

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERRI DE TIZI OUZOU

**FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES
AGRONOMIQUES**

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE.



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme Master Académique en biologie

Spécialité : Microbiologie appliquée



Thème

**Evaluation des propriétés physico-chimiques, biologiques et
pharmacologiques de fruit *Ficus microcarpa*: activité
cicatrisante in vivo.**

Réalisé par : Mlle Hacene Karima et Mlle Hacene Sadia.

Soutenu le : 20/09/2017

Devant le jury composé de :

**Président : Mr. OUELHADJ A.
Examinatrice Mme LARDJANE N.
Examinatrice : Mme KESSEBIA K.
Promotrice : Mme BENAHMED DJILALI A.
Co-encadreur : Mr ISSAD M.**

**Maître de Conférences (A) à l'UMMTO
Maître de Conférences (A) à l'UMMTO
Maître Assistante (A) à l'UMMTO
Maître de Conférences (A) à l'UMMTO
Docteur à l'Institut Pasteur d'Alger**

Promotion 2016 /2017

Résumé

Le présent travail a pour objectif d'étudier quelques propriétés de fruit *Ficus microcarpa*, et d'élaborer une pommade cicatrisante. Dans un premier temps, des tests physiques, chimiques, microbiologiques et rhéologiques ont été faites afin de connaître la composition de ce fruit en biomolécules et en minéraux. L'activité antimicrobienne des extraits de notre fruit révèle des réactions positives vis-à-vis des souches pathogènes. En second temps, les saponines de ce fruit ont été utilisées pour préparer une forme médicamenteuse à base ou sans de la poudre des feuilles de *Pulicaria odorea* consommée par la population locale. L'effet cicatrisant des pommades testées a été évalué sur 11 lapins (mal et femelle). Les résultats trouvés semblent concluant l'importance des saponines qui sont conjuguées avec la poudre des feuilles de *Pulicaria odorea* en stimulant l'effet cicatrisant ainsi que la réduction des plaies durant une période de 18 jours.

Mots clés : *Ficus microcarpa*, saponines, *Pulicaria odorea*, pommade cicatrisante.

Abstract

The aim of this work is to study some properties of *Ficus microcarpa* fruit and to develop a healing ointment. In the First step, physical, chemical, microbiological and rheological tests were carried out in order to know the composition of this fruit in biomolecules and in minerals. The antimicrobial activity of the extracts of our fruit reveals positive reactions against pathogenic strains. In the second step, fruit saponins were used to prepare a medicinal form based on or without the powder of *Pulicaria odorea* leaves consumed by the local population. The cicatrizing effect of the ointments tested was evaluated on 11 rabbits (male and female). The results seem to confirm the importance of saponins which are conjugated with the *Pulicaria odorea* powder by stimulating the healing effect as well as the reduction of the wounds during a period of 18 days.

Key words: *Ficus microcarpa*, saponins, *Pulicaria odorea*, healing ointment.

❖ ATB	Antibiotique ;
❖ ATF	Antifongique ;
❖ DO	Densité optique ;
❖ <i>F.microcarpa</i>	<i>Ficus microcarpa</i> ;
❖ H%	Taux d'humidité ;
❖ IR	Infrarouge ;
❖ KBr	brome de potassium ;
❖ MH	milieu de Mueller Hinton ;
❖ OGA	Oxytetracycline-Glucose-Yeast extracts Agar;
❖ OMS	Organisation Mondiale de la Santé ;
❖ PCA	Plate Count Agar ;
❖ <i>P.odorea</i>	<i>Policaria odorea</i> ;
❖ UFC	Unité Formant de Colonie ;
❖ VRBL	Bouillon Lactosé au Vert Brillant ;

Liste des tableaux

Tableau I : Classification botanique de <i>Ficus microcarpa</i>	04
Tableau II : Principales classes des composés phénoliques	08
Tableau III : Souches microbiennes utilisées.....	16
Tableau IV : Aspects des fruits de <i>F.microcarpa</i> et feuilles de <i>P.odorea</i> et leurs poudres.	17
Tableau V : Composition des formulations de pommades élaborées.	36
Tableau VI : Composants de la pommade.....	37
Tableau VII : Paramètres morphologiques de fruit <i>Ficus microcarpa</i>	40
Tableau VIII : Valeurs moyennes de quelques paramètres physiques de fruits de <i>Ficus microcarpa</i> et <i>Ficus carica</i>	41
Tableau IX : Valeurs moyennes de quelques paramètres physico-chimiques de fruits <i>F.microcarpa</i> et <i>Ficus carica</i>	42
Tableau X : Composition minérale de fruit <i>F.microcarpa</i> (mg/kg MS).....	44
Tableau XI : Résultats des tests phytochimiques effectués sur la poudre de <i>F.microcarpa</i>	49
Tableau XII : Nombre de germes analysés.....	50
Tableau XIII : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits du <i>F.microcarpa</i>	51
Tableau XIV : Caractérisation des pommades.	54
Tableau XV : Pourcentage de changement de poids corporel des lapins.	58
Tableau XVI : Evolution des diamètres des plaies des lapins en fonction de la durée de traitement avec les différentes pommades.	59
Tableau XVII : Chronologie de la cicatrisation des plaies.....	61

Liste des figures

Figure 01 : Aspect morphologique de l'arbre et le fruit de <i>Ficus microcarpa</i>	05
Figure 02 : Squelette de base des flavonoïdes	10
Figure 03 : Structure de quelques classes de flavonoïdes	10
Figure 04 : Structure des coumarines	12
Figure 05 : Structure des saponines.....	13
Figure 06 : Photo de fruit <i>Ficus microcarpa</i> de la région de Boumerdès	15
Figure 07 : Photo des feuilles de <i>Pulicaria odorea</i>	15
Figure 08 : Protocole de préparation des extraits aqueux et éthanoliqes de fruit.....	17
Figure 09 : Diagramme de dosage des poly phénols totaux	30
Figure 10 : Etapes de dosage des flavonoïdes	31
Figure 11 : Protocole d'extraction des saponines	32
Figure 12 : Epilation de deux cercles sur le dos des lapins et leur anesthésie	39
Figure 13 : Brûlure circulaire développée le premier jour de l'expérience	39
Figure 14 : Aspect de fruit <i>Ficus microcarpa</i> au stade final de maturité.....	40
Figure 15 : Aspect des fruits <i>Ficus microcarpa</i> aux différents stades de maturité.....	41
Figure 16 : Profil d'acide gras extrait de fruit <i>F.microcarpa</i>	45
Figure 17 : Spectre de l'infra rouge de fruit <i>F.microcarpa</i>	47
Figure 18 : Spectre de l'infrarouge des saponines de fruit <i>F.microcarpa</i>	48
Figure 19 : Rhéogramme représentant la contrainte de cisaillement en fonction de taux de cisaillement.....	56
Figure 20 : Viscosité des pommades en fonction de taux de cisaillement.....	56

Sommaire

Liste des abréviationsI
Liste des tableaux II
Liste des figures III
Introduction générale..... 01

Chapitre I. Généralités sur *Ficus microcarpa*

I.1. Historique..... 03
I.2. Origine et distribution 03
I.2.1. Différentes appellations 03
I.3. Classification 04
I.4. Description botanique 04
I.5. Domaines d'utilisation 05

Chapitre II. Généralités sur les métabolites secondaires

II. Introduction 06
II.1. Classification 06
II.1.1. Polyphénols 07
II.1.2. Flavonoïdes 09
II.1.3. Alcaloïdes 11
II.1.4. Tanins 11
II.1.5. Coumarines..... 12
II.1.6. Saponines..... 12

Chapitre III. Matériel et méthodes

III.1. Cadre de l'étude	14
III.2. Matériels utilisés	14
<i>III.2.1. Appareillages et les réactifs utilisés</i>	<i>14</i>
<i>III.2.2. Matériel végétal</i>	<i>15</i>
<i>III.2.3. Matériel biologique</i>	<i>16</i>
III.3. Méthodes d'analyses	16
III.3.1. Séchage	16
III.3.2. Préparation des extraits de fruit	17
III.3.3. Caractérisation physique et morphologique de fruit	18
III.3.4. Caractérisation physico-chimique	19
<i>III.3.4.1. Mesure de pH</i>	<i>19</i>
<i>III.3.4.2. Détermination de l'acidité titrable.....</i>	<i>19</i>
<i>III.3.4.3 Détermination de la teneur en eau.....</i>	<i>20</i>
<i>III.3.4.4. Détermination de la teneur en cendres</i>	<i>21</i>
<i>III.3.4.5. Détermination de la teneur en éléments minéraux</i>	<i>22</i>
III.3.5. Screening chimique	23
III.3.6. Dosage des sucres	25
<i>III.3.6.1. Dosage des sucres totaux</i>	<i>26</i>
<i>III.3.6.2. Dosage des sucres réducteurs</i>	<i>26</i>
<i>III.3.6.3.Taux de saccharose</i>	<i>27</i>
III.3.7. Dosage de l'acide ascorbique	27
III.3.8.Extraction de la matière grasse totale	28

<i>III.3.8.1. Préparation des esters méthyliques d'acides gras</i>	29
III.3.9. Détermination de la teneur en polyphénols	29
III.3.10. Détermination de la teneur en flavonoïdes	31
III.3.11. Extraction des saponines	32
III.3.12. Analyse des groupements fonctionnels (Infrarouge)	33
III.3.13. Etude microbiologique de fruit	33
<i>III.3.13.1. Détermination de la charge microbienne</i>	33
<i>III.3.13.2. Test de l'activité antimicrobienne</i>	34
III.3.14. Elaboration des pommades	36
<i>III.3.14.1. Mesure de pH</i>	37
<i>III.3.14.2. Mesure de la viscosité</i>	37
III.3.15. Tests de l'activité cicatrisante des pommades élaborées sur des lapins (étude in- vivo)	38
<i>III.3.15.1. Protocole expérimental</i>	38

Chapitre IV: Résultats et discussion

VI.1. Caractères morphologiques de fruit	40
VI.2. Caractères physiques de fruit	41
IV.3. Paramètres physico-chimiques de fruit	42
IV.4. Composition minérale	44
IV.5. Profil d'acides gras	45
IV.6. Analyse des groupements fonctionnels (Infrarouge)	47
IV.7. Screening chimique	49
VI.8. Etude microbiologique	50
IV.9. Caractérisation des pommades	54

IV.10. Test de l'activité cicatrisante des pommades élaborées sur des lapins (étude in- vivo).	57
Conclusion	64
Références bibliographiques	
Annexe	

Depuis la plus haute antiquité, les plantes ont fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'elles s'en servent pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses traditions superstitieuses et religieuses (Fellah *et al.*, 2006).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé plus de 80% de la population dans le monde ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé (Farnsworth *et al.*, 1986).

Par ailleurs, sur les 300 000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200 000 espèces cultivées dans les pays tropicaux d'Afrique sont douées de vertus thérapeutiques (Millogo *et al.*, 2005).

Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, cosmétologique et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes, les saponines (Bahorun *et al.*, 1996).

Malgré la biodiversité, l'hétérogénéité et l'immensité du continent Africain en général et de l'Algérie en particulier en végétaux, il y a peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques à base de ces plantes.

L'Algérie, compte parmi les pays du bassin méditerranéen les plus riches en ressources phytogénétiques à intérêt aromatique et médicinal, vu la diversité de ses étages bioclimatiques. On dénombre plus de 300 espèces à usage thérapeutique ou aromatique existant parmi les 3 150 espèces végétales que compte notre pays (Mokkadem, 1999).

Ainsi, ces dernières années, les chercheurs scientifiques s'intéressaient aux composés des plantes qui sont destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique. Les molécules issues des plantes dites naturelles sont considérées comme une source très importante de médicaments. Sachant que, plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont appliqués selon leur usage traditionnel (Iserin, 2001).

L'étude d'une plante exotique "*Ficus microcarpa*", originaire d'Asie tropicale possédant des propriétés biologiques et médicinales très importantes, anti-inflammatoire et cicatrisante, qui trouvent des applications dans le domaine de la médecine traditionnelle.

En se basant sur les résultats des travaux de recherche de Benahmed Djilali *et al.*, 2017, ont élaboré une pommade à base des saponines des feuilles de *Juglans régia L.*, nous sommes intéressés à la valorisation des substances bioactives de notre fruit particulièrement les saponines.

A notre connaissance, aucun travail scientifique n'est consacré à ce jour à l'identification et l'utilisation de ce fruit.

L'objectif principal de ce travail vise à démontrer la richesse de fruit *Ficus microcarpa* en principes actifs et l'évaluation de certaines propriétés physico-chimiques, rhéologiques, biologiques, et pharmacologiques (activité cicatrisante des pommades élaborées à base de ses saponines).

Le présent manuscrit comporte quatre chapitres:

- Le premier chapitre correspond ; à une représentation générale de fruit *Ficus microcarpa*.
- Le second chapitre traite ; les généralités sur les métabolites secondaires de fruit.
- Le troisième chapitre décrit ; les manipulations et les expérimentations faites sur le fruit et il comprend les différentes analyses réalisées.
- Le dernier chapitre révèle tous les résultats obtenus ainsi que leur discussion.
- Enfin, nous terminons avec une conclusion générale.

I.1. Historique

Ficus microcarpa a été décrit en 1782 par Carl Linnaeus le Jeune. L'espèce possède un nombre considérable de synonymes (anonyme 1). La dite espèce a été apportée en Israël du Sud-est asiatique pour sa beauté et pour son bois utilisé pour construire des remises, petits cabanons. Par la suite, cet arbre a été planté dans les longues avenues de Tel-Aviv ainsi que dans d'autres zones peuplées.

I.2. Origine et distribution

Ficus microcarpa est originaire d'Asie tropicale, spontanée dans toute la région méditerranéenne et largement cultivé pour l'ornement de cette région (anonyme 2). Cette espèce qui se prête bien à la culture en bonsaï.

Certains figuiers peuvent devenir de très grands arbres avec une couronne de plus de 30 mètres de circonférence.

La plante pousse dans les forêts humides, les espaces ouverts et sur les rochers jusqu'à une altitude de 1800 m. En effet, cet arbre est natif d'Australie (Queensland), Bhoutan, Cambodge, Chine (Fujian, Guangdong, Guangxi, Guizhou, Hainan, Yunnan et Zhejiang), Iles Cocos, Inde, Indonésie, Japon (Iles Ryūkyū), Malaisie, Micronésie, Myanmar, Népal, Nouvelle Calédonie, Palau, Papua Nouvelle Guinée, Philippines, Sri Lanka, Taïwan, Thaïlande et Viet Nam (anonyme 1).

Le nom du genre provient du latin, il est utilisé pour désigner le figuier commun (*Ficus carica*). Cependant, le nom de l'espèce est une combinaison des termes grecs "mikros" = petit et "karpion" = fruit, en référence évidente.

Voici les noms vernaculaires (anonyme 3) :

- Anglais : Chinese banyan, curtain fig, hill'sweepingfig, Indianlaurelfig, Indianlaurel, Malay banyan, small-fruit fig ;
- Chinois : rongshu, rongxu;
- Hindi : chilkan, kamarup (Hindi) ;
- Portugais : figueira-lacerdinha, laurel da India;
- Espagnol : laurel de l'India, laurel d'Indias;
- Allemand : ChinesischeFeige, IndischerLorbeer, Lorbeerfeige, Vorhang-feige.

I.3. Classification

La classification botanique de cette plante est résumée dans le tableau I.

Tableau I : Classification botanique de *Ficus microcarpa* (anonyme 4).

Rang	Nom scientifique
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Hamamelidae
Ordre	Rosales
Famille	Moraceae
Genre	<i>Ficus</i>

I.4. Description botanique

Le *Ficus microcarpa* est un arbre pouvant atteindre 40 m de hauteur dans son milieu naturel (Figure 1). Il possède une couronne ample et arrondie, un tronc de 60 cm de diamètre, à écorce grisâtre ; sur les branches des plantes adultes, des racines aériennes peuvent se former, en particulier sous les climats humides, et celles-ci peuvent parfois atteindre le sol.

Les feuilles sont alternes, presque elliptiques, de 4 à 10 cm de long et de 3 à 5 cm de large, coriaces, de couleur vert foncé, à bord entier et sommet obtus. Les inflorescences appelées des sycones, sorte d'outres qui entourent complètement les fleurs, accessibles par une ouverture apicale, entourant 3 fines écailles comme celles de quelques autres espèces de ce genre.

Les sycones, produites aussi bien sur les jeunes branches, que sur les plus vieilles, déjà dépourvues de feuilles, les figes sont axillaires, sessiles, par paires, de forme globulaire ou pyriforme, de 6 à 9 mm de diamètre, de couleur jaune à rouge noirâtre, à maturité, avec fleurs mâles et femelles présentes en même temps dans le sycone.

Certains d'entre eux peuvent produire de belles fleurs, alors que, la plupart des espèces de ficus Bonsaï produisent des fleurs cachées dans de petits réceptacles desquels les fruits se développent. Seules des guêpes spécialisées pour la pollinisation des figes peuvent accéder à ces fleurs cachées. Les fruits sont des akènes, ovoïdes, contenant une seule graine. Ils sont minuscules et ellipsoïdes, nombreux et regroupés à l'intérieur des figes (4).



Figure 01 : Aspect morphologique de l'arbre et le fruit de *Ficus microcarpa*. (Originales Boumerdes, 2017).

I.5. Domaines d'utilisation

Ficus microcarpa est une espèce exotique utile. Des parties de cette plante, en particulier l'écorce, les racines et les feuilles, sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses pathologies. Comme les maux de ventre et les diarrhées infantiles en raison de leurs propriétés anti-dysentériques et purgatives. Même, les Vietnamiens s'en servent comme masticatoires. D'autres données rapportent sur la préparation d'un caoutchouc à partir de latex des jeunes branches et les racines de cette plantes (Rageau, 1973).

II. Introduction

À ce jour, plus de 100 000 métabolites secondaires ont été identifiés et on estime que chaque végétal produit au moins une centaine de molécules différentes. Ces métabolites maintiennent la vie de la plante, et ont des rôles très variés.

Par conséquent, la définition des composés phénoliques prend en compte, à la fois des éléments structuraux et l'origine biogénétique des composés. Ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique, portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside.

Ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques :

- Celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples.
- Celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les 1,8 dihydroxyanthraquinones ou les naphthoquinones (Bruneton, 1999 ; Kan *et al.*, 2007).

De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, tels que les flavonoïdes (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

II.1. Classification

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun. Dans chacune de ces grandes catégories, on distingue quantité de catégories inférieures. Les classifications sont généralement basées selon :

- La complexité du squelette de base allant d'un simple C_6 à des formes très polymérisées ;
- Le degré de modification de ce squelette ; degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation etc.

- Les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006 ; Hira *et al.*, 2008).

On distingue trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux : les composés azotés, les composés phénoliques, les composés terpéniques ainsi, la catégorie des hétérosides, constituée de dérivés glycosylés de composés terpéniques, phénoliques et plus rarement d'alcaloïdes.

Les molécules désignées sous le terme de « composés mixtes », correspondent à des condensations de molécules provenant des catégories citées plus haut. Mais, souvent les composés mixtes peuvent être rattachés à l'une des catégories précédentes.

Enfin, on distingue d'autres familles de métabolites secondaires plus restreintes en termes de nombre de composés et de nombre d'espèces végétales concernées.

