



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

قسم: الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie.

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Evaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante de
l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).**

Présenté par : MAKHLOUFI Lamis

Le : 08/06/2024

TABCHICHE Roukaya

Jury d'évaluation :

Président : KHEDARA A. (MC(A) - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : AYECHHE A. (MA(B) – U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinatrice : BENSMIRA S. (MA(A) - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire
2023 - 2024**



Remerciement

Toute notre gratitude et remerciements avant tout vont à Allah Qui nous a donné la santé, la force, la patience le courage et la volonté afin d'accomplir ce modeste Travail

*À **Mme Ayeche A.** pour son aide et surtout ses corrections du manuscrit, et ses critiques judicieuses, On la remercie pour son soutien moral, pour sa disponibilité sa patience lors de la réalisation de ce mémoire. On a trouvé auprès d'elle compétence, rigueur, générosité et sympathie*

Nous tenons à manifester notre profonde reconnaissance

*À ^M**KHEDARA A.** d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire*


*Mme **BENSMIRA S.** qui nous fait le grand honneur d'évaluer ce modeste travail*

À tous nos enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et surtout du département de Biochimie et Biologie Moléculaire, de l'Université Frères Mentouri Constantine1.

*Nous adressons également nos remerciements particuliers aux chercheurs du Centre de Recherche Scientifique Biotechnologique, et surtout monsieur **Kashi I.**, pour leur aide précieuse.*

Et un grand Merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, d'une façon ou d'une autre, à l'aboutissement de ce travail.

Roukaya et Lamis





Dédicace

À mes plus grands soutiens et sources d'inspiration, je dédie ce travail avec tout mon amour et ma reconnaissance infinis,

À ma mère, qu'aucun hommage ne saurait transmettre sa valeur. Tu es, et tu restes pour moi ma référence. J'implore Dieu, tout puissant, de t'accorder une bonne santé, une longue vie afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.

À mon père qui m'a appris l'importance du travail acharné, de la persévérance et de l'honnêteté, je suis reconnaissante pour tes conseils avisés et ton soutien sans faille. Tu m'as inspiré à viser plus haut et d poursuivre mes rêves. Je te suis infiniment reconnaissante pour ton soutien indéfectible, ta confiance en moi et ton amour.

À mon frère Abd elkarim ainsi qu'à mes sœurs Fatiha, Meriem et wafa qui sont aussi mes meilleures amies, merci pour votre soutien constant, votre humour contagieux et votre présence réconfortante. Vous êtes ma source de joie et de bonheur, et je suis fière de vous avoir dans ma vie

À mes nièces et neveux Rimas, Mohamed, Younes et Nadjmeddine qui ont rempli ma vie de tant de bonheur et de joie

À mes très chères amies Rayane, Hadil, oumeima, soufia, Fatima, Mayar, Nesrine et à tous mes amis avec qui j'ai passé un parcours exceptionnel et avec qui j'ai partagé mes plus beaux souvenirs

Enfin, à mon binôme Lamis qui est devenue une amie chère et une collaboratrice talentueuse, merci pour notre collaboratrice talentueuse, et notre amitié.

Au-delà des noms cités, il existe un cercle précieux de personnes qui ont joué un rôle significatif dans mon parcours. Je vous exprime ma reconnaissance pour votre présence et votre soutien qui ont marqué positivement ma vie.

Roukaya



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents pour leur soutien indéfectible et leur amour inconditionnel tout au long de mon parcours académique et professionnel.

A mes chers frères : Salah, Zaki, Nidal et mes chères sœurs : Rima, Imane et Rayene

A mes neveux et nièces : Mohamed, tamim , Nour ,Farah , Sadjed , Kawther, Abd Elmouiz , Idriss, Aridj , Tadjeddin , Wassim, Ikhlaz.

A mes meilleures amies : Chaima et lilia

Son oublier mon binôme Roukaya et sa famille que je remercie énormément, pour leurs sincère gentillesse

Lamis

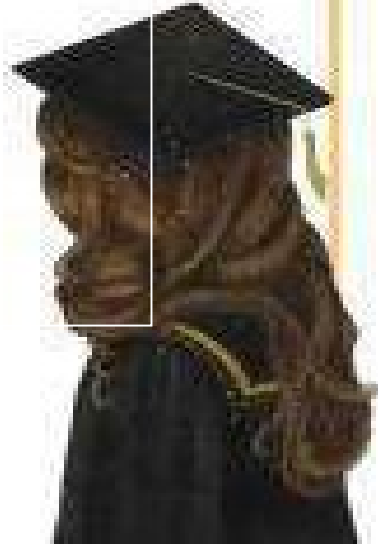


Table des matières

Liste des acronymes

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : le clou de girofle

1. Historique	3
2. Description botanique de girofle	3
3. Répartition géographiques	6
4. Nomenclature et dénomination mondiale.....	6
5. Classification	7
6. Culture et récolte	8
7. Période de récolte	8
8. Composition chimique du clou de girofle	9
9. Eugénol.....	10
9.1. Présentation	10
9.2. Propriétés physico-chimiques.....	10
9.3. Propriétés biologiques	11
9.4. Toxicité.....	11

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

1. Définition	12
2. Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante	12
3. Composition chimique des huiles essentielles	13
3.1. Les terpènes	14
3.2. Les composés aromatiques (phénoliques)	14
3.3. Autres composés.....	14
4. Rôle	14
5. Caractéristiques des huiles essentielles.....	14
5.1. Caractéristiques organoleptiques	14

5.2. Les propriétés physico-chimiques	15
6. Toxicité des huiles essentielle	15
7. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	15
7.1. Hydro distillation.....	16
7.2. Expression à froid.....	17
7.3. Entraînement à la vapeur d'eau	17
7.4. Extraction par solvants organiques.....	18
7.5. Extraction par micro-ondes	18
8. Conservation de l'huile essentielle.....	19
9. Usages et effet thérapeutiques de <i>Syzygium aromaticum</i>	19
9.1. Activité antibactérienne	20
9.2. Activité antioxydante.....	21
9.3. Activité antifongique	21
9.4. Activité anti-inflammatoire et analgésique.....	21
9.5. Activité antivirale	21
9.6. Activité anti-cancérogène.....	22
9.7. Activité anti-infectieuse.....	22
9.8. Autres utilisations	22

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 1 : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel Végétal	23
2. Extraction de l'huile essentielle	24
2.1. Rendement en huile essentielle.....	29
3. Extraction de l'eugénol.....	29
4. Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM)	31
5. Évaluation des activités biologiques.....	322
5.1. Activité antibactérienne	322
5.1.1. Souches testées.....	33
5.1.2. Milieu de culture	33
5.1.3. Mode opératoire	34
5.2. Activité antioxydante.....	36
5.2.1. Test du piégeage du radical DPPH.....	37

5.2.2. Test du piégeage du radical ABTS.....	38
--	----

Chapitre 2 : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Description de l'huile essentielle de clou de girofle obtenue	411
1.1. Les caractéristiques organoleptiques	41
1.2. Analyses physiques de l'huile essentielle.....	411
1.2.1. Le rendement.....	41
1.2.2. Le PH.....	43
1.2.3. La densité	43
1.3. Analyse CCM	44
2. Évaluation de l'activité antibactérienne	46
3. Évaluation de l'activité antioxydante.....	50
3.1. Test de DPPH	51
3.2. Test de l'ABTS	56
Conclusion générale	62

Références bibliographiques

Résumés

LISTE DES ABREVIATIONS

% : pourcentage

ABS : Absorbance

ABTS : 2,2'-azinobis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate

AFNOR : Association Française de Normalisation

C : carbone

C° : Degré Celsius

CCM : Chromatographie sur couche mince

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

Cm : Centimètre

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO : Dimethyl Sulfoxyde

DO : Densité optique

DPPH : 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl

EtAc : acétate d'éthyle

EU : Eugénol

EUC : Eugénol commercial

g : gramme

GN : gélose nutritive

h : heure

H : Hydrogène

H₂SO₄ : Acide sulfurique

HCL : Acide chlorhydrique

HE : Huile essentielle

HEC : Huile essentielle commercial

mg : milligramme

MH : Milieu de Mueller Hinton

mm : millimètre

mn : minute

NaCl : Chlorure de Sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

NaSO₄: Sulfate de magnésium anhydre

nm : nanomètre

pH : Potentiel d'Hydrogène

PI : Pourcentage d'inhibition

Rf : Rapport frontal

T : Témoin

T° : température

UV : Ultra-violet

μl : microlitre

LISTE DES FIGURES

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Le clou de girofle

Figure 1 : Allure d'un giroflier de Madagascar.....	4
Figure 2 : Feuilles de girofle jeunes et matures.....	4
Figure 3 : Branche de giroflier portant les clous en inflorescence terminale.....	5
Figure 4 : Bourgeons de girofle maturés.	5
Figure 5 : Les zones exploitées dans la production de girofle à Madagascar.	6
Figure 6 : Clous rose récoltés avant l'épanouissement de la fleur.	8
Figure 7 : Formule semi-développée de l'eugénol.....	10

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

Figure 8 : Quelques Exemples de localisation des HE.....	13
Figure 9 : Schéma d'un montage d'hydro-distillation.	16
Figure 10 : Méthode d'entraînement à la vapeur	17
Figure 11 : Les activités biologiques de <i>Syzygium aromaticum</i>	19

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

Figure 12 : Clou de girofle utilisé	24
Figure 13 : Matière végétale et la préparation du ballon.....	24
Figure 14 : A. Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle par hydro distillation (originale). B. Le distillat récupéré après 3h d'hydro-distillation.....	26
Figure 15 : l'étape de relargage	27
Figure 16 : Extraction de l'huile essentielle par cyclohexane.....	28
Figure 17 : Phase organique recueillie après décantation.	28
Figure 18 : Evaporation de la phase organique à l'aide d'un rotavapeur.....	29
Figure 19 : Extraction de l'eugénol : phase organique.....	30
Figure 20 : Extraction de l'eugénol : acidification de la phase aqueuse.	31
Figure 21 : Extraits analysés par CCM.	32
Figure 22 : les germes d'une culture de 24h.	34
Figure 23 : Refroidissement de milieu de culture gélosé Mueller Hinton (MH) et préparation de l'inoculum.....	35

Figure 24 : Ensemencement de la suspension bactérienne sur le milieu MH.	35
Figure 25 : Dépôt des disques dans les boites de pétri.....	36
Figure 26 : Forme libre et réduite du DPPH.	37
Figure 27 : Forme libre et réduite de l'ABTS.	39

Chapitre 2 : Résultats et Discussion

Figure 28 : Plaque CCM sous UV.....	44
Figure 29 : Plaque CCM pulvérisée par H ₂ SO ₄ (10 %)	45
Figure 30 : Effet des extraits du clou de girofle H, HE, EU, EUC, T sur les deux souches bactériennes testées : <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i>	46
Figure 31 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH).....	51
Figure 32 : Méthode graphique pour calculer l'IC ₅₀ des trois essais de L'HE de <i>Syzygium</i>	54
Figure 33 : histogramme d'IC ₅₀ de l'HE et standards du test DPPH.....	55
Figure 34 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (ABTS).....	57
Figure 35 : Méthode graphique pour calculer l'IC ₅₀ des trois essais d'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i> (ABTS).....	59
Figure 36 : Histogramme d'IC ₅₀ de l'HE de <i>Syzygium aromaticum</i> et des standards du test ABTS.....	60

LISTE DES TABLEAUX

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Le clou de girofle

Tableau 1 : Nomenclatures de clou de girofle. 7

Tableau 2 : Classification de l'espèce *Syzygium aromaticum* 7

Tableau 3 : Calendrier de récolte des clous de girofle en fonction du pays producteur. 9

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

Tableau 4 : Composantes de l'huile essentielle de clou de girofle. 10

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 2 : Résultats et Discussion

Tableau 5 : Caractéristiques organoleptiques 41

Tableau 6 : Résultat du rendement..... 42

Tableau 7 : Résultat du pH..... 43

Tableau 8 : Résultat de la densité 43

Tableau 9 : Rapports frontaux des spots visualisés sur la CCM..... 45

Tableau 10 : Halos d'inhibition (moyenne) en (mm) provoqués par les extraits de clou de girofle 48

Tableau 11 : Absorbances de l'huile essentielle par lecture microplaque (test DPPH)..... 52

Tableau 12 : Pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration 53

Tableau 13 : Valeurs des IC_{50} des trois essais et leur moyenne du test DPPH. 54

Tableau 14 : les valeurs d' IC_{50} de l'HE, BHA et BHT du test DPPH..... 55

Tableau 15 : Absorbance de l'huile essentielle du test ABTS par lecture microplaque 58

Tableau 16: Pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration 58

Tableau 17 : Valeurs des IC_{50} des trois essais et leur moyenne..... 59

Tableau 18 : les valeurs d' IC_{50} de l'HE, BHA et BHT du test ABTS 60

Introduction générale

Introduction

La phytothérapie, pratiquée depuis des temps anciens, repose sur l'utilisation des plantes médicinales afin de traiter et prévenir les maladies **(Rostock et Saller, 2021)**

Les plantes médicinales jouent un rôle essentiel dans le traitement des maladies, devenant ainsi une voie importante pour les soins de santé. Leur composition riche en métabolites secondaires offre un potentiel inexploité de substances bénéfiques. De plus, les plantes aromatiques produisent des molécules odorantes qui sont à la base des huiles essentielles, connues pour leurs propriétés thérapeutiques **(Chagra, 2019)**.

Les huiles essentielles (HE) sont des produits complexes contenant des composés volatils présents dans les plantes, dérivés d'une matière première végétale telle que fleur, feuille, bois, racine, écorce, fruit ou autre. La principale méthode d'extraction des HE est la distillation à la vapeur. Les HE ont de nombreuses applications en thérapie, en cosmétique et en agriculture **(Macias et al., 1997) (Cowan, 1999)**.

Pour tenter de trouver de nouveaux remèdes aux fléaux actuels, la communauté scientifique s'est récemment tournée vers les constituants des huiles essentielles ; Les huiles essentielles constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives **(Banouh R. et Azzouz A., 2019)**. Plusieurs études scientifiques ont prouvé les bienfaits des HE.

C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude qui s'intéresse à promouvoir l'utilisation de *Syzygium aromaticum*, plus connu sous le nom de giroflier, une plante médicinale largement utilisée à l'échelle mondiale. Cette plante renferme entre 15 et 20% d'HE extraite de ses boutons floraux, avec une concentration en eugénol allant de 85 à 93% en volume **(Rahyour, 2002)**.

L'HE de clou de girofle est connu pour son arôme phénolique distinctif, typique des composés naturels. Elle offre diverses propriétés thérapeutiques telles que des effets anti-inflammatoires, antiseptiques, parasitocides, antioxydants et elle agit comme un anesthésiant local. Traditionnellement, elle a été largement employée pour soulager les douleurs dentaires **(Chaiebet et al., 2007) (Lee et al., 2009)**.

Le présent travail consiste à extraire l'huile essentielle des boutons de clou de girofle par hydrodistillation, de l'analyser par chromatographie sur couche mince, afin d'évaluer ses

propriétés antioxydantes et antibactériennes, ainsi que l'activité antibactérienne de son composé principal, l'eugénol.

**Synthèse
bibliographique**

Chapitre 1 : Clou de girofle

Les épices comme le clou de girofle, l'origan, la menthe, le thym et la cannelle sont utilisées depuis des siècles comme conservateurs alimentaires et comme plantes médicinales, principalement en raison de leurs activités anti oxydantes et antimicrobiennes. De nos jours, de nombreux rapports confirment les propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales et anti cancérogènes des plantes épicées. Le clou de girofle, en particulier, a attiré l'attention en raison de ses puissantes activités anti oxydantes et antimicrobiennes qui se distinguent des autres épices (Shan *et al.*, 2005).

1. Historique

Depuis des décennies, le clou de girofle est utilisé pour ses vertus culinaires et médicinales, et il est largement utilisé en médecine dentaire en raison de son effet anesthésique local. De plus, il tue les germes de la bouche, en particulier (kozam, 1977 ; Ohkuboet *al.*, 1997). Vers le 16ème siècle, les Portugais ont mis fin au monopole arabe sur le commerce des épices en mer, Au commencement du 17ème siècle, les Hollandais retirent des clous de girofle de toutes les îles sauf Amboine pour en augmenter le prix. (Charles, 2013). Jusqu'au 18ème siècle, le contrôle sur la production était encore plus strict pour maintenir artificiellement les prix. (Razafimamonjison *et al.*, 2014).

La Compagnie Française des Indes a envoyé Pierre Poivre pour obtenir le célèbre clou de girofle. Lors de son premier voyage, il a secrètement transporté quelques plantes de muscadier de Timor à l'île de France, mais sans succès (Ranoarisoa, 2012). En 1773, il parvient à obtenir quelques plants des épices confisquées par les Hollandais, qui ont été plantés sur l'île de la Réunion (Mazerolles, 2008).

2. Description botanique de girofle

Le girofler est un arbre de la famille des myrtacées qui pousse exclusivement dans les pays tropicaux (Cecchini, 2003). C'est un grand arbre fruitier, élancé, de forme conique, avec une hauteur moyenne de 10 à 12 mètres, pouvant atteindre jusqu'à 20 mètres de hauteur. Il a un port pyramidal, un tronc gris clair ridé et peut vivre jusqu'à 150 ans (Barbelet, 2015). Il adopte fréquemment l'apparence d'un arbuste car il est régulièrement taillé afin de faciliter la récolte (figure 1).



Figure 1 : Allure d'un giroflier de Madagascar (Barbelet, 2015).

Les feuilles persistantes des girofliers peuvent mesurer de 12 à 15 cm de longueur (Alma *et al.*, 2007), sont immobiles, inversées, pelées, de forme ovale et rectangulaire, avec une surface supérieure de couleur vert rougeâtre et une face vert sombre, légèrement coupée (Ghedira, 2010)

Ces feuilles sont aromatiques et dégagent un puissant parfum de clou de girofle lorsqu'elles sont froissées (figure 2) (Mohammed *et al.*, 2015).



Figure 2: Feuilles de girofle jeunes et matures (Mohammed *et al.*, 2015).

L'arbre fleurit de manière très irrégulière, avec des fleurs disposées en cymes mesurant 4 à 5 cm. (Max, 2003) Compactes et ramifiées, regroupées en panicules de trois à cinq petites fleurs parfumées, ces fleurs présentent un calice tubulaire blanc cassé qui devient rouge, avec quatre sépales rouges charnus et persistants (**figure 3**). La corolle est blanc rosé, avec des pétales repliés au sommet du clou de girofle, appelé "tête de clou", composée de quatre dialypétales blancs (**Barbelet, 2015**).



Figure 3: Branche de girofler portant les clous en inflorescence terminale (**Barbelet, 2015**).

La fleur hermaphrodite de cette plante, qui produit beaucoup d'asperges, donne naissance à un fruit appelé "antholfe". La plante présente une structure violette et renferme une seule graine mesurant 1,5 cm de long (**figure 4**) (**Kim et al., 1998**).



Figure 4 : Bourgeons de girofle maturés (**Kim et al., 1998**).

3. Répartition géographiques

Le giroflier, qui a ses origines à Madagascar, la Réunion et aux Antilles, est aussi cultivé en Indonésie et en Tanzanie. Les clous de girofle américains sont connus pour leur qualité inférieure en raison de leur teneur plus faible en huile essentielle (Bois, 1999).

Cette plante n'est pas cultivée en Algérie, car le girofle est importé de l'étranger. La superficie occupée par les girofliers à Madagascar est d'environ 37 000 hectares, une surface qui varie significativement d'une année à l'autre. Les tonnes produites et la superficie dédiée aux girofliers dans chaque zone de production sont répertoriées dans la figure ci-dessous (figure 5) (Bourekba et Lamri, 2020).

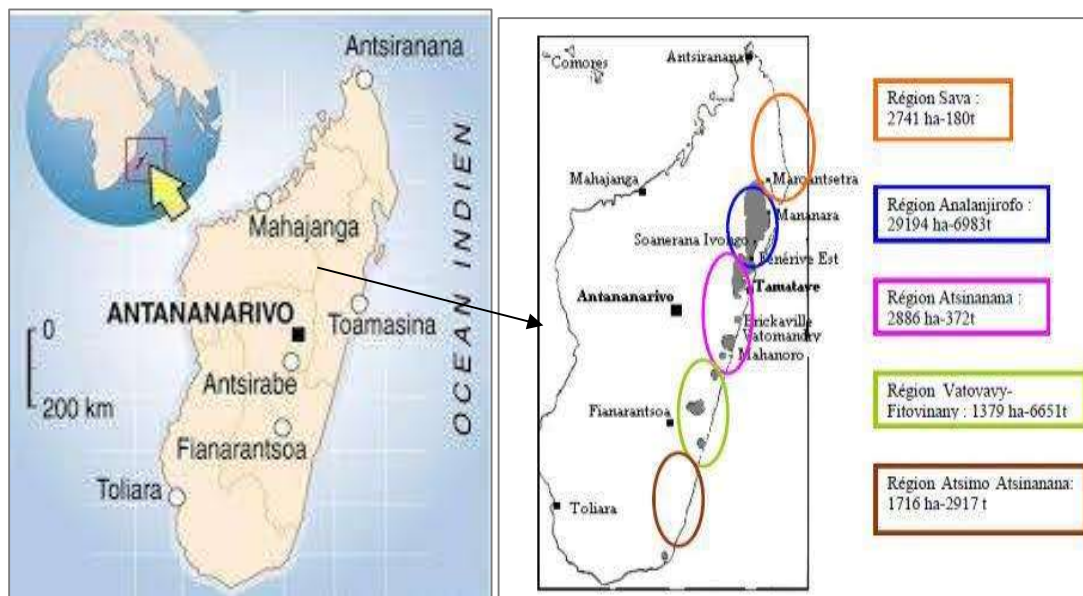


Figure 5: Les zones exploitées dans la production de girofle à Madagascar (Davet et Rouxel, 1997).

