

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERRI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIÈRE
FILIERE : CHIMIE

MÉMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PARMACEUTIQUE

THEME

**Etude des propriétés physico-chimiques et antibactérienne du
clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).**

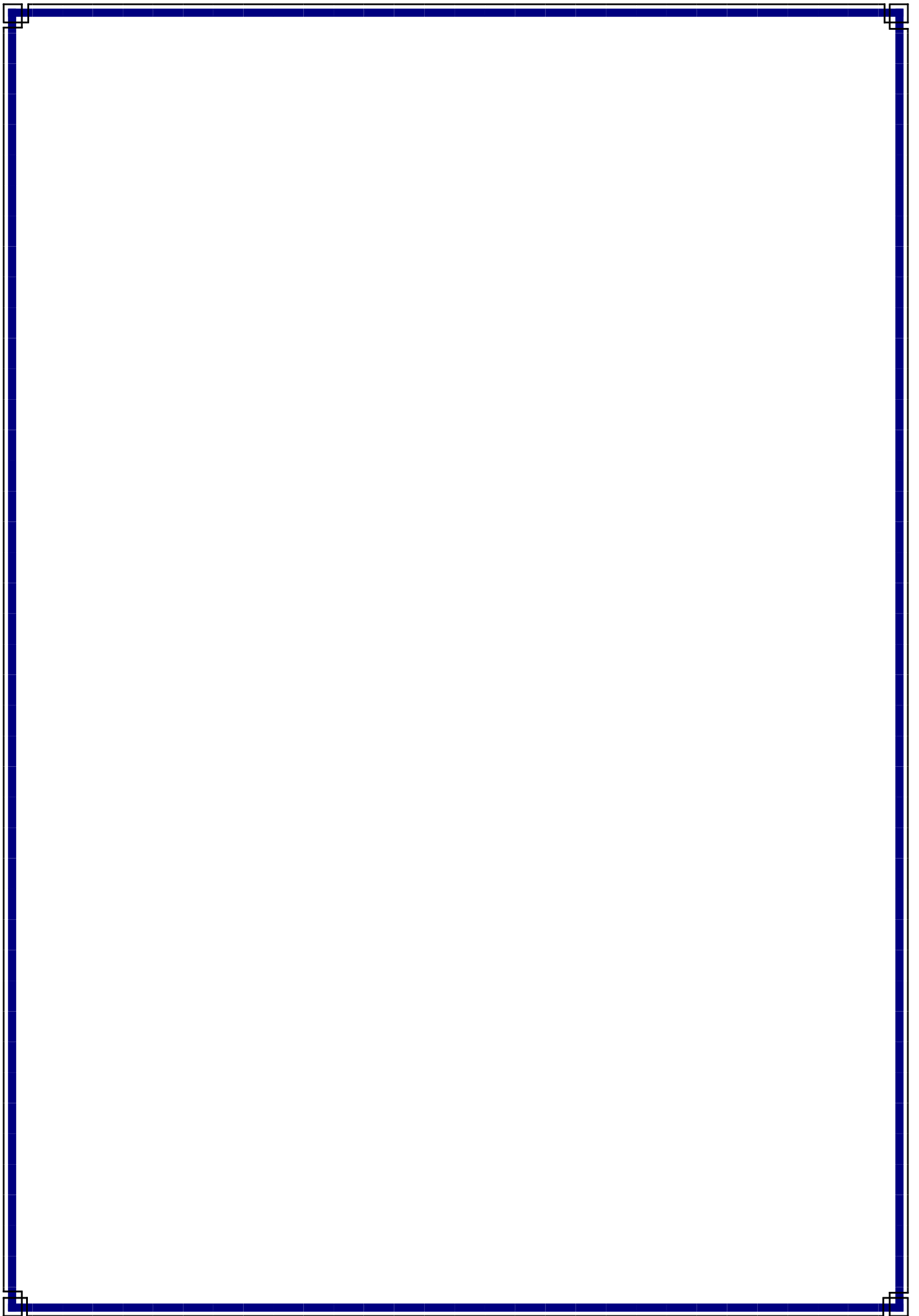
Présenté par :

**REZOUG
BOURIHANE**

**SAMIA
AMEL**

Évalué, le 11 / 10 / 2021, devant le Jury composé de :

<i>Mme LOUNI</i>	<i>DALILA</i>	<i>MACC</i>	<i>UMMTO</i>	<i>PRESIDENTE</i>
<i>Mme HEDJAL</i>	<i>MERIEM</i>	<i>Professeur</i>	<i>UMMTO</i>	<i>ENCADREUR</i>
<i>Mme AIT MOULOUD</i>	<i>LILA</i>	<i>MACC</i>	<i>UMMTO</i>	<i>EXAMINATRICE</i>





Remerciements

*Tout d'abord, nous remercions **Dieu** de nous avoir accordé la force et la patience afin de réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier notre promotrice **Mme Hedjel Meriem** Professeur au département de Biologie à l'Université Mouloud Maameri de Tizi-Ouzou d'avoir accepté de nous encadrer, et proposé le thème de ce mémoire.*

*Nous remercions l'ensemble de membres du jury **Mme LOUNI** et **Mme AIT MOULOUD** pour le grand honneur qu'ils nous font en acceptant de juger ce travail.*

*Nous remercions également **Mme Aissaoui Fatma** pour sa disponibilité, ses conseils et son aide dans la réalisation de ce travail.*

Un grand merci à l'ensemble de l'équipe des laboratoires pédagogiques pour leur aide et leur disponibilité, nous leur exprimons notre sincère gratitude.

Nous tenons à exprimer notre vive gratitude, à tous les enseignants du département.

Merci à tous ceux et celles qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace

Avec l'aide d'ALLAH, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie

A mes très chers parents

Aucune dédicace aussi parfaite ne serait exprimer mon affection, ma reconnaissance, ma gratitude, mon respect les plus profonds et tout l'amour que je vous porte. Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices et vos encouragements. Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A mes chers Sœurs et mes Frères

Je vous remercie Pour votre affection, compréhension, soutien, et patience. Puisse Dieu vous garde, éclaire votre route et vous aide à réaliser vos vœux les plus chers.

A mon support dans ma vie mon très cher "Abdelhak"

Aucun mot ne pourrait exprimer mon amour, ma gratitude et mon respect, tu n'as jamais cessé de me soutenir et de m'épauler.

Tu as partagé avec moi les meilleurs moments de ma vie, aux moments les plus difficiles, tu étais toujours à mes côtés

Je remercie le bon Dieu qui a croisé nos chemins. Puisse ALLAH nous procurer le bonheur.

A toutes mes amies en particulier Samia, Wissem, Zina, Driffa avec qui j'ai partagé des beaux souvenirs, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de bonheur.

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment

Que ce travail soit une part de ma reconnaissance envers vous.



Amel

Dédicace

*Louanges à ALLAH le clément,
Le tout puissant qui m'a procurée la patience,
La force et le courage d'aller au bout de mon objectif*

Je dédie cet humble travail avec grand amour, sincérité et fierté :

À « mes très cher parent » pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études et leur affection qui m'ont énormément aidée pour ma réussite. Avec toute ma fidélité et tout mon amour pour vous, je ne pourrai jamais égaler votre mérite et je prie Dieu de me les protéger.

À mes chers et adorables frères et sœurs, pour leurs encouragements permanents, leurs soutien, pour la joie et la bonne humeur que vous procurez dans ma vie, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

À mon cher SAÏD Qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de ce projet. Que dieu te protège et t'offre la chance et bonheur.

À mes chères amies WISSEM ET AMEL mes confidentes, merci pour votre encouragement, vos soutien et les beaux souvenirs, que dieu vous protège et vous guide vers le bonheur et la réussite.

À toute ma famille pour leur soutien tout au long de ma vie, Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, Merci d'être toujours là pour moi et de m'avoir permis de devenir ce que je suis.



Samia

Liste des Figures

Figure 1 : Allure d'un giroflier de Madagascar	3
Figure 2 : Les feuilles de giroflier	4
Figure 3 : Boutons floraux et fleurs de giroflier	4
Figure 4 : Clous de girofle récolté avant et après le séchage	5
Figure 5 : Une carte géographique des principaux producteurs de clou de girofle au monde ...	5
Figure 6 : Clous rose récoltés avant l'épanouissement de la fleur	6
Figure 7: Egriffage des clous après la récolte	7
Figure 8: Séchage des clous à Madagascar	7
Figure 9: Quelques produits issus du giroflier A. Poudre de clou de girofle bio. B. Huile essentiel bio de clou de girofle. C. Huile de cloue de girofle	7
Figure 10 : Quelques exemples de spécialités contenant de l'HE de clous de girofle.....	10
Figure 11 : L'isoprène.....	11
Figure 12 : Quelques composés terpéniques	12
Figure 13 : Structure de quelques dérivés de phénylpropane	12
Figure 14 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante	13
Figure 15 : Montage d'extraction assisté par micro-ondes	15
Figure 16 : Bourgeons de clou de girofle sec utilisé.....	23
Figure 17 : Clous de girofle broyé	23
Figure 18 : Montage d'hydrodistillation type Clevenger	24
Figure 19 : Spectrophotomètre IR.....	26
Figure 20 : Détermination de l'indice d'acide	29

Figure 21 : Détermination de l'indice de Saponification	30
Figure 22 : Infusion de poudre des clous de girofle.....	31
Figure 23 : Protocole des tests microbiologiques	33
Figure 24 : Spectre IR de l'HE de clou de girofle.....	38

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Classification botanique de <i>Syzygium aromaticum</i>	2
Tableau 2 : Dénomination nationale du <i>Syzygium aromaticum</i>	3
Tableau 3 : Composition majeure de l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i>	19
Tableau 4 : Liste des souches microbiennes utilisées	26
Tableau 5 : Caractéristique organoleptique	34
Tableau 6 : Résultat du rendement d'HE de l'espèce <i>Syzygium aromaticum</i>	34
Tableau 7 : Résultat de la densité de l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i>	35
Tableau 8 : Résultat du pH d'HE de <i>Syzygium aromaticum</i>	35
Tableau 9 : Résultat de l'indice d'acide de l'espèce <i>Syzygium aromaticum</i>	36
Tableau 10 : Résultat de l'indice de saponification d'HE de clou de girofle	36
Tableau 11 : Indice de saponification d'huiles végétales	37
Tableau 12 : Résultat de l'indice d'ester d'HE de clou de girofle.....	37
Tableau 13 : Résultats des tests phytochimiques de clou de girofle	40
Tableau 14 : Résultats des chromatogrammes de l'HE de <i>Syzygium aromaticum</i>	41

Liste des Abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

UMMTO : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

IR : indice de réfraction.

HE : Huile essentielle.

d_{20}^{20} : Densité relative à 20°C.

g : Gramme.

MH: milieu de Mueller Hinton.

IA : Indice d'acide.

IS : Indice de saponification.

IE : Indice d'ester.

Kg : Kilogramme.

UV : Ultraviolet.

IR : Infra Rouge.

μ l : Microlitre.

% : Pourcentage.

pH : Potentiel hydrogène.

°C : degré Celsius.

T : température.

h : heure.

mn : minute.

mm : millimètre.

nm : nanomètre.