II.1.1. Polyphénols

Les polyphénols sont des antioxydants les plus abondants dans le régime alimentaire. Ils sont présents dans les vacuoles des tissus et participent ainsi aux réactions de défense face aux différents stress biotiques ou abiotiques (pathogènes, rayonnements UV...) et contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume).

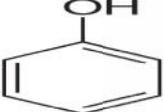
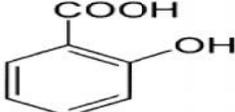
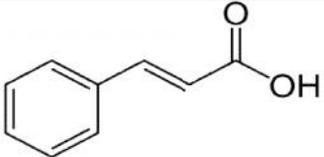
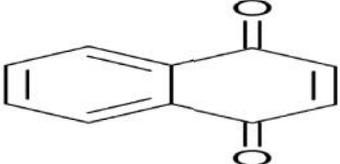
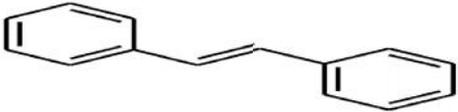
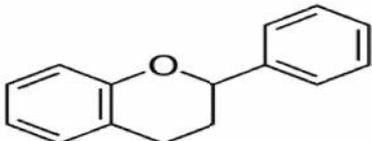
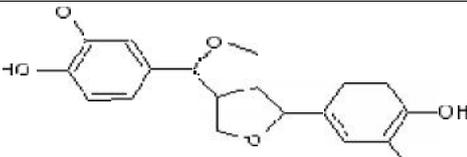
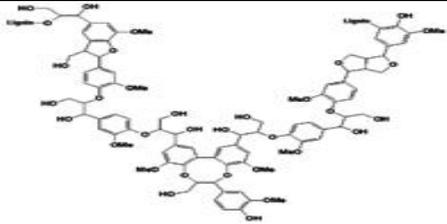
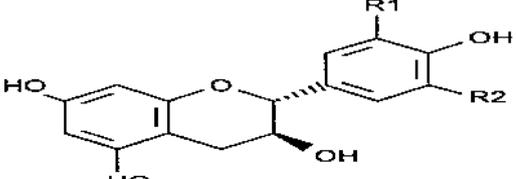
Leur répartition tant qualitative que quantitative dans la plante varie selon les espèces, les organes, les tissus ou encore les différents stades de développement. Ils se caractérisent par la présence de groupements phénoliques d'où la présence d'une ou plusieurs fonctions hydroxyles sur un cycle benzénique dans leur structure (Kühnau, 1976).

Les plantes consommées par l'homme fournissent plus de 8000 composés phénoliques classés en différentes familles selon la nature de leur squelette carboné (Bruneton, 2009). On distingue :

- Les acides phénoliques (C_6-C_1 et C_6-C_3) ;
- Les flavonoïdes ($C_6-C_3-C_6$) ;
- Les lignanes ($C_6-C_3-C_3-C_6$) ;
- Les stilbènes ($C_6-C_2-C_6$).

Chapitre II : Généralités sur les composés phénoliques

Tableau II : Principales classes des composés phénoliques (Rezaire, 2012).

Squelette carboné	Classe	Structure de base
C6	Phénols simples	
C6-C1	Acides hydrox benzoïque	
C6-C3	Acides hydroxycinnamique coumarines	
C6-C4	Naphtoquinones	
C6-C2-C6	Stilbénes	
C6-C3-C6	Flavonoïdes	
(C6-C3)2	Lignanes	
(C6-C3) n	Lignines	
(C6-C3-C6) n	Tanins condensés	

➤ Propriétés biologiques

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong et Shui, 2002).

Effectivement, ils assurent la vie de plante, et la défense contre les pathogènes ; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et la protection contre les rayonnements UV; sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Et même, dans l'industrie cosmétique, elles trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes pour la santé et la beauté de la peau.

En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes telles que les propriétés vasculo-protectrices sont aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines, chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (Hennebelle *et al.*, 2004).

II.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans la plupart des plantes, considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Bruneton, 1999). Ces composés ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Leurs principales actions résident essentiellement dans le maintien de la circulation sanguine et le renforcement du système immunitaire.

La structure de base comporte deux cycles aromatiques à 6 carbones joints par un hétérocycle à oxygène (Figure 2), constituent eux même une famille de composés extrêmement vaste, jouant des rôles physiologiques importants. La variété des composés est essentiellement liée au degré d'hydroxylation ; méthylation et la glycosylation de chacun des deux cycles des molécules de base.

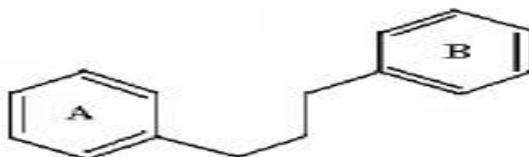


Figure 02 : Squelette de base des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Généralement, ces composés sont divisés en différentes classes (Figure 3) qui diffèrent par leurs structures chimiques : anthocyanidines ; flavonols ; isoflavonols ; flavones ; isoflavones ; flavanes ; isoflavanes ; flavanols ; isoflavanols ; flavanones ; isoflavanones ; aures (Havsteen, 2002 ; Edenharder et Grünhage, 2003).

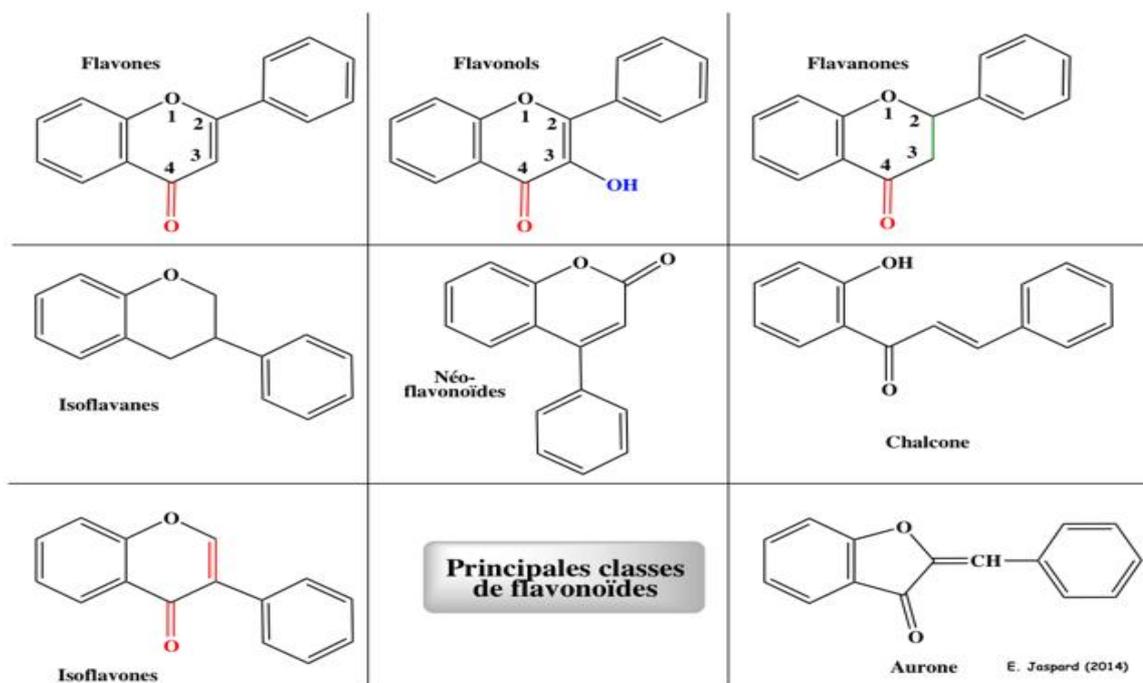


Figure 03 : Structure de quelques classes de flavonoïdes (Bruneton, 1999).

➤ Propriétés biologiques

De nos jours, les flavonoïdes sont des substances antibactériennes (Wichtl et Anton, 2009) participent dans de nombreux processus biologiques concernant la pigmentation des fleurs, des fruits et des légumes, pour attirer les pollinisateurs et disséminateurs de graines, la protection contre les rayons ultraviolets, la défense des plantes contre les micro-organismes et la germination du pollen en agissant comme des molécules de signalisation dans les interactions plantes-microorganismes (Havsteen *et al.*, 2002 ; Dixon et Paiva, 1995 ; Dooner et Robbins, 1991).

II.1.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés, plus ou moins basiques, organiques, généralement hétérocycliques d'origine végétale, doués des propriétés pharmacologiques marquées. Leur toxicité peut agir aux différents niveaux sur le système nerveux central, le système sympathique, le foie et l'appareil digestif (Bruneton, 2009).

Cette famille de métabolites secondaires a été particulièrement étudiée du fait des enjeux économiques qui y sont associés. Leurs actions biologiques les place également au cœur de phénomènes d'interactions de défense face aux pressions biotiques (herbivores, microorganismes). On distingue généralement :

- Les alcaloïdes vrais qui sont d'un point de vue de la biosynthèse dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle : exemple la strychnine dérivée du tryptophane.
- Les proto-alcaloïdes qui dérivent d'acides aminés mais pour lesquels l'azote est en dehors des structures cycliques : exemple la colchicine.
- Les pseudo-alcaloïdes qui ne dérivent pas d'acides aminés : exemple la caféine.

II.1.4. Tanins

Le terme tanin vient de mot tannage des peaux d'animaux en cuir. Ce sont des composés polaires, complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (Kamra *et al.*, 2006). Ils ont la capacité antioxydante et de se combiner et de précipiter les protéines (Makkar, 2003; Mangan, 1988 ; Mcsweeney *et al.*, 2001) et ce grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques (Khenaka, 2011). Aussi à d'autres polymères organiques tels que les glucides, les acides nucléiques, les stéroïdes et les alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (Haslam, 1998).

En général, les tanins sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (Rira, 2006). Existents pratiquement dans divers organes comme l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains (Khanbabae et Ree, 2001).

Leurs intérêts curatifs résident dans leurs caractères astringents. Ces composés jouent un rôle d'armes chimiques défensives contre certains parasites.

II.1.5. Coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles aromatiques largement répandues chez les végétaux. Ces composés issus de la cyclisation du résidu C₃ de dérivés du cinnamate, sont souvent synthétisés en réponse à des attaques pathogènes (Benayache, 2005).

Elles font l'objet de nombreuses propriétés bactériostatiques, ces substances représentent des phytoalexines chez un certain nombre de plantes et rentrent dans la composition de nombreux parfums et alcools (Figure 4).

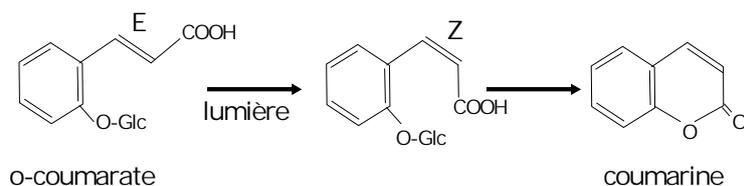


Figure 04 : Structure des coumarines (Cowan, 1999).

II.1.6. Saponines

Le terme saponosides est dérivé de mot savon, sous ce nom une vaste famille de glycosides tri terpéniques ou stéroïdiens qui se trouvent dans de nombreuses plantes. Ce sont des substances complexes, toxiques à différentes doses pour les animaux à sang froid (poissons) et pour l'homme. Ces composés constituent une matière première importante pour l'hémisynthèse d'hormones stéroïdiques. Ils sont composés de deux parties (Figure 5) :

- Partie hydrophile, formée d'un ou de plusieurs sucres, eux-mêmes de nature variés.
- Une partie aglycone et lipophile (dite sapogénine), qui est soit un résidu de triptène, soit un résidu de stéroïde.

Les saponines sont parmi les principaux constituants de nombreuses plantes médicinales. Ces composés sont responsables de la production de la mousse une fois mélangé avec de l'eau. On désigne différentes variétés comme le soja, l'ail, les haricots blancs, les tomates, les pommes de terre, les graines d'avoine, la luzerne et les épinards (Dacosta, 2003).

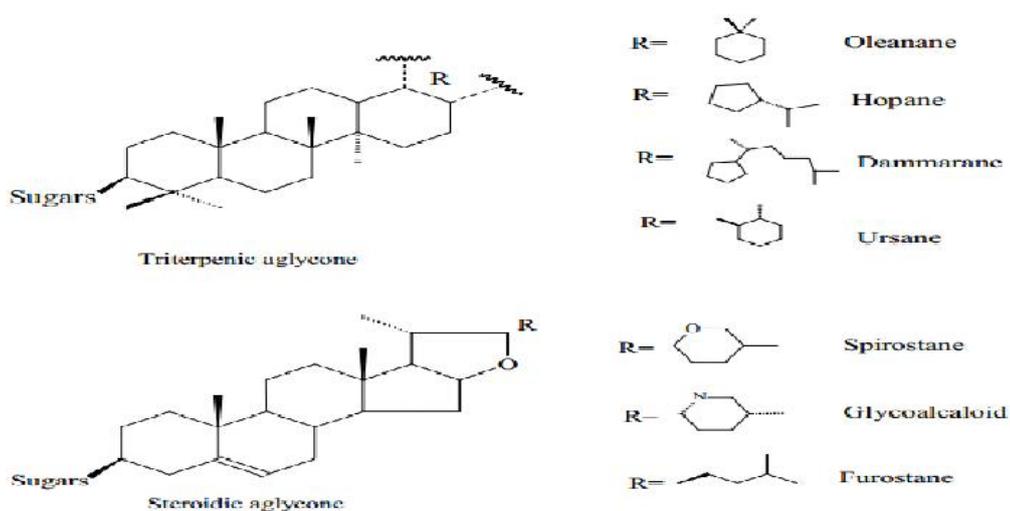


Figure 05 : Structure des saponines (Packer ,2001).

III.1. Cadre de l'étude

Ce travail rentre dans le cadre de la valorisation des ressources agricoles locales en vue mettre sur le marché une forme médicamenteuse (pommade cicatrisante). Il s'agit de valoriser le fruit *Ficus microcarpa*.

L'étude expérimentale a été réalisée entre décembre 2016 et juillet 2017 dans les laboratoires suivants :

L'étude phytochimique a été effectuée au niveau des Laboratoires physico-chimiques (communs I et II) de l'UMMTO et le Laboratoire de Pétrochimie de l'Université de Boumerdès.

L'évaluation de la charge microbienne et l'activité anti microbienne des extraits de fruits ont été réalisées au sein du Laboratoire pédagogique de Microbiologie de l'UMMTO.

L'analyse rhéologique des pommades élaborées a été réalisée au niveau du Laboratoire de Recherche Matériaux, Procédés et Environnement de l'Université de Boumerdès.

L'activité cicatrisante des pommades été recherchée sur les lapins au niveau de l'Institut Pasteur d'Alger,

Les objectifs ambitionnés au travers ce travail sont :

1. Détermination de différents paramètres (morphologiques, physico-chimiques, phyto-chimiques, microbiologiques, rhéologiques) de fruit *Ficus microcarpa* ;
2. Détermination de l'activité anti-microbienne (bactéricide et fongicide) des extraits de ce fruit ;
3. Elaboration des formulations de pommades cicatrisantes à base des saponines de ce fruit et la poudre des feuilles de la plante médicinale *Pulicaria odorea* ;
4. Evaluation de l'activité cicatrisante des pommades élaborées sur des lapins.

III.2. Matériels utilisés

III.2.1. Appareillages et réactifs utilisés

L'ensemble des appareillages, solvants, réactifs chimiques et milieux de cultures est cité dans l'annexe 1.

III.2.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre travail est composé de deux échantillons ; le fruit *Ficus microcarpa* (Figure 6) et les feuilles de la plante *Pulicaria odorea* (Figure 7).

Le fruit a été récolté dans un jardin public de la wilaya de Boumerdès durant la période s'étalant du 16/11/2016 au 20/12/2016. L'identification de ce fruit a été faite à l'UMMTO et identifier par Ben Ahmed Djilali au niveau de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'UMMTO.

Concernant, la plante *Pulicaria odorea* a été récoltée de la région Makouda de la wilaya de Tizi-Ouzou la période s'étalant du 01/05/2017 au 20/05/2017. Cette plante est connue par sa richesse en tanins et d'autres effets thérapeutiques en se basant sur des résultats des travaux de Ben Ahmed Djilali (2017, in press).

A la fin de la récolte et le triage, selon le degré de maturité, les fruits ont été conservés dans un congélateur (- 4 °C) jusqu'à leur utilisation dans les différentes analyses, dans le but de ralentir la respiration, les changements chimiques et physiologiques.



Figure 06 : Photo de fruit *Ficus microcarpa* de la région de Boumerdès (originales, 2017).



Figure 07 : Photo des feuilles de *Pulicaria odorea* (Originale, 2017).

III.2.3. Matériel biologique

Les tests de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques et aqueux de notre fruit sont effectués sur trois bactéries pathogènes et une souche fongique (moisissure) citées dans le tableau III. Ces souches nous ont été fournies par le Laboratoire de Microbiologie de l'UMMTO.

Tableau III : Souches microbiennes utilisées.

Nom de la souche	Nature	Type	Famille
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactérie	Gram -	Pseudomonadaceae
<i>Escherichia coli</i>	Bactérie	Gram-	Micrococcaceae
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie	Gram+	Staphylococcaceae
<i>Aspergillus niger</i>	Moisissure		

III. 3. Méthodes d'analyses

Elles se rapportent aux expériences suivantes :

III.3.1. Méthodologie de séchage

Le séchage de fruit *Ficus microcarpa* a été réalisé dans une étuve à 65°C par circulation d'air chaud. Pour intensifier les conditions de séchage ou ménager les substances sensibles à la chaleur, le séchage s'effectue souvent sous vide. Un contrôle de la perte d'eau a été réalisé chaque 15mn par pesée différentielle avant et après séchage.

La partie aérienne (feuilles) de la plante *P. odorea* a été séchée immédiatement après la cueillette à l'air libre, à l'ombre dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière solaire, à fin de préserver au maximum l'intégrité des molécules bioactives recherchées.

A la fin de la période de séchage pendant 20 jours, les matières sèches obtenues sont ensuite broyées dans un moulin électrique et tamisées à l'aide d'un tamis de taille très fine (250µm).

Les poudres ainsi obtenues sont conservées dans des flacons fermés hermétiquement en verre à température ambiante et stockées à l'abri de la lumière et d'humidité jusqu'à leurs utilisation.

Tableau IV : Aspects des fruits de *F.microcarpa* et feuilles de *P.odorea* et leurs poudres.

Echantillons	Etat frais	Etat sec	Lieu de récolte	Date de récolte
<i>Ficus microcarpa</i>			Wilaya de Boumerdès	16/11/2016 au 20/12/2016
<i>Pulicaria odorea</i>			Wilaya de Tizi-Ouzou	01/05/2017

III.3.2. Préparation des extraits de fruit

Deux extraits (aqueux et éthanolique) ont été préparés à base de notre fruit à l'état frais (Figure 08). A fin d'éviter l'oxydation des composés phénoliques, en recouvre toute la verrerie avec du papier aluminium et les extraits sont conservés à 4 °C jusqu'à leurs utilisation.

