

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES EXTRAITS DE GRAINES DE *Gossypium arboreum* ET LEUR EFFET ANTIMICROBIEN SUR CERTAINES BACTERIES PATHOGENES

RAHIM O¹., GUERRAH S¹., HAMRA H¹ et ALLAOUI M¹

1. Laboratoire de chimie analytique, Département de Chimie, Faculté de mathématiques et sciences de la matière Université Kasdi Merbah-Ouargla. 30000, Ouargla-Algérie

Résumé : Le Cotonnier est connu depuis l' antiquité par ses multiples utilisations , compte tenu de l'intérêt que réserve la plupart des peuples du monde à ses fibres et d'abandonner le reste des parties de la plante en tant que déchets industriels et agricoles, nous avons décidé de faire une valorisation de l'une de ces parties négligées qui représente 46% de la fleur de la plante *Gossypium Arboreum*, à savoir les graines par une étude phytochimique et microbiologique. L'étude phytochimique a révélé la présence de cinq grands groupes chimiques : les tanins, les alcaloïdes, les flavonoïdes les saponosides, les acides gras essentiels, les stéroïdes insaturés et les dérivés des stéroïdes. Les stérols insaturés et les terpènes sont rares. L'extraction des lipides est réalisée en utilisant deux solvants (l'hexane et l'éther de pétrole) et deux méthodes (soxhlet et macération) respectivement, ce qui a porté le rendement à 22,04% dans le cas de l'hexane, et 23.27% avec l'éther de pétrole. Puis on a identifié leurs propriétés physiques qui se sont révélé très proche. En conséquence on a déterminé les propriétés chimiques de l'extrait avec l'éther de pétrole. Le rendement des trois extraits organiques obtenus après macération par les mélanges éthanol / eau, puis l'extraction successive des extraits flavonoïdes à l'aide de trois solvants (acétate d'éthyle, le chloroforme et n-butanol) est successivement 0.98%,0.29%,0.72%. Les extraits obtenus sont analysés par chromatographie sur couche mince (CCM) et sur papier, et nous a permis de prédire l'existence de certaines espèces flavonoïdes: Les flavanones, flavonols et iso- flavanones. L'étude de l'activité antibactérienne a révélé une efficacité moyenne des extraits à l'éther de pétrole, l'acétate, et le chloroforme avec 5 souches de bactérie pathogènes : *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*. Un pouvoir inhibiteur moyen à faible de l'extrait au butanol avec *Escherichia coli* et *Proteus vulgaris*; et sans effets sur les autres souches.

Mots clés : *Gossypium Arboreum*, extraction, flavonoïdes, lipides, chromatographie, activité antibactérienne.

Contribution to the study of *Gossypium arboreum* seed extracts and their antimicrobial effect on certain pathogenic bacteria

Abstract: Cotton is known since antiquity for its many uses, given the interest reserved by most of the peoples of the world to its fibers and abandon the remaining parts of the plant as industrial and agricultural waste, we decided to make a valuation of one of the neglected parts which represents 46% of the flower of the plant *Gossypium Arboreum*, namely seeds by a phytochemical and microbiological study. The phytochemical study revealed the presence of five major chemical groups: tannins, alkaloids, flavonoids, saponins, essential fatty acids, unsaturated steroids and steroid derivatives. The unsaturated sterols and terpenes are rare. Lipid extraction is carried out using two solvents (hexane and petroleum ether) and two methods (soxhlet and maceration) respectively, bringing the yield to 22.04% in the case of hexane, and 23.27% with petroleum ether. Then identified their physical properties which have been found very close. Consequently the chemical properties of the extract with petroleum ether were determined. The yield of three organic extracts obtained after maceration by the ethanol / water mixtures, then the successive extraction of flavonoids extracted with three solvents (ethyl acetate, chloroform and n-butanol) is successively 0.98%, 0.29 %, 0.72%. The extracts obtained are analyzed by thin layer chromatography (TLC) and paper and allowed us to predict the existence of some flavonoids species: flavanones, flavonols and iso-flavanones. The study of the antibacterial activity showed an average efficiency of extracted petroleum ether acetate, and chloroform with 5 pathogenic bacterium strains: *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*. A medium to low inhibitory potency of the butanol extract with *Escherichia coli* and *Proteus vulgaris*; and without effects on other strains.

Key-words: *Gossypium Arboreum*, extraction, flavonoids, lipids, chromatography, antibacterial activity.

Introduction

Le cotonnier est le plus important groupe de plantes à fibres au monde. La plus ancienne preuve de l'utilisation du coton en tant que plante à fibres dans l'ancien monde a été découverte au Pakistan, on estime qu'elle date d'environ 2300 ans avant J.-C. Il comprend environ 50 espèces dans le monde, dans la région aride de régions tropicales et subtropicales semi-arides.