4. Nomenclature et dénomination mondiale

Comme de nombreuses espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *Syzygium aromaticum* (Perrier, 1953). Le genre *Syzygium* a été identifié comme le plus vaste genre de plantes à fleurs, comprenant environ 1200 à 1800 espèces. (Mahomoodally *et al.*, 2019)

- *Caryophyllus aromaticus* L. (1753)
- *Eugenia caryophyllatathunb.* (1788)
- *Eugenia caryophyllus* Spreng. (1825)
- *Eugenia aromatica* (L.) Baill. (1876)
- *Jambosacaryophyllus* (Thunb) Nied. (1893)

- *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, (1939)

Actuellement, les noms *Syzygium aromaticum* et *Eugenia caryophyllus* sont tous deux utilisés (Tableau 1) (Dupont et Guignard, 2012).

Tableau 1 : Nomenclatures de clou de girofle.

Nom commun	Giroflier, laung
Nom français	Arbre de clou, clou de girofle
Nom anglais	Clovebuds
Nom arabe	القرنفل-Kourounfoule
Nom scientifique	<i>Syzygium aromaticum</i> <i>Eugenia caryophellusthunb</i>

5. Classification

Les clous de girofle (*S. aromaticum* L.) font partie de la famille des Myrtacées, qui comprend plus de 3000 espèces et 130 à 150 genres (Tableau 2) (González *et al.*, 2021).

Tableau 2 : Classification de l'espèce *Syzygium aromaticum*

Classe	Angiosperme
Sous-classe	Tiporees
Clade	Rosidees
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Sous-famille	Myrtoideae
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>Syzygium aromaticum</i>

6. Culture et récolte

Le girofle comme de nombreuses autres plantes de la famille des Myrtacées, le giroflier est habitué aux climats tropicaux. Il nécessite de l'humidité, de la chaleur, un sol volcanique, en bord de mer, avec une pluviométrie abondante répartie tout au long de l'année, ne dépassant pas 300 mètres (**Bourekba et Lamri, 2020**).

Pour obtenir les clous de girofle, il est nécessaire de récolter les boutons floraux avant leur pleine éclosion (lorsqu'ils sont de couleur rosée). Les clous ne parviennent pas à maturité simultanément ; les branches inférieures fleurissent plus tôt que les branches supérieures, deux fois par an (juillet à décembre) et après six à huit années de mise en culture de l'arbre (**Mazerolles, 2008**). Chaque arbre peut produire entre 3 et 4 kg de clous de girofle par an, et ce, sur une période de plus de 25 ans (**Teuscher et al., 2005**). Cependant, le giroflier ne parviendra à sa pleine production qu'à 20 ans. Un arbre de 75 à 80 ans peut donner jusqu'à 50 kg de clous frais par an (**Penot et al., 2014**).

Les girofliers sont principalement cultivés à Madagascar, le principal exportateur mondial de clous de girofle (**Barbelet, 2015**). Cependant, l'Indonésie, pays d'origine des clous de girofle, est le plus grand producteur mondial, bien qu'environ 80 % de cette production soit utilisée pour la fabrication de cigarettes, les kreteks, qui sont des cigarettes à base de tabac, de poudre de clous de girofle et de diverses compositions aromatiques(**figure 6**)(**Lobstein et al., 2017**).



Figure 6 : Clous rose récoltés avant l'épanouissement de la fleur (**Danthu et al., 2014**).

7. Période de récolte

La période de récolte varie en fonction des zones de production. À Madagascar, les clous de girofle sont récoltés d'octobre à janvier, lorsqu'ils sont bien roses et contiennent le maximum d'essence. À Zanzibar, il y a deux récoltes par an : de juillet à septembre et de décembre à janvier, en raison de la floraison biannuelle du Giroflier dans cette région (Barbelet, 2015).

La période de récolte est cruciale car réaliser trop tôt, les clous ne pourront pas avoir développé l'ensemble de leurs composants, et réaliser trop tard, ils perdraient leurs pétales (Bourekba et Lamri, 2020).

Tableau 3 : Calendrier de récolte des clous de girofle en fonction du pays producteur.

	Janv	Fév	Mar	Av	Ma	Ju	Jui	Ao	Sep	Oct	Nov	Dec
Indonésie												
Madagascar/ Comores												
Zanzibar												
Sri lanka												

8. Composition chimique du clou de girofle

Le clou de girofle est riche en composés bioactifs tels que :

- L'Huile essentielle (20%) : huile essentielle contenant d'eugénol (85 à 95% de l'huile de clou de girofle), acétate d'eugénol (5 à 10 %), alpha- et bêtacaryophyllène (5 à 12%) et un dérivé cétonique (Paul *et al.*, 2005 ; Ghedira *et al.*, 2010).
- Autres constituants : flavonoïdes (environ 0,4%), tanins (environ 12%), acide phénolique, stérols, triterpène (Max *et al.*, 2003).

Tableau 4 : Composantes de l'huile essentielle de clou de girofle.

Composant	Eugénol	Acétate d'eugénol	Béta-caryophyllene	Alpha-caryophyllene
Type	Phénol	Ester aromatique	sesquiterpéniques	sesquiterpéniques
Pourcentage	81.67	13.02	3.17	0.4
Formule chimique	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	C ₁₅ H ₂₄	C ₁₅ H ₂₄

9. Eugénol

9.1. Présentation

L'eugénol, également connu sous le nom de 4-allyl-2-méthoxyphénol, est un composé aromatique appartenant à la famille des phénylpropènes, une sous-classe des phénylpropanoïdes. Il se présente sous forme d'un liquide pratiquement incolore qui a tendance à brunir au contact de l'air (Memmou, 2015). L'eugénol est une molécule hautement lipophile et sa formule (figure 7) développée est :

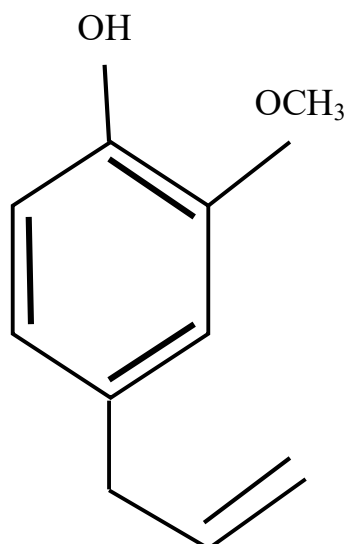


Figure 7 : Formule semi-développée de l'eugénol (Memmou, 2015).

L'eugénol, molécule active de formule brute C₁₀H₁₂O₂, est présente dans le clou de girofle à une concentration allant de 75 à 90 % (Stamford *et al.*, 1988 ; Usta et Copti, 2000).

9.2. Propriétés physico-chimiques

- Température de Fusion et d'Ébullition : L'eugénol a une température de fusion de -9 °C et une température d'ébullition de 253 °C.
- Densité : Sa densité est de 1,06 à 20 °C.
- Solubilité : Peu soluble dans l'eau et insoluble dans l'eau salée, il est très soluble dans l'éthanol et le dichlorométhane, et légèrement soluble dans le chloroforme (**Memmu, 2015**).

9.3. Propriétés biologiques

L'huile essentielle extraite du clou de girofle, reconnue pour ses propriétés antiseptiques, a été utilisée dès les premiers temps. L'eugénol a été préconisé pour le traitement de la tuberculose et de la gangrène pulmonaire. Son action anesthésique a été exploitée dans le domaine dentaire. En associant l'oxyde de zinc à l'eugénol, on obtient un ciment utilisé comme matériau de restauration temporaire offrant à la fois un scellement efficace et une anesthésie de la pulpe. De plus, ce ciment est généralement bien toléré par les patients. Aujourd'hui, l'eugénol est toujours largement utilisé, principalement dans les produits dentaires tels que les bains de bouche, les pâtes dentifrices, les ciments, ...etc (**Chanseau et al., 2002 ; Raja et al., 2015**).

Ces dernières années, de nouvelles propriétés et applications de l'eugénol ont été découvertes, telles que ses effets antioxydants et anti-inflammatoires, son rôle de conservateur (pour préserver le goût, la valeur nutritive et limiter le développement microbien sur les grappes de raisins), ainsi que son action anesthésique (**Lee et Shibamoto, 2001 ; Mahboub, 2014**).

9.4. Toxicité

L'eugénol présente une toxicité très limitée. Cependant, en cas de consommation excessive, l'eugénol peut entraîner des dommages plus ou moins graves au foie (par exemple : cirrhose du foie). Il fait donc partie des substances qui ont un effet toxique sur le foie (**Fujisawa et al., 2002**).

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

1. Définition

La signification d'huile essentielle a évolué au fil du temps. Depuis la neuvième édition de la Pharmacopée en 1972, le terme "huile essentielle" est employé. En octobre 1987, l'AFNOR a proposé une autre définition, définissant une huile essentielle comme un produit obtenu à partir de matières premières végétales par divers procédés tels que l'entraînement à la vapeur d'eau, des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, ou par distillation à sec. Les huiles essentielles sont ensuite séparées de la phase aqueuse par des méthodes physiques **Véronique, 1971**).

Les huiles essentielles sont les extraits odorants volatils des plantes, concentrant les arômes distinctifs de chaque plante. Elles peuvent être extraites de différentes parties des végétaux, comme les feuilles, les fleurs, l'écorce, le bois, le zeste, ainsi que d'autres éléments tels que les graines, les baies, les fruits ou même le bulbe **(Festy, 2018)**.

Dans sa définition stricte, l'huile essentielle est le produit de la distillation ou de l'expression à froid de matières premières végétales, excluant ainsi les extraits aromatiques obtenus par d'autres méthodes d'extraction. En revanche, l'essence est la substance aromatique naturelle sécrétée par la plante, qui se convertit en huile essentielle lors du processus de distillation **(Bonnafous, 2013)**.

En général, les composants des huiles essentielles se divisent en terpènes (monoterpènes et sesquiterpènes), en composés aromatiques (aldéhydes, alcools, phénols, dérivés méthoxylés, etc.) et en terpénoïdes (isoprénoïdes). Les éléments constitutifs et les arômes des huiles essentielles peuvent être classés en deux grandes catégories : les hydrocarbures terpéniques et les composés oxygénés (Tongnuanchan et Benjakul, 2014).

2. Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles sont principalement présentes chez les plantes supérieures **(Brunetton, 1999)**. Sur les 1 500 000 espèces végétales répertoriées, seuls environ 10% sont qualifiées d'aromatiques, car elles produisent et libèrent des essences aromatiques en quantités très limitées **(Degryset al., 2008)**. D'après Lawrence, il existe 17 500 espèces aromatiques.

Elles se trouvent dans le cytoplasme de cellules végétales sécrétrices présentes dans un ou plusieurs organes de la plante, à savoir **(Brunetton, 1999) (figure 8) :**

- **Fleurs :** oranger, rose, lavande, le bouton floral (girofle).
- **Feuilles :** eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge...
- **Fruits :** fenouil, anis, épicarpes des Citrus...
- **Tiges :** citronnelles ...
- **Racines :** gingembre, vétiver, iris...
- **Graines :** noix de muscade, coriandre...




		
Fleur Le bouton floral (girofle)	Feuille (menthe)	Racines (Gingembre)

Figure 8 : Quelques Exemples de localisation des HE

La production et le stockage des huiles essentielles sont habituellement liés à la présence de structures histologiquement spécialisées, souvent situées sur ou près de la surface de la plante. Par exemple, on peut citer **(Brunetton, 1999) :**

- **Les cellules à huiles essentielles :** chez les Lauracées et les Zingiberacées.
- **Les poils sécréteurs :** chez les Lamiacées.
- **Les poches sécrétrices :** chez les Myrtacées et les Rutacées.
- **Les canaux sécréteurs :** chez les Apiacées et les Astéracées.

3. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées de mélanges complexes et variables de composants appartenant uniquement à deux groupes distincts en termes d'origine biogénétique : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane **(Pinto *et al.*, 2009)**.

3.1. Les terpènes

-Les terpènes sont des composés naturels hydrocarbonés qui ont une structure moléculaire soit cyclique, soit linéaire.

- Les terpénoïdes ; sont des dérivés de terpènes qui ont subi une modification chimique, comme l'ajout d'une fonction alcool, aldéhyde, cétone, acide ou autre.

- Les monoterpènes : sont des composés volatils qui peuvent être entraînés à la vapeur d'eau et ont généralement une odeur agréable. Ils représentent la majorité des constituants des huiles essentielles, pouvant parfois dépasser 90%.

-Les sesquiterpènes : constituent la classe la plus variée des terpènes, comprenant plus de 3000 molécules différentes (Hellal, 2011).

3.2. Les composés aromatiques (phénoliques)

Les composés aromatiques de la classe des phénols sont moins courants dans les huiles essentielles et sont généralement responsables de leurs caractéristiques organoleptiques. Parmi les composés odorants bien connus de cette classe, on peut citer la vanilline, l'eugénol, l'anéthol et l'estragole, ainsi que d'autres composés (Pinto *et al.*, 2009).

3.2. Autres composés

Ensemble de produits résultants de la dégradation d'acide gras ceux issus de la dégradation de terpènes, des homologues de phénylpropanes, des composés azotés ou soufrés, des hydrocarbures saturés, des hétérosides de substances volatiles... (Brunetton, 1999)

4. Rôle

Depuis des époques anciennes, les plantes ont fourni les éléments essentiels à la survie de l'espèce humaine. Les plantes restent en effet la principale source de composés actifs aux rôles et utilisations diversifiés (Elabed et Kambouche, 2003).

Les huiles essentielles sont réputées pour leurs propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. De nombreuses huiles essentielles possèdent des vertus antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, antioxydantes et antiparasitaires. Récemment, des études ont également mis en lumière leurs propriétés anticancéreuses (Valnet, 2005).

5. Caractéristiques des huiles essentielles

5.1. Caractéristiques organoleptiques

Les huiles essentielles ont des propriétés organoleptiques (caractéristiques d'une substance qui sont perceptibles par les organes des sens : saveur, odeur, aspect et consistance de l'objet) communes comme le fait d'être liquides à température ambiante, d'être volatiles et entraînés à la vapeur d'eau. Elles sont aussi très odorantes et incolores ou jaunes pâles sauf pour les huiles essentielles de cannelle, girofle, camomille matricaire, vétiver et bouleau où la couleur est relativement foncée. En parfumerie, l'examen olfactif qui précède ou suit toute analyse d'huile essentielle est du plus grand intérêt car, si l'odeur de l'huile essentielle n'est pas satisfaisante, il importe peu que les constantes physico-chimiques soient correctes : le produit doit être rejeté. Cet essai olfactif est conduit par comparaison avec un échantillon type de l'huile essentielle aussi frais que possible et conservé dans les meilleures conditions. Elles sont, enfin, sensibles à l'oxydation et change de couleur, conservation limitée, à la lumière et à la chaleur. Il convient de la conserver à l'abri de la lumière et de l'air (**Traikia et Mansouri, 2020**)

5.2. Les propriétés physico-chimiques

- Les huiles essentielles se composent de molécules aromatiques ayant une masse moléculaire très réduite (**Degryset al., 2008**).
- Ces substances sont hautement inflammables et fortement parfumées, se présentant sous forme liquide à température ambiante et exposées à l'air.
- Les HE se volatilisent.
- Sont peu souvent colorées.
- Leur densité est généralement plus faible que celle de l'eau, à l'exception des huiles essentielles de saffron, de clou de girofle et de cannelle
- Elles présentent un indice de réfraction élevé et la plupart ont la capacité de dévier la lumière polarisée, ce qui les rend optiquement actives (**Bruneton, 1999 ; Rhayour, 2002**)
- Ils se dissolvent dans les huiles végétales, l'eau, les alcools et les solvants organiques non polaires.

6. Toxicité des huiles essentielles

La plupart des huiles essentielles peuvent être toxiques à des doses élevées. En raison de leur composition chimique complexe, il est crucial d'utiliser les huiles essentielles avec une

grande prudence. Leur utilisation imprudente, notamment par voie interne ou sur la peau, peut présenter des risques graves pour la santé. Les HE sont connus pour leurs diverses propriétés bénéfiques telles que les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, antivirales, stimulantes, toniques, calmantes, etc.

En revanche, parmi les effets indésirables, on peut noter les propriétés vésicantes, nécrosantes, allergiques, hépatotoxiques, neurotoxiques...etc. (Haddadi et Rabhi, 2022).

7. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe diverses techniques pour extraire les huiles essentielles, et le choix de la méthode la plus appropriée dépend de plusieurs facteurs tels que la nature de la plante à traiter, les propriétés physico-chimiques de l'huile à extraire, l'utilisation prévue de l'extrait, ainsi que la conservation de l'arôme initial. Il existe en effet de nombreuses méthodes d'extraction adaptées à différentes situations et besoins spécifiques (Bouzaa et Zid, 2022) :

- Hydro distillation
- L'expression à froid
- Entraînement à la vapeur d'eau
- Extraction par solvants organique
- Extraction par micro-ondes

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles végétales restent constantes, selon la méthode d'extraction choisie. Initialement, il est essentiel d'extraire les molécules aromatiques de la matière végétale pour former l'huile essentielle. Ensuite, il est nécessaire de séparer ces molécules du milieu par distillation (Bouzaa et Zid, 2022).

7.1. Hydro distillation

Cette méthode, la plus simple et traditionnelle pour extraire les huiles essentielles, permet à la fois d'isoler les huiles dans leur pureté et d'obtenir des rendements plus élevés. Elle consiste à immerger directement le matériel végétal dans un alambic rempli d'eau, en le plongeant dans 2 à 6 fois son volume d'eau (Charie, 2019).

Après cela, le mélange est chauffé jusqu'à ébullition. Les vapeurs diverses sont ensuite condensées sur une surface froide, permettant à l'huile essentielle de se séparer de l'hydrolat en raison de leur différence de densité (Bruneton, 1993 ; Hellal, 2011). La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal créent un mélange non miscible (El-bahaiet *al.*, 2009) (figure 9).

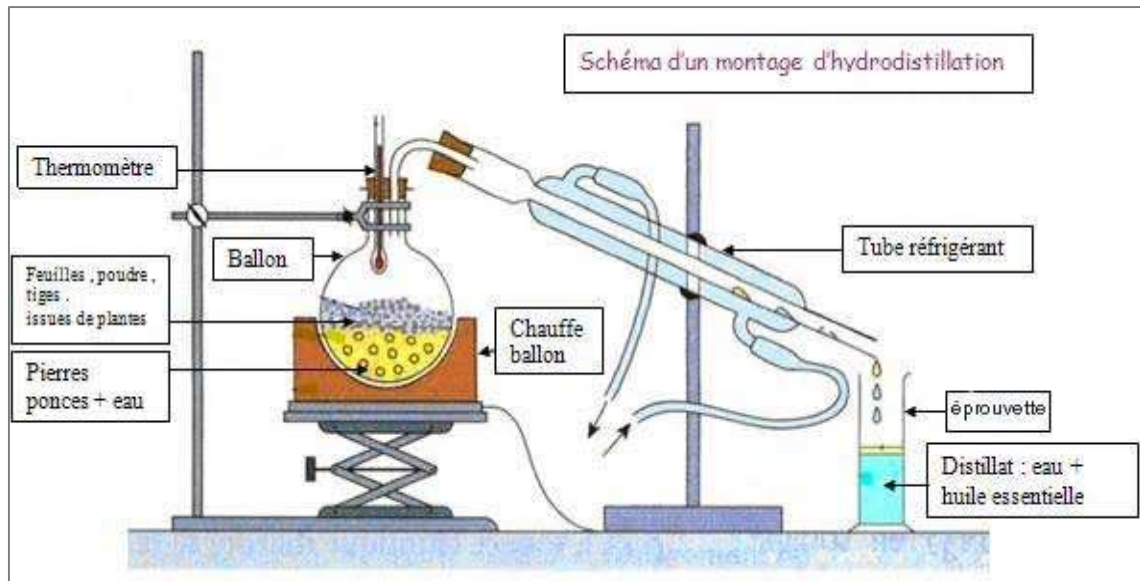


Figure 9 : Schéma d'un montage d'hydro-distillation (El-bahai *et al.*, 2009).

7.2.Expression à froid

Cette méthode spécifique est utilisée exclusivement pour les fruits de la famille botanique des Rutaceae (citron, orange, bergamote, mandarine, etc.). Elle implique une technique simple où les poches d'huile situées dans l'écorce ou le péricarpe du fruit sont mécaniquement brisées par abrasion pour en extraire le contenu (Elhaib, 2011).

L'extraction mécanique à froid est le procédé utilisé pour séparer l'huile essentielle du jus de fruit. Ce processus, appelé décantation, est considéré comme le plus simple et le seul qui ne modifie pas le produit obtenu. L'huile essentielle ainsi obtenue est appelée essence. Les essences obtenues par ce procédé conservant leur activité thérapeutique de manière significativement supérieure à celles produites par d'autres méthodes. Contrairement aux huiles essentielles composées uniquement de molécules volatiles, les essences contiennent des composés non volatils tels que des flavonoïdes et des stéroïdes, ce qui les rend plus bénéfiques sur le plan thérapeutique (Lacoste, 2014).

