

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun–Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Masteracadémique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Ecologie fondamentale et appliquée

Présenté par :

MERIDJA Aicha

MOUSSA Asma Nour El houda

CHETOUANE Hanane

Thème

**Extraction et caractérisation des huiles essentielles et/ou des
composés phénolique *d'Opuntia ficus-indica* et de *Syzygium
aromaticum***

Soutenu publiquement le :

Jury:

Présidente : M^{me} DJERBAOUI

Encadreur: Mr BOUSSOUM.M.O

Examinatrice : M^{me} BEN ARABA

Grade

Pr

M.C.A

M.C.A

Année universitaire 2018/2019

REMMERCIMENT

Au terme de notre travail nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience de le réaliser.

Nous tenons tous particulièrement à adresser nos remerciements les plus vifs d'abord à notre promoteur M^r M.O. BOUSSOUM, et à notre co-promoteur M^r ALI NEHARI A., qui nous ont fait l'honneur de nous inspirer ce sujet et nous guider tout au long de son élaboration, nous leurs sommes très reconnaissantes, pour leurs conseils, leur disponibilité, et surtout leur patience.

Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres du jury : Mme ADAMOU M., qui nous fait honneur par sa présence en qualité de présidente du jury ainsi que Mme BENARABA R., qui a accepté d'examiner ce travail et consacré de son temps pour son évaluation.

Enfin, nos remerciements s'adressent à tous les enseignants et à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes très chers parents

En témoignage de mon affection et reconnaissance pour tout ce qu'ils

m'ont donné

Sans vous je ne serais jamais arrivé jusque là

Je vous remercie pour votre soutien et votre amour

inconditionnel

Vous n'avez jamais hésité à vous sacrifier pour ma réussite et

mon bonheur.

A mes très chères Sœurs.

A mon trinôme : Aicha et Hanane.

A ma famille.

A mes Chers professeurs.

A tous mes collègues de la promos Ecologie fondamental et appliquée.

Asma Nour El houda.

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes très chers parents

En témoignage de mon affection et reconnaissance pour tout ce qu'ils

m'ont donné

Sans vous je ne serais jamais arrivé jusque là

Je vous remercie pour votre soutien et votre amour

inconditionnel

Vous n'avez jamais hésité à vous sacrifier pour ma réussite et

mon bonheur.

A mes très chères Sœurs.

A mon très chère Frère.

A mes chères neveux :Mohamed et Khaled.

A ma très chère cousine Ismahane.

A mon trinôme : Asma et Hanane.

A ma famille.

A mes Chers professeurs.

A tous mes collègues de la promos Ecologie fondamental et appliquée.

Aicha.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Toute personne à m'aider, m'encourager et me pousser pour atteindre le mieux.

Mes frères et mes sœurs.

Mes chères amies, et tous mes collègues de la promo de l'écologie fondamentale et appliquée.

Chetouane Hanane

Liste des abréviations

AlCl₃: trichlorure d'aluminium.

AT: acidité titrable.

ATCC: American Type Culture Collection.

ATR: Spectroscopie Infrarouge.

CPT : composés phénolique totaux.

Do : densité optique.

E. coli : *Escherichia coli*.

FB : figuier de barbarie.

FBT : figuier de barbarie de Tiaret.

FBM : figuier de barbarie de Mostaganem.

HE : huile essentielle.

HPLC: chromatographie liquide à haute performance

IRTF : infra rouge à transformée de Fourier.

LC-MC: Chromatographie liquide.

MH: Muller Hinton

mg EQ : milligramme équivalent quercétine.

mg EAG : milligramme équivalent acide gallique.

MS : matière sèche.

Na₂CO₃: carbonate de sodium.

S. aromaticum: *Syzygium aromaticum*.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

O. f- indica: *Opuntia ficus-indica*.

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire

R : rendement en huile essentielle.

SNV: Science de la nature et de la vie.

TE : teneur en eau.

TC : Taux de cendre.

UV: ultra-violet.

Uv-vis : ultra-violet visible.

Liste des figures

Figure I.1 : Figuier de barbarie.....	03
Figure I.2 : Espèces du figuier de Barbarie appartenant au genre Opuntia.....	04
Figure I.3 : Girofle, <i>Syzygium aromaticum</i> (Teuscher et al., 2005).....	05
Figure I.4 : Giroflier de Madagascar (Barbelet, 2015).....	06
Figure I.5 : <i>Syzygium aromaticum</i> (Boullard, 2001).....	06
Figure I.6 : Structure de quelques composés des huiles essentielles (Calsamiglia et al., 2007;khenaka, 2011).....	10
Figure I.7 : Schéma de Structure du phénol (Macheix et al., 2006; Hollman et al.,2010).....	14
Figure I.8 : Schéma de Structure de base des flavonoïdes (Chabaane et al., 2011).....	15
Figure I.9 : Schéma I. 3: Structure du β carotène (Rodrigue z -Amaya, 2001).....	16
Figure II.1 : Organigramme de protocole expérimental.....	18
Figure II.2 : <i>Opuntia ficus-indica</i>	19
Figure II.3 : <i>Syzygium aromaticum</i>	20
Figure II.4 : Dispositif expérimental d'extraction par Clevenger.....	23
Figure II.5 : Dispositif expérimental d'extraction par hydro distillation.....	24
Figure II.6 : Dispositif expérimental d'extraction en mode batch.....	24
Figure II.7 : Principe de la méthode de diffusion par disque.....	27
Figure III.1 : Teneur en eau (humidité) dans les différents échantillons.....	31
Figure III.2 : Teneur en cendre dans différents échantillons.....	32
Figure III.3 : valeurs de pH dans les différents échantillon.....	33
Figure III.4 : valeurs de L'acidité titrable dans les différents échantillons.....	34
Figure III.5 : Rendement d'HEs extraites.....	34
Figure III.6 : Teneurs en poly phénols totaux (mg EAG/100g)	37
Figure III.7 : Teneurs en flavonoïdes (mg EQ/100g).....	38
Figure III.8 : Effet antibactérien de <i>Syzygium aromaticum</i>	39
Figure III.9 : Effet antibactérien d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	39
Figure III.10 : Effet antibactérien de témoin positif.....	40
Figure III.11 : Spectre infrarouge de <i>Opuntia ficus-indica</i>	42
Figure III.12 : Spectre infrarouge de <i>Syzygium aromaticum</i>	43

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Constituants principaux de l'huile essentielle du girofle (Vercauteren, 2006).....	07
Tableau I.2 : différentes propriétés et usage du <i>Syzygium aromaticum</i> (Dupont, 2012)	08
Tableau II.1 : Matériels et produits utilisés.....	19
Tableau III.1 : Résultats des paramètres physicochimiques des différents échantillons du clou de girofle ; figue de barbarie de la wilaya de Tiaret et Mostaganem.....	30
Tableau III.2 : Analyses des indices.....	35
Tableau III.3 : Effet de solvant sur les souches bactériennes.....	43
Tableau III.4 : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits.....	43
Tableau III.5 : groupements fonctionnels caractéristiques du FB.....	45
Tableau III.6 : groupements fonctionnels caractéristiques du <i>Syzygium aromaticum</i>	46

Listes des annexes

Annexe N°1 : Préparation du Matériel végétal.

Annexe N°2 : Hydro distillation pour la plante *Syzygium aromaticum* .

Annexe N°3 : Hydro distillation pour *Opuntia ficus-indica*.

Annexe N°4 : les paramètres chimiques.

Annexe N°5 : préparation des courbes d'étalonnage pour le dosage des polyphénols.

INTRODUCTION GENERALE

Introduction

Depuis longtemps, les plantes médicinales ont été une source d'inspiration pour les nouveaux composés médicamenteux et représentent une source inépuisable de substances naturelles bioactives. . Presque toutes les civilisations et les cultures de l'antiquité ont dépendu entièrement ou partiellement de la phytothérapie en raison de leur efficacité, l'accessibilité, la disponibilité et la faible toxicité qui est liée à la dose (**koudaly et al.,2014**).

Durant ces dernières années une recrudescence d'intérêt est à remarquer concernant les effets biologiques des antioxydants naturels inclus dans la lutte contre le stress oxydatif généré par les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Celles-ci sont impliquées dans le vieillissement et dans le déclenchement et la progression de plusieurs maladies telles que le cancer, l'athérosclérose, les accidents cardiovasculaires (AVC), l'ostéoporose, les maladies inflammatoires et les maladies neurodégénératives. Quel que soit le cas, le risque est aggravé avec l'accumulation de ces molécules dans l'organisme en aboutissant à une chaîne réactionnelle radicalaire qui dégrade les molécules vitales biologiques à savoir l'ADN, les lipides, les protéines et les glucides. Dans ce contexte, de nombreuses recherches scientifiques faites sur les composés bioactifs notamment sur les polyphénols qui agissent contre les ERO, ont abouti à leur utilisation dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (**Piettaet al.,2000**).

Actuellement, la recherche de nouvelles substances anti oxydantes et antibactériennes purement naturelles est la préoccupation capitale de la plupart des gens et des chercheurs (**El-Lakany et al., 1997**).

Les huiles essentielles représentent un groupe très intéressant de ces métabolites qui sont dotés de propriétés antimicrobiennes les rendant intéressants comme produits de remplacement des antibiotiques(**El-Lakany et al., 1997**).En effet, les métabolites secondaires ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques qui fait qu'elles trouvent application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétique et agroalimentaire.

Le cactus est une espèce adéquate pour une agriculture durable grâce à sa résistance à la sécheresse, la lutte contre la désertification et à son utilisation dans l'alimentation de

l'Homme et du bétail. C'est une plante qui est économiquement importante, mais qui reste très peu exploitée. Elle peut être valorisée en produits agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques ; ce sont des produits à haute valeur ajoutée pour les agriculteurs et les populations locales (Arba, 2006).

Le giroflier est une plante connue de tous, du moins son bouton floral, le clou de girofle. Mais peu de personnes connaissent ses véritables propriétés. Il évoque souvent les cabinets dentaires, ou encore cette astuce de grand-mère, les oranges piquées de clous, pour assainir l'air en hiver. Cette plante est chargée de monoterpènes, 1,8-cinéole, caryophyllène, eugénol et tanins, ce qui explique son intérêt pour le pharmacien en aromathérapie, et son action ciblée sur les organes respiratoires (Vermeulon, 2011 ; Dupont, 2012).

Les polyphénols ont montré des propriétés antimicrobiennes et anti-cancérigènes (Visioli et al., 1999). Plus particulièrement, ces polyphénols sont identifiés comme des antioxydants naturels de la famille des antioxydants phénoliques largement utilisés en agroalimentaire, pharmacie, médecine, cosmétique... (Mulinacci et al., 2001).

Dans ce contexte, nous nous sommes proposé, d'une part, d'extraire les huiles essentielles, mais aussi celles des composés phénoliques présents dans les extraits aqueux obtenus en parallèle par différents procédés (extraction en balth et par Clevenger) de deux plantes, une qui pousse très facilement dans notre climat méditerranéen et qui ne nécessite aucun entretien puisqu'il s'agit d'une plante spontanée, il s'agit de figues de barbarie et celle du clou de girofle et, d'autre part, à l'évaluation de l'activité antibactérienne de ces extraits sur deux espèces bactériennes qui sont *staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* en utilisant la méthode de diffusion de disque sur gélose. Par ailleurs, nous avons été intéressés par la caractérisation des huiles essentielles et l'identification des composés phénoliques par des techniques d'analyses, à savoir, la chromatographie liquide (LC-MS/MS), la résonance magnétique nucléaire (RMN) et l'infrarouge à transformée de Fourier (ATR).