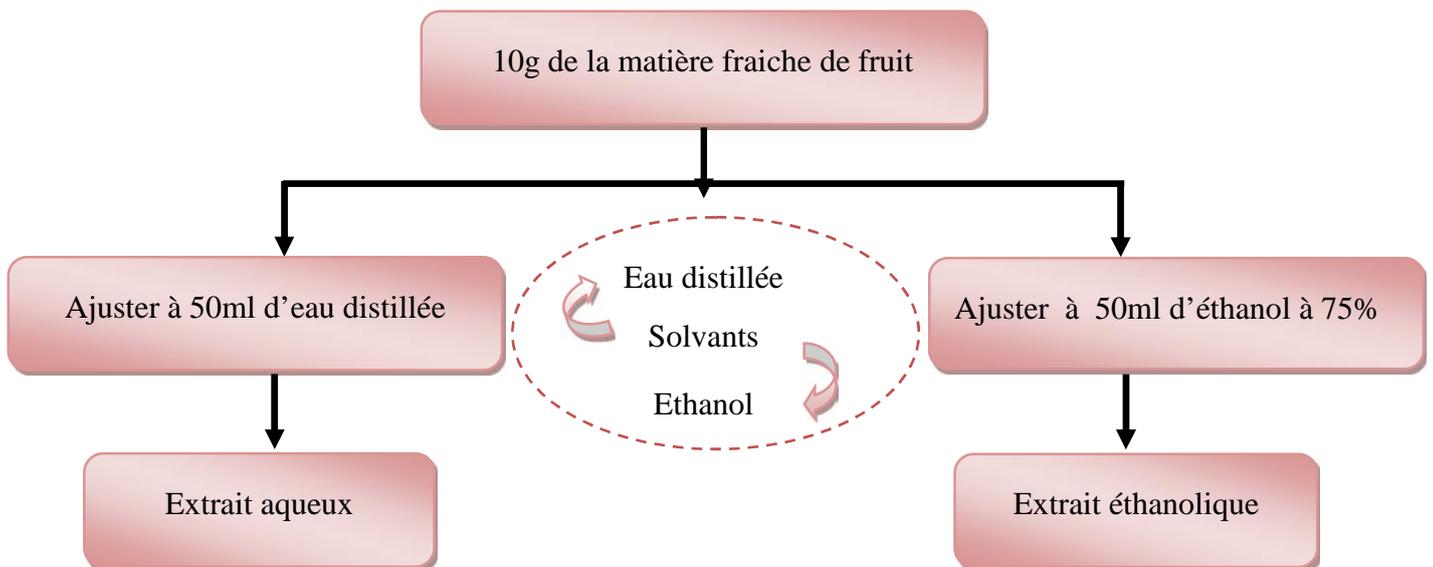


Figure 08 : Protocole de préparation des extraits aqueux et éthanoliques.

III.3.3. Caractérisations physique et morphologique de fruit

Les mesures biométriques permettent d’apprécier les caractères morphologiques et physiques de fruit liés à son développement. Ces caractéristiques ont été étudiées sur 100 pièces de fruit, elles concernent :

➤ **Morphologie**

Elle concerne les caractères visuels de notre fruit tel que la forme, la taille, la texture des grains, la couleur pour chaque stade de maturité (4 stades).

➤ **Poids**

Chaque fruit de figue a été pesé à l’aide d’une balance de précision. Le poids moyen est estimé en (g) selon la formule suivante :

$$P_m = \frac{\sum P}{n} \dots\dots\dots (1)$$

Pm : poids moyen des figues

P : somme des poids des figues

N : nombre total des figues.

➤ **Longueur**

Après avoir pris le poids moyen du fruit à l’aide d’un pied coulisse, la longueur moyenne (Lm) est calculée selon la formule suivante :

$$L_m = \frac{\sum L}{n} \dots\dots\dots (2)$$

Lm : longueur moyenne d’une figue

L : somme des longueurs des figues

N : nombre total des figues.

➤ **Diamètre**

Le diamètre moyen (D_m) des fruits est calculé selon la formule suivante :

$$D_m = \frac{\sum D}{n} \dots\dots\dots(3)$$

D_m : diamètre moyenne des figues (unité)

D : somme des diamètres des figues

N : nombre total des figues.

III.3.4. Caractérisation physico-chimique

III.3.4.1. Mesure de pH

✓ **Principe**

Le pH est déterminé par la méthode potentiométrique à l'aide d'un pH mètre.

✓ **Mode opératoire**

- Peser 4 g de l'échantillon, mélanger avec 100 ml d'eau distillée préalablement chauffée ;
- Laisser le mélange refroidir ;
- Etalonner le pH mètre en utilisant une solution tampon;
- Prélever un volume V du mélange suffisant pour permettre l'immersion de l'électrode ;
- Noter ensuite la valeur du pH.

Il faut rincer l'électrode avec l'eau distillée avant chaque mesure et sécher à l'aide du papier absorbant (*NF V 05-108,1997*).

III.3.4.2. Détermination de l'acidité titrable

✓ **Principe**

La détermination de l'acidité titrable consiste en un titrage de l'acidité avec une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0,1N) en présence de phénophtaléine comme indicateur de couleur.

✓ **Mode opératoire**

- Peser 10 g de l'échantillon ;
- Ajouter 70 ml d'eau distillée bouillie et refroidie ;
- Mélanger jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène ;
- Chauffer le contenu au bain marie pendant 30 mn ;
- Laisser refroidir ;
- Transvaser le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 100 ml ;
- Ajuster jusqu'au trait de jauge avec l'eau distillée ;
- bien mélanger puis filtrer.
- Prélever 10 ml du filtrat, ajouter dans 10ml d'eau distillée ;
- Ajouter trois gouttes de phénolphtaléine et tout en agitant ;
- Titrer avec de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistants pendant 30 secondes ;

✓ **Expression des résultats**

L'acidité titrable est calculée par la formule suivante :

$$A(\%) = \frac{175 \times V_1}{V_0 \times M} \dots\dots\dots (4)$$

M : masse prélevée en gramme ;

V₀ : volume en ml de la prise d'essai ;

V₁ : volume en ml de la solution NaOH à 0,1N (*NF V 05-101,1974*).

III.3.4.3. Détermination de la teneur en eau

✓ **Principe**

Le séchage a été réalisé dans une étuve à 105± 03°C.

✓ **Mode opératoire**

La détermination de la teneur en eau se fait de la manière suivante:

- Peser les capsules en aluminium ;
- Tarer les capsules ;
- Peser dans chaque capsule 100 g de l'échantillon, et les placer dans une étuve ;

- Retirer les capsules de l'étuve, les placer dans un dessiccateur, après refroidissement, on les pèse, l'opération est répétée chaque 15 minutes jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

✓ **Expression des résultats**

La teneur en eau a été déterminée selon la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100 \dots\dots\dots (5)$$

Prenant:

H(%) : humidité

M₁ : masse de la capsule + la matière fraîche avant séchage en g ;

M₂ : masse de la capsule + la matière après séchage (g) ;

P : masse de la prise d'essai en g.

La matière sèche est déduite comme suit :

$$MS \% = 100 - H\% \dots\dots\dots (6)$$

III.3.4.4. Détermination de la teneur en cendres

✓ **Principe**

Chaque échantillon est calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à obtention des cendres blanchâtres de poids constant.

✓ **Mode opératoire**

- Dans des creusets en porcelaine, peser 10 g de l'échantillon ;
- Placer les creusets dans un four à moufle fermé ;
- Retirer les creusets du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.

La température est augmentée progressivement de manière à éviter une calcination violente de produit ce qui entrainerait des pertes maintenues à une température de 550±15°C jusqu'à obtention d'une couleur blanchâtre de poids constant ;

✓ **Expression des résultats**

Le taux en cendres est calculé par la formule suivante :

$$Taux\ de\ Cendre\ (\%) = 100 - MO \dots\dots\dots (7)$$

Soit :

TC : Taux de cendres

✓ **La teneur en MO :**

$$\text{MO}\% = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100 \dots\dots\dots (8)$$

Soit :

MO : matière organique en (%) ;

M₁ : masse de creuset + la prise d'essai en (g) ;

M₂ : masse de creuset après incinération en (g) ;

P : masse de la prise d'essai (g) (*NF V 05-113, 1972*).

III.3.4.5. Détermination de la teneur en éléments minéraux

✓ **Principe**

Le but de la minéralisation est la reprise de cendres obtenues précédemment sous forme liquide.

✓ **Mode opératoire**

- Après calcination de 10,5g de matière sèche (le fruit), on obtient les cendres ;
- Humecter lentement les cendres par 3 ml d'eau bi distillée et 3 ml d'acide chlorhydrique concentré pour assurer une franche réaction acide ;
- Chauffer sur une plaque chauffante douce sans dépasser 250°C jusqu'à apparition des premières vapeurs ;
- Laisser reposer quelques minutes ;
- Ajouter 1 ml d'eau bi distillée puis filtrer sur un papier filtre sans cendres dans une fiole jaugée de 100 ml, rincer 3 à 4 fois à l'eau bi distillée de 30 à 40°C ;
- Incinérer le papier filtre et son contenu pendant une demi-heure à 550°C au maximum dans le four à moufle ;
- Ressortir après refroidissement les capsules ;
- Humecter une deuxième fois par 5 ml d'acide chlorhydrique 37% ;
- Mettre les capsules pour une deuxième fois sur la plaque chauffante jusqu'à apparition des premières vapeurs ;

- Ajouter 1ml d'HCl ;
- Ajouter 1 ml d'eau bi distillée puis filtrer sur un papier filtre sans cendres dans la même fiole jaugée 100 ml et laver avec de l'eau tiède ;
- Ajuster à 100 ml, complétant au trait de jauge après refroidissement avec l'eau bi distillée ;
- Mettre 20 ml de cette solution dans des tubes à essai.
- Réaliser l'atomisation à l'aide d'un atomiseur à flamme, la concentration de chaque élément est déterminée à l'aide d'un courbe étalon.

III.3. 5. Screening chimique

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant la poudre de fruit *Ficus microcarpa* a été faite selon les méthodes standards de screening phytochimique (Dohou *et al.*, 2003 ; Kumar *et al.*, 2010).

Le screening chimique a été effectué soit sur la poudre de fruit étudiée ou bien sur le fruit frais.

La quantité de la substance recherchée est proportionnelle soit à l'intensité de précipité formé (la turbidité) ou la coloration.

➤ Préparation de l'infusé

- 20 g de la poudre sont macérés dans 100 ml d'eau distillée ;
- Porter le mélange à l'ébullition pendant 15 min puis on filtre ;
- Le filtrat est ajusté à 100 ml d'eau distillée.

L'infusé ainsi obtenu a été utilisé pour la recherche des différents composés chimiques :

➤ Anthocyanes

Introduire dans un erlenmeyer 5 ml de l'infusé, puis on ajoute quelques gouttes d'HCl.

Une réaction positive donne une coloration rouge en présence des anthocyanes.

➤ Tanins

Quelques gouttes de la solution de FeCl₃ (5%) sont ajoutées à 5 ml de l'infusé.

La présence des tanins est identifiée par une coloration bleu noire de la solution.

➤ Tanins galliques

On sature le filtrat par l'acétate de sodium (CH₃COONa), puis on lui ajoute quelques gouttes de FeCl₃.

La réaction est dite positive lorsque la coloration bleu foncée apparaît.

➤ **Flavonoïdes**

5ml d'HCl, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool iso butanol sont ajoutés à 5 ml de l'infusé
La réaction est dite positive lorsque la coloration est rouge oranger.

➤ **Saponosides**

Dans deux tubes à essai fermés, on met dans l'un 5 ml d'HCl, dans l'autre 5 ml NaOH; on introduit dans chacun deux à trois gouttes d'infusé, ensuite on l'agite verticalement pendant 30 secondes et laisser reposer 15 min.

Une réaction positive est déterminée par la présence ou non d'une mousse persistante.

Deux cas sont possibles :

1^{er} cas : en présence des saponines stéroïdiennes, on obtient dans les deux tubes, le même volume de la mousse.

2^{eme} cas : Si la plante contient des saponines tri terpéniques, en milieu basique il y'aura formation d'une mousse quelque fois plus grande par stabilité et par volume.

➤ **Quinones libres**

2 ml d'HCl (1N) et 20ml de chloroforme sont ajoutés à 2 g de la poudre végétale, puis on laisse le mélange pendant 3 heures. Après filtration, on ajoute 5 ml d'ammoniaque (1/2). La réaction est positive lorsque la coloration rouge violette apparait.

➤ **Quinones combinées**

5 ml d'H₂SO₄ (2N) ont été ajoutés à 2g de la poudre, on porte le mélange à reflux pendant 2 heures. Le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre, 20 ml de chloroforme sont ajoutés au filtrat, puis évaporer à sec, le produit est reconstitué dans l'ammoniaque. La réaction est dite positive lorsqu'une coloration rouge se manifeste.

➤ **Alcaloïdes**

20 ml d'ammoniaque (1/2) et 50 ml de mélange éther –chloroforme (3/2) ont été ajoutés à 5g de la poudre. Le filtrat est épuisé par HCl (2N).

L'identification des alcaloïdes a été réalisée grâce au réactif de Dragendroff qui donne un précipité rouge.

➤ **Glucosides**

Quelques gouttes d'H₂SO₄ ont été ajoutées à 2g de la poudre de fruit.

Une coloration rouge brique ensuite violette se manifeste en présence de glucosides.

➤ **Coumarines**

20 ml (éthanol / eau distillée) sont ajoutés à 2g de la poudre. Bouillir le mélange pendant 15 min à reflux puis filtrer et laisser refroidir.

L'identification des coumarines se fait par l'ajout de 10 gouttes de la solution KOH (10%) à 3 ou 5 ml de filtrat et quelques gouttes d'HCl à 10% jusqu'à l'obtention d'un milieu fortement acide. L'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines.

➤ **Sennosides**

On introduit 2,5 g de la poudre de fruit dans une fiole conique plus 50 ml d'eau distillée plus 2ml d'HCL concentré. Chauffage au bain-marie pendant 15 min. Refroidir puis ajouter 40 ml d'éther.

On sépare la phase organique étherée de la phase aqueuse. On sèche la phase étherée sur sulfate de sodium anhydre ($\text{Na}_2\text{SO}_4\text{H}_2\text{O}$). Ensuite on évapore. Lorsque le résidu est refroidi, on lui ajoute 5 ml d'ammoniaque (1/2).

La présence des sennosides est identifiée par une coloration jaune ou orange de la solution. Le chauffage de cette solution au bain- marie pendant 2 min donne une coloration violette rouge.

III.3.6. Dosage des sucres

Dans ce dosage, on met en évidence trois catégories de sucres à savoir : les sucres totaux, les sucres réducteurs et le saccharose.

Avant les dosages, on prépare les solutions de Fehling A et B et les deux filtrats (1) et (2) de compositions suivantes :

➤ **Filtrat (1)**

- Peser 10g de l'échantillon dans un bécher de 100ml ;
- Ajouter 2,5ml d'acétate de plomb,
- Remplir jusqu'au 2/3 du volume de bécher avec l'eau distillée ;
- Agiter à plusieurs reprises et laisser reposer pendant 15min ;
- Ajuster avec d'eau distillée à 100ml ;
- Homogénéiser et filtrer sur un papier filtre et récupérer le filtrat.

➤ **Filtrat (2)**

- Prélever 50ml du filtrat(1) et ajouter 5ml d'HCl concentré ;
- Chauffer le mélange au bain marie à 70°C pendant 5 min ;

Neutraliser avec NaOH (10N) en présence de phénolphtaléine à 1%.

III.3.6.1. Dosage des sucres totaux

✓ **Mode opératoire**

- Prélever 5ml de la solution Fehling A et 5ml de la solution Fehling B;
- Ajuster jusqu'à 100ml avec l'eau de robinet;
- Chauffer le contenu jusqu'à ébullition durant 2mn ;
- Titrer par le filtrat(2) obtenu jusqu'à la disparition de la couleur bleue ;
- Ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène jusqu'à ce que la coloration bleue soit remplacée par une coloration marron cuivrée ;
- Noter le volume de filtrat(2) V_2 .

✓ **Expression des résultats**

Quantité des sucres totaux dans la prise d'essai est donnée par la formule suivante :

$$S_T = \frac{500}{V \times (V_2 - 0,05)} \times 10 \dots \dots (9)$$

Soit :

S_T : quantité des sucres totaux (g/100ml) ;

V : volume de la prise d'essai ;

V_2 : volume du filtrat(2) utilisé lors du titrage.

III.3.6.2. Dosage des sucres réducteurs

✓ **Mode opératoire**

- Introduire 5ml de la solution Fehling A et 5ml de la solution Fehling B dans un bécher de 500ml ;
- Ajuster jusqu'à 100ml avec l'eau de robinet ;
- Chauffer le contenu jusqu'à l'ébullition durant 2mn ;
- Titrer par le filtrat(1) jusqu'à ce que la teinte bleue disparaisse ;
- Ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène et continuer le titrage jusqu'à ce que la coloration bleue devienne rouge brique;
- Arrêter le titrage et noter le volume du filtrat(1) dépensé V_1 .

✓ **Expression des résultats**

La quantité de sucres réducteurs dans la prise d'essai est donnée par la formule suivante :

$$S_R = \frac{240}{V \times (V_1 - 0.05)} \dots \dots \dots (10)$$

Soit :

S_R : quantité des sucres réducteurs (g/100ml) ;

V : volume de la prise d'essai (ml) ;

V_1 : volume du filtrat(1) utilisé au titrage.

III.3.6.3. Taux de saccharose

La quantité de saccharose est calculée selon la formule suivante :

$$S = (S_T - S_R) \times 0,95 \dots \dots \dots (11)$$

Soit :

S : quantité de saccharose en g/l ;

S_T : quantité des sucres totaux en g/l ;

S_R : quantité des sucres réducteurs en g/l.

III.3.7. Dosage de l'acide ascorbique

Le dosage direct par méthode iodométrique a été adopté.

✓ **Principe**

Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique par l'iode en milieu acide.

✓ **Mode opératoire**

- Prendre 50ml de filtrat ;
- Ajouter 3ml de l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 0,1N et quelques gouttes d'amidon à 0,5% comme indicateur coloré ;
- Titrer le mélange par une solution d'iode à 0,05% jusqu'à l'apparition de la couleur bleue ;

✓ **Expression des résultats**

La quantité d'acide ascorbique que contient 1l de filtrat est donnée par la formule suivante :

$$Y = N \times 20 \times 4.4 \text{ mg d'acide } \frac{\text{ascorbique}}{\text{litre}} \dots\dots\dots (12)$$

Soit :

N : nombre de ml d'iode versés ;

Y : la quantité de l'acide ascorbique dans l'échantillon (mg/l).

III.3.8. Extraction de la matière grasse totale

✓ **Principe**

La matière grasse totale (MGT) est extraite en utilisant l'hexane. Le taux de la matière grasse consiste à peser l'huile obtenue directement après évaporation de solvant.

✓ **Mode opératoire**

- Ñ Placer, dans un soxhlet la cartouche contenant la prise d'essai de la poudre dépigmentée à l'acétone (38g) ;
- Ñ Verser dans le ballon la quantité nécessaire 150ml d'hexane ;
- Ñ Adapter le ballon au soxhlet ;
- Ñ Après une extraction d'une durée d'une heure, éteindre l'appareil et laisser refroidir ;
- Ñ Eliminer le solvant par évaporation au moyen d'un rotavapor et peser le ballon contenant le résidu huileux.

✓ **Expression des résultats**

$$MG\% = \frac{P1 - P2}{ME} \times 100 \dots\dots\dots (13)$$

P2 : Poids du ballon vide (g) ;

P1 : Poids du ballon après évaporation (g) ;

ME : Masse de la prise d'essai (g) ;

MG : Taux de la matière grasse (g) ;

III.3.8.1. Préparation des esters méthyliques d'acides gras

✓ Principe

Cette méthode rapide est applicable aux huiles d'olives et aux huiles de grignons d'olives ayant une teneur en acides gras libres inférieure à 3,3%. Les acides gras libres ne sont pas estérifiés par l'hydroxyde de potassium. Les esters éthyliques d'acides gras se transestérifient plus lentement que les esters glycéridiques et il est possible qu'ils ne se méthylent que partiellement.