7.3. Entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce processus, la matière végétale n'est pas immergée dans l'eau ; elle est exposée à un courant de vapeur sans être préalablement macérée. Les vapeurs chargées en composés volatils sont ensuite condensées et séparées par décantation (**figure 10**) La vapeur est injectée à la base de l'alambic (**Richard, 1992**).

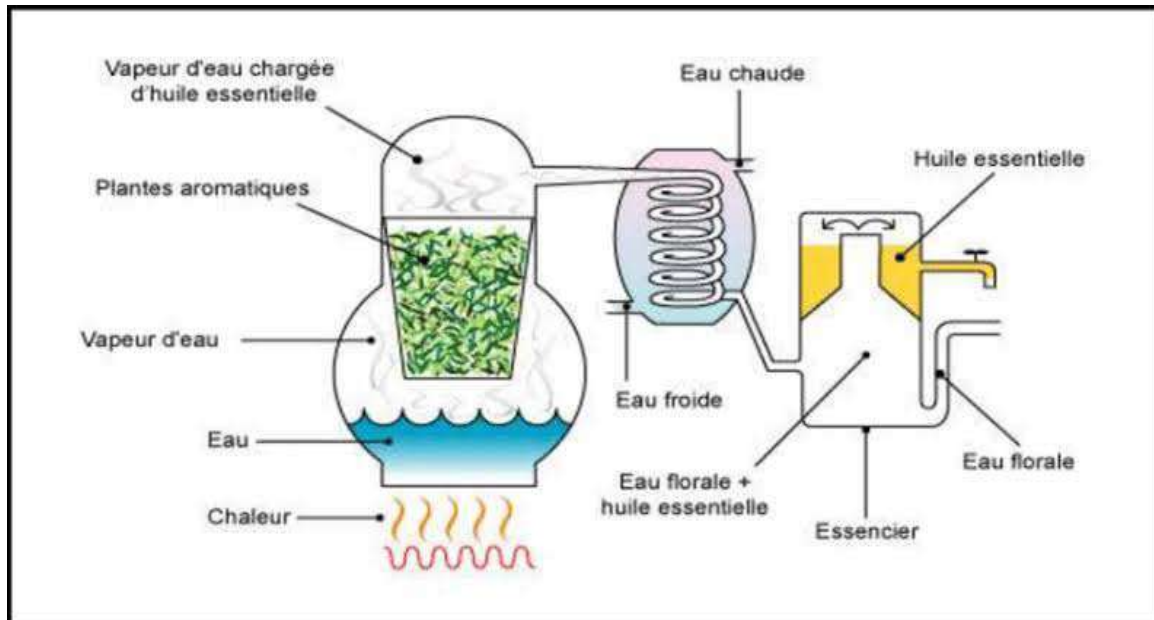


Figure 10 : Méthode d'entraînement à la vapeur (**Richard, 1992**)

7.4.Extraction par solvants organiques

Cette méthode d'extraction repose sur la solubilité des essences aromatiques dans la plupart des solvants organiques. Après cette étape, le solvant est éliminé par distillation sous pression réduite, laissant un mélange odorant de consistance pâteuse. L'huile est ensuite extraite de ce mélange en utilisant de l'alcool, permettant ainsi d'obtenir l'huile essentielle pure (**Bruneton, 1999**).

Les solvants mentionnés peuvent être des solvants couramment employés en chimie organique tels que l'hexane et l'éther de pétrole, mais également des substances telles que les graisses, les huiles, voire même des gaz (**Richard, 1992**).

7.5.Extraction par micro-ondes

Ce procédé novateur, basé sur le principe de l'hydro distillation classique, implique l'utilisation d'un four à micro-ondes pour chauffer une partie du montage d'hydro distillation. Le matériel végétal est placé avec de l'eau dans un ballon à l'intérieur du four à micro-ondes. Le système de refroidissement et la partie dédiée à la récupération des essences se trouvent à

l'extérieur du four, permettant ainsi une extraction efficace des composés aromatiques tout en maintenant un contrôle précis de la température et du processus (Chemat et Lucchesi, 2005).

8. Conservation de l'huile essentielle

Après la distillation, l'huile essentielle est filtrée puis placée dans une cuve hermétique. Les molécules présentes dans une huile essentielle étant assez instables, il est essentiel de prendre des précautions spécifiques pour sa conservation. L'huile devra reposer au minimum un mois avant d'être utilisée (Pibiri, 2006).

Pour assurer la préservation de sa qualité, elle sera conditionnée et commercialisée dans des flacons en verre opaque de teinte brune ou bleue, afin de la protéger de l'exposition à la lumière et à l'oxygène. L'utilisation de plastique est à éviter en raison de possibles incompatibilités avec certaines huiles essentielles (Bourekba et Lamri, 2020).

9. Usages et effet thérapeutiques de *Syzygium aromaticum*

Le clou de girofle a longtemps été employé pour soulager les douleurs dentaires, buccales et de gorge, ainsi que pour traiter la mucite buccale et l'halitose. En application locale, il est utilisé comme anesthésique dans les cas de rhumatismes, de myalgies, de sciatique et pour favoriser la cicatrisation des plaies. Par voie orale, les clous de girofle sont bénéfiques pour traiter les troubles digestifs tels que les gaz épigastriques (Millenium challenge account., 2000).

Le *S. aromaticum* a Plusieurs propriétés pharmacologiques, notamment : antiinfectieuse, antioxydants...etc (figure 11).

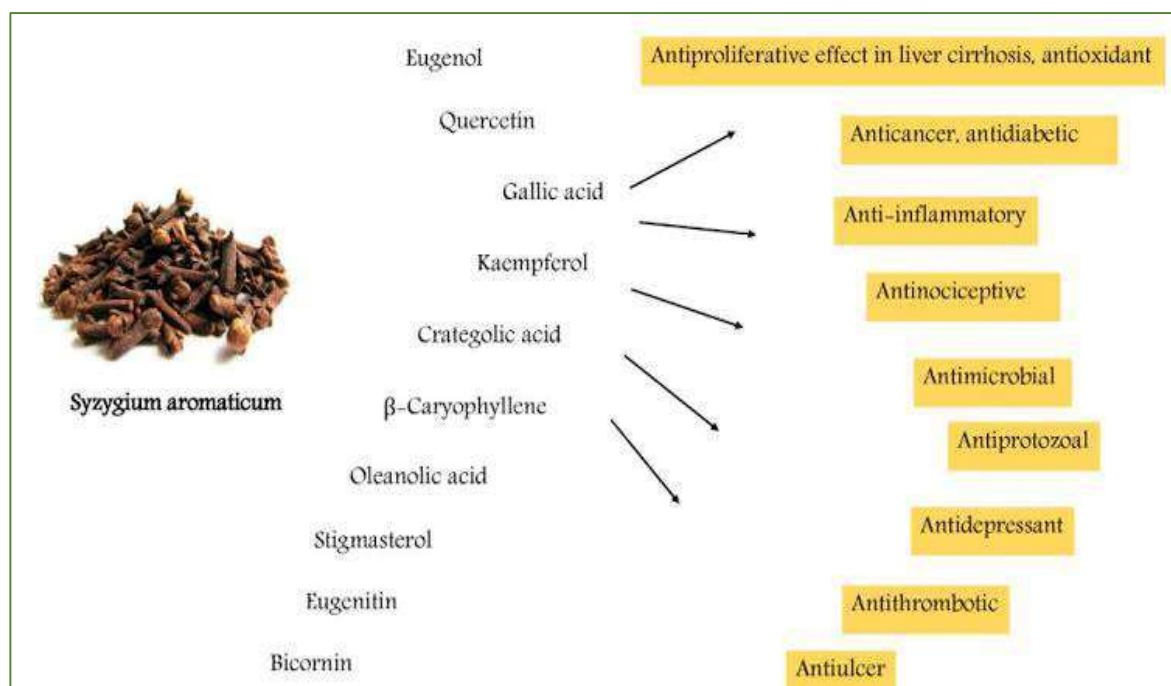


Figure 121 : Les activités biologiques de *Syzygium aromaticum* (Han et Parker, 2017)

9.1. Activité antibactérienne

Le clou de girofle contient principalement de l'eugénol, constituant 70 % à 90 % de sa composition, et plus de 15 % d'huile essentielle. Il possède des propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques. De plus, il renferme entre 9 % et 15 % d'acétate d'eugénol, ce qui lui confère des propriétés antibactériennes (Pandey, 2011). Les concentrations élevées d'eugénol ont un effet bactéricide en raison de la présence du groupement phénolique (Dobleret *al.*, 2020).

L'eugénol provoque la lyse bactérienne, principalement chez les bactéries à Gram négatif, en interagissant avec la membrane cellulaire et entraînant une fuite des composés cytoplasmiques. Cette interaction provoque des modifications dans la structure des acides gras, des phospholipides, et perturbe la synthèse du matériel génétique. Les terpènes agissent de manière similaire aux composés phénoliques, en ciblant la membrane cellulaire, induisant un gonflement et inhibant les enzymes respiratoires par diffusion (selles *et al.*, 2020).

En présence d'eugénol dans le cytoplasme d'*Escherichia coli*, on observe une augmentation de la concentration des acides gras saturés et une diminution des acides gras insaturés, entraînant une altération de la morphologie bactérienne. L'eugénol inhibe l'action de diverses protéines et composés bactériens, y compris des facteurs de virulence tels que la pyocine, la violacéine et l'élastase (Bouacida, 2021).

9.2. Activité antioxydante

Dans l'étude de **Chaieb *et al.* (2008)**, l'effet antioxydant de l'huile essentielle de clou de girofle a été évalué en mesurant sa capacité à piéger les radicaux libres 2,2-diphényl-1-1-picrylhydrazil. La dose anti radicalaire requise pour provoquer une inhibition de 50 % (CI₅₀) a été enregistrée. Les résultats ont montré que l'huile essentielle testée présentait une activité très forte de piégeage des radicaux libres, avec un CI₅₀ de 0,2 µg/ml, comparé à l'antioxydant synthétique tert-butylhydroxytoluène qui avait un CI₅₀ de 11,5 µg/ml.

9.3. Activité antifongique

Les propriétés antifongiques du giroflier sont efficaces contre différents types de mycoses, notamment celles qui affectent la peau, la bouche et les ongles. L'extrait de clou de girofle se démarque dans le traitement des mycoses en raison de son efficacité contre les souches de levures, ce qui le distingue des traitements à base de fluconazole ou d'amphotéricine. (**Pinto *et al.*, 2009**).

Le *Syzygium aromaticum* est un agent inhibiteur de la prolifération du *Candida albicans* (**Lairungruang *et al.*, 2014**).

9.4. Activité anti-inflammatoire et analgésique

Les propriétés anti-inflammatoires et analgésiques de l'eugénol sont attribuables à son action sur les récepteurs et les antigènes responsables de l'inflammation. En ce qui concerne son aspect anti-inflammatoire, l'eugénol agit directement en éliminant les agents pathogènes, en influençant les cytokines et les cellules immunitaires pour modifier la réponse inflammatoire, ce qui entraîne une diminution indirecte de la douleur. De plus, l'eugénol agit sur les récepteurs cellulaires et nerveux, ce qui contribue directement à réduire la sensation de douleur (**Bouacida, 2021**).

9.5. Activité antivirale

L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a un effet inhibiteur sur le virus de l'herpès simplex, agissant à plusieurs niveaux : en entravant la fusion des cellules virales, en inhibant la protéase anti-HCV dans le traitement de l'hépatite virale, et en bloquant la synthèse de l'ADN viral (**Goetz *et al.*, 2010**).

L'eugénol est un composé utilisé pour traiter les infections causées par le HSV-1. En plus de son efficacité contre ce virus, il démontre également une capacité inhibitrice contre les virus de la grippe, ainsi que les virus non enveloppés tels que le poliovirus, le virus coxsackie B1 et

l'adénovirus de type 3 (**Tariq et al., 2019**). L'eugénol ou ses dérivés ont la capacité d'inhiber la croissance de diverses lignées cellulaires transformées par infection virale (**Tariq et al., 2019 ; Da Silva et al., 2020**).

9.6. Activité anti-cancérigène

Une recherche portant sur l'eugénol a révélé qu'il exerce une action protectrice contre la cirrhose du foie, une condition prédisposant au cancer, en freinant la multiplication des cellules et en réduisant le stress oxydatif (**Ali et al., 2014**).

9.7. Activité anti-infectieuse

L'huile essentielle de clou de girofle est traditionnellement utilisée comme désinfectant depuis le début du 20ème siècle. De plus, elle était reconnue à l'époque comme un excellent pansement ombilical, étant non toxique pour le nouveau-né ni pour la mère, et possédant des propriétés analgésiques (**Valnet, 1984**).

9.8. Autres utilisations

L'huile essentielle est employée en agriculture pour ses vertus herbicides qui préservent les cultures des attaques d'insectes et de champignons, et pour son action insecticide contre les charançons qui endommagent les graines stockées. Les clous de girofle, sous forme entière ou en poudre, sont utilisés pour donner du goût à divers plats comme les conserves de légumes, le chou rouge, la choucroute, les compotes de pommes et d'autres fruits (**Alice, 2011**).

Partie expérimentale

Le travail expérimental relatif à ce mémoire de Master a été effectué au niveau du :

- Laboratoire pédagogique de physiologie végétale (N°2) de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Frères Mentouri Constantine 1.
- Laboratoire de recherches de Biochimie Appliquée, Université Frères Mentouri Constantine 1.
- Centre de Recherche en Biotechnologie « **CRBt** » Ali Mendjli Nouvelle Ville UV 03 BP E73 Constantine.

La présente étude vise à :

- Réaliser l'extraction de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* (clous de girofle) par la méthode d'hydrodistillation.
- Analyser les propriétés organoleptiques et physiques de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*.
- Evaluer l'activité antibactérienne de cette huile essentielle à différentes concentrations sur deux germes pathogènes *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.
- Evaluer l'activité antioxydante de l'HE de clou de girofle par les méthodes DPPH et ABTS.

1. Matériel Végétal

Le matériel végétal utilisé comme matière première est représenté par le clou de girofle, une plante disponible dans le marché tout au long de l'année, pour son importance dans la tradition culinaire algérienne ainsi que son utilisation dans la médecine traditionnelle. Il a été fourni par un Herboriste dans la région d'Oued El-Athmania durant le mois de Février.

Le matériel végétal utilisé est représenté par la photo ci-dessous, avec les caractéristiques suivantes :

- Couleur : Marron
- Odeur : Forte



Figure 12 : Clou de girofle utilisé

2. Extraction de l'huile essentielle

Diverses techniques sont utilisées pour extraire les essences végétales, et en règle générale, le choix de la méthode d'extraction dépend du type de matériau végétal à traiter. L'hydro distillation est la méthode d'extraction principale.

➤ **Étape 1 : Hydro-distillation**

L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale, préalablement broyée dans un moulin à café, dans un ballon Bicol de 2000 ml en verre d'un appareil de type Clevenger, à l'aide d'un entonnoir avec 1000 ml d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition (**figure 13**).



Figure 13 : Matière végétale et préparation du ballon.

Le mélange a été chauffé à ébullition pendant trois heures à l'aide d'un ballon chauffant, permettant ainsi aux huiles essentielles d'être entraînées par la vapeur d'eau. Une fois les vapeurs condensées et liquéfiées à l'aide d'un réfrigérant à eau, nous avons récupéré dans un erlenmeyer 500 ml de distillat composé de deux liquides non miscibles : la phase aqueuse, majoritaire, est principalement de l'eau avec une faible quantité d'espèces odorantes dissoutes, tandis que la phase organique (l'huile essentielle) est constituée des composés odorants **(figure 14)**.



Figure 14 : **A.** Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle par hydro distillation (originale). **B.** Le distillat récupéré après 3h d'hydro-distillation.

➤ **Étape 2 : Relargage**

Le relargage vise à diminuer la solubilité du mélange dans l'eau. Pour ce faire, nous avons introduit une spatule de chlorure de sodium (NaCl) dans le distillat (**Figure 15**) et agité jusqu'à ce que le sel soit complètement dissous.

Comme l'huile essentielle de clou de girofle est moins soluble dans l'eau salée que dans l'eau pure, l'ajout de chlorure de sodium facilite la séparation des deux phases.



Figure 15 : l'étape de relargage

➤ **Etape 3 : Extraction par solvant**

L'extraction par solvant est employée pour extraire l'huile essentielle de l'eau : Nous utilisons le cyclohexane à cet effet, car il n'est pas miscible à l'eau et l'huile essentielle y est très soluble.

Le distillat a été versé dans une ampoule à décanter et l'extraction a été réalisée avec le cyclohexane (100 ml x 3). Les phases organiques récupérées sont assemblées (**figure 16**).



Figure 16 : Extraction de l'huile essentielle par cyclohexane

➤ **Etape 4 : Séchage et filtration**

Une fois les phases organiques rassemblées, un séchage a été réalisé en utilisant du sulfate de magnésium anhydre (MgSO_4) pour éliminer l'eau en suspension (**figure 17**). Après filtration, la phase organique a été récupérée.

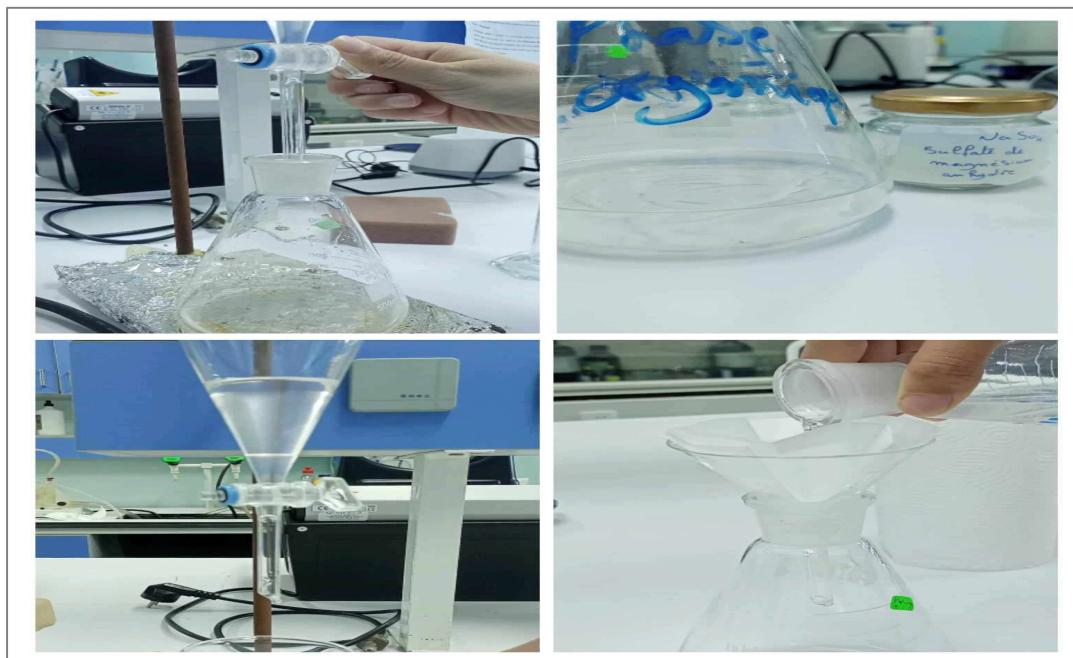


Figure 17 : Phase organique recueillie après décantation.

Ensuite, elle s'évapore à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à obtenir une huile jaunâtre (figure 18).



Figure 18 : Evaporation de la phase organique à l'aide d'un rotavapeur.

L'huile extraite est préservée dans une bouteille de couleur brune, fermée hermétiquement et rangée dans un endroit frais (4°C) à l'abri de la lumière.

2.1. Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme le pourcentage de la masse d'huile essentielle obtenu après extraction par rapport à la masse de matière végétale sèche utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante (Afnor, 1986).

$$R = \frac{M_h}{M_p} \times 100$$

R : Rendement d'huile essentielle en pourcentage (%).

M_h : Masse de l'huile en gramme.

M_p : Masse de clou de girofle poudre en gramme.

3. Extraction de l'eugénol

Pour extraire l'eugénol, nous avons suivi les étapes identiques à celles utilisées dans l'extraction des huiles essentielles jusqu'à l'étape 3, qui est l'étape « Extraction par solvant ». La

phase organique obtenue est ensuite transférée dans un ballon avec trois portions de 25 ml de solution d'hydroxyde de sodium (NaOH).

L'eugénol, un phénol, se convertit en ion eugénolate en réaction avec la solution de soude, ce qui signifie que tout l'eugénol réagit avec la soude. Les ions eugénolate $\text{Ar-O}^{-}(\text{aq})$ sont entièrement solubles dans la solution aqueuse, ce qui entraîne l'absence d'eugénol dans la phase organique (**figure 19**).

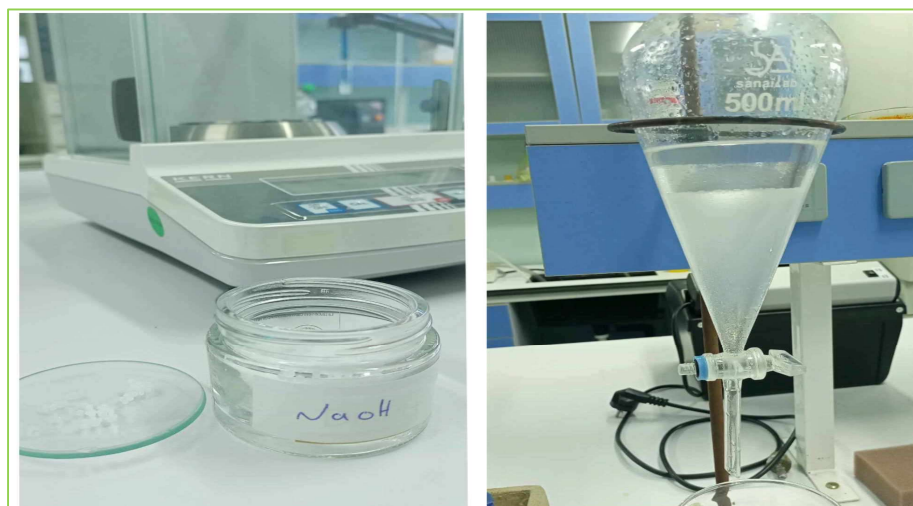


Figure 19 : Extraction de l'eugénol : phase organique

L'eugénol se déplace de la phase organique vers la phase aqueuse. Après décantation, les trois phases aqueuses ont été récupérées et combinées dans un erlenmeyer (eugénolate).