Le mot « *coton* » vient de l'arabe « *al qutn* » qui est devenu « *algodon* » en espagnol; alors que le nom du genre *Gossypium* revient au mot arabe « *goz* ».

Gossypium arboreum est couramment utilisé en médecine traditionnelle africaine. La racine est considérée comme emménagogue et pour provoquer des contractions utérines, et au Ghana et au Nigeria, l'extrait de racine ou d'écorce de racine se prend pour ses vertus abortives, les extraits de graines sont utilisés contre la migraine, la fièvre intermittente, la dysenterie, et les brûlures. [1]

Malgré l'utilisation extensive et intensive des graines de coton dans le monde entier, elles sont considérées comme un produit secondaire ou sous-produit. Les graines sont utilisés pour obtenir des huiles alimentaires, ce qui est considéré comme étant de très bonne qualité dans la gamme d'huiles végétales; comme de la paille pour l'alimentation du bétail; et comme gâteau riche en protéines et la farine, qui sont utilisés principalement pour l'alimentation du bétail. La farine est parfois utilisée pour la consommation humaine (en faibles quantités, ou après extraction du gossypol), ce dernier fut utilisé comme contraceptif masculin. L'huile de coton est d'un intérêt en tant que lubrifiant et un biocarburant. [2]

L'émergence du phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques a redonné de l'importance à l'activité antibactérienne des plantes médicinales, reportée par d'autres chercheurs (Martinez et al.[3], Manna and Abalaka. [4],

Omojasola, P.E and Awe, S.[5], P. Saranraj and S. Sivasakthi [6], dont le *Gossypium arboreum*.

Des extraits au méthanol et au dichlorométhane de feuilles de *Gossypium arboreum* ont montré une activité contre les bactéries gram-positives *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*, les bactéries gram-négatives *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et la levure *Candida albicans*. Dans un autre essai, un extrait aqueux des feuilles et des graines a permis de stimuler la croissance de cellules de fibroblastes dermiques humains et avait un effet antioxydant protecteur sur celles-ci, ce qui corroborerait l'usage traditionnel des feuilles et des graines de *Gossypium arboreum* pour guérir les plaies. L'extrait au méthanol de la racine de *Gossypium arboreum* a montré une activité antibactérienne contre *Bacillus polymixa* et *Escherichia coli*. Les pétales et les flavonoïdes isolés des pétales ont montré une activité antibactérienne contre *Pseudomonas maltophilia* et *Enterobacter cloacae*. [7]

Dans le cadre de la contribution à la valorisation des plantes de l'Algérie d'intérêt thérapeutique, notre étude a été réalisée pour dépister quelques composants phytochimiques des graines du cotonnier par chromatographie sur couche mince (CCM), et sur papier (CP), et de tester l'effet de leurs extraits sur l'activité de certains bactéries pathogènes.

1. Matériel et Méthodes

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de chimie analytique (Département de chimie) et du laboratoire de bactériologie (Département de biologie) de l'université d'Ouargla (Algérie), après avoir préparé la plante comme suit:

1.1. Place dans la systématique

L'identité et la systématique de la plante ont été confirmées par Mr Halis Youcef, un chercheur du centre des recherches scientifiques et techniques des zones arides à Touggourt.

Royaume : Plantes

Embranchement : Angraspermes

Classe : Eudycotyledones

Ordre : Malvales

Famille : Malvaceae

Genre : *Gossypium*

Espèce : *Arboreum. L*

I.2. Récolte de la plante

La plante étudiée a été récoltée après avoir été identifiée, et cela en pleine maturité (figure 1) aux cours du mois de Novembre 2012 dans la région de Mékhadma commune de la wilaya de Ouargla (Sud-est de l'Algérie). La récolte du matériel végétal a été collectée en début

de matinée afin que le matériel végétal soit le plus frais possible.

Le matériel végétal collecté a été séparé et séché à une température ambiante et à l'abri de la lumière. Enfin, la plante sèche est mise dans des sacs en papier. Les pourcentages des organes par rapport aux fleurs sont : les capsules 31.01%, et les fibres 24.86%. Les graines qui représentent 44.69% de la fleur de plante sont broyées (RETSCH, type SM 100) et tamisées à 2mm. Ces dernières ont été sélectionnées pour le criblage phytochimique et antibactérien.



Figure 1 : *Gossypium arboreum*

I. 3. Criblage phytochimique

Concernant l'étude phytochimique, neuf tests préliminaires ont été réalisés selon le protocole mis au point par référence [8], qui a permis d'effectuer un criblage phytochimique qualitatif de la plante.

