

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique
Université de Ghardaïa
Faculté des Sciences et Technologies
Département de tronc communs en sciences et technologies



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie analytique

Intitulé

Étude de l'extraction de *Gossypium arboreum* et de ses activités biologiques

Présenté par :

- Toum Ikram
- FERHI Nihad chemes eddine

Membres du jury:

BABA ARBI Ilyas	MAA	Université de Ghardaïa	Encadreur
MATALLAH Mess aouda	MCB	Université de Ghardaïa	Président
BENTARFA Djehad	MCB	Université de Ghardaïa	Examineur

Année universitaire 2024 / 2025

Résumé

Résumé

Cette note traite d'une étude chimique et biologique des parties négligées de la plante de coton *Gossypium arboreum*, telles que les feuilles, les graines et les capsules, dans le but d'extraire et d'évaluer les composés actifs présents. Des extractions ont été réalisées par macération avec un mélange d'éthanol et d'eau, puis les composants ont été séparés à l'aide de solvants organiques différents tels que l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate et le n-butanol. Les analyses chimiques ont révélé la présence de composés phénoliques et flavonoïdes d'intérêt pharmaceutique. L'activité antioxydant a été évaluée à l'aide du test DPPH, où certains extraits ont montré une efficacité élevée, en particulier l'extrait de n-butanol. De plus, l'efficacité antimicrobienne et antifongique a été testée contre des souches pathogènes telles que *E. coli* et *Staphylococcus aureus*, et certains extraits ont prouvé leur efficacité, en particulier contre les bactéries à gram positif. L'analyse chromatographique HPLC a été utilisée pour identifier avec précision les composés actifs, tels que la rutine et l'acide gallique. Les résultats suggèrent la possibilité d'exploiter ces parties de plantes dans l'industrie pharmaceutique en tant que sources naturelles d'antioxydants et d'antibiotiques.

Mots-clés:

Gossypium arboreum, feuilles de coton , grains de coton , HPLC, rutin, gallic acid.

Abstract

Abstract

This note addresses a chemical and biological study of the neglected parts of the cotton plant *Gossypium arboreum*, such as the leaves, seeds, and capsules, with the aim of extracting and evaluating the active compounds present. Extractions were carried out by maceration using an ethanol-water mixture, followed by separation of components with different organic solvents such as petroleum ether, chloroform, acetate, and n-butanol. Chemical analyses revealed the presence of phenolic compounds and flavonoids of pharmaceutical interest. Antioxidant activity was assessed using the DPPH test, where some extracts showed high efficacy, particularly the N -butanol extract. Additionally, antimicrobial and antifungal activities were tested against pathogenic strains such as *E. coli* and *Staphylococcus aureus*, with certain extracts demonstrating effectiveness, especially against Gram-positive bacteria. HPLC chromatographic analysis was used for precise identification of active compounds, such as rutin and gallic acid. The results suggest the potential to exploit these plant parts in the pharmaceutical industry as natural sources of antioxidants and antibiotics.

Keywords:

Gossypium arboreum, leaves, seeds, HPLC, rutin, gallic acid.

المخلص

تتناول هذه المذكرة دراسة كيميائية وبيولوجية لأجزاء مهمة من نبات القطن *Gossypium arboreum* ، مثل الأوراق والبدور والكبسولات، بهدف استخراج وتقييم المركبات النشطة فيها. تم إجراء عمليات الاستخلاص باستخدام طريقة النقع بمزيج من الإيثانول والماء، ثم فصل المكونات باستخدام مذيبات عضوية مختلفة مثل الإيثر البترولي، الكلوروفورم، الأسيتات و-nبيوتانول. أظهرت التحاليل الكيميائية وجود مركبات فينولية وفلافونويدية لها أهمية دوائية. كما تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار DPPH ، حيث أظهرت بعض المستخلصات فعالية عالية، خاصة مستخلص-n بيوتانول. إضافة إلى ذلك، تم اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا والفطريات ضد سلالات مرضية مثل *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*، وأثبتت بعض المستخلصات كفاءتها، لا سيما ضد البكتيريا موجبة الجرام. تم الاعتماد على التحليل الكروماتوغرافي HPLC لتحديد المركبات الفعالة بدقة، مثل الروتين وحمض الغاليك. تشير النتائج إلى إمكانية استغلال هذه الأجزاء النباتية في الصناعات الدوائية كمصادر طبيعية لمضادات الأكسدة والمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية:

Gossypium arboreum, الأوراق, البدور، مستخلصات ، HPLC , لروتين ، حمض الغاليك،

Remerciements

Avant chaque dimanche et après chaque dimanche, nous rendons grâce à l'Unique, l'Un, le Suffisant, qui nous a accordé la force et le soutien pour mener à bien ce travail. Nous le supplions, qu'Il en fasse un acte pur pour Sa face.

Le Très Généreux a dit : "Et la dernière de leurs invocations est : Louange à Allah, Seigneur des mondes".

Au début, je tiens à remercier notre chère université, l'Université de Ghardaïa, qui nous a offert l'opportunité d'apprendre et de grandir dans un environnement académique riche en connaissances et en défis tout au long de notre période d'études.

"A celui qui a été un guide, un inspirateur, un motivateur et un directeur véritable, notre professeur superviseur BABA ARBI Ilyas, nous le remercions d'avoir accepté de superviser cette mémoire. Il a été pour nous un grand honneur de travailler sous sa direction".

effort pour nous enseigner et nous guider au département de chimie et de génie des procédés, en particulier le professeur Daoud Mounir, Jaber AOUF, BEN CHEIKH Salah, MANSOURI Khaled, Bouras ELHAJ DAOUD, Mehamed AOUF ainsi que nos professeures BEN CHADI Wassila, KHAN Yasmin et BABA OMAR Zahra.

Nous remercions Mme HAJ OMAR Zineb, ingénieure du laboratoire de chimie, et assistante de laboratoire Resiwi Fadwa pour son temps et pour avoir mis à notre disposition toutes les matières, et nous ne manquons pas de remercier également les ingénieurs du laboratoire de génie des procédés.

Un grand merci à l'Institut National de Géophysique de Ouargla pour l'accueil chaleureux et l'hospitalité lors de l'analyse HPLC.

Nous remercions également la responsable GAZIL Souhila du laboratoire de biologie pour son aide dans la réalisation des analyses antibactériennes.

Nous remercions également tous ceux qui ont contribué à ce travail et que nous n'avons pas pu mentionner.

Nous adressons aussi nos sincères remerciements et notre profonde gratitude aux membres du jury, Mme MATALLAH Messaouda et Mme BENTARFA Djihad, pour avoir accepté d'évaluer ce travail, pour leurs remarques constructives et pour l'intérêt qu'elles ont accordé à notre recherche.

Nous remercions également tous ceux qui ont contribué à ce travail et que nous n'avons pas pu mentionner.

DIDICACE

الحمد والشكر الله تعالى الذي منحني القدرة والقوة لإتمام هذه الخطوة المهمة في مسيرتي الدراسية. بفضلته سبحانه، تمكنت من تيسير البدايات وتحقيق النجاح في المراحل النهائية. وأهدي ثمرة تخرجي:

إلى نفسي الطموحة التي لم تستسلم، وثابرت بلا كلل، متجاوزة كل التحديات، معتمدة على الجد والاجتهاد لتحقيق حلمي.

إلى من جعل الله الجنة تحت قدميها، وفتح لي قلبها قبل يديها، فكانت دعواتها لي سببًا في تذليل الصعاب، إلى أمي الحبيبة، مصدر قوتي وملجأ.

إلى والدي العزيز، الذي أفخر باسمه، أشكرك على دعمك المستمر وثقتك الكبيرة بي، فأنت سندي الأول وملهمي.

إلى جدتي الغالية، التي حلمت بحضوري حفل تخرجي، رحمها الله وأسكنها فسيح جناته.

إلى أختي سلسبيل، التي تمنحني السعادة والأمان في أوقات الشدة والضيق، كنت دائمًا سندًا لي ورمزًا للصمود، أتمنى لك التوفيق والنجاح في امتحان البكالوريا.

أشكر أختوتي إسكندر وأحمد على دعمهم المتواصل ووقوفهم بجانبني، فقد كان تشجيعهم عونًا لي طوال فترة دراستي.

وأعبر عن امتناني العميق لأستاذي الكريم، بابا عربي إلياس، على توجيهه الحكيم ودعمه المستمر، فقد كان له أثر بالغ في مسيرتي التعليمية، وأنا ممتن له كل الامتنان.

وأخيرًا، أشكر جميع الأصدقاء الذين لا أستطيع ذكر أسمائهم هنا، فلکم مني كل التقدير والامتنان.

FERHI Nihad chemes eddine

DEDICACE

Je rends grâce à Dieu pour cette réussite et j'annonce avec fierté et gratitude avoir atteint cette étape importante de succès. Je dédie ce succès à tous ceux qui m'ont soutenu et accompagné tout au long de ce parcours.

Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements et ma profonde reconnaissance à mes sœurs, en particulier à ma sœur aînée, qui m'a accompagnée depuis les premières étapes de mon éducation et a été pour moi la meilleure enseignante.

Je remercie également chaleureusement mes chers parents pour leurs sacrifices, leur encouragement et leur soutien constant dans les moments difficiles. Sans la grâce de Dieu et leur appui, je n'aurais pas pu atteindre ce succès.

Enfin, je n'oublie pas mes professeurs respectés, grâce à qui j'ai pu réaliser cette réussite

TOUM Ikram

Sommaire

Sommaire

Titre	N° page
Remerciements	-
Dédicace	-
Résumé	I
Abstract	II
المخلص	III
Sommaire	V
Liste d abréviation	IX
Liste des figure	XI
Liste des photos	XIV
Liste des tableaux	XVI
Introduction générale	1
Première partie : partie théorique	
Chapitre1 : Généralité sur <i>Gossypium arboreum</i>	
I.1.Généralité sur <i>Gossypium arboreum</i>	4
I.2. La Famille des Malvacées	4
I.3. Description des plantes de genre <i>Gossypium arboreum</i>	5
I.4. Répartition géographique	5
Chapitre2 : Activité antioxydante	
II.2.1. Définition	7
II.2.2. Les Différents Types d'antioxydants	8
II.2.2.1. Selon l'origine	8
II.2.2.2. Selon Le mode d'action	11
II.3 Les composés phénoliques	12
II.3.1. Définition	12
II.3.2. Localisation	12
II.3.3. Rôles et intérêt des composés phénolique	12
II.3.4.Structure et classification des polyphénols	13
II.3.4.1. Acides Phénoliques	13
II.3.4.2. Les Flavonoïdes C ₆ -C ₃ -C ₆	14
II. 3.4.2.1. Définition	14
II.3.4.2.2. Les Flavonoïdes d'agrumes	15
II.3.4.3. Tannins	17
Chapitre 3 : Méthode Et Matériel	

Sommaire

I. Objectif du travail	20
II. Préparation d'échantillon	20
II.1. Présentation des plantes	20
II.2. Purification et égrenage	20
II.3. Séchage	21
II.4 Le broyage	21
III. Préparation des extraits : Extraction pour obtention des extraits végétaux	21
III.1. Produits et appareils et instruments	21
III.2. Extraction par macération	22
III.3. Détermination du rendement	26
III.4. Activité antibactérien	30
III.4.1. Mueller de culture	31
III.4.1.1. Gélose Muller-Hinton	31
III.4.1.2. Les étapes de travail	32
III.5. Activité antioxydant	33
III.5.1. Evaluation de l'activité antioxydant	33
III.5.2. Préparation du matériel et méthode de travail	34
III.6. L'analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	35
Chapitre4 : Résultat et discussion	
I. Rendement de l'extraction éthanoïque	40
II. Activité antibactérien	42
II.1. Discussion <i>Escherichia coli</i>	47
II.2. Discussion <i>staphylococcus aureus</i>	48
II.3. Analyse comparative et conclusions générales	48
III .Activité antioxydant	49
IV. L'analyse en chromatographie liquide à haute performance	51
V. Analyse chromatographique détaillée de la rutine et de l'acide gallique	58
Conclusion générale	
Références Bibliographiques	
Annexe	

Liste des abréviations

Liste d abréviation

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50% de la population cellulaire.

MH : Mueller Hinton.

UV-Vis : Ultraviolet /Visible.

E. coli : Escherichia coli.

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance.

DPPH : 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

Staph : Staphylococcus aureus.

Liste des figures

Liste de figures

N° de Figure	Titre de Figure	N° de Page
01	Représentation de la plante <i>Gossypium arboreum</i>	5
02	Formules chimiques de certains antioxydants naturels.	8
03	Bienfaits de vitamines E.	9
04	Sources et bienfaits de vitamines C.	10
05	Formules chimiques de certains antioxydants synthétiques.	11
06	Structure de base des acides hydroxy benzoïques.	13
07	Structure de base des acides hydroxycinnamiques.	13
08	Structure de base de flavonoïde.	14
09	Les graines ,les capsules et feuilles avant broyage.	20
10	Graine et capsule et feuilles après broyage.	20
11	50 g de graines, capsules et feuilles de coton broyées .	22
12	Organigramme de protocole d'extraction liquide-liquide des graines <i>Gossypium arboreum</i> .	26
13	Organigramme de protocole d'extraction liquide-liquide des feuilles <i>Gossypium arboreum</i>	27
14	Organigramme de protocole d'extraction liquide-liquide des capsulés <i>Gossypium arboreum</i>	28
15	Bactéries de référence (<i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>).	30
16	Structure du DPPH.	32
17	Équation d'inhibition des parois du DPPH en présence de capteurs de radicaux libres.	32
18	Solution de DPPH.	33
19	L'appareil de HPLC (originale)	35
20	Histogramme représente le pourcentage de rendement d'extraction des graines <i>Gossypium arboreum</i> .	37
21	Histogramme représente pourcentage de rendement d'extraction des feuilles <i>Gossypium arboreum</i> .	38
22	Histogramme représente pourcentage de rendement d'extraction des capsules <i>Gossypium arboreum</i> .	39
23	Résultats du test antibactérien avec différents extraits sur la bactérie <i>E. coli</i>	40
24	Diamètre des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits préparés sur <i>E. coli</i> .	42
25	Résultats du test antibactérien avec différents extraits sur la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i>	43
26	Diamètre des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits préparés contre <i>Staphylococcus aureus</i> .	44

Liste de figures

27	Courbes standard pour le test DPPH de l'acide ascorbique et du tocophérol.	46
28	Courbes de test DPPH pour les extraits de graines.	46
29	Courbes de test DPPH pour les extraits de feuilles.	47
30	Courbes de test DPPH pour les extraits de capsule.	47
31	Chromatogramme de l'extrait d'acétate d'éthyle des graines.	49
32	Chromatogramme de l'extrait d'acétate d'éthyle des capsules.	50
33	Chromatogramme de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles.	51
34	Chromatogramme de l'extrait de n-butanol des graines.	52
35	Chromatogramme de l'extrait de n-butanol des capsules.	53
36	Chromatogramme de l'extrait de n-butanol des feuilles.	54



Liste des photos

Liste des photos :

N° de Photo	Titre de Photo	N° de Page
01	Préparation de l'extrait éthanolique et aqueux à partir des poudres de graines, de capsules et de feuilles de <i>Gossypium arboreum</i>.	22
02	Filtration des extraits.	23
03	Eliminations duéthanol avec Rot-Vap.	23
04	Extraction liquide-liquide (éther de pétrole et .	24
05	Présentation de 12 extraits à l'éther de pétrole, au chloroforme, à l'acétate d'éthyle et au n-butanol, obtenus à partir des feuilles, des graines et des capsules .	25
06	Preparation le milieu de culture Mueller –Hinton.	30
07	Extraits d'échantillons à l'acétate d'éthyle et au n-butanol dans des flacons (A.F.R).	37

Liste des tableaux

Liste des tableaux

N° de Tableau	Titre de Tableau	N° de Page
01	Les structures les plus importantes des acides hydroxybenzoïques.	13
02	Les structures les plus importantes des acides hydroxycinnamiques.	13
03	Principales classes des composés phénoliques.	17
04	Tableau des produits et Appareils et instruments.	21
05	Souches bactérienne.	29
06	Préparation de solutions diluées.	34
07	Échantillons et numérotation pour chaque extrait à l'acétate d'éthyle et au n-butanol	35
08	Le rendement chaque extrait de <i>Gossypium arboreum</i>.	37
09	Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition sont exprimés selon quatre niveaux d'activité.	40
10	Mesures du diamètre des zones d'inhibition des disques imprégnés d'extrait, testés sur la bactérie <i>Escherichia coli</i>	41
11	Mesures du diamètre des zones d'inhibition des disques imprégnés d'extrait, testés sur la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i>	43
12	Résultats des tests DPPH pour l'extrait de graines, l'extrait de feuilles, les capsules et les composés standardisés (VE et VC).	48
13	Temps de rétention des composés cibles.	49
14	Formules chimiques de l'acide gallique et de la rutine	55

Introduction

Introduction générale

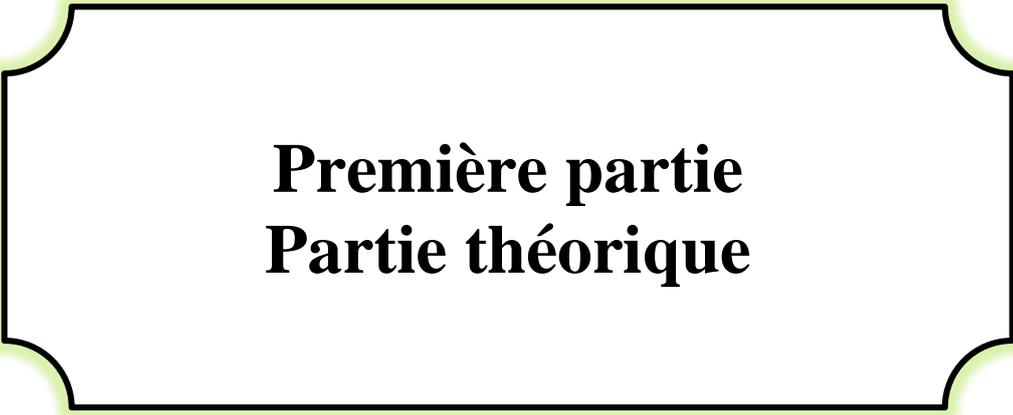
Introduction générale

Les propriétés de la majorité des plantes sauvages restent encore méconnues. C'est pourquoi, au fil des époques, les chercheurs ont conjugué leurs efforts pour étudier ces plantes afin de mieux les distinguer et éviter toute confusion entre elles, notamment dans le cadre des recherches médicales et économiques. Ces investigations nécessitent la collecte de données, l'identification des plantes et l'analyse de leur potentiel de valorisation, qu'il s'agisse d'une source alimentaire, textile ou médicinale. Dans cette optique, l'extraction des substances actives présentes dans les plantes, telles que les flavonoïdes, constitue une approche prometteuse. [1]

Le *Gossypium arboreum* est connu depuis l'Antiquité pour ses multiples usages et s'est largement répandu parmi les peuples du monde. Cependant, l'attention portée aux fibres de *Gossypium arboreum* vent conduit à négliger les autres parties de la plante, considérées comme des déchets industriels ou agricoles. Ainsi, nous avons choisi de valoriser ces parties délaissées en concentrant nos efforts sur les graines, les feuilles et les capsule. [2]

Dans ce travail, nous avons adopté une approche expérimentale basée sur l'extraction par macération à froid dans un mélange hydroalcoolique, suivie de séparations successives par solvants organiques (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol), afin d'isoler différentes familles de composés selon leur polarité. Les extraits obtenus ont été analysés pour évaluer leur composition physico-chimique, ainsi que leurs activités biologiques, notamment l'activité antioxydante (test DPPH) et l'activité antibactérienne (test de diffusion sur disque contre *E. coli*, *S. aureus*, et *Candida albicans*). Une analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a permis également de détecter et quantifier certains composés phénoliques cibles.

- La première partie de ce mémoire est dédiée aux généralités théoriques : botanique du *Gossypium arboreum*, composés phénoliques, antioxydants et leurs rôles.
- La seconde partie est consacrée à la méthodologie expérimentale, aux résultats obtenus, à leur discussion et à l'interprétation des données analytiques.



Première partie
Partie théorique



Chapitre I
Généralités sur le coton

I.1. Généralité sur *Gossypium arboretum*

Depuis des siècles, l'humanité a exploité diverses plantes présentes dans son environnement pour traiter et soigner une variété de maladies. Ces plantes constituent une source précieuse de composés potentiels, principalement attribués aux métabolites secondaires, qui se distinguent par leur grande diversité structurale et leur vaste éventail d'activités biologiques. Cependant, l'évaluation scientifique de ces activités reste une tâche complexe et suscite l'intérêt de nombreuses recherches.

Actuellement, les populations africaines utilisent principalement des remèdes à base de matières végétales locales, provenant des plantes qui poussent autour de leurs communautés.

À l'échelle mondiale, environ 25 % des prescriptions médicales sont d'origine végétale, tandis que 60 à 70 % des médicaments antibactériens et anticancéreux proviennent de substances naturelles

Bien que le continent africain, et en particulier l'Algérie, soit riche en biodiversité, les efforts consacrés à l'étude et au développement des plantes médicinales restent limités. Dans ce contexte, notre intérêt s'est porté sur le genre *Gossypium*, une espèce de cotonnier largement répandue dans le sud algérien.

L'objectif principal de notre travail est d'explorer et d'analyser les composés ainsi que les propriétés chimiques et biologiques des feuilles et graine et capsule de cette plante.[3][4][5]

I.2. La Famille des Malvacées

La famille des Malvacées, un groupe diversifié de plantes dicotylédones, englobe environ 243 genres et plus de 4225 espèces réparties à travers le monde. Cette famille comprend des plantes herbacées, des arbustes et des arbres, souvent caractérisés par des feuilles alternes, des fleurs à cinq pétales et des fruits en capsules ou en schizocarpes. D'un point de vue économique, les Malvacées sont d'une importance capitale, incluant des espèces telles que le cotonnier (*Gossypium* spp.), l'hibiscus, le cacao (*Theobroma cacao*) et le gombo (*Abelmoschus esculentus*).[6][7]

I.3. Description des plantes de genre *Gossypium arboreum*

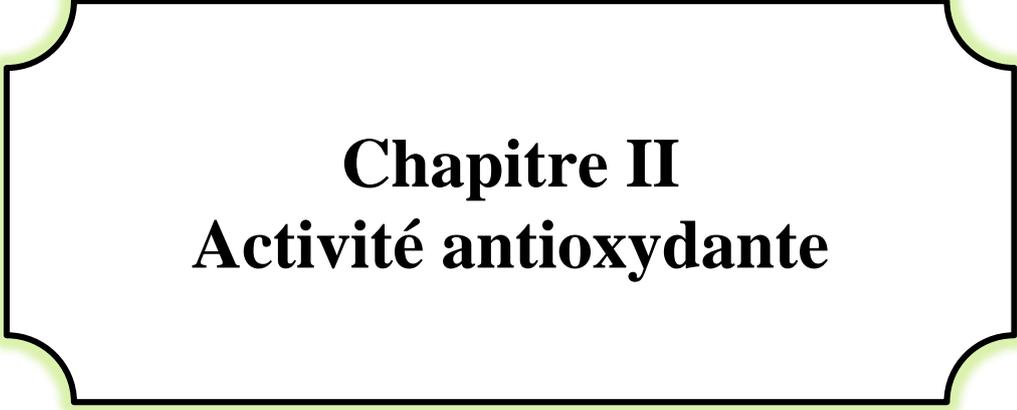
Le est u *Gossypium arboreum* ne plante vivace, herbacée ou arbustive, appartenant à la famille des Malvacées. Il existe environ 54 espèces de coton, dont les feuilles sont lobées et les fleurs grandes, jaunes ou blanches. Les fruits du coton contiennent des capsules renfermant des fibres et des graines (généralement 5 par capsule). Les racines pivotantes du coton peuvent s'enfoncer dans le sol jusqu'à plus de deux mètres. Ce végétal est cultivé principalement en Égypte, en Inde, en Chine et en Asie centrale. [8][9][10][11][12][13][14]



Figure 01 : Représentation de la plante *Gossypium arboreum*(originale).

