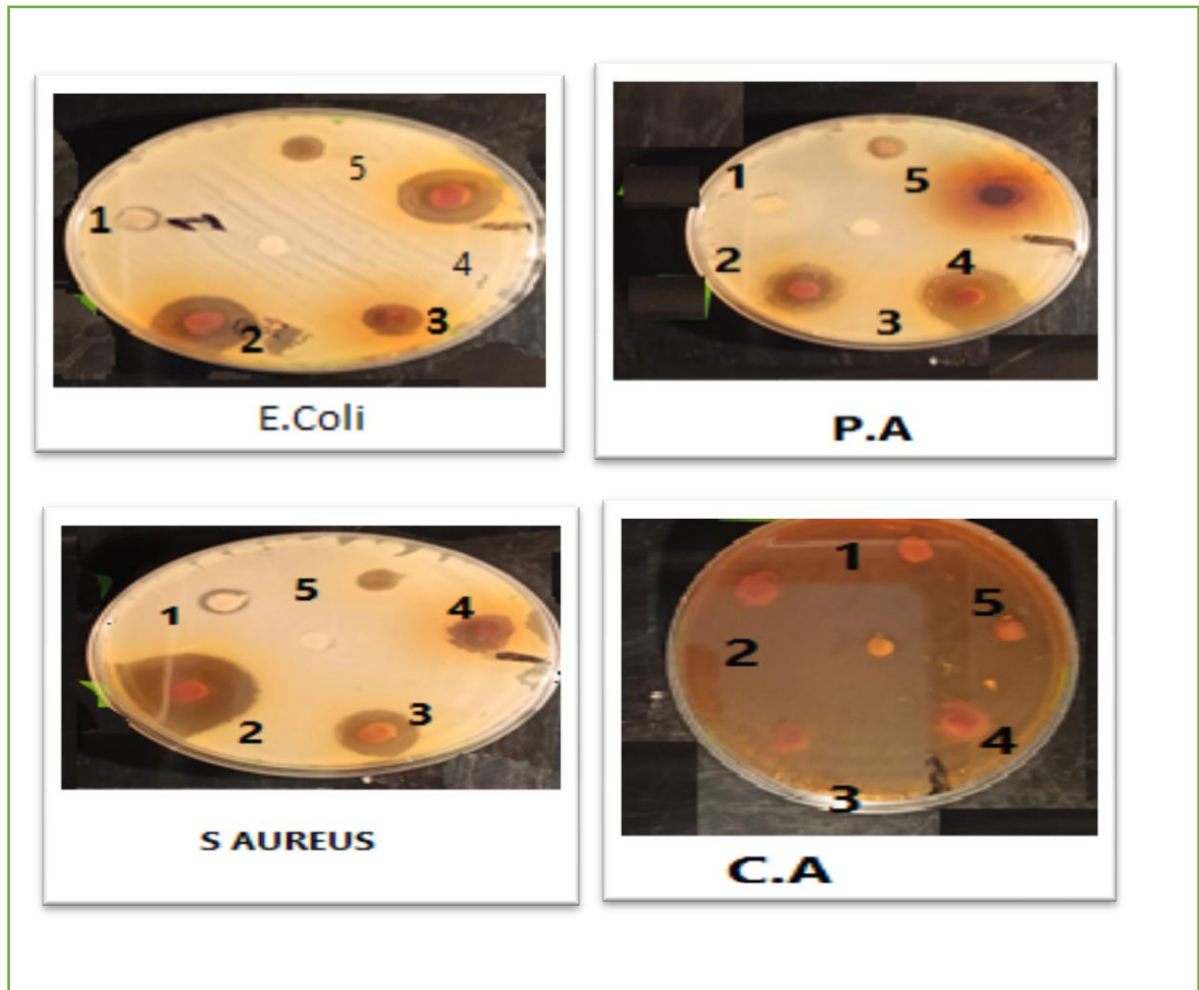
**Préparation des extraits :**

---



*Annex 5 : Préparation des extraits*

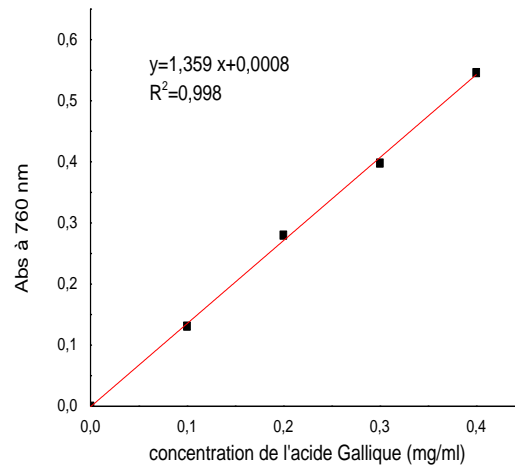
**Bactérienne :**



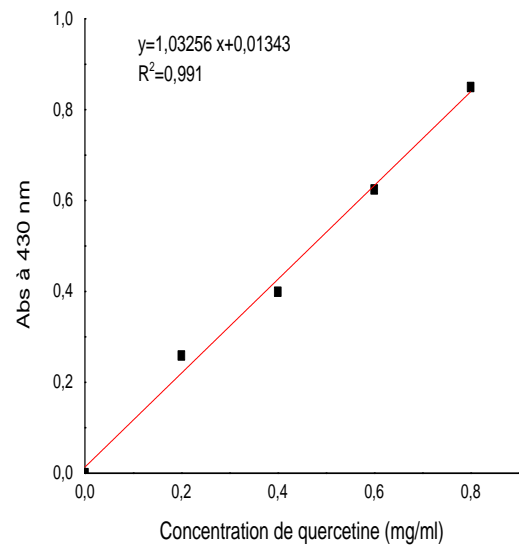
Les

*Annex 6 : Bactérienne*

---

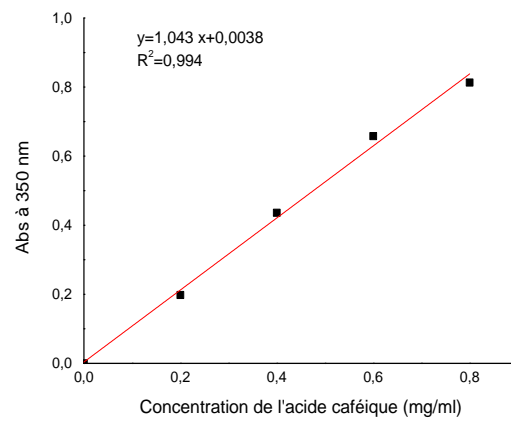