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

1. Etude Bibliographique

Chapitre 1 : Etude de la plante

1.1. Histoire de giroflier	2
1.2. Description botanique	2
1.2.1. Classification	2
1.2.2. Description morphologique	3
1.3. Origine / Répartition géographique	5
1.4. Culture et récolte	6
1.5. Utilisation des produits de giroflier	7
1.5.1. Dans le domaine médical	7
1.5.1.1. En dentisterie	8
1.5.1.2. En aromathérapie	8
1.5.1.3. En médecine vétérinaire	8
1.5.2. Dans le domaine d'agriculture	9
1.5.3. Dans le domaine de l'alimentation	9
1.5.4. Dans le domaine cosmétique et parfumerie	9
1.5.5. Dans le domaine culinaire	9
1.5.6. Autres domaines	10

Chapitre 2 : L'huile essentielle du clou de girofle

1.1. Les huiles essentielles	11
1.1.1. Définition des huiles essentielles	11
1.1.2. Composition chimique des huiles essentielles	11
1.1.2.1. Les composés Terpéniques	11
1.1.2.2. Les composés aromatiques	12
1.1.2.3. Composés d'origines diverses	13
1.1.3. Procédés d'obtenir les huiles essentielles	13
1.1.3.1. Distillation par entraînement à la vapeur	13
1.1.3.2. Hydrodistillation	14
1.1.3.3. L'extraction par solvant organique	14
1.1.3.4. Extraction assistés par micro-onde	15

1.1.3.5. L'extraction par les ultrasons	15
1.1.4. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles	16
1.1.4.1. Densité relative d_{20}^{20}	16
1.1.4.2. Indice de réfraction n_d^{20}	16
1.1.4.3. Miscibilité à l'éthanol.....	16
1.1.4.4. Indice d'acide IA	16
1.1.4.5. Indice de saponification IS	17
1.1.4.6. Indice d'ester IE	17
1.1.5. Etude qualitative et quantitative de l'huile essentielle	17
1.1.5.1. Spectroscopie infrarouge.....	17
1.1.5.2. Analyse par spectroscopie UV-Visible	17
1.2. L'Huile essentielle du clou de girofle	18
1.2.1. Composition chimique de clou de girofle	18
1.2.2. Propriétés biologiques de l'huile essentielle clou de girofle.....	19
1.2.2.1. Activité anti-bactérienne	19
1.2.2.2. Activité antiviral.....	19
1.2.2.3. Activité antifongique.....	20
1.2.2.4. Activité antiparasitaire	20
1.2.2.5. Activité antioxydant	20
1.2.2.6. Activité anti-inflammatoire	21
1.2.2.7. Activité antithrombotique	21
1.2.3. Toxicité de l'huile essentielle du clou de girofle	21
1.2.4. Conservation de l'huile essentielle clou de girofle	22

2. Matériel et méthodes

2.1. Objectif de travail.....	23
2.2. Matériel	23
2.2.1. Matériel végétal.....	23
2.2.2. Extraction	24
2.2.3. Etude analytique de l'huile essentielle de <i>Syzygium Aromaticum</i>	24
2.2.3.1. Calcul de rendement.....	24
2.2.3.2. Les analyses physico-chimiques	25
2.2.3.2.1. Caractéristiques organoleptiques.....	25
2.2.3.2.2. La densité	25

2.3.3.2.3. Mesure du pH	25
2.2.3.2.4. L'indice d'acide.....	25
2.2.3.2.5. L'indice de saponification	25
2.2.3.3. Analyses spectroscopiques	25
2.2.3.3.1. Spectroscopie infrarouge (IR)	25
2.2.4. Matériel microbiologique	26
2.2.4.1. Souches bactériennes.....	26
2.2.4.2. Milieu de culture	26
2.3. Méthodes	27
2.3.1. Extraction de l'huile essentielle de clous de girofle.....	27
2.3.2. Analyses physico-chimiques	27
2.3.2.1. La densité relative d_{20}^{20}	27
2.3.2.2. Mesure du pH.....	28
2.3.2.3. Indice d'acide	28
2.3.2.4. Indice de saponification	29
2.3.2.5. Indice d'ester	30
2.3.3. Screening Phytochimique.....	30
2.3.3.1. Infusion.....	30
2.3.3.2. Les Flavonoïdes.....	31
2.3.3.3. Les Saponosides	31
2.3.3.4. Les Tanins	31
2.3.3.5. Les Terpénoides	32
2.3.3.6. Les Stéroles	32
2.3.3.7. Les Alcaloïdes	32
2.3.4. Etude de l'activité antibactérienne	32
2.3.4.1. Méthode de diffusion sur disques (aromatogrammes)	32

3. Résultats et discussion

3.1. Description de l'huile essentielle de clou de girofle	34
3.1.1. Caractéristiques organoleptiques.....	34
3.2. Les analyses de l'huile essentielle.....	34
3.2.1. Rendement.....	34
3.2.2. Analyses physique.....	35
3.2.2.1. La densité	35
3.2.3. Analyses chimiques.....	35

3.2.3.1. Contrôle du pH.....	35
3.2.3.2. Les indices chimiques	36
3.2.3.2.1. L'indice d'acide.....	36
3.2.3.2.2. L'indice de saponification.....	36
3.2.3.2.3. L'indice d'ester	37
3.2.4. Analyse par spectroscopie Infra Rouge (IR).....	38
3.3. Etude phytochimiques	39
3.4. Évaluation de l'activité antibactérienne	41
Conclusion	43

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Introduction

Les plantes s'imposent sur la planète par leur aspect, leur exubérance et leur mystère.

A travers des âges, l'homme s'est toujours servi des plantes pour subvenir à ses besoins pour : se nourrir, se vêtir, se loger, se chauffer, se parfumer....mais aussi pour maintenir son équilibre, soulager ses souffrances, préserver et soigner les maladies qui nuisent à sa santé.

Les épices et les plantes aromatiques et médicinales sont caractérisés par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles. Elles sont issues de la sécrétion naturelle élaborée dans les différentes parties de la plante : la fleur, la feuille, le fruit, l'écorce... La composition chimique des huiles essentielles est très complexe, les principaux constituants sont les terpènes et composants aromatiques, on y retrouve également, et en faibles concentration des Cétones et des coumarines volatils. C'est la nature chimique du composé majoritaire (Phénol, Alcool, Aldéhyde, cétone....) qui joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de leurs activités biologiques [1].

Du genre *syzygium* est un membre important dans la famille des Myrtacées. Le bouton floral du giroflier est d'origine Madagascar, îles Moluques en Indonésie, et possède une odeur caractéristique et une saveur chaude et piquante. la plante renferme 15 à 20% d'huile essentielle extraite à partir des boutons floraux, l'essence renferme 70 à 85% Eugénol.

Les propriétés principales du clou de girofle sont antiseptiques et analgésiques. Mais cette Huile Essentielle possède également des propriétés antibactériennes, antivirales et antifongiques [2].

L'objectif de notre travail est de caractériser l'huile essentielle de clou de girofle et tester son activité antibactérienne.

Pour cela notre travail s'est porté sur trois parties distinctes :

Dans la première partie, nous abordons l'étude bibliographique par la présentation du clou de girofle, généralité sur les huiles essentielles, les méthodes d'extraction, ainsi les caractéristiques et propriétés de l'huile essentielle de clou de girofle et son usage.

La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes avec une présentation des techniques d'extractions, détermination de la composition chimique, les caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle ainsi que propriété antibactérienne.

Les résultats et leurs discussions sont abordés dans la troisième partie.

Enfin, nous achevons ce travail avec une conclusion.

1. Etude Bibliographique

Chapitre 1

Etude de la plante



1.1 Histoire de giroflier

Le Giroflier, *Syzygium aromaticum* ce que l'on nommera « clou de girofle » était déjà connus des chinois plus de deux siècles avant l'ère chrétienne, à cette époque lorsque les officiers de la cour étaient invités à s'adresser à leur souverain, il fallait se rafraîchir l'haleine en mâchant quelques clous, le « hi-sho-hiung ». Mais cette plante n'était pas indigène à la chine pourtant.

Il a commencé à apparaître en Europe vers le IV^e siècle lorsque l'empereur Constantin, le nouveau chrétien offre au pape Sylvestre de nombreux vases d'or et d'argent, d'encens et d'épices parmi les quelles 150 livres de clous de girofles [3].

La culture du giroflier fut longtemps confinée presque exclusivement en Indonésie et elle était contrôlée par les Hollandais. Aujourd'hui, Zanzibar deviendra l'un des plus importants centres de production (fin XVIII^e), puis viendra le tour de Madagascar et de l'Indonésie [4].

1.2 Description botanique

1.2.1 Classification

La classification du clou de girofle est présentée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Classification botanique de *syzygium aromaticum* [5] [6] [7].

Nom botanique	<i>Eugenia caryophyllata</i>
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embrochement	Magnoliophyta (=phane)
Sous-embrochement	Magnoliophytina (=angiospermes)
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Sous-famille	Myrtoideae
Classe	Angiosperme
Sous-classe	Tiporées
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>Syzygium aromaticum</i>

Synonymes

- *Caryophyllus aromaticus* L.(1753)
- *Eugenia caryophyllata* Thunb.(1788)
- *Eugenia caryophyllus* Spreng.(1825)
- *Eugenia aromatica* (L.) Baill.(1876)
- *Jambosa caryophyllus* (Thunb.) Nied. (1893)
- *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, (1939)

La dénomination nationale du clou de girofle est présentée dans tableau 2.

Tableau 2 : Dénomination national du syzygium aromaticum [8].

Nom commun	Giroflier
Français	Clou de girofle, Giroflier
Anglais	Clove
Arabe	Kourounfoul (القرنفل)
Allemand	Nelke
Espagnol	Clavo de especia
Italien	Garofano
Portugais	Cravinho, cravo da India

1.2.2 Description morphologique

Le giroflier est un arbre de la famille des Myrtacées, qui pousse uniquement dans les pays tropicaux [9].

C'est un arbre à feuilles persistantes avec une hauteur moyenne de 10 à 12 mètres (figure 1), qui peut atteindre une hauteur de 20 mètres, avec un port pyramidal et un tronc gris clair [10].



Figure 1 : Allure d'un giroflier de Madagascar [11].

Ses grandes feuilles sont pétiolées, coriaces, elliptiques à lancéolées, de 9 à 12 cm de long sur 3,5 à 4,5 cm de large (figure 2); leur limbe est ponctué de nombreux points correspondant aux poches sécrétrices.



Figure 2 : Les feuilles de giroflier [11].

Les fleurs sont regroupées en cymes terminales en forme de parapluie divisé en 3 partie, de 10 à 14 mm de long (figure 3), elles sont de couleur pâle et deviennent progressivement verts, après elles se développent en un rouge vif, lorsqu'ils sont prêts à être collectés [12].



Figure 3 : Boutons floraux et fleurs de giroflier [11].

Les clous de girofle sont récoltés de 1,5 à 2 cm de long, elles sont constituées d'un long calice et se terminant par quatre sépales et quatre pétales non ouverts qui forment une petite boule au centre [13].

Lorsque la fleur a été fécondée, elle se transforme en une sorte de baie brun-violacée, charnue, contenant une graine assez volumineuse (figure 4) [14].



Figure 4: Clous de girofle récolté avant et après le séchage [11].

1.3. Origine / Répartition géographique

Le clou de girofle est originaire de l'Archipel des Moluques (Indonésie) [15], le giroflier est largement cultivé dans les régions tropicales, ils sont cultivés à Madagascar ; qui est le principal et le premier exportateur mondial. Il couvre environ 37 000 hectares de superficie, c'est le second pays producteur (10-15 000 T) [16], ainsi que dans l'ouest de l'Inde, à Sumatra, aux Antilles, à la Réunion, à l'île Maurice, aux Seychelles, en Tanzanie, Malaisie, Sri Lanka et au Brésil (figure 5) [17].