Après avoir acidifié cette phase basique avec de l'acide chlorhydrique (HCl) jusqu'à atteindre un pH acide (**figure 20**), la phase aqueuse obtenue a été réintroduite dans l'ampoule. L'extraction de l'eugénol a été réalisée en utilisant 50 ml x 3 de cyclohexane.

La phase organique (eugénol + solvant) récupérée a été desséchée avec du NaSO_4 puis introduite dans le rotavapeur. Après évaporation du cyclohexane, l'eugénol a été récupéré et conservé dans un tube Eppendorf stérile dans le réfrigérateur (4°C) à l'abri de la lumière.

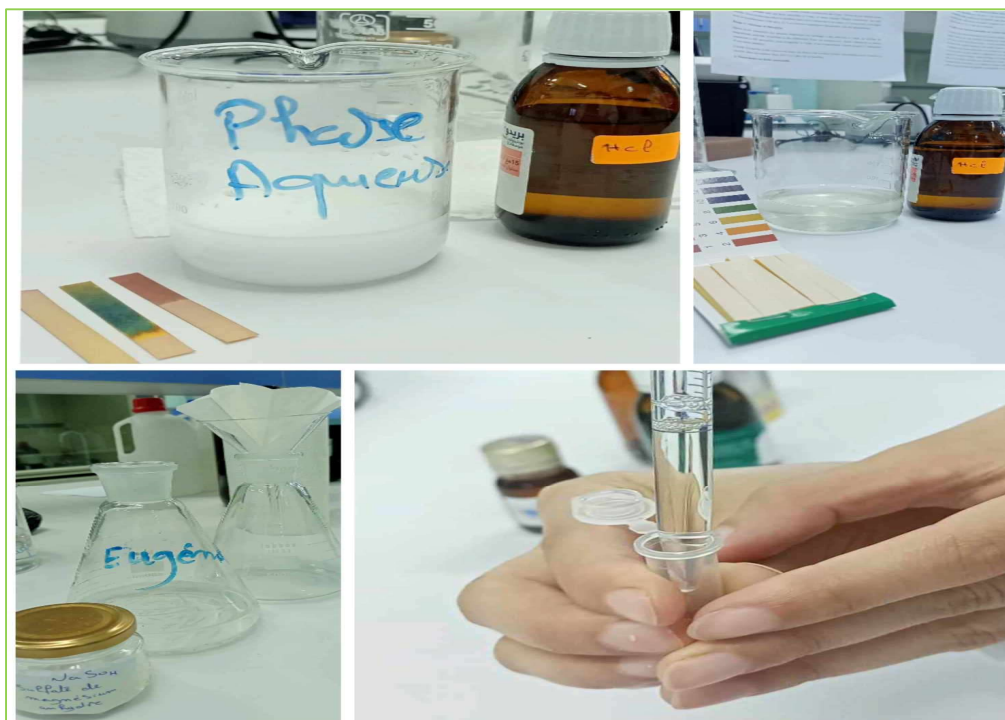


Figure 20 : Extraction de l'eugénol : acidification de la phase aqueuse.

4. Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est considérée comme la méthode de séparation la plus flexible et efficace à la disposition des chimistes. Ergon Stahl la définit comme une technique physico-chimique permettant de séparer les mélanges de substances en se basant sur les temps de rétention distincts des substances individuelles dans les phases stationnaire et mobile. Initialement utilisée pour les substances colorées, cette méthode s'est depuis étendue à une large gamme de composés.

La chromatographie sur couche mince a été réalisée en utilisant une plaque de gel de silice 60 Merck déposée sur des feuilles d'aluminium. Cette plaque avait une épaisseur de 0,25 mm et des dimensions de 20 cm sur 20 cm. L'analyse a été effectuée en utilisant un indicateur de fluorescence à 254 nm.

Nos échantillons, comprenant de l'huile essentielle et de l'eugénol, sont appliqués sur la plaque à l'aide d'une pipette pasteur, à des emplacements spécifiques situés à 2 cm du bord inférieur de la plaque. Ensuite, la plaque a été placée dans une cuve contenant de la vapeur de l'éluant cyclohexane/ acétate d'éthyle (90/10) ml, où les échantillons ont été séparés en surveillant la migration du solvant pour repérer le front de l'éluant. Après avoir séché la plaque à l'air libre, les composés ont été visualisés sous UV à 254 nm, puis révélés par une solution d'acide sulfurique (H_2SO_4 10%).

Après séchage de la plaque dans une étuve, les rapports frontaux (Rf) des taches ont été enregistrés. Les références utilisées étaient l'huile de clou de girofle commercial et l'eugénol commercial (**figure 21**).

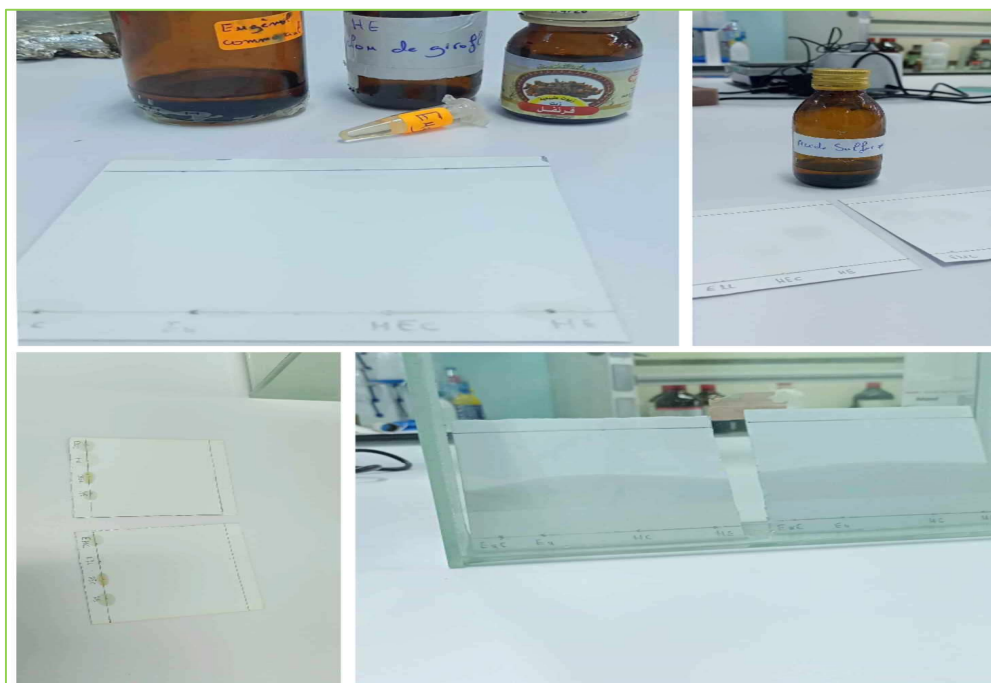


Figure 21 : Extraits analysés par CCM.

5. Évaluation des activités biologiques

5.1. Activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne, nous avons employé la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles. Cette approche est également connue sous le nom de méthode de l'aromatogramme, de la technique de l'antibioaromatogramme ou encore de la méthode de Vincent (**Pibiri, 2005**). Le principe de ce processus est d'évaluer la réactivité d'une souche bactérienne à un ou plusieurs produits (**Djähra *et al.*, 2015**).

Cette étude se concentre sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition des extraits de *Syzygium aromaticum* communément appelé clou de girofle.

5.1.1. Souches testées

Les souches bactériennes examinées pour évaluer l'efficacité des extraits de *Syzygium aromaticum* sont : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

a. Bactéries à gram positif

Les bactéries à Gram positif telles que *Staphylococcus aureus* possèdent une couche de peptidoglycane particulièrement épaisse. Leur espace périplasmique est plus restreint que celui des bactéries à Gram négatif, mais il sert de réservoir pour les enzymes, les nutriments, les protéines et les ions.

b. Bactéries à Gram négatif

Les bactéries à Gram négatif telles qu'*Escherichia coli* possèdent une paroi cellulaire sophistiquée et complexe qui les protège tout en facilitant le passage sélectif des nutriments de l'extérieur et des déchets de l'intérieur (Thomas *et al.*, 2010).

La couche de peptidoglycane des bactéries à Gram négatif est plus mince que celle des bactéries à Gram positif, et elle est enveloppée par une membrane externe composée de lipopolysaccharides et de lipoprotéines. La partie lipopolysaccharidique contient des molécules d'endotoxine, telles que le lipide A, qui contribuent à la virulence bactérienne (Bouyahya *et al.*, 2017).

5.1.2. Milieu de culture

Pour les tests antibactériens, nous avons employé la gélose Mueller-Hinton comme milieu de culture pour évaluer la sensibilité des bactéries. Cette gélose favorise une diffusion optimale des antibiotiques par rapport à la plupart des autres milieux, ce qui se traduit par des zones d'inhibition plus précises (Nassar *et al.*, 2019).

5.1.3. Mode opératoire

a. Préparation de l'inoculum

Nous préparons des suspensions pour les deux espèces en utilisant les boîtes contenant les germes d'une culture de 24 heures (**figure 22**).

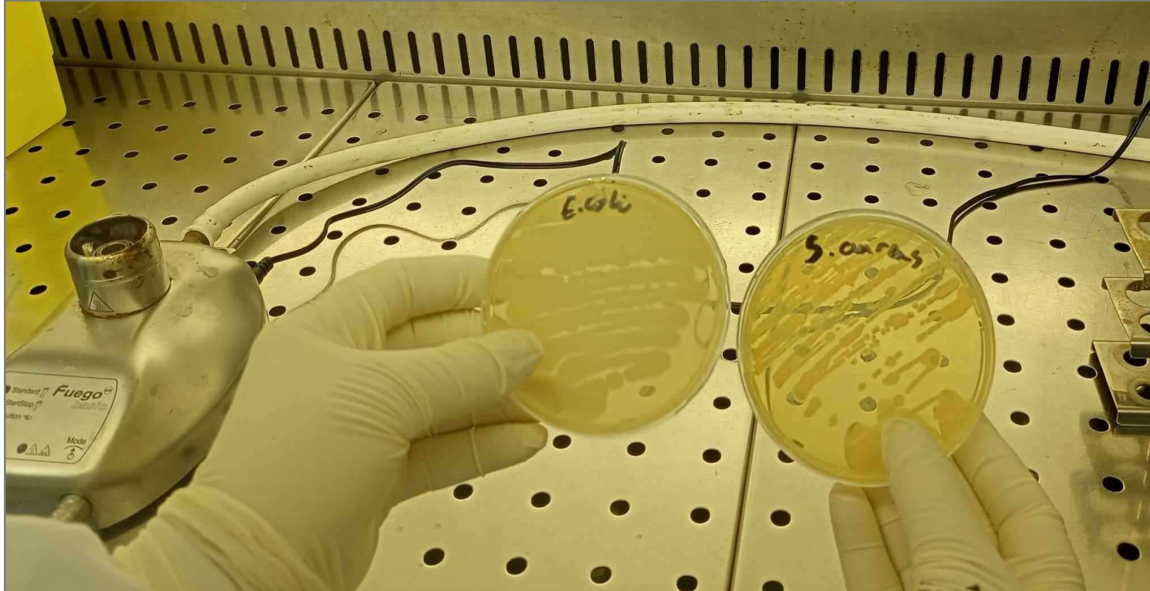


Figure 22 : les germes d'une culture de 24h.

En utilisant une pipette pasteur, nous avons collecté deux ou trois colonies pures et bien isolées, que nous avons transférées dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile pour obtenir un inoculum avec une densité optique (DO) de 0,08 à 0,1, mesurée à une longueur d'onde de 620 nm. L'ajustement de l'inoculum se fait en ajoutant de la culture en cas de faiblesse ou de l'eau physiologique stérile en cas de trop grande concentration.

Nous avons versé de manière aseptique le milieu de culture gélosé (M.H) dans des boîtes de Pétri devant une flamme de bec bunsen, puis laissé refroidir sur la paillasse.

Pour chaque souche, 5 boîtes ont été employées. Quatre pour les échantillons et une pour témoin (**figure 23**).

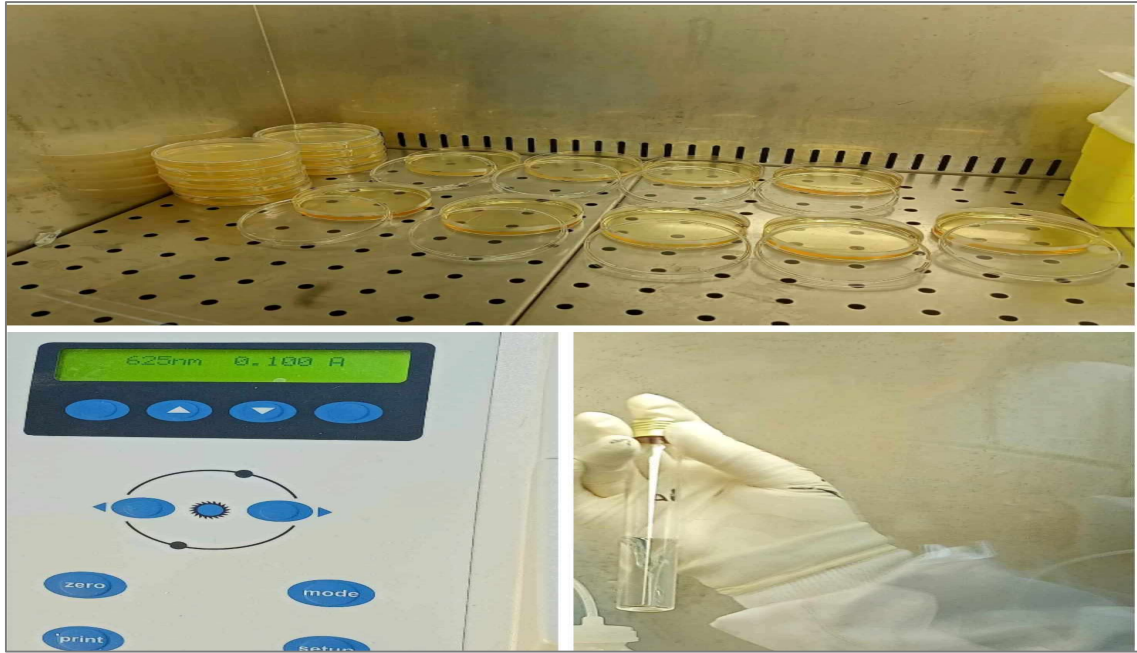


Figure 23 : Refroidissement de milieu de culture gélosé Mueller Hinton (MH) et préparation de l'inoculum.

Après l'ensemencement, la suspension bactérienne été étalée sur le milieu MH à l'aide des écouvillons (**figure 24**).

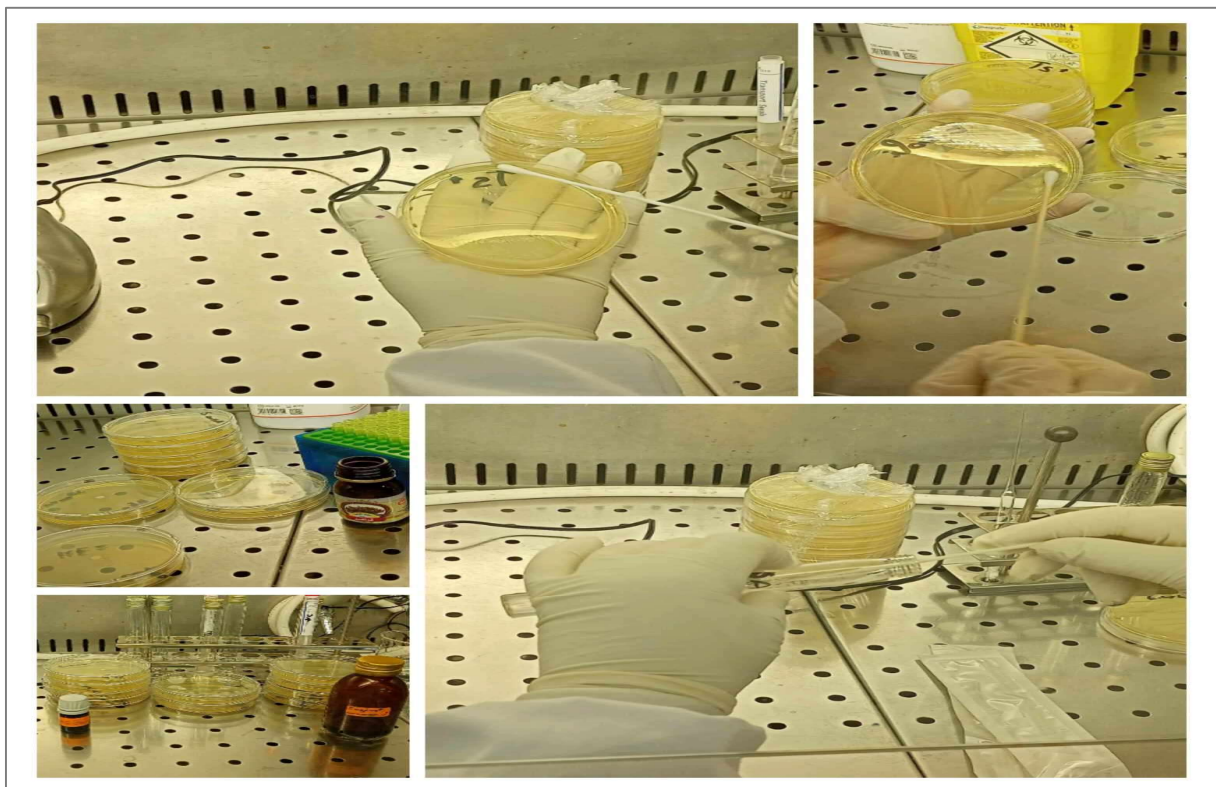


Figure 24 : Ensemencement de la suspension bactérienne sur le milieu MH.

b. Dépôt des disques

En utilisant une micropipette, des disques de papier Wattman N°4 stériles sont imbibés de 6 μ l de chaque extrait (HE, HEC, EU, EUC), tandis que d'autres disques sont imprégnés de DMSO pour servir de témoins négative et d'Amoxicilline comme témoin positive (figure 25).

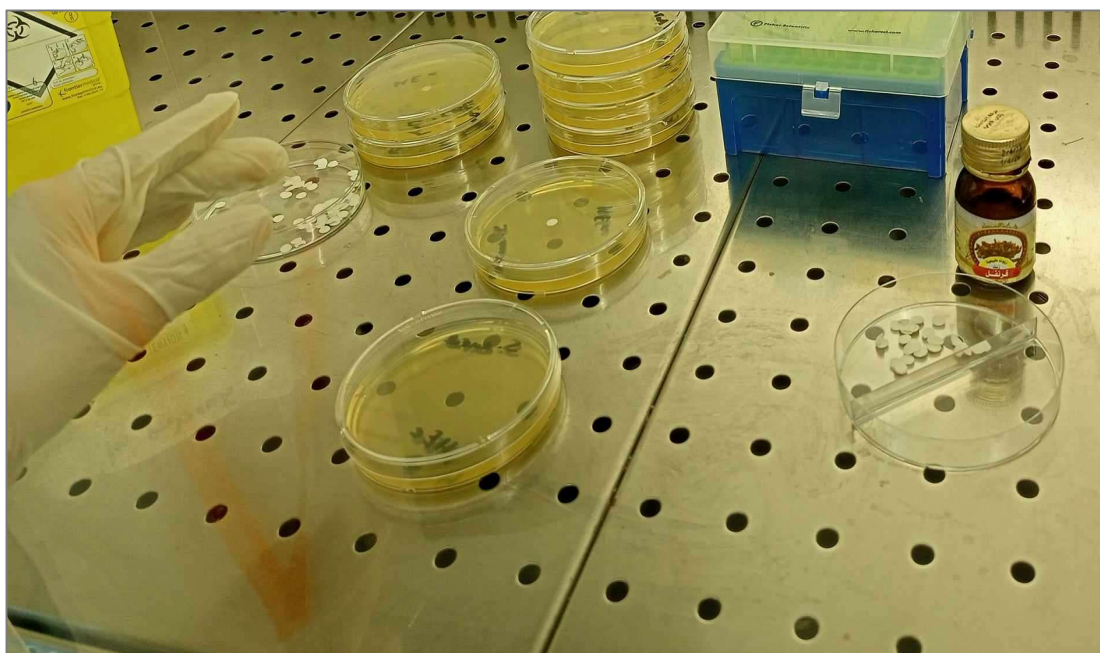


Figure 25 : Dépôt des disques dans les boîtes de pétri.

Une fois les disques complètement imprégnés, un disque a été déposé à la surface de la géloseensemencée dans chaque boîte (HE, HEC, EU, EUC et T). Ensuite, l'ensemble a été incubé pendant 24 heures à 37°C.