*Annex 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques*

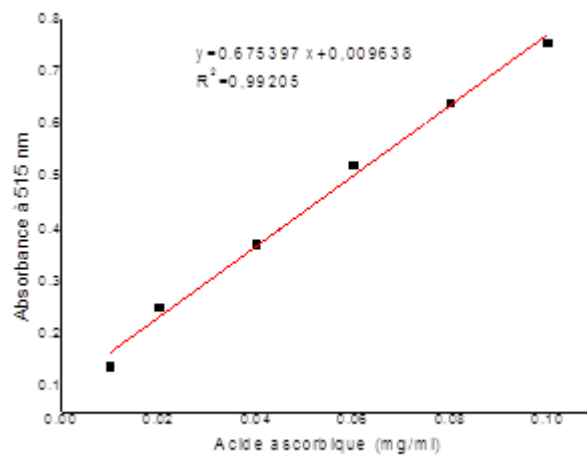


*Annex 8 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes*

---

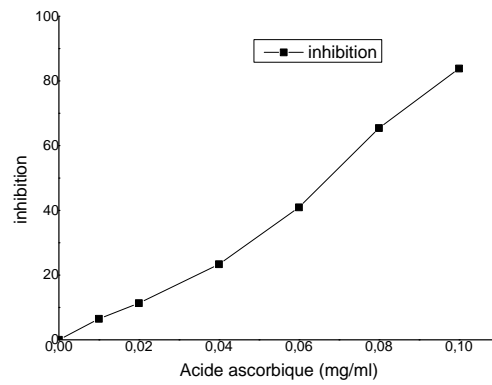


Annex 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide caféique pour le dosage des Dosage des Ortho-diphénol