1.4. Procédés d'extraction

Le macérât aqueux éthanolique et l'huile de graines de *Gossypium Arboreum* ont été extraits par les méthodes décrites ci-dessous.

1.4.1. Extraction de l'huile (les lipides)

L'extraction de l'huile a été effectuée par extraction liquide-solide par deux méthodes : la macération et soxhlet,

par deux solvants apolaires l'éther de pétrole et le n-hexane respectivement. Une quantité de 100g des graines est mise à macération dans l'éther de pétrole à 40-60°C, répétée trois fois avec renouvellement du solvant chaque 36 heures pour extraire les lipides et après filtration et concentration sous vide.

D'autre part, 100 g sec est placé dans l'appareil de soxhlet, mise en extraction contenue par l'hexane pendant 6 heures. La phase organique obtenue est séchée par le Sulfate de sodium anhydre puis, elle a subi à une évaporation par rotavapeur pour récupérer l'huile.

Les deux extrais sont conservés dans des flacons opaques bien fermés à une température de réfrigération à 4°C.

1.4. 2. Préparation du macérât

Le résidu de La matière végétale après l'extraction de lipide est mise à macération dans un mélange hydroalcoolique (Ethanol/eau; 70/30; V/V). Cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant chaque 36 heure.

Après filtration et concentration sous vide, l'extrait aqueux est dilué avec de l'eau distillée par 50 ml pour 100 g de matière sèche, on laisse la solution au repos une nuit, puis on filtre. Après filtration, la solution a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole 40-60°C puis le chloroforme; l'acétate d'éthyle et enfin avec le n-butanol.

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, pesées. Les rendements sont représentés sur la figure 2.

1.5. Séparation

Trois extraits obtenus sont analysés par chromatographie sur couche mince (CCM) et chromatographie sur papier (CP), les plaques CCM et CP sont examinées sous la lumière UV (254 et 365nm). Différents réactifs ont été utilisés pour la révélation des chromatogrammes : les vapeurs de NH₃ et une solution diluée (FeCl₃).

1.6. Test antibactérien

L'activité antibactérienne des extraits est mise en évidence par la méthode de diffusion sur des disques de cellulose de gélose de Muller Hinton. 2 à 3 colonies de chaque bactérie sont ensuite prélevées de la gélose nutritive incubées à 37°C pendant 24 heures et transférées dans 10 ml de l'eau physiologique stérile (0,9% NaCl), ajustée à une turbidité de 0,5 par la méthode de Mac Farland standard. Cette suspension bactérienne réalisée est constituée d'une dilution de 10⁻¹

Les boîtes de Pétri contenant la gélose Muller Hinton sont inondées par une suspension bactérienne différente. Des disques stériles de papier filtre sont imprégnés de 10µl de chaque extrait.

1.6.1 Souches bactériennes

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de la plante étudiée a été réalisée en accord avec les méthodes officielles. Cependant les microorganismes testés sont des souches identifiées (qui viennent de la collection de laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital Slimane Amirat de Touggourt, dont les souches sélectionnées étaient les suivantes :

Staphylococcus epidermidis Gram(+), *Escherichia Coli* Gram(-), *Proteus Vulgaris* Gram(-), *Staphylococcus Aureus* Gram(+), *Pseudomonas Aeruginosa* Gram(-).

1.6.2. Ensemencement

La suspension microbienne préparée, ensuite 200µl a été semée à l'aide d'un écouvillon stérile sur la totalité de surface d'un milieu gélose Mueller-Hinton.

Ainsi, les boîtes ont été mises à sécher pendant 15 min à 37° C [9, 10, 11].

1.6.3. Préparation des disques

L'antibiogramme se fait à partir de la préparation des disques, dont le papier Wathman (3) est découpé en disques blancs de 6mm. Après leur stérilisation au four pasteur pendant 20 min à 130°C, les disques ont été imprégnés par 10µl des solutions des extraits préparées au paravent. Ensuite, ils sont placés dans des boîtes de pétri ou ils ont subi un séchage avant d'être déposés sur le milieu de culture [9, 10, 11]

1.6.4. Application des disques

Les disques préparés sont disposés à la surface de milieu de culture, en appuyant légèrement à l'aide d'une pince

stérilisée, ensuite cs boîtes sont incubées a l'étuve a 37°C pendant 24 h.

1.6.5. Lecture des résultats

Nous avons procédé à la mesure du diamètre des zones d'inhibitions dans le cas de sensibilité microbienne autour des disques de 6 mm de diamètre.

2. Résultats et discussion

L'analyse nous a permis de discuter le contenu de différents extraits de l'échantillon.