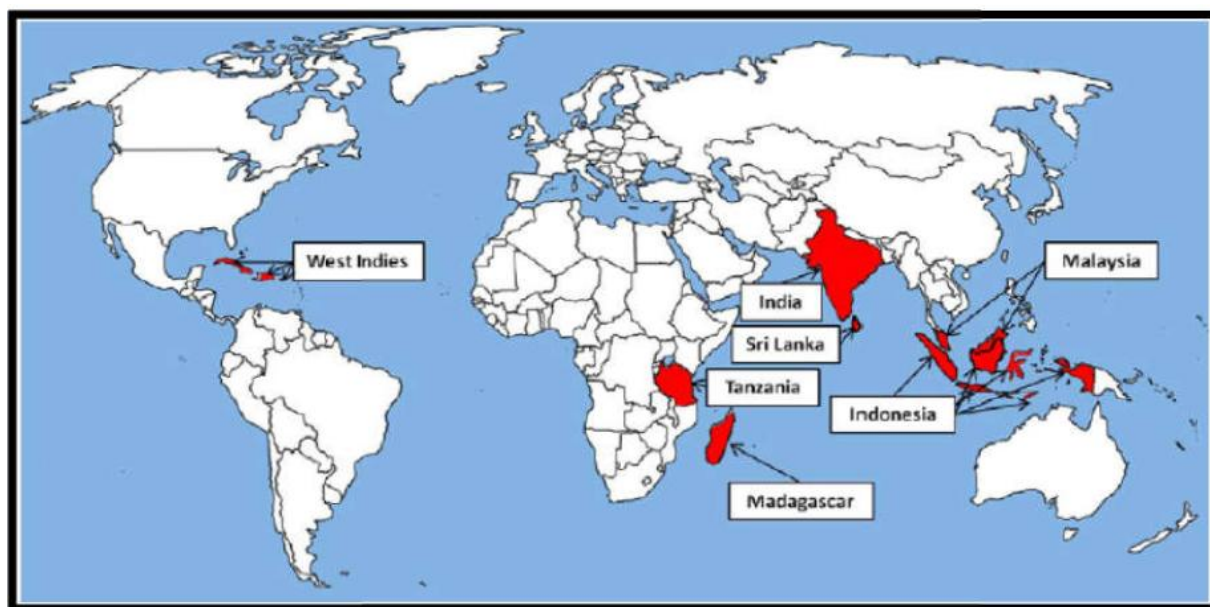


Figure 5: Une carte géographique des principaux producteurs de clou de girofle au monde [18].

1.4. Culture et récolte

Le giroflier est cultivé par semis au printemps ou par bouturage en été. Il est cultivé deux fois par an [19], comme beaucoup d'autres plantes de la famille des Myrtacées. Il préfère un sol volcanique riche, peu humide, bien drainé et abrité, dans des régions équatoriales dont le climat est chaud et humide. Les graines doivent être placées à quelques centimètres de profondeur et espacées par 30 cm, et ils doivent être fréquemment arrosés.

Lorsque la plante a 1 m de hauteur il faut légèrement l'ombrager durant les premiers mois. A l'âge de 6 ans il peut atteindre 7 mètres de hauteur. Il nécessite beaucoup d'ensoleillement et un arrosage par temps sec afin d'être productif [8].



Figure 6: Clous rose récoltés avant l'épanouissement de la fleur [11].

Après six à huit années de mise en culture, les fleurs deviennent rose-orangé de 1 cm de longueur. Ils doivent être récoltés avant la chute de la corolle (deux fois par ans en juillet à décembre). Les clous sont égriffés pour éliminer les pédicelles floraux (figure 7), puis ils sont séchés au soleil sur des nattes ou au four pendant trois jours et ils deviennent durs et prennent une couleur brun rouge (figure 8). La récolte s'effectue à la main (de 3 à 4 kg par arbre). Le stockage doit se faire dans un endroit ventilé et sec et l'emballage doit être aéré [20].



Figure 7: Egriffage des clous après la récolte [11]. **Figure 8:** Séchage des clous à Madagascar [11].

1.5. Utilisations des produits de giroflier

Le girofle est un arbre à deux produits, il a la particularité par rapport à d'autres plantes à épices ; les boutons floraux qui donnent l'huile essentielle et l'essence produite par distillation des feuilles, ce qui fait que les domaines d'usages et les produits issus sont très variés (figure 9) [21].



Figure 9: Quelques produits issus du giroflier [21]

A. Poudre de clou de girofle bio. **B.** Huile essentiel bio de clou de girofle. **C.** Huile de clou de girofle.

1.5.1. Dans le domaine médical

L'essence et l'HE du clou de girofle est très utilisée en pharmacie, en médecine humaine et vétérinaire et par les dentistes pour ses différentes et divers propriétés thérapeutiques [22].

1.5.1.1. En dentisterie

Pendant de nombreuses années, le girofle été fréquemment utilisé par les chirurgiens dentistes, à cause de ses propriétés anti-infectieuses, analgésiques et anesthésiant permettait de soulager rapidement le patient. L'eugénol qui est le principal constituant de son HE est toujours utilisé par les dentistes, il se retrouve couplé à l'oxyde de zinc pour la pose provisoire de couronnes dentaires, ou lors de petites complications douloureuses [23]. Le clou de girofle inhibe aussi préférentiellement le *Streptococcus mutans* qui est la bactérie responsable des caries, d'où l'emploi du clou de girofle dans des dentifrices ou les bains de bouche est donc justifié pour lutter contre la plaque dentaire et l'apparition de caries [24] [25].

1.5.1.2. En aromathérapie

Le giroflier et son huile essentielle de ces boutons floraux possèdent de très nombreuses et différentes caractéristiques et propriétés médicinales et pharmacologiques. Traditionnellement, ils étaient utilisés en aromathérapie pour le traitement des maux de dents, de la bouche, de la gorge, de l'inflammation de la muqueuse buccale, de la mauvaise haleine et en cas de règles douloureuses et comme un tonique utérin dans la préparation à l'accouchement.

En usage externe contre le rhumatisme, les douleurs musculaires, la sciatique et anesthésiant local dans les soins des plaies et pour soigner l'acné etc. En usage interne, il est utilisé comme antispasmodique qui permet de soulager les problèmes de digestion : lenteur, ballonnements, douleurs, spasmes digestifs etc, les études ont montrés que le *Syzygium aromaticum* peut être fonctionné comme un agent antiulcéreux et purgatif et un agent gastroprotecteur, il a un effet anti-diarrhéique. Un stimulant général, physique et intellectuel, il redonne la vitalité et l'énergie [26] [27] [28].

1.5.1.3. En médecine vétérinaire

L'infusion de clous de girofle administrée par voie orale inhibe significativement la progression du cancer de poumon chez l'animal [29]. Ainsi que l'eugénol de l'HE de clou de girofle offre une option intéressante pour induire une anesthésie et de l'analgésie chez les amphibiens et chez les poissons et pourrait présenter des avantages anesthésiques intéressantes comme un temps d'induction réduit chez les rats et les souris [30].

1.5.2. Dans le domaine d'agriculture

En agriculture, l'huile essentielle de clou de girofle à un effet herbicide, et protecteur il protège les plantes contre les champignons [31], et il possède un effet insecticide sur les charançons nuisibles des grains en stocks [32].

1.5.3. Dans le domaine de l'alimentation

Les clous de girofle sont connus par ses propriétés antibactériennes, pour cela ils étaient utilisés pour conserver les aliments, notamment la viande [33].

Et grâce aussi aux girofliers, aujourd'hui la production de vanilline de synthèse a pu se développer ; La vanilline est la molécule présente dans l'arôme de la vanille [34].

1.5.4. Dans le domaine cosmétique et parfumerie

La propriété odoriférante de son huile essentielle confère une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Le parfum que dégagent les clous de girofle est souvent utilisé en parfumerie. Il permet d'apporter une note orientale, boisée et épicée, Ce sont toujours des parfums chauds, classiques...

Quelques exemples de parfums contenant des notes de girofle : Gentleman de Givenchy ®, Kenzo Jungle ®, Coco Chanel ®, Miss Dior ®, Opium de Yves Saint Laurent ® [11].

L'essence des feuilles de giroflier servent aussi à la production des savons et la préparation des pâtes dentifrices, vernis etc. [35].

1.5.5. Dans le domaine culinaire

C'est un épice utilisée dans de nombreuses cuisines orientales ou occidentales, c'est un ingrédient indispensable à la plupart des currys, du pain d'épices ou de la choucroute, utilisé en infusion avec le thé [12].

Les clous de girofle en poudre, servent à aromatiser les conserves de légumes, le chou rouge ou la choucroute, les compotes de pommes et autres fruits [36].

1.5.6. Autres domaines

Production de Kreteks : Une grande partie de la production mondiale de clou de girofle sert à la fabrication des «kreteks», qui sont des cigarettes traditionnelles indonésiennes composées d'un mélange de tabac et de clous (60% tabac, 40% girofle) [37].

En pharmacie : L'industrie pharmaceutique emploie l'huile essentielle du clou de girofle sous différentes formes ; sprays assainissant pour purifier l'atmosphère, sprays pour la gorge, crème gels antalgique chauffante, traitements antiseptiques des voies respiratoires, bains de bouches, lotion, antipoux, pastilles, gélules, dentifrices...etc. Ces préparations répondent à la réglementation des médicaments à base de plante.

Quelques exemples de spécialités contenant de l'HE de clous de girofle :

- Aromasol® (Naturactive®) : médicament en solution pour inhalation par fumigation.
- Gouttes aux essences® (Naturactive®) : solution buvable en cas d'affection bronchique aiguë bénigne.
- Baume Aroma® (Mayoly-Spindler®) : crème antalgique d'action locale.
- Nazinette du Dr Gilbert ® (Pharma Développement®) : pommade nasale pour le traitement des affections rhinopharyngées.
- Baume du tigre et baume chinois : baume en cas de douleurs musculaires ou articulaires [11].



Figure 10 : Quelques exemples de spécialités contenant de l'HE de clous de girofle.

Chapitre 2

L'huile essentielle du clou de girofle



1.1. Les huiles essentielles

1.1.1. Définition des huiles essentielles

✓ Selon la pharmacopée européenne

Ce sont des "produits odorants, généralement de composition complexe, obtenus à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage".

✓ Selon la norme ISO 9235

« produit obtenu à partir d'une matière première naturelle d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de fruits de citrus (agrumes), soit par distillation sèche, après séparation de l'éventuelle phase aqueuse par des procédés physiques. »

1.1.2. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents. Les composants comprennent deux groupes d'origine biosynthétique distincte. Le groupe principal est composé de terpènes et l'autre de constituants aromatiques et aliphatiques, tous caractérisés par un faible poids moléculaire [38].

1.1.2.1. Les composés Terpéniques

Les terpènes sont des molécules organique constituées par un multiple de 5 atomes de carbones de formule générale $(C_5H_{10})_n$ avec $n=1$ La molécule de base est l'isoprène (figure11) [39].

Suivant les valeurs de n , on a les hémiterpènes ($n=1$), les monoterpènes ($n=2$), les sesquiterpènes ($n=3$), les triterpènes ($n=6$), les tétraterpènes ($n=8$) et les polyterpènes. Les constituants des huiles essentielles sont très variés. [40]

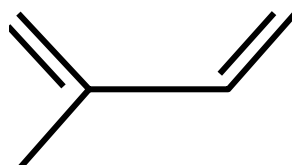
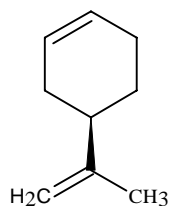
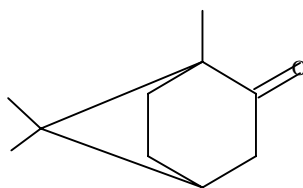
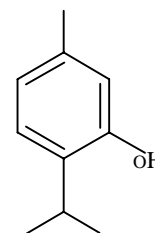
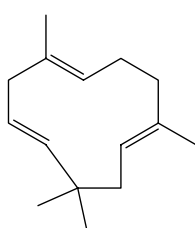
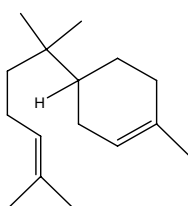
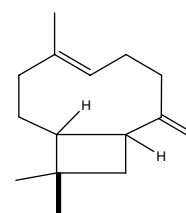
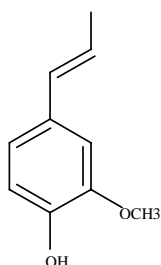
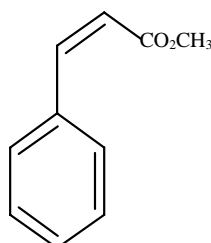
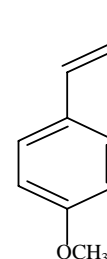


Figure 11 : L'isoprène. [40]

Monoterpènes**Limonène****Camphre****Thymol****Sesquiterpènes****α-Humulène****β-Caryophyllène****α-Bisabolol****Figure 12 : Quelques composés terpéniques****1.1.2.2. Les composés aromatiques**

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane (figure 13), cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon etc. [41].

