

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE CONSTANTINE 3 SALAH BOUBNIDER



FACULTE DE GENIE DES PROCEDES
DEPARTEMENT DE GENIE PHARMACEUTIQUE

N° d'ordre :.....

Série :.....

Mémoire de Master

Filière : Génie des procédés

Spécialité : Génie pharmaceutique

**Etude comparative des propriétés antioxydantes
et antimicrobiennes d'extraits d'une plante
médicinale obtenus par méthodes d'extraction
classique et moderne**

Dirigé par :

Mme BENAÏSSA-KACEM CHAOUICHE Akila

Grade : Professeur

Présenté par :

AOUCHE Darine

MEHARZI Aya

AMRANE Amani Nour Elyakine

Année Universitaire 2023/2024

Session : juin

Table des matières

listes des tableaux	
listes des figures	
listes des abréviations	
Introduction générale	1

Chapitre1 : Revue bibliographique

1.Revue bibliographique	3
1.1.Plantes médicinales et la phytothérapie	3
1.1.1. Définition	3
1.1.2. Parties des plantes médicinales utilisées	3
1.1.3. Séchage et conservation	4
1.2. Phytothérapie	5
1.2.1.Définition	5
1.2.2.Aromathérapie	5
1.2.3.Gemmothérapie	6
1.3.Généralité sur la plante Rhamnus alaternus	6
1.3.1. Description générale	6
1.3.2. Répartition géographique	7
1.3.2.1.Rhamnus alaternus dans le bassin méditerranéen.....	7
1.3.2.2.Rhamnus alaternus en Algérie.....	8
1.3.3. Classification et Nomenclature.....	9
1.3.3.1.Classification du Rhamnus alaternus	9
1.3.3.2.Nomenclature : Noms vernaculaires.....	9
1.3.4. Usage traditionnel de la plante Rhamnus alaternus	9
1.3.5. Composition chimique et biochimique	10
1.3.5.1.Composition Chimique	10
1.3.5.2.Composition Biochimique.....	11
1.3.6. Activités biologiques	11
1.3.6.1.Activité antioxydant.....	11
1.3.6.2.Activité anti-inflammatoire	11
1.3.6.3.Activité antimicrobienne	12
1.3.6.4.Activités anti-enzymatique.....	12
1.4.Métabolisme des plantes	12
1.4.1. Métabolites primaires.....	12
1.4.2. Métabolites secondaires	12
1.4.2.1.Polyphénols	13
1.4.2.2.Alcaloïdes.....	17
1.4.2.3.Terpènes	18
1.5.Activité antioxydant	18
1.5.1. Antioxydants.....	18

1.5.2.	Stress oxydant.....	18
1.5.2.1.	Définition.....	18
1.5.2.2.	Maladies liées au stress oxydant.....	19
1.5.3.	Radicaux libres	19
1.5.3.1.	Définition.....	19
1.5.3.2.	Espèces réactives d'oxygène (ERO).....	19
1.5.3.3.	Espèces réactives azotées (ERN).....	20
1.6.	Activité antibactérienne	20
1.6.1.	Définition	20
1.6.2.	Agent antimicrobien.....	20
1.7.	Méthodes d'extraction.....	21
1.7.1.	Méthodes classiques.....	21
1.7.1.1.	Extraction à froid ou Macération.....	21
1.7.1.2.	Extraction par infusion.....	21
1.7.1.3.	Extraction par décoction.....	21
1.7.1.4.	Extraction par Hydro-distillation.....	22
1.7.1.5.	Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	22
1.7.1.6.	Extraction par Soxhlet.....	23
1.7.1.7.	Extraction par solvant organique	24
1.7.2.	Méthodes Modernes.....	24
1.7.2.1.	Extraction par ultrasons.....	24
1.7.2.2.	Extraction assistée par micro-ondes.....	25
1.7.2.3.	Extraction par fluide à l'état supercritique.....	25
1.7.2.4.	Extraction assistée par des enzymes	26
1.7.2.5.	Extractions par solvant eutectique DES.....	26
1.8.	Techniques d'analyse et caractérisation	27
1.8.1.	Techniques d'analyse chromatographique.....	27
1.8.2.	Chromatographie en phase liquide	27
1.8.3.	Techniques d'analyse spectroscopiques.....	28
1.8.3.1.	La spectrophotométrie UV-Visible.....	28

Chapitre2 : Matériel et Méthodes

2..	Matériel et méthodes	31
2.1.	Matériel	31
2.1.1.	Appareillages.....	31
2.1.2.	Verrerie.....	31
2.1.3.	Autre matériel utilisé.....	32
2.1.4.	Réactifs et produits chimiques.....	32
2.1.4.1.	Réactifs.....	32
2.1.4.2.	Solvants.....	32
2.1.4.3.	Etalons ou standard.....	32
2.2.	Matière végétale.....	32
2.2.1.	Préparation d'extrait Hydro-éthanoïque de Rhamnus alaternes par macération.....	33

