

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE 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](#)..... Error! Bookmark not defined.

Chapitre1 : Revue bibliographique

[1.Revue bibliographique](#) Error! Bookmark not defined.

[1.1.Plantes médicinales et la phytothérapie](#) Error! Bookmark not defined.

1.1.1. Définition **Error! Bookmark not defined.**

1.1.2. Parties des plantes médicinales utilisées **Error! Bookmark not defined.**

1.1.3. Séchage et conservation **Error! Bookmark not defined.**

1.2. Phytothérapie **Error! Bookmark not defined.**

1.2.1.Définition **Error! Bookmark not defined.**

1.2.2.Aromathérapie **Error! Bookmark not defined.**

1.2.3.Gemmothérapie **Error! Bookmark not defined.**

1.3.Généralité sur la plante Rhamnus alaternus Error! Bookmark not defined.

1.3.1. Description générale **Error! Bookmark not defined.**

1.3.2. Répartition géographique **Error! Bookmark not defined.**

1.3.2.1.Rhamnus alaternus dans le bassin méditerranéen **Error! Bookmark not defined.**

1.3.2.2.Rhamnus alaternus en Algérie..... **Error! Bookmark not defined.**

1.3.3. Classification et Nomenclature **Error! Bookmark not defined.**

1.3.3.1.Classification du Rhamnus alaternus **Error! Bookmark not defined.**

1.3.3.2.Nomenclature : Noms vernaculaires **Error! Bookmark not defined.**

1.3.4. Usage traditionnel de la plante Rhamnus alaternus **Error! Bookmark not defined.**

1.3.5. Composition chimique et biochimique **Error! Bookmark not defined.**

1.3.5.1.Composition Chimique **Error! Bookmark not defined.**

1.3.5.2.Composition Biochimique..... **Error! Bookmark not defined.**

1.3.6. Activités biologiques **Error! Bookmark not defined.**

1.3.6.1.Activité antioxydant **Error! Bookmark not defined.**

1.3.6.2.Activité anti-inflammatoire **Error! Bookmark not defined.**

1.3.6.3.Activité antimicrobienne **Error! Bookmark not defined.**

1.3.6.4.Activités anti-enzymatique..... **Error! Bookmark not defined.**

1.4.Métabolisme des plantes Error! Bookmark not defined.

1.4.1. Métabolites primaires..... **Error! Bookmark not defined.**

1.4.2. Métabolites secondaires **Error! Bookmark not defined.**

1.4.2.1.Polyphénols **Error! Bookmark not defined.**

1.4.2.2.Alcaloïdes **Error! Bookmark not defined.**

1.4.2.3.Terpènes **Error! Bookmark not defined.**

1.5.Activité antioxydant Error! Bookmark not defined.

1.5.1. Antioxydants **Error! Bookmark not defined.**

1.5.2.	Stress oxydant	Error! Bookmark not defined.
1.5.2.1.	Définition	Error! Bookmark not defined.
1.5.2.2.	Maladies liées au stress oxydant	Error! Bookmark not defined.
1.5.3.	Radicaux libres.....	Error! Bookmark not defined.
1.5.3.1.	Définition	Error! Bookmark not defined.
1.5.3.2.	Espèces réactives d'oxygène (ERO)	Error! Bookmark not defined.
1.5.3.3.	Espèces réactives azotées (ERN)	Error! Bookmark not defined.
1.6.	Activité antibactérienne	Error! Bookmark not defined.
1.6.1.	Définition	Error! Bookmark not defined.
1.6.2.	Agent antimicrobien.....	Error! Bookmark not defined.
1.7.	Méthodes d'extraction.....	Error! Bookmark not defined.
1.7.1.	Méthodes classiques.....	Error! Bookmark not defined.
1.7.1.1.	Extraction à froid ou Macération.....	Error! Bookmark not defined.
1.7.1.2.	Extraction par infusion	Error! Bookmark not defined.
1.7.1.3.	Extraction par décoction.....	Error! Bookmark not defined.
1.7.1.4.	Extraction par Hydro-distillation.....	Error! Bookmark not defined.
1.7.1.5.	Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	Error! Bookmark not defined.
1.7.1.6.	Extraction par Soxhlet.....	Error! Bookmark not defined.
1.7.1.7.	Extraction par solvant organique.....	Error! Bookmark not defined.
1.7.2.	Méthodes Modernes	Error! Bookmark not defined.
1.7.2.1.	Extraction par ultrasons.....	Error! Bookmark not defined.
1.7.2.2.	Extraction assistée par micro-ondes	Error! Bookmark not defined.
1.7.2.3.	Extraction par fluide à l'état supercritique	Error! Bookmark not defined.
1.7.2.4.	Extraction assistée par des enzymes.....	Error! Bookmark not defined.
1.7.2.5.	Extractions par solvant eutectique DES	Error! Bookmark not defined.
1.8.	Techniques d'analyse et caractérisation	Error! Bookmark not defined.
1.8.1.	Techniques d'analyse chromatographique.....	Error! Bookmark not defined.
1.8.2.	Chromatographie en phase liquide	Error! Bookmark not defined.
1.8.3.	Techniques d'analyse spectroscopiques.....	Error! Bookmark not defined.
1.8.3.1.	La spectrophotométrie UV-Visible	Error! Bookmark not defined.

Chapitre2 : Matériel et Méthodes

2..	<u>Matériel et méthodes</u>	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. يفيينول - 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 و 6 /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*. *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.