2.1. Criblage phytochimique

Les résultats des tests phytochimiques de la plante étudiée sont regroupés dans le tableau 1

Tableau 1: Criblage phytochimique des graines de *Gossypium*

Comp	Flav		Alc	Sté., Terp.	Tan	Sap	Car d.	Stéro.	
	Flav lib	Flav gly						classe 1	classe 2
Rst	+	+	+	-	+	+	+	+	-

Comp. : Composants, Rst. : Résultats, Flav. : 1. Les Flavonoïdes Libres, 2. Les Flavonoïdes Glycosides, Alc. : Alcaloïdes, Tan. : Tannins, Sap. : Saponosides, Sté., Terp. : Stérols Insaturés et Terpènes/, Card. : Cardénolides, Stéro. : Stéroïdes (classe 1 : Stéroïdes Insaturés, classe 2 : dérivés Stéroïdes), (-) : Test négatif, (+) : Test positif.

Le criblage phytochimique réalisé a permis de constater la présence les groupes chimiques suivants : les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins, les saponosides, les cardénolides et les stéroïdes. Cependant, les Stérols Insaturés, les Terpènes et les dérivés Stéroïdes sont révélés négatives.

2.2. Résultats des extractions

Le rôle de différents solvants utilisés sont : l'éther de pétrole qui élimine la chlorophylle et les lipides, puis par le chloroforme qui extrait les produits volatiles les terpènes, les coumarines, et l'acétate d'éthyle pour les flavonoïdes libres et les flavonoïdes monosaccharides enfin l'extraction par le n-butanol entraîne les composés polaires et les flavonoïdes polysaccharides.

2.2.1. Les caractères physico-chimiques des extraits organiques

La plante a donné un rendement important en huile estimé à l'éther de pétrole (23.27%, 23.27g) et hexane (22.07%, 22.07g) est d'une couleur jaune sombre.

Les méthodes utilisées pour déterminer les indices physico-chimiques sont celles indiquées par le recueil de normes de l'Association Française de Normalisation (AFNOR). [12]

Pour déterminé la qualité d'huile extraite de *Gossypium Arboreum*, un récapitulatif regroupant les différents index et constants dans les Tableaux (2, 3 et 4)

Tableau 2: Constantes physiques des extraits

Constant Extrait	indice de réfraction n_D^{20}	densité d_4^{20} (g/cm ³)
<i>Ether de pétrole</i>	1.4917	0.91076
<i>n-Hexane</i>	1.4861	0.87776

Les paramètres organoleptiques de notre huile sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR.

L'indice d'acide, (*IA*), correspond au nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans un gramme de corps gras. Pratiquement l'indice d'acide

est attribué selon la norme (AFNOR NFT 60-204) [12]

L'indice de saponification des huiles est attribué selon la pratique courante (AFNOR NFT 60-206). [12]

L'indice d'ester calculé par la relation suivant : $IE = IS - IA$

Tableau 3 : Indices chimiques pour l'huile d'extrait d'Ether de pétrole

Extrait C ₁	Indice d'acide <i>IA</i>	de saponification <i>IS</i>	d'ester <i>IE</i>
<i>Ether de pétrole</i>	0.21	190.47	190.53

L'indice d'acide donne une idée sur le taux d'acides libres. Dans notre étude, cet indice est 0.21, *IA* inférieur à 2 est une preuve de bonne conservation de l'huile (faible quantité d'acides libres).

Grâce à l'index de saponification, on peut prédire la valeur de la masse moléculaire moyenne et de tri Glycérides .En plus de la valeur de masse moléculaire moyenne d'acides gras calculée par les relations suivantes :

$$M_{moy}^{TG} = \frac{3 \times 56110}{IS}$$

$$M_{moy}^{AG} = \frac{M_{moy}^{TG} - 38}{3}$$

Tableau 4: Masses moléculaires moyennes de triglycérides et d'acides gras

Masse moléculaire moyenne	M_{moy}^{TG} (g/mol)	M_{moy}^{AG} (g/mol)
<i>Ether de pétrole</i>	882.510	281.503

Les résultats du rendement d'extraits de macérât éthanolique aqueux sont représentés par la figure 2.

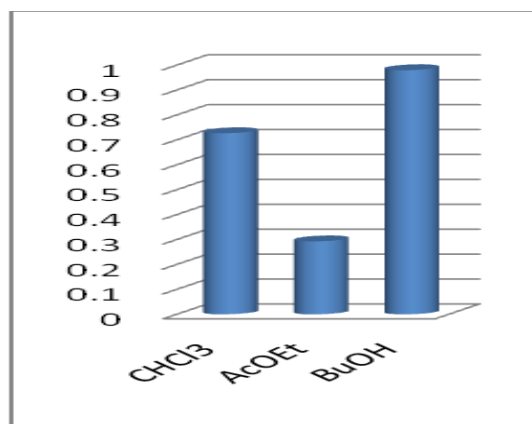


Figure 2: Rendements des différents extraits.