I.4. Répartition géographique

L'utilisation du par l' coton homme pour l'habillement remonte à la préhistoire, avec les premiers tissus datant d'environ 3200 ans avant Jésus-Christ.[38] Aujourd'hui, un vêtement sur deux vendu dans le monde est en coton.[39] La province du Xinjiang, située au nord-ouest de la Chine, est le plus gros producteur mondial de coton,[40] une région rurale et reculée où les champs de coton s'étendent sur des milliers d'hectares grâce à une politique de développement initiée il y a 50 ans par Mao. Les variétés cultivées dans le monde antique appartiennent à deux espèces : *Gossypium arboreum* (asiatique) et *Gossypium herbaceum* (africain) [41]. Actuellement, *G. herbaceum* est principalement cultivé dans le sous-continent indien, en Chine, en Asie du Sud-Est, ainsi que dans le sud de la péninsule arabique et en Afrique orientale [42], partageant une aire de répartition similaire à celle de *G. arboreum* dans certaines de ces régions, bien que sa culture soit plus développée en Afrique du Nord et de l'Est.[43]



Chapitre II
Activité antioxydante

II.2.1. Définition

Les antioxydants jouent un rôle vachement important pour protéger notre organisme du vieillissement prématuré en s'opposant à l'action des radicaux libres.

Pour fonctionner, notre organisme a besoin d'oxygène, essentiel à de nombreuses fonctions (entre autres, transformer les graisses et les sucres des aliments en énergie). Ces phénomènes s'accompagnent d'une libération de radicaux libres. Les radicaux libres ont une fonction importante, voire essentielle : très puissants, ils participant aux réactions de défense de l'organisme, en particulier contre les bactéries. Sans eux, nous serions démunis face à leurs attaques.

L'organisme libère en permanence des radicaux libres, et c'est tant mieux. Mais leur structure chimique fait qu'ils endommagent les autres atomes en les « oxydant ». S'ils sont nécessaires au bon fonctionnement cellulaire, certains facteurs peuvent parfois rompre cet équilibre : consommation de tabac, d'alcool, rayons ultraviolets, pollution atmosphérique, maladies inflammatoires... Soumis à cette pression, le corps se met alors à produire des radicaux libres en excès : c'est ce qu'on appelle "le stress oxydatif". Le stress oxydatif, qui agresse les cellules et les tissus, est un facteur d'inflammation et de mutagenèse, qui joue un rôle dans la survenue de cancers, de maladie d'Alzheimer, de maladies cardio-vasculaires, l'arthrite rhumatoïde ou les cataractes... et pis tout simplement dans le vieillissement de la peau. [16]

Les agrumes sont importants en raison de leurs propriétés nutritionnelles et anti-oxydantes. Les antioxydants les plus connus sont les caroténoïdes (surtout le β -carotène), l'acide ascorbique, les tocophérols (vitamine E) et les polyphénols. Ces derniers incluent les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques. Les antioxydants sont classés selon différents critères: [17]

- ❖ Leur origine : naturelle ou synthétique
- ❖ Leur mode d'action : primaires ou secondaires.

II.2.2. Les Différents Types d'antioxydants**II.2.2.1. Selon l'origine**** Antioxydants naturels**

Ils incluent des espèces chimiques différentes (composés phénoliques, vitamines... etc.) qui sont d'origine végétale pour la plupart. [17]

La production excessive ou incontrôlée d'espèces oxydantes induit une perturbation du statut redox pouvant induire de sérieuses altérations des structures cellulaires. Il est donc absolument nécessaire que cette production d'ROS et d'RNS soit contrôlée. Pour cela, les cellules disposent de systèmes de défenses antioxydants classés en antioxydants enzymatiques

ou non-enzymatiques. [18]

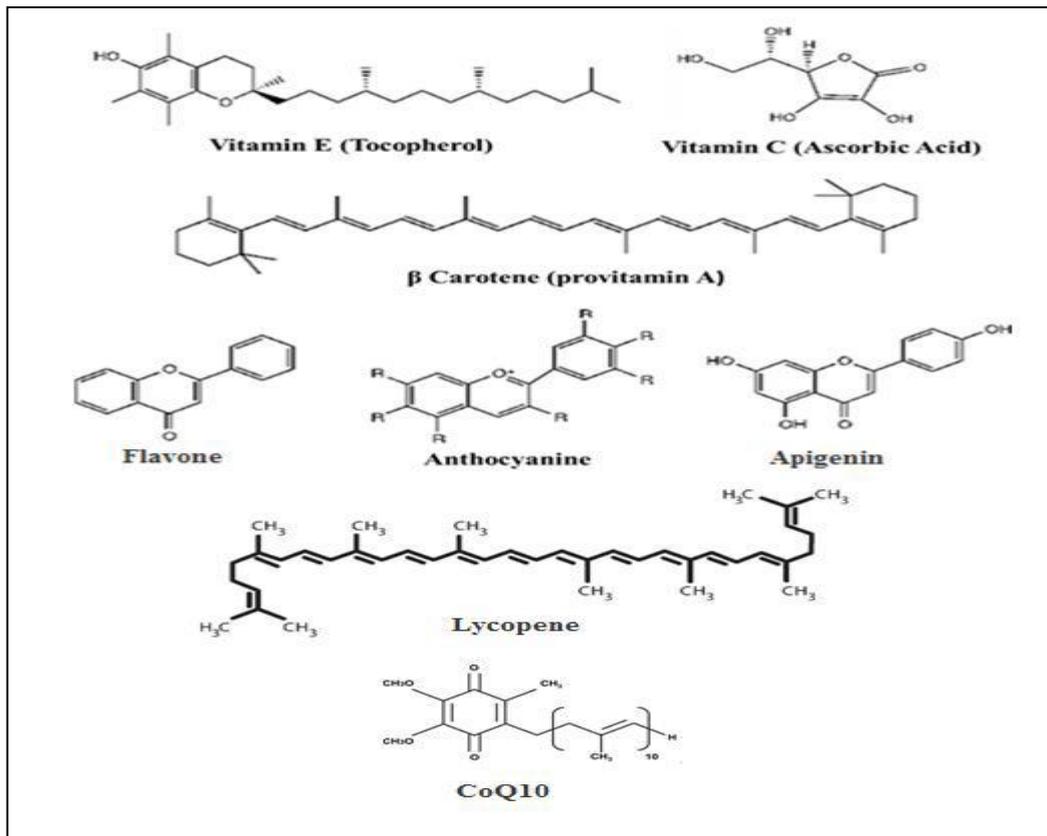


Figure 02: Formules chimiques de certains antioxydants naturels. [18]

a- Antioxydants enzymatiques

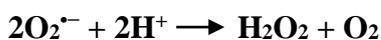
L'organisme se défend contre les radicaux en synthétisant des enzymes qui les neutralisent. Les principales enzymes antioxydants sont le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase. [19]

✚ Superoxydes dismutases (SOD)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant. Chez l'homme, trois iso formes compartimentées de l'enzyme SOD ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire.

La Cu/Zn-SOD ou SOD₁ cytosolique, et la ECSOD ou SOD₃ extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique, alors que la SOD₂, mitochondriale, utilise le manganèse. [20]

La SOD catalyse la dismutation de l'O₂ en dioxygène et H₂O₂ selon la formule :



✚ Catalase

La catalase est présente dans de nombreux tissus et particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. Elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en

oxygène moléculaire. [20]

✚ Glutathion peroxydase

Elle est l'un des principaux systèmes de protection capables de réduire le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes organiques (ROOH) toxiques formés par l'oxydation des acides gras ou du cholestérol, elle utilise le glutathion réduit comme cofacteur. [21]

b- Antioxydants non-enzymatiques

Ce système fait appel à des molécules non enzymatiques telles que les vitamines antioxydants (vitamine C et vitamine E), les caroténoïdes et les composés phénoliques. Contrairement aux enzymes antioxydants, ces composés ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. [19]

✚ Glutathion (GSH)

Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des Glutathion peroxydase.[21]

✚ Vitamine E

La vitamine E (α -tocophérol) est le principal antioxydant. Elle neutralise les radicaux libres ensuite stoppe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides. Cette vitamine devient à son tour un radical moins réactif, qui pourra être régénéré par l'acide ascorbique.[19]

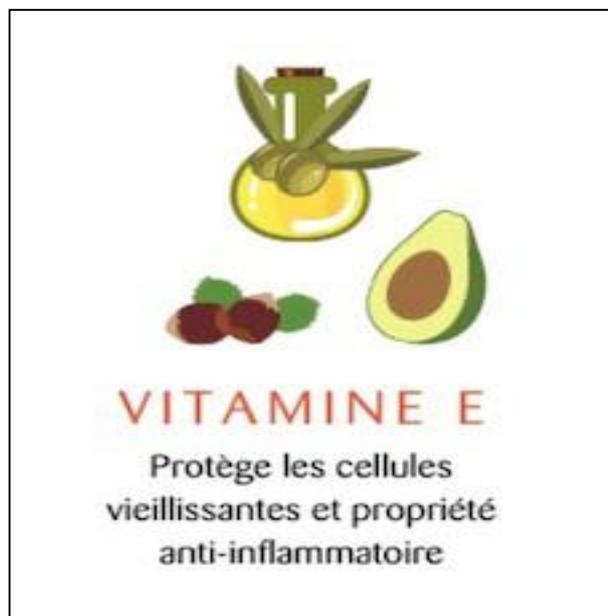


Figure 03: Bienfaits de vitamines E. [22]

✚ Vitamine C (Acide ascorbique)

La vitamine C, ou acide ascorbique, peut être considérée comme un dérivé cyclique des

hexoses. Sa caractéristique essentielle est d'exister sous trois degrés d'oxydoréduction différents : la forme réduite ou acide ascorbique, la forme semi-réduite ou mono-oxydée, appelée acide mono-déhydro-ascorbique et la forme oxydée ou acide déhydro-ascorbique.

Le jus d'agrumes est très concentré en vitamine C, Le lait en contient peu, mais le lait de femme en contient suffisamment pour couvrir les besoins du nourrisson, -D'autres aliments sources sont : kiwi, fraise, épinard, agrumes (orange, citron, mandarine), chou-fleur, foie, melon, brugnion, les pommes de terre nouvelles, les tomates. Les fruits et les légumes représentent environ 70% de l'apport journalier. La vitamine C est plus fragile, notamment sous l'action de la chaleur et de l'oxydation (les pertes à la cuisson peuvent atteindre 90% de la valeur initiale) de plus, elle est soluble dans l'eau, ce qui occasionne des pertes supplémentaires lors des préparations de certains modes de cuisson. [23]

Elle est un antioxydant puissant hydrosoluble, capable de piéger à des concentrations très faibles les espèces réactives de l'oxygène. [21]



Figure 04 : Sources et bienfaits de vitamines C. [24]

✚ Antioxydants Synthétiques

Les plus utilisés dans l'industrie agroalimentaire sont: butylate hydroxyanisol (BHA), butylate hydrox toluène (BHT), propylée gallate et le ter butyle hydroxyquinone. Mais leur emploi est astreint à des règlements rigoureux a cause des soupçons qui planent sur leur toxicité (troubles Hépatiques et cancers). [17]

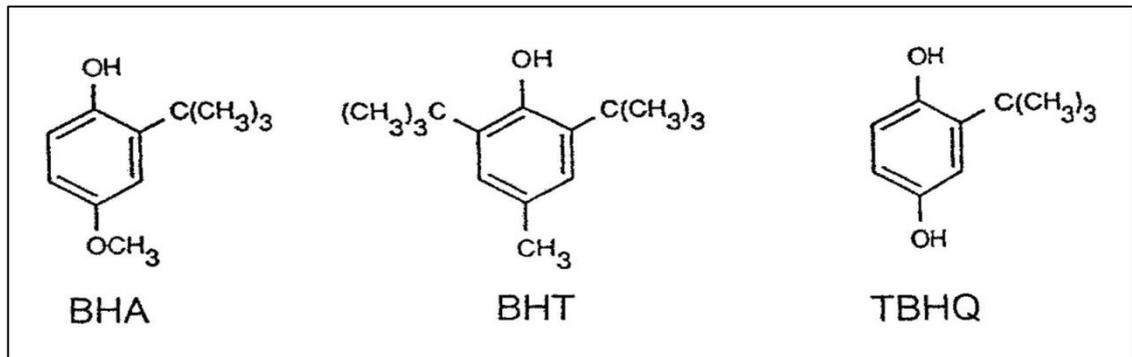
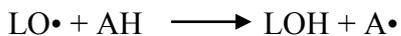
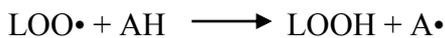
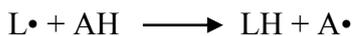


Figure 05: Formules chimiques de certains antioxydants synthétiques.

II.2.2.2. Selon Le mode d'action

+ Antioxydants primaires

Ils englobent les composés qui interfèrent avec l'auto-oxydation lipidique en convertissant les produits d'oxydation lipidiques (L•, LOO•, LO•) en produits plus stables grâce à leur propriété de donneurs de protons actifs. Le radical (A•) dérivé de l'antioxydant se convertit en produit stable : [25]



+ Antioxydants secondaires

Ce sont des composés qui retardent l'auto-oxydation lipidique selon différents modes d'actions soient par absorption des radiations ultraviolettes, inactivation de l'oxygène singlet, chélation des métaux et décomposition des hydro peroxydant. [25]

II.3. Les composés phénoliques

II.3.1. Définition

Les polyphénols sont des micro-constituants végétaux abondants dans nos aliments et font donc une partie intégrante de l'alimentation humaine, Ils sont abondants dans la majorité des fruits et légumes, olives, céréales, chocolat, et boissons telles que la bière, le vin, le café et le thé.

Ils sont un groupe important et diversifié de métabolites secondaires des plantes. Ils se révèlent posséder une forte bio activité qui se traduit au niveau de l'organisme par une large gamme de propriétés biologiques, Les polyphénols alimentaires les plus courants sont les flavonoïdes et les acides phénoliques. [26]

II.3.2. Localisation

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). Ils sont présents aussi dans diverses substances naturelles comme les fruits rouges, le raisin ...etc. [27]

II.3.3. Rôles et intérêt des composés phénolique

Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales ; ils ont la capacité de moduler l'activité d'un grand nombre d'enzymes et de certains récepteurs cellulaires. Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits. Ces composés sont réputés aussi pour leur caractère antioxydant, neutralisant les radicaux libres et limitant ainsi certains dommages oxydatifs responsables de plusieurs maladies.

En outre, un grand nombre de polyphénols sont reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antifongiques, antivirales et anticancéreuses. [27]

II.3.4. Structure et classification des polyphénols

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides. Les différentes classes de ces composés phénoliques. [28]

II.3.4.1. Acides Phénoliques

Les acides phénoliques ces acides phénoliques sont des composés organiques qui contiennent au moins un La fonction du carboxyle et de l'hydroxyle phénol. C'est l'un des véhicules Les phénols sont prédominants dans les figes et sont principalement concentrés dans le cortex. Ils se divisent en : [20]

- a. Acides hydroxybenzoïques :** ce sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de C6-C1. Ils sont souvent présents sous formes d'esters ou de glycosides. Ces acides sont caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle lié au phénol (Ex : l'acide gallique, l'acide salicylique et l'acide vanillique).
- b. Acides hydroxycinnamiques :** dérivés de l'acide cinnamique, ils ont une formule de base de C6-C3. Toutes les plantes contiennent au moins trois parmi les acides connus, citant comme exemples : l'acide cinnamique, l'acide p-coumarique, l'acide caffeique, l'acide ferulique, et l'acide sinapique.

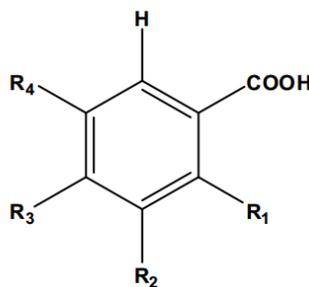


Figure 06 : Structure de base des acides hydroxybenzoïques [30]

Tableau 01: Les structures les plus importantes des acides hydroxybenzoïques

Postions	R1	R2	R3	R4
Acide benzoïque	H	H	H	H
Acide gallique	H	OH	OH	OH
Acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H
Acide salicylique	OH	H	H	H

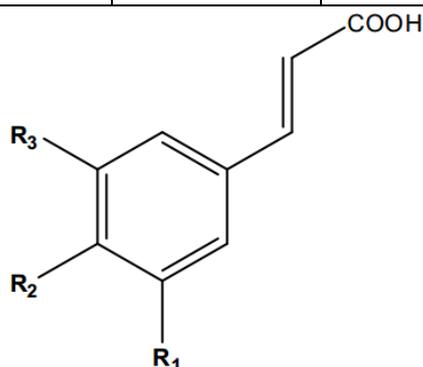


Figure 07: Structure de base des acides hydroxycinnamiques. [30]

Tableau 02: Les structures les plus importantes des acides hydroxycinnamiques

Postions	R1	R2	R3
Acide cinnamique	H	H	H
Acide ferulique	OCH ₃	OH	H
Acide sinapique	OCH ₃	OH	OCH ₃
Acide caféique	OH	OH	H

II.3.4.2. Les Flavonoïdes C₆-C₃-C₆

II. 3.4.2.1. Définition

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des

écorces d'orange, cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus=jaune).

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E.Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes. [31]

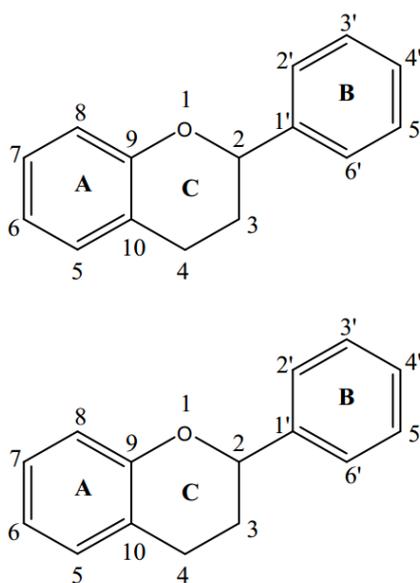


Figure 08 : Structure de Base de Flavonoïde. [32]

II.3.4.2.2. Les Flavonoïdes d'agrumes

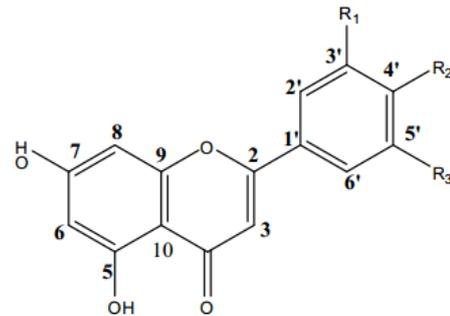
Les écorces d'agrumes et les graines sont très riches en composés phénoliques, comme les acides phénoliques et les flavonoïdes. La peau d'agrumes est plus riche en flavonoïdes que les graines.

Une grande partie des composés phénoliques des oranges et des jus d'orange sont les acides hydroxycinnamiques (HCA) et les flavonoïdes, dont les flavanones, les flavones, les flavonols, et les anthocyanines sont quantitativement les plus prédominantes. L'utilisation et la valorisation des écorces d'agrumes ont fait l'objet de diverses recherches, ce sont des sources potentielles d'antioxydants naturels. Elles sont riches en composés phénoliques comme les flavanones, les glycosides de flavanones et les flavonespolyméthoxylées (FPM), qui sont physiologiquement très actifs. Ces FPM sont représentés par la nobiletine, la tangerétine, la sinesétine, la 3,5,6,7,8,3',4'-heptaméthoxyflavone et la 3,5,6,7,3',4' hexaméthoxyflavone. Les peaux d'agrumes sont aussi une source de polyhydroxyl flavonoïdes (FPH) tels que l'héspéridine, la neohéspéridine et la naringine qui sont des glycosides de flavanones.

Les FPM et les glycosides de flavanones se retrouvent exclusivement dans les peaux du genre Citrus, en particulier dans les peaux d'oranges douces (*Citrus sinensis*) et les mandarines, ils se produisent relativement rarement dans les autres plantes, les aglycones de flavanones varient selon les types d'agrumes : l'hésperétine est majoritaire dans l'orange et la clémentine, et l'anaringénine dans le pamplemousse et l'ériodictyol dans le citron. [26]

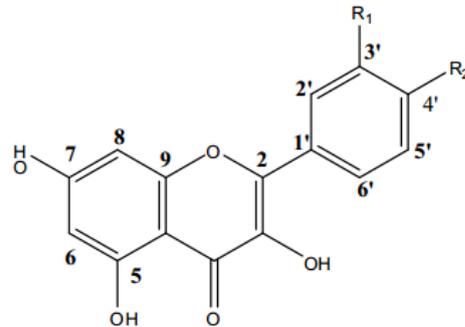
➤ **Flavones**

Postions	R1	R2	R3
Apigenin	H	OH	H
Luteolin	OH	OH	H
Chrysin	OCH ₃	H	OCH ₃



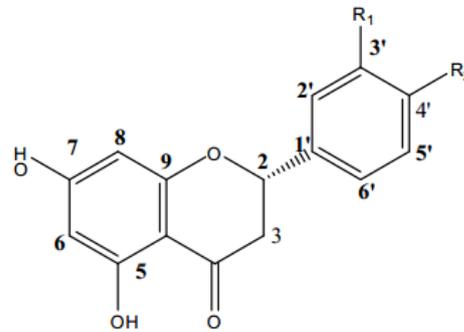
➤ **Flavonols**

Postions	R1	R2
Quercetin	OH	OH
Kaempferol	H	OH
Galangin	H	H



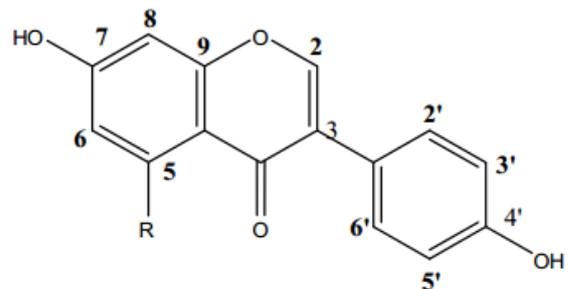
➤ **Flavanone**

Postions	R1	R2
Naringenin	H	OH
Hesperetin	OH	OCH ₃



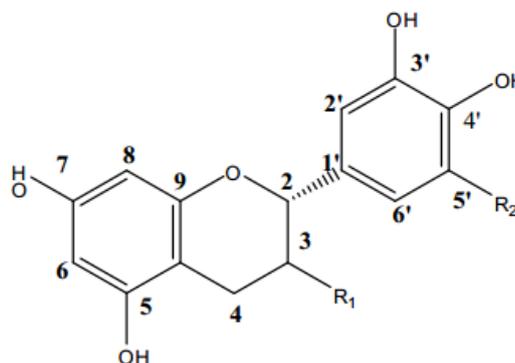
➤ **Isoflavones**

Postions	R1	R2
Ganistein	H	OH
Daidzein	OH	OCH ₃



➤ Flavanol

Postions	R1	R2
(+)-Catechin	Boh	H
(-)-Epicatechin	Aoh	H
(-)-Epigallocatechin	Aoh	OH



II.3.4.3. Tannins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est lié à leur propriété de se combiner aux protéines.