5.2. Activité antioxydante

L'huile essentielle est de plus en plus utilisée comme substitut pour les antioxydants dans la conservation alimentaire en raison de ses propriétés antioxydantes. La méthode ABTS et la méthode DPPH sont deux approches fréquemment employées pour évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles.

5.2.1. Test du piégeage du radical DPPH

➤ Principe

Cette méthode consiste à mesurer la capacité réductrice d'un antioxydant en présence d'un radical libre, le DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Il s'agit d'un radical libre de couleur violette. La réaction entre le DPPH• et un donneur d'atomes H (AH) entraîne la formation de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine, qui est incolore ou de couleur jaune pâle DPPH-H, ainsi que la production de radicaux libres (**Mnayer, 2014**). Le maximum d'absorption du DPPH• se trouve dans la gamme de 515 à 517 nm lorsqu'il est mesuré dans des solvants tels que le méthanol ou l'éthanol (**figure 26**) (**Saani, 2016**).

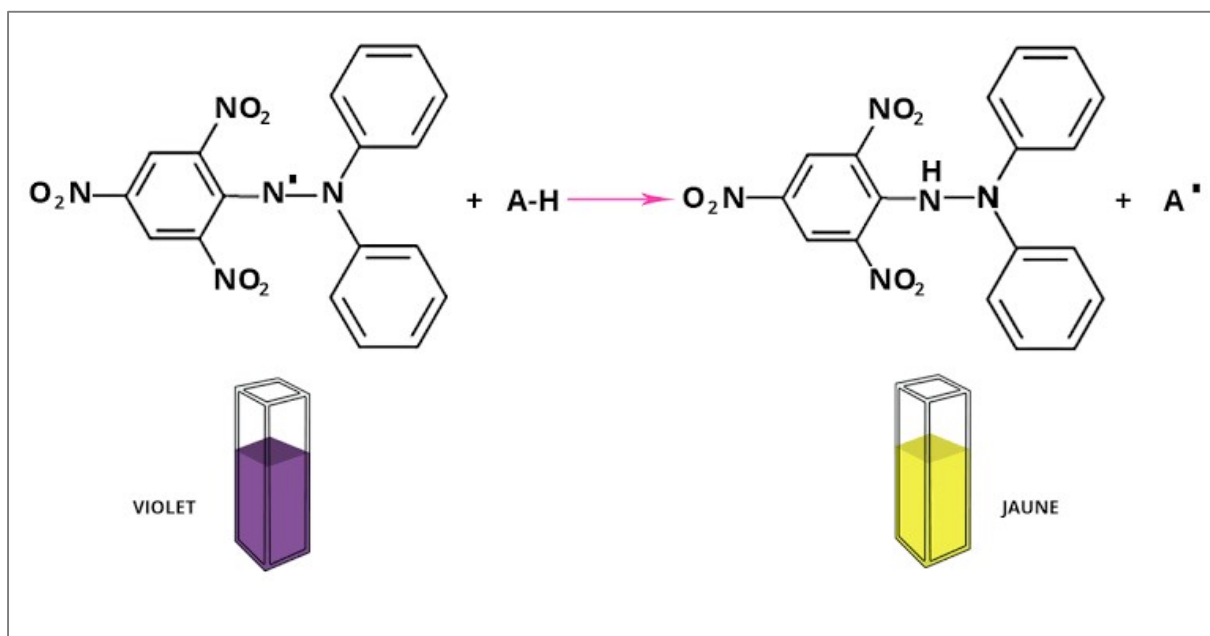
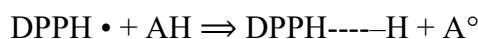


Figure 26 : Forme libre et réduite du DPPH (**Prakash, 2001**; **Molyneux, 2004**).

Effectuer cette activité permet de calculer la concentration d'extrait nécessaire pour réduire de moitié la concentration initiale du radical DPPH (**Luciana et al., 2015**).

➤ Mode opératoire

a. Préparation du DPPH

La préparation de la solution mère de DPPH a été effectuée en dissolvant 4 mg de poudre de DPPH dans 100 ml de méthanol (Gracia *et al.*, 2012).

b. Préparation de l'extrait à tester

Pour préparer 4mg/ml de la solution mère, on pèse 4mg d'huile essentiel puis on rajoute 1ml de méthanol. Après agitation on mesure l'absorbance.

c. Préparation de la gamme de dilution

Nous avons préparé 7 tubes pour réaliser, il faut diluer la solution mère (4µg/ml) avec différentes concentrations : 4, 2, 1, 1/2, 1/4, 1/8 ,1/16 µg/ml. Dans le premier tube, nous utilisons une solution mère concentrée, puis nous ajoutons 500 µl de méthanol dans chacun des six tubes suivants. Une autre série de dilutions a été réalisée à partir de la concentration 1/16, qui est la solution mère.

Dans une microplaque, 40 µL de chaque dilution ont été combinés avec 160 µL de la solution mère de DPPH. La mesure de la variation de l'absorbance a été faite 30 min après l'introduction des cuves dans le spectrophotomètre. L'expérience a été répétée trois fois pour chaque mesure, et la valeur moyenne d'absorbance a été calculée. Le graphique de la variation de l'absorbance en fonction de la concentration a permis de déterminer le CI_{50} (concentration correspondant à 50 % d'inhibition).

5.2.2. Test du piégeage du radical ABTS**➤ Principe**

Le test ABTS est fréquemment utilisé dans la recherche pour évaluer la capacité antioxydant totale dans des substances pures, des liquides organiques et des matières végétales (Tirzitis, 2010).

La capacité antioxydant des extraits a été confirmée par le test ABTS, largement utilisé pour mesurer la capacité antioxydant des extraits de plantes. Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à réduire le cation radical de couleur bleu-vert ABTS^{•+} (2,2'-azinobis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate) en ABTS incolore, en transférant un électron d'un antioxydante (**figure 27**) (Oiszowy, 2016).

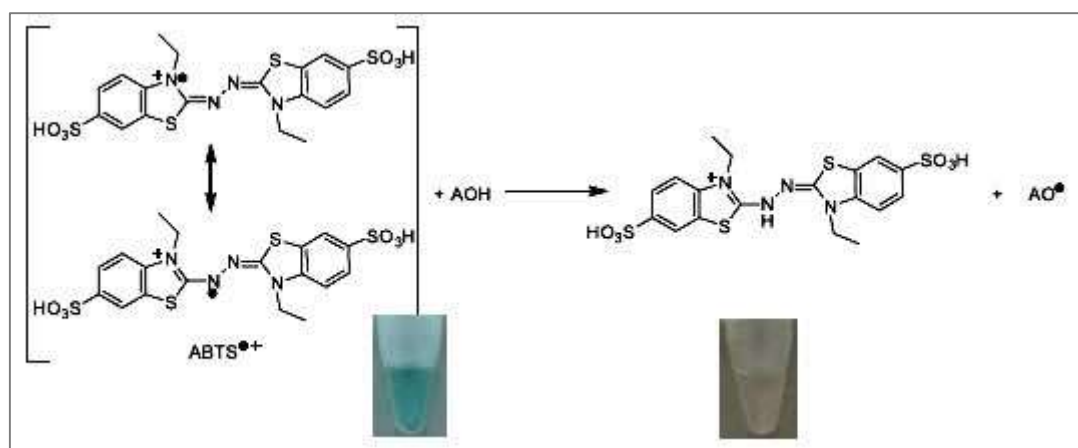


Figure 27 : Forme libre et réduite de l'ABTS.

➤ Mode opératoire

a. Préparation du ABTS

Pour préparer la solution l'ABTS et de persulfate de potassium $K_2S_2O_8$, les deux produits sont mélangés dans une solution aqueuse et placés à l'abri de la lumière pendant 12 à 16 heures. Ensuite, l'absorbance de la solution obtenue est ajustée à $0,700 \pm 0,020$ à 734 nm en utilisant de l'éthanol ou de l'eau avant d'être utilisée.

(19.2mg (ABTS) + 5ml H_2O)+(3.3 mg ($K_2S_2O_8$)+5ml H_2O) + attendre 16 heure à l'abri de la lumière.

b. Préparation de l'extrait à tester

Pour préparer 4mg/ml de la solution mère, on pèse 4mg d'huile essentiel puis on rajoute 1ml de méthanol. Après agitation on mesure l'absorbance

c. Préparation de la gamme de dilution

Nous avons préparé 7 tubes pour réaliser, il faut diluer la solution mère (4ug/ml) avec différentes concentrations : 4, 2, 1, 1/2, 1/4, 1/8 ,1/16 $\mu\text{g/ml}$. Dans le premier tube, nous utilisons une solution mère concentrée, puis nous ajoutons 500 μl de méthanol dans chacun des six tubes

suivants. Une autre série de dilutions a été réalisée à partir de la concentration 1/16, qui est la solution mère.

Pour effectuer la mesure, il faut ajouter 160 μ l d'ABTS à 40 μ l d'extrait et attendre 10 minutes avant de procéder à la lecture à 734 nm. L'expérience a été répétée trois fois pour chaque mesure, et la valeur moyenne d'absorbance a été calculée.

Les antioxydants synthétiques BHA et BHT ont été utilisés en tant que contrôle positif avec des concentrations variées de 4,2, 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 μ g/ml.

Résultats et discussion

1. Description de l'huile essentielle de clou de girofle obtenue

1.1. Les caractéristiques organoleptiques

Les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 5**) montrent une comparaison entre les caractéristiques de l'huile essentielle extraite dans cette étude avec les normes d'AFNOR.

Tableau 5 : caractéristiques organoleptiques

	Aspect	Couleur	Odeur
Norme AFNOR	Liquide, mobile limpide, parfois légèrement visqueux	Jaune très clair	Épicée (caractéristique de l'eugénol)
Huile Essentielle étudiée	Liquide, mobile, limpide, visqueux après le temps	Jaune clair	Forte odeur épicée

Selon ces résultats obtenus, On remarque que les caractéristiques de notre huile essentielle obtenu par hydrodistillation y compris : l'aspect, la couleur et l'odeur sont identiques à celles décrites par les normes d'AFNOR.

1.2. Analyses physiques de l'huile essentielle

1.2.1. Le rendement

L'extraction de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a été réalisée par hydrodistillation, la méthode prédominante pour obtenir des huiles essentielles de haute qualité et pureté. Cette technique est largement préférée car elle est simple, économique et permet d'obtenir des rendements plus élevés.

Le rendement de l'huile essentielle (HE) obtenue par hydrodistillation à l'échelle de laboratoire à partir des clous de girofle est présenté ci-dessous (**tableau 6**).

Tableau 6 : Résultat du rendement

	Huile étudiée	Norme AFNOR	
		Minimum	Maximum
Rendement (%)	10.15	5	8

D'après (**le tableau 6**), le rendement obtenu par la méthode d'hydrodistillation est de 10,15%. Ce résultat est très proche de celui obtenu par **Nana et al.**, en **2015**, qui ont rapporté un rendement de 10,54% en utilisant la même technique. Cela suggère que la méthode d'hydrodistillation permet d'obtenir des rendements similaires dans cette application. D'autres auteurs ont rapporté des rendements en huile essentielle plus élevés que ceux obtenus dans notre étude, en utilisant la même technique d'hydrodistillation : **Andrea (2004)** et **Guan et al. (2007)** avec 14 à 20 % et 11,5 % respectivement.

La différence de rendement observée pourrait s'expliquer par le fait qu'une partie de l'huile s'est solubilisée dans la phase aqueuse et à la simplicité relative de notre dispositif d'hydrodistillation.

Les rendements en huile essentielle varient selon plusieurs facteurs tels que l'espèce, la période de récolte, les pratiques culturales, la méthode d'extraction (**Marzouki et al., 2009**) (**Olle et al., 2010**), les conditions climatiques (chaleur, froid), la localisation géographique (altitude, type de sol, exposition au soleil) et la nature des plantes aromatiques (**Nana et al., 2015**). En général, le rendement d'extraction est plus élevé pour les plantes séchées que pour celles fraîches. Dans notre étude, nous avons utilisé des clous de girofle séchés.

Lors de l'extraction, le relargage que nous avons effectué a un impact sur le taux de récupération des huiles essentielles. Ces huiles sont des composés organiques partiellement solubles dans l'eau. Le relargage implique de rendre ces huiles moins solubles dans l'eau en utilisant du chlorure de sodium. Lorsque du sel est ajouté, les molécules d'eau entourent les ions sodium Na^+ et les ions chlorure Cl^- pour faciliter la dissolution du sel. Les molécules d'eau ont une affinité plus forte pour entourer les ions que les molécules des huiles essentielles. Cela facilite la récupération des huiles essentielles pendant le processus.

1.2.2. Le PH

D'après cette étude, le pH est de 6, ce qui le classe comme pratiquement basique en raison de la composition chimique des huiles essentielles. Ces huiles sont en effet considérées comme des donneurs d'ions H⁺ (**Tableau 7**)

Tableau 7 : Résultat du pH

	Huile étudiée	Norme AFNOR	
		Maximum	Minimum
PH	6	5.5	7

Le pH est essentiel dans les réactions, car il influence les propriétés biochimiques stabilisantes des huiles essentielles. Ces variations peuvent altérer l'activité antibactérienne et antifongique.

1.2.3. La densité

La densité obtenue est de 1,015 (**Tableau 8**), soutenue par deux arguments.

- La solubilité de l'huile essentielle de clou de girofle dans l'eau est faible, ce qui signifie qu'il y a des phases distinctes. La densité de l'eau et celle de l'huile essentielle sont très proches, étant toutes deux égales à 1, ce qui signifie qu'il n'y a pas vraiment de phase qui surnage.

Tableau 8 : Résultat de la densité

	Huile étudiée	Norme AFNOR	
		Maximum	Minimum
La densité (g/cm ³)	1.015	1.054	1.042

1.3. Analyse CCM

Nous avons employé cette méthode dans un but d'identification, elle consiste à comparer le profil chromatographique de la substance à analyser à celui d'une substance de référence, typiquement un échantillon authentique du produit en question.

Après le séchage, la chromatographie sur couche mince (CCM) de l'huile essentielle de clou de girofle révèle la présence de multiples spots, comme illustré dans la **figure 28** qui montre la plaque CCM après révélation sous la lampe UV à 254 nm.

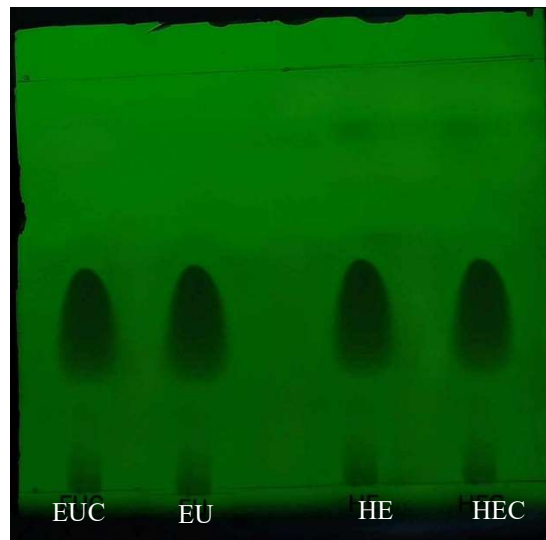


Figure 28 : Plaque CCM sous UV.

HE : Huile Essentielle du clou de girofle extraite. HEC : Huile Essentielle du clou de girofle Commercial. EUC : Eugénol Commercial, EU : Eugénol extrait.

La pulvérisation des plaques de chromatographie sur couche mince (CCM) avec une solution d'acide sulfurique (H_2SO_4) à 10% permet de révéler certains des composés présents sur la plaque. Cette technique de révélation est utile pour identifier et visualiser les différents composés séparés lors de la chromatographie (**figure 29**).

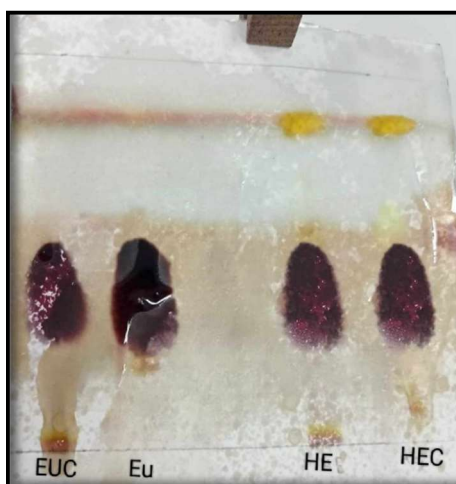


Figure 29 : Plaque CCM pulvérisée par H_2SO_4 (10 %) des composés suivants :

HE : Huile Essentielle du clou de girofle extraite. HEC: Huile Essentielle du clou de girofle Commercial. EUC: Eugénol Commercial, EU : Eugénol extrait. (Cyclohexane/EtAc) (90/10)

Le rapport frontal, noté R_f , représente le rapport entre la distance parcourue par la substance et la distance parcourue par le front de la phase mobile. Ces mesures sont prises à partir de la ligne de dépôt, et les valeurs de R_f sont affichées dans le **Tableau 9**.

Les variations de migration observées en chromatographie sur couche mince (CCM) résultent de la compétition entre deux phénomènes : le composé "eugénol" migre moins en raison d'une moindre solubilité dans l'éluant utilisé (phase mobile) ou d'une plus grande adsorption sur la couche mince (phase stationnaire).

Tableau 9: Rapports frontaux des spots visualisés sur la CCM.

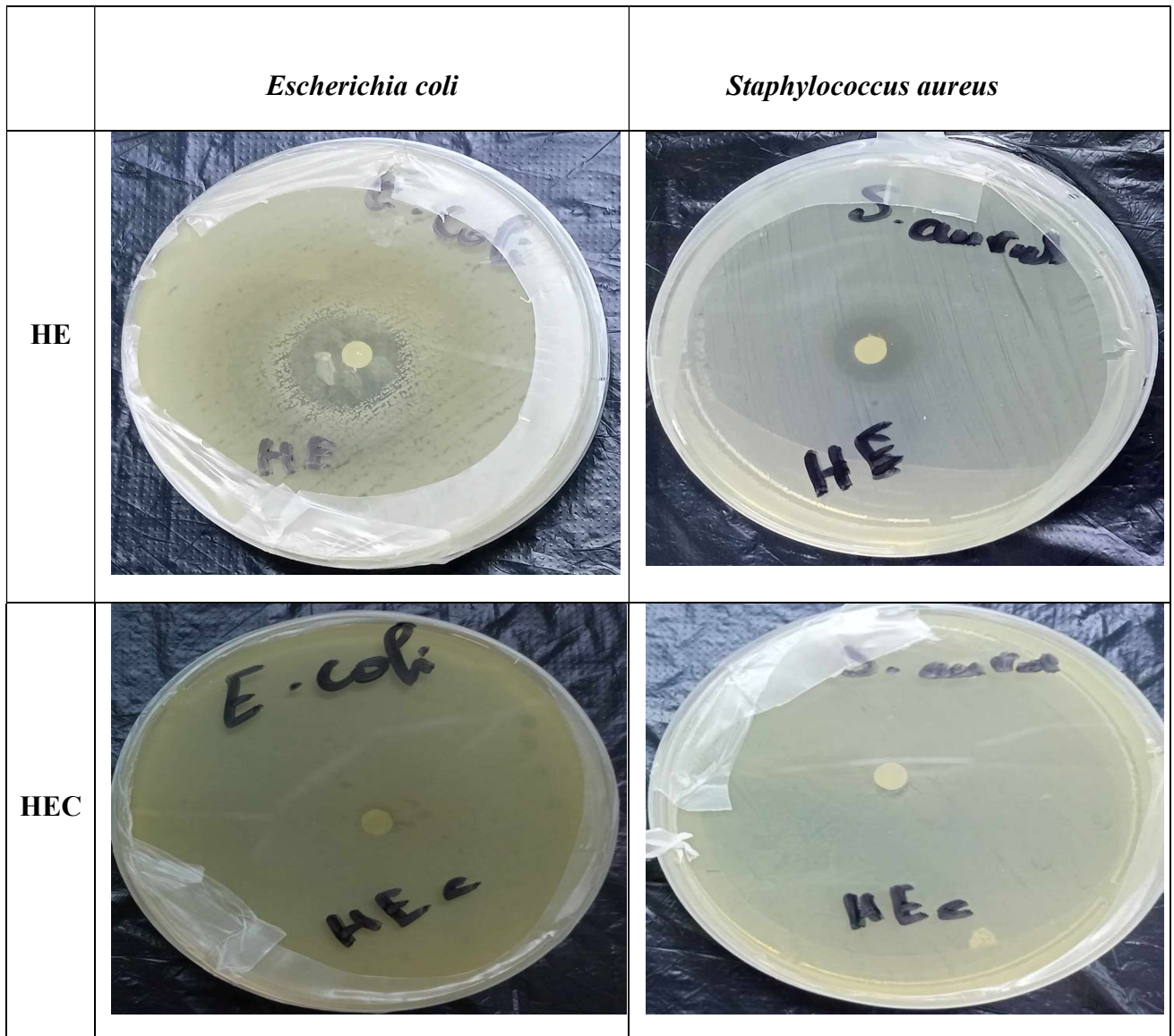
Composés analysés	HE	HEC	EU	EUC
R_f (spot1)	0.62	0.62	0.62	0.62
R_f (spot2)	0.94	0.94	/	/

En comparant les données des **figures 28 et 29** avec celles du **Tableau 9**, nous constatons une similitude dans le profil de migration de nos échantillons par rapport à celui des produits commerciaux.