Annex 5 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

---

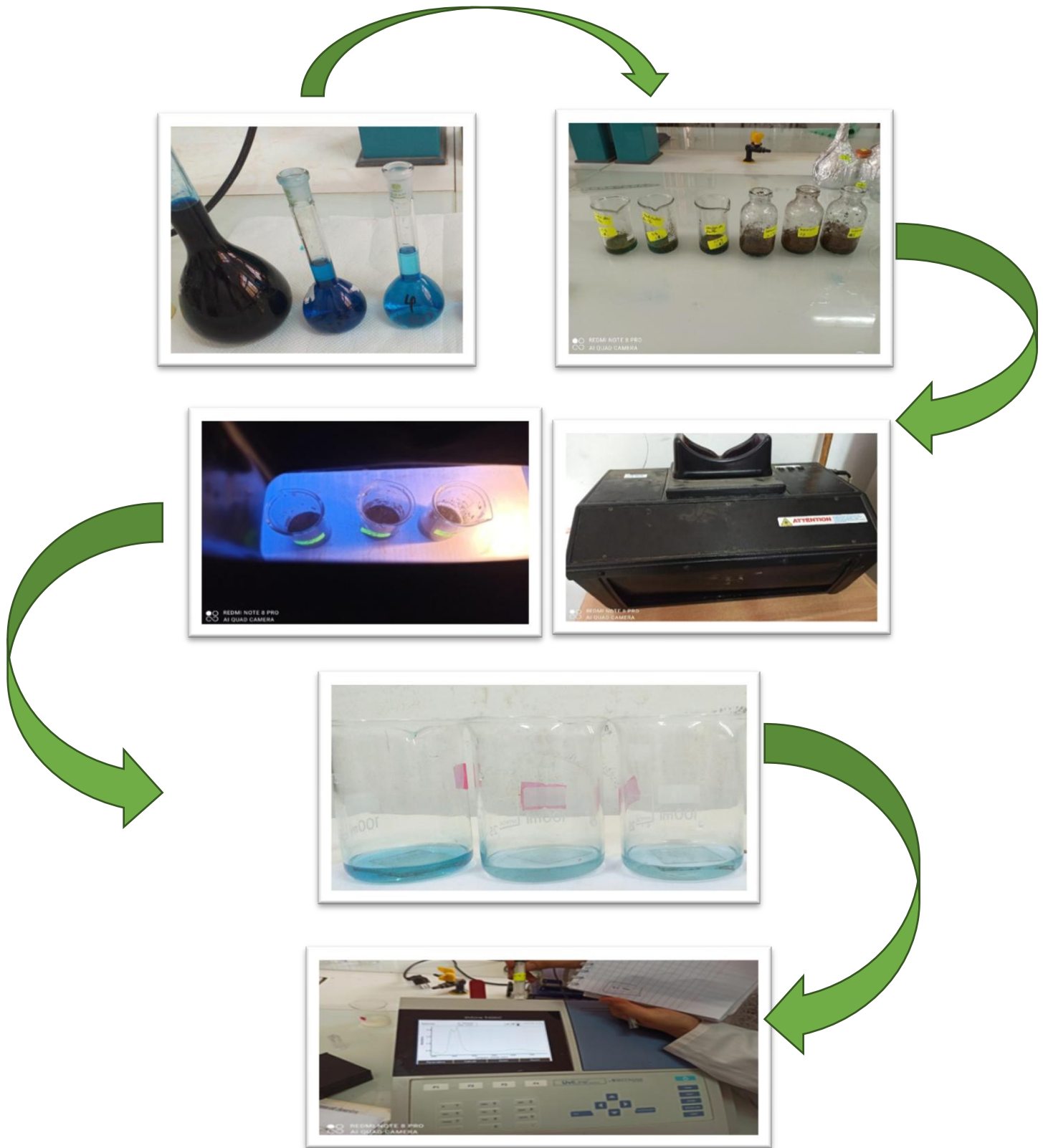


Annex 6 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