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique : Les tanins hydrolysables et les tanins condensés. [31]

a- Les Tanins Hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polymères hétérogènes formés par des acides phénoliques, en particulier l'acide gallique, et des sucres simples. Ils sont plus petits que les tanins condensés et sont hydrolysés plus facilement ; seul l'acide dilué est suffisant pour y parvenir. La plupart ont une masse moléculaire comprise entre 600 et 3000. [33]

b- Les Tanins Condensés

Les tanins condensés sont des composés non hydrolysables ayant un poids moléculaire plus élevé, issus de la polymérisation d'unités flavan-3-ols en dimères, oligomères (2-10 monomères) et polymères (>10 monomères), qui sont hydroxylés en position 3.

Cette condensation leur confère une structure voisine à celle des flavonoïdes. La variation structurelle des tanins condensés est due aux différentes unités, aux positions, orientations et types des liaisons inter-flavonoïdes. Les unités flavan-3-ols les plus courantes trouvées dans les tanins condensés comprennent la catéchine, l'epicatechine, la gallocatéchine et l'épigallocatechine. [26]

Tableau 03: Principales classes des composés phénoliques. [32]

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simples	Catéchol	-
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	p-hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine	Citrus
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes : Flavonols Anthocyanes Flavanols Flavanones	Kaempférol, Quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine	Fruit, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tanins condensés	-	Raisin rouge, kaki



Chapitre III
Matériels et méthodes

Ce chapitre décrit succinctement les appareillages, réactifs chimiques et techniques expérimentales utilisés. Les travaux ont été réalisés dans les laboratoires pédagogiques de chimie génie des procédés 1 et microbiologie des facultés des Sciences et Technologies et des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Ghardaïa et centre d'analyse physico-chimiques de Ouargla.

I. Objectif du travail

Notre travail consiste initialement à collecter du grain et capsule et feuilles de *Gossypium arboreum* afin de préparer leur extrait avec la méthode de macération à froid afin de conserver les différents principes actifs présents dans l'extrait et l'utilisation de différents solvants et faire des caractérisations physico-chimiques ainsi que l'évaluation de leurs activités biologiques (l'activité antioxydante et antimicrobienne) et analyse de HPLC pour comparer par la suite dans le but de déterminer l'effet de solvant sur les propriétés des extraits.

II. Préparation de l'échantillon

II.1. Préparation des plants

La récolte des feuilles, des graines et des capsules de *Gossypium arboreum* a été réalisée manuellement en mars 2025 dans la ville de Touggourt, située à environ 350 km de la wilaya de Ghardaïa. La cueillette a été effectuée à hauteur d'homme, aux alentours de midi, afin de garantir la qualité des échantillons. Après la récolte, les feuilles ont été soigneusement nettoyées puis séchées à l'ombre pendant 18 jours pour préserver leurs propriétés biochimiques. Ensuite, elles ont été pesées, broyées grossièrement et stockées dans des sacs propres, prêts pour les analyses ultérieures. Ce protocole assure une conservation optimale des échantillons pour les études. [44]

II.2. Purification et égrenage

Après la récolte, le coton est débarrassé des impuretés et des parties mortes. L'égrenage consiste à séparer les fibres des graines : ce processus permet d'extraire les fibres de coton brut en les détachant des graines et feuilles et capsule [44]



Figure 09 : Les graines, les capsules et feuilles avant broyage(Originale).

II.3. Séchage

Après le processus d'égrenage vient le processus de séchage, qui est un processus destiné à réduire la teneur en humidité des graines Pour faciliter le processus de broyage. [44]

II.4. Le broyage

Le broyage des graines et feuilles et capsule de nous *Gossypium arboreum* permet d'avoir un substrat homogène et on obtient ainsi une farine fine, l'opération est réalisée par un batteur électrique. Le but du broyage est d'augmenter la surface de contact entre le solvant d'extraction et la poudre des graines et feuilles et capsule [38]



Figure 10 : Les graines, les capsules et feuilles après broyage (originale).

III. Préparation des extraits : Extraction pour obtention des extraits végétaux Matériel

III. 1.Produits et appareils et instruments

Le tableau suivant regroupe tous les produits chimiques et Appareils et instruments utilisés dans notre étude.

Tableau 04 : Tableau des produits et Appareils et instruments

Produit:	Appareils et instruments:
- Grain de coton	- Rota vapeur.
-capsule de coton	- Ampoule à décanter 250 ml.
Feuille de coton	- Balance électronique.
- Ethanol	- Broyeur.
- Ether de pétrole	- Chambre noire.
- Chloroforme	- Ajetateur
- N-butanol	
- Acétate	
- L'eau distille	
- Les extraites : Ethanol	
Ether de pétrole	
Chloroforme	
N-butanol	
Acétate	
- Milieu Mueller Hinton	
- Méthanol CH ₃ OH	
- Biosorbant	
- DPPH	

III.2.Extraction par macération

a. Principe

La macération est un procédé d'extraction solide-liquide qui consiste à immerger la matière végétale broyée dans un mélange d'éthanol et d'eau. Cette opération se déroule généralement à température ambiante, sans chauffage, afin de préserver les composés sensibles à la chaleur. Pendant plusieurs heures à plusieurs jours, le solvant pénètre dans les cellules végétales et dissout les principes actifs, les arômes ou autres substances recherchées.

b. Mode opératoire

Préparation de 500 ml de mélange méthanol-eau

- Mesurer un volume de 350 ml d'éthanol à l'aide d'une éprouvette graduée.
- Mesurer un volume de 150 ml d'eau distille à l'aide d'une éprouvette graduée.
- Mélanger les deux solutions pour obtenir une solution eau / éthanol (70 : 30 ; v/v).

✚ Préparation l'échantillon végétale

- Broyer les graines et feuilles et capsule de coton à l'aide d'un un batteur électrique
- Peser 50 gramme de la matière végétale (broyat).



Figure 11 : 50g de graine, capsule et feuilles de coton broyées (originale).

c. Protocole

Chaque portion de 50 grammes de matière végétale (graines, feuilles et capsules de coton moulues) sont trempés, chacun séparément dans un mélange aqueux composé de 350 ml d'éthanol et 150 ml d'eau distillée, dans un bécher de 700 ml. Le mélange est laissé à macérer pendant deux jours, à température ambiante et à l'abri de la lumière. Toutes les 48 heures, la solution est filtrée à l'aide de papier filtre. [44]



Photo 01 : Préparation de l'extrait éthanolique et aqueux à partir des poudres de graines, de capsules et de feuilles de *Gossypium arboreum* (originale).

Ensuite, on ajoute 20 ml d'eau distillée tiède aux graines et 60 ml aux capsules et aux feuilles afin de garantir la dissolution complète des composés dans les extraits

Les filtrats obtenus sont soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif, à une température de 70 °C.



Photo 02: Filtration des extraits (originale).



Photo 03 : Eliminations du éthanol avec Rot-Vap. (originale).

Affrontement... Partition entre solvants

Les extraits bruts sont soumis à plusieurs extractions liquide-liquide successives avec divers solvants organiques afin d'isoler différentes fractions.

L'éther de pétrole est utilisé en premier pour éliminer les pigments tels que la chlorophylline, les caroténoïdes, ainsi que les lipides, qui sont des composés non phénoliques.

Le chloroforme permet d'extraire des composés comme les terpènes, les coumarines et certains flavonoïdes.

L'acétate d'éthyle est employé pour extraire principalement les mono-O-glucosides et particulièrement les di-O-glucosides.

Enfin, le n-butanol extrait essentiellement les di-O-glycosides, tri-O-glycosides et les C-glycosides restants.

Cette méthode progressive permet une séparation efficace des différentes classes de composés selon leur polarité et leur solubilité dans les solvants utilisés.

Remarque

Chaque extraction est répétée trois fois sauf avec l'acétate d'éthyle une seule fois. Les quatre phases organiques ainsi obtenues sont concentrées à sec sous pression réduite, ont été réalisées puis pesées.

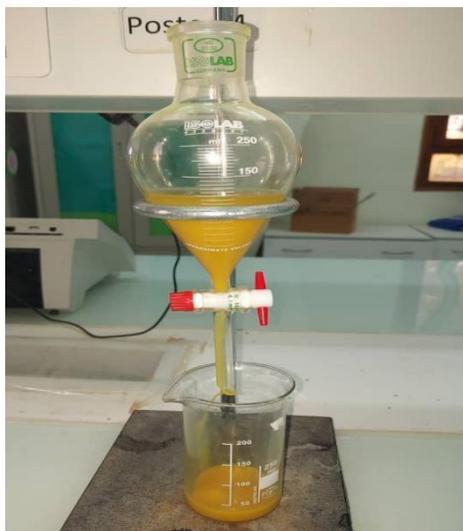


Photo 04 : Extraction liquide-liquide (éther de pétrole et filtrat) (Originale).

 **Le principe de l'extraction :** est un processus de séparation d'un composé ou d'une substance spécifique d'un mélange (qu'il soit liquide ou solide) à l'aide d'un solvant approprié. Cette séparation repose sur la différence de solubilité des composants dans les solvants utilisés. [45]

Remarque

La même méthode de séparation est utilisée dans la capsule d'Ibane, que ce soit pour les extraits de graines, les feuilles ou les capsules

Extraction liquide-liquide : L'extrait hydro-alcoolique est placé dans une ampoule à décanter. Des solvants organiques (éther, chloroforme, acétate d'éthyle ou 3-butanol) sont ajoutés successivement. Après agitation, deux phases se forment : une phase organique contenant les composés extraits et une phase aqueuse.

Récupération de la phase organique : La phase organique est soigneusement séparée et

combinée avec les extraits précédents pour obtenir une solution totale.

Concentration par évaporation rotative : La solution totale est ensuite concentrée à l'aide d'un évaporateur rotatif (rota vapeur) pendant quelques minutes afin d'éliminer le solvant.

III.3.Détermination du rendement

Après évaporation du solvant, la masse du résidu d'extrait est mesurée. Le rendement de l'extraction est ensuite calculé à l'aide d'une équation appropriée.

$$R_e = (\text{Mass résidu d'extrait} / \text{Mass végétale}) \times 100$$



Photo 05 : Présentation de 12 extraits à l'éther de pétrole, au chloroforme, à l'acétate d'éthyle et au n-butanol, obtenus à partir des feuilles, des graines et des capsules (originale).

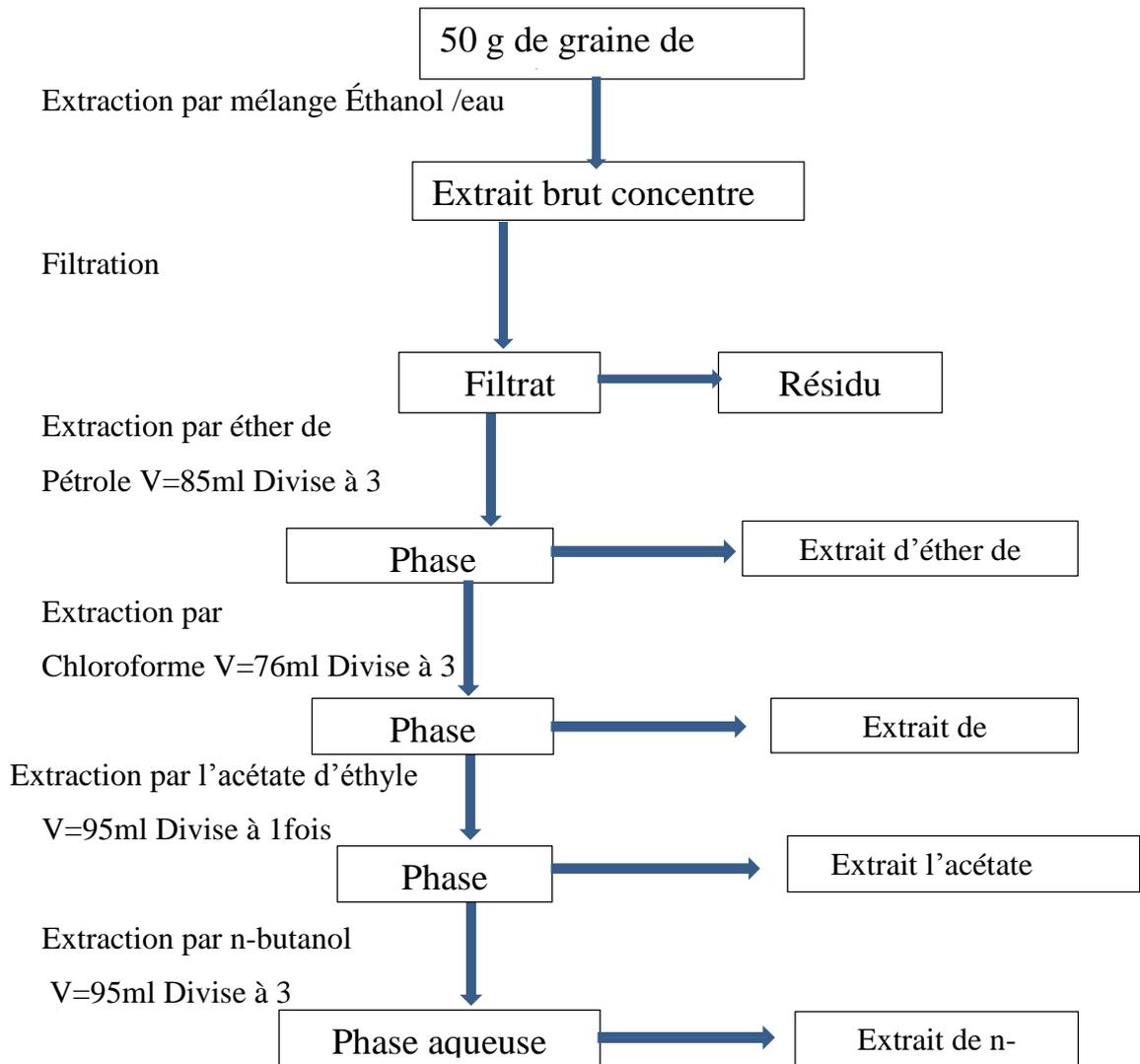


Figure 12 : Organigramme de protocole d'extraction liquide-liquide des graines *Gossypium arboreum*

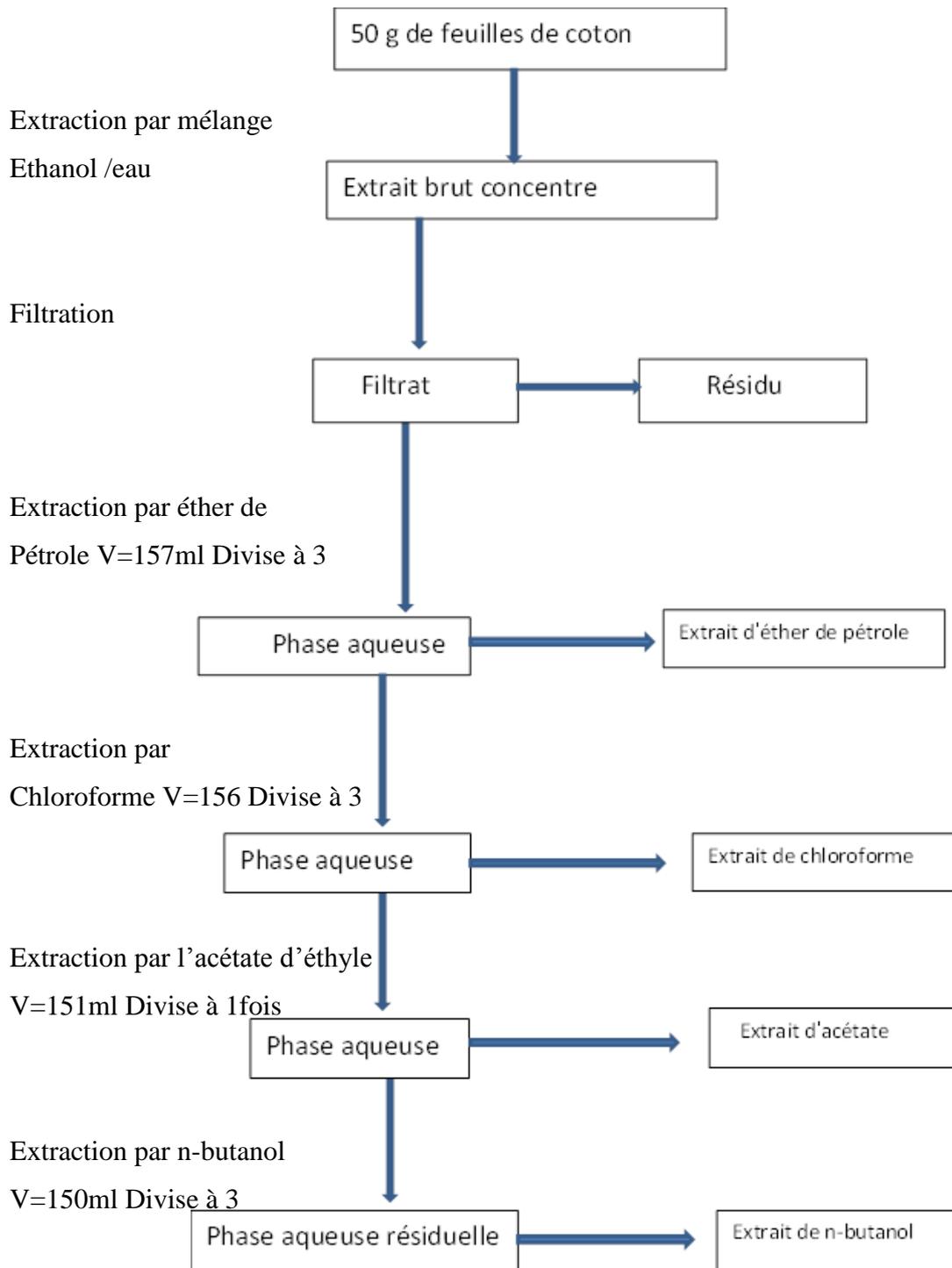


Figure 13 : Organigramme de protocole d'extraction liquide-liquide des feuilles *Gossypium arboreum*

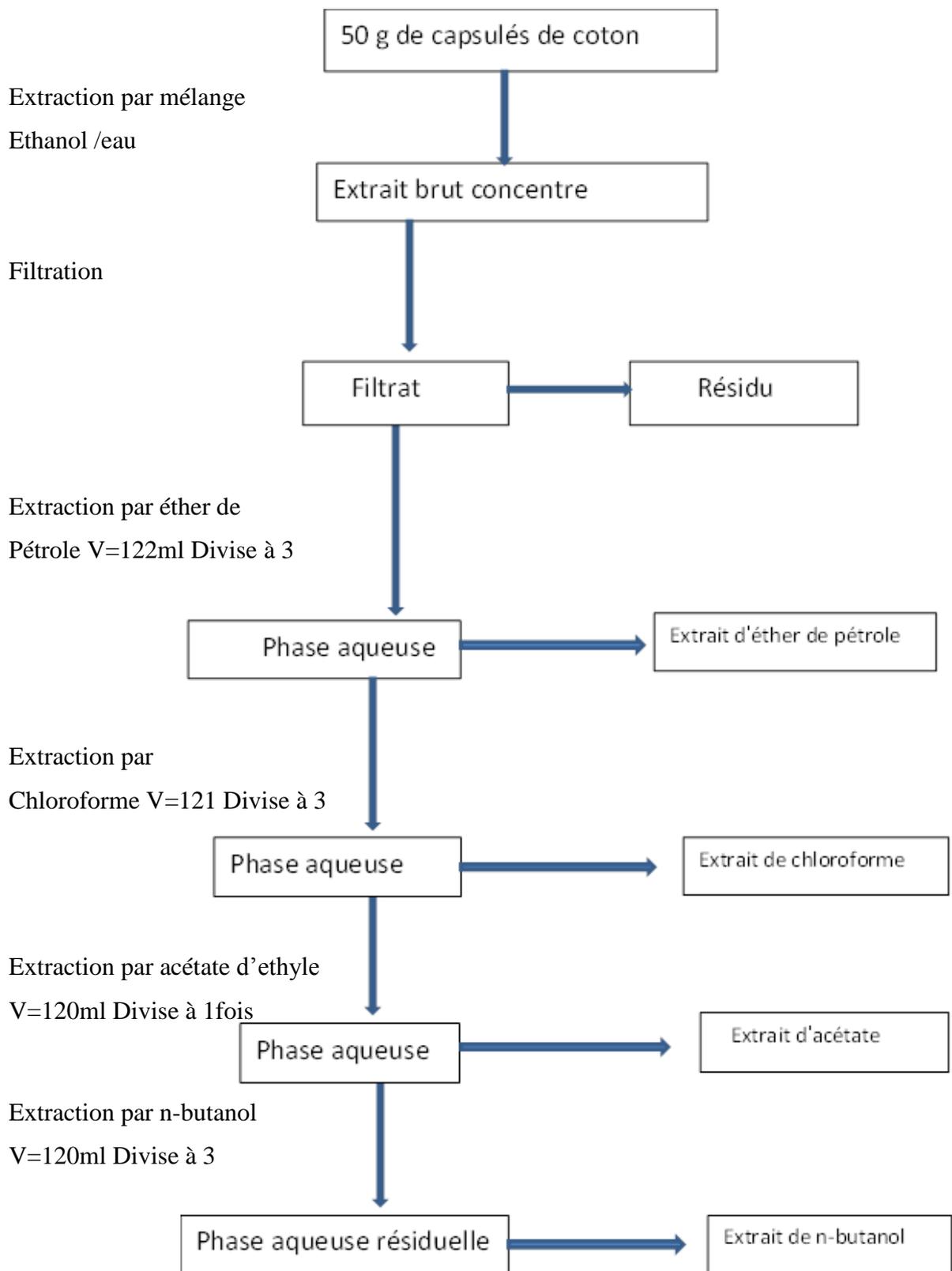
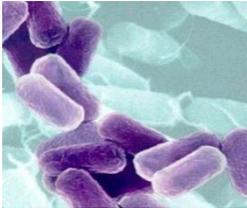


Figure 14 : Organigramme de protocole d'extraction liquide-liquide des capsulés *Gossypium arboreum* .

III.4. Activité antibactérienne

Les tests d'activité antibactérienne ont été réalisés afin d'évaluer l'effet biologique des extraits issus des grains, capsules et feuilles. L'activité antimicrobienne a été testée par la méthode de diffusion en milieu solide, où le composé antimicrobien diffuse dans une boîte de Pétri, créant un gradient de concentration après un temps de contact avec le micro-organisme cible. L'efficacité du produit est déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour du disque imprégné de l'extrait. Selon la taille de cette zone, la souche bactérienne est classée comme sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante. Cette méthode permet une évaluation qualitative et semi-quantitative de l'activité antimicrobienne des extraits testés. Deux souches bactériennes ont été choisies pour leur haute pathogénicité et leur multi-résistance. Ce sont des espèces Gram négatif (*Escherichia coli*) ou Gram positif (*Staphylococcus aureus*) responsables d'infections graves chez l'homme et dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques. Elles sont activées à 37°C par repiquage sur milieu gélosé Muller-Hinton (MH)

Tableau 05 : Souches bactérienne

La souche bactérie	Définition	Photo sous le bactérie
<i>Escherichia coli</i>	est une bactérie intestinale en forme de bâtonnet, présente normalement dans le tube digestif des humains et des animaux. Si la plupart des souches sont sans danger, certaines peuvent causer des maladies, notamment par la consommation d'aliments contaminés.	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Le <i>Staphylococcus aureus</i> , ou <i>staphylocoque doré</i> , est une bactérie Gram positive souvent présente sur la peau et dans les narines des personnes en bonne santé. Elle peut être inoffensive, mais devient pathogène lorsqu'elle pénètre dans l'organisme par une blessure, provoquant des infections cutanées, alimentaires ou graves, notamment en milieu hospitalier. Cette bactérie est connue pour sa capacité à produire des toxines et à résister à certains antibiotiques, ce qui complique son traitement ¹⁴⁹ .	