Les esters méthyliques se forment par transestérification dans une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium comme phase intermédiaire avant la saponification (point 5 de la méthode ISO 5509:2000, point 5 de la méthode IUPAC 2.301).

✓ Mode opératoire

L'extrait à analyser est injecté dans la colonne à travers l'injecteur. Les substances sont rendues volatiles par la température de l'injecteur et transportées à travers la colonne par le gaz porteur. Les molécules contenues dans l'extrait sont donc séparées en fonction de leur affinité avec la phase stationnaire qui provoque une rétention chromatographique dont la valeur (temps de rétention) permet l'identification des composés.

A la sortie de la colonne, les composés sont détectés par un détecteur à flamme (alimenté par de l'hydrogène produit à partir d'un générateur). Les composés sont enregistrés sous forme de pics dont la surface est proportionnelle à leur quantité.

III.3.9. Détermination de la teneur en polyphénols

✓ Principe

Les polyphénols ont été déterminés par spectrométrie selon la méthode de Folin-ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique (H_3PMoO_{40}).

Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-ciocalteu en un complexe ayant une couleur constituée d'oxyde de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), l'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Biozot et Charpentier, 2006).

✓ **Mode opératoire**

1g du matériel végétal broyé est soumis à une extraction par macération plus agitation dans deux solvants (l'eau distillée et l'éthanol) 20 ml pendant 6 jours avec agitation à froid puis les extraits sont filtrés.

- **Dosage** : Le dosage des polyphénols dans chaque extrait est suivi selon le diagramme suivant :

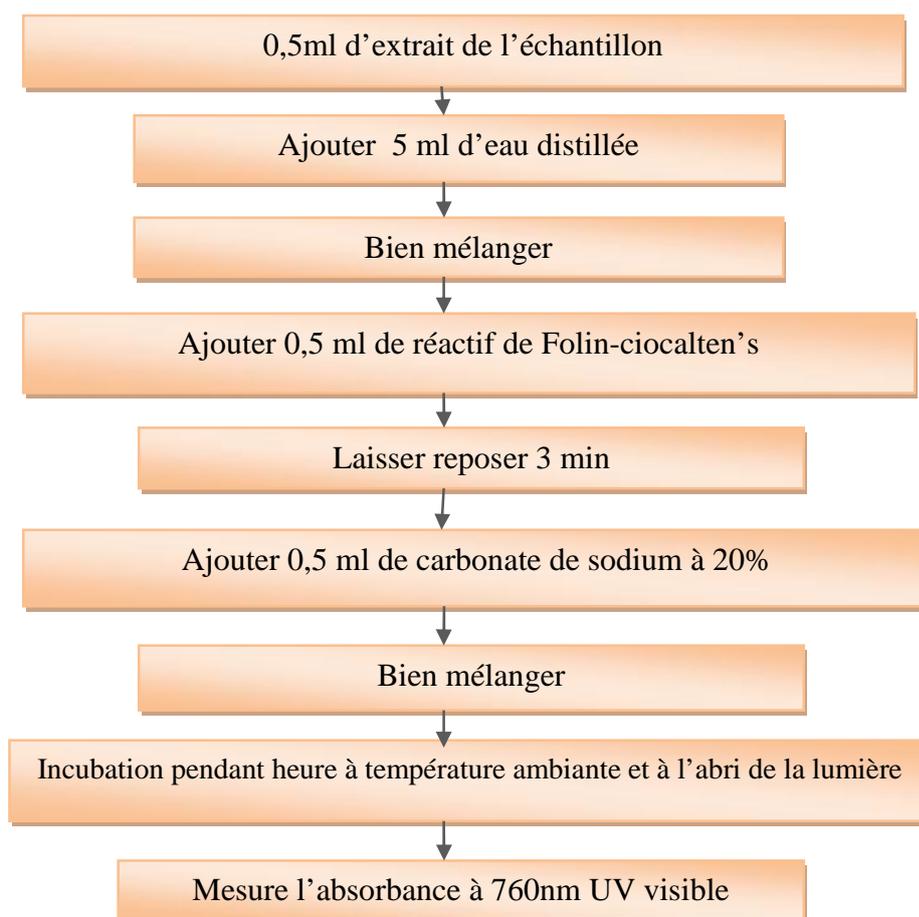


Figure 09 : Diagramme de dosage des poly phénols totaux (Singleton *et al.*, 1999).

✓ **Courbe d'étalonnage**

La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage.

✓ **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche de plante (mg EAG /g MS).

III.3.10. Détermination de la teneur en flavonoïdes

✓ Principe

Les flavonoïdes possèdent des groupements hydroxyles (OH) libres, qui sont susceptibles de donner un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Ces composés forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium) dont l'intensité varie en fonction de leur concentration (Ribéreau-Gayon, 1968).

✓ Mode opératoire

➤ Extraction

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (Kosalec *et al.*, 2004) a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits obtenus (Figure 10).

➤ Dosage

Le diagramme ci-dessous montre les différentes étapes respectées pour doser les flavonoïdes.

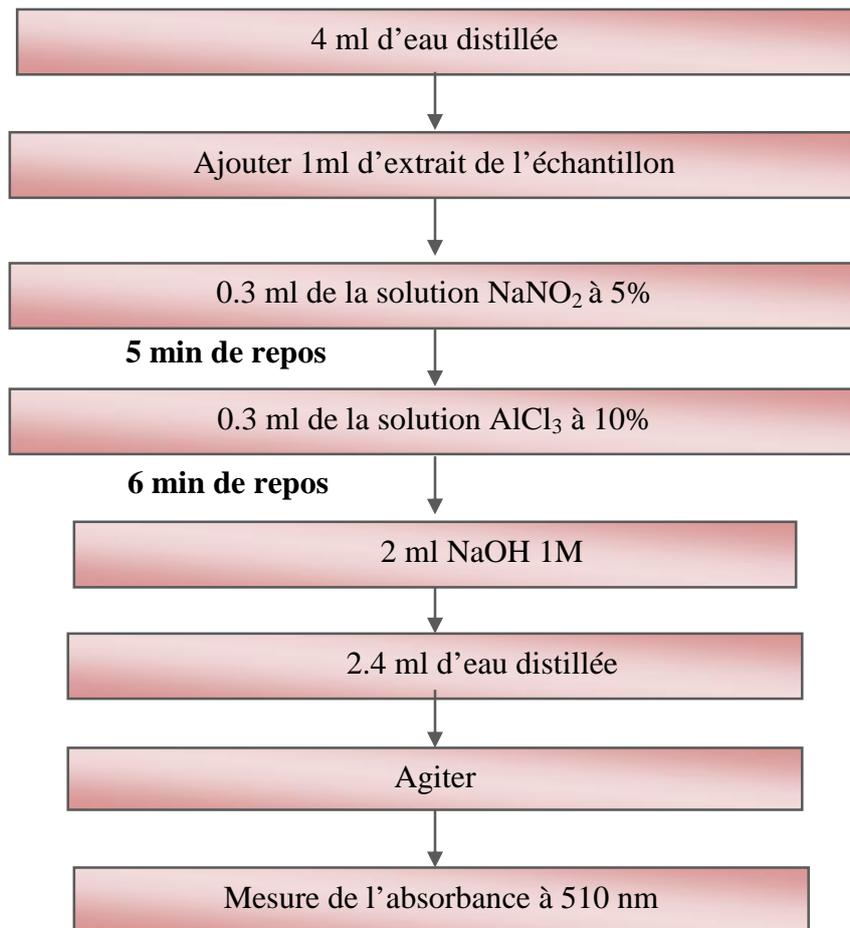


Figure 10 : Etapes de dosage des flavonoïdes (Kosalec *et al.*, 2004).

✓ **Courbe d'étalonnage**

La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant la quercétine comme un flavonoïde standard.

✓ **Expression des résultats**

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de poids sec de l'extrait.

III.3.11. Extraction des saponines

✓ **Mode opératoire**

Le matériel végétal est tout d'abord réduit en poudre par une série de broyage à l'aide d'un moulin électrique. Afin d'augmenter le rendement d'extraction, la méthode d'extraction employée est la macération à froid dans des solvants organiques. Les saponines sont extraites simultanément avec deux solvants qui sont dans l'ordre croissant de polarité l'éther de pétrole et l'éthanol (75%).

L'extraction des saponines à partir de la poudre de *Ficus microcarpa* est illustrée par la figure 11.

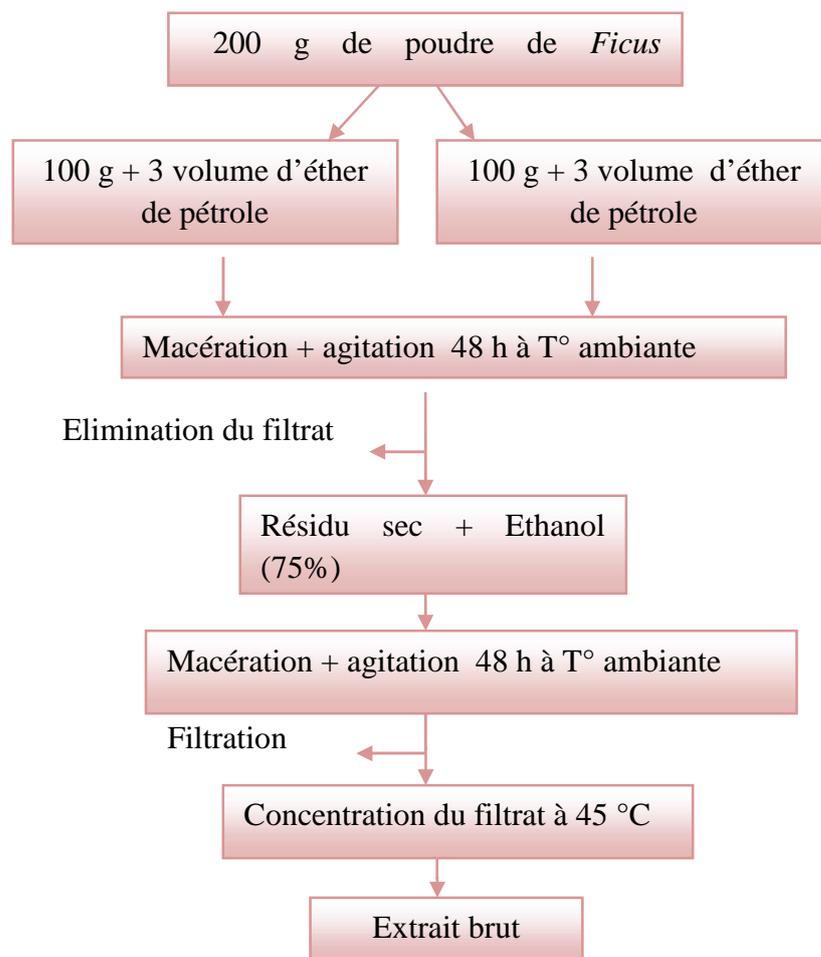


Figure 11 : Protocole d'extraction des saponines (Marston, Wolfender & Hostettmann, 2000).

✓ **Calcul de rendement**

Après l'étape d'évaporation à sec, le résidu obtenu a été pesé. Le rendement, exprimé en pourcentage par rapport au poids du matériel de départ, a été déterminé par la relation suivante :

$$R\% = \frac{M}{M_0} \times 100 \dots\dots\dots (14)$$

R : rendement en (%)

M: masse de l'extrait brut sec (en g)

M0: masse initiale de la poudre du végétale (en g).

III.3.12. Analyse des groupements fonctionnels (Infra-Rouge)

La poudre et les saponines de ce fruit sont analysées par Infra-Rouge.

✓ **Mode opératoire**

Dans un mortier lavé à l'alcool, on prépare un mélange de 30 mg de KBr et quelques milligrammes de la poudre de fruit séché à 65°C ;

- On met le mélange entre deux plaquettes et on applique une force de compression ;
- On analyse la pastille obtenue dans l'appareil de l'infrarouge.

✓ **Expression des résultats**

Les résultats sont donnés par le logiciel Opus sous forme de pics qui seront analysés.

III.3.13. Etude microbiologique de fruit

III.3.13.1. Détermination de la charge microbienne

✓ **Principe**

Elle a consisté à dénombrer la flore mésophile aérobie totale, les levures et moisissures, ainsi que la flore des coliformes totaux contaminants le fruit de *Ficus microcarpa*. Elle permet d'en apprécier la qualité hygiénique. Ces analyses utilisent la méthode de comptage des colonies sur boîte de Pétri.

✓ **Mode opératoire**

Des dilutions décimales ont été réalisées. A 1 gramme de fruit, dans 9ml de diluant stérile TSE sont ajoutés. Ce mélange constitue la dilution 10^{-1} . Après homogénéisation, les dilutions successives sont obtenues en prélevant 1 ml de la dilution précédente qu'on ajoute à 9 ml de diluant stérile.

- Flore mésophile aérobie totale : le milieu PCA a été utilisé. 1ml d'une dilution est prélevé et ensemencé dans la gélose en surfusion. Les incubations sont faites à 37°C et les lectures sont faites après 24 et 48 heures.
- Moisissure : le milieu OGA a été utilisé. 1ml d'inoculum est ensemencé dans la gélose en surfusion. Les boîtes sont incubées à 30 °C et les lectures sont faites après 24h.
- Coliformes totaux : le milieu VRBL a été utilisé. 1ml d'une dilution est prélevé et ensemencé dans la gélose en surfusion. Les incubations sont faites à 37 °C et les lectures après 24 et 48 heures.

✓ **Expression des résultats**

Le nombre total de germes a été déterminé selon la relation suivante (AFNOR, 1996).

$$N = \frac{\sum C}{n_1 + 0,1n_2 * d} \dots\dots\dots(15)$$

N : Nombre total de germes exprimé en unité formant des colonies.

C : Somme de colonies des boîtes des deux dilutions successives retenues.

n1 : Nombre de boîtes de la plus faible dilution.

n2 : Nombre de boîtes de la seconde dilution.

d : Facteur de dilution correspondant à la plus faible dilution.

III. 3.13.2. Test de l'activité antimicrobienne

✓ **Principe**

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de fruit, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Choi *et al.*, 2006).

✓ **Mode opératoire**

- Préparation des milieux : les milieux de culture utilisés sont :
 - Pour tester l'activité biologique des extraits de fruit vis-à-vis les souches bactériennes, la gélose Muller Hinton (MH) a été utilisée.
 - Pour tester l'activité biologique des extraits de fruit vis-à-vis la souche fongique, la gélose Sabouraud a été utilisée.
- Repiquage des microorganismes: les différents germes ont été repiqués par la méthode des stries, puis incubés à 37 °C pour les bactéries et 30 °C pour les champignons afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.
- Préparation de l'inoculum: Des colonies bien séparées des espèces microbiennes concernées ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile et homogénéisées dans 9 ml d'eau physiologique.
- Standardisation : Passage à lecture sous spectrophotomètre-UV à 620 nm jusqu'à avoir une absorbance de 0.08 à 0.1 correspondante à 10^7 cellules.
- Ensemencement: Des boîtes de Pétri stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalement à l'aide d'un écouvillon, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des microorganismes.
- Ensuite, on dépose un disque stérile de papier Wattman de 6mm, à l'aide d'une pince stérile, sur les germes au tout début de leur croissance.
- 100µl de l'extrait y est ajouté ensuite, et le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne, est ainsi déterminé après incubation.
- Déposé les boîtes à froid.
- Incubation pendant (18-24) heures à 37°C pour les bactéries et pendant 48h à 30 °C pour les champignons.
- Lecture: se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions et peut être symbolisée par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait. L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Mutai *et al.*, (2009). Ils ont classé les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 5 classes :
 - **Très fortement inhibitrice** : D 30 mm.
 - **Fortement inhibitrice** : 21 mm D 29 mm.
 - **Modérément inhibitrice** : 16 mm D 20 mm.
 - **Légèrement inhibitrice** : 11 mm D 16 mm.

- **Non inhibitrice** : $D < 10$ mm.

III. 3. 14. Elaboration des pommades

Cinq formulations de pommades ont été préparées à base des saponines et de la poudre de feuilles de *P. odorea* et d'autres excipients toute en appliquant le plan de mélanges (tableau V). Ces pommades sont préparées au laboratoire physico-chimique d'UMMTO.

Nous avons opté pour l'utilisation de la vaseline en grande proportion comme excipient des pommades.

En effet, la vaseline a comme rôle la fixation des principes actifs. De plus, la lanoline a été également utilisée, car elle favorise l'absorption des principes actifs en les véhiculant jusqu'au sang (circulation sanguine).

Tableau V : Composition des formulations de pommades élaborées.

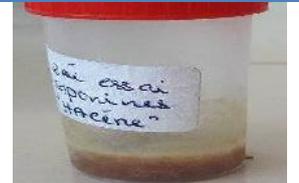
	F1	F2	F3	F4	F5
Lanoline(g)	9	9	9	9	9
Poudre de <i>P. odorea</i> (g)	0	0.5	0	0	1
Infusé de <i>P. odorea</i> (g) à 4%	1	0	0.5	0	0
Saponines issues de fruit(g)	0	0.5	0.5	1	0
Vaseline(g)	20	20	20	20	20
Huile d'amande douce (ml)	1	1	1	1	1

Dans un mortier, faire liquéfier les quantités de vaseline et de lanoline sur la plaque chauffante. Puis laisser refroidir.

Si les constituants sous forme de poudre, il faut la pulvériser et finement et les tamiser. (C'est le cas de notre plante).

On ajoute au mélange préparé les quantités d'huile d'amande douce et des saponines. A l'aide du pilon on triture le tout, on arrive à avoir un mélange homogène. Mettre les pommades dans des récipients hermétiques et les conserver dans un endroit frais. Les rôles des composants utilisés sont représentés dans le tableau VI.

Tableau VI : Composants de la pommade.

Composants	Rôles	Aspect
Vaseline	Une substance grasse a un rôle hydratant et isolant à la fois. Elle s'utilise beaucoup pour atténuer les cicatrices et contres les brulures.	
Lanoline	Une substance a des propriétés apaisantes et réparatrices, émoullientes et hydratantes, elle protège la peau en formant un film protecteur sur celle-ci.	
Huile d'amande	Un très bon anti-inflammatoire naturel. Apaise les douleurs.	
Saponine de <i>F.microcarpa</i>	Facilite la pénétration des substances au niveau de la peau. Agent moussant	
Infusé de <i>Pulicaria odorea</i>	Richesse en tanins. Durcissement des plaies	

Les pommades préparées subissent des analyses physico-chimiques (pH, viscosité, teneurs en polyphénols et en flavonoïdes).

III.3.14.1. Mesure du pH

Déterminer le pH d'une solution de la pommade diluée au 10^{ème} (1g de pommade dans 10 ml d'eau distillée chaude) à l'aide d'un pH mètre.

III.3.14.2. Mesure de la viscosité

La méthode utilisée dans notre étude est basée sur la mesure des forces de cisaillement. Elle permet de mesurer la viscosité dynamique exprimée en Pascal-seconde. L'appareil utilisé est un viscosimètre de marque (AR 2000) réglé au système flew à géométrie 4 min 2° et à une température de 24°C. Cette analyse a été réalisée au niveau de laboratoire de Rhéologie de l'Université de Boumerdès.