Ce travail est structuré de trois parties importantes :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique ; la deuxième est la partie pratique est constituée pour décrire le matériel et les méthodes utilisées lors de travail expérimental et une troisième partie expose les résultats obtenus et leur discussions.

SYNTHESED BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Figuier de barbarie

I.1.1. Origine et répartition de la plante

Le figuier de barbarie (figure I.1) est une plante originaire du Mexique appelée « Nopal ». Elle a été introduite dans le bassin méditerranéen par les Espagnols au 16^{ème} siècle (Cherif, 2016). Elle n'était pas connue en Europe avant les voyages de Christoph Colomb. L'espagnol Gonzalo Fernández de Oviedo y Valdès a la décrit de façon plus précise dans son « histoire des indes occidentales » en 1535 (Kavirindi et al., 2010). Actuellement, elle est connue par plusieurs noms tels : Tuna, fruit du diable, El-hindi, et tant par le fruit du paradis grâce à ses bienfaits miraculeux sur la santé humaine, animale et l'environnement. Elle s'appartient dans la famille des cactacées, sous le nom scientifique d'*Opuntia Ficus-indica* (Cherif, 2016).



Figure I.1 : Figuier de barbarie.

I.1.2. Classification botanique

Règne : végétal.

Embranchement : *Phanérogames.*

Sous-embranchement : *Angiospermes.*

Classe : *Dicotylédones.*

Sous-classe : *Dialypétales.*

Ordre : *Caryophyllacées.*

Famille : *Cactacées.*

Genre : *Opuntia.*

Espèce : *Opuntia Ficus-indica.*

I.1.3. Description botanique

Le figuier de Barbarie (FB) est une plante arborescente, caractérisée par la présence des raquettes aplatis, des fleurs rotacées, des fruits à différents couleurs : rouge, jaune et verte. Sans oublier son aspect épineux. Il est de la famille des cactacées, qui sont des végétaux *phanérogames*, en appartenant à la classe des *dicotylédones* de l'ordre de *caryophyllacées* (Schweizer, 1997).

Ces cactacées font partie des plantes xérophytes qui s'adaptent avec des conditions trop dures, avec un peu d'eau, une longue période de sécheresse et se répartissent dans les régions arides et pré-désertiques (Salgado et Mauseth, 1997).



Figure I.2 : Espèces du figuier de Barbarie appartenant au genre *Opuntia*.

I.1.4. Composition chimique

Le figuier de Barbarie autant que fruit est riche en minéraux (teneurs exprimées par 100g), il contient 93mg de calcium, 17mg du phosphore, 1.6mg du fer et 1.7mg de protéines... Il est riche en vitamines A, B₁, B₂, B₃, et C. Autant que graine, elle est constituée de 33 à 36% en eau, 6 à 9% d'huile et 1.3 à 1.5% en cendres (Schweizer, 1997).

I.1.5. Utilisation

I.1.5.1. Secteur médical et pharmaceutique

L'*Opuntia* a des propriétés miraculeuses au niveau du secteur médical et pharmaceutique qui s'apparaissent au niveau de la santé humaine. Il abaisse le taux mauvais de cholestérol comme il peut diminuer le taux de sucre dans le sang, donc est un bon hypoglycémiant. On peut l'utiliser aussi comme un calmant et défatigant naturel. Il favorise

et active la production de lait chez les femmes allaitant, sans oublier qu'il est un bon anti diarrhéique, il purge et régularise le transit intestinal.

I.1.5.2. Secteur de cosmétique

Vu sa richesse en vitamine E et en oligo-éléments, il peut être utilisé comme anti-âge, anti-cicatrisant, antirides,... (Schweizer 1997).

I.2. Clou de girofle

I.2.1. Origine et présentation de la plante

Giroflier *Eugenia Caryophyllata* ou *Syzygium aromaticum* (figure I.3), est un arbre tropical appartenant à la grande famille des *Myrtacées*, originaire d'Indonésie, dans la partie sud des Philippines et les îles de Moluques, d'Afrique et d'Amérique du sud (Madagascar, Brésil, Zanzibar), principalement dans des pays tropicaux (Ranoarisoa, 2012).

C'est un arbre de 12 à 15 m de haut, exigeant un climat doux et humide. Le bouton floral (clou de girofle) a une odeur caractéristique et une saveur chaude et piquante. Le clou de girofle est une épice utilisée en cuisine (Powell et al., 2007).



Figure I.3: Girofle, *Syzygium aromaticum* (Teuscher et al., 2005).

I.2.2. Description botanique

Les feuilles de giroflier (figure I.4) sont opposées, coriaces et persistantes. Ses fleurs blanc rosé sont groupées en petites cymes compactes et ramifiées. Le bouton floral (clou) a une morphologie typique : partie quadrangulaire (hypanthe) et une tête globuleuse, entourée par les 4 sépales et constituée des 4 pétales enfermant de très nombreuses étamines recourbées (Barbelet, 2015).



Figure I.4 : Giroflier de Madagascar (Barbelet, 2015).

Les fruits sont nommés « antofles » dans le commerce. Ce sont des petites baies elliptiques : environ 2,5cm de long pour 1cm de large (**figure I .5**). Ils sont de couleur pourpre, généralement uniloculaire, et ont une ou parfois deux graines à enveloppe rouge (Boullard, 2001 ; Heywood, 1996 ; Ramarijaona, 1985).

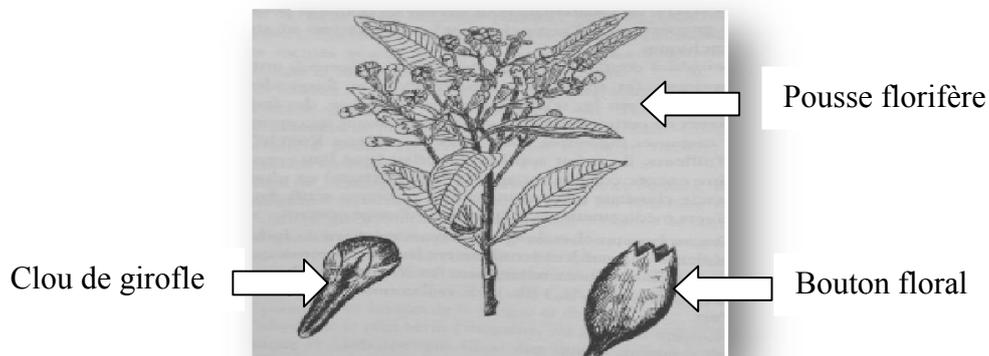


Figure I.5: *Syzygium aromaticum* (Boullard, 2001).

I.2.3 .Classification botanique

Classe : *Angiosperme.*

Sous- classe : *Tiporées.*

Ordre : *Myrtales.*

Famille : *Myrtacea.*

Sous famille : *Myrtoideae.*

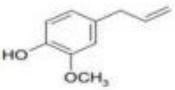
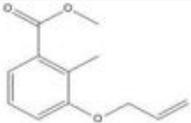
Genre : *Syzygium.*

Espece : *Syzygium aromaticum.*

I.2.4. Composition chimique

Les principales propriétés physicochimiques de l'huile essentielles du clou de girofle et ses constituants sont représentées dans le tableau I.1. A noter que l'huile essentielle est insoluble dans l'eau et soluble dans le cyclohexane (Vercauteren, 2006).

Tableau I.1 : Constituants principaux de l'huile essentielle du girofle (Vercauteren, 2006).

	Densité (g/ml)	PM (g/mol)	Solubilité	Structure chimique
Eugénol	1.06	164.2	Insoluble dans l'eau et soluble dans les solvants apolaires.	 (4-allyl-2-méthoxy-phénol)
L'acétate d'eugényle	1,075 à 1,085	206,24	/	

I.2.5. Utilisation

Syzygium aromaticum est un anesthésiant local, notamment pour les douleurs dentaires. Il soulage les douleurs musculaires, les rhumatismes et il a des propriétés anti-inflammatoires, redonne de l'énergie et permet de lutter contre la fatigue. C'est également un antidépresseur. Le clou de girofle est connu dans les écrits ayurvédiques, où il est utilisé contre les douleurs, la sciatique, les problèmes rhumatologiques, comme antibactérien et antifongique et anesthésiant local dans le soin des plaies et dans les odontalgies (Barbelet, 2015).

Tableau I.5 : Propriétés et usage du *Syzygium aromaticum* (Dupont, 2012).

Utilisation interne	Utilisation externe
<ul style="list-style-type: none"> - Action anti-inflammatoire : soulage-les douleurs musculaires ou les rhumatismes ; - Actions antibactériennes : Apaise les infections urinaires ; - Troubles Digestifs : Atténue les divers maux d'estomac ; - Anesthésiant local ; - Soulager la toux des affections virales. 	<ul style="list-style-type: none"> - Propriétés antiseptiques : le girofle permet de désinfecter les plaies ; - Contre la mauvaise haleine : employé comme remède ; - Contre les douleurs dentaires : maux de gorge, herpès labial.

I.3. Généralités sur les huiles essentielles

I.3.1. Définition Huile essentielle

Une HE est la fraction odorante volatile extraite des différents organes de la plante. Les HES sont des composants liquides très complexes. Elles sont huileuses, contrairement aux huiles végétales elles ne sont pas grasses puisqu'elles s'évaporent. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers (Toudert, 2015).

I.3.2. Réparation dans le règne végétal

Les HES se retrouvent généralement chez les végétaux supérieurs. Leur extraction peut se faire à partir des différentes parties du végétal, à savoir, les graines, les racines, les feuilles, les fruits, l'écorce... (Lefief, 2012).

I.3.3. Toxicité

Il est important d'utiliser les HE avec précaution parce qu'ils sont potentiellement toxiques et chaque molécule aromatique présente des degrés toxiques différents. Cette toxicité dépend de la composition, de la dose unitaire et journalière et même de la voie d'administration utilisée. Il existe deux types de toxicité selon Velé (2015) :

- Toxicité aiguë qui se manifeste quelque minute après l'introduction d'HE dans l'organisme ;
- Toxicité chronique survenant après plusieurs années d'utilisation.

I.3.4. Propriétés physiques

Malgré leurs différences de constitution, les EHs possèdent un certain nombre de propriétés physiques communes (Toudert, 2015) :

- Elles sont généralement sous forme liquides à température ambiante ;
- Leurs teintes est généralement comprise dans une gamme allant de l'incolore, à jaune pâle ;
- A l'exception de cannelle, de girofle et de saffras, leur densité est le plus souvent inférieure à l'unité ;
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire puisque constituées, pour l'essentiel, de molécules asymétriques (Bouquet, 1972) ;
- Peu solubles dans l'eau, elles sont solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques ;
- Elles sont très facilement altérables et sensibles à l'oxydation.