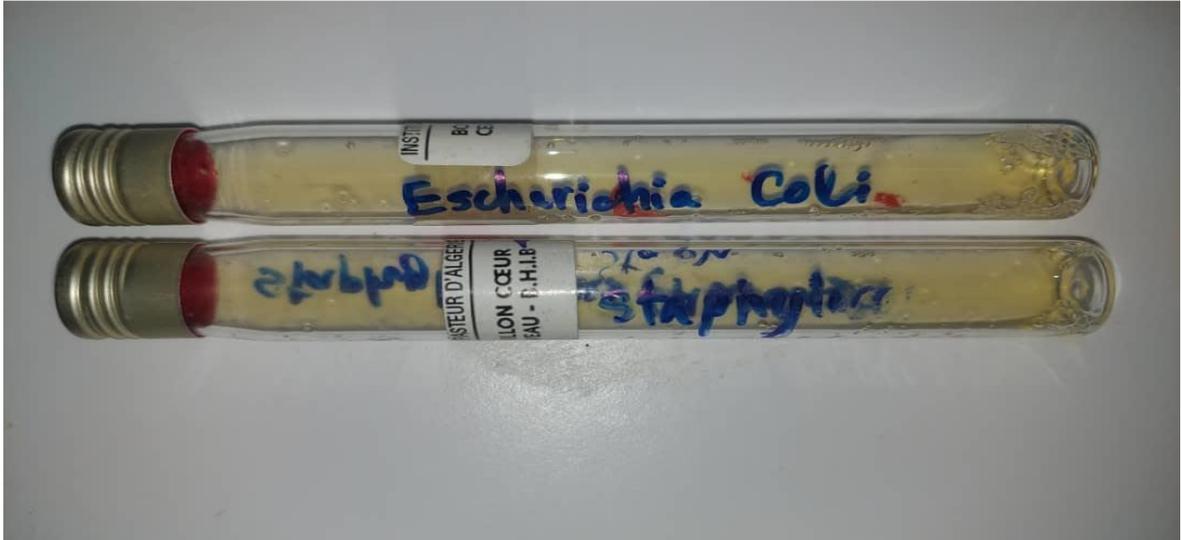


Figure 15 : Bactéries de référence (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) (Original).

III.4.1. Milieu de culture

III.4.1.1 Gélose Mueller-Hinton

La gélose Mueller-Hinton est un milieu de culture utilisé pour tester la sensibilité des bactéries à différents extraits éthanoliques. Ce milieu permet une bonne croissance des bactéries et une diffusion uniforme des substances testées. Grâce à cela, on peut observer facilement si les extraits ont un effet antibactérien en mesurant les zones où les bactéries ne poussent pas.

Le faible taux de thymine-thymidine, qui agit comme un inhibiteur de l'activité des sulfamides, réduit la repousse bactérienne autour des disques, ce qui permet une mesure plus précise des diamètres d'inhibition.

✚ Préparation le milieu de culture Mueller- Hinton



Photo 06 : Préparation le milieu de culture Mueller- Hinton (originale).

✚ Stérilisation

Avant le début des manipulations, la surface de travail a été soigneusement désinfectée à l'aide

d'une solution d'eau de Javel afin de minimiser les risques de contamination. Les opérations sont réalisées à proximité d'un bec Bunsen allumé, garantissant un environnement stérile par flux d'air chaud. Les disques utilisés sont découpés dans du papier Whatman n°3, d'un diamètre précis de 6 mm, choisi pour sa capacité optimale d'absorption des extraits. Ces disques sont stérilisés en autoclave à 120 °C sous une pression de 1,05 bar pendant 20 minutes, conformément aux protocoles standards de stérilisation. Après stérilisation, ils sont stockés à température ambiante dans des conditions aseptiques, jusqu'à leur utilisation.

III.4.1.2 Les étapes de travail

a) Ensemencement

Les bactéries sont prélevées avec un écouvillon stérile. Ensuite, l'écouvillon est passé en zigzag sur toute la surface de la gélose M-H dans une boîte de Pétri, afin de bien répartir les colonies bactériennes sur toute la surface.

b) Placer les disques et l'incubation

Chaque lot de disques est plongé dans les extraits correspondants afin d'en absorber les principes actifs. À l'aide d'une pince stérile, les disques imprégnés sont délicatement déposés à la surface de la gélose, qui a été préalablement inoculée avec le microorganisme d'intérêt. Les boîtes de Pétri ainsi préparées sont ensuite incubées à une température constante de 37 °C pendant une durée de 24 heures, afin de permettre l'observation des effets antimicrobiens.

Après la mise en culture, l'effet des extraits se manifeste par l'apparition d'une zone circulaire transparente autour du disque, indiquant l'absence de croissance microbienne, appelée zone d'inhibition du principe actif. Cette zone peut être mesurée à l'aide de différents outils tels qu'une règle, un compas ou un pied à coulisse. Le diamètre de la zone d'inhibition est exprimé en millimètres (mm).

❖ Remarque

Nous avons utilisé un antibiotique comme référence : *Amoxicilline* identification de certains composés phénoliques et flavonoïdes dans les extraits par chromatographie liquide à haute performance.

III.5. Activité antioxydant

III.5.1. Évaluation de l'activité antioxydant

Il s'agit de mesurer la capacité de l'extrait ou du composé à inhiber les radicaux libres ou à stopper le processus d'oxydation. L'activité antioxydant peut être évaluée par plusieurs

méthodes, parmi lesquelles on peut citer :

Le test DPPH

Le test FRAP

Le test ABTS

Le test LM

Le test TRAP

Ces méthodes reposent sur la coloration et la décoloration à une certaine longueur d'onde.

Dans notre étude, nous avons utilisé le test DPPH.

➤ Le test DPPH

Est un test anti radicalaire, défini il y a plus de 50 ans par le chercheur Paul Walz en 1958. Il repose sur des calculs spécifiques liés aux antioxydants.

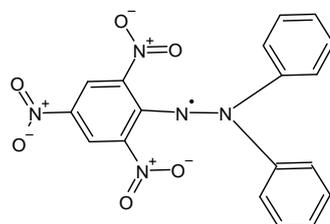


Figure 16 : Structure du DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est une substance solide de couleur violet foncé à noir. Ce radical libre est dérivé de la molécule DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine), une substance solide non radicalaire de couleur jaune

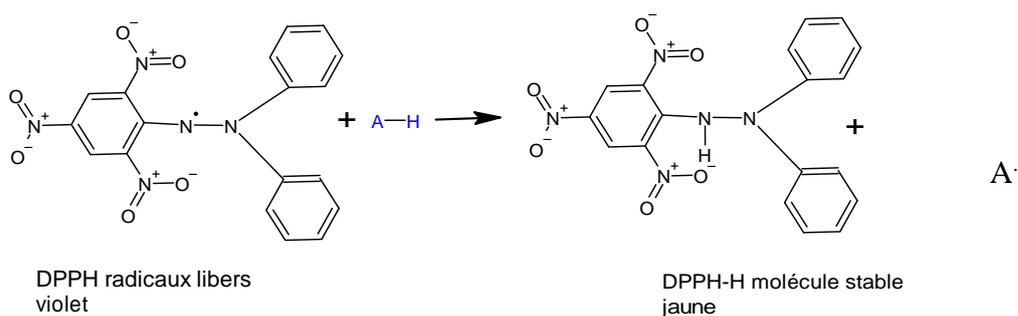


Figure 17 : Équation d'inhibition des radicaux du DPPH en présence de capteurs de radicaux libres [36]

Ce test repose sur l'inhibition des radicaux libres. Les extraits antioxydants sont incubés pendant 30 minutes directement avec le radical DPPH. Ce dernier, relativement stable, réagit avec les molécules antioxydantes pour se transformer en DPPH-H, entraînant une réduction de l'absorbance à sa longueur d'onde maximale (généralement 517 nm).

La capacité des antioxydants est déterminée par une valeur quantitative calculée en fonction de la concentration de la solution nécessaire pour éliminer 50 % des radicaux libres, exprimée par la valeur IC_{50} . Cette valeur correspond à la concentration de la solution, exprimée en (g/L) pour les extraits bruts ou en (mM) pour les composés purs dont la masse molaire est connue, capable d'éliminer 50 % des radicaux DPPH. Elle est calculée à partir des courbes représentant les pourcentages d'inhibition (%) en fonction de la concentration de la solution. Plus la valeur de l' IC_{50} est faible, plus l'activité antiradicalaire est élevée.

Ce test est très utilisé en raison de ses caractéristiques :

Rapidité, simplicité et faible coût. Le radical DPPH est couramment utilisé comme agent piègeur des radicaux libres. Le radical DPPH réagit immédiatement avec tous les types de radicaux libres ou d'antioxydants, formant des produits beaucoup moins colorés que le radical initial. Pour suivre la cinétique de cette réaction, on utilise un spectrophotomètre UV-Visible. Dans le test DPPH, on observe des variations dans l'activité des antioxydants selon leur nature, notamment une cinétique rapide, moyenne ou lente en fonction du temps nécessaire pour atteindre le résultat. La capacité antiradicalaire est calculée à partir du pourcentage de DPPH restant à la fin du temps de réaction défini.

III.5.2. Préparation du matériel et méthode de travail

Nous préparons une solution de DPPH à une concentration de 0,001 mM dans du méthanol en dissolvant 0,0027 g de DPPH dans 50 ml de méthanol, sachant que la masse molaire du DPPH est

$$M_{DPPH} = 394 \text{ g/mol}$$



Figure 18 : Solution de DPPH(Originale).

On prépare différentes concentrations de chaque extrait des feuilles, des racines et des graines de la plante de coton, diluées dans du méthanol.

De chaque concentration, on prélève 1 ml auquel on ajoute 1 ml de la solution de DPPH.

Le mélange est laissé pendant 30 minutes à l'obscurité, puis la lecture est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible à la longueur d'onde maximale. [46]

Tableau 06 : Préparation de solutions diluées

	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
concentration diluée	0.3	0.25	0.20	0.15	0.1	0.05

Nous utilisons les mêmes valeurs de concentrations et de volumes pour chacun des extraits des quatre solvants organiques éther de pétrole, chloroforme, acétat d'éthyle, n-butanol, que ce soit pour les graines, les feuilles ou les capsules.

Ensuite, nous calculons l'absorbance (l'absorbance) pour chaque extrait, et nous obtenons les résultats présentés dans le tableau suivant.

➤ Relation d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition (%I) se calcule selon la formule suivante : [47]

$$I \% = ((A_0 - A_i) / A_0) \times 100$$

Où :

A₀ : est l'absorbance du radical libre en l'absence d'extrait,

A_i : est l'absorbance du mélange (radical + extrait) après 30 minutes d'incubation.

On trace ensuite un graphique du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits. Ce graphique est une droite passant par l'origine (relation linéaire du premier degré).

À partir de ce graphique, on détermine la concentration nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux libres, appelée IC₅₀, pour chaque extrait (capsules, feuilles, graine)

III.6. Les Analyses Chromatographie Liquide à Haute Performance

Cette technique permet d'analyser des substances naturelles non volatiles, sensibles à la chaleur, qui représentent environ 75 % des composés chimiques, ce qui souligne l'importance de cette méthode moderne. Nous avons choisi d'analyser les extraits d'acétate et de n-butanol issus des graines, des feuilles et des capsules.



Photo 07 : Extraits d'échantillons à l'acétate d'éthyle et au n-butanol dans des flacons (A.F.R) (originale)

Tableau 07 : Échantillons et numérotation pour chaque extrait à l'acétate d'éthyle et au n-butanol

	Nombre des l'échantillon	Les extraits
acétate	1	Graine
	2	Capsule
	3	Feuilles
n-butanol	4	Graine
	5	Capsule
	6	Feuilles



Figure 19 : L'appareil de HPLC (originale).



Chapitre IV
Résultats et discussions

I. Rendement de l'extraction éthanolique

Tableau 08: Le rendement chaque extrait de *Gossypium arboreum*

	ther de pétrol	chloroforme	Acétat	n-butanol
Les graines	5.74%	2.96%	1.4%	2.06%
Les feuilles	0.88%	1.88%	2.16%	8.46%
Les capsules	1.92%	5.74%	3.8%	6.2%

Le tableau montre le rendement de l'extraction éthanolique des différentes parties de la plante de coton *Gossypium arboreum* en utilisant quatre solvants organiques. On remarque que le rendement le plus élevé a été enregistré dans l'extrait des feuilles de coton avec le n-butanol (8,46 %), tandis que le rendement le plus faible a été obtenu avec l'éther de pétrole (0,88 %), ce qui indique une sélectivité variable des solvants en fonction de la nature des composés extraits.

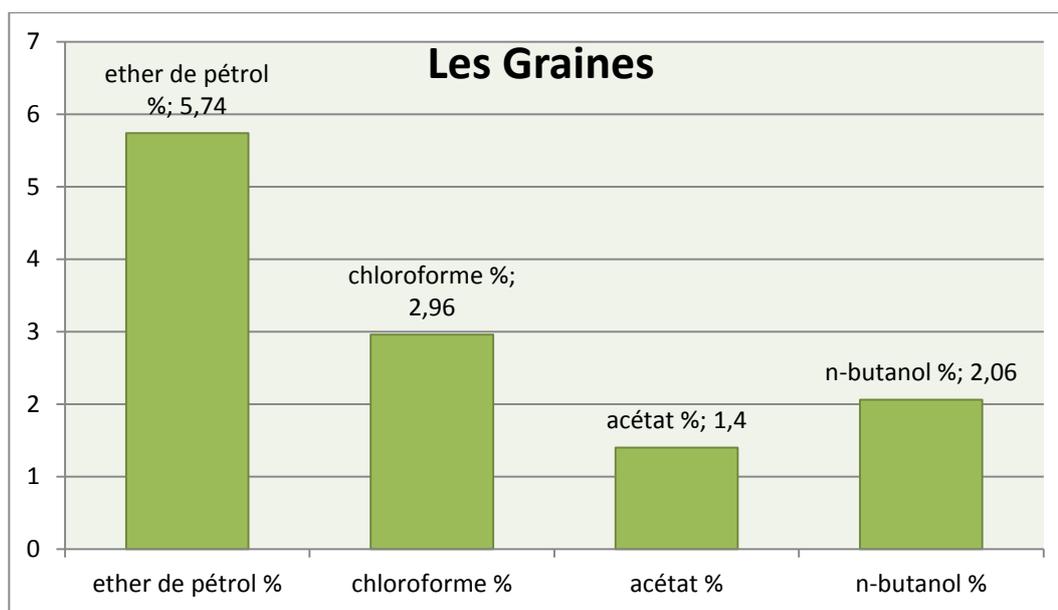


Figure 20 : Histogramme représente le pourcentage de rendement d'extraction des graines *Gossypium arboreum*

✚ Courbe des graines (Graines)

Éther de pétrole : a donné le rendement le plus élevé (5,74 %), ce qui indique que la majorité des composés extraits des graines sont de nature non polaire.

Chloroforme : rendement moyen (2,96 %), révélant la présence de composés semi-polaires.

Acétate d'éthyle : faible rendement (1,4 %), suggérant une faible teneur en composés polaires

modérés.

n-Butanol : rendement relativement bas (2,06 %), ce qui reflète une faible présence de composés polaires solubles dans ce solvant.

Conclusion : Les graines sont riches en composés non polaires.

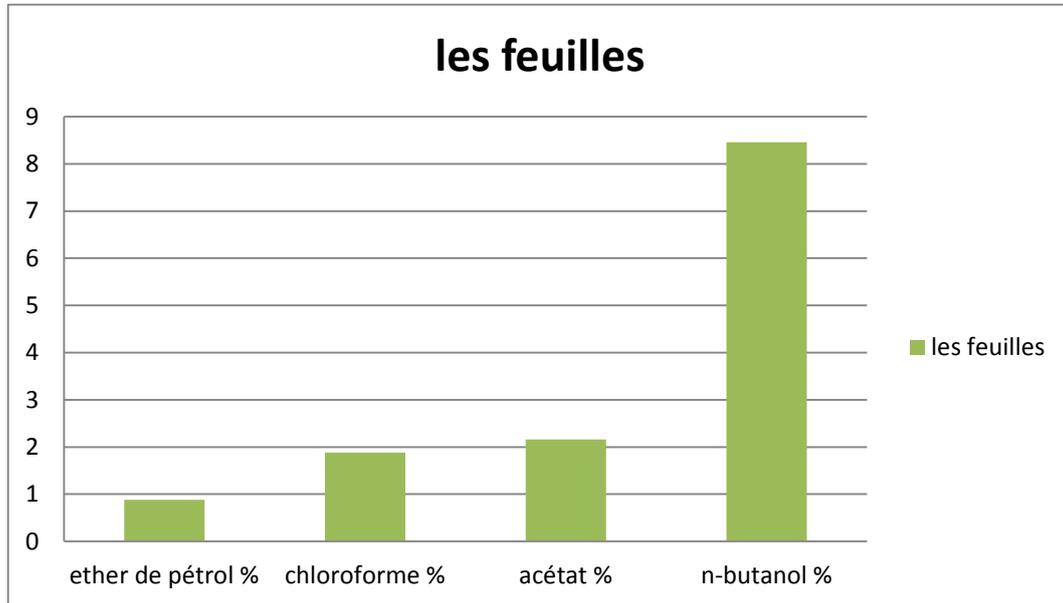


Figure 21 : Histogramme représente pourcentage de rendement d'extraction des feuilles *Gossypium arboreum*

✚ Courbe des feuilles (Feuilles)

Éther de pétrole : rendement le plus bas (0,88 %), révélant une faible teneur en composés non polaires.

Chloroforme : rendement faible (1,88 %), suggérant une faible proportion de composés semi-polaires.

Acétate d'éthyle : rendement correct (2,16 %), montrant la présence de composés polaires modérés.

n-Butanol: rendement le plus élevé (8,46 %), indiquant une forte concentration de composés polaires.

Conclusion : Les feuilles contiennent principalement des composés de nature polaire.

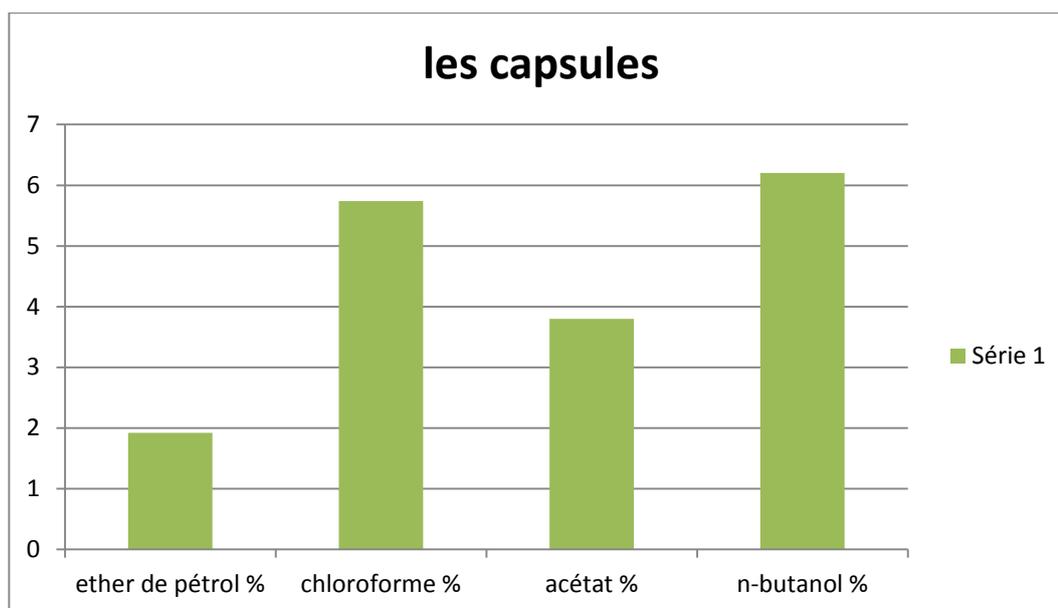


Figure 22 : Histogramme représente le pourcentage de rendement de l'extraction des capsules *Gossypium arboreum*.

Courbe des capsules (Capsules)

Éther de pétrole : rendement le plus faible (1,92 %), ce qui indique une faible concentration en composés non polaires.

Chloroforme : rendement élevé (5,74 %), ce qui révèle une présence importante de composés semi-polaires.

Acétate d'éthyle : rendement modéré (3,8 %), montrant une diversité de composés.

n-Butanol : rendement le plus élevé (6,2 %), indiquant une richesse en composés polaires.

Conclusion : Les capsules présentent une composition équilibrée en composés polaires et semi-polaires, et sont plus riches que les graines dans ce domaine.

II. Activité antibactérien

Nous avons évalué in vitro l'activité antibactérien des extraits des grains, feuilles et capsules de coton par la méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983) sur un milieu gélosé solide. L'efficacité des extraits a été mesurée en fonction du diamètre des zones d'inhibition autour des puits contenant les extraits, testés contre trois microorganismes : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. Le témoin négatif n'a montré aucune activité inhibitrice.

Nous avons évalué in vitro l'activité antibactérienne des extraits de graines. L'analyse a consisté à mesurer le diamètre des zones d'inhibition formées autour des puits contenant les extraits, testés contre quatre souches microbiennes : *Staphylococcus aureus* (Gram positif) et *Escherichia coli* (Gram négatif).

Tableau 09 : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition sont exprimés selon quatre niveaux d'activité [35]

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistant(-)	Diamètre <8mm
Sensible(+)	Diamètre compris entre 9à14mm
Très sensible (++)	Diamètre compris entre 15 et 19mm
Extrêmement sensible (+++)	Diamètre > 20mm

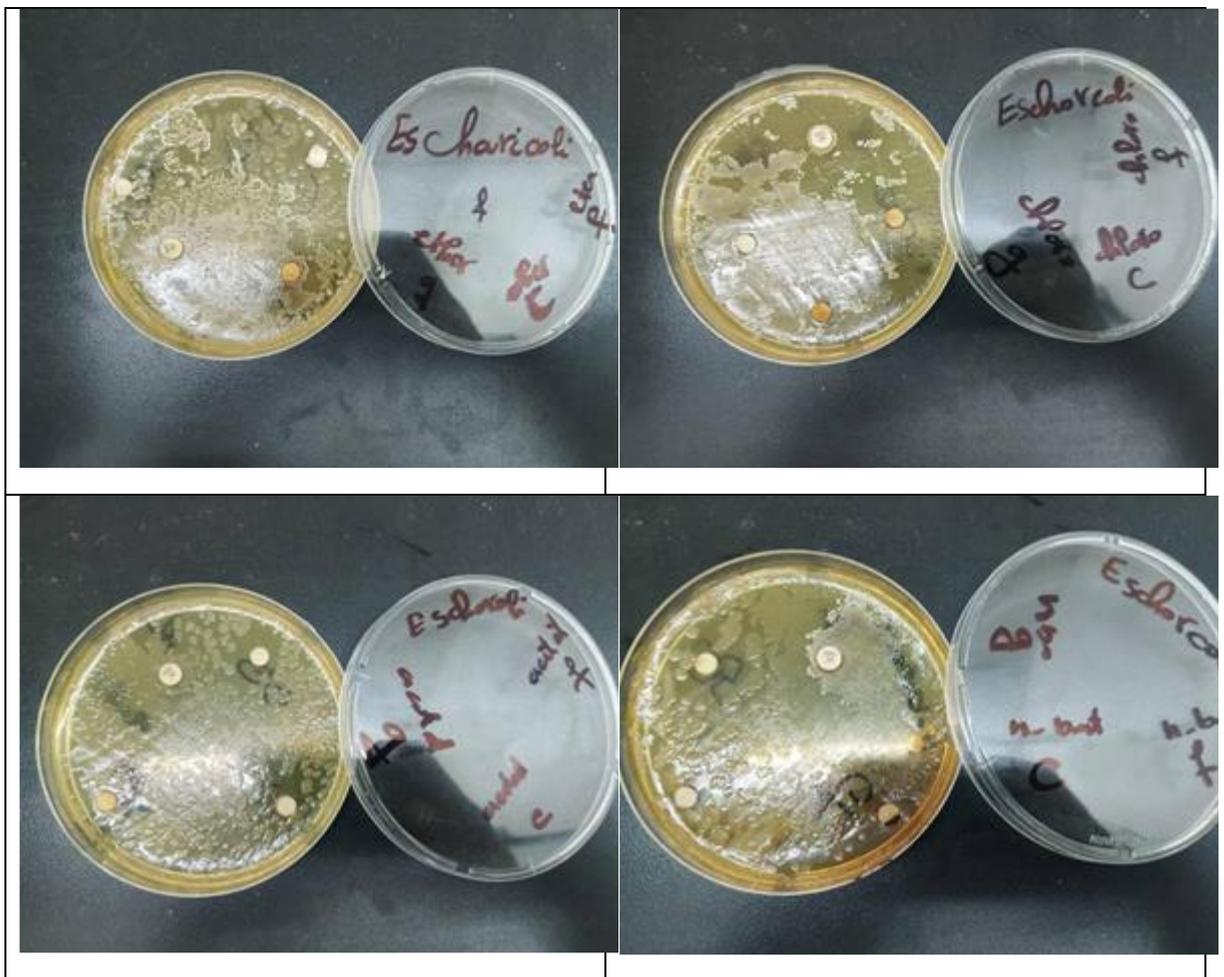


Figure 23 : Résultats du test antibactérien avec différents extraits sur la bactérie E. coli (originale)

Tableaux10 : Mesures du diamètre des zones d'inhibition des disques imprégnés d'extrait, testés sur la bactérie Escherichia coli

	Feuilles	Capsule	Grains	Amoxiciline
Ether de pétrol	N	P	P	N
Calcule	0	2.4	2.7	0
Cloroforme	P	P	N	P
Calcule	2.3	1	0	0.3
Acétat	P	P	P	P
Calcule	2.9	3.2	2	0.3
n-butanol	P	P	P	P
Calculeo	2.9	2.5	3.5	0.5

Les extraits de *Gossypium arboreum* montrent une activité antibactérienne contre *E. coli* à des degrés variables selon le type de solvant et la partie végétale utilisée. L'extrait au n-butanol s'est révélé le plus efficace, notamment avec les graines, suivi par l'acétate. En revanche, le chloroforme et l'éther de pétrole ont montré une activité limitée. Les extraits naturels ont surpassé l'amoxicilline, ce qui indique leur potentiel contre les bactéries résistantes.