2.3. Etude analytique (qualitative) des différents extraits :

Pour la caractérisation du contenu en métabolites secondaires de *Gossypium Arboreum*, nous avons utilisé la méthode de CCM et CP décrite dans les travaux de Godin, [13]; Georgievskii, [14]; Dawson *et al.* [15]; Dekker, [16]; Wagner et Bladt, [17]; Chaaib Kouri, [18]; Lagnika, [19].

Le criblage phytochimique effectué sur les extraits C₂, C₃ et C₄ au moyen de la CC et CP a donné les résultats consignés dans les tableaux I-II.

Le CCM et CP visualisé sous UV présente des taches de couleur orange, jaune, bleu, verte, rose, pourpre qui peuvent correspondre à plusieurs classes de métabolites secondaires: jaune, vert

(coumarines); orange (xanthones), [20]; jaune quelconque (flavonols et/ou aurones); bleu, pourpre (coumarines, flavones méthylées) [21]. Pour préciser leur nature, les réactifs spécifiques aux coumarines (UV, vapeur NH₃) et aux flavonoïdes ont été utilisés. FeCl₃ révèle les flavonoïdes en bleu verte dans le visible ou sous UV à ondes longues [22].

En application de toutes ces données bibliographiques à l'ensemble des résultats que nous avons obtenus, nous déduisons que tous les spots révélés correspondent aux flavonoïdes. Ce qui confirme la richesse des extraits C₁, C₂ et C₃ en cette famille de métabolites secondaires. (Tableaux 4 et 5).

Tableau 5 : CCM des extraits C2, C3, C4

Ext rait	phase mobile	Rf	Révélation UV	Révélation UV ;NH ₃ vap	Types de Composés Possibles
Chloroforme	Hexane / EtOH / AcOH (1/4/5)	0.08	Orange	verte	¹ 3,5-methoxy flavonols l'absence des OH libre on position 3
		0.20	jaune ¹	jaune verte ¹	
		0.27	blanc	blanc	² flavone,flavonol avec groupe 5-OH libre isoflavone,flavanone et ,flavanol avec groupe 5-OH libre
		0.33	orange	jaune	
		0.41	orange fluorescence	jaune	
			pourpre ²	pourpre ²	
		0.45	pourpre ²	pourpre	
		0.50	blanc jaune	blanc	
		0.61	pourpre ²	pourpre ²	
		0.67	pourpre ²	pourpre ²	
		0.78	orange fluorescence ³		³ flavonol avec groupe 3-OH libre et avec ou sans OH à la position (5)
0.90	pourpre ²	jaune ³			
0.94	marron	pourpre ²			
		0.97		pourpre	
Acétate d'éthyle	AcOEt / HCOOH / AcOH/H ₂ O (2.6/0.5/0.5/10)	0.16	marron	marron	⁴ flavanol sans groupe 5-OH libre ⁵ Flavonol-3-glycosides, flavones Flavonol avec groupe 3-OH libre Flavanone , flavanol avec OH à la position (5),isoflavone,chalcon avec OH à la position (2',6')
		0.22	marron jaune ⁴	Jaune ⁴	
		0.38	mauve noir ⁵	pourpre ⁵	⁶ flavanol avec groupe 3-OH libre et avec ou sans OH à la position (5) ⁷ flavone , Flavonol avec deux OH à la position (5,4'),flavanone avec OH à la position (5)ou chalcon avec OH à la position (4')
		0.43	marron jaune	Marron	
		0.47	jaune ⁶	jaune ⁶	
		0.61	blanc	Blanc	
		0.71	pourpre ⁷	jaune ⁷	
0.95	orange	jaune			

Butanol	AcOH/ BuOH (0.5/4.5)	0.24	jaune ⁶	Jaune ⁶	⁶ flavonol avec groupe 3-OH libre et avec ou sans OH à la position (5) ³ flavonol avec groupe 3-OH libre et avec ou sans OH à la position (5)
		0.37	jaune ⁶	jaune ⁶	
		0.45	marron jaune	jaune verte	
		0.51	marron foncé	jaune orange	
		0.58	orange fluorescence ³	jaune ³	
		0.68	blanc jaune	blanc	
		0.87	orange	jaune	