Les résultats de la migration de l'eugénol extrait et commercial montrent la présence d'une seule tache ($R_f = 0.62$) cela signifie que notre eugénol est quasiment pur. Cependant, les résultats de la migration de l'huile essentielle de clous de girofle (HE et HEC) montrent la présence de deux taches ; la première tache ($R_f = 0.62$) est située à la même hauteur que l'eugénol (EU), la deuxième tache située plus haut ($R_f = 0.94$), correspond à l'acétateugénol. Cela indique que l'huile essentielle de clou de girofle est principalement constituée d'eugénol et d'acétateugénol.

2. Évaluation de l'activité antibactérienne

La sensibilité des diverses souches microbiennes se manifeste par la formation d'une zone claire en halo autour du disque imprégné du composé testé. La **Figure 30** illustre l'impact des extraits de *Syzygium aromaticum* sur les deux souches bactériennes examinées.



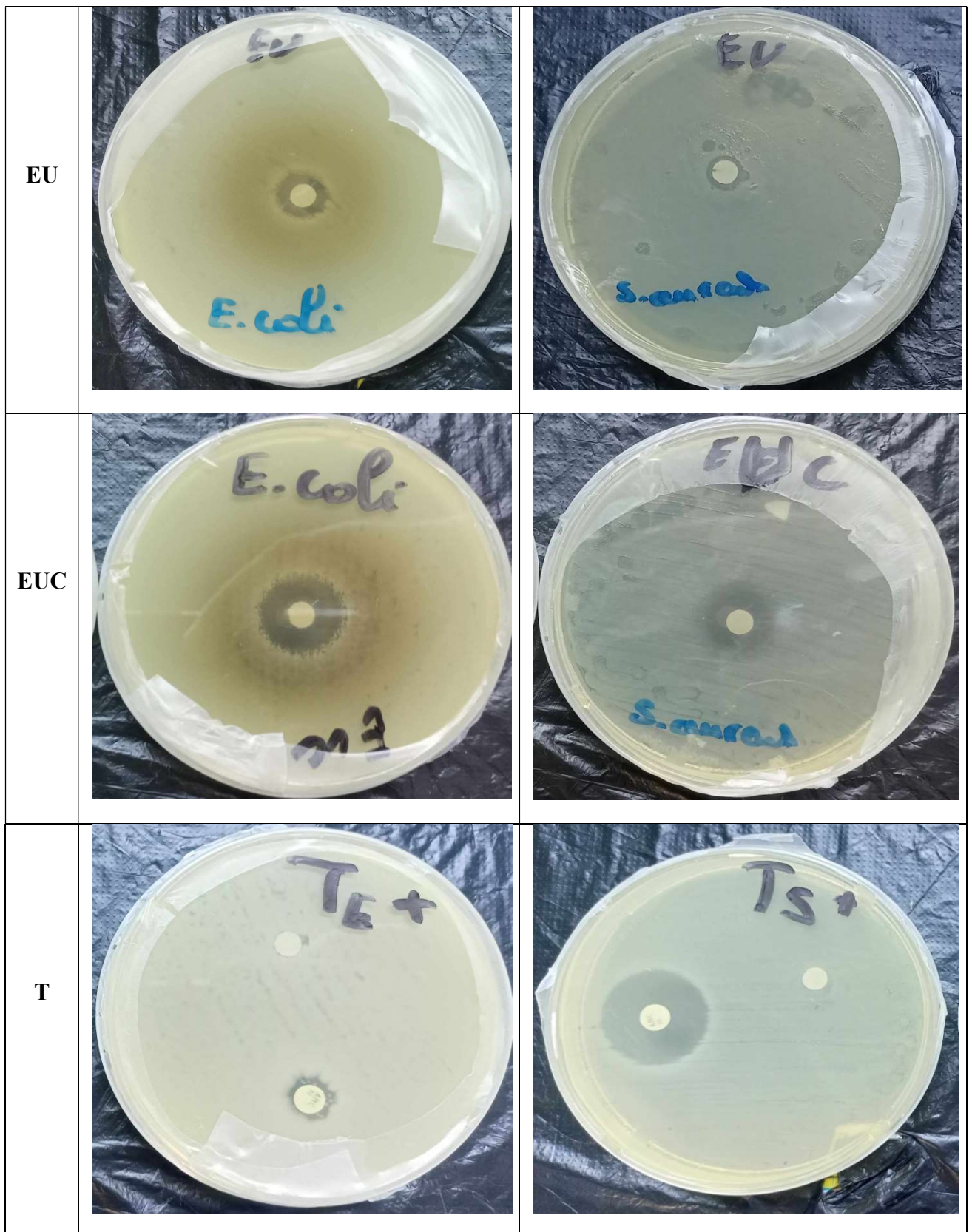


Figure 30 : Effet des extraits du clou de girofle H, HE, EU, EUC, T sur les deux souches bactériennes testées : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

La sensibilité des souches microbiennes aux extraits testés (ici les huiles essentielles) a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (en mm) autour de chaque disque imprégné du composé. Selon **Atmani et Baira (2015)**, l'interprétation de la sensibilité des souches se fait de la manière suivante :

- Non sensible (-) ou résistante, si le diamètre est inférieur à 08 mm ;
- Sensible (+) si le diamètre est compris entre 09 mm et 14 mm ;
- Très sensible (++) si le diamètre est compris entre 15 mm et 19 mm ;
- Extrêmement sensible (+++) si le diamètre est supérieur à 20 mm.

Les résultats des observations menés pour évaluer l'impact des extraits de clou de girofle sur la croissance des deux souches bactériennes sont présentés dans le **tableau 10**.

Tableau 10 : Halos d'inhibition (moyenne) en (mm) provoqués par les extraits de clou de girofle

Extrait	Souche	Diamètre des zones d'inhibition (mm)	Sensibilité
Huile essentielle	<i>Escherichia coli</i>	20	+++
	<i>Staphylococcus aureus</i>	14	+
Huile essentielle commerciale	<i>Escherichia coli</i>	<8	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<8	-
Eugénol	<i>Escherichia coli</i>	16.5	++
	<i>Staphylococcus aureus</i>	15.5	++
Eugénol commercial	<i>Escherichia coli</i>	17	++
	<i>Staphylococcus aureus</i>	16	++

D'après les résultats obtenus, nous pouvons dire que les deux espèces testées présentent une certaine sensibilité vis-à-vis de l'HE de clou de girofle et de son composé majoritaire, l'eugénol.

Cependant, il est important de noter que le diamètre de la zone d'inhibition varie d'une bactérie à l'autre et d'un extrait à un autre. En comparant les résultats, il est évident que l'eugénol et l'eugénol commercial présentent une activité bactéricide presque similaire contre les deux souches. La souche *E. coli* (Gram-) s'est révélée très sensible avec le plus grand diamètre d'inhibition, compris entre 15,5 et 17 mm, suivi de la souche *S. aureus* (Gram +) avec un diamètre d'inhibition entre 15 et 16,5 mm.

D'un autre part, l'huile essentielle démontre un effet inhibiteur plus marqué, tandis que l'huile essentielle commerciale ne présente aucun effet inhibiteur, ce qui entraîne une résistance bactérienne à cette dernière (non sensible), impactant la croissance bactérienne. *E. coli* se montre extrêmement sensible (+++) avec un diamètre d'inhibition de 20 mm pour l'huile essentielle et inférieur à 8 pour l'huile essentielle commerciale. En revanche, *S. aureus* affiche le plus petit diamètre d'inhibition pour l'huile essentielle, mesurant 14 mm, et inférieur à 8 pour l'huile essentielle commerciale.

Ces résultats sont en accord avec l'étude de **Seladji en 2014**, qui a examiné la sensibilité de certaines bactéries à l'huile essentielle de clou de girofle. Les conclusions ont montré que les souches bactériennes Gram négatif testées, notamment *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*, sont très sensibles à cette huile essentielle. Cependant, l'huile essentielle de clou de girofle n'a pas démontré d'activité antibactérienne contre *S. aureus* dans son étude.

D'après **Oussalah et al. (2007)**, les bactéries Gram - se sont montrées généralement plus résistantes que les Gram + en raison des lipopolysaccharides (LPS) présents dans la membrane externe, mais ce n'était pas toujours vrai.

De même, **Shakeri et al., 2014** ont démontrés dans leur étude que les souches d'*Enterococcus sp* et *Pseudomonas aeruginosa* sont des bactéries à Gram- résistantes à l'huile essentielle. Cela est dû à leur membrane bactérienne riche en liposaccharides (LPS), qui offrent une surface hydrophile. Ces liposaccharides agissent comme une barrière de pénétration, empêchant les macromolécules de pénétrer dans la cellule (**Kong et al., 2008**). En conséquence, les bactéries à Gram négatif (-) sont relativement résistantes aux huiles essentielles.

Dans notre étude, nous observons que les bactéries à Gram- (*E. coli*) ont des zones d'inhibition plus grandes que celles des bactéries à gram + (*S. aureus*). Ce résultat n'est pas concordant avec celui de **Ramoul et Slimanien (2021)**. Ce résultat est peut-être s'expliquer par l'interférence entre l'huile essentielle de girofle (HE) et le composé LPS rend la paroi bactérienne plus vulnérable à la mort.

Dans son étude, **Rhayour (2016)** a démontré que l'huile essentielle de girofle exerce son activité bactéricide principalement grâce à son constituant majoritaire, l'eugénol, qui est un phénol. Il semblerait que l'activité bactéricide des huiles essentielles (HE) commence par une fixation de ces molécules sur les membranes bactériennes, ce qui provoque des altérations de structure et de perméabilité, entraînant une perte importante de constituants cellulaires due à une lyse significative des cellules bactériennes.

L'huile de girofle peut exercer son activité antibactérienne par plusieurs mécanismes, notamment :

- Perturbation de la membrane cellulaire : l'eugénol peut perturber la structure et la fonction de la membrane cellulaire, entraînant la fuite d'ions et de composés essentiels et la mort de la cellule.
- Dénaturation des protéines : l'eugénol peut dénaturer les protéines essentielles à la survie de la bactérie.
- Interférence avec la synthèse de l'ADN : l'eugénol peut interférer avec la réplication de l'ADN bactérien. Il inhibe la synthèse normale de l'ADN ainsi que des protéines nécessaires à la croissance bactérienne (**Xu et al., 2016**).

3. Évaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante ne devrait pas se baser uniquement sur un seul modèle de test antioxydant. En pratique, plusieurs procédures in vitro sont menées pour évaluer l'activité antioxydante des échantillons d'intérêt.

Les techniques couramment utilisées sont : le test DPPH et le test ABTS, pour la détermination de l'IC₅₀ des extraits.

La valeur de l'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) est calculée pour l'huile essentielle ainsi que pour les standards utilisés. L'IC₅₀ est définie comme la concentration du substrat qui provoque une réduction de 50% de l'activité du DPPH ou de l'ABTS. En d'autres termes, c'est la concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire de moitié l'absorbance de la solution

de DPPH ou d'ABTS. Les valeurs d'IC₅₀ sont inversement proportionnelles à l'effet antioxydant, avec des valeurs plus faibles indiquant un effet anti-radicalaire plus important (Villano *et al.*, 2007).

3.1. Test de DPPH

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de clou de girofle vis-à-vis du radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical en 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazine qui s'accompagne par un passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm. Le profil de la microplaque obtenue est représenté dans la figure 31.

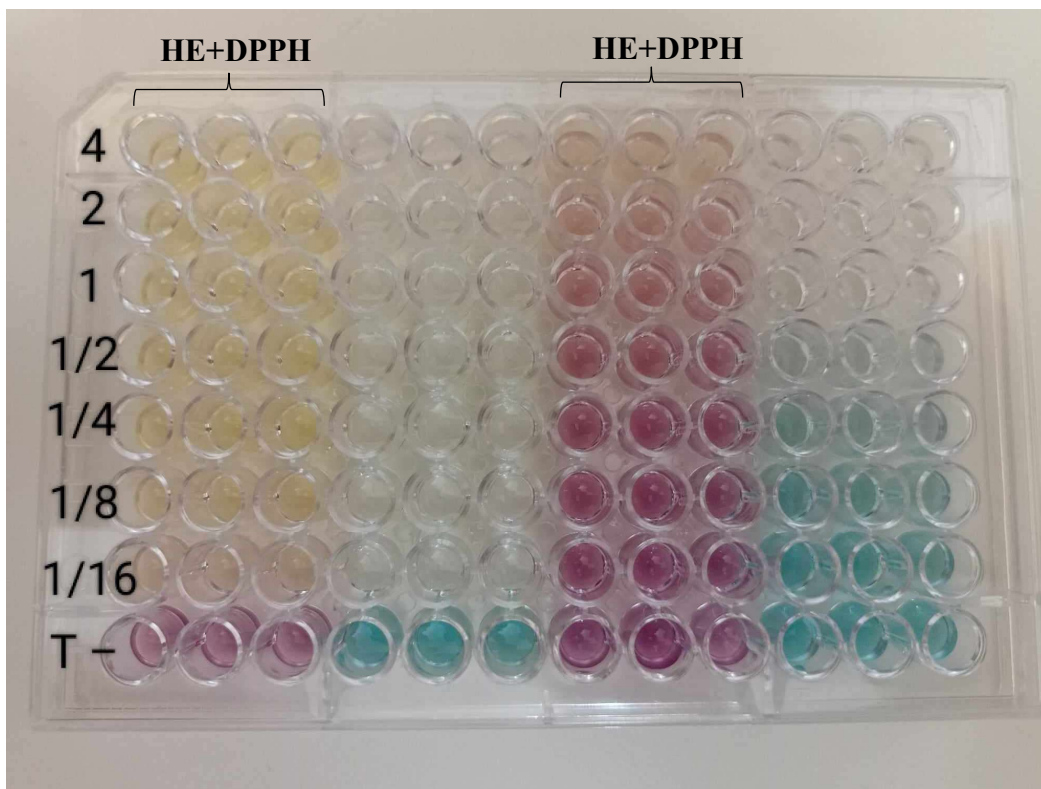


Figure 31 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH).

Les résultats obtenus révèlent que les différents extraits possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante.

Les résultats, des trois essais, de l'absorbance de l'huile essentielle sont montrés dans le **tableau 11**.

Tableau 11 : Absorbances de l'huile essentielle par lecture microplaque (test DPPH)

Concentration (µg/ml)	1	2	3
12,5	0,174	0,182	0,174
6,25	0,231	0,267	0,261
3,125	0,338	0,338	0,375
1,5625	0,413	0,382	0,419
0,78125	0,455	0,45	0,453
0,390625	0,465	0,477	0,481
0,195313	0,528	0,518	0,518
12,5	0,642	0,755	0,555

La dernière ligne du tableau représente la ligne de contrôle négatif.

Alors la moyenne de contrôle (MC) = 0.6507

Et l'écart type (ET) = 0,1

A partir de ces valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition (tableau12) en utilisant l'équation suivante :

$$PI \% = ((A C - A E) / A C) \times 100$$

A C : Absorbance du contrôle.

A E : Absorbance de l'extrait.

Tableau 12: Pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	1	2	3
12.5	73,2582	72,0287	73,2582
6.25	64,4980	58,9652	59,8873
3.125	48,0533	48,0533	42,3668
1,5625	36,5266	41,2910	35,6045
0,78125	30,0717	30,8402	30,3791
0,390625	28,5348	26,6906	26,0758
0,195313	18,8525	20,3893	20,3893

Les valeurs obtenues ont permis de tracer la courbe de **la figure 32**, qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'huile essentielle.

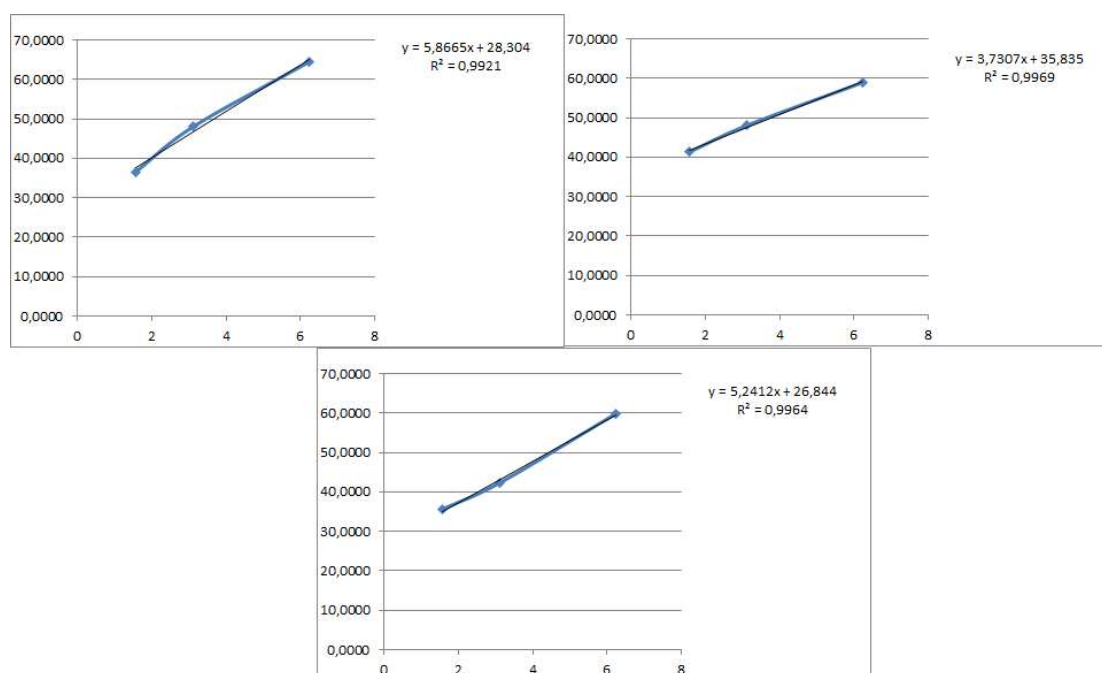


Figure 32 : Méthode graphique pour calculer l'IC₅₀ des trois essais de L'HE de *Syzygium Aromaticum*

À des fins comparatives, nous avons évalué un autre paramètre le IC₅₀ (plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande). Les valeurs de l'IC₅₀ ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire, à partir de l'équation suivante : $IC_{50} = Y - b / a$. Les résultats sont représentés dans le **tableau 13** et dans la **figure 33** sous forme d'histogrammes.

Tableau 13 : Valeurs des IC₅₀ des trois essais et leur moyenne du test DPPH.

Y	A	B	IC ₅₀	IC ₅₀	ET
50	5,8665	28,304	3,70	3.97	0.39
50	3,7307	35,835	3,80		
50	5,2412	26,844	4,42		

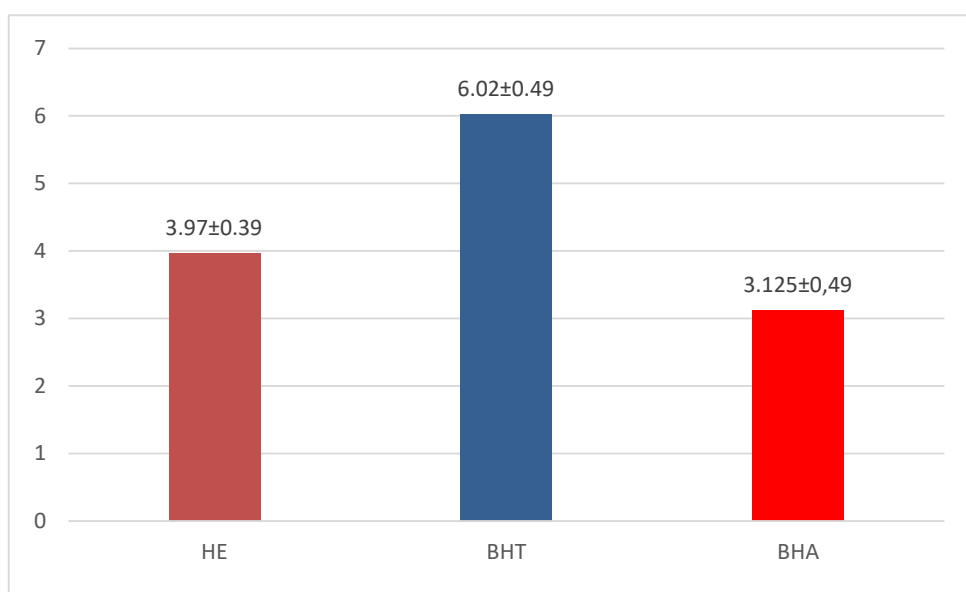


Figure 33 : histogramme d'IC₅₀ de l'HE et standards du test DPPH.

Le **tableau 14** regroupe les valeurs de l'IC₅₀ de l'huile essentielle de clou de girofle, en comparant avec celles trouvées par les composés de référence (BHT et BHA).

Tableau 14 : les valeurs d'IC₅₀ de l'HE, BHA et BHT du test DPPH

	IC ₅₀ µg/ml
HE	3.97±0.39
BHT	<3.125
BHA	6.02±0.49

L'huile essentielle de clou de girofle a présenté une activité antioxydante importante vis-à-vis du radical libre DPPH, en comparaison avec les composés de références BHA et BHT. En effet, l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* atteint presque son maximum d'activité antiradicalaire à 12.5µg/ ml de concentration avec un pourcentage d'inhibition (PI) de l'ordre de 72.85±0.71%, alors qu'à la même concentration, les standards BHA et BHT présentaient respectivement 67.60±1.13% et 78.46±1.01% d'inhibitions.