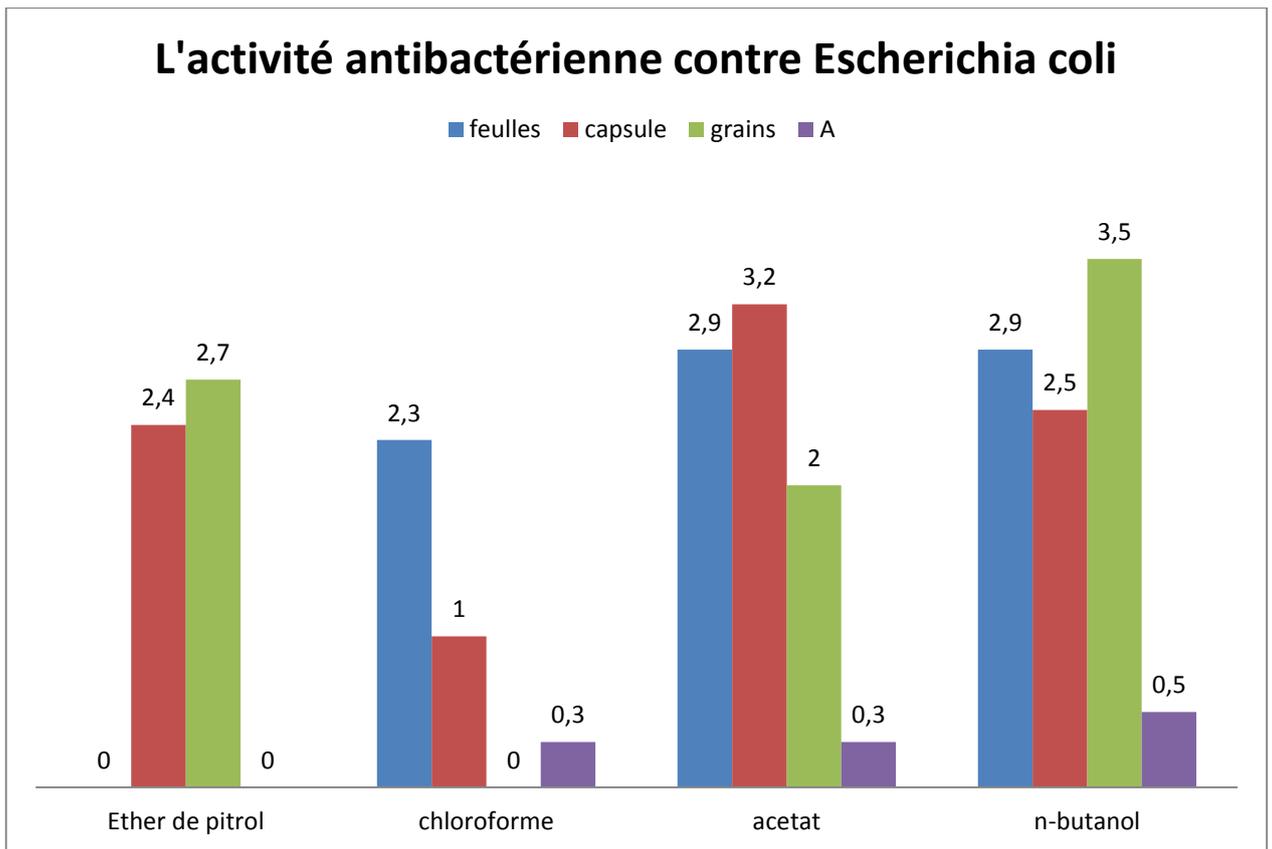


Figure24 : Diamètre des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits préparés sur E. coli

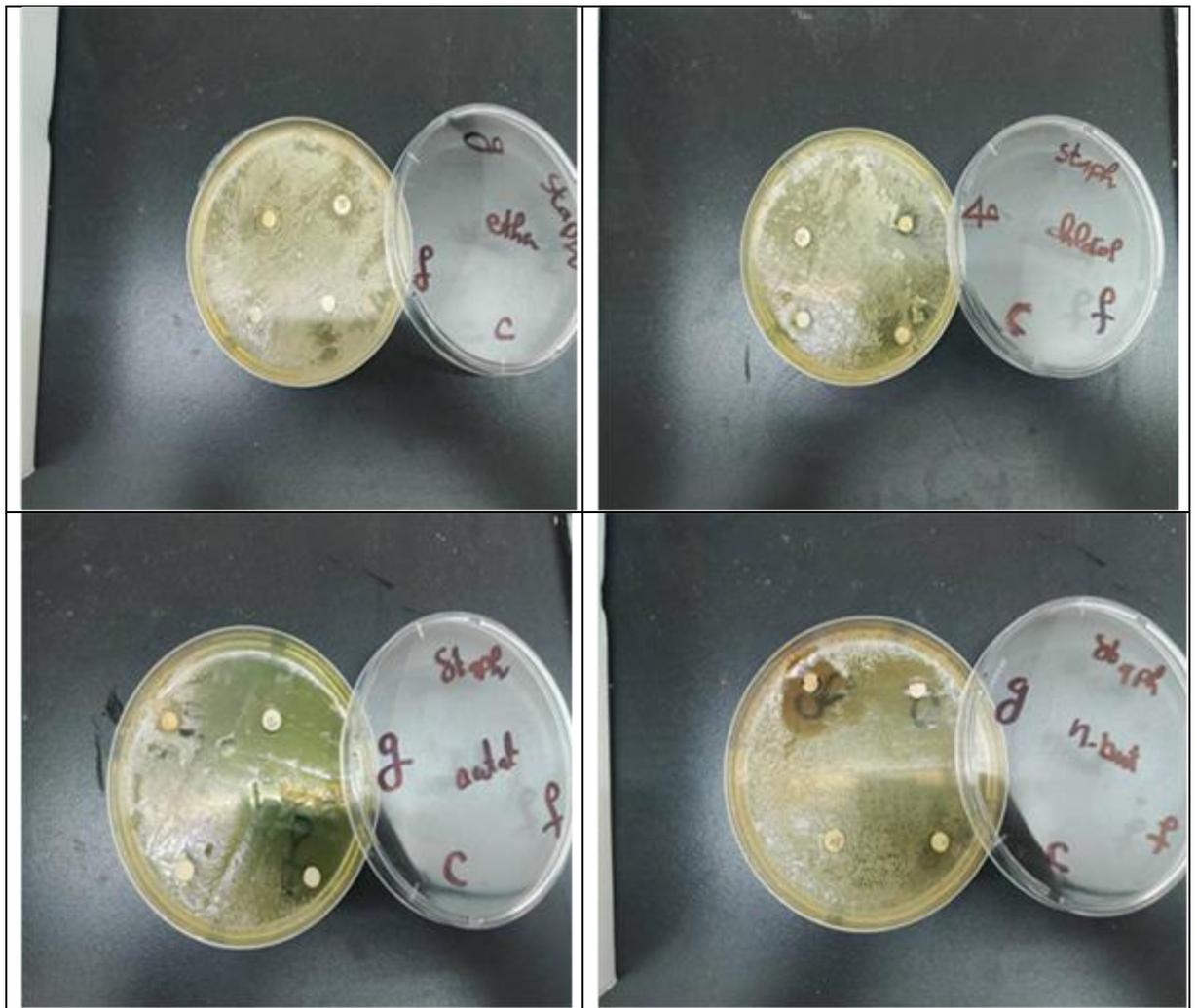


Figure 25: Résultats du test antibactérien avec différents extraits sur la bactérie *Staphylococcus aureus* (originale)

Tableau 11 : Mesures du diamètre des zones d'inhibition des disques imprégnés d'extrait, testés sur la bactérie *Staphylococcus aureus*

	feuilles	capsule	Graine	Amoxiciline
Ether de pétrol	N	p	P	P
Calcule	0	0.3	1.6	0.3
Cloroforme	P	n	P	P
Calcule	2	0	1.6	1.6
Acétat	P	p	P	P
Calcule	1.2	1.7	3.1	0.7
n-butanol	P	p	N	N

Calcule	4.5	3.2	0	0
---------	-----	-----	---	---

Les feuilles et les capsules se sont révélées plus efficaces que les graines en termes d'activité antibactérienne. Parmi les solvants utilisés, l'acétate d'éthyle et le n-butanol ont permis d'obtenir les extraits les plus actifs. Il est particulièrement remarquable que certains extraits, notamment celui à l'acétate d'éthyle issu des feuilles, aient surpassé l'amoxicilline en termes d'efficacité contre les souches bactériennes testées.

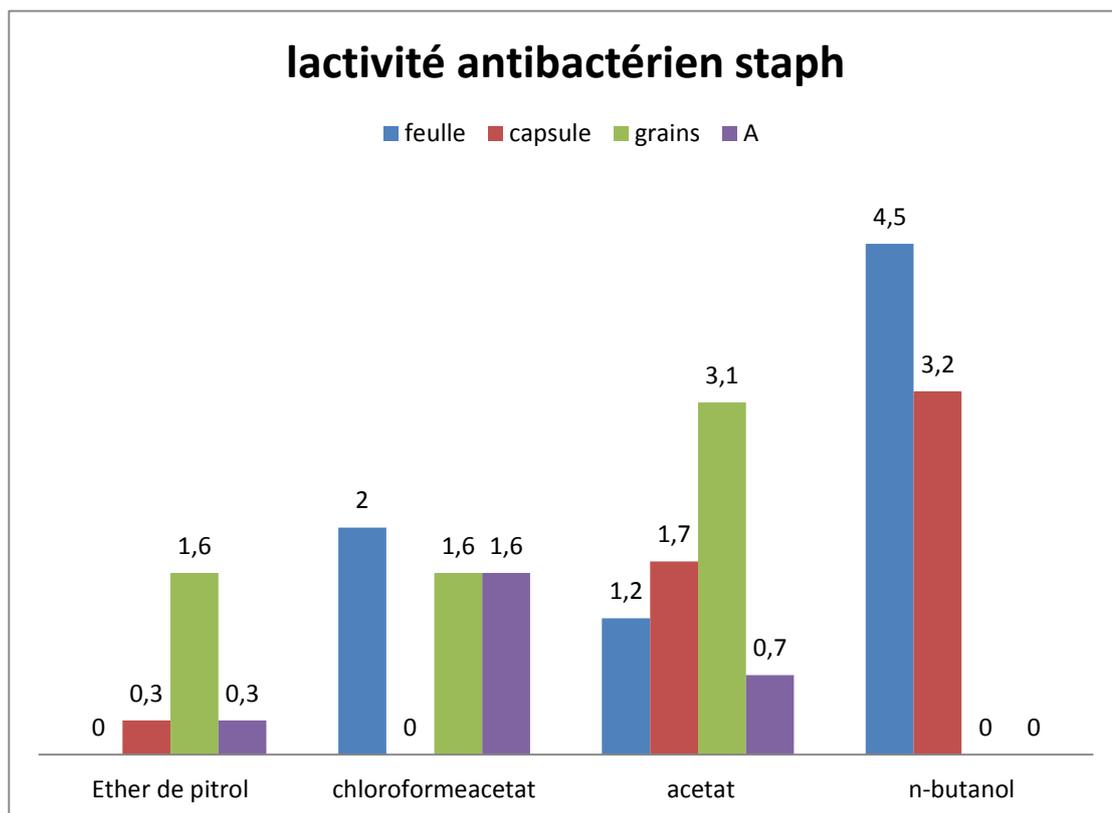


Figure 26 : Diamètre des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des extraits préparés contre *Staphylococcus aureus*

II.1. Discussion *Escherichia coli*

L'analyse du premier tableau révèle des sensibilités et des résistances variables de la souche d'*Escherichia coli* testée en fonction des différents solvants d'extraction utilisés : l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate et le n-butanol, ainsi que des parties de la plante étudiées (feuilles, capsule et graines).

On observe une absence d'activité inhibitrice de l'Amoxicilline, indiquant une résistance de la bactérie à cet antibiotique, quelle que soit la partie de la plante ou le solvant utilisé pour obtenir un éventuel extrait (même si aucun extrait n'a montré d'activité contre l'Amoxicilline).

Concernant les extraits de la plante, l'activité antibactérienne semble dépendre à la fois du solvant d'extraction et de la partie de la plante. Certains extraits obtenus avec l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate et le n-butanol présentent une activité inhibitrice positive, tandis que d'autres, obtenus avec les mêmes solvants, n'en présentent pas négative. De plus, l'intensité de l'inhibition (suggérée par les valeurs numériques, bien que non explicitées ici) varie considérablement entre les différents extraits actifs.).

II.2. Discussion *Staphylococcus aureus*

Discussion – *Staphylococcus aureus*

Les résultats obtenus montrent que *Staphylococcus aureus*, une bactérie à Gram positif responsable de nombreuses infections cutanées et systémiques, présente une sensibilité variable selon le type d'extrait utilisé. Parmi les extraits testés, celui à l'éthanol a affiché la plus grande zone d'inhibition, indiquant une activité antibactérienne marquée. Cela pourrait s'expliquer par la richesse de cet extrait en composés phénoliques et flavonoïdes, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes.

Le deuxième tableau met en évidence un profil de sensibilité différent pour la souche *Staphylococcus aureus*

En somme, l'activité antibactérienne observée contre *Staphylococcus aureus* met en évidence le potentiel thérapeutique des extraits naturels étudiés, notamment dans le cadre de la recherche de nouvelles alternatives aux antibiotiques classiques face à l'émergence de souches résistantes.

II.3. Analyse comparative et conclusions générales

La comparaison des deux tableaux met en lumière une spécificité de l'activité antibactérienne des extraits de la plante en fonction de l'espèce bactérienne. *Escherichia coli* testée est résistante à l'*Amoxicilline*, tandis que le *Staphylococcus aureus* y est sensible.

De plus, l'efficacité des extraits de la plante contre chaque bactérie est influencée par le solvant utilisé pour l'extraction (éther de pétrole, chloroforme, acétate, n-butanol), suggérant que différents composés bioactifs ayant des polarités variables sont extraits par chaque solvant. La partie de la plante utilisée comme source d'extraction joue également un rôle crucial dans l'activité observée, indiquant une distribution hétérogène des composés actifs au sein de la plante.

III. Activité antioxydant

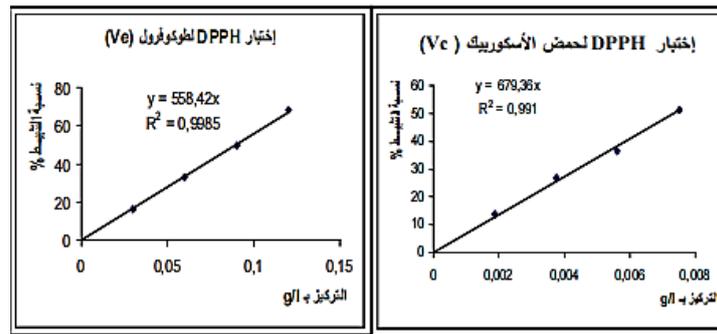


Figure 27 : Courbes standard pour le test DPPH de l'acide ascorbique et du tocophérol [37]

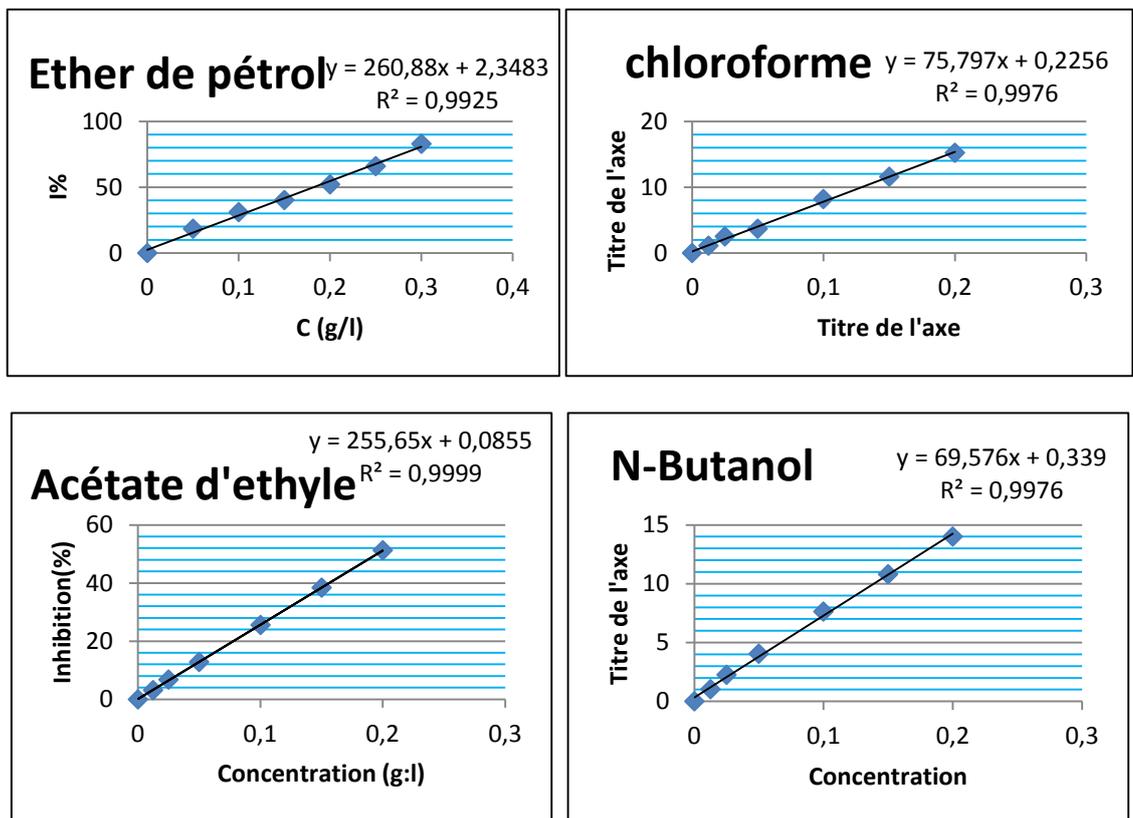


Figure 28: Courbes de test DPPH pour les extraits de graines

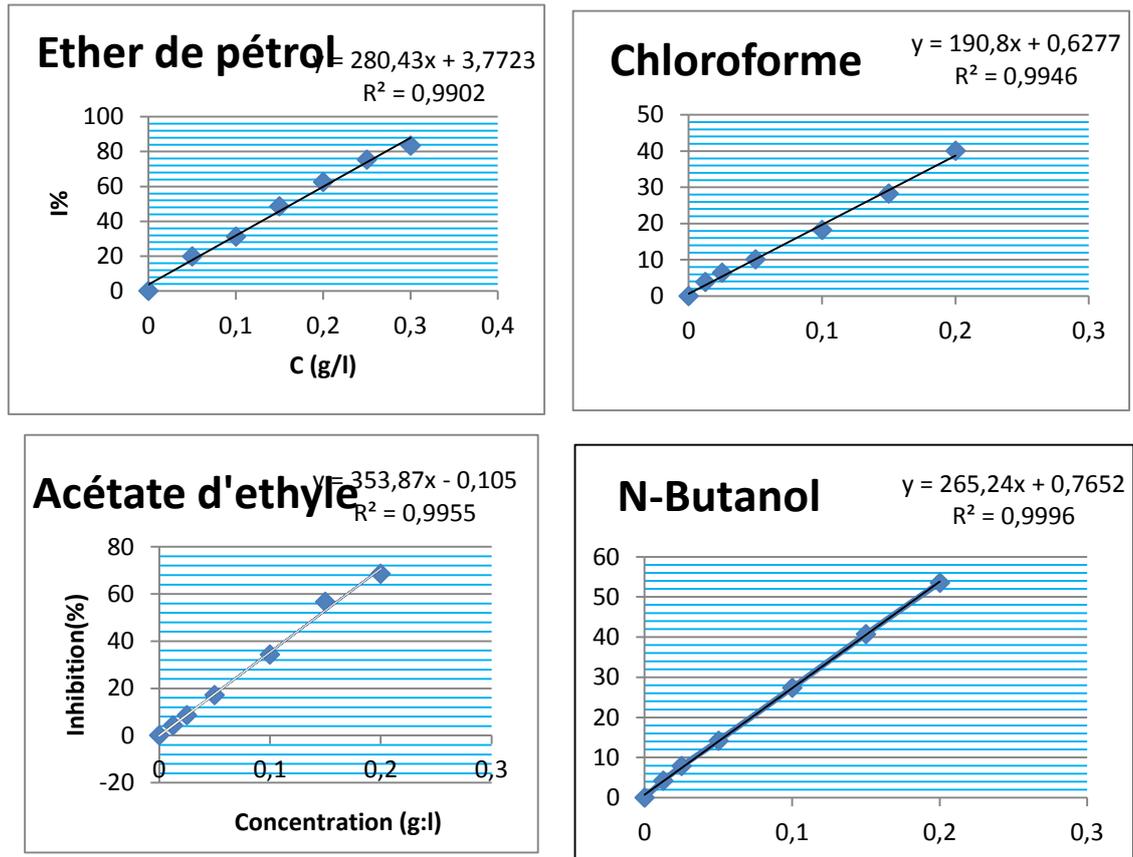


Figure29 : Courbes du test DPPH pour les extraits de feuilles

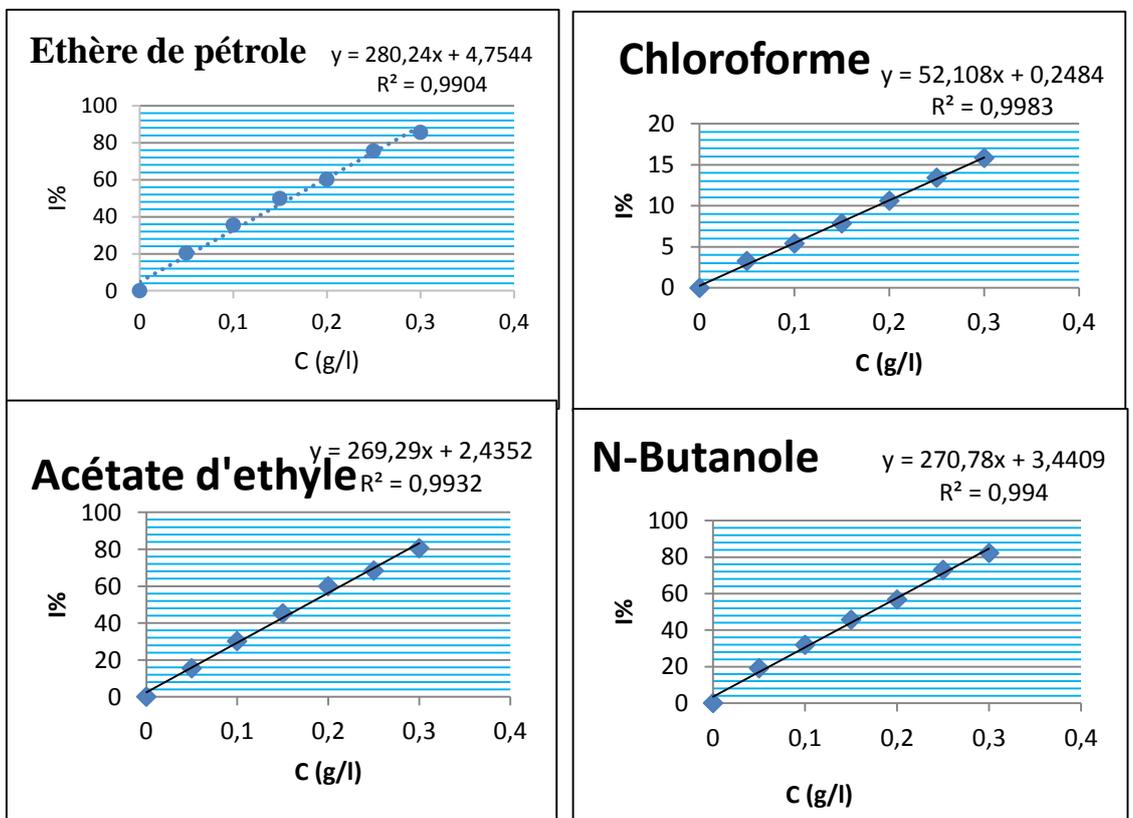


Figure30 : Courbes de test DPPH pour les extraits de capsule

À partir des courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration pour les extraits des racines, des feuilles et des capsules de la plante de coton, comparés aux références d'ascorbate (Vc) et de tocophérol (Ve), nous avons calculé les valeurs de IC50, qui sont les suivantes :