**Eugénol****Z-cénnamate de méthyle****Méthylchavécol ou
estragol****Figure 13 : structure de quelques dérivés de phénylpropane [38].**

1.1.2.3. Composés d'origines diverses

Il existe un nombre non négligeable de composés volatils issus de la dégradation de terpènes non volatils. Les composés d'origine variée de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro-distillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions [42].

1.1.3. Procédés d'obtenir les huiles essentielles

1.1.3.1. Distillation par entraînement à la vapeur

Distillation par entraînement à la vapeur, c'est la méthode la plus acceptée pour la production à grande échelle d'huiles essentielles et l'un des procédés d'extraction les plus anciens [43].

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un flux de vapeur descendant ou ascendant sans macération préalable (figure 14). Le plus souvent, de la vapeur d'eau est injectée au bas d'une charge végétale. Les vapeurs chargées en composés volatils sont condensées avant d'être décantées et récupérées dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles) [44].

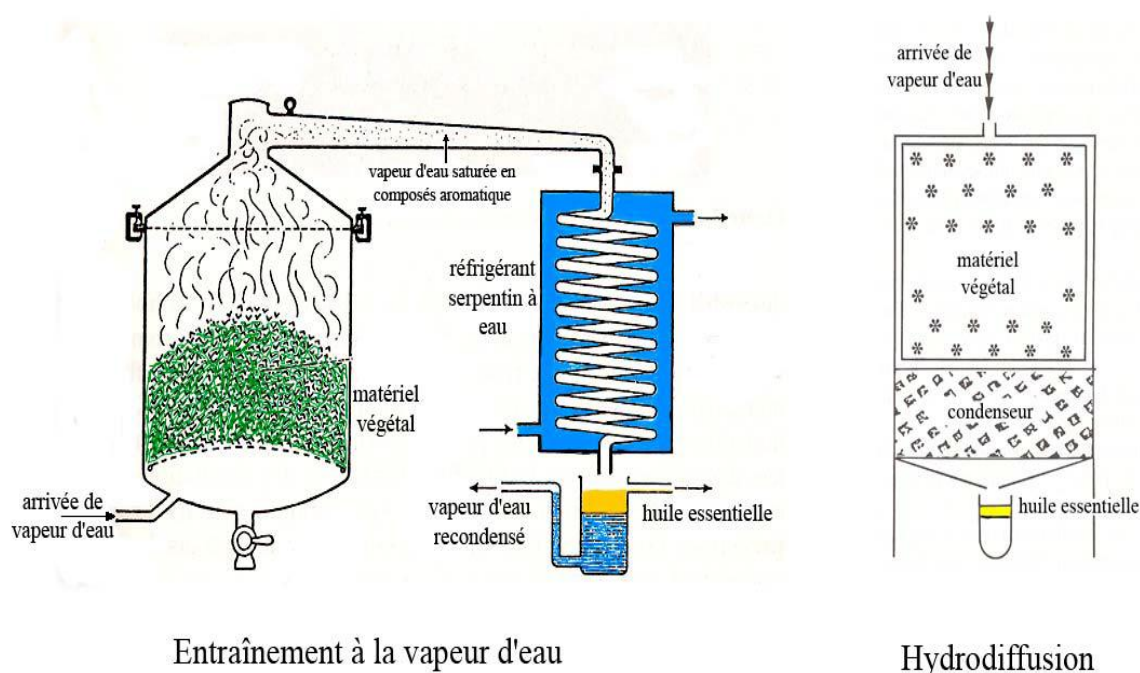


Figure 14 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante [45].

1.1.3.2. Hydrodistillation

L'hydrodistillation, proprement dite est la méthode normées pour l'extraction des huiles essentielles et le contrôle qualité. [44] Son principe consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition à pression atmosphérique. Les vapeurs sont condensées dans réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par différence de densité [46].

À l'heure actuelle, l'appareil Clevenger semble être le séparateur d'huiles essentielles le plus couramment utilisé [43].

1.1.3.3. L'extraction par solvant organique

L'extraction par solvant organique est la technique la plus courante et la plus économique pour extraire les aromatiques dans l'industrie de la parfumerie moderne. Le principe de l'extraction par solvant est que Les matières premières sont immergées et agitées dans un solvant capable de dissoudre les composés aromatiques souhaités. Les composants des matériaux solides se déplacent vers le solvant. Ainsi, l'extraction par solvant du matériel végétal entraîne le transfert de masse de principe actif soluble (ingrédient médicinal) vers le solvant, et ce dans un gradient de concentration.

En général les solvants utilisés sont non aqueux : le benzène, l'hexane, les alcools éthyliques, l'acétone et l'éther de pétrole, etc. [47].

Mais le solvant choisi doit répondre à de très nombreuses exigences :

- être non miscible dans l'eau, car le cas contraire rendrait impossible la séparation entre l'eau, le solvant et l'huile essentielle ;
- avoir une température d'ébullition basse afin d'être facilement et rapidement éliminé après l'opération d'extraction, par évaporation sans
- l'application d'une température élevée qui pourrait altérer la qualité du produit final ;
- être suffisamment puissant pour dissoudre les molécules responsables du parfum, mais sans extraire les autres molécules inutiles dans la composition du parfum, comme les pigments par exemple ;
- être liquide à la température et la pression sélectionnées pour l'opération d'extraction, tout en étant ininflammable ;
- être non réactif avec les composants du produit final [48].

1.1.3.4. Extraction assistés par micro-onde

L'extraction assistée par micro-onde est une méthode utilisée pour l'extraction des molécules aromatiques volatiles issues des matières végétales (figure 15) [49].

Son Principe consiste à chauffer par micro-onde la matrice végétale immergée dans un solvant très absorbant (tel que méthanol) pour l'extraction des composés polaires ou dans un solvant à faible absorption (tel que le n-hexane) pour l'extraction des composés non polaire. Le mélange (matière végétale +solvant) est chauffé pendant de courtes périodes, sans atteindre le point d'ébullition, suivi d'étapes de refroidissement. Lorsque les glandes oléifères de la plante sont soumises à un stress thermique sévère et à une haute pression localisée, comme dans le cas du chauffage aux micro-ondes, la pression qui s'accumule à l'intérieur des glandes dépasse leur capacité d'expansion, ce qui provoque leur rupture plus rapidement. Les métabolites libérés sont dissous dans le solvant organique et sont ensuite séparés par extraction liquide-liquide [50].

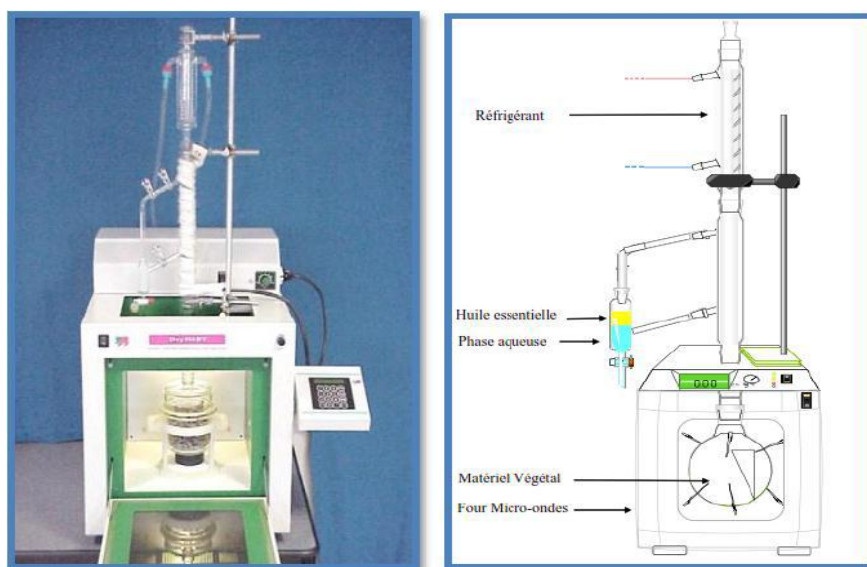


Figure 15 : Montage d'extraction assisté par micro-ondes [51].

1.1.3.5. L'extraction par les ultrasons

Les ultrasons sont des ondes mécaniques capables de se déplacer dans un milieu élastique à une fréquence supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (16 kHz). Les ultrasons de puissance fonctionnant à une intensité entre 20 et 100 kHz sont utilisés pour l'extraction des arômes et bien d'autres molécules des plantes [52]. Le principe de la technique

repose à la fois sur phénomène cavitation qui est la formation de bulles d'air ou de vapeur liquide à la suite d'une propagation d'une onde ultrasonore dans milieu d'extraction [53].

Les bulles vont imploser à côté de la surface solide (le matériel végétal) et provoquer la rupture des membranes des cellules qui libèrent leur contenus à l'extérieur. Puisque les glandes des huiles essentielles sont généralement présentes à la surface des plantes aromatiques, l'implosion des bulles de cavitation détruit les glandes qui libèrent l'HE dans le milieu environnant [52].

1.1.4. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

(Selon la norme AFNOR)

1.1.4.1. Densité relative d_{20}^{20} (NFT75-111/ISO)

La densité relative à 20°C d'une huile essentielle est le rapport de masse d'un certain volume d'huile essentielle à 20°C à la masse d'un égal volume d'eau distillé à 20°C.

1.1.4.2. Indice de réfraction n_d^{20} (NFT 75-112)

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle de d'incidence (θ_i) et le sinus de l'angle de réfraction (θ_r) d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante. La longueur d'onde spécifiée ou de référence est $\lambda = 589.3 \pm 0.3\text{nm}$ et la température de référence est de 20°C d'où la notation précédente.

1.1.4.3. Miscibilité à l'éthanol (NFT75-101)

Un huile essentielle est dite miscible à V volume et plus d'éthanol de titre alcoométrique déterminé, à la température de 20°C, lorsque le mélange de un volume de l'huile essentielle considérée avec V volume de cet éthanol est limpide et le reste après graduelle d'éthanol de même titre, jusqu'à un total de 20 volumes.

1.1.4.4. Indice d'acide IA (NFT75-103 1982/ISO)

L'indice d'acide (I.A.) est le nombre en milligramme d'hydroxyde de potassium KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres dans un gramme d'huile essentielle. L'indice d'acide augmente au cours du vieillissement de l'huile et indique le degré d'altération des esters (essentiellement des triglycérides) présents dans les corps gras. Cette caractéristique

rend compte de l'état de dégradation d'une huile dans la mesure où les acides gras libres sont des produits de dégradation et plus particulièrement d'hydrolyse des triglycérides.

1.1.4.5. Indice de saponification IS (NFT 60-206)

L'indice de saponification est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour saponifier 1g de matière grasse dans les conditions opératoires déterminées.

L'indice de saponification est inversement proportionnel aux poids moléculaires des acides gras. Elle permet d'avoir une idée sur la longueur moyenne des chaînes grasses : plus l'indice de saponification est élevé, moins longue est la chaîne des acides gras.

1.1.4.6. Indice d'ester IE (NFT 75-104-1982/ISO)

L'indice d'ester correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1mg d'huile essentielle.

1.1.5. Etude qualitative et quantitative de l'huile essentielle

1.1.5.1. Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge est utilisée depuis une centaine d'années pour identifier et quantifier la composition d'un échantillon. Elle est considérée comme une méthode analytique très puissante car elle permet d'identifier un grand nombre d'espèces chimiques.

Elle recouvre une large gamme de techniques, la plus commune étant un type de spectroscopie d'absorption. Les tables de corrélation de spectroscopie infrarouge sont largement présentes dans la littérature scientifique.

Spectroscopie infrarouge repose sur le phénomène de vibration interne (d'élongation et de déformation) des molécules. Elle exploite le fait que les molécules possèdent des fréquences spécifiques pour lesquelles elles tournent ou vibrent en correspondance avec des niveaux d'énergie discrets (mode vibratoires). Quand une lumière IR traverse un échantillon, certaines liaisons absorbent de l'énergie pour changer de fréquence de vibration, faisant apparaître des bandes dans le spectre [54].