**Adsorption :**

---

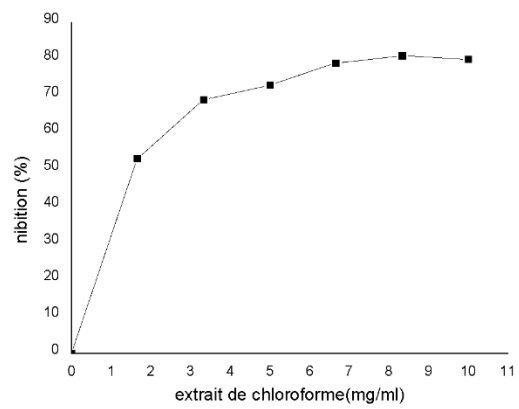
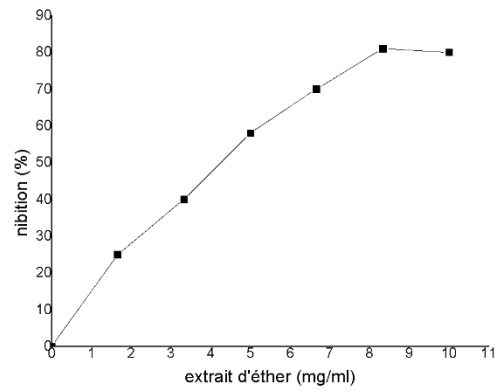


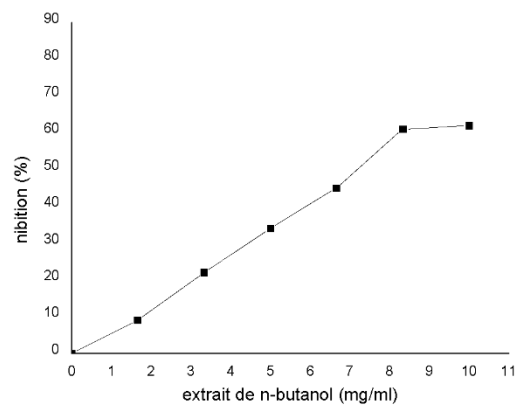
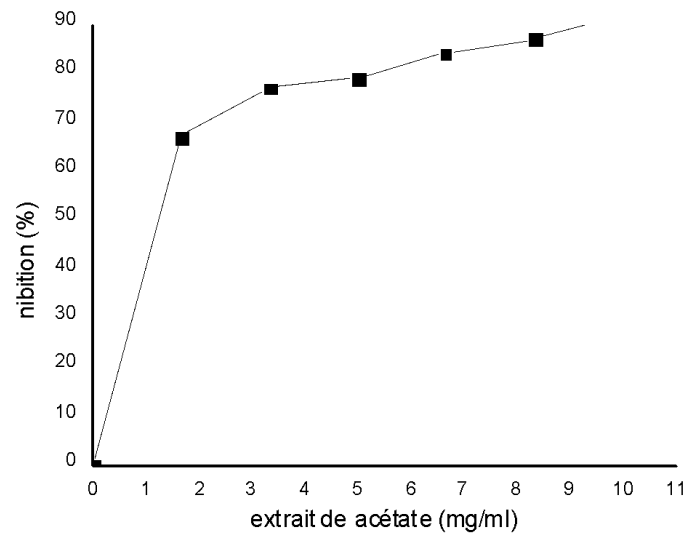