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes a été réalisé en appliquant les mêmes protocoles adoptés pour l'analyse de fruit étudié.

III.3.15. Test de l'activité cicatrisante des pommades élaborées sur des lapins (étude in-vivo).

Cette étude a été réalisée au niveau de laboratoire de production de vaccins à l'Institut Pasteur d'Alger durant la période 01/07/2017 au 31/07/2017.

Ces tests ont été réalisés sur 10 lapins Néo-Zélandais adultes, (5 mâles et 5 femelles), pesant entre 1.330 et 2.200 Kg au début de l'expérimentation, issus d'une animalerie privée située à l'institut Pasteur de Kouba d'Alger.

Les animaux ont été gardés dans des cages individuelles dans un environnement standardisé à une température ambiante de 20°C et un cycle de lumière de 12h lumière-obscurité. L'aliment « *ad libitum* » et l'eau ont été fournis quotidiennement. La literie a été renouvelée chaque semaine.

Comme pommade de référence nous avons utilisé une crème commerciale Madécassol à base d'Hydrocotyle (1%). Cette pommade est utilisée comme soin complémentaire des peaux abimées par des agressions extérieures : plaies, écorchures, brûlures ou par des traitements physiques (laser, radiothérapie).

III.3.15.2. Protocole expérimental

L'expérience a été réalisée conformément à la technique décrite par Hamdi-Pacha et *al.*, (2002).

Initialement, les lapins ont été désinfectés par de l'alcool. Sur le dos de chaque lapin deux cercles ont été épilés avec un rasoir, ensuite les deux zones ont été anesthésiées localement par l'éther de pétrole (Figure 12).



Figure 12 : L'épilation de deux cercles sur le dos des lapins et leur anesthésie.

Après cela, deux brûlures circulaires (Figure 13) ont été faites sur le dos de chaque lapin à l'aide d'un cylindre métallique (2 cm de diamètre) préalablement immergé dans l'eau bouillante pendant 3 minutes (100°C) et sur place séché et déposé sur la peau du lapin pendant 15 secondes sans exercer aucune force, les autres brûlures ont été réalisées de la même façon. En ce qui concerne, le témoin positif est brûlé et laissé sans traitement.

Immédiatement, après la réalisation des brûlures (Figure 13), les pommades à tester ont été appliquées sur les plaies comme suit :

- Plaie vers la tête du lapin : a été traitée par madécassol.
- Plaie vers les pieds : a été couverte par l'une des formules préparées.

Tous les produits ont été appliqués par voie topique une fois par deux jours jusqu'à ce que l'épithélialisation complète ait lieu, puis le diamètre des plaies a été pris par une règle ; cette dernière a été utilisée pour calculer les diamètres moyens des plaies en cm. Le diamètre de la contraction de la plaie a été mesuré chaque 4 jour.



Figure 13 : Brûlure circulaire développée le premier jour de l'expérience.

VI.1. Paramètres morphologiques de fruit

Quelques paramètres morphologiques du fruit étudié sont déterminés aux différents stades de maturité et sont présentés dans le tableau VII et les figures 14 et 15.

Tableau VII : Paramètres morphologiques de fruit *Ficus microcarpa*.

Paramètres morphologiques	Résultats
Type de fruit	Akène
Taille	Petite
Couleur	Blanche, Vert, orange, orange violacé, violet foncé
Forme	Arrondie
Odeur	Agréable
Texture	Lisse, brillante
Pelure	Fine, violet foncé
Pulpe	Epaisse, marron

Le fruit *Ficus microcarpa* est un fruit de petite taille. Il se caractérise par une forme plus ou moins arrondie, d'odeur caractéristique, forte et agréable. La pulpe est composée d'akènes.

Si on compare entre ce fruit et celui de *Ficus carica*, on conclut que, les deux fruits possèdent des différences au niveau de la taille, la texture, la couleur de la chair.



Figure 14 : Aspect de fruit *Ficus microcarpa* au stade final de maturité.

A) Fruit entier, **B)** la pulpe (akènes).

La couleur de fruit change selon les différents stades de maturité (Figure 15). Il peut avoir les couleurs suivantes : blanche, vert, orange, orange violacé et en fin de maturité violet foncé. À l'état sec, le fruit devient de couleur marron.



Figure 15 : Aspect des fruits *Ficus microcarpa* aux différents stades de maturité.

VI.2. Paramètres physiques de fruit

Les paramètres physiques estimés sur 100 pièces de fruit sont regroupés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Valeurs moyennes de quelques paramètres physiques de fruits de *Ficus microcarpa* et *Ficus carica*.

Paramètres physiques	Fruit de <i>Ficus microcarpa</i> (n=100)	Fruit de <i>Ficus carica</i> (Bachi, 2012)
Poids (g)	1,477 ± 0,01	35,6±49,66
Longueur (mm)	11,979 ± 0,20	43,35±48,21
Diamètre (mm)	0,1169± 0,05	4,99±4,48

Les résultats mentionnés dans de ce tableau montrent que, les deux variétés de figue diffèrent morphologiquement l'une à l'autre. Ces deux espèces présentent une qualité physique acceptable. On peut déduire que, le poids et la longueur et le diamètre de l'espèce *F.carica* sont supérieurs à ceux de *F.microcarpa*.

IV.3. Paramètres physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques de fruit *F.microcarpa* sont résumées dans le tableau IX.

Tableau IX : Valeurs moyennes de quelques paramètres physico-chimiques de fruits *F. microcarpa* et *Ficus carica*.

Caractéristiques			Teneurs moyenne	
			Fruit de <i>Ficus microcarpa</i>	Fruit de <i>Ficus carica</i> (Goudjil et Hamai, 2017)
<i>pH</i>			6,32±0,007	5,9
<i>Acidité titrable (%)</i>			2,625±0,001	/
<i>Teneur en eau (%)</i>			57±0,350	40
<i>Teneur en cendres (%)</i>			99,99±0,0007	4
<i>Sucres (g/l)</i>	<i>Sucres totaux</i>		8,016±0,001	3
	<i>Taux de saccharose</i>		5,56±0,014	2.62
	<i>Sucres réducteurs</i>		2,16±0,591	0.24
<i>Acide ascorbique (mg/l)</i>			0,022±0,003	/
<i>Matière grasse (%)</i>			11,421	/
<i>Matière organique (%)</i>			0,009874±0,006	/
<i>Rendement des saponines (%)</i>			27	/
<i>Polyphénols (mg EAG/g MS)</i>	<i>Fruit frais.</i>	<i>Extrait aqueux</i>	0,0049±0,0001	3,51±0,026
		<i>Extrait éthanolique</i>	0,0050±0,0007	
	<i>Poudre</i>	<i>Extrait aqueux</i>	0,0094±0,0002	
		<i>Extrait éthanolique</i>	0,011±0,013	
<i>Flavonoïdes (µg Quercetine /mg d'extrait sec)</i>	<i>Fruit frais.</i>	<i>Extrait aqueux</i>	0,019±0,013	5,37±0,007
		<i>Extrait éthanolique</i>	0,024±0,001	
	<i>Poudre</i>	<i>Extrait aqueux</i>	0,033±0,001	
		<i>Extrait éthanolique</i>	0,087±0,002	

Nous constatons que, la teneur en eau de *F.microcarpa* est de l'ordre de 57% qui est proche à celle trouvée chez *F.carica*. On note que cette teneur d'eau est étroitement liée à l'humidité du milieu extérieur, de ce fait ces valeurs varient d'une région à une autre et même d'un microclimat à un autre.

Du point de vue composition chimique, la valeur obtenue en cendres est plus élevée à celle de *F.carica*, ceci confirme la richesse de *F.microcarpa* en substances biologiques et en minéraux. Cette différence peut être expliquée en partie par les conditions de fertilisation et d'irrigation pour chaque figuier.

En effet, la valeur de pH est légèrement supérieure à celle trouvée chez *F.carica*, cette valeur peut varier en fonction des changements climatiques qui influencent considérablement sur les propriétés physico-chimiques du fruit.

En ce qui concerne les sucres, l'espèce *F.microcarpa* est riche en sucres totaux (8.016 g/l) avec une quantité moyenne des sucres réducteurs (2.16 g/l) par rapport à l'espèce *F.carica*.

Une faible acidité est constatée, qui peut s'expliquer par la teneur en composés acides se trouvant en faible quantité ou bien l'effet de stockage (fruit a subi des réactions biochimiques d'oxydoréduction).

Nous remarquons que, le fruit à l'état sec est plus riche en polyphénols qu'à l'état frais. En comparant les résultats obtenus à ceux des figes sèches qui présentent une teneur plus élevée ($3,51 \pm 0,026$ mg EAG/g MS). En effet, un meilleur rendement en polyphénols est obtenu dans le cas d'utilisation d'éthanol comme solvant d'extraction.

En outre, la variation dans le taux de polyphénols peut s'expliquer par divers facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (Podsdek, 2007). Selon Jakopic *et al.*, (2009), l'efficacité d'extraction de ces composés dépend du type de solvant. Ces auteurs ont montré que, les meilleurs taux en polyphénols ont été obtenus en utilisant le méthanol, l'éthanol et leurs mélanges appropriés avec l'eau. Ainsi, les méthodes de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur en ces premiers (Lee *et al.*, 2003).

En ce qui concerne, les résultats du dosage des flavonoïdes révèlent des teneurs importantes caractérisant les deux extraits (aqueux et éthanolique) préparés à base de fruit sec. En comparant nos résultats à ceux déclarés par Goudjil et Hamai (2017) que, les figes sèches

présentent une teneur plus élevée ($5,37 \pm 0,007 \mu\text{g}$ Quercetine /mg d'extrait sec) à celle de *Ficus microcarpa*. Les mêmes auteurs ont constaté qu'un meilleur rendement en flavonoïdes a été obtenu en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction.

Cependant, le fruit frais possède une teneur faible en flavonoïdes. A travers les résultats obtenus, il est nécessaire de faire sécher rapidement ce fruit, afin d'éviter les différentes altérations, fermentation et la perte en ses principes actifs (Albitar, 2010).

Cette différence dans les taux de flavonoïdes peut être expliquée par les agressions environnementales que la plante peut subir (séchage) (Yang *et al.*, 2008). Selon Seidel, (2005), le méthanol et l'eau sont beaucoup plus appropriés pour extraire les flavonoïdes glycosylés et les tannins d'*Opilia celtidifolia*.

Il est important de signaler qu'aucun auteur n'a été rapporté le résultat du dosage des flavonoïdes et polyphénols sur *F.microcarpa* afin de comparer nos résultats.

IV.4. Composition minérale

Les résultats d'analyse de la composition minérale de la poudre de *F.microcarpa* sont présentés dans le tableau X.

Tableau X: Composition minérale de fruit *F.microcarpa* (mg/kg MS).

Composants minéraux	Valeurs (mg/kg MS)
Fe	956,982
Zn	240,8281
Cu	170,007
Na	22088,34
K	211487
Cd	0,789
Mn	157,495
Cr	0,557
Pb	53,57
Mg	27572,53
Ca	124294,4

Nous constatons que, le fruit renferme des teneurs élevées en potassium et en calcium. Néanmoins, les autres minéraux tels que : le magnésium, le sodium, le manganèse, le fer, le cuivre et le zinc se trouvent en trace. Du point de vue toxicité, le fruit en question possède des teneurs négligeables en métaux lourds (le plomb, le cadmium, le chrome).

En effet, la richesse en minéraux peut s'expliquer par les conditions de culture (climat humide et même le type de sol).

Conséquemment, le potassium que constitue notre fruit joue un rôle important dans circulation sanguine et la contraction musculaire. Il collabore avec le sodium pour maintenir l'équilibre acido-basique des corps et des fluides (anonyme 5).

De ce fait, *F.microcarpa* peut être utilisé pour remédier les carences en minéraux surtout la population qui souffre notamment en fer (anémie) et ce dans les pays sous développés.

IV.5. Profil d'acides gras

Le profil d'acides gras de notre fruit est présenté dans la figure 16.

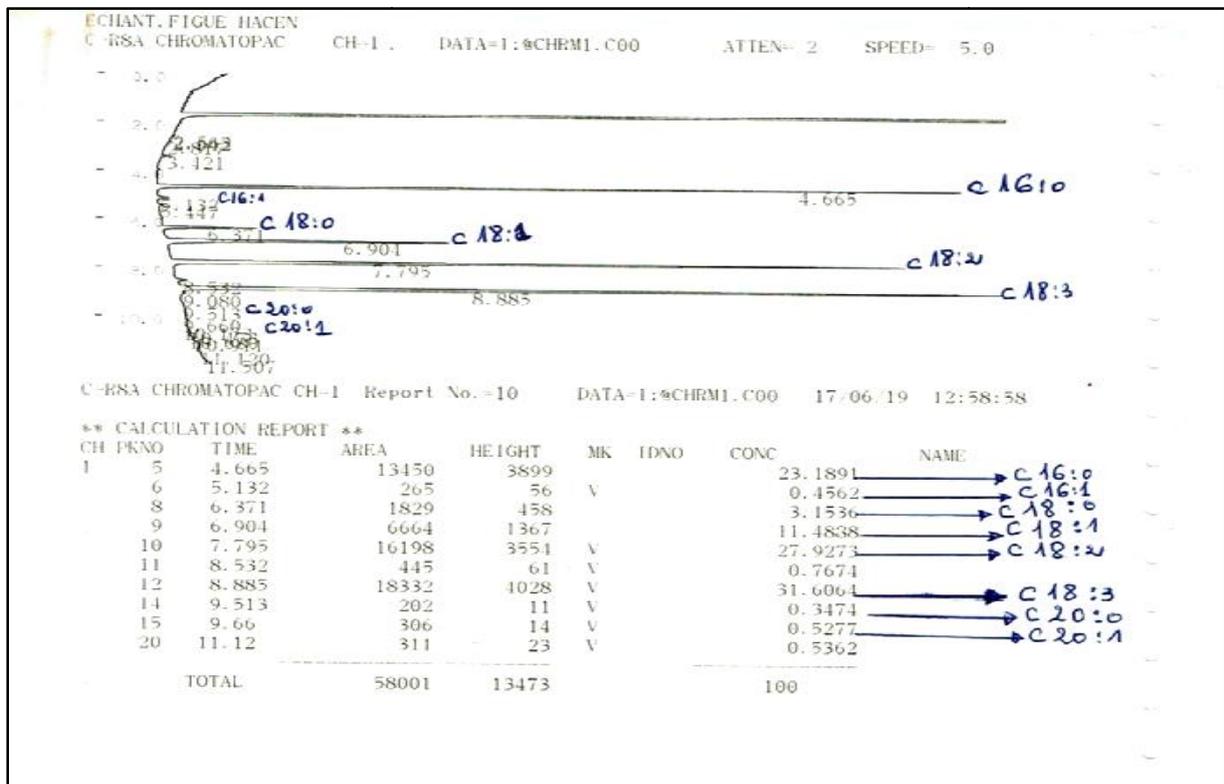


Figure 16 : Profil d'acide gras d'extrait de fruit *F.microcarpa*.

D'après cette figure nous constatons que, le fruit analysé possède huit acides gras à différents pourcentages.

Nous pouvons déduire de cela que, cette espèce possède des acides gras essentiels citant : l'acide linoléique (31.60 %), l'acide linoléique (27.92%), l'acide palmitique (23.18 %), l'acide oléique (11.48 %) et l'acide stéarique (3.15 %). Elle contient aussi d'autres acides gras en trace.

Il est à signaler que, ce fruit est riche en acides gras polyinsaturés, les oméga 3 et oméga 6, qui sont essentiels à l'organisme humain, qu'ils ne sont pas synthétisés par l'organisme, ils doivent être apportés par l'alimentation (anonyme 6).

Ces deux acides gras jouent un rôle structurel et fonctionnel car ils rentrent dans la composition des membranes cellulaires d'une part et ils sont nécessaires à la synthèse de nombreuses substances impliquées dans la coagulation, l'inflammation, l'immunité et le métabolisme d'autre part (anonyme 7).

Il est aussi rapporté que, la concentration en acide linoléique est supérieure à celle estimée dans l'huile de colza (21%) et l'huile d'olive (7.5%) (anonyme 6), mais inférieure à ceux trouvées dans l'huile de soja (51%), l'huile de tournesol (40%) et l'huile de maïs (58%) (Cuvelier *et al.*, 2004).

De même, l'acide linoléique constitue plusieurs produits tels que : les graines, l'huile de lin, les noix et certains types de poissons gras vivant en eaux froides ; le saumon, le hareng, le maquereau, les anchois et les sardines (anonyme 6).

Le fruit possède aussi l'acide oléique oméga 9 qui est un acide gras mono insaturé participe à la prévention des maladies cardiovasculaires (anonyme 8). Cet acide gras est abondant dans l'huile d'olive avec des teneurs variables 65 % à 85% (Cuvelier *et al.*, 2004).

L'acide palmitique qui est un acide gras saturé. Cet acide gras est le plus abondant des acides gras alimentaires trouvés dans les produits d'origines animale et végétale. Et largement utilisé dans les produits transformés (anonyme 6). Selon Cuvelier *et al.*, (2004), l'huile de palme contient une quantité majoritaire de 40 %.

De ce fait, la concentration en acide palmitique dans ce fruit est comparable à celle estimée dans le suif (Cuvelier *et al.*, 2004).

IV.6. Analyse des groupements fonctionnels (Infra-rouge)

Les résultats d'analyses des groupements fonctionnels de fruit entier et ses saponines extraites sont présentés dans les figures 17 et 18 respectivement.

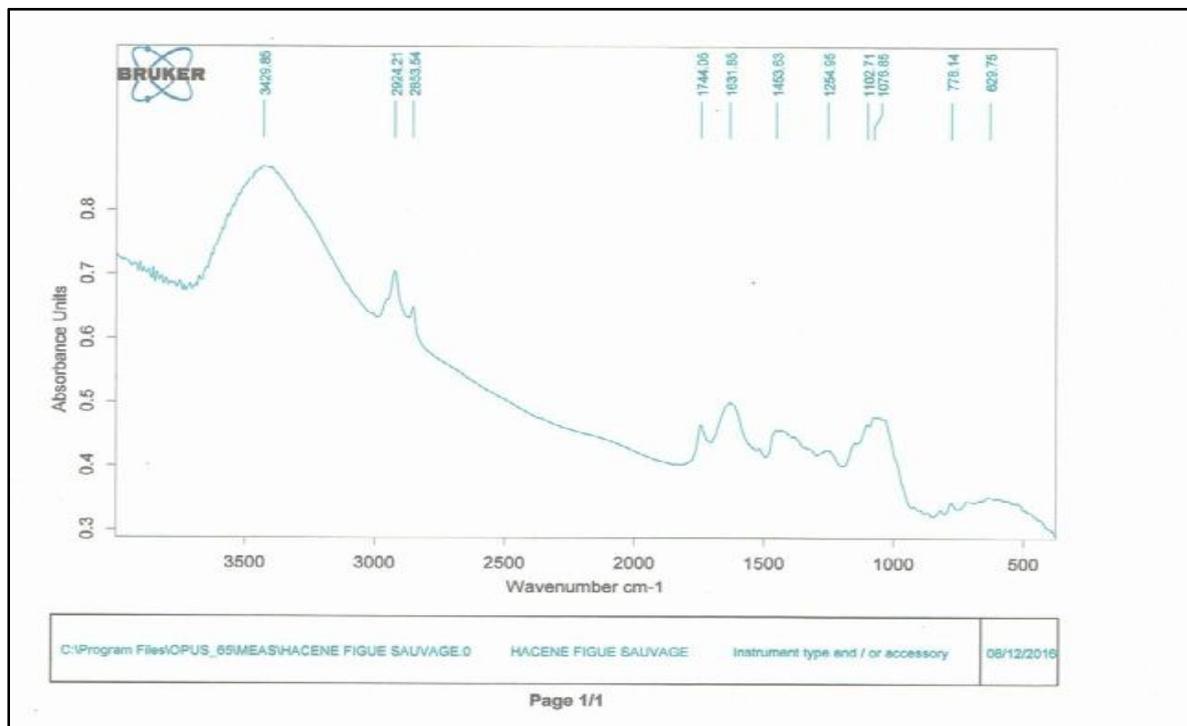


Figure 17 : Spectre d'infra rouge de fruit *F.microcarpa*.