1.1.5.2. Analyse par spectroscopie UV-Visible

La spectrophotométrie UV/Visible est une méthode d'analyse quantitative, fondée sur l'étude du changement d'absorption d'une lumière monochromatique par un milieu en fonction de la variation de la concentration d'un constituant. Cette méthode d'analyse est intéressante et

s'applique à un très grand nombre de dosages. Elle permet de travailler sur de faibles quantités de substances et elle n'est pas destructrice vis-à-vis de l'échantillon.

Le principe de la quantification consiste à doser directement le soluté en utilisant la relation de Beer-Lambert. Elle permet de déterminer la concentration de chaque substance dans l'échantillon à analyser selon la relation ou loi suivante :

$$A = \epsilon \cdot l \cdot C$$

A : Absorbance (sans unité).

ϵ : Coefficient d'extinction molaire (L.mol⁻¹.cm⁻¹).

l : Trajet optique (cm).

C : Concentration de la substance dans la solution (mol/L).

Pour pouvoir appliquer cette loi quantitative, il faut connaître le coefficient d'extinction de la substance (ϵ). Ce dernier varie en fonction du solvant dans lequel la substance est dissoute et de la longueur d'onde d'absorption.

Si le ϵ n'est pas connu, il est nécessaire de tracer une courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration avec une gamme des concentrations d'un témoin où la loi de Beer-Lambert est vérifiée (linéaire) [55].

1.2. Huile essentielle du clou de girofle

1.2.1. Composition chimique de clou de girofle

La composition du clou de girofle varie en fonction des conditions agroclimatique dans lesquelles il est cultivé, traité et stocké. Le clou de girofle de bonne qualité contiennent 15 à 20 % d'huile essentielle, des tanins, un peu d'amidon et des matières fibreuses cellulosique. L'huile essentielle du clou de girofle est très riche en eugénol de 70 à 85%, de β -caryophyllène (5 à 14 %), et d'acétate d'eugényle (4 à 15 %) [56]. Le tableau 3 représente les compositions chimiques du l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*.

Tableau 3 : Composition majeure de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* [57].

Composé	%
Eugénol	80,19
Acétate d'eugénole	7,91
β-Caryophyllène	3,79
Furan, tetrahydro-3-méthyle	2,26
2-propane,méthylhydrazone	1,54

1.2.2. Propriétés biologiques de l'huile essentielle clou de girofle

Les essais in vitro montrent de bonnes et divers capacités biologiques telles que des propriétés antibactériennes, antifongiques, antioxydants et insecticides etc. on cite quelques-uns.

1.2.2.1. Activité anti-bactérienne

L'huile essentielle du clou de girofle possède une forte activité antibactérienne. Les études sont nombreuses démontrent son efficacité contre de nombreuses bactéries, les bactéries gram positives, telles que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter* sp et *Helicobacter pylori* et contre les bactéries gram négatives, telles que *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cette activité pourrait être attribuée essentiellement à l'eugénol qui est un phénol ; le composé majoritaire de l'huile essentielle [58]. Ce dernier n'est pas le seul à être actif, l'eugényle acétate, présent généralement à 10% environ, possède également des propriétés bactéricides sur des bactéries aussi bien gram négatif que gram positif.

Ces propriétés bactéricides sont démontrées dans l'étude réalisée par MUSTHAFA KS et VORAVUTHIKUNCHI SP. A la concentration de 150µg/ml, l'eugényle acétate inhibe la production des facteurs de virulence comme la pyocyanin et pyoverdin et diminue l'activité des protéases de *P.aeruginosa*. Avec la même concentration, l'eugényle acétate diminue l'activité hémolytique du *S.aureus* et diminue la production du pigment staphyloxanthin [59].

L'huile essentielle des clous de girofle pourrait être donc une alternative à l'utilisation d'antibiotique afin de lutter contre l'apparition de certaines souches résistantes [11].

1.2.2.2. Activité antiviral

L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* est un agent antiviral puissant, elle a un effet inhibiteur contre le virus de l'herpès simplex (HSV) à une concentration de 10 µg/ml [60],

inhibe deux types de HSV : le HSV-1 et le HSV-2 grâce à son principal principe actif, l'eugénol [61].

Elle exerce aussi des effets sur les virus plusieurs niveaux : sur la fusion des cellules virales, antiHCV protéase dans le traitement de l'hépatite virale, inhibition de la synthèse de l'ADN viral [26].

1.2.2.3. Activité antifongique

L'huile essentielle du clou de girofle possède une forte activité antifongique efficaces sur différentes mycoses (cutanées, orales, unguéales), contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes, tels que les levures du genre *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata*) qui inhiberait complètement son développement dès une concentration de 0,25 ml/l, également contre *Aspergillus fumigatus* créant un cercle de 28 mm de diamètre, et contre *Cryptococcus neoformans*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium glabrum*, *P. expansum* et *A. niger* [62] [63].

Elle est particulièrement connue pour son efficacité dans le traitement des candidoses cutano muqueuses telle que, la candidose vulvovaginale. L'activité antifongique de l'huile est attribuée essentiellement à son composé majeur l'eugénol [64].

1.2.2.4. Activité antiparasitaire

L'huile essentielle des clous de girofle a une forte action antiparasitaire démontrés sur divers parasites tels que *Giardia lamblia*, *Fasciola gigantica*, *Haemonchus contortus* et *Schistosoma mansoni* [65].

Elle est incluse dans le protocole du Dr Huda Clark pour l'élimination des parasites du système digestif. Il a également été constaté qu'une solution d'eugénol à 0,05% est suffisante pour tuer *B. tuberculosus*. Elle tue les parasites intestinaux ce qui justifie son utilisation traditionnelle comme traitement des vers intestinaux et d'autres affections digestives [66].

1.2.2.5. Activité antioxydant

L'huile essentielle de clou de girofle possède le plus haut pouvoir antioxydant de toutes les huiles essentielles, peut-être l'un des plus élevés connus pour un aliment ou un complément. Elle a été incluse dans certaines formules de "longévité". Utilisé pour prévenir ou réduire les maladies chroniques comme les maladies cardio-vasculaires, les cancers et le diabète.

Son activité antioxydant est comparable à celle des antioxydants synthétiques, le BHA et le pyrogallol et comparable aussi à celle de l'antioxydant naturel, l'a-tocophérol [67] [68].

Elle présente également un effet inhibiteur significatif contre les radicaux hydroxyles et agit comme un chélateur du fer.

Elle peut également être utilisée pour aider à rompre la dépendance au tabac.

L'eugénol inhibe l'activité de la 5-lipoxygénase et le leucotriène-C4 dans les cellules PMNL humaines [56].

1.2.2.6. Activité anti-inflammatoire

L'eugénol, le principal composant de l'huile du clou de girofle, fonctionne comme une substance anti-inflammatoire, inhibe les molécules impliquées dans le processus inflammatoire déclenché par l'organisme en réaction à une agression subie. Cela permet d'éviter l'apparition de rougeurs et la sensation de chaleur qui en découle.

Dans les études animales, l'ajout d'extrait de clou de girofle à des régimes déjà riches en composants anti-inflammatoires (comme l'huile de foie de morue, avec sa teneur élevée en acides gras ω -3) apporte un effet synergique. Dans certaines études, il réduit encore les symptômes inflammatoires de 15 % supplémentaires. Le clou de girofle contient également une variété de flavonoïdes, dont le kaempférol et la rhamnetine, qui contribuent également aux propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes du clou de girofle. Un autre constituant de l'huile de girofle, le b-caryophyllène, contribue également à l'activité anti-inflammatoire [69].

1.2.2.7. Activité antithrombotique

L'huile de clou de girofle est un inhibiteur efficace de l'agrégation des plaquettes humaines induite par l'acide arachidonique, le facteur d'activation des plaquettes ou le collagène. Elle inhibe aussi l'agrégation plaquettaire et la synthèse du thromboxane et agit comme un agent antithrombotique [70].

1.2.3. Toxicité de l'huile essentielle du clou de girofle

Le clou de girofle soit en usage externe ou interne n'est pas sans risque, son huile essentielle peut s'avérer toxique si on ne respecte pas les précautions d'emploi. Elle peut provoquer des effets indésirables comme des nausées, des vomissements, des diarrhées, de fortes hémorragies digestives, des sensations de brûlure, une irritation locale de la peau, un œdème

pulmonaire, une sensibilité de la bouche et une fermeture soudaine des voies respiratoires inférieures etc.

Elle est déconseillé aux femmes enceintes ou allaitantes, aux enfants de moins de 12 ans qui peut leurs provoquer un risque de coagulation intravasculaire disséminée et d'acidose, ainsi qu'aux personnes ayant une peau fragile ou des ulcères gastriques ou le syndrome du colon irritable et les personnes souffrant d'hypertension ou de problèmes hépatiques.

La dose acceptable journalière chez l'homme a été établie à 2,5 mg/ kg/jour, ce qui représente environ huit gouttes par jour pour un adulte de 70 kg. Il est préférable de ne pas dépasser une durée de traitement de cinq, voire sept jours. Donc il faut l'utiliser sur de courtes durées et avec l'avis du médecin, car elle contient plus de 80% d'eugénol, qui est une molécule aromatique classée parmi les 26 composés odorants allergènes.

Son utilisation en diffusion, doit être mélangée avec d'autres huiles essentielles plus douces [71] [72].

1.2.4. Conservation de l'huile essentielle clou de girofle

Pour obtenir une huile essentielle de qualité il est nécessaire de respecter obligatoirement certaines règles et précautions indispensables de conservation. Après l'extraction de l'HE de clou de girofle, il est obligatoire de la conservée dans des flacons en verre opaques brun ou bleu hermétiquement fermées pour la préserver de la lumière et de l'oxygène, il faut également éviter le contact avec l'air, pas d'ouverture prolongée des flacons, car les huiles essentielles sont volatiles, par conséquent elles s'évaporent dans l'atmosphère et perdent progressivement leurs propriétés et leurs arôme. Les flacons doivent être stockés en position verticale, car en position horizontale il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile, les huiles essentielles ont une action corrosive sur le plastique et particulièrement du clou de girofle. Il faut les tenir loin des sources de chaleur, et les gardée les à une température basse entre 4-5 °C.

En général, dans ces conditions, les huiles essentielles se conservent plusieurs années, elles ont même tendance à se bonifier avec le temps, à l'exception des huiles essentielles extraites des zestes d'agrumes qui ne se conservent pas plus de 2 ans [73] [74].

2. Matériel et Méthodes

2.1. Objectif de travail

Cette étude vise particulièrement à :

- Procéder à l'extraction de *Syzygium Aromaticum* (clous de girofle) par hydrodistillation type Clevenger.
- Calculer le rendement de l'huile essentielle de *Syzygium Aromaticum*.
- Effectuer une étude des caractéristiques physico-chimiques.
- Effectuer une analyse de la composition chimique par les deux méthodes spectroscopiques IR.
- Effectuer une étude phytochimique.
- Etudier l'activité antibactérienne de l'huile essentielle à différentes concentrations sur deux souches pathogènes *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

2.2. Matériel

2.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de clous de girofle, c'est la partie utilisée de la plante (les boutons floraux). Il est importé de l'Indonésie et disponible sur le marché tout au long de l'année. Nous l'avons acheté dans un marché local de la ville de Tizi-Ouzou et broyé avec un moulin électrique (figure 16 et 17).



Figure 16 : Bourgeons de clou de girofle sec utilisé.



Figure 17 : Clous de girofle broyé.

2.2.2. Extraction

L'huile essentielle de clou de girofle a été extraite par hydrodistillation type Clevenger à l'aide de montage qui est constitué des éléments suivants et qui est présenté sur la Figure 18.