I.3.5. Chimie des huiles essentielles

Les huiles essentielles représentent un mélange complexe de molécules chimiques qui peuvent comporter plus de soixante composants différents, parmi lesquels deux ou trois sont des composants majeurs constituant de 20 à 70% du mélange comparativement aux autres qui se trouvent le plus souvent sous forme de traces. Généralement ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques des HES (Garnon, 1991). La plupart des composants des HES sont inclus dans deux groupes :

I.3.5.1. Terpénoïdes

Ils représentent le groupe le plus diversifié des métabolites secondaires, ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones (C_5H_8), communément appelée isoprène. Les terpénoïdes sont classés en : monoterpénoïdes (C10), sesquiterpénoïdes (C15) et diterpénoïdes (C20) (Figure I.6). Dans la composition de la plupart des HES les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (Combrinck et al., 2007; Karray-Bouraoui et al., 2009).

établie, et qui dépasse en performance les autres techniques conventionnelles d'extraction, excepté dans le cas de l'extraction des composés thermolabiles (**Ben amor, 2008**).

Dans un système conventionnel de Soxhlet, la matière végétale est placée dans une cartouche, et remplie de solvant frais condensé à partir d'un ballon à distiller. Quand le liquide atteint le niveau de débordement, un siphon aspire la solution de la cartouche et la décharge de nouveau dans le ballon à distiller, portant les corps dissous extraits dans le liquide en bloc. Dans le ballon, le corps dissous (soluté) est séparé du solvant par distillation. Le soluté reste dans le flacon et le solvant frais passe de nouveau dans le lit de solide. L'opération est répétée jusqu'à ce que l'extraction complète soit réalisée (**Ben amor, 2008**).

I.3.6.2. Entraînement à la vapeur d'eau

La différence entre l'hydro distillation et l'entraînement à la vapeur d'eau est que cette dernier ne met pas en contact direct la matière végétale à traiter et l'eau. La vapeur d'eau est fournie par une chaudière qui traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Cette vapeur d'eau est responsable à l'éclatement des cellules et donc la libération des HES qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange «eau+ huiles essentielle», le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé entre la phase aqueuse et huile essentielle (**Richard et Etievant, 1997**).

I.3.6.3. Hydro diffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de HE récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie (**Roux, 2008**).

I.3.7. Paramètres influant sur l'extraction

De nombreux paramètres peuvent avoir une grande influence sur le procédé d'extraction et ses performances, les plus importants sont (**Sukhdev, 2008**) :

I.3.7.1. Matériel végétal

- L'authentification du matériel végétal doit être faite avant de procéder à l'extraction. Tout corps étranger doit être complètement éliminé. La plante doit également passer par une étape de contrôle de qualité et son âge ainsi que la saison et lieu de la collecte doivent être enregistrés ;
- La plante doit être séchée dans des conditions convenables qui dépendent largement de la nature de ses constituants chimiques ;
- Les méthodes de broyage doivent être précisées et les techniques qui génèrent de la chaleur doivent être évités autant que possible ;
- Matériel végétal en poudre doit être passé à travers des tamis appropriés pour obtenir des particules de taille uniforme .

I.3.7.2. Nature des constituants

- La nature du solvant dépend des molécules à extraire. Les solvants polaires sont utilisés pour extraire les molécules polaires et les solvants apolaires pour les molécules apolaires ;
- Pour les constituants thermolabiles, il est préférable d'utiliser les techniques d'extraction à froid tel que la macération. Pour les constituants thermostables il vaut utiliser une technique à chaud comme l'extraction par soxhlet à condition que le solvant utilisé soit non aqueux ;
- L'optimisation des temps d'extraction est importante ;
- Le nombre d'extractions nécessaires à l'extraction complète est aussi important que la durée de chaque extraction ;
- Qualité de l'eau ou du solvant utilisé doit être indiqué et contrôlée ;
- Les procédures de concentration doivent assurer la stabilité des constituants actifs, Une concentration sous pression réduite (par exemple en utilisant un Rotavapeur) est souvent préférée ;
- La conception et le matériau de fabrication de l'extracteur sont également à prendre en considération.

I.3.8. Activités biologiques des huiles essentielles**I.3.8.1. Antibactérienne**

Selon **Benayad (2008)**, les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénols (géraniol, menthol, terpinéol), aldéhydes (néral, géranial).

I.3.8.2. Antivirale

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles aujourd'hui, les HES constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques (**Benayad, 2008**).

I.3.8.3. Antifongique

Les mycoses sont d'une actualité criante, car les antibiotiques prescrits de manière abusive favorisent leur extension, avec les HES on utilisera les mêmes groupes que ceux cités plus haut, on ajoutera les sesquiterpéniques et les lactones sesquiterpéniques. Par ailleurs, les mycoses ne se développent pas sur un terrain acide. Ainsi il faut chercher à alcaliniser le terrain (**Benayad, 2008**).

I.3.8.4. Antiparasitaire

Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites (**Benayad, 2008**).

I.3.8.5. Antiseptique

Les aldéhydes et les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes (**Benayad, 2008**).

I.4. Antioxydants**I.4.1. Définition**

Les antioxydants sont des substances capables de retarder et d'empêcher l'oxydation des substrats (**Pincemail et al., 1998 ; Gramza et Korczak, 2005**). Il existe deux sources d'antioxydants ; la première est endogène qui se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase et catalase) et de protéines (ferritine, transferrine, céruloplasmine et

albumine). La seconde est exogène apportée par l'alimentation avec des produits végétaux riches en vitamines E et C, caroténoïdes et composés phénoliques (**Rock, 2003 ; Pincemail et Defraïque, 2004**).

Les composés antioxydants agissent en piégeant les radicaux libres et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables (**Favier, 2003**).

I.4.2. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante (**Gulċin, 2006**). Ils désignent un vaste groupe de molécules à large panel structural (**Cheynier, 2005**) ; largement rependus dans le règne végétal, et font partie intégrante de notre alimentation (**Gulċin, 2006**).

Ce sont des substances qui possèdent un ou plusieurs cycles aromatiques avec au moins une fonction hydroxyle libre ou engagée dans une autre fonction chimique (éther méthylique, ester, osidique...) (**Middleton et al., 2000 ; Bennick, 2002 ; Marouf et Reynaud, 2007**).

I.4.2.1. Poly phénols totaux

Sont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux, non essentiels à la survie de la plante. Au niveau végétal, Ils sont un moyen de défense contre le rayonnement U.V, les agressions par les pathogènes et ils contribuent à la pigmentation des plantes (**Manach et al.,2004 ; Ignat et al.,2011**). Ils sont caractérisés par la présence d'un cycle aromatique et d'un ou plusieurs groupements phénoliques dans leur structure (Schéma I.1) et se différencient par le nombre et l'enchaînement des noyaux aromatiques, le nombre et la position des groupes hydroxyles ainsi que la présence de divers substituant (groupes alkyles, glycosyles, acides organiques...) (**Macheix et al.,2006; Hollman et al.,2010**).

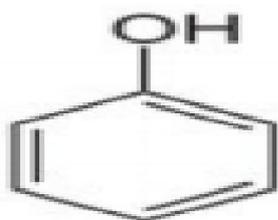


Schéma I.1 : Structure du phénol.

I.4.2.2. Flavonoïdes

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des poly phénols (**Bennick, 2002**). Ces substances à faible poids moléculaire se trouvent, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où elles peuvent être localisées dans divers organes : racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits et graines (**Middleton et al., 2000**).

Ils sont considérés comme des pigments universels dans le règne végétal : ce sont les pigments les plus courants à côté de la chlorophylle et des caroténoïdes (**Staliskas, 2007**).

Ce sont des composés phénoliques complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C) (**Middleton et al., 2000 ; Bennick, 2002**) comme c'est illustré dans (schéma I.2) .

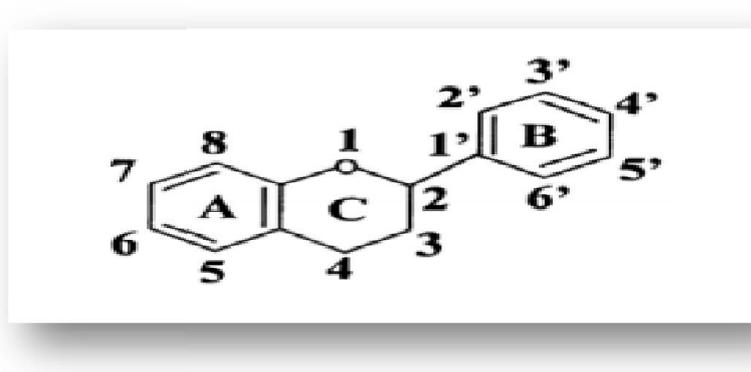


Schéma I.2 : Structure de base des flavonoïdes (**Chabaane et al., 2011**).

I.4.2.3. Tannins

Les tannins sont des composés phénoliques polaires d'origines végétales (**Berthod et al., 1999**) ; ils existent presque dans chaque partie de la plante (écorce, bois, feuilles, fruits et racines) avec des poids moléculaires très élevés (500-3000 Daltons) (**Cowan, 1999 ; Zimmer et Cordesse, 2004**).

La caractéristique la plus déterminante des tannins est leur capacité à former des complexes par précipitation avec les polymères naturels comme les protéines, les polysaccharides (la pectine, la cellulose, l'hémicellulose...), les alcaloïdes, les acides nucléiques et les minéraux (**Frutos et al., 2004**).

I.4.2.4 Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles, de couleur jaune à rouge, présents dans les chloroplastes et dans certains plastes qui colorent les fleurs, les fruits ou les racines (**Rodriguez-Amaya, 2001**). Les caroténoïdes dérivent d'une structure linéaire ($C_{40}H_{56}$) avec de nombreuses doubles liaisons (**Haleng et al., 2007**) (Schéma I.3).

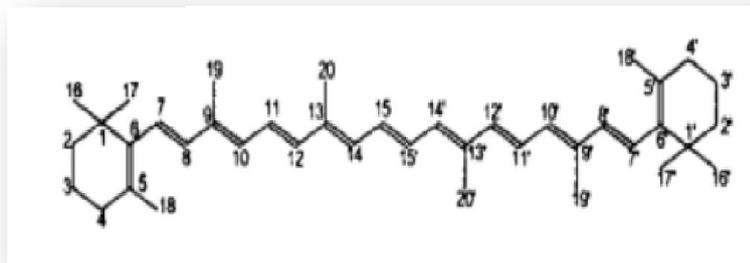


Schéma I. 3: Structure du β carotène (**Rodriguez-Amaya, 2001**).

I.4.3. Vitamine E

La vitamine E désigne un groupe de nombreux composants lipophiles présents dans la nature appelés tocophérols (α , β , δ et γ) (**Szymanska et Kruk, 2008**).

Son caractère hydrophobe lui permet de s'insérer au sein de la membrane biologique riche en acide gras polyinsaturés ou elle joue un rôle protecteur efficace en empêchant la propagation de chaînes radicalaires d'origine lipidique (**Pincemail et al., 1998**).

CHAPITRE II
METHODOLOGIE EXPERIMENTALE

Dans le présent chapitre, nous allons détailler le protocole expérimental suivi et décrire le matériel qui a été utilisé lors des expérimentations.