Tablau12 : Résultats des tests DPPH pour l'extrait de graines, l'extrait de feuilles, les capsules et les composés standardisés (VE et VC)

BUTANOL	ACETAT	Chloroforme	Ether de pétrole	Ve	Vc	extrait	
0,713	0,195	0,656	0,182657544	0,015	0,01	capsule	IC50
0,188	0,141	0,262	0,164845773			feuilles	
0,171944383	0,176630398	0,954778537	0,16145304			Graine	

Capsule

Les capsules montrent la valeur d'extraction la plus élevée avec le chloroforme (0,9547), surpassant largement toutes les autres fractions et les deux références. Cela indique que les capsules sont particulièrement riches en composés extractibles, bien au-delà du tocophérol et de l'acide ascorbique.

Feuille

Le meilleur rendement d'extraction est observé avec le chloroforme (0,262). Bien que les valeurs soient inférieures à celles des graines et des capsules, elles restent supérieures aux références Ve et Vc, ce qui montre la présence de composés actifs en quantités appréciables dans les feuilles.

Graine

L'extraction la plus efficace est obtenue avec le butanol (0,713), suivie du chloroforme (0,656). Ces valeurs sont nettement supérieures à celles des références Ve (0,015) et Vc (0,01), indiquant une richesse des graines en composés extractibles, bien au-delà de la teneur en tocophérol et en acide ascorbique.

Les trois parties de la plante — les graines, les feuilles et les capsules — présentent des capacités d'extraction supérieures à celles des références VE et VC. La meilleure extraction a été obtenue avec le méthanol pour les capsules et le chloroforme pour les feuilles. Cela indique

que ces parties contiennent d'autres composés bioactifs importants. Par ailleurs, le choix du solvant joue un rôle crucial dans l'efficacité de l'extraction.

IV. Les Analyses chromatographie liquide à haute performance

❖ Remarque

Tableau13: Temps de rétention des composés cibles.

Composé	Échantillon(s)	Tr (min)
Rutine	6	13.426
	4	13.087
	3	14.263
	2	14.275
Acide gallique	2	2.600
	5	2.612
	4	2.583

➤ Commentaire

Les temps de rétention observés sont cohérents avec la littérature pour la rutine (13–14.3 min) et l'acide gallique (2.58–2.61 min) sur colonne C18.

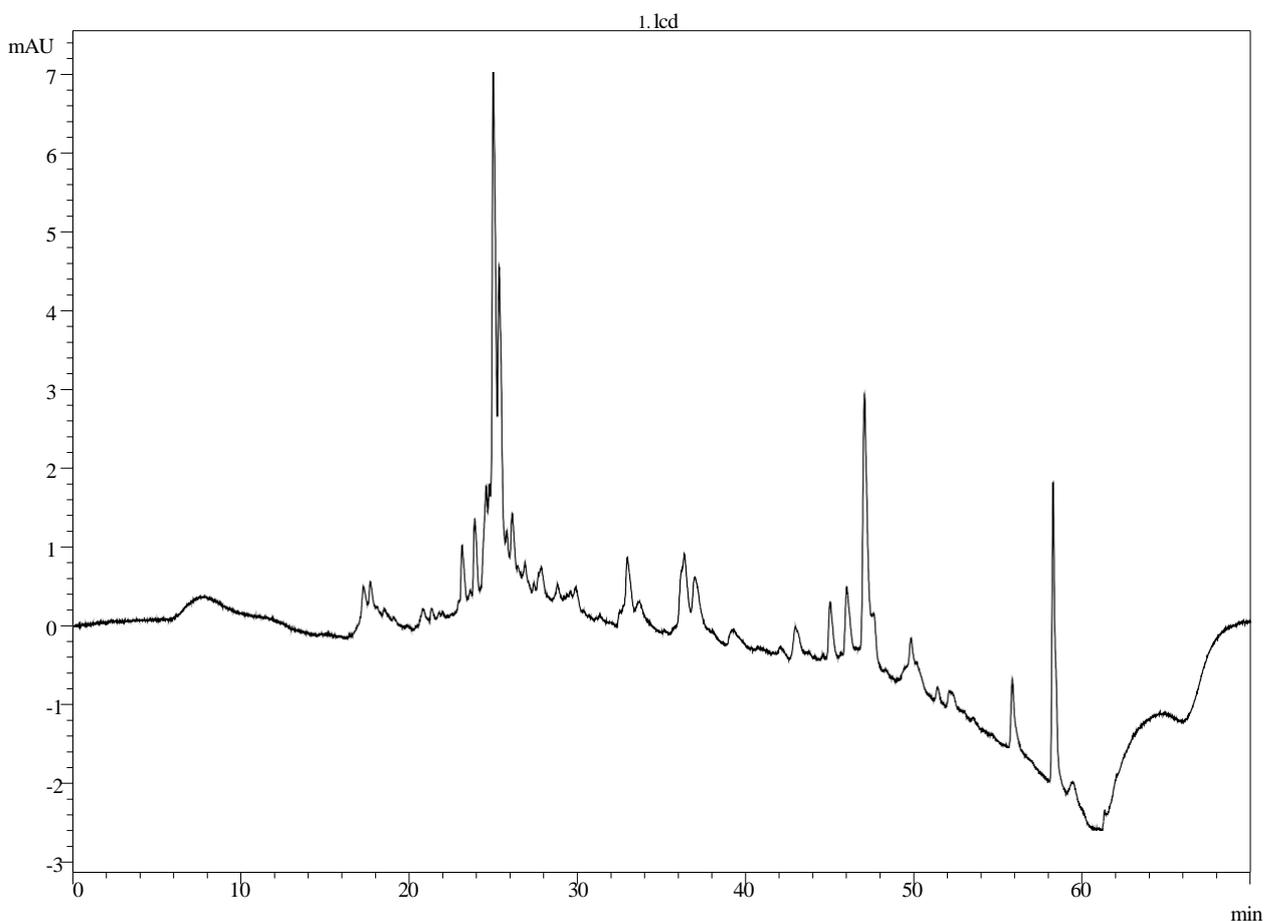


Figure 31 : Chromatogramme de l'extrait d'acétate d'éthyle des graines

Dans l'extrait acétate des graines, on observe plusieurs pics, ce qui indique qu'il est riche en composés dont nous ne possédons pas d'informations en raison de l'absence de références. On remarque également qu'il ne contient ni acide gallique ni rutine.

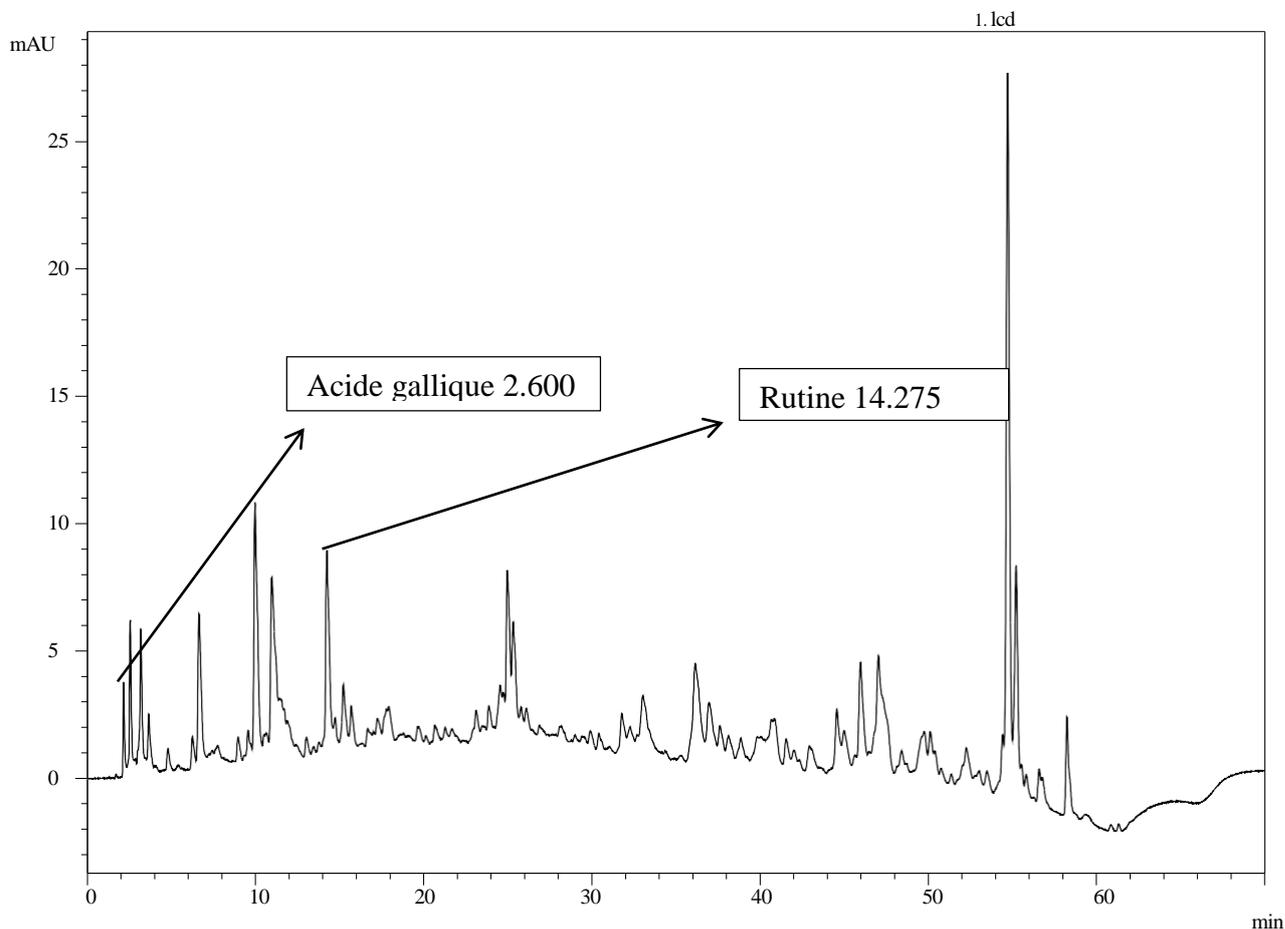


Figure 32 : Chromatogramme de l'extrait d'acétate d'éthyle des capsules

Le pic à un temps de rétention de 2,600 minutes correspond à l'acide gallique. Cela indique que ce composé est présent dans l'échantillon analysé, et il a été détecté très tôt, ce qui suggère qu'il est relativement polaire.

Un autre pic important apparaît à un temps de rétention de 14,275 minutes, correspondant à la rutine. Ce composé est donc également présent dans l'échantillon, et son temps de rétention plus élevé indique qu'il est moins polaire que l'acide gallique.

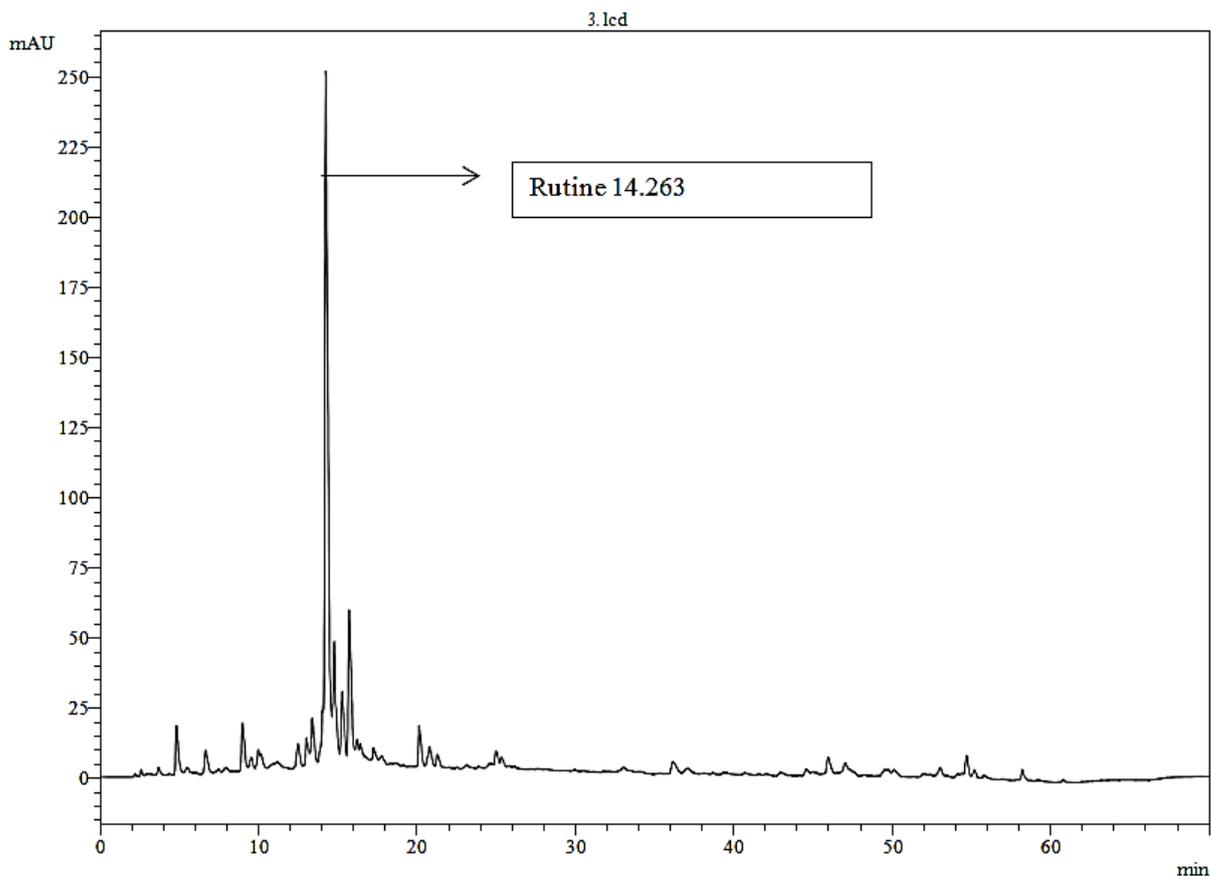


Figure 33 : Chromatogramme de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles

Un pic majeur apparaît à un temps de rétention de 14,263 minutes, identifié comme étant la rutine. Ce pic très élevé indique que la rutine est présente en quantité importante dans l'échantillon.

Plusieurs petits pics sont observés avant et après ce temps de rétention, ce qui montre la présence d'autres composés minoritaires dans l'échantillon.

L'intensité du pic de la rutine, nettement supérieure aux autres, suggère que ce composé est le constituant principal ou l'un des principaux de l'échantillon analysé

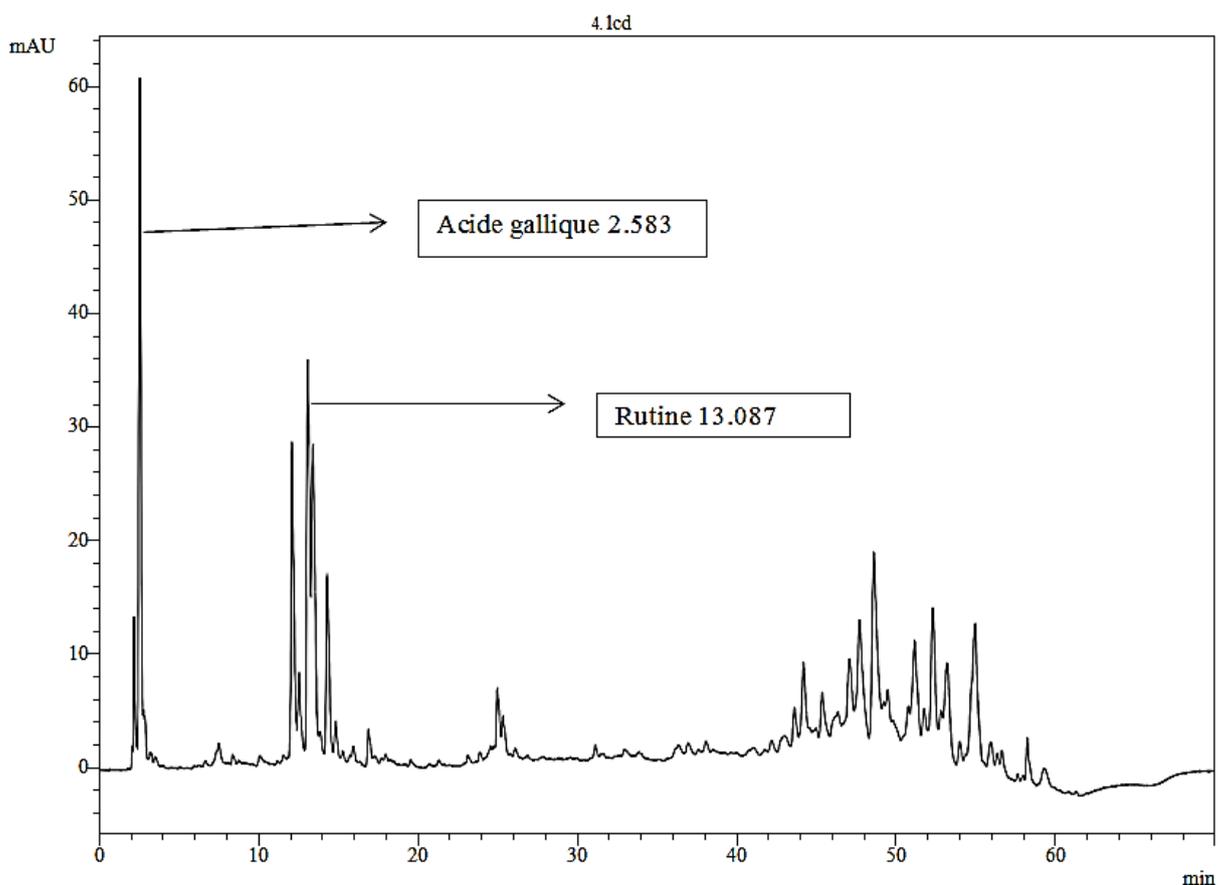


Figure 34 : Chromatogramme de l'extrait de n-butanol des graines

Le premier pic majeur, à un temps de rétention de 2,183 minutes, correspond à l'acide gallique. Cela montre que ce composé est présent dans l'échantillon et qu'il est détecté rapidement, ce qui indique une forte polarité.

Un autre pic important apparaît à 3,087 minutes, identifié comme la rutine. Ce pic est également bien marqué, ce qui signifie que la rutine est présente en quantité notable.

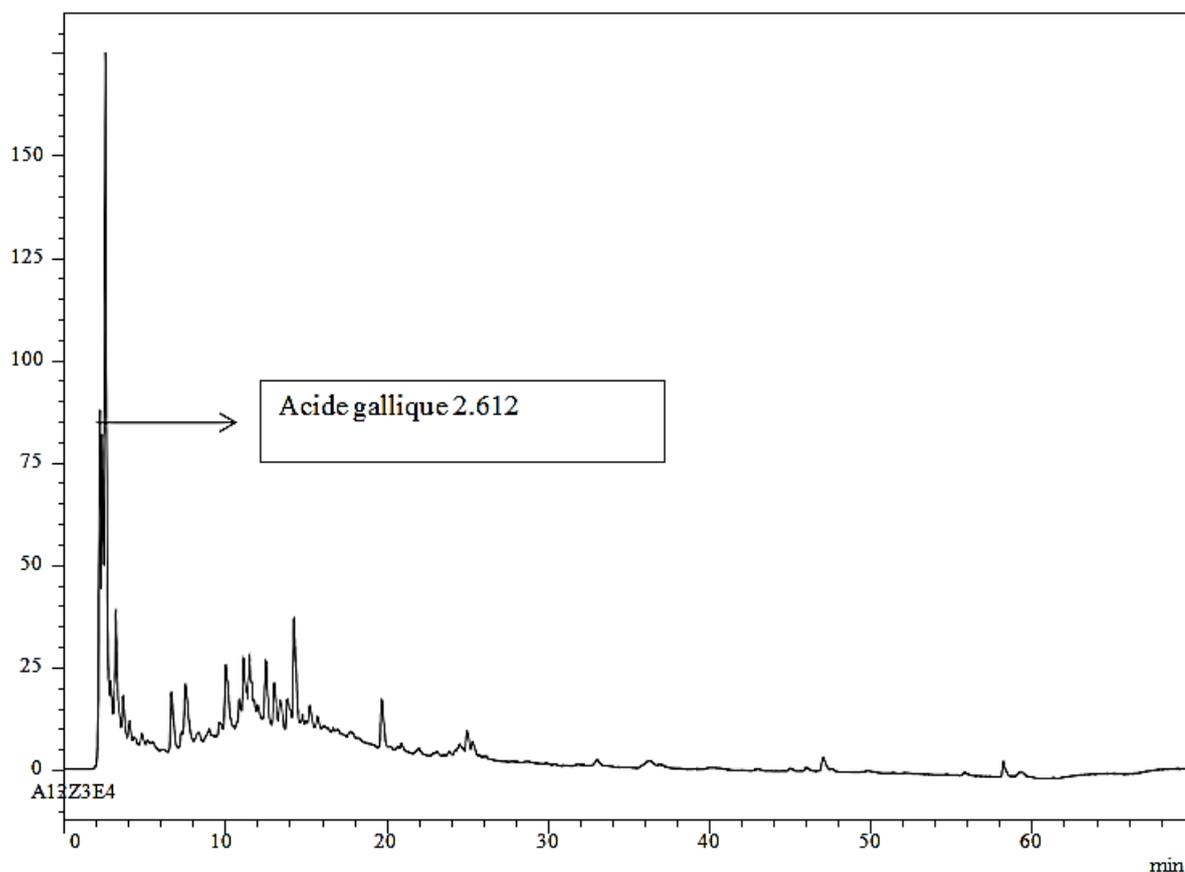


Figure 35 : Chromatogramme de l'extrait de n-butanol des capsules

Le premier pic majeur, à un temps de rétention de 2,183 minutes, correspond à l'acide gallique. Cela montre que ce composé est présent dans l'échantillon et qu'il est détecté rapidement, ce qui indique une forte polarité.