Tableau 6 : CP des extraits C₂, C₃, C₄

Extrait	phase mobile	Rf	Révélation	Révélation UV+ NH ₃ vap	Types de Composés Possibles
Acétate d'éthyle	AcOH/H ₂ O	0.36	Bleu	blanc	¹ Flavonol-3-glycosides, flavones Flavonol avec groupe 3-OH libre Flavanone , flavanol avec OH à la position (5),isoflavone,chalcon avec OH à la position (2',6')
		0.56	pourpre ¹	pourpre noirâtre ¹	
		0.72	Bleu Marine ²	bleu ²	
		0.79	blanc	pourpre	
Butanol	AcOEt / HCOOH / AcOH/H ₂ O (2.6/0.5/0.5/10)	0.72	orange- jaune ³	orange ³	² Isoflavone sans OH à la position (5)
		0.91			³ flavonol avec groupe 3-OH libre et avec ou sans OH à la position (5)
		0.34	Blanc	Blanc	⁴ Flavanone avec OH à la position (5)
		0.46	pourpre ¹	Pourpre ¹ noirâtre ⁴	
		0.68	pourpre ⁴	bleu ⁴	
0.78	blanc	blanc jaune			
0.95	marron	marron jaune			

2.4. Résultats et discussion des tests antibactériens

Face aux problèmes de la résistance bactérienne aux antibiotiques [23], beaucoup de travaux ont été menés sur le pouvoir antibactérien des produits naturels et extraits des plantes. Les résultats du test

d'aromatogramme réalisé par la méthode de diffusion sur gélose, et qui sont évalués par mesure des zones d'inhibition autour des disques, sont présentés dans Tableau 6 et la figure 2.

Tableau 7: Valeurs des diamètres de zones d'inhibition des Souches Bactériennes

Souche	<i>S. epidermidis</i>				<i>E. coli</i>				<i>P. vulgaris</i>			
	**C ₁	**C ₂	**C ₃	**C ₄	**C ₁	**C ₂	**C ₃	**C ₄	**C ₁	**C ₂	**C ₃	**C ₄
[]	d _{moy} (mm)				d _{moy} (mm)				d _{moy} (mm)			
A*	10.77	10.21	11.15	/	9.48	10.03	11.78	8.90	10.37	9.55	12.3	/
B*	10.43	11.13	12.38	/	9.31	10.04	12.29	8.70	9.33	9.57	11.19	/
C*	9.43	10.27	11.2	/	9.02	9.95	10.8	8.50	10.57	10.82	11.83	/
D*	9.94	10.57	10.62	/	9.51	9.92	11.34	8.60	9.95	9.26	11.48	/
Souche	<i>S. aureus</i>				<i>P. aeruginosa</i>				1- **C ₁ /éther de pétrole, **C ₂ /chloroforme, **C ₃ /acétate d'éthyle, **C ₄ /n-butanol			
	**C ₁	**C ₂	**C ₃	**C ₄	**C ₁	**C ₂	**C ₃	**C ₄				
[]	d _{moy} (mm)				d _{moy} (mm)							

A*	10.84	9.11	10.84	12.55	9.11	10.84	9.11	/	2- d _{moy} (mm) Diamètre da la zone d'inhibition 3- A*=20µg/µl, B*=10µg/µl C*=5µg/µl, D*=2.5µg/µl
B*	12.03	9.03	12.03	12.04	9.03	12.03	9.03	/	
C*	11.42	9.42	11.42	10.38	9.42	11.42	9.42	/	
D*	10.09	8.93	10.09	9.96	8.93	10.09	8.93	/	

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits du *Gossypium Arboreum* indiqués dans le tableau ci-dessus, montrent que les extraits inhibent la croissance de tous les organismes d'essai; avec un diamètre moyen du zone d'inhibition allant de 8.50 à 12.55 mm, à une concentration de 2.5µg/µl à 20 µg/µl. Alors que l'extrait n-butanol n'avait pas

d'activité contre *S. epidermidis*, *Proteus vulgaris*, *P. aeruginosa*.

Les courbes ci-dessous permettent la comparaison du comportement des différentes souches vis-à-vis des quatre extraits utilisés, mettant en évidence la variation du diamètre moyen en fonction de la concentration.