II.1.Objectifs du travail

Les objectifs de notre étude consistent à :

- Valoriser deux plantes médicinales, à savoir, le clou de girofle « *Syzygium aromaticum* » et le figue de barbarie « *Opuntia ficus-indica* » ;
- Extraire les huiles essentielles, mais aussi celles des composés phénoliques présents dans les extraits aqueux ;
- Evaluer l'activité antibactérienne de ces extraits sur deux espèces bactériennes qui sont *staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

II.2.Lieu et période de travail

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau de laboratoires de Biochimie ; d'écologie animale et de microbiologie, de la Faculté Sciences de la Nature et de la Vie ainsi au laboratoire de l'hygiène et pathologie animale de l'ITMA, de l'université de Tiaret, durant une période qui s'étale de décembre 2018 à Mai 2019 pour la réalisation des expériences.

Notre travail est résumé dans l'organigramme suivant :

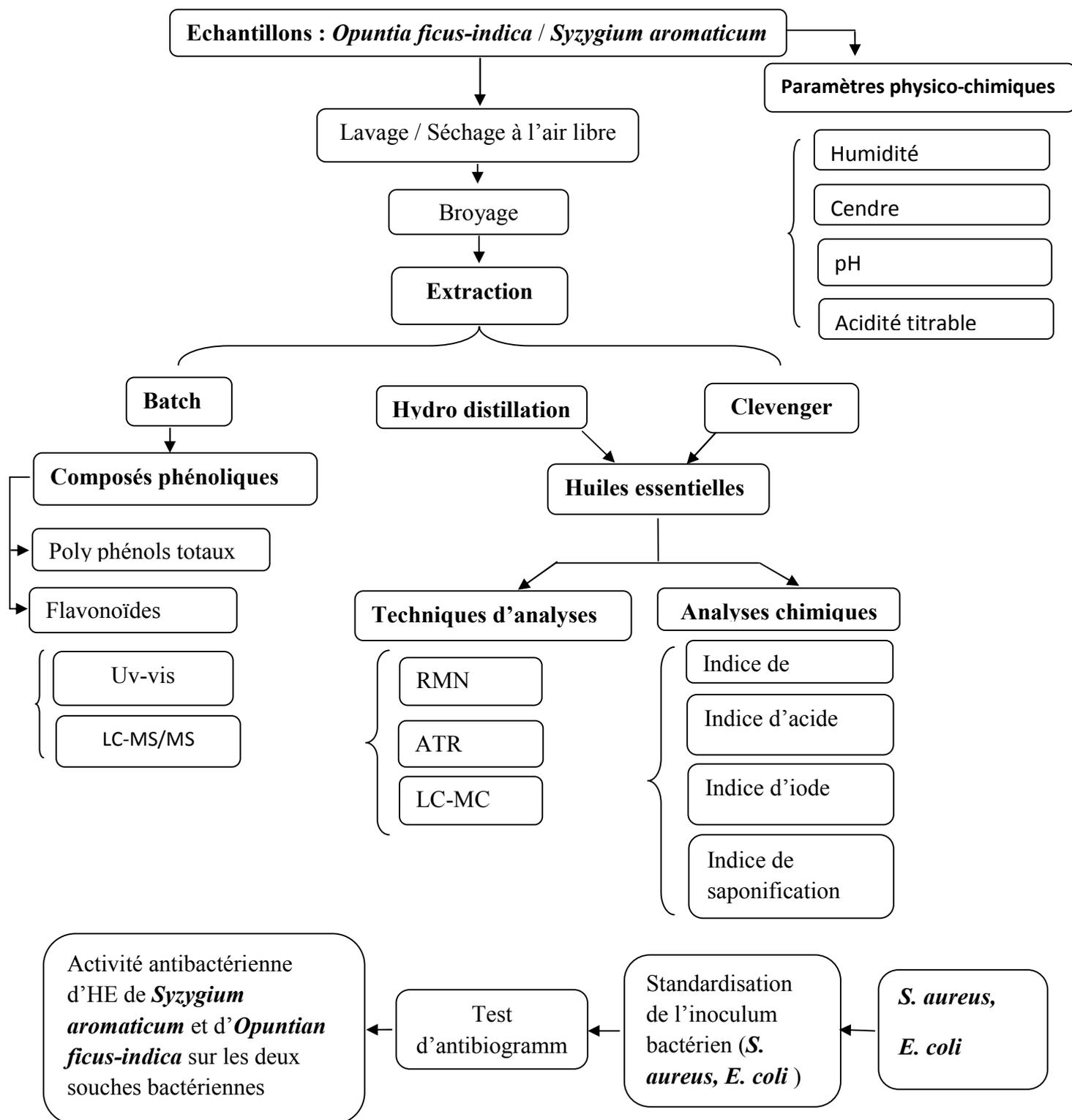


Figure II.1 : Organigramme de protocole expérimental.

II.3. Matériels et méthodes

L'appareillage, la verrerie et les produits chimiques, utilisés pour réaliser nos extractions sont cités dans le tableau II.1.

Tableau II.1 : Matériels et produits utilisés.

Appareillages	Verreries	Produits chimiques
<ul style="list-style-type: none"> - Réfrigérateur - Plaque chauffante - Bain marie - Pompe - Etuve - Four a moufle - Centrifugeuse - Spectrophotomètre - Agitateur - Balance électrique - pH mètre 	<ul style="list-style-type: none"> - Bêchers - Erlenmeyer - Creusets - Ballons - Entonnoirs - Ampoule a décanté - Boites de Pétri - Tubes à essais - Eprovettes Graduées - Fioles jaugées - Cristalliseur - Dessiccateur 	<ul style="list-style-type: none"> - Acide gallique ($C_6H_2(OH)_3COOH$) - Carbonate de sodium ($NaCO_3$) - Eau distillée - Peroxyde - Ethanol pur (C_2H_5OH) - Méthanol pur (CH_3OH) - Quercétine. - Trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). - Réactif de Folin Ciocalteu ($H_3PM_{12}O_{40}$) + ($H_3PW_{12}O_{40}$) - Carbonate de sodium (Na_2CO_3)

II.3.1. Matières végétales

L'*Opuntia ficus indica* (figure II.2) a été récolté au début de novembre 2018 au niveau de la commune de Takhmaret, wilaya de Tiaret et de la région de douar Belhadri de la wilaya da Mostaganem. Les fruits sont triés et lavés avec l'eau distillée afin d'éliminer toutes les impuretés présentes, découpés en petits morceaux puis séchés à l'air libre et à l'abri de la lumière.



Figure II.2: *Opuntia ficus-indica*.

Le *Syzygium aromaticum* (figure II.3) séché a été acheté dans le commerce. Il a ensuite été broyé en particules très fines pour faciliter l'extraction.



Figure II.3: *Syzygium aromaticum*.

II.3.2. Matériel biologique

Les souches bactériennes utilisées sont des souches de référence obtenues auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC). Pour notre étude, les souches utilisées sont : *Escherichia coli* (ATCC25922) et *Staphylococcus aureus* (ATCC25923). Toutes ces souches ainsi que la gélose nutritive ont été aimablement fournies par le laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie Tiaret.

II.4. Analyses physicochimiques de deux plantes

II.4.1. Humidité

✓ Principe

La teneur en eau est définie comme étant la perte de poids de l'échantillon après son séchage dans l'étuve à 105°C (Wrolstad et al., 2005).

✓ Mode opératoire

Peser 5g de l'échantillon dans un creuset et le placer dans l'étuve à 105 °C pendant 3 heures. Après le séchage, mettre le creuset dans le dessiccateur pour refroidir l'échantillon et le peser de nouveau (AOAC, 2000).

✓ Expression des résultats

La teneur en eau se fait par le calcul de la différence de poids avant et après dessiccation selon la formule suivante :

$$\text{TE}\% = \frac{P1-P2}{P0} \times 100 \dots \dots \dots \text{(II.1) où :}$$

TE : teneur en eau % ;

P1 : poids de la prise d'essai(g) ;

P2 : poids du creuset et de l'échantillon avant étuvage (g);

P0 : poids du creuset et de l'échantillon après étuvage (g).

II.4.2. Cendre

✓ Principe

La détermination de la teneur en cendre est basée sur la destruction de toute matière organique par un passage dans un four à moufle où l'échantillon est incinéré à haute température 500C° jusqu'à destruction totale de toute particule carbonneuse et l'obtention d'une cendre blanchâtre (**Nielsen, 2010**).

✓ Mode opératoire

Dans des capsules en porcelaine, peser 10g de l'échantillon découpé en petits morceaux et le placer dans un four à moufle à 500C° pendant 5heures jusqu'à l'obtention d'une couleur grise à blanchâtre. Retirer les capsules du four, et les placer dans un dessiccateur puis les peser (**AOAC, 200**).

✓ Expression des résultats

La détermination de la teneur en matière organique se fait par le calcul de la différence de poids avant et après incinération par la formule suivante :

$$\text{TC}\% = \frac{P1-P2}{P0} \times 100 \dots \dots \dots \text{(II.2) où :}$$

TC : Taux de cendre (%) ;

P0 : poids de la prise d'essai(g) ;

P2 : poids de creuset vide (g) ;

P1 : poids de l'échantillon après incinération (g).

II.4.3.Détermination de pH

✓ Principe

Le pH est mesuré à partir d'un pH mètre, sa valeur est en fonction de la concentration des ions d'hydrogène (H+) présents dans la solution (**Geoffrey, 2011**).

✓ Mode opératoire

Peser 10 g de l'échantillon et ajouter 100 ml d'eau distillée. Agiter le tout pendant 5 min (AOAC, 2000). Le pH mètre est étalonné avec deux solutions tampon (pH7.01 et pH 4.01). Rincer l'électrode avec l'eau distillée et plonger le dans la solution et faire la lecture lorsque l'afficheur est stable.

II.4.4. Acidité titrable**✓ Principe**

L'acidité titrable est déterminée par neutralisation de l'acide présent dans une quantité connue d'échantillon en utilisant une base NaOH en présence de l'indicateur phénolphthaléine (une coloration rose) (Nielsen, 2010).

✓ Mode opératoire

25mL de la solution préalablement préparée est introduite dans un erlenmeyer en présence de quelques gouttes de la phénolphthaléine, neutralisée par une solution d'hydroxyde de sodium NaOH 0.1N jusqu'au changement de coloration (AOAC, 2002).

✓ Expression des résultats

Elle est exprimée par rapport à la teneur en acide citrique, calculée par la formule suivante (AOAC, 2002) :

$$AT (\%) = [V \times N \times 10 \times F / P] \times 100 \dots \dots \dots (II.3) \text{ où:}$$

AT (%) : Acidité titrable ;

V : Volume d'hydroxyde de sodium utilisé dans l'évaluation (mL) ;

N : Normalité d'hydroxyde de sodium ;

F : Facteur de conservation de l'acide citrique =0.0064 ;

P : Prise d'essai (g).