2.2.1.1. Principe.....	33
2.2.1.2. Procédé de macération.....	33
2.2.2. Extraction par macération assistée par ultrasons.....	35
2.2.2.1. Principe.....	35
2.2.2.2. Procédé d'extraction par ultrasons.....	35
2.2.3. Extraction par macération assistée par micro-ondes.....	36
2.2.3.1. Principe.....	36
2.2.3.2. Procédé d'extraction par micro-ondes.....	37
2.3. Evaporation.....	38
2.3.1. Détermination du rendement d'extraction.....	39
2.4. Dosage des Polyphénols totaux.....	39
2.4.1. But.....	39
2.4.2. Principe.....	39
2.4.3. Mode opératoire.....	39
2.4.4. Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	41
2.5. Détermination des flavonoïdes totaux.....	41
2.5.1. But.....	41
2.5.2. Principe.....	41
2.5.3. Mode opératoire.....	41
2.5.4. Teneur des flavonoïdes totaux dans l'extrait.....	43
2.6.Évaluation d'activité antioxydant.....	44
2.6.1. But.....	44
2.6.2. Principe.....	44
2.6.3. Mode opératoire.....	45
2.6.4. Calcul de la concentration inhibitrice IC50.....	46
2.7. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	47
2.7.1. But.....	47
2.7.1. Principe.....	47
2.7.2. Mode opératoire.....	47
2.8. Evaluation de l'activité antifongique.....	48
2.8.1. Principe.....	49
2.8.2. But.....	49
2.8.3. Mode opératoire.....	49

Chapitre 3 : Résultats et Discussions

3. Résultats et Discussions.....	52
3.1. Calcul du rendement d'extraction.....	52
3.2. Dosage des polyphénols totaux.....	54
3.3. Dosage des flavonoïdes totaux.....	58
3.4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	61
3.5. Interprétation des résultats.....	64
3.6. Activité antibactérienne des extraits organiques de feuilles de Rhamnus alaternus.....	65
3.7. Activité antifongique des extraits des feuilles de Rhamnus alaternus.....	68
Conclusion générale et perspectives.....	70

Références Bibliographiques.....	73
Annexes.....	
Résumé.....	

Résumé

Rhamnus alaternus est une des plantes les plus utilisées dans le bassin méditerranéen, à cause de ses bienfaits ; notamment dans le traitement des complications hépatiques, contre la jaunisse et certaines affections dermatologiques.

Cette étude se concentre sur la comparaison des propriétés antioxydante et antimicrobienne des extraits de la partie aérienne (feuilles) de l'espèce *Rhamnus alaternus*, obtenus par trois méthodes d'extraction : macération classique, macération assistée par ultrasons, macération assistée par micro-ondes. Les rendements d'extraction diffèrent d'un procédé à un autre : 40.15 ; 51.70 ; 81.35 (%) relatifs à la macération classique, la macération assistée par micro-ondes et la macération assistée par ultrasons, respectivement. L'extrait obtenu par ultrasons est le plus riche en polyphénols totaux (169.54 mg EAG /g M.S) et en flavonoïdes totaux (13.34 mg EQ /g M.S), suivi par celui issu de l'extraction assistée par micro-onde (165.05 mg EAG /g M.S en polyphénols totaux et 9.05 mg EQ /g M.S en flavonoïdes totaux). La plus faible teneur en composés bioactifs a été enregistrée par l'extrait obtenu par macération avec une valeur égale à 143.57mg EAG /g M.S de polyphénols totaux et 6 EQ /g M.S en flavonoïdes totaux. Le test de l'activité antioxydante par application de la méthode de DPPH, révèle un pouvoir antioxydant important pour les trois extraits, néanmoins celui correspondant à l'extrait issu de la macération assistée par micro-ondes est le plus important avec une valeur de IC50 égale à 0.010(mg/ml), suivi de celui de l'extrait obtenu par application des ultrasons 0.026(mg /ml), qui est presque égal à celui obtenu pour la macération classique 0.024(mg/ml). L'activité antibactérienne sur deux souches : *Staphylococcus* et *Escherichia coli*, a donné un résultat remarquable sur l'activité antibactérienne de la plante. Le taux d'inhibition du test antifongique est égal à 0% pour l'extrait obtenu par macération, 3% pour l'extrait issu de la technique assistée par les ultrasons et 12.62% pour l'extrait issu de la technique aux micro-ondes.

Mots clés

Rhamnus alaternus, flavonoïdes totaux, polyphénols totaux, macération classique, macération assistée par ultrasons, macération assistée par micro-ondes, la méthode de DPPH, antioxydant, antifongique, antibactérien, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, IC50.