Ces résultats révèlent que, le fruit est composé de plusieurs groupements fonctionnels tels que les amino-carboxyliques, les hydroxyles et les alcools, les phénols, les alcanes et des liaisons C-H fixées sur le groupement CH₂, des liaisons C-N liées aux amines aromatiques et des liaisons C=O liées aux aldéhydes aliphatiques. En outre, il possède des liaisons C-O soient liées aux acides ou bien aux éthers ou encore aux alcools primaires et aux alcools secondaires et enfin quatre bandes de C=C liées aux composées aromatiques et deux bandes de C-O liées aux ester ont été détectées.

Le spectre montre une bande d'absorption forte et large de 3429cm⁻¹ caractéristique à la liaison O-H.

Une bande caractéristique à 2853 cm⁻¹ est attribuée à la structure aldéhyde avec une intensité moyenne.

Le spectre indique aussi la présence d'une bande localisée à 1744 cm⁻¹ attribuée aux groupements anhydride.

La bande d'absorptions située à 1631 cm^{-1} est attribuée à la présence d'une moyenne intensité. En outre, une bande d'absorption à 1254 cm^{-1} et 1453 cm^{-1} attribuée aux esters. Une différence dans l'intensité des pics a été constatée.

L'analyse de l'infra rouge révèle l'apparition d'une autre bande d'adsorption à 1102 cm^{-1} et à 1076 cm^{-1} ce qui explique la faible concentration des groupements C-O dans cette espèce.

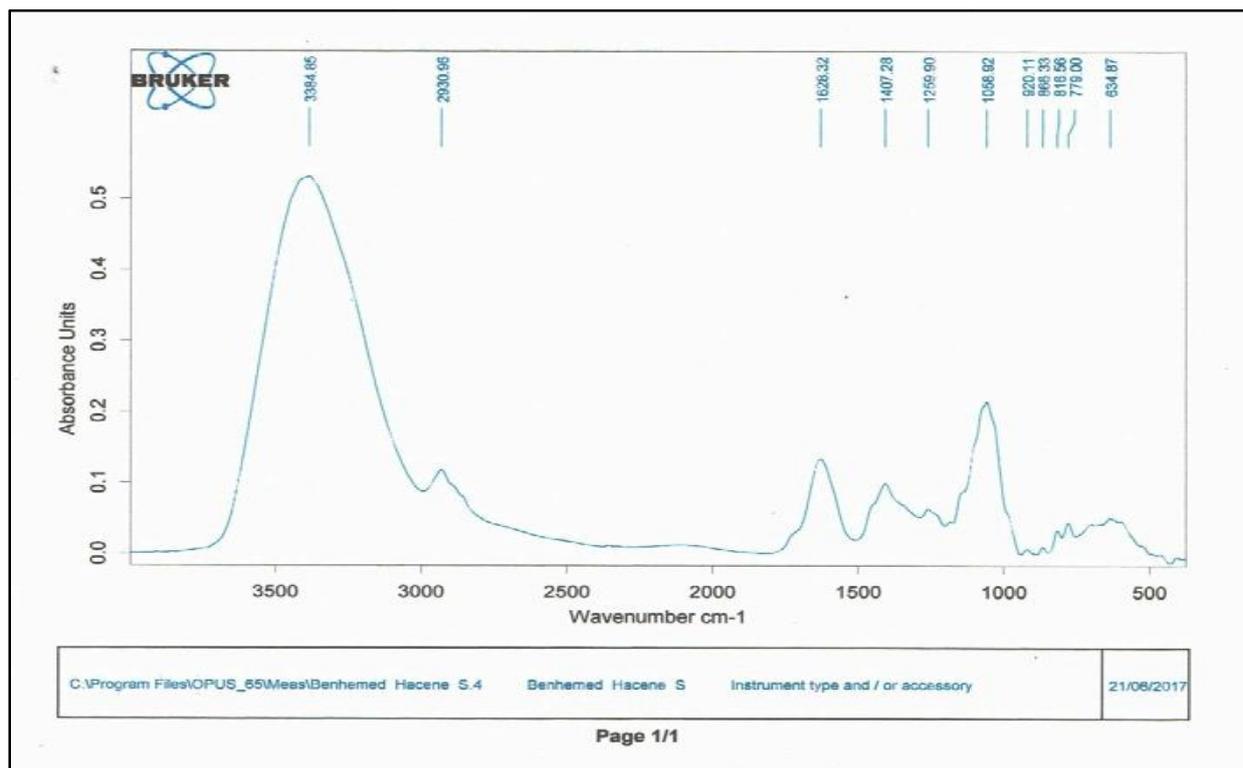


Figure 18 : Spectre d'infrarouge des saponines de fruit *F. microcarpa*.

Le spectre (figure 18) révèle la présence de plusieurs composés qui rentre dans la composition des saponines tels qu'alcools, phénols, alcanes, alcènes, et aussi la présence d'autres composés confirment le non pureté des saponines obtenus.

A 3385 cm^{-1} , la liaison O-H associé à des groupements alcools et phénols ont une vibration d'élongation forte et large.

A 2930 cm^{-1} les liaisons C-H des groupements CH_2 (alcanes), ont une vibration d'élongation asymétrique forte.

A 1628 cm^{-1} une élongation moyenne des liaisons C=C des groupements alcènes. Par contre, à 1407 cm^{-1} les groupements aromatiques ont des vibrations d'élongation de quatre bandes variables des liaisons C=C.

A 1260 cm^{-1} les liaisons C-O des groupements acides ont des vibrations d'élongation fortes. Les alcools primaires avec leurs liaisons C-O, ont des vibrations d'élongation variables à 1059 cm^{-1} . Enfin à 780 cm^{-1} il ya une déformation du groupement CH-CH.

Des études scientifiques faites sur les saponines montrent que, cette classe de molécules possède des propriétés biologiques et pharmacologiques diverses, dont des activités anti-inflammatoires, antifongiques (Barile *et al.*, 2007), antimicrobiennes, antiparasitaires, antivirales (Hostettmann et Marston 1995), cytotoxiques, antitumorales (Wang *et al.*, 2007), immunostimulantes et immunomodulatrices.

IV.7. Screening chimique

L'analyse phytochimique de fruit est une étape préliminaire et d'une grande importance. Puisqu'elle révèle la présence des constituants bioactifs responsables des vertus thérapeutiques. Le tableau XI donne ci-dessous montre la présence ou l'absence des composés recherchés par des réactions chimiques.

Tableau XI : Résultats des tests phytochimiques effectués sur la poudre de *F.microcarpa*.

(+ : présence, - : absence).

Composés chimiques	Résultats	Composés chimiques	Résultats
Anthocyanes	+	Quinones combinés	+
Leuco anthocyane	+	Saponosides	+
Tanins	+	Alcaloïdes	+
Tanins galliques	+	Sennosides	+
Flavonoïdes	+	Glucosides	+
Quinones libres	-	Coumarines	+

Les résultats d'analyse phytochimique montre que, le fruit *Ficus microcarpa* est composé de plusieurs métabolites secondaires à savoir : les anthocyanes, les leuco anthocyanes, les tanins, les tanins galliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les sennosides, les glucosides, les coumarines, les quinones combinés, et les saponosides. Cependant, les

quinones libres sont absentes. La quantité de chaque composé est estimée par la couleur illustrée dans le tableau en Annexe 4.

Il est connu que, les polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les tanins sont des substances peuvent jouer un rôle protecteur contre les agressions extérieures et les maladies.

Notons que, le fruit étudié est riche en hétérosides cela explique la présence d'une substance visqueuse constatée sur la chaire de fruit lors de sa récolte. Quant aux coumarines identifiées sont responsables de l'odeur caractéristique de fruit et les anthocyanes qui contribuent à la couleur marron orange de celui-ci.

Ces tests phytochimiques dont la précision reste limitée, ne nous renseigne pas sur la structure d'une molécule bien déterminée. Néanmoins, ils permettent de détecter la présence ou l'absence de telle ou telle famille chimique.

IV.8. Etude microbiologique

IV. 8.1 Qualité microbiologique

Les résultats des analyses microbiologiques de fruit *Ficus microcarpa* sont présentés dans le tableau XII dont les valeurs indiquées sont les moyennes de 3 mesures.

Tableau XII : Nombre de germes analysés.

Germes recherchés	Nombre de colonies (UFC /g)	Critère MP/MDD LS FCD
Flore aérobie mésophile totale	$6.18 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$
Levures et moisissures	$82.5 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^3$
Coliformes totaux	$50 \cdot 10^3$	10

A partir de ce tableau, on peut retirer les constatations suivantes sur la qualité microbiologique de fruit *Ficus microcarpa* :

Le nombre de la flore aérobie mésophile totale est supérieur à la norme, cela nous confirme aussi la charge importante des levures et des moisissures dépassant la norme. Ce développement est lié aux conditions de stockage (l'humidité, l'air, la poussière).

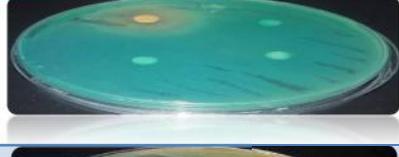
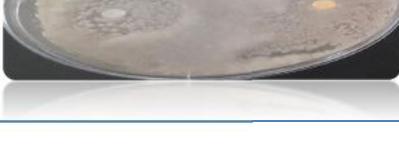
Du point de vue contamination, le fruit a subi une contamination fécale par les coliformes. Selon la norme utilisée nous pouvons conclure que, le fruit est de qualité microbiologique non satisfaisante.

IV.8.2 Test de l'activité antimicrobienne

Selon la bibliographie disponible, il n'existe pas de travaux déjà réalisés sur l'activité antimicrobienne de fruit *Ficus microcarpa*. Les diamètres d'halo d'inhibition des souches testées (mesurés en mm) obtenus par la moyenne de trois répétitions sont représentés dans le tableau XIII. La sensibilité de chaque bactérie testée aux différents antibiotiques est représentée dans l'annexe 6.

Tableau XIII: Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits de *F.microcarpa* (n=3).

Extraits	Souches	Diamètres moyenne (mm)	Figures représentatives
Extrait aqueux 4g/10ml	<i>Escherichia coli</i>	ATB= 23 Ø = 22	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATB= 20 Ø = 20,6	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATB= 41 Ø = 28,3	
	<i>Aspergillus niger</i>	ATF= 17 Ø = 20	
Extrait éthanolique 4g/10ml	<i>Escherichia coli</i>	ATB= 25 Ø = 24	

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATB= 26 Ø = 21,6	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATB= 40 Ø = 15	
	<i>Aspergillus niger</i>	ATF= 18 Ø = 21,6	
Saponines	<i>Escherichia coli</i>	ATB= 22 Ø = 17,6	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATB= 29 Ø = 24,6	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATB= 38 Ø = 18,3	
	<i>Aspergillus niger</i>	ATF= 17 Ø = 20	

Ø: Diamètre d'inhibition moyen (mm).

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux, éthanolique et des saponines de *Ficus microcarpa* vis-à-vis des différentes souches (une à gram + et deux autres à gram -) et une moisissure, par la méthode de diffusion sur un milieu gélosé.

L'examen des différentes boîtes de Pétri a révélé la présence d'halo d'inhibition autour des disques imbibés par les différents extraits (aqueux et éthanolique), les saponines ainsi pour le antibiotique et ce pour les diverses souches testées.

D'après les résultats de tableau XIII, le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'un microorganisme à un autre et d'un extrait à un autre. Ainsi, les bactéries testées sont fortement inhibées par les différents extraits testés comparé à la moisissure qui est modérément inhibée.

Les saponines ont une action inhibitrice très forte vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et moins inhibitrice vis-à-vis en comparant avec les deux autres souches.

Tandis que, l'antibiotique érythromycine est révélé très actifs vis-à-vis les différentes souches bactériennes avec des diamètres d'inhibition variant de 20 mm à 40 mm et que, l'antifongique fungizone est révélé modérément actif contre la moisissure.

Pseudomonas aeruginosa présente une sensibilité aux extraits mais moins que celle remarquée par rapport à l'antibiotique. De même, on remarque que, la sensibilité de cette souche augmente avec l'augmentation de concentrations des extraits.

Vu que, tous les extraits testés présentent des zones d'inhibition supérieures à 12 mm, ces extraits possèdent une action bactériostatique vis-à vis les souches examinées (Sagdaç, 2003).

IV.9. Caractérisation des pommades

➤ *Analyses des différentes formules*

L'aspect des cinq formules de pommade est représenté dans le tableau ci-dessous. Ainsi leurs valeurs de pH, polyphénols et de flavonoïdes.

Tableau XIV : Caractérisation des pommades.

Pommades préparées					
Formules	F1	F2	F3	F4	F5
pH	9,5±0,1	8,9±0,1	8±0,1	8,5±0,1	7,5±0,1
Teneur en polyphénols (mg EAG/g MS)	0,00019	0,00020	0,00022	0,00023	0,00021
Teneur en flavonoïdes (µg Quercetine/mg d'extrait sec)	0,015±0.002	0,018±0.002	0,016±0.002	0,017±0.002	0,019±0.002

Selon les photos présentées dans le Tableau XIV, on déduit que toutes les pommades présentent des textures variables. Citant, les formules F1 et F4 présentent une couleur jaune claire homogène comparée à celle de la formule F3 présente une couleur jaune foncé dont les saponines sont conjugués avec l'infusé de la plante *P.odorea*. Les formules F2 et F5 apparaissent granuleuses non homogènes. Cet aspect est lié à la présence de la poudre des feuilles de *P.odorea*. De point de vue odeur, toutes les formules prennent l'odeur de lanoline.

Les résultats de ce tableau montrent que, les formules F1, F2, F3, F4 se caractérisent par un pH basique. Cependant, la formule F5 a un pH neutre. La mesure de pH nous a permis de savoir lesquelles des pommades peuvent induire des irritations de la peau. Notons que le pH de la peau est de l'ordre de 5,5.

Nous remarquons aussi que, Toutes les formulations possèdent presque la même teneur en polyphénols. Notant que, F4 se caractérise par la valeur la plus élevée en polyphénols (0,00023 mg EAG/gMS), cela est du à la non purification de nos saponines.

La variabilité des teneurs en polyphénols est liée à plusieurs facteurs signalant la composition phénoliques des extraits utilisés (Hayouni *et al.*, 2007), les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques), la nature du sol et le type du microclimat et aussi les étages bioclimatiques où poussent ces plantes (Atmani *et al.*, 2009).

Tandis que, toutes les pommades analysées sont riches en flavonoïdes sauf la pommade F1 présente une teneur en flavonoïdes inférieure à 0,015mg EQ/g MF.

Nous pouvons dire que cette différence trouverait d'une part, une explication dans la méthode d'extraction et d'autre part, le dosage du réactif de Folin-Ciocalteu, aux facteurs biogénétiques et environnementaux et au type de spectrophotomètre utilisé.

➤ *Mesure de la viscosité*

Les résultats de viscosité des différentes pommades sont présentés dans les figures 19 et 20.

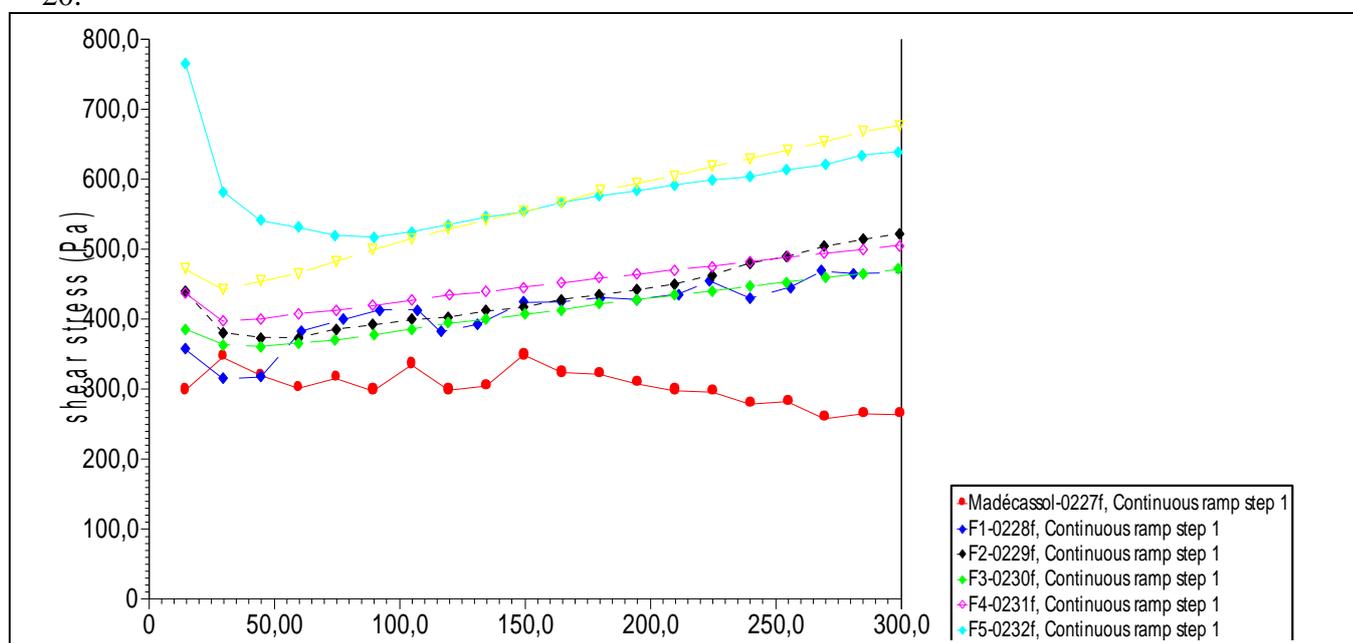


Figure 19 : Rhéogramme représentant la contrainte de cisaillement en fonction de taux de cisaillement.