II.5. Préparation des extraits**II.5.1. Extraction des huiles essentielles :**

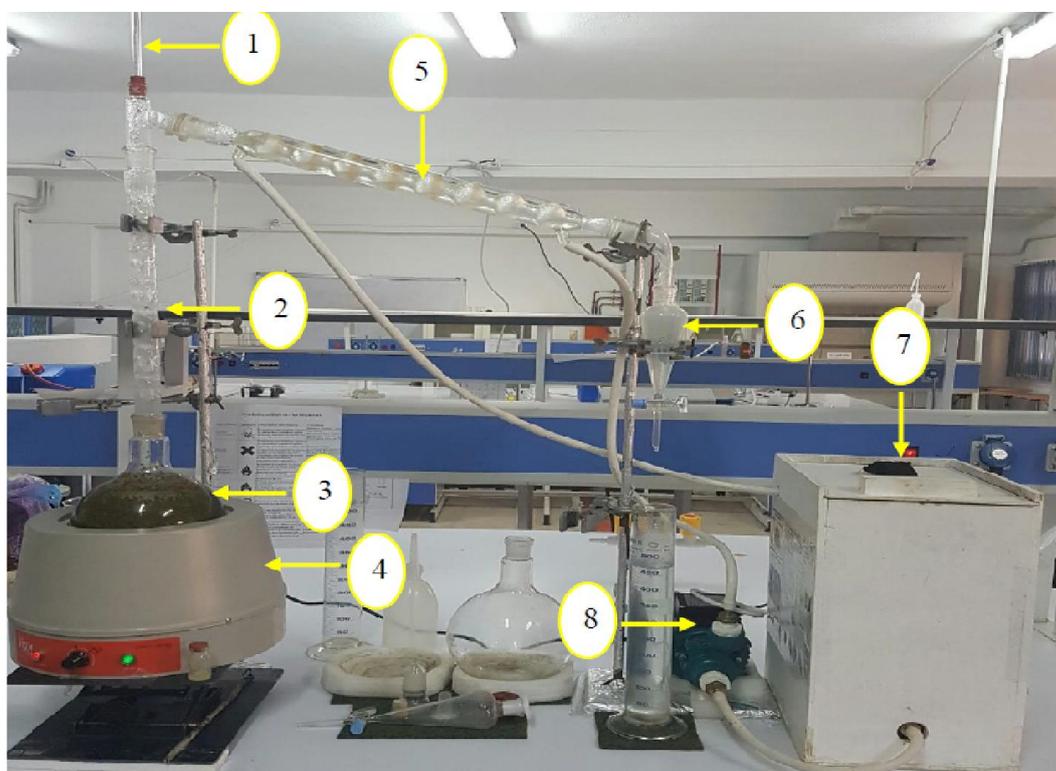
A noter que, les parties utilisées pour effectuer l' extraction des huiles essentielles (HE) de *l'opuntia ficus-indica* et le *syzygium aromaticum* sont, respectivement, les graines et les boutons floraux. De plus, l'extraction a été réalisée par deux procédés qui sont : - Hydrodistillation ; - Clevenger.

✓ Par le procédé de Clevenger

La matière végétale (figes de barbarie) pesée (50g) a été placée dans une cartouche en cellulose. Cette dernière a ensuite été déposée dans un extracteur de type Clevenger, équipé à sa base d'un ballon de 500 ml dans lequel se trouve le solvant (250mL). Le ballon a été chauffé avec un chauffe-ballon, et un réfrigèrent permettait de condenser les vapeurs eau distillée.

Les extraits obtenus (huile essentielle) ont été concentrés à l'aide d'une ampoule à décanter .

L'extrait obtenu par décantation a été conservés à l'obscurité à 4°C.



- | | |
|-----------------------------|-------------------------|
| 1 : Thermomètre | 5 : Colonne réfrigérant |
| 2 : Colonne de distillation | 6 : Ampoule à décanter |
| 3 : Ballon | 7 : Réservoir d'eau |
| 4 : Chauffe ballon | 8 : Pompe à eau |

Figure II.4 : Montage d'hydrodistillation manipulé (Clevenger)

✓ Par le procédé d'hydrodistillation

Dans un ballon de distillation de 1000mL à reflux (figure II.5), nous avons introduit 30 g de nos échantillons et 200 mL d'eau distillée que nous avons chauffé à

température de 100°C. A noter que les extraits étaient filtrés et mis ensuite dans des tubes à essais stériles puis conservés à 4°C.

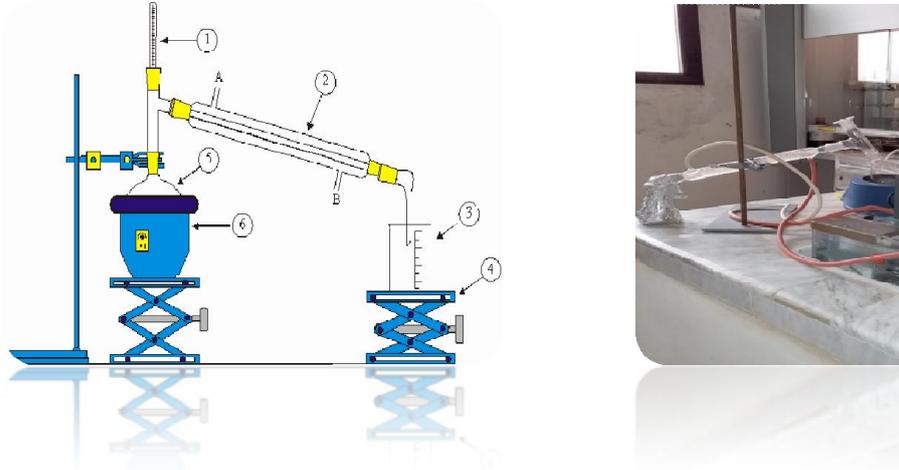


Figure II.5 : Dispositif expérimental d'extraction par hydro distillation.

Le rendement d'HE est le rapport entre le poids d'huile extraite et le poids du matériel végétale utilisé (Bssaibis et al.; 2009). Il est exprimé en pourcentage

$$R (\%) = (M_1 / M_0) \times 100 \dots \dots \dots (II.4) \text{ où :}$$

R : rendement en huile essentielle ;

M₁ : quantité d'HE extraite exprimé en (g) ;

M₂ : quantité de la matière sèche utilisé pour l'extraction (g).

II.5.2. Extraction des composés phénoliques

Pour déterminer la teneur en polyphénols dans nos différents échantillons, nous avons opté pour le procédé en mode batch (figure II.6). Il s'agit d'un dispositif composé d'un ballon de 1000 mL (à bi col) surmonté d'un réfrigérant à reflux et un bain marie, l'agitation a été maximale grâce à un barreau aimanté à vitesse d'agitation constante.

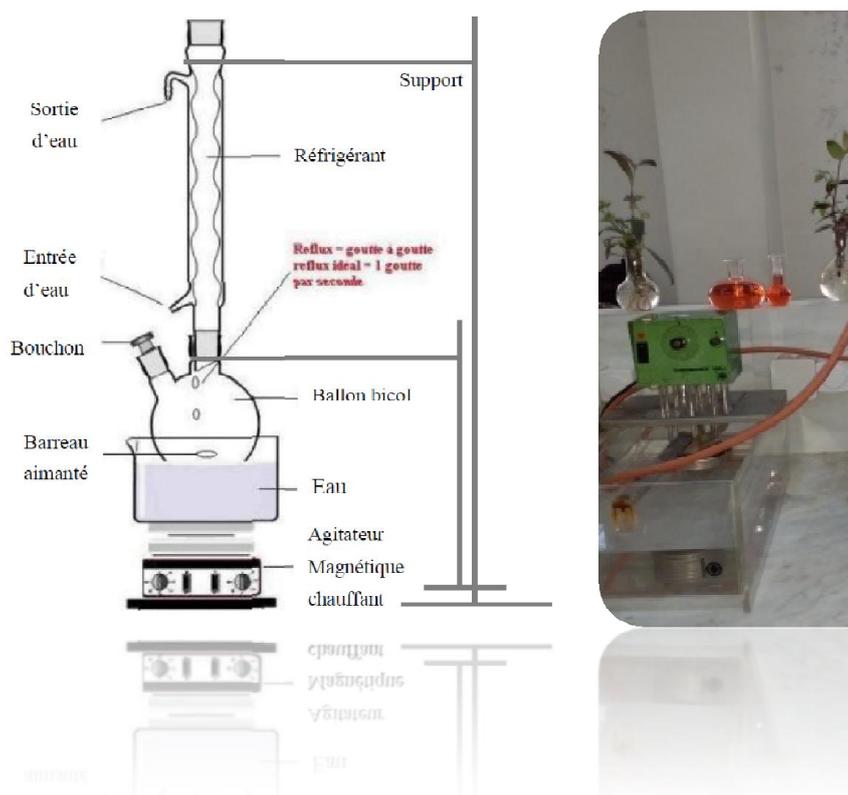


Figure II.6 : Dispositif expérimental d'extraction en mode batch.

L'échantillon de la matière végétale obtenu par le broyage, préalablement pesé, est mis en contact avec le mélange solvant (éthanol-eau, 80%) dans le ballon. Le mélange est agité et maintenu à une température fixée, selon les conditions opératoires.

Après un temps d'extraction bien déterminé, les phases solide et liquide sont séparées par centrifugation à une vitesse de 3500 tours/min pendant 20 minutes. La phase liquide contenant les composés phénoliques est récupérée et conservées à l'abri de la lumière (**Singleton et Rossi, 1965**).

Le poids en extrait sec a été calculé par la différence entre le poids de la boîte pétrie pleine et la boîte de pétri vide. Le rendement de l'extraction est calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{R\% = (PF/P) \times 100 \dots\dots\dots (II.5) \text{ Où :}}$$

R : Rendement d'extraction en pourcentage ;

PF : poids de l'extrait sec en g ;

P : Prise d'essai en 100 g.

II.5.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux, présents dans les extraits, a été évaluée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, décrite par Singleton et Rossi (**Singleton et Rossi, 1965**), en utilisant l'acide gallique comme standard.

Le réactif de Folin-Ciocalteu est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Ceux-ci sont réduits, en présence des polyphénols totaux, formant un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur du mélange est proportionnelle à la concentration des polyphénols totaux.

Des échantillons ont été préparés dans l'éthanol à partir d'une solution mère d'acide gallique de 1 mg/mL dans l'intervalle 1-30 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Un volume de 2.5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée) est ajouté à 0,5 mL de l'échantillon. Le mélange est agité et laissé pendant 5 minutes, puis 2 mL d'une solution saturée de carbonate de sodium (Na_2CO_3) de 75g.L⁻¹ sont versés dans la solution. Les mélanges réactionnels, correspondant à chaque point de gamme et échantillon, sont agités et incubés 10 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. La lecture a été effectuée à $\lambda = 760 \text{ nm}$ (**Singleton et Rossi, 1965**).

II.5.2.1. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïde, présent dans les extraits, a été évaluée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) cité par Singleton et Rossi (**Singleton et Rossi, 1965**),

Un volume de 2 mL de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d' AlCl_3 (2% dans l'éthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à [415- 440] nm a été lue après 10 minutes d'incubation au moyen d'un spectrophotomètre Uv-vis (**Singleton et Rossi, 1965**).

La concentration en flavonoïdes, exprimée en mg équivalent de quercétine par 100g de matière sèche, (mg EQ/100g), est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage donnant l'évolution de l'absorbance à $\lambda = 415 \text{ nm}$, en fonction de la concentration de quercétine (**Singleton et Rossi, 1965**).