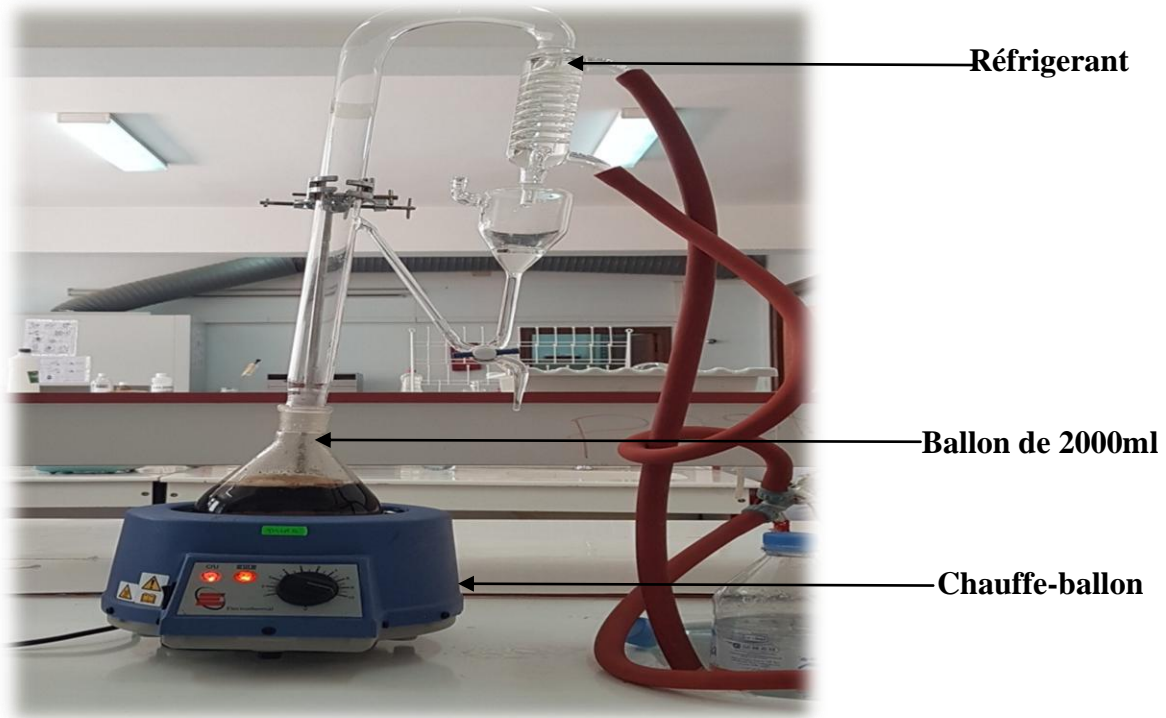


Figure 18 : Montage d'hydrodistillation type Clevenger.

2.2.3. Etude analytique de l'huile essentielle de *Syzygium Aromaticum*

Dans le but d'estimer la qualité commerciale de l'huile essentielle étudiée, nous avons calculé suivant l'association française de normalisation AFNOR les indices physiques et chimiques [78].

2.2.3.1. Calcul de rendement

Le rendement en l'huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter. Le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$\text{RHE}(\%) = (M1/M0) \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle des clous de girofle.

M1 : Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme

M0 : Masse des clous de girofle broyés en gramme.

2.2.3.2. Les analyses physico-chimiques

2.2.3.2.1. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) sont des indications qui permettant d'évaluer initialement la qualité d'une huile essentielle.

2.2.3.2.2. La densité

La densité relative à 20 °C d'une huile essentielle est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique d'un corps pris comme référence ; de l'eau distillée à 20°C.

La détermination de la densité relative à 20 °C a été réalisée à l'aide d'un pycnomètre capacité de 5 ml.

2.2.3.2.3. Mesure du pH

La mesure de pH à 20°C a été réalisée à l'aide d'un papier pH.

2.2.3.2.4. L'indice d'acide

L'indice d'acide a été fait à l'aide d'une burette de capacité de 25 ml et de ballon de 50ml.

2.2.3.2.5. L'indice de saponification

L'indice de saponification a été réalisé avec une burette graduée de capacité de 25 ml, un ballon de 250 ml et un réfrigérant à reflux.

2.2.3.3. Analyses spectroscopiques

2.2.3.3.1. Spectroscopie infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre AVATAR 320, au laboratoire de Chimie de l'Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou, Les échantillons d'huile ont été dilués dans une matrice de KBr (transparente aux infrarouges) et Les fréquences d'absorption (ν) sont données en cm^{-1} (figure 19).



Figure 19 : Spectrophotomètre IR.

2.2.4. Matériel microbiologique

Le test d'activité antibactérienne de l'huile essentielle de clou de girofle a été réalisé au laboratoire de la Faculté des Sciences Biologiques à l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

2.2.4.1. Souches bactériennes

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été faite selon la méthode de diffusion sur disques. Le tableau 4 représente les souches utilisées pour les tests.

Tableau 4 : Liste des souches microbiennes utilisées.

Souches bactériennes	Gram	Famille	Code
<i>Escherichia. Coli</i>	G-	Enterobacteriaceae	ATTC25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	G+	Micrococcaceae	MU50

Ces deux souches bactériennes qui ont été utilisées dans notre travail l'un est une bactérie Gram-négatif (G-) qui est *Escherichia. Coli* et l'autre une bactérie Gram-positif (G+) *Staphylococcus aureus*. Le choix des souches a été porté sur la base de leur importance en tant qu'agents infectieux dans le domaine de la santé.

2.2.4.2. Milieu de culture

Suivant la méthode employée et les souches étudiées, le milieu de culture utilisé est la gélose Mueller Hinton (MH).

2.3. Méthodes

2.3.1. Extraction de l'huile essentielle de clous de girofle

L'extraction de l'huile essentielle des clous de girofle a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (Figure18) 100 g de matière végétale sèche a été mise dans un ballon de 1000 ml à fond rond additionné d'un volume de 750ml d'eau distillée. Le tout est porté à l'ébullition pendant 1h30 à 2h. Les vapeurs chargées d'huile essentielle sont entraînées et condensées dans un réfrigérant. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec des gouttes d'huile essentielle. Après repos du liquide, l'huile se sépare de l'eau par différence de densité.

Donc l'huile extrait est ensuite récupérée et conservée à 4°C dans un tube en verre opaque, fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière.

2.3.2. Analyses physico-chimiques

2.3.2.1. La densité relative d_{20}^{20} (NFT75-111/ISO)

La méthode de référence utilise des pycnomètres. Des volumes d'huile essentielle et d'eau sont successivement pesés

A l'aide d'une balance analytique, effectuer les pesées successives de volume égal d'huile et d'eau à la température de 20°C d'un pycnomètre.

- ☞ Bien nettoyer le pycnomètre et le sécher.
- ☞ Déterminer la masse M_0 du pycnomètre.
- ☞ Remplir les deux pycnomètres d'huile essentielle et d'eau distillée et les mettre au bain marie à 20°C pendant 30 min.
- ☞ Déterminer la masse m_1 du pycnomètre remplie d'eau distillé.
- ☞ Déterminer la masse m_2 du pycnomètre contenant l'huile essentielle.

On calcule la densité avec la relation suivante :

$$d_{20}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m0 : Masse du pycnomètre vide.

Avec : **m2** : Masse du pycnomètre remplie avec l'huile.

m1 : Masse du pycnomètre remplie d'eau distillée.

2.3.2.2. Mesure du pH

Le pH l'abréviation de potentiel d'hydrogène mesure l'activité chimique des ions Hydrogènes (H⁺) (appelés aussi couramment protons) en solution. Plus couramment, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient Permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre : elle est acide si son pH est inférieur à 7, neutre s'il est égal à 7, basique s'il est supérieur à 7 [79].

Nous avons mis quelques gouttes d'huile essentielle sur un bout de papier pH, après le changement de la couleur du papier on la compare avec une gamme de couleur varient selon le pH.

2.3.2.3. Indice d'acide (NFT75-103 1982/ISO)

0,5 g d'huile essentielle sont introduites dans un ballon contenant 1,5 ml d'éthanol neutralisé et 2 à 3 gouttes d'indicateur coloré phénolphtaléine, nous titrons ensuite le liquide avec la solution de KOH (0,1N).

Nous poursuivons l'addition jusqu'à l'obtention du virage persistant de la solution rose pendant 30 secondes. Nous notons le volume de la solution d'hydroxyde de potassium KOH (figure 20).

L'indice d'acide (IA) est calculé par la formule suivante :

$$IA = \frac{56,1 \cdot V \cdot N}{m}$$

IA: Indice d'acide

N: normalité de KOH.

V: le volume consommé de KOH en ml.

m : masse de l'huile en g.

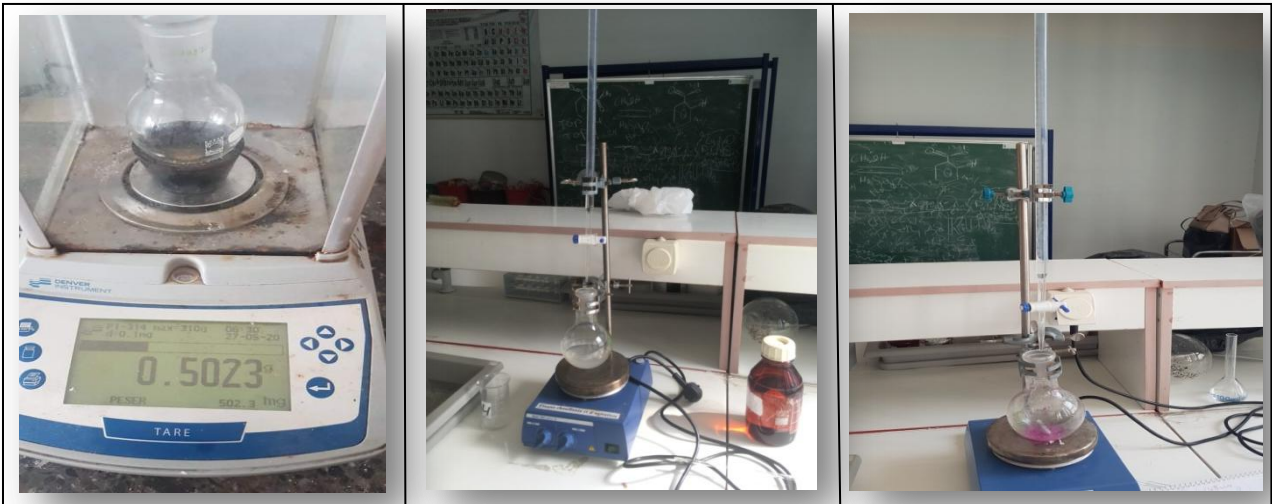


Figure 20 : Détermination de l'indice d'acide.

2.3.2.4. Indice de saponification (NFT 60-206)

Dans un ballon de 250 ml munie d'un réfrigérant à reflux, on introduit 100 mg d'huile essentielle, on ajoute 25 ml de KOH alcoolique (0.5N) en agitant. Chauffer à reflux pendant 30 mn. Et puis on ajoute 1ml de phénolphaléine. Titrons immédiatement par HCl (0.5N) (figure 21).

On effectue un essai à blanc dans les mêmes conditions.

L'indice de saponification est évalué à l'aide de la relation :

$$IS = \frac{56.1 (V_0 - V)}{m}$$

V₀ : Volume d'HCl utilisé dans l'essai à blanc (en ml).

V : Volume d'HCl utilisé dans l'essai avec la matière grasse (en ml).

V₀ - V : Volume d'HCl qui est utilisé pour neutraliser la potasse combinée à la prise d'essai.

m : masse de la prise d'essai (en g).