L'huile essentielle du clou de girofle a montré une activité antiradicalaire plus puissante avec une CI₅₀ de l'ordre de 3.97 µg/ ml, cette valeur est inférieure à celle obtenue par l'antioxydant synthétique BHA, qui a présenté une activité antiradicalaire moyennement puissante avec une CI₅₀ égale à 6.02µg/ml. Cependant, cette valeur est supérieure à celle enregistré par l'antioxydant synthétique BHT qui a présenté la plus grande activité antiradicalaire avec une CI₅₀ de l'ordre de 3.125µg/ml.

Ces résultats sont proches de ceux rapportés par **Selles *et al.* 2020**, qui ont trouvé dans leur étude une CI₅₀ égale à 4.82 µg/ml. Cependant, Cette valeur reste supérieure à celle obtenue par **Dieynaba en 2017** où l'HE de *Syzygium aromaticum* a montré une forte activité antiradicalaire avec une CI₅₀ de l'ordre de 0,024 µg/ml. Alors que, cette valeur reste inférieure à celle trouvée par **Adli en 2015** et **Medfouni et Hafsi en 2018** avec des CI₅₀ de l'ordre de 25.60 ug/ml et 6.15 µg/ml respectivement.

Les variations de l'IC₅₀ selon **Abou Elella *et al.* en 2014**, peuvent résulter de diverses causes, telles que la composition chimique de la plante (notamment les polyphénols et les flavonoïdes), qui dépend des facteurs génétiques et environnementaux. De plus, l'activité

antioxydante des huiles essentielles est liée à leur teneur en composés phénoliques, où les groupes hydroxyles peuvent agir en tant que donneurs d'électrons.

Au final, ces résultats montrent que l'huile essentielle de clou de girofle est dotée d'un pouvoir antioxydant *in vitro* très intéressant, qui pourraient être utilisés dans des applications alimentaires et thérapeutiques.

3.2. Test de l'ABTS

La méthode du radical ABTS est l'un des tests les plus couramment utilisés pour déterminer la concentration des radicaux libres. Elle repose sur la neutralisation d'un radical cationique résultant de l'oxydation monélectronique du chromophore synthétique 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS•⁺). Le profil de la microplaque obtenue est représenté dans la figure 34.

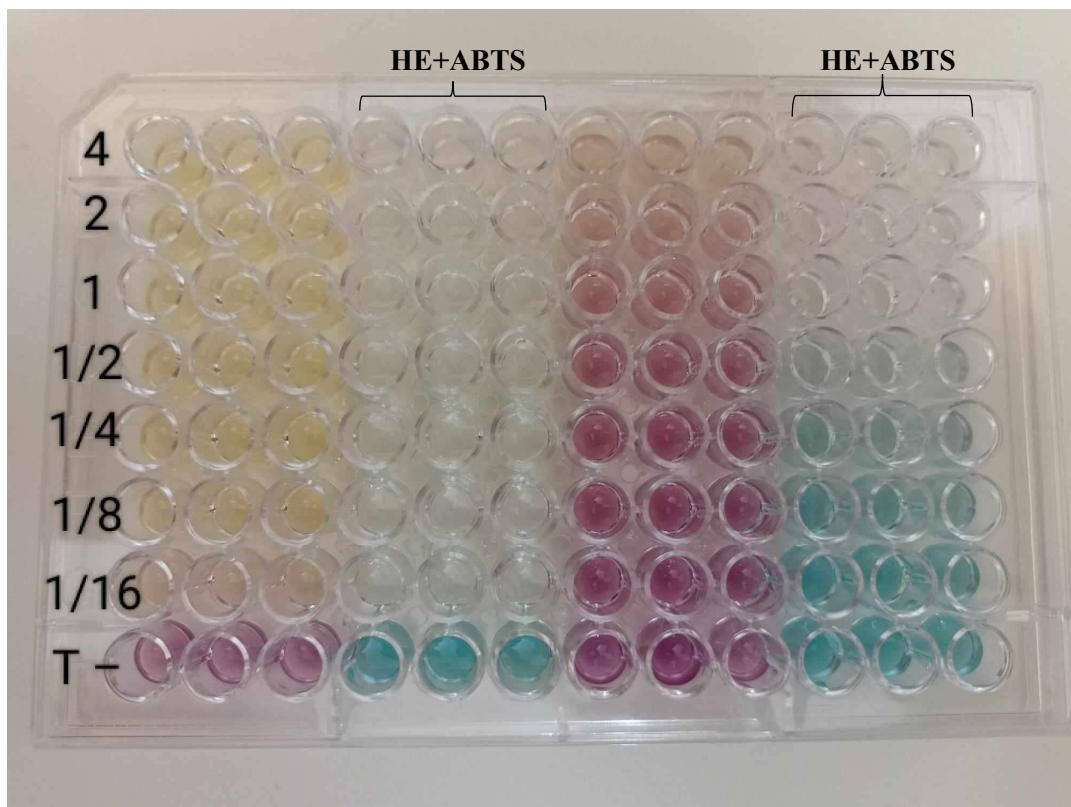


Figure 34 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (ABTS).

Les résultats, des trois essais, de l'absorbance de l'huile essentielle sont montrés dans le **tableau 15**.

Tableau 15: Absorbance de l'huile essentielle du test ABTS par lecture microplaque

Concentration (µg/ml)	1	2	3
12,5	0,0480	0,0460	0,0430
6,25	0,0530	0,0450	0,0440
3,125	0,1320	0,1110	0,1220
1,5625	0,2670	0,2670	0,2620
0,78125	0,3510	0,3380	0,3450
0,390625	0,4130	0,4170	0,4870
0,195313	0,4760	0,4980	0,4940
12,5	0,5530	0,5370	0,5480

La dernière ligne du tableau représente la ligne de contrôle négatif.

Alors la moyenne de contrôle (MC) = 0,5460

Et l'écart type (ET) = 0,008

A partir de ces valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition (**tableau 16**).

Tableau 16: Pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration

Concentration (µg/ml)	1	2	3
12.5	91,2088	91,5751	92,1245
6.25	90,2930	91,7582	91,9414
3.125	75,8242	79,6703	77,6557
1,5625	51,0989	51,0989	52,0147
0,78125	35,7143	38,0952	36,8132
0,390625	24,3590	23,6264	10,8059
0,195313	12,8205	8,7912	9,5238

Les valeurs obtenues ont permis de tracer la courbe de la **figure 35**, qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'huile essentielle.

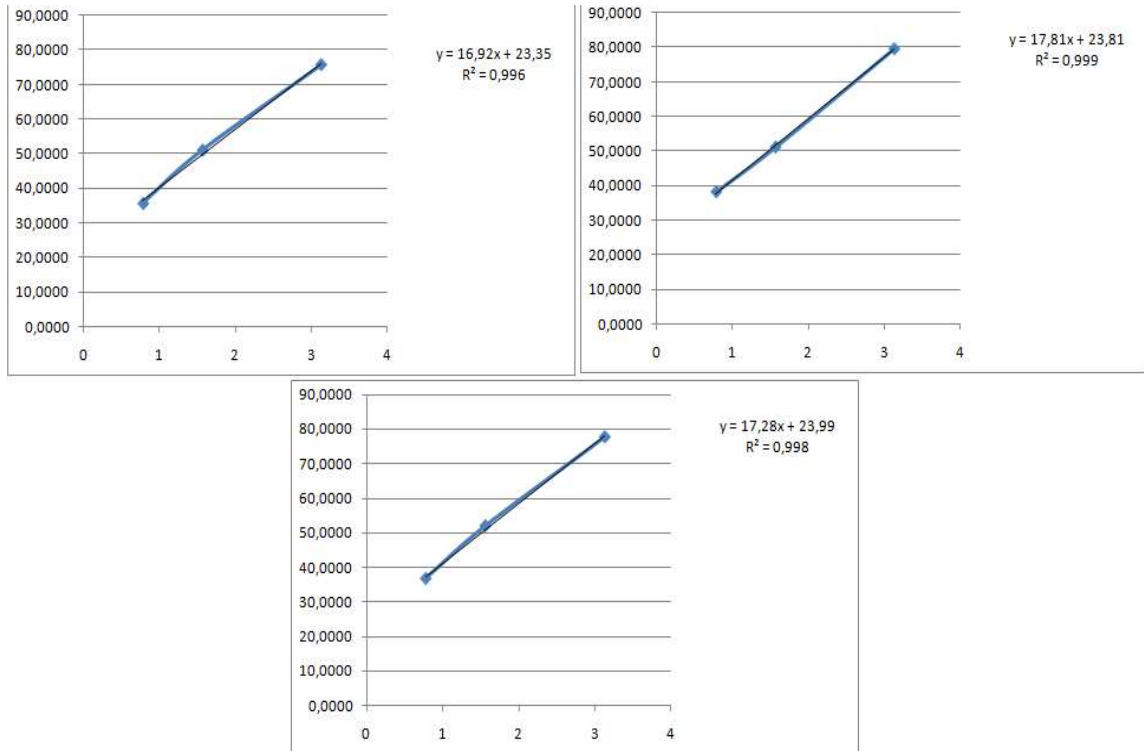


Figure 35 : Méthode graphique pour calculer l'IC₅₀ des trois essais d'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* (ABTS)

À des fins comparatives, nous avons évalué un autre paramètre le IC₅₀ (plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande). Les valeurs de l'IC₅₀ ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire, à partir de l'équation suivante : **IC₅₀ = Y-b / a**. Les résultats sont représentés dans le **tableau 17** et dans la **figure 36** sous forme d'histogrammes.

Tableau 17 : Valeurs des IC₅₀ des trois essais et leur moyenne.

Y	A	B	IC ₅₀	IC ₅₀	ET
50	16,929	23,352	1,57	1.52	0.05
50	17,817	23,81	1,47		
50	17,281	23,993	1,50		

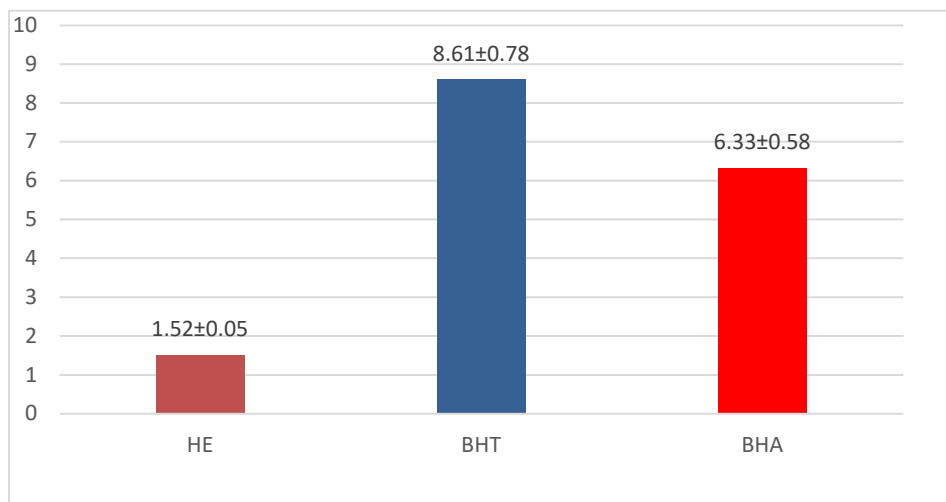


Figure 36 : Histogramme d’IC₅₀ de l’HE de *Syzygium aromaticum* et des standards du test ABTS.

Le **tableau 18** regroupe les valeurs de l’IC₅₀ de l’huile essentielle de clou de girofle, en comparant avec celles trouvées par les composés de référence (BHT et BHA).

Tableau 18: les valeurs d’IC₅₀ de l’HE, BHA et BHT du test ABTS

	IC ₅₀ µg/ml
HE	1.52±0.05
BHT	8.61±0.78
BHA	6.33±0.58

L’huile essentielle de clou de girofle a présenté une activité antioxydante importante vis-à-vis du radical libre ABTS, en comparaison avec les composés de références BHA et BHT. En effet, l’huile essentielle de *Syzygium aromaticum* atteint presque son activité antioxydante maximale à une concentration de 12.5µg/ ml avec un pourcentage d’inhibition (PI) de l’ordre de 91,64%, alors qu’à la même concentration, les standards BHA et BHT présentaient respectivement 89,98% et 85,93% d’inhibitions.

Les résultats du test ABTS ont montré que l’huile essentielle de clou de girofle a doté d’un pouvoir antioxydant plus important que ceux des antioxydants de référence à savoir : BHA

et BTH, dont l'IC₅₀ est de l'ordre de 1.52±0,0520 µg/ml alors qu'avec les standards BHA et BTH, une activité antiradicalaire avec des CI₅₀ de l'ordre de 6.33±0.58 µg/ml et 8.61±0.78 µg/ml a été enregistrée, respectivement.

D'après nos résultats, l'huile essentielle de clou de girofle présente une forte capacité à piéger les radicaux libres, comme en témoigne son IC₅₀. En comparant les résultats de l'IC₅₀ obtenue par la présente étude avec celles trouvées dans des études similaires de la même espèce, on trouve qu'il y a une différence significative. L'IC₅₀ obtenue dans ce travail est inférieure à celles rapportées par **Wettséghe en 2002** et **Boufaghes et Zouak en 2022**, qui sont de l'ordre de 44.78 ± 0.65 µg/ml et 25.19±1.37 µg/ml respectivement. Cette disparité peut être attribuée aux différences dans les méthodes d'extraction et les concentrations utilisées.

Cette forte capacité de réduction des radicaux libres de notre HE est probablement liée aux composants majoritaires qui sont principalement les phénols (eugénol). Les composés phénoliques grâce à leurs propriétés d'oxydo-réduction agissent comme agents réducteurs, donateurs de l'hydrogène et de l'oxygène singulier (**Rice-Evans et al., 1995**). L'eugénol, qui représente le composé majoritaire de l'HE, possède un cycle phénolique, ce cycle est capable de neutraliser les radicaux libres, des molécules instables et réactives qui peuvent endommager les cellules et contribuer au vieillissement et aux maladies chroniques. Plusieurs études ont été intéressées pour estimer la capacité de l'eugénol à agir comme antioxydant, les résultats de ces études ont prouvé la forte capacité de l'eugénol à piéger les radicaux libres (**Chaieb et al., 2011**).

Au final, les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* par les méthodes DPPH et ABTS ont montré que l'HE présente une activité antioxydante importante par les deux méthodes. En général, les valeurs IC₅₀ obtenues par la méthode ABTS sont légèrement inférieures à celles obtenues par la méthode DPPH, suggérant que l'HE de clou de girofle est plus efficace contre les radicaux ABTS⁺ (**Gültekin-Öztürk et al., 2015**). **Athamena et al. (2010)** ont constaté que les valeurs exprimant l'activité antioxydante diffèrent selon le test utilisé. Cette différence peut s'expliquer par la capacité de l'HE à neutraliser les radicaux hydrophiles et lipophiles, tandis que la méthode DPPH est plus sensible aux radicaux lipophiles.

Conclusion

Les huiles essentielles représentent une source fiable et prometteuse d'intérêt dans divers domaines tels que la thérapeutique, la cosmétologie, l'agriculture et l'agroalimentaire. Cependant, leur efficacité doit être considérée avec précaution, en particulier pour les dilutions réalisées dans les différentes préparations commerciales, car un risque de toxicité potentiel peut en résulter.

Cette étude s'est concentrée spécifiquement sur le « *Syzygium aromaticum* », une espèce largement appréciée et utilisée par les populations dans le cadre de la médecine traditionnelle.

L'objectif de notre travail consiste à extraire l'HE de clou de girofle par hydro-distillation afin d'étudier ses caractéristiques organoleptiques, physiques et biologiques.

Dans cette étude, la méthode d'hydro-distillation employée pour extraire l'huile demeure la plus simple et la plus fiable, offrant des résultats à la fois quantitatifs (rendement en huile essentielle) et qualitatifs (composition des extraits) équivalents.

D'après cette étude, le rendement en huile (10.15%) obtenu est assez satisfaisant et fait de la plante *Syzygium aromaticum* une source potentielle naturelle prometteuse pour une application éventuelle. Cette valeur reste importante par rapport aux proportions acquise auparavant par les études de la même espèce.

Par ailleurs, les caractéristiques organoleptiques et physiques de l'huile essentielle étudiée répondent aux critères établis par les normes AFNOR à savoir l'aspect, la couleur, le pH, la densité ...etc. ce qui rassure de la qualité du processus d'extraction utilisé.

L'analyse de la composition par chromatographie en phase liquide a révélé deux composés majoritaires dans les clous de girofle qui sont l'eugénol et l'acétate d'eugénol.

De même que l'activité biologique de l'HE a marqué un pouvoir antibactérien très important vis-à-vis les souches testées mais un peu plus faible que l'huile essentielle commerciale. L'eugénol et l'eugénol commercial ont la même activité bactéricide contre les deux souches testées. Les bactéries à Gram - (*E.coli*) sont plus sensibles que les bactéries à Gram+ (*S.aureus*).

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'HE en fonction des différentes concentrations montre une forte activité de piégeage des radicaux libre déterminée par la méthode de DPPH et ABTS avec des $IC_{50}=3.97\mu\text{g/ml}$ et $IC_{50}=1.52\mu\text{g/ml}$ respectivement.

L'eugénol possède un cycle phénolique peut être considéré comme un polyphénol responsable de l'activité antioxydante de l'HE.

En analysant les conclusions des résultats, il est clair que l'huile essentielle de clou de girofle peut servir de remède naturel contre les infections bactériennes, les troubles liés au stress oxydatif et également comme conservateur alimentaire.

À la fin de cette étude, il est essentiel de souligner l'importance de poursuivre ce travail et d'explorer plusieurs pistes de recherche. Envisageons donc d'approfondir l'étude in vivo de la plante (clou de girofle), d'améliorer le processus d'extraction, de vérifier son efficacité antimicrobienne sur une gamme plus étendue de souches microbiennes et d'évaluer d'autres activités anti-inflammatoire, antifongique, anticancéreuse.

Références bibliographique

AFNOR (Association Française de Normalisation). (1986) Recueil des normes françaises <huiles essentielles=. AFNOR, Paris, pp, 57

Akarya. J. Phytopathol, 163(7–8): 632–641

Ali S., Prasard R., Mahmood A. et al. (2014) Eugenol-rich Fraction of *Syzygium aromaticum* (clove) Reverses Biochemical and Histopathological Changes in Liver Cirrhosis and Inhibits Hepatic Cell Proliferation. Journal of Cancer Prevention.19(4) :288-300.

Alice D. (2011) Faisabilité de la mise en place d'une Indication Géographique Surle Clou de girofle à Madagascar. Thèse. Ecole supérieure d'Agro-Développement International ISTOM, pp. 65–72.

Alma M., Ertae M., Nitz S. et Kollmannsberger H. (2007) Chemical Composition and Content of Essential Oil from the Bud of Cultivated Turkish Clove (*Syzygium aromaticum* L.). BioResources, vol. 2, no. 2, pp. 265–269.

Atmani H. et Baira K. (2015) Mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique et l'étude des caractères Physico-chimique de l'huile essentielle du clou de girofle *Syzygium aromaticum* L. [en ligne]. Biologie et physiologie végétale. Algerie: Université Frères Mentouri 1 Constantine, pp86.

Banouh R. et Azzouz A. (2019) Evaluation de l'activité antibactérienne, antifongique et activité antioxydante de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*). Mémoire de Master. Université Akli Mohand Oulhadj, Bouira.

Barbelet S. (2015) Le giroflier : histoire description et utilisations de la plante et de son huile essentielle. Mémoire de fin d'étude Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université De Lorraine.

Bois D. (1999) Les plantes alimentaires chez tous les peuples et à travers les âges : histoire Utilisation, culture. Volume 3 : plantes à épices, à aromates, à condiments. Paris : Ed. CME, pp1-11.

Bonnafous C. (2013) Traité scientifique aromathérapie : aromatologie & aromachologie. Éditions Dangles.

Bouacida K. (2021) Étude de l'effet de l'eugénol extrait de la plante *Syzygium aromaticum* sur le biofilm dentaire, Mémoire de Mastère : Biotechnologie végétale, Département de biologie, Université de SFAX, 64.

Boufaghes R. et Zouak H. (2022) Contribution à l'étude phytochimique et évaluation des propriétés médicinales du giroflier (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry). Mémoire de Master, Université Frères Mentouri Constantine.

Bourekba W. et Lamri C. (2020) Les effets thérapeutiques de l'huile essentielle de Girofle (*Syzygium aromaticum*.l). Mémoire de Master, Université Akli Mohand Oulhadj Bouira.

Bouyahya A., Abrini J., Bakri Y. et Dakka N. (2017) Screening Phytochimique et Évaluation de l'activité Antioxydante et Antibactérienne Des Extraits d'*Origanum Compactum*. *Phytotherapie*, vol. 15, no. 6, pp. 379–83, doi:10.1007/s10298-017-1101-8.

Bouzaa F., Zid H. et Hariza E. (2022) Etude des activités antimicrobiennes de l'huile essentielle de la plante *Syzygium aromaticum*. Mémoire de Mastère. Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Bruneton J. (1999) Éléments de phytochimie et de pharmacognosie. Ed. Tec&Doc Lavoisier. 3^{ème} édition. Paris, pp. 484-540.

Bruneton J. (1999) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris :Lavoisier-techniques et Documentation, pp. 1120 .

Bubulka P. (2007) Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales ; la médecine traditionnelle à la phytothérapie, pp. 137-145.

Cecchini G. (2003) Function and structure of Complex II of the respiratory chain. *Annu.Rev.Biochem.* 72:77-109.