II.6. Caractérisation chimiques des huiles essentielles pour les deux plantes

II.6.1. Indice d'acide

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans une gramme de corps gras. La détermination de cet indice selon la norme **(ISO 660, 1977)** est décrite dans (l'annexe).

II.6.2. Indice de saponification

L'indice de saponification est la quantité d'hydroxyde de potassium exprimée, en milligrammes, nécessaire pour saponifier un gramme de corps gras. La détermination de cet indice selon la norme **(ISO 3957, 1977)** est décrite dans (l'annexe).

II.6.3. Indice d'iode

L'indice d'iode correspond au nombre de gramme d'iode fixés sur les doubles liaisons de 100g de matière grasse. La détermination de cet indice selon la norme **(ISO 3961, 1977)** est décrite dans (l'annexe).

II.6.4. Indice de peroxyde

On définit l'indice de peroxyde comme étant le nombre de milléquivalent d'oxygène par kilogramme de corps gras et oxydant d'iodure de potassium avec libération d'iode. La détermination de cet indice selon la norme **(ISO 3960, 1977)** est décrite dans (l'annexe).

II.7. Etude de l'activité antibactérienne

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode de Kirby-Bauer), qui est une méthode semi-quantitative qui permet de déterminer la sensibilité des souches bactériennes et ce à partir d'une plage d'inhibition qui apparait autour d'un disque de papier watt man imbibé de l'extrait.

La standardisation de l'inoculum a été réalisée comme suite :

- A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement, à l'aide d'une anse de platine on prend quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ont été prélevées et mise en culture dans le milieu de culture Muller-Hinton pendant 24h à 37°C.
- Nous avons effectué des dilutions de la suspension dans l'eau physiologique à fin de standardiser l'inoculum.
- Ce dernier doit être ajusté à une densité optique entre 8-13 à 625nm.

✓ Principe de la méthode

- La réalisation d'un antibiogramme consiste à une comparaison entre l'effet de deux huiles essentielles et de l'antibiotique NALIDIXIC ACID (NA).
- Parmi les différentes méthodes d'évaluation de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques, celle dites de diffusion en milieu gélosé s'avère la plus utilisée pour réalisation d'un antibiogramme. Cela consiste à placer un disque de papier imprégné d'antibiotique sur la gélose inoculée au préalable. L'antibiotique s'humidifie puis diffuse dans le milieu en provoquant un gradient de concentration décroissant autour du disque.

Nous pouvons schématiser tout ce processus comme suit :

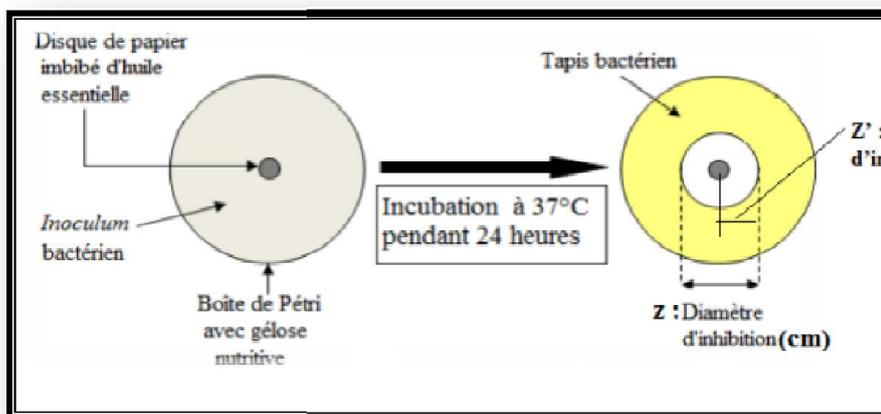


Figure II.07 : Principe de la méthode de diffusion par disque.

Le protocole que nous avons adopté est le suivant :

- Des disques de papier filtre stérile Watt man de 6 millimètres de diamètre sont imprégnés de différentes solutions des extraits préalablement.

• Des boîtes de pétri contenant une gélose Mueller-Hinton sont ensemencées par les différentes souches bactériennes. À l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés à la surface du milieu ensemencé (étalé). Les boîtes sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37 °C. Après l'incubation, l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour des disques d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance (dans le cas où l'extrait possède une activité antibactérienne). Le diamètre de cette zone d'inhibition est mesuré. Plus ce dernier est grand plus la souche est sensible.

La sensibilité des différentes souches vis-à-vis d'HE est classée selon le diamètre d'inhibition (mm) autour de chaque disque. Cette sensibilité est calculée à l'aide d'une règle en appliquant la formule suivante (**Ponce et al., 2003**) :

- Non sensible (-) ou résistante : $\emptyset < 8\text{mm}$;
- Sensible (+) : $9 < \emptyset < 14\text{mm}$;
- Très sensible (++) : $15 < \emptyset < 19\text{mm}$;
- Extrêmement sensible (+++) : $\emptyset > 20\text{ mm}$.

II.8. Techniques d'analyses utilisées

II.8.1. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La spectroscopie RMN est un outil indispensable, non seulement, pour la détermination structurale et également pour évaluer la composition et la distribution d'oligomères au sein de nos échantillons, mais également pour calculer les longueurs des chaînes, le degré de « hasard » et la probabilité de trouver une unité constituante dans la chaîne. A noter que les analyses ont été effectuées par deux méthodes, à savoir, la RMN du proton, ^1H -RMN, et du carbone 13, ^{13}C -RMN qui sont étudiées à des fréquences comprises entre 200 et 600 MHz. Les échantillons sont solubilisés dans l'acétone. Dans notre recherche, nous l'utiliserons donc pour identifier la structure de nos échantillons. Les spectres RMN sont enregistrés sur un appareil Bruker Avance III 9.4 Tesla à 400MHz. Les conditions opératoires appliquées sont :

➤ RMN du proton, ^1H -RMN

- spectral width=20 ppm
- acquisition time = 4.089s
- number of scans = 16
- relaxation time = 1s

➤ RMN du carbone 13, ^{13}C -RMN en mode APT

- spectral width=238.89 ppm
- acquisition time = 1.36s
- number of scans = 700
- relaxation time = 2s

II.8.2. Spectroscopie Infrarouge(ATR)

La spectroscopie Infrarouge est applicable à tous types de composés (solide, poudre, liquide). Cette technique est plus souvent utilisée pour vérifier la structure d'un produit que pour l'identifier. De même, elle permet de faire la distinction entre deux composés renfermant les mêmes groupements fonctionnels, mais d'enchaînements différents. Il est également possible d'analyser des produits de dégradation.

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet, via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau.

Cette méthode est utilisée dans le but de faire une étude qualitative, en identifiant les espèces qui ont migré. Les spectres ont été enregistrés avec un spectromètre SMART, TR Nicolet 6700 FT-IR; les mesures sont effectuées avec une résolution de 4cm^{-1} et 16 balayages.

II.8.3. Chromatographie liquide (LC-MS)

La séparation des extraits a été réalisée par chromatographie liquide en phase inverse couplée à un détecteur UV à barrettes de diodes et à un spectromètre de masse de type triple quadrupôle de marque Shimadzu LC-MS/MS 8030. La séparation des composés est réalisée sur une colonne Phenomenex Luna 3u C18, thermostatée à 40°C . Les solvants utilisés pour l'élution sont l'eau et l'acétonitrile contenant chacun 0,1% l'acide formique. L'élution est effectuée en mode gradient avec un débit de $0,4\text{mL}/\text{min}$ et le volume d'injection de $2,0\ \mu\text{L}$. La détection est effectuée en utilisant le détecteur UV à barrettes de diodes sur une gamme de détection comprise entre 190 et 800 nm. Les paramètres de détection MS sont : le gaz de nébulisation (N_2) avec un

débit 3,0 L/min, le gaz de séchage avec un débit 15 L/min, le voltage d'interface : 4,5 Kv, la pression du gaz 230 kPa, la CDL température : 250 °C, « block heater température» 400°C, gamme m/z 100-2000.

CHAPITRE III :

RESULTATS ET DESCUTION

CONCLUSION GENERALE

Conclusion

Il y a de nos jours un intérêt grandissant pour l'utilisation des matières naturelles et biologiques, surtout dans le secteur de l'agroalimentaire. De plus en plus, l'homme tente de retourner à ses racines et de peu à peu abandonner l'artificiel, qui de jour en jour révèle ses défauts et ses effets secondaires pouvant entraîner des gênes, voire des maladies graves.

A grands renforts de publicités tapageuses et de slogans bien faits, les entreprises s'engouffrent dans le business du « bio » et tentent de proposer des produits aussi fidèles que ceux fabriqués auparavant avec des produits chimiques, mais avec des éléments naturels qui ont poussé sans l'utilisation d'engrais organiques.

C'est dans cette optique qu'un bon nombre d'études se sont faites ces dernières années et qui ont pour objectif la mise au point de tels produits sans qu'il y ait des manquements aux normes qu'elles soient qualitatives ou sanitaires.

L'objectif de notre étude était, d'une part, d'extraire les huiles essentielles, mais aussi celles des composés phénoliques présents dans les extraits aqueux obtenus en parallèle par différents procédés (extraction en batch et par Clevenger) de deux plantes : figues de Barbarie et de clou de girofle et, d'autre part, à l'évaluation de l'activité antibactérienne de ces extraits sur deux espèces bactériennes qui sont *staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* en utilisant la méthode de diffusion de disque sur gélose. L'extraction des huiles essentielles a été faite par deux procédés, à savoir : hydrodistillation et Clevenger, par contre celle des polyphénols a été réalisé en mode batch.

A la lumière de tous les résultats que nous avons obtenus, nous pouvons formuler les conclusions suivantes :

- Les EHs ont été d'abord caractérisées, leurs propriétés physico-chimiques présentent des caractéristiques conformes aux normes ;
- Les meilleurs résultats en terme de quantité d'extraction des EHs est de Clevenger comme procédé d'extraction ;
- Les meilleurs résultats en terme de quantité d'extraction des antioxydants phénoliques est le mode en batch comme procédé d'extraction ;
- La spectroscopie ATR a permis d'identifier les groupements fonctionnels constituant les espèces étudiées et de confirmer que les deux espèces ont le même profil similaire en composition ;

- L'ensemble des résultats qualitatifs obtenus par LC-MS/MS confirment ceux obtenus par colorimétrie ;
- Cette technique nous a permis d'identifier deux composés phénoliques tels que l'acide gallique et les flavonoïdes avec des quantités importantes ;
- La technique RMN ^{13}C et ^1H a permis d'identifier et de quantifier des constituants des mélanges naturels.

Le travail que nous avons réalisé nous a également permis de tirer des conclusions concernant les perspectives d'avenir pour le CG, En effet, le potentiel antioxydant et antimicrobien de cette plante est indéniable ; et ce que nous proposons pour développer et enrichir ce travail est de faire non plus une simple extraction à l'éthanol-eau mais une série d'extractions avec plusieurs solvants volatiles et ce afin de récupérer des composés plus actifs biologiquement. Il faudrait également procéder à une analyse par LC-UV/MS des constituants obtenus après extraction pour avoir une meilleure idée des polyphénols qui interviennent dans les activités biologiques.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

-**AOAC., 2000.** Official methods of analysis, 17th Ed, Maryland, USA, 360p.