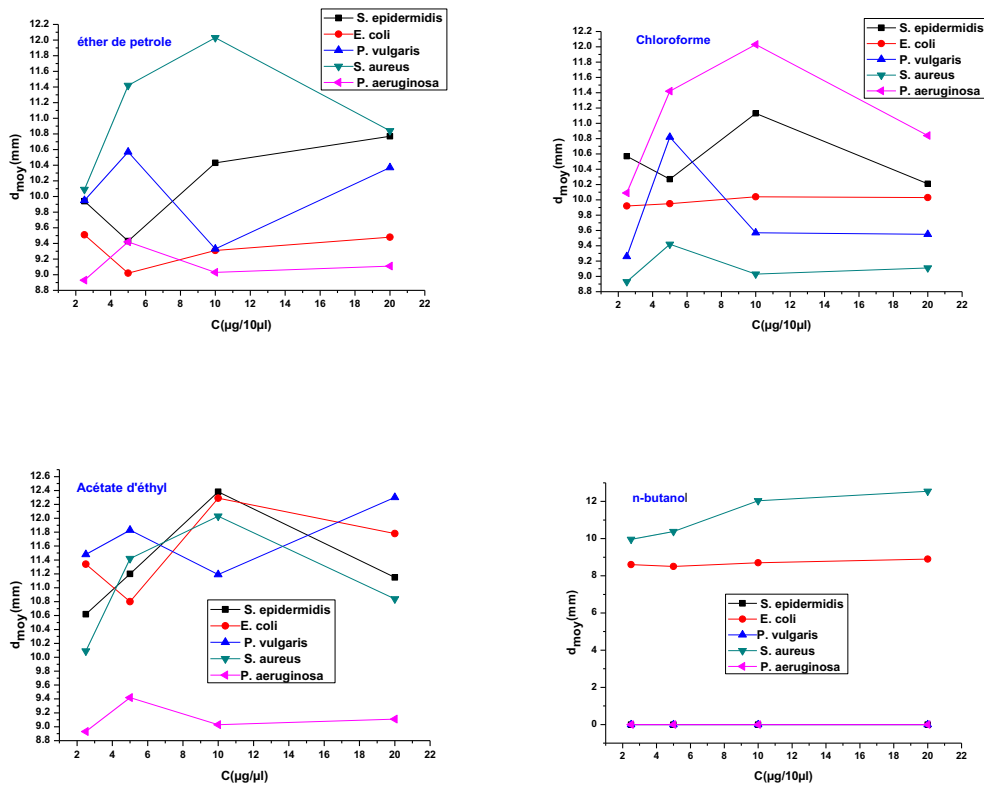


Figure 3: Rapports d'inhibition d'huile et les trois extraits de macérât aqueux éthanolique sur les souches bactériennes testées (*Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Proteus Vulgaris*, *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Aeruginosa*)

Les normes employées dans l'expression des résultats sont celles utilisées par l'institut Pasteur de

Madagascar (IPM), représentées dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Normes utilisées par l'IPM

Diamètre de la zone d'inhibition	$d_{moy} < 7 \text{ mm}$	$7 \text{ mm} < d_{moy} < 8 \text{ mm}$	$8 \text{ mm} < d_{moy} < 9 \text{ mm}$	$d_{moy} > 9 \text{ mm}$
Degré de sensibilité des germes	Insensible	Assez sensible	Sensible	Très sensible

L'étude du pouvoir antibactérien d'huile et des extraits obtenus de la plante de *Gossypium Arboreum* a été faite par la méthode de diffusion sur gélose. La mesure du diamètre des zones d'inhibition a permis de déterminer l'activité antibactérienne de cette plante in vitro. Les antibiogrammes montrent un effet bactériostatique sur des bactéries Gram négatives : *Escherichia coli*, *Proteus Vulgaris*, *Pseudomonas Aeruginosa* et positives : *Staphylococcus Epidermidis*, *Staphylococcus Aureus*.

D'après les résultats reportés dans le tableau 7 et la figure 3, on constate que toutes les souches (*Escherichia coli*, *Proteus Vulgaris*, *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus Epidermidis*) sont très sensible aux extraits à base de produits naturels complexes extraits par l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle, tandis que seul *Staphylococcus aureus* est très sensible à celui du n-butanol. *Escherichia coli* est aussi sensible pour ce dernier.

Chaturvedi et al. [24], ont remarqué que *Gossypium arboreum* montre une activité anti- bactérienne très réduite, sauf pour les extraits de graines qui inhibent efficacement *Salmonella Typhi*; les flavonoïdes entrants des cals sont actifs contre *staphylocoque Aureus* et *Pseudomonas Aeruginosa* .alors que les extraits de graines de *Gossypium herbareum* et *Gossypium hirsutum* montre une activité contre le *Staphylocoque Epidermidis* et *Escherichia Coli* [24]. L'extrait aqueux des graines de *Gossypium arboreum* a montré une faible activité antibactérienne, ce résultat est peut être du

à l'absence de constituants efficaces dans l'extrait aqueux comme les lipides comparés aux extraits organiques, cette remarque fût déjà avancée par Omojasola et Awe [5] qui ont signalé la forte inhibition antibactérienne des extraits éthanoliques comparés aux extraits aqueux de *Gossypium hirsutum* .