Annex 7 : l'étape d'adsorption

---

## Annex 8 : Activité antioxydant







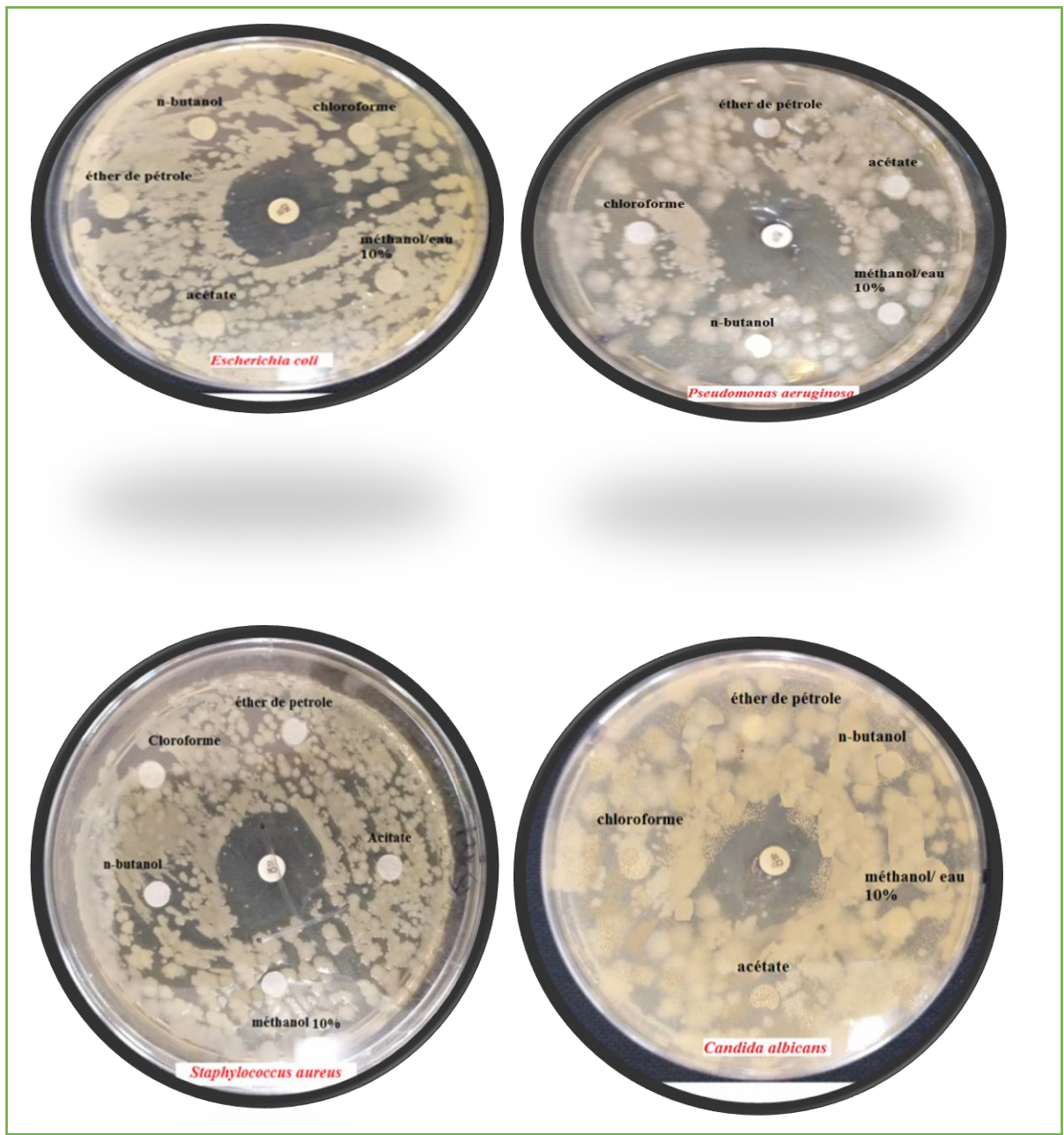
Annex 9 : rota-vapeur



Annex 10 : les vortex



Annex 16 : UV visible



  
chemi.iq