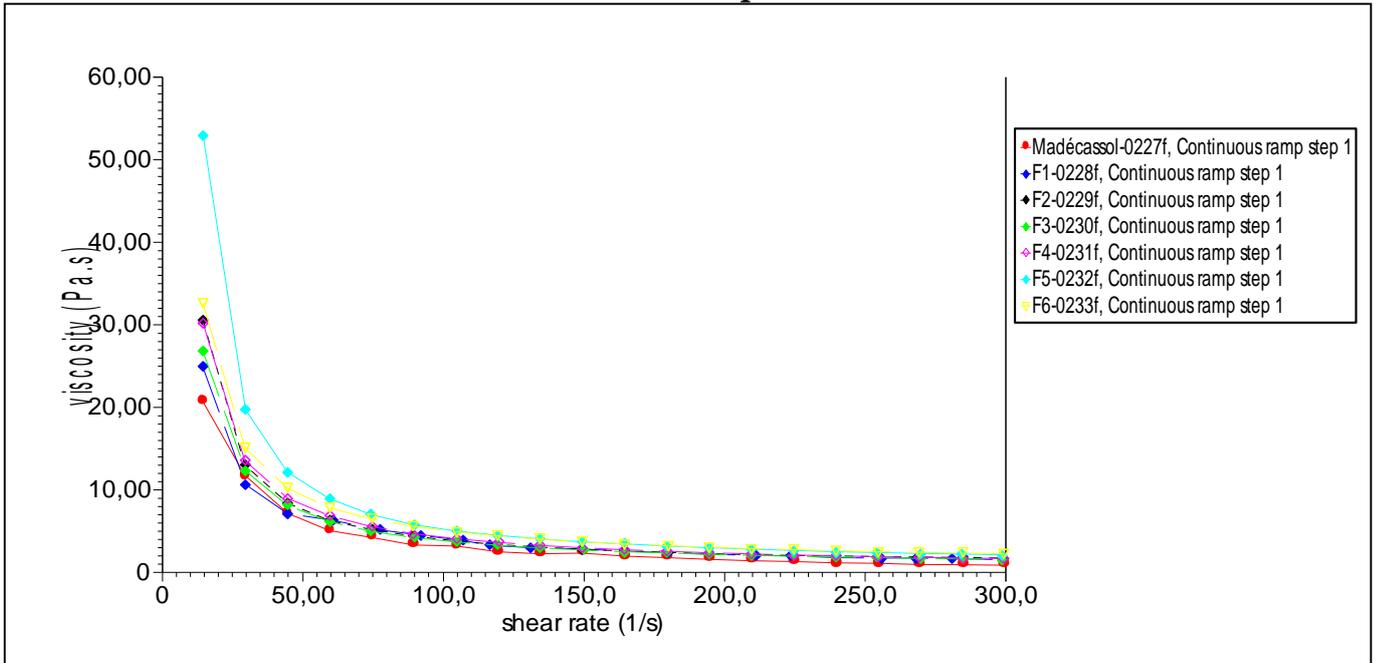


Figure 20 : Viscosité des pommades en fonction de taux de cisaillement.

La rhéologie est la science des écoulements de la matière. La mesure de la viscosité d'un fluide en fait partie. Le graphe indiquant la viscosité en fonction du taux de cisaillement montre que, les pommades élaborées sont de type rhéo-fluidifiant car leurs viscosités diminuent lorsque le taux de cisaillement augmente (Figure 20). C'est le cas des bonnes pommades qui sont fluides à l'étalement mais plus visqueuse au toucher, évitant ainsi les coulures. Les molécules, sous l'effet de la vitesse de cisaillement ont tendance à s'aligner progressivement le long des couches ce qui favorise un glissement relatif.

D'après les résultats de la contrainte de cisaillement (Figure 19), on voit que, la pommade F5 nécessite une force de contrainte plus élevée pour avoir un bon écoulement en comparaison aux autres formulations élaborées et la pommade de référence (Madécassol).

En effet, la force de cisaillement appliquée à la pommade F5 est plus grande car cette dernière contient de la poudre de la plante *P. odorea* et ses granules constituent des contraintes en augmentant la viscosité.

Les résultats de la Figure 20 montrent que, plus le taux de cisaillement est fort plus la viscosité est faible, et aussi le point de départ de l'écoulement est différent car les pommades possèdent des viscosités différentes. Ainsi, la viscosité de la pommade de référence Madécassol est légèrement faible par rapport à celles des pommades préparées donc, on peut dire que, ces pommades présentent presque la même viscosité.

On remarque aussi que, le point de départ de la viscosité se diffère entre les pommades cela est dû à la dureté des pommades qui n'est pas la même.

Nous pouvons déduire des deux Figures 19 et 20, plus que la contrainte est grande plus que la viscosité diminue et la pommade devient souple et absorbable facilement par la peau. Donc on peut dire que, d'un point de vue rhéologique ces pommades préparées présentent des bons paramètres d'écoulement.

IV.10. Tests de l'activité cicatrisante des pommades élaborées sur des lapins (étude in-vivo).

➤ **Evaluation de l'effet cicatrisant**

Les lapins testés ont été survécus pendant toute la période de l'expérimentation et ils ont gardés leur bonne santé et aucun lapin n'a été constaté mort.

L'observation de la contraction des surfaces des plaies nous a permis d'évaluer l'efficacité du meilleur mélange de la poudre de la plante *Pulicaria odorea* et les saponines de *Ficus microcarpa* dans la cicatrisation des plaies, comparativement à Madécassol, un médicament de référence, ainsi qu'à d'autres formules restantes.

➤ **Evaluation du poids corporel**

Les résultats de mesure de poids des lapins traités s'évolue de jour 0 au jour 22.

Tableau XV: Pourcentage de changement de poids corporel des lapins.

Pommades	Sexe	Changement de poids (%)		
		J0 - J7	J7 - J14	J14 - J22
F1	m	9,380	5,480	3,680
	f	8,535	4,666	9,986
F2	m	7,933	3,800	5,973
	f	15,330	6,580	2,507
F3	m	3,771	7,819	4,902
	f	0,971	1,580	3,666
F4	m	10,859	7,103	8,755
	f	6,151	4,761	4,155
F5	m	4,681	7,714	3,832
	f	2,262	6,682	7,343
Témoin +	m	14,752	4,591	2,502
Témoin -	f	5,350	9,162	3,741

- **Témoin -** : lapins non brûlés sans aucun traitement.
- **Témoin +** : lapins brûlés sans aucun traitement.
- **m** : male.
- **f**: femelle.

Il ressort du tableau XV que, les lapins traités par les pommades F1, F2 et F4 ont marqué une diminution de poids après brûlures au jour 7 et jour 14, et une augmentation de poids des lapins traités par les pommades F3 et F5 a été enregistrée.

Durant les périodes allant de J7- J14 et J14-J22, le poids des lapins traités par F1 /m, F2/f et F4/f continu à diminuer contrairement aux F1/f, F2/m et F4/m.

Durant les périodes allant de J7- J14 et J14-J22, le poids des lapins traités par F3 /f et F5/f continu à augmenter contrairement aux F3/m et F5/m.

Le poids de témoin + diminue durant toute la période de l'expérimentation. Cela est dû au fait que le lapin n'a reçu aucun traitement. Cette diminution est due au stress.

Le poids de témoin -, lapin sain, non brûlé, augmente durant la période allant de J7- J14 et diminue durant la période J14-J22 de l'expérimentation.

Ce changement de poids se traduit par l'appétit des lapins qui diffère selon le sexe et l'effet de la composition de la pommade appliquée.

Les résultats de l'évolution des diamètres de brûlures traitées en fonction de la contraction de la plaie calculée chaque 7 jour durant une période de 22 jours sont présentés dans le tableau XVI.

Les résultats de ce tableau révèlent que, les diamètres des plaies traitées avec la pommade (F5) à base de la poudre des feuilles de *P.odorea* sans saponines, (F1) à base de retenu des feuilles de *P.odorea* sans saponines, (F4) à base de saponines seules et (F2 et F3) à base du mélange poudre de des feuilles de *P.odorea* et des saponines sont plus grands en comparaison avec les diamètres des plaies traitées par le médicament de référence et ce durant toute la période de traitement (du 7^{ème} au 22^{ème} jour) (Voir Tableau XVI).

Tableau XVI : Evolution des diamètres des plaies des lapins en fonction de la durée de traitement avec les différentes pommades.

Pommades	Lapins	Type de pommade	Contraction de zone de cicatrisation diamètre de cercle (cm)			
			J0	J7	J14	J22
F1	m	Pommade de réf F1	3,00	2,73	1,50	0,30
			3,00	2,40	1,33	0,40
	f	Pommade de réf F1	3,00	2,63	1,36	0,40
			3,00	2,33	1,16	0,40
F2	m	Pommade de réf F2	3,00	2,40	1,06	Sain
			3,00	2,33	Sain	Sain
	f	Pommade de réf F2	3,00	2,66	1,85	0,75
			3,00	2,40	1,75	0,85
F3	m	Pommade de réf F3	3,00	2,50	1,27	0,80
			3,00	2,90	1,40	0,60
	f	Pommade de réf F3	3,00	2,70	2,33	1,73
			3,00	3,00	2,46	2,16
F4	m	Pommade de réf F4	3,00	2,33	1,46	0,30
			3,00	2,23	1,35	0,56
	f	Pommade de réf F4	3,00	2,66	1,45	Sain
			3,00	2,46	Sain	Sain
F5	m	Pommade de réf F5	3,00	2,70	Sain	Sain
			3,00	2,56	1,26	0,40
	f	Pommade de réf F5	3,00	2,53	1,50	0,20
			3,00	2,33	0,90	Sain
Témoin	Témoin (+)	-	3,00	2,30	0,60	Sain
			3,00	2,00	0,40	Sain
	Témoin (-)	-	/	/	/	/

Le processus de guérison suit trois phases :

1. Disparition progressive de l'inflammation (plaies devenaient moins rouges) ;
2. Contraction des plaies (les plaies devenaient dures et se couvraient de croûtes un peu noirâtres);
3. La repousse des poiles.

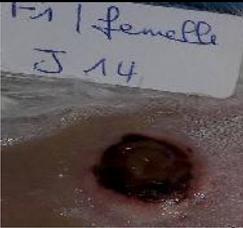
Les constatations que nous avons pu retirer sont les suivantes :

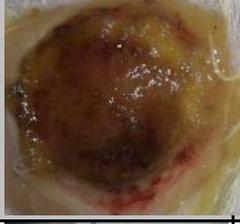
Toutes les pommades élaborées ont un effet cicatrisant (guérison complète des plaies). Seulement la durée de guérison varie d'une formule à une autre.

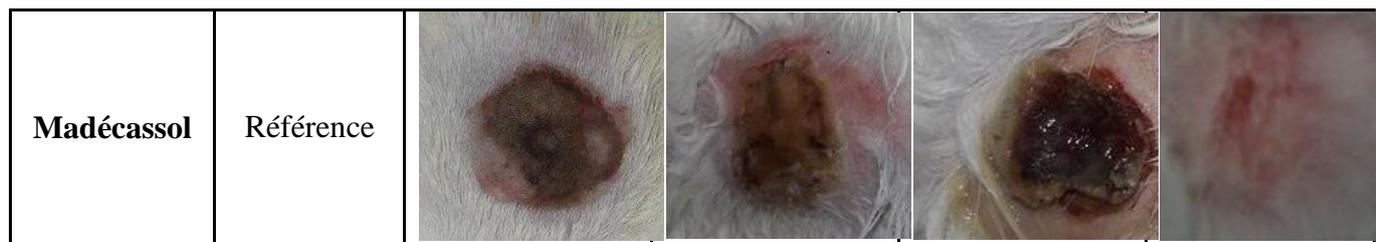
Aucune odeur de putréfaction n'a été constatée toute la durée de traitement des différentes plaies.

Les photos ci-dessous montrent l'aspect des plaies traitées avec les différentes pommades au J0 (création de la plaie), J7 (lorsque la plaie a atteint 50% de rétrécissement) et J22 (repousse des poils). En 22 jours de traitement les pommades à base des saponines F2, F4, et même pour la pommade F5 sans saponines ont entraîné une guérison totale de la plaie cutanée, et la repousse des poils. Par contre, la pommade F3 induit une guérison incomplète a été observée au 22^{ème} jour chez les lapins (femelle) et une guérison totale au 22^{ème} jour pour lapins (male).

Tableau XVII: Chronologie de la cicatrisation des plaies.

Pommades	Lapins	Rétrécissements en fonction de la durée de traitement			
		J0	J7	J14	J22
F1	m				
	f				
F2	m				

	f				
F3	m				
	f				
F4	m				
	f				
F5	m				
	f				



L'objectif principal de ce travail est de déterminer l'activité cicatrisante des pommades préparées à base des saponines extraites à partir de *F.microcarpa* et l'infusé de la plante *P.odorea*. Pour ce faire, cinq types de pommades ont été formulés avec les extraits obtenus, le premier à base de l'infusé de *P.odorea* et sans saponine (F1), le second à base de 0.5g de l'infusé de *P.odorea* et 0.5g de saponines (F2) et le troisième à base 0.5g de la poudre de *P.odorea* et 0.5g de saponines (F3). Par la suite la pommade F4 est préparée avec 1g de saponine et sans de la *P.odorea* et la dernière pommade F5 est préparée avec 1g de poudre de la plante *P.odorea* et sans saponines. Comparativement à Madécassol, une pommade de référence.

Les extraits ont été formulés sous forme de pommade (préparation semi solide), avec l'utilisation de vaseline et lanoline ainsi l'huile d'amande. Cette forme a été appliquée sur la peau des lapins dans le but de traiter les brûlures. Notons que, leur application sur une plaie est plus facile, permet une estimation correcte de la quantité du produit utilisée pour le traitement. Le choix de lanoline et vaseline et même l'huile d'amande comme excipient dans la formulation des pommades était motivé par leurs propriétés adoucissantes, anti inflammatoire, apaisantes et réparatrices de la peau qui probablement augmenterait la guérison des cicatrices.

La guérison des plaies était l'objectif de ce test et le paramètre de comparaison des produits testés et témoins était le nombre de jours nécessaires pour le traitement.

Une guérison complète des plaies a été obtenue au bout de 18 jours en utilisant la pommade F2. Les pommades F4 et F5 avaient des effets cicatrisants moins importants que ceux constatés en appliquant les pommades F1 et F3 (22jours).

Nous pouvons déduire que, les pommades préparées à base de saponines sont plus actives que celles préparées avec la plante *P.odorea*.

En effet, les saponines sont considérées comme tensio-actif naturel qui facilite la pénétration des substances présentes dans les pommades et réduit ainsi les plaies.

L'application de la pommade F1 à base de la plante *P.odorea* sur les plaies a montré un effet cicatrisant durant la même période (14jours) enregistrée pour la guérison des plaies non traitées. De même, a entraîné un taux de rétrécissement de 50% comparé à ceux des autres pommades (F2, F3, F4, F5) qui ont présenté le même effet cicatrisant en 10 jours seulement. Quant aux plaies non traitées se caractérisent par un taux de rétrécissement de 50% en 10jours. Nous pouvons conclure que, la plante *P.odorea* exerce un effet cicatrisant (stimule le durcissement des plaies sous l'effet de la disponibilité des tanins mais retarde le rétrécissement).

Conclusion

Les plantes médicinales comme *F.microcarpa* représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs dont on a besoin pour la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Cette plante exotique a été choisie en fonction de la facilité de sa récolte et du succès dont elle jouisse dans la thérapeutique traditionnelle.

La présente étude nous a permis de mettre en évidence quelques paramètres physico-chimiques et microbiologiques, phytochimiques et pharmacologiques de fruit de *F.microcarpa*.

L'analyse phytochimique de fruit étudié a montré la présence d'une multitude de métabolites secondaires citant ; les flavonoïdes, les saponines, les polyphénols, les alcaloïdes, les coumarines et les quinones.

L'analyse quantitative des polyphénols des extraits (éthanoliques et aqueux) de fruit frais ou de sa poudre montre que, les extraits éthanoliques et aqueux issus de la poudre présentent des teneurs plus élevées que ceux des extraits aqueux et éthanoliques issus de fruit à l'état frais et que le meilleur taux obtenu est celui de l'extrait éthanolique de la poudre (0,011mg EAG/gMS).

Ce fruit est riche en acides gras polyinsaturés essentiels comme 3 et 6 mais aussi il contient d'autres acides gras monoinsaturés 9. Il est riche aussi en éléments minéraux les plus importants sont le potassium et le sodium, le magnésium et le calcium.

L'analyse infrarouge a montré que, le fruit est riche en composés phénoliques, amino-carboxyliques, esters et alcools, et aldéhydes.

Les résultats d'analyses microbiologiques et les tests antimicrobiens vis-à-vis de quelques germes pathogènes ont montré que, les extraits agissent différemment sur les espèces microbiennes testées. La meilleure zone d'inhibition a été obtenue pour les saponines vis-à-vis l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition de l'ordre de 21,6 mm.

Le rendement d'extraction en saponines contenues dans le fruit *Ficus microcarpa* est de l'ordre de 27%.

L'étude rhéologique de nos pommades élaborées à effet cicatrisant recherché nous a permis de déterminer leur nature rhéologique qui consistait en un liquide non-newtonien.

Le test d'évaluation de l'activité cicatrisante des pommades préparées à base des saponines de fruit *Ficus microcarpa* et à base ou sans la plante *Policaria odorea* a révélé que, la formulation F2 à base de 0.5g de saponines et à base de 0.5g de poudre de la plante a une bonne activité cicatrisante par rapport au produit de référence (Madécassol) au bout de 22 jours sur des lapins model (male et femelle).

Vu la superficie, les reliefs et le climat de notre pays, qui possède une biodiversité des plantes médicinales dont chaque plante se caractérise par une source indéfinie et assez importante de molécules bio puissantes de métabolisme secondaire avec des caractéristiques thérapeutiques, pharmacologiques, qui demandent d'être exploitées.

Cependant, il serait souhaitable à l'avenir :

- Effectuer d'autres analyses plus profondes sur le fruit *Ficus microcarpa* pour améliorer son effet thérapeutique.
- Utiliser les substances bioactives de ce fruit pour élaborer d'autres formes médicamenteuses (gélules, sirop, comprimés, excipients, additifs...etc.).
- Sensibiliser les gens à la culture de ce fruit.
- Etudier l'activité anti antioxydant des pommades élaborées.
- Appliquer ces pommades sur la peau des être humain.

Références bibliographiques

1. **Atmani D., Atmani D., Chaher N., Boudaoud H., Debache N., Berboucha M. (2009).** Flavonoids in human health: from structure to biological activity. *Curr. Nutr. Food Sci.* (5): 225-237.
2. **Bachi K. (2012).** Etude de l'infestation de différentes variétés de figuier (*Ficus carica L.*) par la mouche méditerranéenne des fruits, *Ceratitiscapitata* (Diptera, Trypetidae). Effets des huiles essentielles sur la longévité des adultes. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou : 61-65.
3. **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C., Pinkas M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung.* (46): 1086-1089.
4. **Barile E., Bonanomi G., Antignani V. (2007).** Saponins from *Allium minutiflorum* with antifungal activity. *Phytochemistry.* (68): 596–603.
5. **Benayache F., (2005).** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse de Doctorat en chimie organiques. Université Mentouri-Constantine. Algérie : 199.
6. **Benahmed-Djilali, Chemoul T., Kal S., Nabiev M., Besombes C. (2017).** Properties of An Antibacterial Ointment Formulated with Saponins Extracted from Walnut Leaves Phytothérapie: 1-9: DOI 10.1007/s10298-017-11459.
7. **Boizot N. et Charpentier J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, Le Cahier des Techniques de l'INRA : 79-82.
8. **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Tec & Doc Lavoisier. Paris. 1120.
9. **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie phytochimie. Plantes médicinales, fourth Ed. Tec and Doc, Paris. 1269.
10. **Cowan M.M., (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews.* (4): 564-582.
11. **Cuvelier C., Cabaraux J.-F., Dufrasne I., Hornick J.-L., Istasse L. (2004).** Acides gras : nomenclature et sources alimentaires. *Méd. Vét.* (148) : 133-140.