Conclusion

Les résultats de notre étude montre l'importance biologique et médicinale de *Gossypium Arboreum*, espèce végétale peu étudiée et valorisée tant sur le plan phytochimique, biologique que pharmacologique. Les résultats ont montré sa richesse en lipides et métabolites secondaires, notamment en composés lipides et flavonoïdes, substances naturelles antibactériennes à intérêt considérable contre des agents pathogènes responsables de plusieurs pathologies et candidats à des résistances aux antibiotiques actuels. La présente étude est donc une contribution au développement d'une pharmacopée Algérienne à base des plantes médicinales locales.

Références

- [1] RAHMAN K., SULTANA A., RAHMANA S.-2012 *Gossypium Herbaceum: An Ethnopharmacological Review*.JPSI1 (5). 1-5.
- [2] PROTA. Ressources Végétales de l'Afrique Tropicale.Wageningen University at : www.prota4u.info.
- [3] MARTINEZ, C. M. U., BENTENCOURT, J., ALENZO-GOZALEZ, N. and JAOUREQUI, A. - 1996. Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. Journal of Ethnopharmacology 52(3):

171 -174.

[4] MANNA. A, ABALAKA, A.E. and GARBA, S.A, -1997. The antimicrobial activity of the leaf extracts of *Calotropis procera*. *Biomedical Letters* 55:205 – 210.

[5] OMOJASOLA, P.E and AWE, S. - 2004. The antibacterial activity of the leaf extracts of *Anacardium occidentale* and *Gossypium hirsutum* against selected microorganisms. *Bioscience Resource Communications* 16 (1):25 -28.

[6] SARANRAJ P. and SIVASAKTHI S. - 2014. Medicinal Plants and its Antimicrobial Properties: *A Review Global Journal of Pharmacology* 8 (3): 316-327, DOI:10.5829/idosi.gjp.2014.8.3.83194

[7] Consensus document on the biology of cotton (*Gossypium Spp.*).

ENV/JM/MONO – 2008 (33)

[8] علاوي م.، "مساهمة في دراسة بعض المركبات العضوية الفعالة في نبات الرمث (*Haloxylon Scoparium*)". مذكرة ماجستير في الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. 2003. ص 33-34

[9] BILLERBECK V. G., ROQUES C., VANIERE P. et MARQUIER P.; « Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles » *HYGIENES-Vol X –N°3*, pp : 248-251

[10] PBIRI M. C. - 2005 « Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles »; *These doctorat sciences*, école polytechnique fédérale de Lausanne; pp19-55

[11] MERAH M., BENSACI B. M. et BOUDERHEM A. - 2010 *Annales des sciences et Technologie*; Vol. 2, N°2, 115-126

[12] Association Française de Normalisation (AFNOR) – 1984 *Recueil de normes françaises des corps gras*,

graines oléagineuses, produits dérivés, 3ème édition,

[13] GODIN P. - 1954. *Nature* 174: 134.

[14] GEORGIEVSKII V. P., KOMISSARENKO N. F., DMITROUK S. E. - 1990. Substances bioactives des plantes médicinales, édition « Naouka » Novosibirsk: 336 p. (Traduit du russe)

[15] DAWSON R., ELLIOTT D., ELLIOTT W., JONES K. - 1991. Edition Mir, Moscou. *Dictionnaire de biochimiste*.

[16] DEKKER M., 2002. - Coumarins: analysis by TLC. *Encyclopedia of chromatography*: 1-3.

[17] WAGNER H., BLADT S., - 1996. Plant drug analysis in thin layer chromatography atlas, 2e edition, Springer Verlag, Berlin: 384 p.

[18] CHAAIB KOURI F. -2004. *Thèse de doctorat*. Université de Lausanne (Suisse): 211 p.

[19] LAGNIKA L. - 2005. *Thèse de doctorat*. Université Louis Pasteur (Strasbourg/France): 267 p.

[20] HARBORNE J B., MABRY T J., MABRY H. - 1975, *The Flavonoids, academic press*, New york.

[21] BRUNETON J.; *Pharmacognosie*, Deuxième édition, Tec-Doc, Paris

[22] BARBRY J., 1970. "The systematic identification of flavonids". P9-14

[23] BENYAGOUB E., NABBOU N., SIRAT M., et DAHLIS.Z. - 2014; *Revue des BioRessources*; Vol 4 N° 2.

[24] CHATURVEDI ARJIT, SINGH SIPIA AND NAG T. N. - 2010 Antimicrobial activity of flavonoids from *in vitro* tissue culture and seeds of *Gossypium* species; *Romanian Biotechnological Letters*, Vol. 15, No. 1