Chaieb K., Zmantar T., Ksouri R., Hajlaoui H., Mahdouani K., Abdelly C., et Bakhrouf A. (2007) Antioxidant Properties of the Essential Oil of *Eugenia Caryophyllata* and Its Antifungal Activity against a Large Number of Clinical Candida Species *Mycoses*, vol. 50, no. 5, 2007, pp. 403–06, doi:10.1111/j.1439-0507.2007.01391.x.

Chaieb K., Hajlaoui H., Zâari N., Mighri H., Ksouri R. et Neffati A. (2011) Antioxidant activities of Tunisian aromatic plant extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(13), 2688-2695

Chanseau M., Bosc S., Galiay E et Oules G. (2002) L'utilisation De L'huile De Clou De Girofle Comme Anesthésiques Pour Les Smolts De Saumon Atlantique (*Salmo Salar* L.) Et Comparaison De Ses Effets Avec Ceux Du 2-Phnoxyethanol. Bull. Fr. Pêche Piscic. pp. 579-589.

Charan M. (2015) Versatile and synergistic potential of eugenol. Pharmaceutica analytica. pp.6(5).

Charie T. (2019) Se soigner par les huiles essentielles : Pourquoi et comment ça marche ? Monaco: Editions du Rocher.

Chemat F. et Lucchesi M. E. (2005) Extractions assistées par micro-ondes des huiles essentielles et des extraits aromatiques. Journal de la Société ouest-africaine de chimie, (20): pp. 77-99.

Collin S. et Crouzet J. (2011) Agence universitaire de la francophonie. Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Edition Lavoisier, Paris, pp. 13.

Cowan M. (1999) Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Reviews, 12, pp.564-582.

Da Silva J. K. R., Figueiredo P. L. B., Byler K. J. et Setzer W. N. (2020) Essential Oils as Antiviral Agents, Potential of Essential Oils to Treat SARS-CoV-2 Infection: An InSilico Investigation. Int. J. Mol. Sci., vol. 21, no 10, pp. 3426, mai 2020, doi:10.3390/ijms21103426.

Daira N., Maazi M. et Chefrour A. (2016) Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale *Ammoidesverticillata* (Desf.) Briq. de l'Est Algérien.

Davet P. et Rouxel F. (1997) Détection et isolement des champignons du sol. Paris: cedex07, pp. 147.

Degryse C., Depla I. et Voinier M. (2008) Risque et Bénéfices possibles des huiles Essentielles. Paris: presse de l'EHESP, pp. 87 .

Djahra Ab., Bordjiba O. et Benkherara S. (2015) Activité Antibactérienne Des Flavonoides d'une Plante Médicinale Spontanée *Marrubium Vulgare* L. de La Région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). Synthèse : Revue Des Sciences et de La Technologie, vol. 37, pp. 29–37

- Dobler D., Runkel F. et Schmidts T. (2020)** Effect of essential oils on oral halitosis.
- Duponte F. et Guignard JL. (2012)** Botanique : les familles des plantes. 15^eéd. Issy-les Moulineaux : Elsevier Masson, pp. 16.
- El Abed D. et Kambouche N. (2003)** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. Actualités pharmaceutiques.
- El-Bahai M. N., Al-Hariri M.T., Yar T. et Bamosa A.O. (2009)** Cardiac Inotropic and Hypertrophic Effects of Nigella Sativa Supplementation in Rats. International Journal of Cardiology, vol. 131, no. 3, Elsevier Ireland Ltd, pp. e115–17, doi:10.1016/j.ijcard.2007.07.075.
- Elhaib A. (2011)** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformation catalytique. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse.
- Fauchère J. L. et Avril J. L. (2002)** Bactériologie générale et médicale. Elleipses edition.
- Festy D. (2018)** Ma bible des huiles essentielles. Éditions Leduc.
- Fujisawa S., Atsumi T., Kadoma Y. et Sakagami H. (2002)** Antioxidant and prooxidant action of eugenol-related compounds and their cytotoxicity. Toxicology. pp. 177, no 1, 3.
- Garcia EJ., Oldoni TL., Alencar SM., Reis A., Loguercio AD. et Grande RH. (2012)** Antioxidant Activity by DPPH Assay of Potential Solutions to be Applied on Bleached Teeth N. Engl. J. Med. ;295(21):1168-1175. doi:10.1056/NEJM197611182952105
- Ghedira K., Goetz P. et Le Jeune R. (2010)** *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier. Phytothérapie, pp. 37–43.
- Guan W., Li S., Yan R., Tang S. et Quan C. (2007)** Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. Food Chem, pp.1558–1564.
- Gültekin-Öztürk Ö., Küpeli, E. et Gökçü-Kükürer M. (2015)** Determination of the phenolic content and antioxidant properties of clove essential oil. Journal of Food Science and Technology, 52(9), pp. 5358-5365.

Haddadi K. et Rabhi H. (2022) Extraction des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et *d'Eucalyptus globulus*: Activité antioxydante et antibactérienne vis-à-vis de deux pathogènes de l'homme. Mémoire de Master .Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Han X. et Parker TL. (2017) Anti-inflammatory activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) essential oil in human dermal fibroblasts,0209 (April),doi:10.1080/13880209.2017.1314513

Hellal Z. (2011) Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Magister en Biologie, option : Biochimie Appliquée et Biotechnologies. Université Mouloud Mammeri-Tizi-Ouzou, pp.120.

Jain C., Khatana S. et Vijayvergia R. (2019) Bioactivity of secondary metabolites of various plants : a review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 10(2), pp.494-498.

Kim M., Lee H., Hong H., Song J., Shin K., Kim H et Shin Y. (1998) Effect of *Syzygium aromaticum* extract on immediate hypersensitivity in rats. Journal of ethno pharmacology , pp. 125-131.

Lacoste, S. (2014) Ma bible de la phytothérapie.magazine. Edition : Quotidien Malin.

Lagunez R. L. (2006) Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. PhD. Institut National Polytechnique de Toulouse.

Lairungruang K., Itharat A. et Panthong S. (2014) Antimicrobial activity of extracts from a Thai traditional remedy called Kabpi for oral and throat infection and its plant components. Journal of medicine association of Thailand; 97(8): 108-115.

Lee G. et Shibamoto T. (2001) Food Chem. pp. 443-448.

Lee S., Najiah M., Wendy W. et Nadirah M. (2009) Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* flower bud (clove) against fish systemic bacteria isolated from aquaculture sites. Front. Agric. China, 3 (3), pp. 332-336.

Lobstein A., Couic-Marinier F et Barbelet S. (2017) Huile Essentielle de Clou de Girofle.Actualites Pharmaceutiques, vol. 56, no. 569, pp. 59–61.

Luciana L. M., Fabio S., Menezes Gilda G., Leita Alexandre S., Reis Tereza C., dos Santos CSC et SGL. (2015) Screening of Brazilian Plant Extracts for Antioxidant Activity by the Use of DPPH Free Radical Method .Phytother Res Screening of Brazilian Plant Extracts for Antioxidant Activity by the Use of DPPH Free. no.August, pp. 127–30

Macias F., Castellano R., Oliva P., Cross et Torres A. (1997) Proceedings of Brighton, UK , 33-38.

Mahboub R. (2014) Structural conformational study of eugenol derivativ esusing semi empirical method's Advances in chemistry, pp.1-5.

Mahinfa W.,Bradley B.,Leslie P., Hang X et Kirk P. (2002) Phase II Enzyme-Inducing and Antioxidant Activities of Beetroot (*Beta vulgaris* L.) Extracts from Phenotypes of Different Pigmentation .Journal of Agricultural and Food Chemistry .50 (23), 6704-6709, 200.

Mahomoodally M., Ugurlu A., Llorent-martínez E., Meenathee N., MarieCarene P., Mehmet B., Yasemin A., Muzzammil H et Gokhan Z. (2019)Industrial Crops & Products *Syzgium coriaceum* Bosser & J .Guého . An endemic plant potentiate sconventionalantibiotics ,inhibitsclinical enzymes and inducesapoptosis in breast cancer cells. Ind. Crop. Prod. (June):111948.

Mangambu M., Mushagalusa K. et Kadima N. (2014) Contribution à l'étude photochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, RD Congo). Journal of Applied Biosciences, 75(1), pp. 6211- 6220.Marketing, ISBN: 2-7298-0747-0.

Marzouki H., Elaissi A., Khaldi A., Bouzid S., Falconieri D., Marongiu B. et Porcedda S. (2009) Seasonal and geographical variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Tunisia. Open Natural Products Journal, 2, 86-91.

Max W. et Robert A. (2003) Plantes thérapeutiques. Lavoisier, Editions médicales internationales -Lavoisier (EM Inter), pp.119-120.

Mazerolles C. (2008) Le Giroflier. PharmacopeeEyropeenne, vol. pp. 35.

Medfouni R. et Hafsi N. (2018) Contribution à l'étude phytochimique et les activités biologiques d'une plante médicinale *Syzygium aromaticum*. Master en Sciences Biologiques, option : Biochimie Appliquée. Université Larbi BEN MHIDI, Oum El Bouaghi, Algérie. 35pp.

MILLENIUM CHALLENGE ACCOUNT (MCA). (2000) Opportunités de marché. Filière Huiles Essentielles Région Atsinana, Madagascar.

Mnayer D. (2014) Eco-Extraction Des Huiles Essentielles et Des Arômes Alimentaires En Vue d'Une Application Comme Agents Antioxydants et Antimicrobiens. Thèse de doctorat.Université d'Avignon.

Mohammed H., Ahmed H. et Hussien O. (2015) Qualitative analysis of the essential oil of *syzygium aromaticum* (l) (clove) using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), pp. 350-354.

Molyneux P. (2004) The use of the stable free radical diphenyl picryldrazyl (DPPH.) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Sciences and Technologies (SJST), 26 (2):211-219

Nana W. L., Eke P., Fokom R., Bakanrga-Via I., Begoude D., Tchana T., Tchameni N. S., Kuate J., Menut C.et Boyom F. F. (2015) Antimicrobial activity of *Syzygium aromaticum* and *Zanthoxylum xanthoxyloides* essential oils against *Phytophthora* spp.

Nassar, Mohamed S. M., Hazzah W. A. et Bakr W. M. K. (2019) Evaluation of Antibiotic Susceptibility Test Results: How Guilty a Laboratory Could Be?. Journal of the Egyptian Public Health Association, vol. 94, no. 1, Journal of the Egyptian Public Health Association, pp. 1–5, doi:10.1186/s42506-018-0006-1.

Ohkubo T. et Shibata M. (1997) The selective capsacin antagonist capsaicin abolishes the antinociceptive action of eugenol and guaiacol. J. Dent. Res; 76 :848-851.

Oiszowy M. D. A. (2016) Essential oil as antioxidant : their evaluation by DPPH, ABTS, and B-carotene bleaching methods . Monats Chem., 2083-2091.

Olle M., Bender I. et Koppe R. (2010) The content of oils in umbelliferous crops and its formation. Agronomy Research, 8(3), 687-696.

Oussalah M., Caillet S., Saucier L. et Lacroix M. (2007) Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control; 18: 414- 420.

Pandey A. et Parul S. (2011) Antibacterial Activity of *Syzygium aromaticum* (Clove) with Metal Ion Effect against Food Borne Pathogens.no. 2, pp. 69–80.

Paul S. et Ferdinand P. (2005) Guide des plantes médicinales (Analyse, Description et Utilisation de 400 plantes). pp-339.

Penot E., Innovation C., Forêts D., Maicent I. et Danthu P. (2014) Impacts Des Politiques Publiques et Du Secteur Privé Sur La Filière Girofle à Madagascar. Document de Travail.

Pibiri M.C. (2005) Construit, Architectural E. T., and Section D. Architecture. Assainissement Microbiologique de l' Air et Des Systèmes de Ventilation Au Moyen d'Huiles Essentielles. Thèse doctorat. Ecole polytechnique fédérale de lausanne, pp. 28 52

Pinto E., Vale-Silva L., Cavaleiro C. et Salgueiro L. (2009) Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophytespecies. *Journal of Medical Microbiology*, 58(11): 1454–1462.

Prakash A. (2001) Antioxidant activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*, 19(2): 2.

Rahyoun Kh. (2002) Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse du doctorat national, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des sciences Dhar Mehraz -Fès-.

Raja M., Srinivasan V., Selvaraf S. et Mahapatra S. (2015) Eugenol: Aversatrlphytomedicine .*Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, pp. 35-40.

Ranoarisoa M. (2012) Evolution historique et Etat des lieux de la filière girofle à Madagascar.

Rhayoun K. (2016) Etude du mécanisme de l'action bactiricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtiliset* sur *Mycobactirium phleiet*, *Mycobacterium fortuitum* thèse présentée en vue de l'obtention du Doctorat National.

Rice-Evans C. A., Miller N. J., Bolwell P. G., Bramley P. M. et Pridham J. B. (1995) The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavoids. *Free Rad. Res.*, 22, 375-383.

Richard F. (1992) Manuel des corps gras. Paris, Ed: Lavoisier, Tec.&Doc, pp. 1228-1242.

Rostock M. et Saller R. (2021) Phytotherapie und "Herbal Medicine". *Complement Med Res*;28(4):281-283. German. doi: 10.1159/000518339.

Saani M. L. R. (2016) Evaluation of pigments as antioxidant and antibacterial agents from *beta vulgaris* linn. Int. J. Curr. Phraam. Res., 77-81.

Seladji D. (2014) Composition chimiques, propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles des racines de trois pinacea d'Algérie. Mémoire de master en chimie.

Selles S. M. A., Kouidri M., Belkacem T. B. et Ait Amrane A. (2020) A Chemical composition, in-vitro antibacterial and antioxidant activities of *Syzygium aromaticum* essential oil." J Food MeasCharact, (13), pp. 1–7. DOI:10.1007/s11694-020-00482-5.

Shan B., Cai Y. Z.,Sun M. et Corke H. (2005) Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. J. Agric. Food Chem., 53 (20),7749-7759.

Stamford F., Tavares A., Jacobs S., Capasso F., Mascolo N., Autore G. et Romano V. (1988) The biological activity of eugenol, a major constituent of nutmeg (*Myristica fragrans*): Studies on prostaglandins, the intestine and other tissues. Phytother. Res, Pp. 124–130.

Tariq S. (2019) A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens, Microb. Pathog., vol. 134, p. 103580, doi: 10.1016/j. micpath.103580.

Teuscher E., Anton R et Lobstein A. (2005) Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et leurs huiles essentielles. Paris: Lavoisier.

Thomas R., Nkosi B. D., Umesiobi D. O., Meeske R., Kanengoni A. T. et Langa T. I. (2010).Evaluation of potato hash silage from two bacterial inoculants and their effects on the growth performance of grower pigs. S. Afr. J. Anim. Sci., 40 (5): 488-490.

Tirzitis G. B. G. (2010) Exploring the impact of personality traits on online shopping behavior. African Journal of Business Management, 1800-1812.

Tongnuanchan P. et Benjakul S. (2014) Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. Journal of food science, 79(7), R1231-R1249

Traikia A. et Mansouri M. (2020) Etude des caractéristiques physiques et chimiques des huiles essentielles du clou de girofle et de l'eucalyptus. Mémoire de Master, Université 08 Mai 1945 Guelma.

Usta R. et Copti R. (2000) Effect of cinnamon, clove and some of their constituents on the Na⁺-K⁺-ATPase activity and alanine absorption in the rat jejunum. *Food Chem. Toxicol.*,38, 755–762.

Valnet J. (1984) Aromathérapie : traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. 10e éd., Paris, France, pp. 544.

Véronique L. (1971) Toxicité des huiles essentielles (Doctoral dissertation, Université Paul-Sabatier).

Xu J. G., Liu T., Hu Q. P. et Cao X. M. (2016) Chemical Composition, Antibacterial Properties and Mechanism of Action of Essential Oil from Clove Buds against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Molecules*, 8;21(9):1194.

Abstract

Our research focuses on the analysis of a medicinal plant called *Syzygium aromaticum*, commonly known as clove. We are examining various organoleptic and physical properties of its essential oil, as well as its biological activities, particularly its antibacterial and antioxidant effects.

The extraction of the essential oil was carried out by hydrodistillation for a duration of 3 hours using a Clevenger-type apparatus followed by the extraction of eugenol. The result of hydrodistillation allowed us to obtain a yield of 10.15%. The essential oil is characterized by a pH of 6, which facilitates its integration into various preparations, and a density of 1.015.

Firstly, the essential oil was analyzed using thin-layer chromatography (CCM) to detect its major constituents. The obtained chromatogram revealed that the essential oil is composed of two major compound, namely eugenol and eugenol acetate. Subsequently, the antibacterial efficacy of our essential oil and its major compound, eugenol, was evaluated using the disk diffusion method in agar medium (antibiogram) against two bacterial strains: *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The results demonstrated that clove essential oil and its main compound, eugenol, exhibit a significant inhibitory capacity on the growth of tested bacterial strains, with inhibition zones ranging from 8 to 20 mm.

The evaluation of the antioxidant power of our essential oil, conducted using the DPPH and ABTS free radical scavenging methods, showed a very potent antiradical activity with IC₅₀ values of approximately 3.97 µg/ml and 1.52 µg/ml, respectively, compared to the reference antioxidants BHT and BHA.

Keywords: *Syzygium aromaticum* essential oil, eugenol, CCM, antibacterial activity, and antioxidant activity."

ملخص

يركز بحثنا على تحليل نبات طبي يُعرف باسم *Syzygium aromaticum*، المعروف شائعًا باسم القرنفل. قمنا بدراسة مختلف الخصائص العضوية والفيزيائية لزيتته العطري، بالإضافة إلى نشاطاته البيولوجية، بما في ذلك تأثيراته المضادة للبكتيريا والأكسدة.

تم استخراج الزيت العطري بواسطة التقطير البخار لمدة 3 ساعات باستخدام جهاز من نوع Clevenger، يليه استخراج الأوجينول. أظهرت نتائج التقطير البخار عن حصيلة بلغت 10.15 %، ويتميز الزيت العطري بقيمة pH تساوي 6، مما يسهل دمجها في تحضيرات مختلفة، بالإضافة إلى كثافة تساوي 1.015.

أولاً، تم تحليل الزيت العطري باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا الرقيقة (CCM) لكشف مكوناته الرئيسية. أظهر الكروماتوغرام المتحصل عليه أن الزيت العطري يتكون من مركبين رئيسيين وهما الأوجينول وأستات الأوجينول. بعد ذلك، تم تقييم كفاءة الزيت العطري ومركبه الرئيسي، الأوجينول، في التثبيط البكتيري باستخدام طريقة انتشار القرص في وسط الجيلاتين (المضادات الحيوية) ضد سلالتين بكتيريتين *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن زيت القرنفل العطري ومركبه الرئيسي، الأوجينول، يمتلكان قدرة مثبطة ملحوظة على نمو السلالات البكتيرية المختبرة، بمناطق تثبيط تتراوح بين 8 و 20 ملم.

تم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة للزيت العطري باستخدام طريقة امتصاص الجذور الحرة DPPH و ABTS، حيث أظهرت نشاطاً مضاداً للجذور الحرة قوياً بقيمة IC_{50} تبلغ حوالي 3.97 ميكروغرام/مل و 1.52 ميكروغرام/مل على التوالي، مقارنة بمضادات الأكسدة المرجعية BHT و BHA.

الكلمات الرئيسية: زيت *Syzygium aromaticum* من القرنفل، الأوجينول، CCM، النشاط المضاد للبكتيريا، والنشاط المضاد للأكسدة.

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : MAKHLOUFI Lamis
TABCHICHE Roukaya

Evaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

Notre recherche porte sur l'analyse d'une plante médicinale appelée *Syzygium aromaticum*, communément connue sous le nom de giroflier. Nous examinons diverses propriétés organoleptiques et physiques de son huile essentielle, ainsi que ses activités biologiques, notamment ses effets antibactériens et antioxydants.

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation pendant une durée de 3h par un appareil de type Clevenger suivi par l'extraction de l'eugénol. Le résultat de l'hydrodistillation nous a permis d'obtenir un rendement de 10.15%. L'huile essentielle se caractérise par un pH de 6, ce qui facilite son intégration dans diverses préparations et une densité égale à 1,015.

En premier lieu, l'huile essentielle est analysée par la technique de chromatographie sur couche mince (CCM) dans le but de détecter ses constituants majeurs. Le chromatogramme obtenu révèle que l'HE est constitué de deux composés majoritaires à savoir l'eugénol et l'acétate-eugénol. Par la suite l'efficacité antibactérienne de notre HE et son composé majoritaire : l'eugénol, a été évaluée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé (antibiogramme) contre deux souches bactériennes : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Les résultats obtenus démontrent que l'huile essentielle de giroflier et son composé principal, l'eugénol, possèdent une capacité inhibitrice notable sur la croissance des souches bactériennes testées, avec des zones d'inhibition variant de 8 à 20 mm.

L'évaluation du pouvoir antioxydant de notre HE réalisé par la méthode du piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS, montre une activité antiradicalaire très puissante avec une IC₅₀ de l'ordre de 3.97µg/ml et 1.52µg/ml respectivement, en comparant avec les antioxydants de référence BHT et BHA.

Mots-clefs : Huile essentielle de *Syzygium aromaticum*, eugénol, CCM, activité antibactérienne et activité antioxydante.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Biochimie Appliquée (U Constantine 1 Frères Mentouri).
Centre de Recherche en Biotechnologie « *CRBt* »

Président du jury : KHEDARA A. (Maitre de Conférences A - U Constantine 1 Frères Mentouri)

Encadrant : AYECHÉ A. (Maitre Assistante B - U Constantine 1 Frères Mentouri)

Examinatrice : BENSMIRA S. (Maitre assistante A - U Constantine 1 Frères Mentouri)