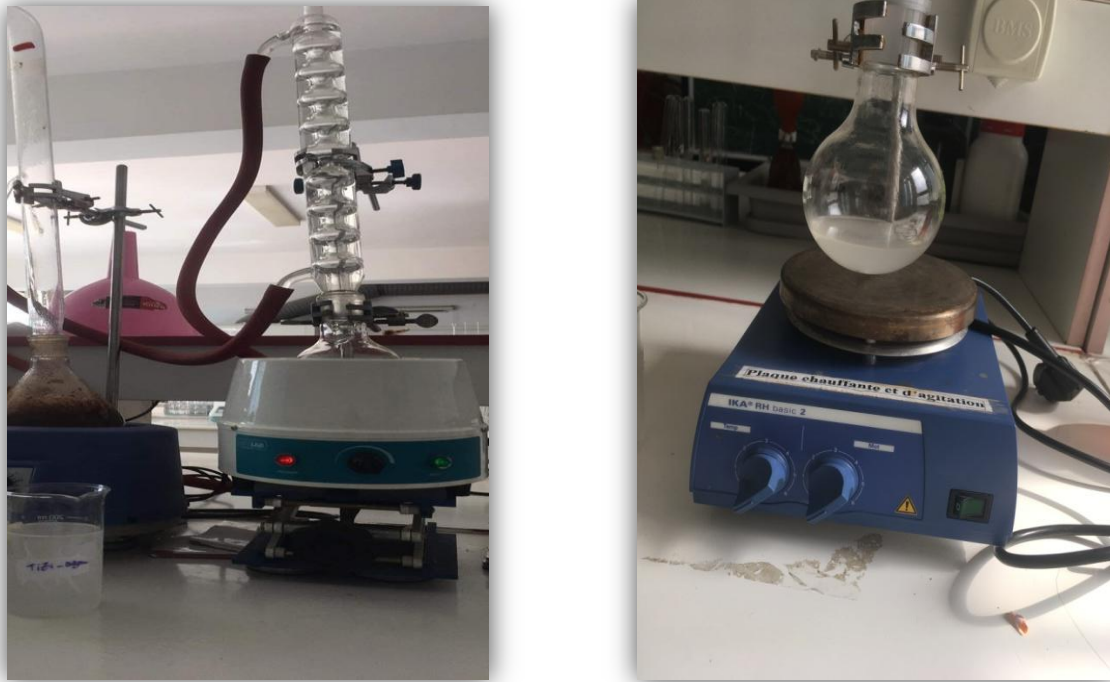


Figure 21 : Détermination de l'indice de Saponification.

2.3.2.5. Indice d'ester (NFT 75-104-1982/ISO)

Il est déterminé à partir de la relation suivante :

$$IE = IS - IA$$

Avec : **IE** : Indice d'ester.

IA : Indice d'acide.

IS : Indice de saponification.

2.3.3. Screening Phytochimique

Le screening phytochimique met en évidence la présence des familles de molécules actives, c'est une étude qualitative utilisée pour connaître la composition chimique globale des extraits [80].

2.3.3.1. Infusion

Dans un bécher on introduit 10 g de poudre végétale des clous de girofle dans 100 ml d'eau distillé bouillant, qu'on laisse infuser pendant 15 mn à une température ambiante puis on filtre et on rince avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 100 ml de filtrat (figure 22).



Figure 22: Infusion de poudre des clous de girofle.

2.3.3.2. Les Flavonoïdes

5 ml d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois et 2 à 3 copeaux de magnésium sont ajoutés à 5 ml de l'extrait, il ya un dégagement de chaleur.

La coloration rose-orangé ou violacée, après 3 mn d'incubation à température ambiante indique la présence des flavonoïdes.

2.3.3.3. Les Saponosides

Les saponosides sont caractérisés par un indice de mousse. Leur détection est réalisée en ajoutant 1ml d'eau à 2 ml de l'extrait, après agitation, le mélange est abandonné pendant 15 minutes et la teneur en saponosides est évaluée:

Pas de mousse = test négatif (-)

Mousse moins de 1cm = test faiblement positif(+)

Mousse de 1-2cm = test positif (++)

Mousse plus de 2cm = test très positif (+++).

2.3.3.4. Les Tanins

L'ajout de quelques gouttes de FeCl_3 diluée 1% à 1ml d'extrait et 1 ml d'eau distillé permet de détecter la présence ou non de tanins. L'apparition d'une coloration verte foncée au bleu noir indique la présence des tanins.

2.3.3.5. Les Terpénoides

On ajoute à 5 ml de notre extrait 2 ml de chloroforme et 3 ml de H₂SO₄ concentré. La présence des terpénoides est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marron en interphase.

2.3.3.6. Les Stéroïdes

5 ml de l'extrait à lequel on rajoute 1 ml d'anhydride acétiques, nous avons ajouté 0.5 ml d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive.

2.3.3.7. Les Alcaloïdes

Les testes sont réalisés par des réactions de précipitation avec le réactif de Mayer, on introduit 5 g de poudre végétale sèche dans un erlenmeyer, à laquelle 50 ml de H₂SO₄ dilué au 1/10 avec de l'eau distillé est ajouté. Ce mélange a été agité et macéré pendant 24 h. ensuite, 1 ml du filtrat, 5 gouttes de réactif de Mayer sont ajoutées. L'apparition d'un précipité blanc ou brun révèle la présence d'alcaloïdes.

2.3.4. Etude de l'activité antibactérienne

2.3.4.1. Méthode de diffusion sur disques (aromatogrammes)

Le test de sensibilité des bactéries est réalisé in vitro par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les différentes souches bactériennes sont repiquées par la méthode des stries sur gélose Mueller Hinton, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. A partir de ces cultures jeunes, des colonies pures sont isolées pour préparer l'inoculum bactérien. Chaque colonie est mise en suspension dans 2.5 mL d'eau physiologique stérile. L'ensemencement de l'inoculum est réalisé par écouvillonnage, en effectuant des stries serrées sur la gélose. Cette opération est répétée 3 fois en tournant la boîte de 60°. Tous les disques stériles de papier Wattman de 6 mm de diamètre sont déposés délicatement sur le milieu gélosé ensemencé préalablement avec une suspension bactérienne des souches testées. Ensuite, des doses différentes de 4,8, 12, 16 µl de l'HE sont déposées.

Après incubation à 37 °C durant 24 heures, les diamètres des zones claires d'inhibition autour des disques sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle.

Le protocole des tests microbiologiques est représenté dans la figure 23.

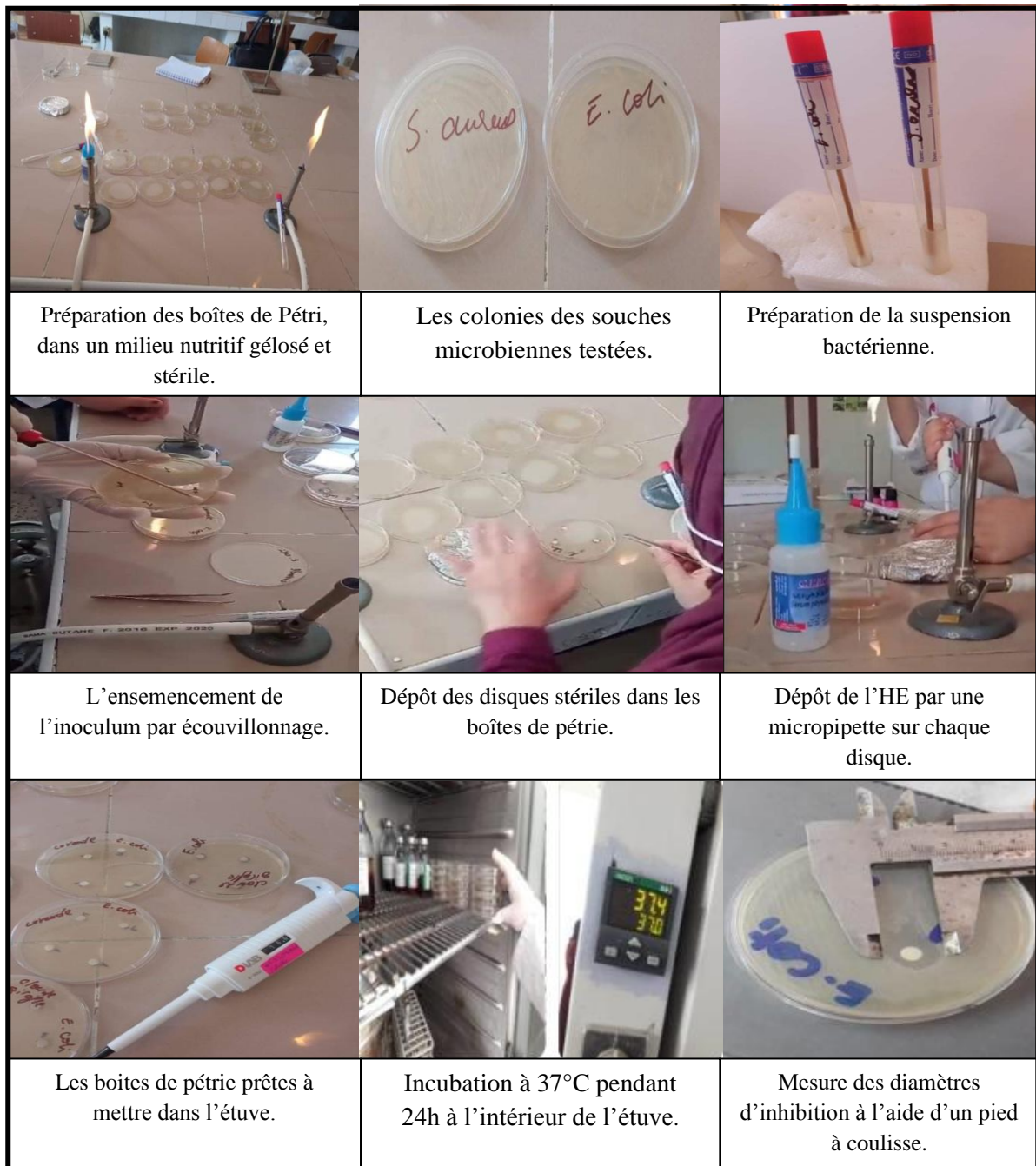


Figure 23: Protocole des tests microbiologiques.

3. Résultat et Discussion

3.1. Description de l'huile essentielle de clou de girofle

3.1.1. Caractéristiques organoleptiques

Les résultats mentionnés dans le tableau montrent une comparaison entre les caractéristiques de notre huile essentielle extraite de clou de girofle avec les normes d'AFNOR.

Le tableau 5 représente les caractéristiques organoleptiques.

Tableau 5: Caractéristiques organoleptiques.

	Aspect	Couleur	Odeur
Norme AFNOR	Liquide mobile Limpide parfois Légèrement visqueux	Jaune très claire	Epicée (caractéristique de l'eugénol)
Huile essentielle étudié	Liquide mobile limpide	Jaune très claire	Epicée

Selon ces résultats obtenus, on remarque les paramètres organoleptique de notre l'huile essentielle sont en accord avec celles décrites par les normes AFNOR.

3.2. Les analyses de l'huile essentielle

3.2.1. Rendement

Le rendement de l'H E extraite par Clevenger à l'échelle de laboratoire des clous de girofle est mentionné dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6 : Résultat du rendement d'HE de l'espèce *Syzygium aromaticum*

Rendement%	Huile essentielle étudiée	Norme AFNOR	
	3.62	Minimum	Maximum
		5	8

Au vu de notre faible rendement qui est de 3,62 est probablement dû à une perte d'huile dans la phase aqueuse du distillat. On peut dire qu'en termes de quantité, malgré que ce pourcentage semble inférieur par rapport aux normes AFNOR, ce rendement reste dans la pratique satisfaisant pour mener bien à une telle étude.

En termes de valeurs, le rendement en H.E. de Clous de Girofle est significativement ($P < 5\%$) meilleur par rapport aux rendements obtenus en H.E par Adli, (2015) qui a obtenu un

rendement égale à 0.84%. [30]. Selon certains auteurs, la composition chimique et le rendement en H.E.varient suivant diverses conditions :

La méthode employée, les parties végétales utilisées et les produits et réactifs utilisés pendant l'extraction, l'environnement, le génotype de la plante, son origine géographique, la période de récolte de cette plante, le degré de séchage, les conditions de séchage, la température et la durée de séchage, présence de parasites, de virus et mauvaises herbes [81].

3.2.2. Analyses physique

3.2.2.1. La densité

La détermination des caractéristiques physiques de l'huile essentielle de clou de girofle a été réalisée au Laboratoire chimie pharmaceutique du Département de Chimie de l'UMMTO.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 7 : Résultat de la densité de l'HE de l'espèce *Syzygium aromaticum*

La densité	HE étudiée		Selon la norme AFNOR	
	1.062	minimum	maximum	
		1.042	1.054	


Le résultat obtenu est du même ordre de grandeur : la densité de cette l'huile est 1.062. Le clou de girofle fournit une huile d'une densité plus élevée que les autres huiles, puisqu'elle est légèrement supérieure à 1.