Un autre pic important apparaît à 3,087 minutes, identifié comme la rutine. Ce pic est également bien marqué, ce qui signifie que la rutine est présente en quantité notable.

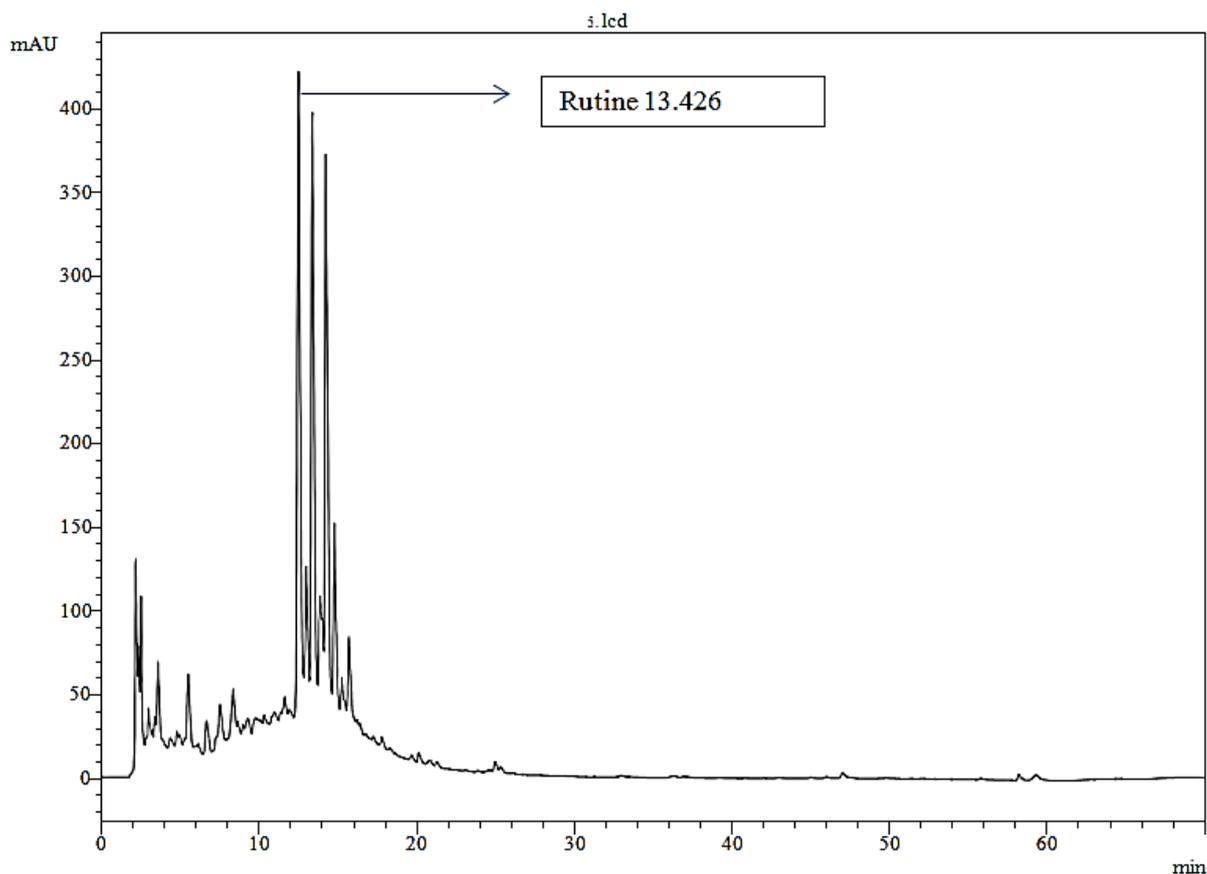


Figure 36 : Chromatogramme de l'extrait de n-butanol des feuilles

Un pic majeur apparaît à un temps de rétention de 14,263 minutes, identifié comme étant la rutine. Ce pic très élevé indique que la rutine est présente en quantité importante dans l'échantillon.

Plusieurs petits pics sont observés avant et après ce temps de rétention, ce qui montre la présence d'autres composés minoritaires dans l'échantillon.

L'intensité du pic de la rutine, nettement supérieure aux autres, suggère que ce composé est le constituant principal ou l'un des principaux de l'échantillon analysé.

À partir des résultats obtenus par l'analyse qualitative des extraits alcooliques de la plante *Gossypium arboreum* réalisée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et représentée par les chromatogrammes, nous avons pu déterminer le nombre de composés présents dans chaque extrait, identifiés par les pics (peaks). Cette identification s'est faite en comparant les temps de rétention (temps de rétention des pics) des composés détectés avec ceux des composés standards.

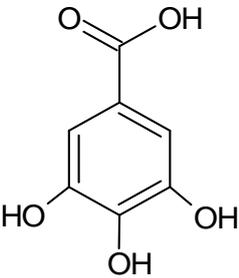
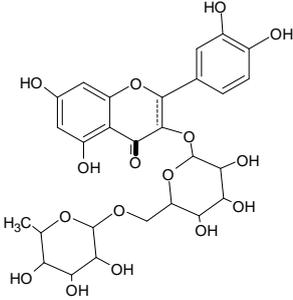
Ainsi, il est possible de comparer chaque extrait en fonction des types de composés connus qu'il contient ainsi que de leur concentration relative dans l'extrait. Il convient de noter que le nombre total de composés phénoliques et flavonoïdes standards utilisés dans cette expérience est de 15, parmi lesquels figurent l'acide gallique et la rutine, qui ont été détectés dans les

résultats obtenus.

V. Analyse chromatographique détaillée des composés rutine et acide gallique

L'analyse par HPLC couplée au détecteur PDA permet d'identifier et de quantifier les composés phénoliques et flavonoïdes dans les extraits végétaux. Dans cette étude, la rutine et l'acide gallique ont été recherchés et identifiés dans différents échantillons grâce à leurs temps de rétention et spectres UV caractéristiques.

Tableau 14 : Formules chimiques de l'acide gallique et de la rutine

Les Composés		
Acide Gallique	L'acide gallique (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque) est un composé organique aromatique naturel, un acide phénolique présent dans de nombreuses plantes, notamment dans les noix de galle, le thé vert, le sumac, l'hamamélis, et d'autres	
Rutine	Le rutine est un composé bioflavonoïde naturel, également connu sous le nom de rutinose. Il s'agit d'un glycoside formé par une molécule de quercétine liée à deux sucres, le glucose et le rhamnose. Sa formule chimique est C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆ . Le rutine se trouve dans de nombreuses plantes telles que le sarrasin, les agrumes et les baies. Il est utilisé en médecine pour ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, et pour renforcer les capillaires sanguins. De plus, il aide à améliorer la circulation sanguine et à réduire la perméabilité des capillaires.	

L'analyse chromatographique HPLC des extraits à l'acétate d'éthyle et au n-butanol a révélé une grande diversité de composés phénoliques et flavonoïdes dans les deux extraits, illustrée par la présence de nombreux pics distincts, différant par leurs temps de rétention et leurs surfaces, témoignant ainsi de la variété et de la concentration des molécules extraites.

Dans l'extrait à l'acétate d'éthyle, la distribution des pics est relativement équilibrée, avec plusieurs pics majeurs correspondant à des composés principaux présents à des concentrations élevées. Cette répartition indique une composition chimique variée, englobant des molécules de masses molaires différentes, ce qui traduit la richesse et la diversité de l'extrait. Les composés dominants, révélés par des surfaces de pics importantes, sont susceptibles de posséder une activité biologique notable, notamment des propriétés antioxydantes.

L'extrait au n-butanol présente également un nombre élevé de composés phénoliques et flavonoïdiques, mais avec une distribution des pics différente. Certains pics de grande surface suggèrent la présence de molécules plus solubles dans le n-butanol, reflétant la spécificité de ce solvant pour extraire des composés de polarité différente, souvent plus polaires que ceux extraits par l'acétate d'éthyle. De plus, la présence de pics à des temps de rétention plus tardifs indique l'existence de composés plus complexes ou moins polaires.

La comparaison entre les deux extraits met en évidence l'impact du choix du solvant sur la nature et la concentration des composés extraits : le n-butanol favorise l'extraction de molécules plus polaires, tandis que l'acétate d'éthyle extrait préférentiellement des composés de polarité intermédiaire. Cette diversité de profils chromatographiques souligne l'importance de sélectionner le solvant adapté selon les objectifs de recherche et les propriétés recherchées.

Les plantes renferment de nombreux composés possédant une activité antibactérienne, parmi lesquels les composés phénoliques et les flavonoïdes jouent un rôle essentiel. Cette activité antibactérienne s'explique par l'absorption de ces composés par les membranes cellulaires des bactéries. La variation de la sensibilité des différentes souches bactériennes, qu'elles soient à Gram positif ou à Gram négatif, face aux concentrations des extraits est due aux différences dans la structure, la composition et la nature de leur paroi cellulaire. Les résultats obtenus par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) des extraits alcooliques de la plante de coton montrent que la présence des composés phénoliques tels que l'acide ascorbique et l'acide caféique dépend des solvants utilisés, le méthanol favorisant l'extraction de l'acide ascorbique tandis que l'éthanol est plus efficace pour l'acide caféique. De plus, la méthode de macération permet d'obtenir des concentrations plus élevées de ces composés. L'apparition de composés comme l'acide gallique et la rutine dans certains extraits, notamment ceux obtenus avec l'acétate de butyle et le butanol, est attribuée à la fois à la méthode d'extraction et au type de solvant employé. Par ailleurs, une corrélation positive est observée entre la teneur en polyphénols et flavonoïdes des extraits, leur capacité à inhiber le radical libre DPPH ainsi que

leur pouvoir antioxydant total (CAT). Ainsi, l'extrait éthanolique, riche en polyphénols et flavonoïdes, présente la plus forte activité antioxydante. Les flavonoïdes exercent cette activité en cédant des électrons aux radicaux libres, formant ainsi des composés plus stables et moins réactifs, grâce notamment à leurs groupes hydroxyles. Outre leur activité antioxydante, les flavonoïdes possèdent également des propriétés antibactériennes, antivirales, anticancéreuses, antihistaminiques et anti-inflammatoires.

Conclusion générale

Conclusion générale

Cette étude porte sur l'analyse chimique et biologique de parties négligées de la plante de coton *Gossypium arboreum*, à savoir les feuilles, les graines et les capsules, dans le but d'explorer les composés actifs et d'évaluer leur efficacité biologique. La méthode d'extraction adoptée repose sur la macération dans un mélange d'éthanol et d'eau, suivie d'une séparation à l'aide de solvants organiques variés tels que l'acétate d'éthyle, l'éther de pétrole, le chloroforme et le n-butanol. Chaque extraction a été répétée trois fois, à l'exception de celle à l'acétate d'éthyle, réalisée une seule fois. Les extraits obtenus ont ensuite été concentrés sous pression réduite, puis pesés afin d'évaluer le rendement d'extraction.

Les résultats ont montré que le rendement varie en fonction de la partie végétale utilisée et du solvant appliqué, avec des valeurs maximales observées au niveau des graines. Les analyses chromatographiques (HPLC) ont révélé la présence de plusieurs composés, notamment dans l'extrait à l'acétate, mettant en évidence sa richesse chimique, avec la détection de certains composés connus comme l'acide gallique et la rétine.

Sur le plan biologique, l'activité antibactérienne a été évaluée contre la bactérie *E. coli*. L'extrait au n-butanol issu des graines a montré la meilleure activité, suivi de l'extrait à l'acétate, tandis que les extraits au chloroforme et à l'éther de pétrole ont présenté une activité plus faible.

Par ailleurs, des résultats complémentaires ont montré que les trois parties de la plante graines, feuilles et capsules possèdent des capacités d'extraction supérieures à celles des échantillons de référence VE et VC. Les meilleures extractions ont été obtenues avec le méthanol pour les capsules, et le chloroforme pour les feuilles, ce qui indique la présence de composés bioactifs supplémentaires importants. Le choix du solvant s'avère donc déterminant dans l'efficacité de l'extraction.

Ces résultats confirment l'intérêt d'exploiter les parties secondaires et peu valorisées de *Gossypium arboreum* comme source prometteuse de composés bioactifs, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour des applications pharmaceutiques et environnementales.

Références bibliographiques

1	حمرة) 2015 (.) الدراسة الفيتوكيميائية لمستخلصات نبات القطن وفعاليتها" مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماستر اكاديمي ،قسم كيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة
2	[2] KHADI .B.M,SANTHY . V, and Yadav .M.S (2010). Chapter 1Cotton: An Introduction, Cotton, Biotechnology in Agriculture and Forestry 65. U.B. Zehr (ed).
3	ATHAMENA SOUAD (2009). Étude quantitative des flavonides des graines de cuminum et les f ET LES FEUILLES DE Rosmarinus officinalis et l'évaluation de l'activité biologique thème de magister .université de Batna.
4	TAMERT ASMA (2016). Labiées des monts de Tessala (wilaya de Sidi Bel abbés): histologie et phytochimie. Doctorat en sciences de l'environnement. Université de Sidi Bel abbés.
5	Economic plant of India. 1989. Vishnu saran Agraw
6	س قرح، ح حمرة(1115)." الدراسة الفيتوكيميائية لمستخلصات نبات القطن وفعاليتها" مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماستر اكاديمي ،قسم كيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة
7	James MCD, Stewart derrick M, osterhuis James. physiology of cotton
8	شكري إبراهيم سعد، "النباتات الزهرية (نشأتها- تطورها-تصنيفها)" . دار الفكر العربي. الطبعة الأولى. 1994
9	عبد الباسط، "موسوعة الأم للعلاج بالنباتات والأعشاب الطبية". دار ألفا للنشر والتوزيع. الطبعة الرابعة
10	م، حايك، . "موسوعة النباتات الطبية". مكتبة ناشرون. الطبعة الأولى. لبنان. 1998

11	ف، ع الفيشاوى، " بروتينات مغذية من كسب "، قسم علوم وتكنولوجيا الأغذية. كلية الزراعة . جامعة أسيوط مصر 2007.
12	K. Benwqhi; Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante cynodon Dactylon-L chiendent , mémoire de magister. Université de Ouargla, pp 15 – 17.
13	N. CHAOUCH ; (2001), Etude des Alcaloïdes dans le coloquinte colocynthis vulgaris (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (wilaya de Ouargla), mémoire de magister ; Université de Ouargla
14	Ammad abbas. Mehbob. u. rahman. 2015 characterization of indigenous gossypium arborum L genotypes for various fiber quality traits
15	directorate plant production .2016.cotton production gurdel
16	MEUHRCI LES ANTIOXYDANTS, https://www.les2vaches.com/c-est-quoi-les-antioxydants/ .
17	Hamidi Fatima & Limam Fadila, « ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET POUVOIR ANTIOXYDANT DE L'ECORCE D'ORANGE ET CITRON », Université Abdelhamid Ibn Badis -Mostaganem-, 2018.
18	BOUGHELLOUT MANEL & AMARA TAKOUA, «les effets protecteur de plantes contre le stress oxydant », Université des Frères Mentouri -Constantine-, 2015.
19	BenouradDjamila , « Influence de différentes méthodes d'extraction sur le rendement, la composition chimique et l'activité antioxydante des extraits de zingiber officinale (Formes fraîche & sèche) », Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 2018.
20	GHARBI Safa & ZEGHIB Khaoula, « L'effet de l'Aquilaria malaccensis et l'Aristolochia longa sur la toxicité de plomb chez les rattes Wistar », Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED, 2016.

21	Nour Elhouda BEZZIOU & Selma ATHMANI, « Etude de l'effet hépato-préventif de l'extrait aqueux d'Astragalus gombiformis Pomel. contre la toxicité induite par la Doxorubicine », Université Mohamed Khider de Biskra, 2019.
22	NICOLAS DEMATTEO, Vitamine pour grossir rapidement : que trouver en pharmacie pour les adultes, 1 JANVIER 2023, https://prise-de-masse-rapide.fr/vitamine-pour-grossir-rapidement-pharmacie-pour-adultes/ .
23	Vitamines hydrosolubles, https://elearn.univoran1.dz/pluginfile.php/53972/course/overviewfiles/vitamines%20hydrosolubles.docx?forcedownload=1 .
24	vitamine C ; https://fr.freepik.com/search?format=search&query=vitamine %20E&type =vector .
25	BADAOUI Warda & BARCHI Yasma, « Analyse physicochimique et propriétés antioxydantes de jus de fruits (orange, citrons et cocktail) », Université Mohamed El -Bachir El Ibrahim BAA, 2019.
26	Ousmer Lila & TAHRI Safia, «évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénolique de citrus sinensis et citrus aurantim », Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 2017.
27	Said Asma et Djouadi Djihane, « Effets des solvants d'extraction sur la composition chimique de deux fruits de l'hiver : Citrus sinensis et Citrus limon », Université Mohamed Khider de Biskra, 2021.
28	KHALFA Raounek & HAMROUCHE Nour El Imen, « Etude des résidus d'orange (écorce) par la combinaison de deux approches, chimique et biologique », Mentouri Constantine 1, 2021.

29	<p>ABAYAHIA Wahiba & KAIBOU Assia</p> <p>« Etude de l'activité antioxydant des extraits de quelques variétés de figues d'Algérie », Université de Ghardaïa, 2022.</p>
30	<p>HACHEMAOUI Kamila & OUMBICHE Nadia « Activités antioxydant et antibactérienne des polyphenols reticulata blanco (mandarine)»Université Abderrahmane Mira– Bejaia-,2013.</p>
31	<p>Mohammed Doudou & Omar Foutia, « Extraction des flavonoïdes et Evaluation de l'efficacité antioxydant de la plante Lobularia Maritima .L.(Desv) », Université Kasdi Merbah – OUARGLA-, 2020.</p>
32	<p>Labani, « chapitre 4: Composés phénoliques », Cour Biochimie végétale, 2022.</p>
33	<p>« Tanin » , publiée le 18/08/2009, https://www.aquaportail.com/definition-5295-tanin.html.</p>
34	<p>Moufida RIRA, « Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical », ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ – AGRONOMIE – ENVIRONN.</p>
35	<p>PONCE A.G; FRITZ .R; DEL VALLE . C; et ROURA .S.I(2013). Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic swiss chard. Society of food science and technology (Elsevier). 36: 679-984, 2003</p>
36	<p>https://images.app.goo.gl/1wsevZU5rdLReQa6A</p>
37	<p>مذكرة دكتوراه بن عشورة صبرينة البتول فاعلية المضادات الألكسدة الزيوت الطيارة</p>
38	<p>Smith, C. W., & Cothren, J. T. (1999). Cotton: Origin, History, Technology,</p>

	and Production. John Wiley & Sons.
39	Cotton Incorporated. (2023). Cotton Market and Consumer Insights Report.
40	USDA (United States Department of Agriculture). (2022). Cotton: World Markets and Trade
41	Wendel, J. F., & Cronn, R. C. (2003). Polyploidy and the evolutionary history of cotton. In <i>Advances in Agronomy</i> (Vol. 78, pp. 139-186). Academic Press.
42	FAO. (2019). Cotton production and trade in developing countries. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
43	ICAC (International Cotton Advisory Committee). (2021). World Cotton Production and Consumption Trends.
44	Rahim O., GUERRAH S., HAMRA H et ALLAOUI M (2015). Contribution a l'étude des extraits de graines de <i>Gossypium arboreum</i> et leur effet antimicrobien sur certaines bactéries pathogènes. <i>Revue des BioRessources</i> . Vol 5 N° 1.
45	د.نغموش نصر صالح، تحضير مجموعة من المبيدات ذات السلسل الكربونية الطويلة في وسط عضوي،(مذكرة نيل شهادة التعليم الثانوي) المدرسة العليا لألساتذة القبة
46	SAFFIDINE KARIMA (2015).Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de <i>Carthamus caeruleus</i> L. et de <i>Plantago major</i> L. thèse de doctorat en microbiologie. universite Ferhat Abbas 1.p43.
47	M. V. Budahegyi, E. R. Lombosi, T. S. Lombosi, S. Y. Meszaros, S. Nyiredy, G.