12. Choi Y-M ., Noh D-O ., Cho S-Y ., Suh H-J ., Kim K-M ., Kim J-M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*. (39):756-761.
13. Dacosta Y., (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed. Yves Dacosta. Paris. 317.
14. Dohou N., Yamni K., Tahrouch S. (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine. Thymelaealythroïdes. *Bull Soc Pharm Bordeaux*. (142): 61-78.
15. Dixon R.A., Paiva N.L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*. (7): 1085-1097.
16. Dooner H.K., Robbins T.P., Jorgensen R.A. (1991). Genetic and developmental control of anthocyanin biosynthesis. *Annual Review of Genetics*. (25): 173-199.
17. Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z. (1986). Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*. (2): 159-164.
18. Goudjil S. et Hamai T. (2017). Possibilité de formulation d'un sirop anti diarrhéique a base de figes sèches, *Policaria odorea* et *Ziziphus jujuba*. Université Mouloud Mammeri TIZI- OUZOU. 45- 48.
19. Haslam E. (1998). Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action. Ed. Cambridge University Press, Cambridge. UK. 422.
20. Havsteen B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therap*. (96): 67-202.
21. Hayouni E.A., AbedrabbaM ., Bouix M., Hamdi M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercuscoccifera* L. and *Juniperusphoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem*. (in press).
22. Hennebelle T., SAHPAZ S., BAILLEUL F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. (1) : 36.
23. Hostettmann K. et Marston A. (1995). Saponins. Chemistry and pharmacology of natural products. Cambridge University Press. 232-3.
24. Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Delesalle –Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A. (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. 10-12.

25. **Jakopic J., Veberic R., Stampar F. (2009).** Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvents. *Acta Agriculturae Slovenica*. (1): 11-15.
26. **Jean R. (1973).** Les plantes médicinales de la nouvelle calédonie. Ed office de la recherche scientifique et technique outre- mer. 30-31.
27. **Kamra D.N., Agarwal N., Chaudhary L.C. (2006).** Inhibition of ruminalmethanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*. (1293): 156-163.
28. **Khanbabae K., Ree T.R. (2001).**Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. (18): 641-649.
29. **Khenaka K. (2011).** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogènes ruminale chez l'ovin. Thèse de Magister En Microbiologie Appliquée. Université Mentouri- Constantine. Algérie. 81.
30. **Kosalec I., Bakaaz M., Pepeljnjak S. et Vladimir-knegeics (2004).** Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern croatia. *Acta Pharn*. (54): 65-72.
31. **Kühnau J. (1976).** The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition, *World Rev. Nutr. Diet*. (24): 117-191.
32. **Kumar U., Kumar B., Bhandari A. (2010).** Phytochemical investigation and comparison of antimicrobial screening of clove and cardamom. *Int J Pharm Sci Res* (1):138-47.
33. **Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J. and Lee C.Y. (2003).** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chem*. (51): 7292-7295.
34. **Maameri-Habibatni Z. (2014).** *Pistacia lentiscus L.*: Evaluation pharmacotoxicologique.
35. **Macheix J.J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses poly technologiques et universitaires roman des, France, 192.
36. **Makkar H.P.S. (2003).** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of fee dingtannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. (49): 241-256.
37. **Mangan J. L. (1988).** Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutr. Res. Rev*. (1) : 209-231.

38. **Martin S. et Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie.* (51) : 304–315.
39. **Marston A., Wolfender JL & Hostettmann K. (2000).** Analysis and isolation of saponins from plant material. In *Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal Plants. Annual Proceedings of the Phytochemical Society*, Clarendon Press, 1-12.
40. **Mcsweeney C.S., Palmer B., McNeill D.M. and Krause D.O. (2001).** Microbial interaction with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology.* (91): 83-93.
41. **Millogo H., Guisson I. P., Nacoulma O. et Traore A. S. (2005).** Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humanitaire –Lyon.
42. **Mokkadem A. (1999).** Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. *Vie et Nature.* (7) : 24-26.
43. **Mutai C., Bii C., Vagias C., Abatis D., Roussis V. (2009).** Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupanetripenes -*Journal of Ethnopharmacology.*
44. **Nsren A. (2010).** Etude comparative des procédés de séchage couplés à la texturation par Détente Instantanée Contrôlée DIC, en termes de cinétique et de qualité nutritionnelle. Applications à la valorisation des déchets agro-industriels. 191.
45. **NF V 05-101. (1974).** Détermination de l'acidité titrable.
46. **NF V 05-113. (1972).** Détermination de la teneur en cendre.
47. **NF V 05-108. (1997).** Mesure de pH.
48. **Packer L. (2001).** Flavonoids and other polyphenols. Ed. Academic Press, California, 483.
49. **Podsdek A. (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of *Brassica* vegetables. (40): 1-11.
50. **Rezaire A. (2012).** Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse doctorat Université des Antilles et de la Guyane. 208.
51. **Ribereau G. (1968).** Notions générales sur les composés phénoliques; in : « Les composés phénoliques des végétaux ». Ed. Dunod. 1-27.
52. **Sagdiç O. (2003).** Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm.-Wiss. U.Technol.* (36): 467-473.

53. **Sarni-Manchado P., Cheynier V. (2006).** Composés phénoliques de la plante structure, biosynthèse, répartition et rôle. In « Les polyphénols en agroalimentaire ». Ed. Tec et Doc Lavoisier: 1-14.
54. **Singleton V.L., Orthofer R .and Lamuela-Raventos R.M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates by means of Folin-Ciocalteu reagent. In: Jones, L. (ed).Methods in enzymology. San Diego.CA. *Academic Press*. (99):152-178.
55. **Wang Y., Zhang Y., Zhu Z. (2007).** Exploration of the correlation between the structure, hemolytic activity, and cytotoxicity of steroid saponins. *Bioorg. Med. Chem.* (15) : 2528-32.
56. **Wichtl M., Anton R. (2009).** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris. 38- 41. Flavonoïdes.
57. **Yang R. Y., Lin S. et Kuo G. (2008).** Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. *Asia of pacific journal of clinical nutrition.* (17) : 275-279.
58. **Zeghad N. (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne.

Site Web

Anonyme 1: http://www.mi-aime-a-ou.com/ficus_microcarpa.php.

Anonyme 2: <http://haabir-haisraeli.over-blog.com/article-histoires-d-arbres-62816944.html>.

Anonyme 3: <http://www.photomazza.com/?Ficus-microcarpa&lang=fr>.

Anonyme 4: <http://www.tela-botanica.org/bdtxa-nn-4509-nomenclature>.

Anonyme 5: <https://www.consoglobe.com/aliments-riches-en-potassium-cg>.

Anonyme 6: http://www.Kordonnier.fr/1L_C16-DS_age.pdf.

Anonyme 7: http://www.encyclo-ecolo.com/Acides_gras_essentiels_%28AGE%29.

Anonyme 8: http://www.cerin.org/Acides_Gras_-2012.pdf.

Annexe 1 : Appareillages, solvants, réactif chimiques et milieux de culture, appareillages utilisés pour l'activité antimicrobienne, matériels, solution.

Appareillages, verrerie de laboratoire.	solvant	Milieu de culture
<p>Balance de précision 0.001g (KERN 770) Bain –Marie, étuve (MEMMERT) Four a moufle (NABERTHERM) Broyeur électrique (moulin à café) Pied à coulisse Microscope optique pH –mètre (INOLAB) Plaque chauffante (RYPA) Rotavapor (STUART) Spectrophotomètre visible (EV 9200) Soxhlet (Nahita) Viscosimètre (AR 2000) Réfrigérateur Béchers, burettes, fiole, ampoule à décanter, entonnoir, flacons, pipette pasteur, cristallisoirs, éprouvettes, tubes à essai...etc.). creusets en porcelaine, mortier, pilon, verre de montre, tamis, papiers filtres, spatules, passoire, cuves. Infrarouge (ALPHA). Éprouvettes à bouchon vissant (de 5 ml de capacité) avec un bouchon muni d'un joint de PTFE. Pipettes graduées ou automatiques de 2 ml et 0,2 ml</p>	<p>Acide chlorhydrique Ammoniaque Acétate de sodium Acide gallique Acide sulfurique Acétate d'éthyle Acétate de plomb Chloroforme Carbonate de calcium Chlorure d'aluminium Carbonate de sodium Eau distillée Bleue de méthylène Solution diode Ethanol Ether di éthylique N-butanol Méthanol Magnésium Sulfate d'aluminium Sulfate de sodium anhydre Réactif de Dragendroff Réactif du folin-ciocalteu Quercetine Sulfate de cuivre Hexane Méthanol à 99,5% Heptane Hydroxyde de potassium solution méthanolique 2 N : dissoudre 11,2 g d'hydroxyde de potassium dans 100 ml de méthanol.</p>	<p>Muller Hinton (MH) : Extrait de viande 05g Hydrolisation acide de caséine 10g Agar 05g -Milieux sabouraud : Glucose 20g Extrait de levure 05g Peptone 10g Eau distillée 1000ml</p>

Appareillages utilisés pour l'activité antimicrobienne	Matériels	Solution
Autoclave de paillasse (WEBECO) Bain –marie (MEMMERT) Etuves bactériologiques (MEMMERT) : Etuve 37°C et étuve 28°C Spectrophotomètre visible (MEDLINE), Réfrigérateur cellule de malassez.	Anse de platine, bec bunsen, boîtes de Pétri, cuves, disques stériles (papier Wattman), écouvillons, embouts en plastiques stériles, micropipettes, pinces, pipettes Pasteur, portoir pour tubes, tube à essai, flacons.	Eau distillée Eau physiologique stérile (9g/l) Eau de javel

Annexe 2

1. Préparation de la gamme d'étalonnage des polyphénols.

Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant l'acide gallique comme standard.

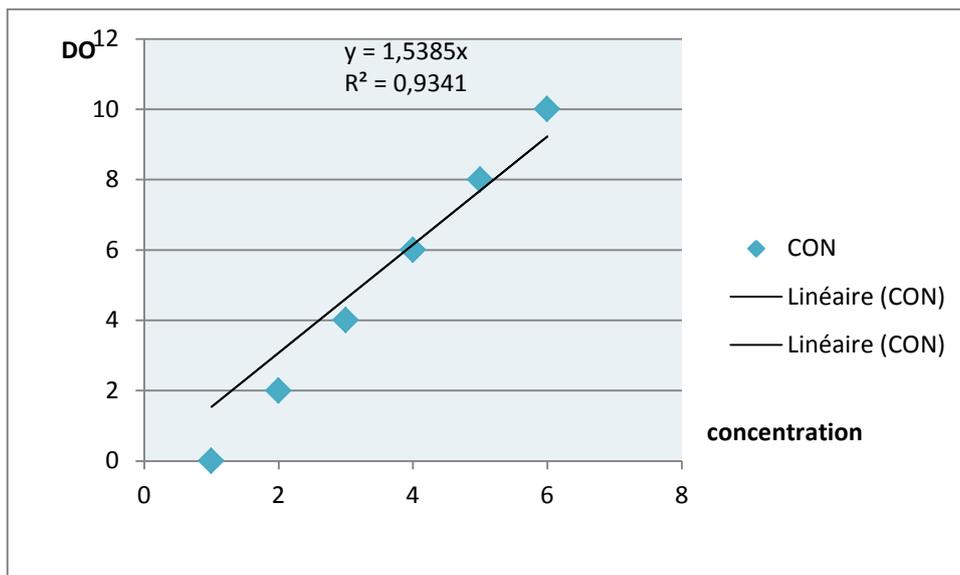
- Préparation de la solution d'acide gallique

Dissoudre 0.5g d'acide gallique dans 100ml d'eau distille. Soit une solution mère (SM) avec une concentration de 0.5mg/ml.

Il faut diluer la solution obtenue. Prendre 1ml de la SM et la mettre dans 9ml d'eau distillée pour avoir 10^{-1} . A partir de la 10^{-1} refaire la même chose pour obtenir 10^{-2} . c'est cette solution qu'on va utiliser dans notre gamme.

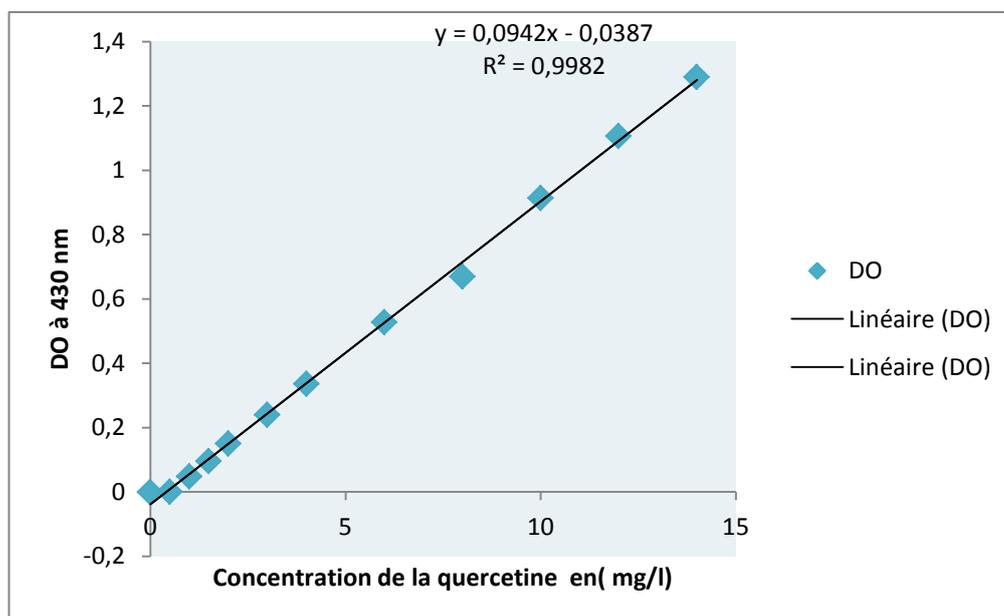
Tubes	Blanc	1	2	3	4	5
Concentration	0	2	4	6	8	10
Acide gallique (µl)	0	400	800	1200	1600	2000
Eau distillée (µl)	2000	1600	1200	800	400	0

1. Remplir les tubes avec (l'eau distillée+acide gallique) selon les quantités mentionnées dans le tableau ci-dessus.
2. Ajouter a tous les tubes 50ul du réactif folin-ciacolteu, et ce a l'abri de la lumière.
3. Homogénéiser au vortex
4. Laisser agir pendant 5mn.
5. Ajouter 500 µl de carbonate de sodium Na_2CO_3 (20%).
6. Incuber à l'ombre à la température ambiante pendant 1 heure. L'absorbance est mesurée à 760nm contre un blanc (acide gallique sans extrait).



2. Préparation de la gamme d'étalonnage des flavonoïdes.

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' AlCl_3 en utilisant comme standard la quercétine, les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg EQ/g d'extrait.



Annexe 3

- **Préparation des milieux de cultures utilisées lors des tests microbiologiques**

1. Milieu Muller-Hinton

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller – Hinton préparé comme suit : Dissoudre 19g de la gélose Muller-Hinton dans 500ml d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

2. Milieu Sabouraud

Dissoudre 16.25g dans 250ml d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans des boîtes Pétri.

3. Eau physiologique

Dissoudre 9g de Na Cl dans 1000ml d'eau distillée. Bien agiter le mélange pendant 5 minutes jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C.

- **Préparation des solutions**

1. Acétate de Zinc

Préparer 3g de l'acétate de Zinc dans 10 ml d'eau distillée avec agitation jusqu'à dissolution complète.

2. Bleu de méthylène

Préparer 0.1g dans 50ml d'eau distillée avec agitation jusqu'à dissolution complète.

3. NaOH(10N)

Dissoudre 8g dans 20ml d'eau distillée avec agitation jusqu'à dissolution complète.

4. H₂SO₄

Mélanger 5.5ml H₂SO₄ dans 1000ml d'eau distillée avec agitation jusqu'à dissolution complète.

5. Phénophtaléine à 1%

Dissoudre 0.5g de phénophtaléine dans 50 ml d'éthanol.

6. HCL (2N)

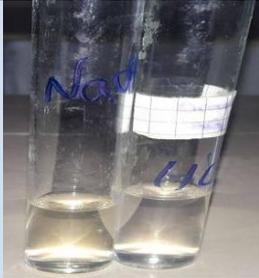
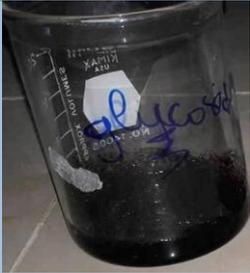
Préparer 20ml de HCL à 32% dans 100ml d'eau distillée.

7. Solution méthanolique (2 N)

Dissoudre 11,2 g d'hydroxyde de potassium dans 100 ml de méthanol.

Annexe 4 : Résultat du screening phytochimique du fruit étudié.

Paramètres	Coloration	Résultats	L'échantillon utilisé
Anthocyanes	Rouge		L'infusé
Leuco anthocyanes	Rouge		Poudre
Tanins	Bleu noir		L'infusé
Tanins galliques	Bleu foncée		L'infusé
Flavonoïdes	Rouge -orange		L'infusé
Quinones libres	Blanchâtres		Poudre

Quinones combinés	Orange		Poudre
Saponosides	Présence de mousse		L'infusé
Alcaloïdes	Rouge brique		Fruit congelé
Sennosides	Rouge		Fruit congelé
Glucosides	Rouge brique ensuite violette		Poudre
Coumarines	Apparition d'un trouble		Poudre

Annexe 5 : Conditions Chromatographiques des esters méthyliques d'huile de fruit *Ficus microcarpa*.

Conditions Chromatographiques des esters méthyliques d'huile de fruit <i>Ficus microcarpa</i>	
Chromatographe	Chrompack CP 9002
Détecteur	FID (2500°C)
Injecteur	SPLIT 1/100 (250°C)
Gaz vecteur	Azote
Colonne Capillaire	Cp Sil 88 CB (5% Phenyl+ 95% dimethylpolysiloxane)
Longueur	30 m
Diamètre intérieur	0,32 mm *0.25 UM
Epaisseur	0,25 µm
Injecteur	250°C
Détecteur	280°C
Four	150 C° ----220 C° 4C°/mn
Quantité injectée	01µl
Vitesse du papier	0.5 cm/ mn

Annexe 6 : Résultats d'activité anti microbienne des extraits de fruit et des saponines de *Ficus microcarpa*.



A) *E. coli*

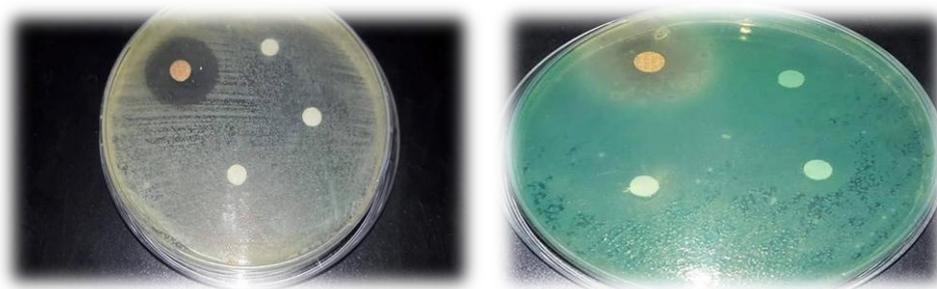
Pseudomonas aeruginosa

staphylococcus aureus



Aspergillus niger

A : saponines.



B) *E. coli*

Pseudomonas aeruginosa



C) *E. coli*

Pseudomonas aeruginosa

staphylococcus aureus

B : Extrait éthanolique 40% , C : Extrait aqueux 40%