-**AOAC., 2002.** Official methods of analysis, 17th Ed, Gaithersburg, USA, 480p.

- **Arba M., 2006.** 'Dellahia' a cactus pear cultivar from the Mediterranean coast of northern Morocco.

-**Athamena S., 2009.** Etude quantitative des flavonoïdes des grains *Cuminum Cyminum* et les feuilles de *Rosemarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique.

B

-**Barbelet S., 2015.** Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle.

-**Barbera G., Inglese P and Pimienta-Barrios E., 1994.** Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO. Rome (Italy): 20-27.

-**Benayad N., 2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines; moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Université Mohammed V- Agdal. Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Eclair. Département de Chimie. Faculté des sciences de Rabat. P 61.

Bennick A., 2002. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 13 (2), 184-196.

-**Boullard B., 2001.** Plantes médicinales du monde : croyances et réalités. Paris, Ed. ESTEM, p. 511-512.

-**Bouquet A., 1972.** Plantes médicinales du Congo-Brazzaville *Uvariopsis, pauridiantha, Diospyros*, ORSTOM, Paris, 1-40p

C

-**Calsamiglia S., Busquet, M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A., 2007.** Invited review. Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation journal of Dairy Science. 90; 2580-2595.

-Cherif E., 2016. L'essentiel de l'agroalimentaire et l'agriculture, n°100, France, ISSN : 0249-020x, pp 68.

-Cheynier V., 2005. Polyphenols in foods are more complex than often thought, the American journal of clinical nutrition, 81, 223S-229S.

-Chougui N., Abderezak Tamendjari A., Hamidj W., Hallal S., Barras A., Tristan Richard T et Larbat R., 2013. Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. Ed : Food Chemistry 139, p 796–803.

-Croteau R., 1986. Biochemistry of Monoterpenes and Sesquiterpenes of the Essential oils Herbs, spices and medicinal plants, Recent Avance in botany, horticulture and pharmacologie, Vol.1, oryx press, p. 81-133.

D

-Danièle F., 2008. Mabile des huiles essentielles guide complet d'aromathérapie. Ed : quotidien malin, France, 549p.

-Dupont., 2012. Acta Horticulturae, 728, 37-41. Le cactus *Opuntia*, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture durable au Maroc.

E

-Ecologie, culture et utilisation du figuier de barbarie, Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (2018). Publie par l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture et le Centre International pour la Recherche Agricole dans les Zones Arides, ISBN 978-92-5-130344-3.

-Erman W.F., 1985. Chemistry of monoterpenes, BaIe, Inc., New-York, 1- 814p

-Expertise mademoiselle bio ([http:// expertise. Mademoiselle-bio.com/Index/2019/06/1141](http://expertise.Mademoiselle-bio.com/Index/2019/06/1141)).

G

-Gaoua, N., 2011. Etude de la valeur nutritive de la courbe de différentes Variétés Algériennes. Thèse de magistère en Nutrition. Université Abou Bakr Belkaid. Tlemcen. 95p

-Garnon P., 1991. 3^{ième} rencontres techniques et économiques : plantes aromatique et médicinale Nyons 2-3-4 décembre, pp. 216-231.

-Geoffrey C.P., 2011. Food science and technology. Ed John Wiley & Sons. USA 520p.

-Gungor N., Sengul M., 2008. Antioxidant activity. Total phenolic content and selected physicochemical properties of white mulberry (*Morus alba* L) fruits. International journal of Food Properties. 11 : 44-52.

H

-Heywood V.H., 1996. Les plantes à fleurs : 306 familles de la flore mondiale. Paris : Ed. Nathan, p. 11 ; 13-15.

I

- **ISO., 1977.** Organisation international de normalisation n° 660.

- **ISO., 1977.** Organisation international de normalisation n°3957.

- **ISO., 1977.** Organisation international de normalisation n° 3961.

- **ISO., 1977.** Organisation international de normalisation n° 3960.

K

-Kavirindi I.U., Dupreez P.J., and Brown L.R., 2010. distribution and potential invasion of *Opuntia* spp. On selected Namibian sites (<http://mak.ac.ug/documents/RUFORUM/Kavindiri.pdf>), Second RUFORUM BIENNIAL meeting 20-24 September 2010, Entebbe, Uganda ()).

-Khenaka K., 2011. Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogènes ruminale chez l'ovin. Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée. Université Mentouri Constantine. Faculté des Sciences de la Nature et de la vie. Département de biochimie et de microbiologie. P 81.

L

-Lefief A., 2012. Le grand livre des huiles essentielles. Ed, ESI Paris 191p .

-Lutz., 1940. Bull. Soc. Chim. Bio., 22, 197 p

M

- **Middleton Jr E., Kandaswami C., and Theoharides T. C., 2000.** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer, *Pharmacological reviews*, 52, 673-751.
- Marouf A., and Raynaud J., 2007.** La botanique de A à Z: 1662 définitions. Recherche, 67.
- Messaid H., 2008.** Optimisation du processus d'immersion-réhydratation du système dates sèche-jus d'orange. Mémoire de magistère en Génie alimentaire. Université Mhamed Bouguara. Boumerdés. 47p.
- Moro Buronzo, A. (2008).** Grand guides des huiles essentielles : Santé- beauté bien – être. Ed : Hachette pratique. Italie, 254p.
- Moro Buronzo, A., Jean Charles, S. (2012).** Huiles essentielles : les 18 huiles essentielles pour se soignes. Ed : First Edition., Italie, 160p
- Mulinacci N., Romani A., Galardi C., Pinelli P., Giaccherini C et Vincieri., 2001.** polyphenolic content in olive oil waste waters and related olive samples. *Journal of agricultural and food chemistry* 49 : 3508-3514.

N

Nielsen S.S., 2010. Food analysis 4th .Ed springer USA 602p.

P

- Paris R.R et Moyse H.(1965).** Précis de Matière médicale, tome II : pharmacognosie spéciale. Ed .Masson et Cie, Tome I, 511
- **Pietta P.-G., 2000.** Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products* 63, 101035-1042. .
- Pincemail J., et al., 1998.** Espèces oxygénées en médecine humaine: une approche didactique. *Vaisseaux, Coeur, Poumon*; 3: 133–8.
- Ponce A.G., Fritz R., Delvalle C et Roura S.I., 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the nature microflora of organic swiss chard. *Libensmittel-wissenschaftuna technology*. P 500-508.

R

-Ramarijaona rabary BC., 1985. Le giroflier de Madagascar : conditions de production et différentes utilisations. Thèse de chirurgie dentaire. Université de Nancy I, 110 f.

-Ranoarisoa KM., 2012. Evolution historique et état des lieux de la filière girofle à Madagascar [Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur Agronome]. Antananarivo : Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques. 89p.

-Richard H.M.J., Etievant P., 1997. Représentativité des extraits d'aromes réalisés.

-Roux R., 2005. Conseil en aromathérapie 2ème Edition, pro-officia., p187. Their. main components upon *Cryptococcus neoformans*. Mycopathologie. 128 : p, 151-153.

S

-Salgado T.T., Mauseth J.D., 1997. Shoot anatomy and morphology. Dans *Cacti: Biology and Uses* ;P.S.Nobel Ed., 1997 ;pp 23-56. Memoire de contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation du pouvoir antioxydant des graines du figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*) de la région de Tlemcen.

-Samate Abdoul D., 2001. Composition chimiques des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso ; Valorisation, thèse de doctorat, Univ d'Ouagadougou, Burkina Faso.

-Schweizer M., 1997. Docteur Nopal le médecin de bon dieu, ISBN 2-912978-07-6.

Singleton VL., Rossi JA., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. Am j Enol Vitic 16:144-158.

T

Terrab A., Diez M.J., Heredia F.J., 2003. Palynological, Physicochemical and color characterization of Moroccan baneys : Orange (citrus sp) honey. International Journal of Food science uand Technology.38: 387-394.

Teuscher E., Anton R., et Lobstein A., 2005. – plantes aromatiques: épices, aromates, condiments er huiles essentielles. Tec et Doc éditions, Paris.

-Tlili N., Bargougui A., Elfalleh W., Triki S., Nasri N., J. Med. Plants (2011). Res. 5 (18) 4519 – 4524.

V

Vermeulen F., Johnston MD L., 2011. Plants, homeopathic and medicinal uses from a botanic family perspective. Volume 3. Glasgow : Saltire Books ; 2011. p. 729-745.

-Velé H., 2015. Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phyto médicaments. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Angers UFR sciences pharmaceutiques et ingénierie de la santé, 253p.

-Verschaffelt., 1910. K.gl.AK.Amsterdam, 536p.

-Visioli F., Romani A., Mulinacci N., Zarini S., Conte D., Vincieri F.F et Galli C., 1999. Antioxidant and other biological activities of olive mill waste waters. Journal of agricultural and food chemistry, 47(8), 3397-401. These influence des proteines laitières sur le pouvoir antioxidant et la biodisponibilité des polyphénols du café.

W

-Wallace R.S., Gileson A.C., 1997. Evolution and Systeematics. Dans Cacti. Biology and uses; P. S. Nobel Ed., 1997 ; pp.1-21. Memoire de contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation du pouvoir antioxydant des graines du figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*) de la région de Tlemcen.

-Wrolstad R.E., Decker E.A., Schwartz S.J et Sporns P., 2005. Handbook of food analytical chemistry, water, proteins, enzymes, lipids and carbohydrates. Ed. John Wiley and Sons. Canada 427-428p.

-<https://www.aujardin.info/plantes/syzygium.aromaticum.php#bDHJWYXbwPMDAIQC.99>

ANNEXE

Annexe

Annexe N° 02 : Hydro distillation pour la plante *Syzygium aromaticum*



Etape 1 : broyage



Etape 2 : tamisage



Etape 3 : Rinçage



Etape 4 : Hydro distillation



Etape 4 : décantation

Figure N° 20 : Hydro distillation pour la plante *Syzygium aromaticum*.

Annexe N° 03 : Hydro distillation pour *Opuntia ficus-indica*.



Etape 1 : broyage



Etape 2 : Tamisage



Etape 3 : Hydro distillation



Etape 4 : décantation

Figure N°20 : Hydro distillation pour la plante *Opuntia ficus-indica*.

Annexe N° 04 : les paramètres chimiques.

A1 : Indice d'acide.

La prise d'essai est mise en solution dans un mélange de solvant. La solution ainsi obtenue est titrée par une solution éthanoïque d'hydroxyde de potassium en présence d'un indicateur.

L'indice d'acide (I_a) exprimé en mg KOH /g d'huile est donné par la formule suivante :

$$I_a = 56,1 \times v \times c \backslash M$$

Soit :

V : est le volume en millilitres, de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisé pour la prise d'essai.

C : est la concentration exacte en mole par litre de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée.

M : est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

➤ Mode opératoire :

1g d'huile est préparé dans un ballon à col rodé ; plus 10 ml d'éthanol préalablement neutralisé, puis titré en agitant avec la solution d'hydroxyde de potassium à 0,1 mol /l plus quelque gouttes de phénolphtaléine, l'opération s'arrêtera au virage vers Le rose pâle.