الملخص

يعتبر نبات من أكثر النباتات استخداماً في حوض البحر الأبيض المتوسط، نظراً لفوائده، *Rhmenus alaternus* ركزت هذه الدراسة على مقارنة الخصائص الخاصة في علاج مضاعفات الكبد واليرقان وبعض الأمراض الجلدية *Rhmenus* المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات للمستخلصات من الجزء الهوائي (الأوراق) من نوع ، التي تم الحصول عليها باستخدام ثلاث طرق استخلاص: النقع التقليدي، والنقع بمساعدة الموجات فوق الصوتية، والنقع بمساعدة الموجات الدقيقة. اختلفت عوائد الاستخلاص من عملية إلى أخرى: 40.15؛ 51.70؛ 81.35 (%) للنقع التقليدي، والنقع بمساعدة الموجات الدقيقة والنقع بمساعدة الموجات فوق الصوتية على التوالي. يفيونول+ وكان المستخلص الذي تم الحصول عليه عن طريق الموجات فوق الصوتية هو الأغنى في إجمالي البول (غم من الفلافونويدات)، يليه المستخلص /EQ غم من الفلافونويدات (13.34 ملغم من/EAG 169.54 ملغم من غم من الفلافونويدات/EAG الذي تم الحصول عليه عن طريق النقع بمساعدة الموجات الدقيقة (165.05 ملغم من غم من الفلافونويدات في إجمالي الفلافونويدات). تم تسجيل أقل محتوى /EQ في إجمالي البوليفينول و9.05 ملغم من المركبات النشطة بيولوجياً بواسطة المستخلص الذي تم الحصول عليه عن طريق النقع بقيمة تساوي 143.57 جم من الفلافونويدات الكلية. كشف اختبار النشاط المضاد للأكسدة /EQ جم من البوليفينول الكلي و6 /EAG مجم عن قوة كبيرة مضادة للأكسدة لجميع المستخلصات الثلاثة، على الرغم من أن ذلك DPPH عن طريق تطبيق طريقة تساوي 0.010 IC50 المقابل للمستخلص الذي تم الحصول عليه من النقع بمساعدة الموجات الدقيقة هو الأعلى بقيمة (ملغم/مل)، يليه المستخلص الذي تم الحصول عليه عن طريق تطبيق الموجات فوق الصوتية (0.026 ملغم/مل)، وهو ما يساوي تقريباً ذلك الذي تم الحصول عليه من النقع التقليدي (0.024 ملغم/مل). أعطى النشاط المضاد نتيجة ملحوظة على النشاط المضاد للجراثيم *Staphylococcys*. و*Escherichia coli*: للجراثيم على سلالتين للنبات. كان معدل التثبيط في اختبار مضاد الفطريات 0% للمستخلص الذي تم الحصول عليه عن طريق النقع، و3% للمستخلص الذي تم الحصول عليه باستخدام تقنية الموجات فوق الصوتية و12.62% للمستخلص الذي تم الحصول عليه باستخدام تقنية الموجات الدقيقة.

الكلمات المفتاحية

النقع التقليدي، الموجات الدقيقة، الموجات فوق الصوتية، *Rhamnus alaternus*، مضادة للأكسدة، مضاد *Staphylococcys*، *Escherichia coli*، DPPH، الفلافونويدات، البوليفينول، IC50 الفطريات.

Abstract

Rhamnus alaternus is one of the most widely used plants in the Mediterranean basin, due to its benefits, particularly in the treatment of liver complications, jaundice and certain dermatological conditions. This study focuses on comparing the antioxidant and antimicrobial properties of extracts from the aerial part (leaves) of the *Rhamnus alaternus* species, obtained by three extraction methods: conventional maceration, ultrasound-assisted maceration, microwave-assisted maceration. Extraction yields differed from one process to another: 40.15; 51.70; 81.35 (%) for conventional maceration, microwave-assisted maceration and ultrasonic-assisted maceration, respectively. The ultrasound-assisted extract was the richest in total polyphenols (169.54 mg EAG /g M.S) and total flavonoids (13.34 mg EQ /g M.S), followed by the microwave-assisted extract (165.05 mg EAG /g M.S in total polyphenols and 9.05 mg EQ /g M.S in total flavonoids). The lowest content of bioactive compounds was recorded by the extract obtained by maceration with a value equal to 143.57mg EAG /g M.S in total polyphenols and 6 EQ /g M.S in total flavonoids. Antioxidant activity testing using the DPPH method revealed significant antioxidant power for all three extracts, although that corresponding to the extract obtained from microwave-assisted maceration was the highest with an IC₅₀ value equal to 0.010(mg/ml), followed by that of the extract obtained from ultrasound application 0.026(mg /ml), which is almost equal to that obtained for conventional maceration 0.024(mg/ml). Antibacterial activity on two strains: *Staphylococcus* and *Escherichia coli*, gave a remarkable result on the plant's antibacterial activity. The inhibition rate in the antifungal test was 0% for the extract obtained by maceration, 3% for the extract obtained using the ultrasound-assisted technique and 12.62% for the extract obtained using the microwave technique.

Key words:

Rhamnus alaternus, maceration, ultrasound-assisted maceration, microwave-assisted maceration. total polyphenols, total flavonoids antioxidant, the DPPH method, IC₅₀, Antibacterial activity, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, antifungal test.