	Tarjan, I. Timar, and J. M. Takacs, J. Chromatogr. 271(3), 213 (1983).]
--	---

Annexes

Annexes



Sample Information

Acquired by Sample Name : Bellaoueur Ibtissem
: 6 echantillons Method Filename Batch Filename : methode.lcm
: Batch.lcb
Injection Volume : 10 uL Date Acquired: 30/04/2025 12:10:47
Data Filename: 1.lcd Processed by : HPLC (SHUMADZU)

Method

<<Data Acquisition>>

LC Stop Time : 70.00 min

PDA Detector Name : PDA PDA Sampling Frequency : 1.5625 Hz PDA Start Time : 0.00 min

PDA End Time : 70.00 min

PDA Time Constant : 0.640 sec

(Low pressure gradient! =)

<<Pump>>

Mode : Low pressure gradient

Pump A : LC-20ADXR

Total Flow : 1.0000 mL/min

B Conc. : 10.0 %

PressMax : 40.0 MPa

PressMin : 0.0 MPa

<<LC Time Program>>

Time	Module	Command	Value	Comment
0.01	Pumps	Solvent B Conc.	10	
0.01	Pumps	Solvent D Conc.	90	
55.00	Pumps	Solvent B Conc.	100	
55.00	Pumps	Solvent D Conc.	0	
60.00	Pumps	Solvent B Conc.	10	
60.00	Pumps	Solvent D Conc.	90	
70.00	Controller	Stop		

<<Autosampler>>

Autosampler Model : SIL-20ACXR Enable Autosampler : Use

<<Oven>>

Oven Model : CTO-20A

Enable Oven : Use

Oven Temperature : 30 C

Maximum Temperature : 90 C

<<PDA>>

PDA Model

: SPD-M20A

Lamp : D2&W

Start Wavelength : 190 nm

End Wavelength : 800 nm

Use Cell Temp. : Use

Annexes

Cell Temp. : 30 C
Slit Width : 1.2 nm
Reference Correction : Not Used
Channel 1 Wavelength : 250 nm
Channel 1 Bandwidth : 4 nm
Channel 1 Output Range : 1.0 AU/V

<<Column Information>> Column Name : Ultra C18 Column ID : 250 x 4.6 mm Particle
Size : 5 um

<<Mobile Phase Name>>

Mobile Phase : B (Acetonitrile)
D (1% Acetic acid/Ultra-pure Water)

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	17.291	7212	427	1.225
2	17.689	5543	400	0.942
3	20.866	2841	163	0.483
4	22.923	1102	134	0.187
5	23.143	11945	834	2.030
6	23.595	3302	227	0.561
7	23.891	16681	1140	2.834
8	24.564	25008	1531	4.249
9	24.766	15400	1548	2.617
10	24.997	100163	6759	17.019
11	25.335	70469	4277	11.973
12	25.802	11631	915	1.976
13	26.118	19609	1124	3.332
14	26.485	6556	422	1.114
15	26.881	9865	476	1.676
16	27.389	1884	186	0.320
17	27.861	8155	367	1.386
18	28.797	2009	165	0.341
19	29.898	3787	230	0.644
20	32.491	3597	159	0.611
21	32.959	13894	758	2.361
22	36.171	7174	703	1.219
23	36.336	17725	914	3.012
24	36.971	16970	629	2.883
25	42.952	8858	379	1.505
26	45.007	12023	720	2.043
27	45.997	14573	839	2.476
28	47.041	61022	3291	10.368
29	47.616	9901	615	1.682
30	49.387	3925	146	0.667
31	49.813	10583	590	1.798
32	50.155	6892	328	1.171
33	51.379	2208	176	0.375
34	52.079	5326	214	0.905
35	55.826	14375	883	2.442

Annexes

36	58.247	51635	3813	8.773
37	59.371	3567	157	0.606
38	61.317	1140	148	0.194
Total		588551	36788	100.000

Annexe1 : Résultats d'analyse HPLC pour l'extrait d'acétate de graines

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	2.208	23993	3695	0.728
2	2.600	49947	6060	1.515
3	2.909	3382	556	0.103
4	3.233	56689	5591	1.719
5	3.520	2697	449	0.082
6	3.703	22104	2143	0.670
7	4.849	9427	856	0.286
8	5.460	2873	222	0.087
9	6.298	15235	1287	0.462
10	6.691	85261	6018	2.585
11	7.253	4474	406	0.136
12	7.471	6052	520	0.184
13	7.804	12500	658	0.379
14	9.005	11342	959	0.344
15	9.365	1985	231	0.060
16	9.603	16211	1198	0.492
17	10.017	150980	10116	4.578
18	10.539	7638	962	0.232
19	10.687	13423	1051	0.407
20	11.016	143399	7119	4.348
21	11.461	39987	2364	1.213
22	11.755	16451	1939	0.499
23	11.932	29607	1469	0.898
24	12.469	9722	497	0.295
25	13.066	9369	755	0.284
26	13.503	3829	329	0.116
27	13.825	6176	464	0.187
28	14.275	121432	7918	3.682
29	14.774	17560	1282	0.532
30	15.266	39733	2509	1.205
31	15.735	22201	1613	0.673
32	16.710	8241	716	0.250
33	16.864	3764	548	0.114
34	17.055	5280	581	0.160
35	17.286	19445	1097	0.590
36	17.826	22846	1450	0.693
37	17.959	23428	1553	0.710
38	18.656	9820	449	0.298
39	18.831	5422	505	0.164
40	19.076	9432	407	0.286
41	19.698	14314	747	0.434
42	20.154	4869	375	0.148

Annexes

43	20.480	1094	138	0.033
44	20.700	14615	775	0.443
45	21.318	11090	663	0.336
46	21.700	11342	617	0.344
47	22.005	4001	328	0.121
48	22.352	3089	169	0.094
49	23.153	26831	1321	0.814
50	23.501	14377	715	0.436
51	23.895	23538	1481	0.714
52	24.224	5766	666	0.175
53	24.572	37127	2290	1.126
54	24.758	19162	1998	0.581
55	25.003	100260	6796	3.040
56	25.341	80061	4757	2.428
57	25.816	21068	1409	0.639
58	26.122	23498	1362	0.713
59	26.507	8483	495	0.257
60	26.902	16627	688	0.504
61	27.403	3621	329	0.110
62	27.660	7611	318	0.231
63	28.202	14749	622	0.447
64	29.004	2653	232	0.080
65	29.436	4095	244	0.124
66	29.930	8050	555	0.244
67	30.442	9721	630	0.295
68	31.070	3795	207	0.115
69	31.801	27714	1558	0.840
70	32.285	23019	1018	0.698
71	32.715	7907	707	0.240
72	33.055	67831	2237	2.057
73	34.389	2256	188	0.068
74	35.267	2791	178	0.085
75	36.163	118633	3849	3.597
76	36.982	64048	2337	1.942
77	37.626	27829	1435	0.844
78	38.126	23083	1040	0.700
79	38.869	21082	983	0.639
80	39.285	2465	217	0.075
81	39.862	20447	1054	0.620
82	40.096	16069	1059	0.487
83	40.691	38905	1750	1.180
84	40.881	30892	1776	0.937
85	41.562	16563	1032	0.502
86	42.019	12512	690	0.379
87	42.357	3972	375	0.120
88	42.952	21874	934	0.663
89	44.128	2151	132	0.065
90	44.577	45661	2508	1.385
91	45.009	37737	1668	1.144

Annexes

92	45.646	9944	718	0.302
93	45.981	83723	4332	2.539
94	46.495	9770	857	0.296
95	47.043	169745	4619	5.147
96	48.160	2507	265	0.076
97	48.417	14076	860	0.427
98	48.736	3302	347	0.100
99	49.764	42715	1582	1.295
100	50.122	25077	1605	0.760
101	50.407	9834	877	0.298
102	50.768	3753	315	0.114
103	51.380	4223	372	0.128
104	51.733	2167	210	0.066
105	52.267	38626	1445	1.171
106	52.757	4401	365	0.133
107	53.022	7626	554	0.231
108	53.491	9896	663	0.300
109	54.422	30745	2317	0.932
110	54.718	376523	28295	11.418
111	55.222	130867	9030	3.968
112	55.536	13295	1265	0.403
113	55.825	11740	909	0.356
114	56.592	14260	1336	0.432
115	56.780	14375	1062	0.436
116	58.242	53835	3876	1.632
117	59.334	9147	282	0.277
118	60.855	3327	256	0.101
119	61.313	2883	297	0.087
120	62.027	1086	60	0.033
Total		3297772	207166	100.000

Annexe02 : Résultats d'analyse HPLC pour l'extrait d'acétate de capsule.

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	2.206	7243	1059	0.069
2	2.598	19161	2410	0.181
3	2.915	7190	923	0.068
4	3.051	3791	706	0.036
5	3.221	10122	798	0.096
6	3.467	1886	246	0.018
7	3.699	31271	2746	0.296
8	4.376	4126	431	0.039
9	4.836	220532	17471	2.089
10	5.509	55618	2636	0.527
11	6.013	11887	766	0.113
12	6.678	129302	8639	1.225
13	7.467	34982	1797	0.331
14	7.926	56734	2369	0.537

Annexes

15	8.413	11884	1006	0.113
16	8.672	11850	930	0.112
17	8.994	256814	17627	2.432
18	9.579	94851	5528	0.898
19	10.010	111269	8503	1.054
20	10.183	98439	6811	0.932
21	10.816	43653	2869	0.413
22	10.981	37050	3417	0.351
23	11.176	111304	4084	1.054
24	11.772	31922	1862	0.302
25	12.043	11238	1392	0.106
26	12.507	190999	10114	1.809
27	13.047	171608	12213	1.625
28	13.412	304961	19352	2.888
29	14.074	257075	23615	2.435
30	14.263	3407688	250264	32.272
31	14.792	649216	45933	6.148
32	15.292	427398	28647	4.048
33	15.735	830274	57629	7.863
34	16.235	131886	11434	1.249
35	16.450	146763	9756	1.390
36	16.715	97841	5288	0.927
37	17.286	181509	8223	1.719
38	17.784	129890	5190	1.230
39	18.318	46959	2500	0.445
40	18.644	34600	2551	0.328
41	18.763	35966	2446	0.341
42	19.159	31805	1799	0.301
43	19.521	29958	1430	0.284
44	19.806	14140	1279	0.134
45	20.164	215825	15698	2.044
46	20.818	151950	8246	1.439
47	21.303	84014	5350	0.796
48	21.696	10976	787	0.104
49	22.071	11374	678	0.108
50	22.524	8995	643	0.085
51	23.162	23907	1274	0.226
52	23.456	4273	405	0.040
53	23.892	9270	867	0.088
54	24.609	24464	1828	0.232
55	24.747	13603	1547	0.129
56	25.007	90518	6331	0.857
57	25.346	62617	4131	0.593
58	25.820	18259	1147	0.173
59	26.115	18630	983	0.176
60	27.196	2387	248	0.023
61	27.669	7185	322	0.068
62	28.227	7796	349	0.074
63	29.368	1402	146	0.013

Annexes

64	29.953	8023	530	0.076
65	30.454	3143	329	0.030
66	30.656	2497	236	0.024
67	31.810	1995	245	0.019
68	33.065	37913	1679	0.359
69	33.476	7914	516	0.075
70	33.968	7751	241	0.073
71	35.373	3226	218	0.031
72	36.179	96455	4300	0.913
73	37.123	53608	1960	0.508
74	38.156	5287	321	0.050
75	38.726	7101	544	0.067
76	39.377	10779	786	0.102
77	39.552	9818	713	0.093
78	39.851	5329	412	0.050
79	40.714	15572	672	0.147
80	41.576	8091	523	0.077
81	42.048	15598	790	0.148
82	42.959	26307	1127	0.249
83	44.185	2648	194	0.025
84	44.597	45538	2416	0.431
85	45.024	18306	1470	0.173
86	45.163	23555	1427	0.223
87	45.660	14490	992	0.137
88	45.986	127067	6771	1.203
89	46.518	13120	1155	0.124
90	47.050	159176	4764	1.507
91	48.181	6164	465	0.058
92	48.416	4122	357	0.039
93	48.733	3207	302	0.030
94	49.090	3746	289	0.035
95	49.567	43547	2471	0.412
96	49.775	36710	2497	0.348
97	50.134	51882	2556	0.491
98	50.768	2977	227	0.028
99	51.388	3977	348	0.038
100	52.019	10402	809	0.099
101	52.440	2499	278	0.024
102	53.071	56115	3257	0.531
103	53.463	10627	681	0.101
104	54.178	21325	1472	0.202
105	54.424	17176	1565	0.163
106	54.725	108640	7875	1.029
107	55.221	37748	2800	0.357
108	55.833	15512	922	0.147
109	56.966	2468	169	0.023
110	57.918	4526	420	0.043
111	58.244	46806	3767	0.443
112	59.201	11749	496	0.111

Annexes

113	60.529	3210	318	0.030
114	60.833	15017	1046	0.142
115	61.292	3425	321	0.032
116	61.984	1540	99	0.015
117	62.571	1606	52	0.015
Total		1055913 0	718862	100.000

Annexe03 : Résultats d'analyse HPLC pour l'extrait d'acétate de feuilles

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	2.209	111650	13439	1.590
2	2.583	626174	60785	8.917
3	2.814	12463	1080	0.177
4	3.210	7809	726	0.111
5	3.551	6634	587	0.094
6	5.973	2272	201	0.032
7	6.262	2401	214	0.034
8	6.666	6009	490	0.086
9	7.526	35784	1866	0.510
10	8.395	9596	883	0.137
11	8.759	3750	388	0.053
12	10.102	15475	871	0.220
13	10.560	3910	252	0.056
14	11.195	2926	291	0.042
15	11.582	13671	844	0.195
16	11.861	4611	723	0.066
17	12.122	360266	28274	5.130
18	12.552	117122	8091	1.668
19	13.087	491961	35681	7.005
20	13.429	451014	28321	6.422
21	13.877	43934	2998	0.626
22	14.320	239422	16564	3.409
23	14.850	56042	3864	0.798
24	15.315	18287	1273	0.260
25	15.747	11139	998	0.159
26	15.956	25298	1725	0.360
27	16.372	4477	408	0.064
28	16.911	43210	3236	0.615
29	17.306	14498	843	0.206
30	17.737	7968	613	0.113
31	17.980	12648	941	0.180
32	18.288	4329	437	0.062
33	18.496	3694	318	0.053
34	19.205	1999	153	0.028
35	19.553	7875	554	0.112
36	20.768	3850	227	0.055
37	21.317	6749	497	0.096
38	22.923	2083	219	0.030

Annexes

39	23.154	13824	918	0.197
40	23.627	4686	315	0.067
41	23.897	15776	1117	0.225
42	24.224	5464	597	0.078
43	24.579	25612	1548	0.365
44	24.772	15648	1559	0.223
45	25.006	95724	6475	1.363
46	25.343	66579	4078	0.948
47	25.830	9996	772	0.142
48	26.120	19906	1206	0.283
49	26.485	3885	359	0.055
50	26.881	10149	489	0.145
51	27.423	1027	116	0.015
52	27.872	5754	277	0.082
53	29.567	2115	177	0.030
54	29.911	3226	183	0.046
55	30.837	2170	189	0.031
56	31.148	16615	1275	0.237
57	31.486	4053	446	0.058
58	31.646	4217	419	0.060
59	32.352	2237	193	0.032
60	32.629	2869	184	0.041
61	32.977	13823	707	0.197
62	33.878	8187	435	0.117
63	35.076	2441	145	0.035
64	35.648	2803	153	0.040
65	36.203	13627	975	0.194
66	36.381	23779	1196	0.339
67	36.970	28605	1304	0.407
68	37.607	8479	579	0.121
69	37.845	2850	386	0.041
70	38.084	20451	1203	0.291
71	38.508	8012	423	0.114
72	39.657	1346	140	0.019
73	41.045	22010	712	0.313
74	41.804	11378	538	0.162
75	42.207	30258	1415	0.431
76	43.008	67019	1876	0.954
77	43.636	83784	4390	1.193
78	44.204	173803	8422	2.475
79	44.587	30809	2687	0.439
80	44.811	24733	2446	0.352
81	45.003	38092	2689	0.542
82	45.379	142708	5863	2.032
83	46.367	151045	4161	2.151
84	47.086	254965	8902	3.631
85	47.720	363158	12388	5.171
86	48.620	454769	18325	6.476
87	49.250	70390	5266	1.002

Annexes

88	49.487	111906	6337	1.594
89	49.809	109167	3692	1.555
90	50.791	113493	4973	1.616
91	51.178	267607	10700	3.811
92	51.777	89942	4791	1.281
93	52.314	286402	13719	4.078
94	52.835	75314	4696	1.072
95	53.213	205030	8923	2.920
96	54.017	28746	2077	0.409
97	54.383	9102	988	0.130
98	54.956	338623	12457	4.822
99	55.952	41953	2332	0.597
100	56.362	20991	1678	0.299
101	56.655	30598	2116	0.436
102	57.642	6292	657	0.090
103	57.965	7101	629	0.101
104	58.244	54895	4031	0.782
105	59.310	40646	1597	0.579
106	60.832	2532	194	0.036
107	61.323	3395	357	0.048
108	61.984	1048	74	0.015
Total		7022643	417510	100.000

Annexe04 : Résultats d'analyse HPLC pour l'extrait n-butanol de graines

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	2.258	746216	87667	4.709
2	2.412	691731	81758	4.365
3	2.612	1524957	174911	9.622
4	2.953	234939	21460	1.482
5	3.251	602837	38460	3.804
6	3.719	263034	17841	1.660
7	4.099	178323	11620	1.125
8	4.365	130570	7666	0.824
9	4.673	50325	6190	0.318
10	4.858	158403	8594	0.999
11	5.216	117906	6834	0.744
12	5.555	172209	6433	1.087
13	6.062	48457	4546	0.306
14	6.203	90284	4545	0.570
15	6.711	349639	18335	2.206
16	7.326	122994	8896	0.776
17	7.566	480881	20199	3.034
18	8.320	130854	8396	0.826
19	8.410	123995	8470	0.782
20	9.034	260397	9485	1.643
21	9.237	64803	7898	0.409
22	9.399	78754	7759	0.497

Annexes

23	9.672	132693	11066	0.837
24	9.767	97654	10787	0.616
25	10.070	570522	24858	3.600
26	10.517	82506	10232	0.521
27	10.907	320205	16675	2.020
28	11.186	451332	26376	2.848
29	11.520	458940	27151	2.896
30	11.812	154455	16292	0.975
31	12.045	254020	15187	1.603
32	12.320	84223	12100	0.531
33	12.543	518570	25789	3.272
34	13.063	357849	20444	2.258
35	13.431	329729	16323	2.081
36	13.893	348997	16505	2.202
37	14.292	645408	36037	4.072
38	14.820	181602	12615	1.146
39	15.031	117925	11211	0.744
40	15.276	313584	14798	1.979
41	15.744	255769	12192	1.614
42	16.134	354655	9888	2.238
43	16.713	118329	9309	0.747
44	17.003	194992	8908	1.230
45	17.274	68868	7763	0.435
46	17.429	89377	7550	0.564
47	17.829	272970	8418	1.722
48	18.260	177379	6813	1.119
49	18.667	50159	5684	0.316
50	18.837	75837	5521	0.479
51	19.072	59117	5244	0.373
52	19.232	83779	4997	0.529
53	19.731	300952	15863	1.899
54	20.282	116268	4610	0.734
55	20.709	68180	4670	0.430
56	20.953	108139	5325	0.682
57	21.301	73355	3308	0.463
58	22.015	177777	3965	1.122
59	22.942	55255	2847	0.349
60	23.141	58094	3179	0.367
61	23.488	47007	2260	0.297
62	23.899	58218	3146	0.367
63	24.571	170530	4963	1.076
64	25.009	127773	8193	0.806
65	25.350	109853	5587	0.693
66	25.809	31576	2125	0.199
67	26.127	39561	2051	0.250
68	26.539	24481	1145	0.154
69	26.901	11097	854	0.070
70	27.115	10233	687	0.065
71	27.403	7702	570	0.049

Annexes

72	27.680	5032	472	0.032
73	27.863	7705	574	0.049
74	28.117	4641	419	0.029
75	28.299	2368	301	0.015
76	28.784	16117	459	0.102
77	29.924	4791	363	0.030
78	30.444	3055	232	0.019
79	31.103	2113	119	0.013
80	31.823	7034	327	0.044
81	32.213	2560	222	0.016
82	32.715	1134	109	0.007
83	33.065	27303	1436	0.172
84	36.192	34715	1625	0.219
85	36.382	40641	1820	0.256
86	36.972	26532	921	0.167
87	42.992	9116	377	0.058
88	45.040	12084	743	0.076
89	46.033	14798	846	0.093
90	47.076	61793	3329	0.390
91	47.659	10409	612	0.066
92	49.837	6098	419	0.038
93	50.197	3998	208	0.025
94	51.402	1921	163	0.012
95	55.844	14797	891	0.093
96	58.257	52449	3798	0.331
97	59.337	31894	1225	0.201
98	61.343	3146	325	0.020
Total		1584824 9	1082375	100.000

Annexe05 : Résultats d'analyse HPLC pour l'extrait n-butanol de capsule.

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	2.236	1151859	129382	2.180
2	2.404	540980	78489	1.024
3	2.579	857378	108207	1.623
4	2.898	233445	23949	0.442
5	3.032	498237	41515	0.943
6	3.294	236431	28219	0.447
7	3.432	313441	35834	0.593
8	3.644	1366604	68130	2.586
9	4.430	583726	23476	1.105
10	4.852	323902	27342	0.613
11	5.024	360985	25325	0.683
12	5.341	223239	23130	0.422
13	5.560	1081168	61392	2.046
14	6.013	211082	18501	0.399
15	6.194	439095	19637	0.831
16	6.724	725126	33035	1.372

Annexes

17	7.339	376501	24216	0.713
18	7.575	1109713	43187	2.100
19	8.417	1325016	52134	2.508
20	8.714	509476	32826	0.964
21	9.045	393813	31214	0.745
22	9.338	821305	35030	1.554
23	9.830	1040006	35361	1.968
24	10.172	317866	33756	0.602
25	10.387	881667	37026	1.668
26	10.869	413404	35879	0.782
27	11.026	839673	38680	1.589
28	11.408	376961	38366	0.713
29	11.688	1012266	47570	1.916
30	11.962	856182	40223	1.620
31	12.541	6397348	421277	12.107
32	13.047	1826746	125806	3.457
33	13.426	5687685	396695	10.764
34	13.937	2094107	107773	3.963
35	14.285	5604107	371766	10.605
36	14.832	2397128	151351	4.536
37	15.311	1217223	58790	2.304
38	15.749	1780499	82077	3.369
39	16.289	396106	34060	0.750
40	16.467	473323	31529	0.896
41	16.766	547903	25766	1.037
42	17.113	202194	22825	0.383
43	17.302	585730	24115	1.108
44	17.841	608704	23567	1.152
45	18.348	1059985	16675	2.006
46	19.733	311461	12798	0.589
47	20.187	333799	14210	0.632
48	20.850	285549	9451	0.540
49	21.326	272113	8527	0.515
50	22.040	108988	4443	0.206
51	22.521	114550	3891	0.217
52	22.976	30131	3384	0.057
53	23.156	129357	3766	0.245
54	23.913	68427	3278	0.129
55	24.260	22384	2537	0.042
56	24.612	69379	3668	0.131
57	24.780	33754	3413	0.064
58	25.027	135317	8400	0.256
59	25.367	107749	5552	0.204
60	25.854	23667	1815	0.045
61	26.138	38307	1915	0.072
62	26.485	18586	1012	0.035
63	26.899	18766	925	0.036
64	27.211	4347	572	0.008
65	27.415	5398	530	0.010

Annexes

66	27.693	17763	587	0.034
67	28.213	2213	218	0.004
68	29.928	2603	204	0.005
69	32.523	1602	132	0.003
70	33.028	19131	866	0.036
71	36.394	26100	956	0.049
72	36.994	18432	634	0.035
73	42.990	8798	374	0.017
74	45.051	12526	741	0.024
75	46.036	14603	850	0.028
76	47.073	63118	3325	0.119
77	47.659	8491	582	0.016
78	49.515	5030	227	0.010
79	49.836	10772	624	0.020
80	50.197	7344	324	0.014
81	51.407	2122	174	0.004
82	52.067	5433	307	0.010
83	52.469	1375	93	0.003
84	55.846	13676	875	0.026
85	58.258	52367	3803	0.099
86	59.337	109489	3368	0.207
87	61.333	2257	253	0.004
88	62.827	5399	32	0.010
Total		5284200 8	3278739	100.000

Annexe06 : Résultats d'analyse HPLC pour l'extrait n-butanol de feuilles.



System Controller CBM-20Alite



Connectable units	Solvent delivery units: 4 max; Autosamplers: 1; Column ovens: 1; Detectors: 2 max.
Number of connectable units	5 (including the unit incorporating the system controller)
Analog boards	Mounting not supported.
Operating temperature range	4 to 35°C

Shimadzu HPLC

Solvent Delivery Unit LC-20AD



Solvent delivery method	Parallel-type double plunger
Plunger capacity	10 µl
Maximum pressure	40 MPa
Flow rate	setting range 0,0001 to 1,000mL /min
Flow rate accuracy	No more than 1% or 0.5µL/min., whichever is greater (0,01 to 2 mL/min.)
Flow rate precision	0,3% max. (RSD: 0,1% max.)
Gradient type	High-pressure mixing/low pressure mixing
Mixing-concentration precision	0,1% RSD max
Constant-pressure solvent delivery	Supported
Plunger rinsing mechanism	Manual rinsing or automatic rinsing using optional product
Operating temperature range	4 to 35°C

Degassing Unit DGU-20Asr



Number of degassed solvents	5
Degassed flow line capacity	400 µl
Operating temperature range	4 to 35 °C

Autosampler SIL-20AC

Maximum operating pressure	20 MPa
-----------------------------------	--------



Approval for Final Printing of a Master's Dissertation

	Name and Surname	Signature
Examiner 2	BENTARFA Djhad	
Supervisor	BABA ARBI Ilyas	

I, the undersigned, Mr: MATALLAH Messaouda

President of the jury for the student(s): TOUM Ikram ; FERHI Nihad chemes eddine

Field: Chemistry; Specialization: Analytical Chemistry

Thesis Title: L'étude des extraction de gossypium arbum et leurs activités biologiques

Hereby authorize the above-mentioned student(s) to print and submit their final manuscript to the department.

Ghardaia :07/ 07 / 2025

President of the jury

Head of the department

رئيس قسم التعليم المشترك
في العلوم والتكنولوجيا
شوية فيصل