A2 : Indice de saponification

La saponification est obtenue à chaud par ébullition à reflux d'un échantillon avec une solution éthanoïque d'hydroxyde de potassium.

L'excès d'hydroxyde de potassium est titré par une solution d'acide sulfurique.

$$I_s = (v' - v) \times T \times 56,1 / M$$

Soit :

T : est la normalité de la solution d'acide sulfurique.

Annexe

V' : est le volume, en millilitres, de la solution d'acide sulfurique utilisé pour l'essai à blanc.

V : est le volume, millilitres, de la solution d'acide sulfurique pour la prise d'essai

M : est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

➤ Mode opératoire :

Dans un ballon à col rodé 1g du corps gras à analyser est pesé, à quoi est ajouté 12,5ml de solution éthanoïque titrée d'hydroxyde de potassium à 0,5 mol /l. et porté à l'ébullition sous réfrigérant à reflux pendant une demi heure en agitant de temps en temps (Il convient de prolonger l'ébullition dans le cas de corps gras à haut point de fusion), la solution la solution savonneuse chaude est titrée avec l'acide sulfurique en présence de phénolphtaléine . un essai à blanc est fait parallèlement dans les mêmes conditions.

A3 : indice d'iode

➤ Mode opératoire :

Pour la détermination de cet indice, une prise d'essai de 1g introduite dans un ballon à col rodé et mélangé avec 7,5 ml de chloroforme pour dissoudre la matière grasse. Puis 12,5 ml de réactif de mono bromure d'iode ; le ballon est bouché et agité doucement et placé le à l'abri de la lumière durant un demi heure.

Après ce temps, 10 ml de la solution d'iodure de potassium et 75 ml d'eau distillée est ajoutés avec quelques gouttes d'empois d'amidon comme indicateur, le mélange est titré avec la solution de thiosulfate de sodium à 0,1N, jusqu'au moment où la couleur brune disparaît après avoir agité vigoureusement. Parallèlement à la prise d'essai, effectué un essai à blanc.

Formule de Calcul de l'indice d'iode :

$$I_i = 12,96 \times T(V - V')/M$$

Soit :

T : est la normalité de la solution de thiosulfate de potassium, utilisée pour la prise d'essai.

Annexe

V' : est le volume, en millilitres, la solution de thiosulfate de potassium, utilisée pour l'essai à blanc.

V : est le volume, en millilitres, la solution de thiosulfate de potassium, utilisée pour la prise d'essai.

M : est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

A4 : indice de peroxyde.

➤ Mode opératoire :

Pour la détermination de cet indice, une prise d'essai de 1g est introduite dans un ballon à col rodé et mélangée avec 5 ml de chloroforme pour dissoudre la matière grasse en ajoutant, respectivement, 75 ml d'acide acétique et 0,5 ml d'iodure de potassium saturée fraîchement préparée. Le ballon est bouché et agité durant une minute, puis laissé à l'abri de la lumière pendant 5 minutes.

Puis 37,5ml d'eau distillée est ajoutée avec quelques gouttes d'empois d'amidon comme indicateur, le mélange est titré avec la solution de thiosulfate de sodium à 0,01N.

Parallèlement à la prise d'essai, effectuer un essai à blanc.

Formule de Calcul de l'indice de peroxyde :

$$I_p = T \times (V - V') / M \times 100$$

Soit :

T : est la normalité de la solution de thiosulfate de sodium, utilisée pour la prise d'essai.

V' : est le volume, en millilitres, la solution de thiosulfate de sodium, utilisée pour l'essai à blanc.

V : est le volume, en millilitres, la solution de thiosulfate de sodium, utilisée pour la prise d'essai.

M : est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

Annexe

Annexe N° 05 : préparation des courbes d'étalonnage pour le dosage des polyphénols.

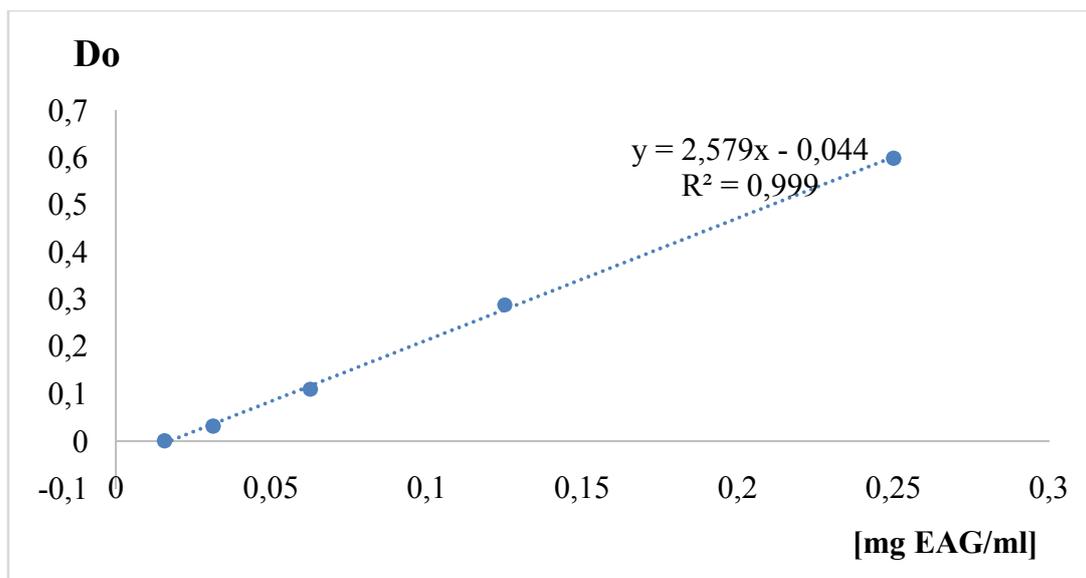


Figure N° 21 : concentration d'acide gallique

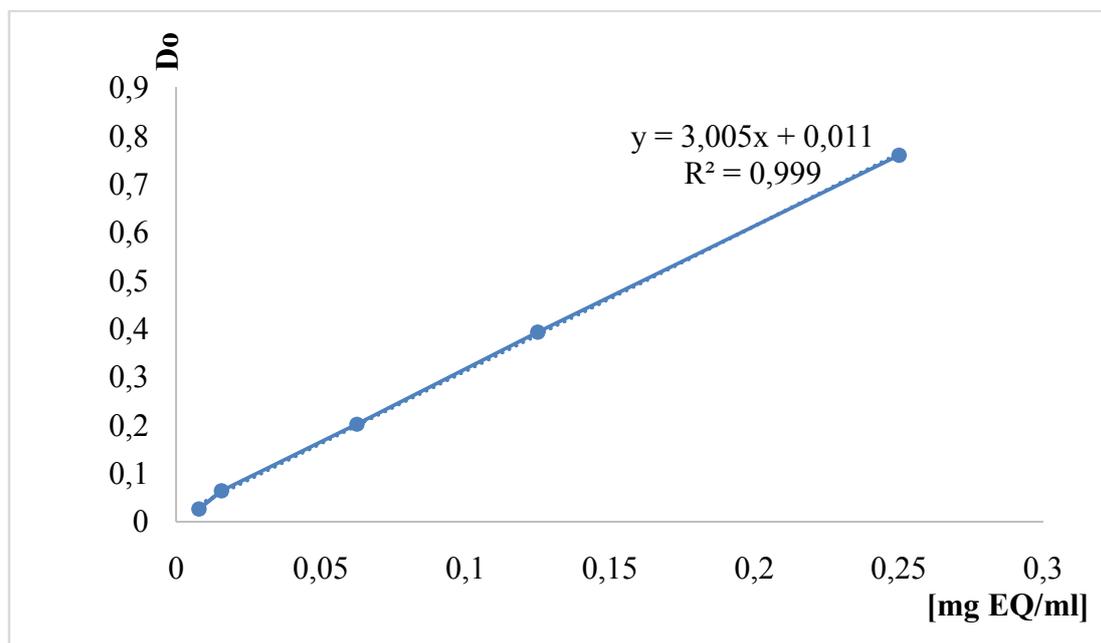


Figure N° 22 : concentration de quercétine

Annexes

Annexe N° 01 : Préparation du Matériel végétal



Opuntia ficus-indica



Syzygium aromaticum



Plantes après triage et lavage



deux plantes après séchage



La conservation de deux plantes

Figure N° 19 : préparation du artériel végétales.

Résumé

Notre étude consiste, d'une part, à extraire les huiles essentielles, mais aussi celles des composés phénoliques présents dans les extraits aqueux obtenus en parallèle par différents procédés (extraction en balth et par Clevenger) de deux plantes, à savoir, figes de barbarie (*Opuntia ficus-indica*) et celle du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et, d'autre part, à l'évaluation de l'activité antibactérienne de ces extraits sur deux espèces bactériennes qui sont *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* en utilisant la méthode de diffusion de disque sur gélose. Par ailleurs, nous avons intéressés par la caractérisation des huiles essentielle et l'identification des composés phénoliques par des techniques d'analyses : la chromatographie liquide (LC-MS/MS), la résonance magnétique nucléaire (RMN) et l'infrarouge à transformée de Fourier (ATR).

La LC-MS/MS a permis d'identifier et de quantifier les antioxydants phénoliques présents dans deux extraits aqueux.

Mots clés : extraction, huile essentielle, composés phénoliques, figes de barbarie, clou de girofle, activité antibactérienne.

Abstract

Our study consists, on the one hand, in extracting the essential oils, but also those of the phenolic compounds present in the aqueous extracts obtained in parallel by different processes (extraction in balth and by Clevenger) of two plants, namely, figs of barbarism (*Opuntia ficus-indica*) and that of clove (*Syzygium aromaticum*) and, on the other hand, the evaluation of the antibacterial activity of these extracts on two bacterial species which are *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* using the method disc diffusion on agar. In addition, we were interested in the characterization of essential oils and the identification of phenolic compounds by analytical techniques: liquid chromatography (LC-MS / MS), nuclear magnetic resonance (NMR) and Fourier infrared transform (ATR).

LC-MS / MS identified and quantified the phenolic antioxidants present in two aqueous extracts.

Key words: extraction, essential oil, phenolic compounds, prickly pears, cloves, antibacterial activity.

ملخص

تتضمن دراستنا من ناحية استخراج الزيوت الأساسية و المركبات الفينولية الموجودة في نباتين مختلفين هما التين الشوكي البربري (*Opuntia ficus-indica*) والقرنفل (*Syzygium aromaticum*) المستخرجة بطرق مختلفة (Clevenger et hydrodistillation) و من ناحية أخرى تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا على نوعين من البكتيريا هما المكورات العنقودية (*S.aureus*) و المكورات العنقودية الذهبية (*E.coli*) بإتباع طريقة نشر القرص على الجيلوز.

كنا مهتمين بتوصيف الزيوت و تحديد المركبات عن طريق التقنيات التحليلية اللوني السائل (LC-MS/MS) الرنين المغناطيسي النووي (RMN) و تحويل للأشعة تحت الحمراء (ATR).

الكلمات المفتاحية : الزيوت الأساسية التين الشوكي البربري القرنفل المركبات الفينولية نشاط مضاد للبكتيريا