3.2.3. Analyses chimique

3.2.3.1. Contrôle de PH

Le tableau 8 représente le résultat du pH de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*.

Tableau 8 : Résultat du pH d'HE de *Syzygium aromaticum*.

PH	HE étudié		Selon la norme AFNOR	
	5.5		Minimum	maximum
			5.5	7

Selon les analyses notre PH est entre 5 et 6, C'est un pH légèrement acide; ceci est dû à la composition chimique des HE de *Syzygium aromaticum* qui se considère comme donneur des H⁺.

3.2.3.2. Les indices chimiques

3.2.3.2.1. L'indice d'acide

L'indice d'acide est un critère de qualité de l'huile. Il permet de déterminer la teneur en acide gras libres, la stabilité et la pureté de l'huile essentielle.

Le résultat obtenu lors de la détermination de cet indice pour notre l'huile est représenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau 9: Résultat de l'indice d'acide de l'espèce *Syzygium aromaticum*.

L'indice chimique	Résultat	Norme AFNOR
L'indice d'acide (Ia) (en mg KOH/g)	7.46	Maximum 2

La valeur d'indice d'acide de l'huile essentielle est de 7.46 en mg KOH/g d'huile, on constate que notre résultat est supérieur à 2. Ce qui indique que notre l'huile a subi une dégradation oxydative durant sa conservation.

3.2.3.2.2. L'indice de saponification

L'indice de saponification nous informe sur la longueur de la chaîne carbonée des acides constituant l'huile.

Le résultat obtenu lors de la détermination de cet indice pour notre l'huile est représenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau 10 : Résultat de l'indice de saponification d'HE de clou de girofle.

L'indice chimique	Résultat
L'indice de saponification(Is) (en mg KOH/g)	188,56

La détermination de l'indice de saponification (Is) a permis d'enregistré la valeur 188.56. En rappelant que la valeur de IS reflète la longueur de la chaîne des acides gras, on vérifie bien sur le tableau 11 que les huiles à courtes chaînes comme le coton et le palme ont des IS

supérieurs à 200, tandis que les huiles à chaînes plus longues comme le soja, l'arachide, le tournesol, et aussi les huiles de grenadille et de courge ont des IS inférieurs à 195 [82].

D'après ces données rapportées dans le tableau 11 et le résultat obtenu on peut dire que l'huile essentielle de clou de girofle est une huile à chaîne longue.

Tableau 11 : Indices de saponification d'huiles végétales

Corps gras	Indice de saponification(Is)	Acides gras majeurs
Huile de coco	256	C ₁₂
Huile de palme	200	C ₁₆
Huile de soja	192	C ₁₈
Huile d'arachide	190	
Huile de tournesol	190	

3.2.3.2.3. L'indice d'ester

A partir des deux indices (l'indice d'acide et l'indice de saponification) nous pourrions déduire l'indice d'ester de notre l'huile essentielle.

Le résultat de l'indice d'ester est représenté dans le tableau suivant :

Tableau 12: Résultat de l'indice d'ester d'HE de clou de girofle.

L'indice chimique	Résultats
L'indice d'ester (Ie) (en mg KOH/g)	181.1

L'indice ester est un indicateur renvoyant directement à la qualité de l'huile essentielle étudiée. En effet, l'huiles essentielles de très bonnes qualités renferment une très grande quantité d'esters (et proportionnellement, plus la qualité d'une huile est élevée, et plus elle contiendra d'esters). D'après notre résultat enregistré dans tableau 12 on constate que l'indice d'ester trouvé est élevé, ce qui traduit que notre l'huile est de très bonnes qualité renferment une grande quantité d'ester.

3.2.4. Analyse par spectroscopie Infra Rouge IR

Le spectre infrarouge est représenté dans la figure 25.

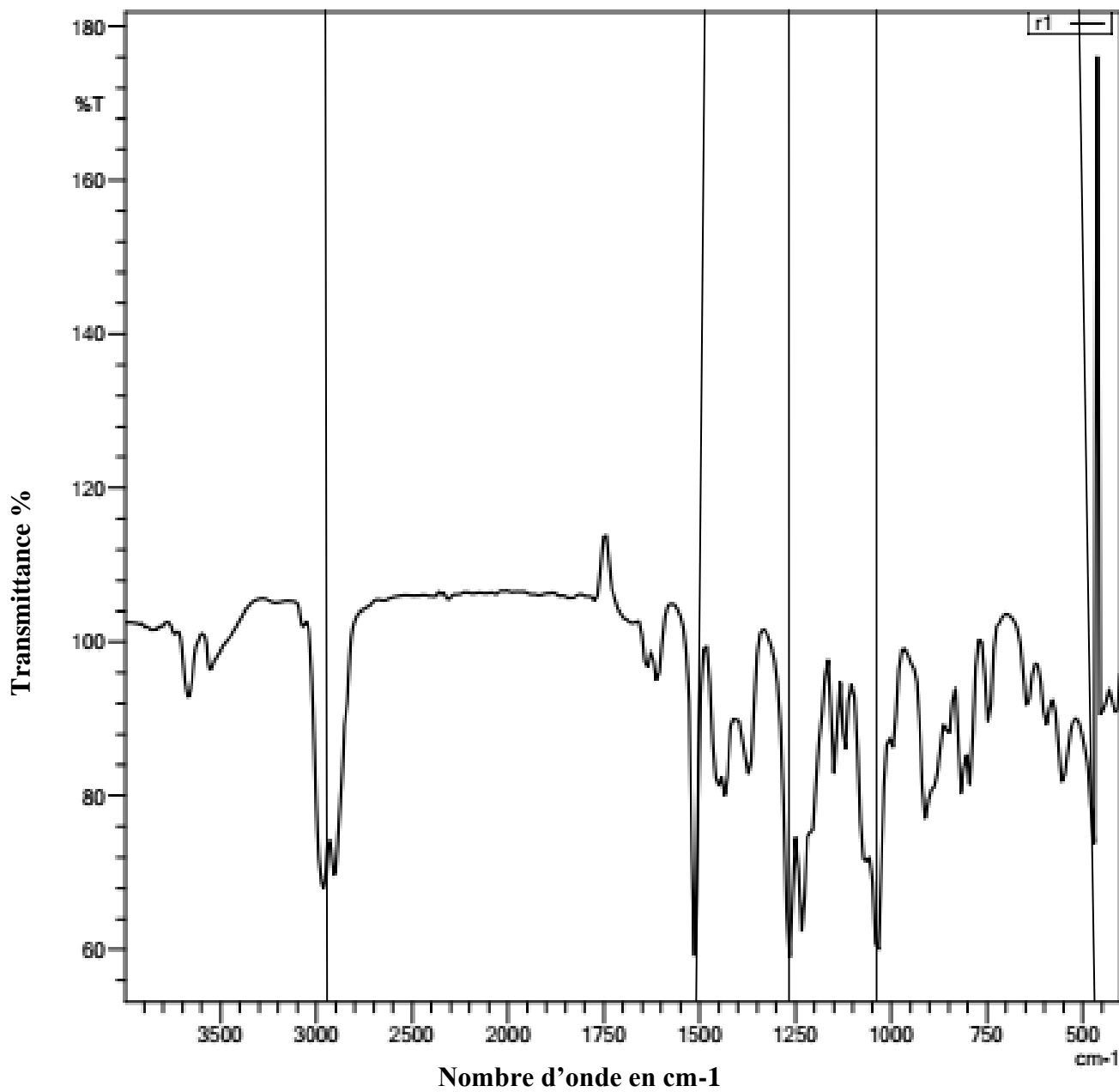


Figure 24 : Spectre IR de l'HE de clou de girofle.

Nous observons sur le spectre IR obtenu une bande vers 3000 cm^{-1} qui caractérise les liaisons (C-H) des groupements alkyles, une autre bande apparaît vers 1550 cm^{-1} qui caractérise la liaison C=C du cycle aromatique, la bande qui présente la fonction C-O est à 1300 cm^{-1} , et la bande apparaît vers 1050 cm^{-1} caractérise la liaison C-C.


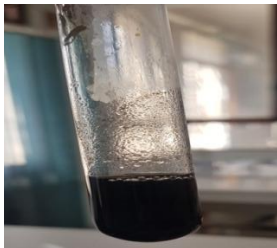
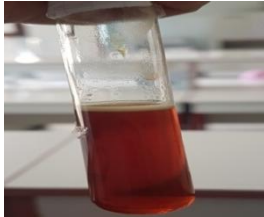



Comme on peut diviser ce spectre infrarouge en quatre zones spectrales qui apportent des informations sur les fonctions chimiques :

- $500\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ comprend de nombreuses vibrations attribuables aux chaînes saturées et insaturées.
- $1000\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$ caractérise des élongations (C-O).
- $1400\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ correspond aux élongations (C=C).
- $2850\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ correspond aux vibrations d'élongations (C-H) pour les chaînes saturés et insaturés.

3.3. Etude phytochimiques

Les résultats des tests phytochimiques sont réalisés sur un extrait infusé sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 13 : Résultats des tests phytochimiques de clou de girofle.

Métabolites secondaires	Résultats	
Saponosides	++	
Tanins	+	
Stérol	-	
Téropénoïde	+	
Alcaloïde	-	
Flavonoïde	++	

(+++): Fortement présent.

(++): Moyennement présent.

(+): Faiblement présent.

(-): test négatif.

Les résultats obtenus indiquent la présence des flavonoïdes, saponosides en quantités importantes, et la présence d'une quantité modérée des terpénoïdes et tanins et enfin l'absence des alcaloïdes et stérol.

3.4. Évaluation de l'activité antibactérienne

Cette étude est basée sur la mesure des diamètres d'inhibition mesurée avec précision à l'extérieur de la boîte fermée à l'aide d'un pied à coulisse. Le Classement des bactéries se fait dans l'une des catégories : sensible ou résistante. La souche ayant un diamètre [83] :

$D < 8\text{mm}$: Souches résistante (-).

$9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$: Souches sensible (+).

$15\text{mm} \leq D \leq 19\text{mm}$: Souches très sensible (++)

$D > 20\text{ mm}$: Souches extrêmes sensible (+++)

Le tableau 14 représente les résultats des aromatoigrammes de l'huile essentielle de *Syzgium aromaticum*.

Tableau 14: Résultats des aromatoigrammes de l'HE de *Syzgium aromaticum*.

	Doses de l'HE de clou de girofle (µl)				
	4	8	12	16	
<i>E.coli</i>	10	13	14,5	20	Diamètre d'inhibition
	+	+	++	+++	Sensibilité
<i>S.aureus</i>	11	14	14	14	Diamètre d'inhibition
	+	+	++	++	Sensibilité

Nous avons testé l'effet antimicrobien, sur *E.coli* et *S.aureus*. Les résultats expérimentaux qu'on a obtenus sont très satisfaisants, Nous constatons que l'huile essentielle de *Syzgium*

aromaticum a été très active contre ces deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, cette dernière s'est avérée être plus sensible que la première, avec une zone d'inhibition d'un diamètre maximal de 20 mm. On remarque également que la concentration de l'huile essentielle a une relation avec les zones d'inhibitions ; plus la concentration est élevée, plus la zone d'inhibition est grande.

De nombreuses études, ont démontré que l'HE de Clou de Girofle est fortement antibactérienne. Selon l'étude de Rhayour, l'HE du clou de girofle exerce son activité bactéricide principalement grâce à son constituant majoritaire qui est l'eugénol qui appartient à la famille des phénols. Il semble donc que l'activité bactéricide des HE débiterait par une fixation de ces molécules sur les membranes bactériennes provoquant des altérations de structure et de perméabilité, conduisant à la perte de constituants cellulaires due à une lyse importante des cellules bactériennes [84].

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales et aromatiques constituent une véritable source inépuisable des substances et composés biochimiques actifs connus pour leurs propriétés thérapeutiques.

Le présent travail avait pour objectif d'extraire l'huile essentielle, d'étudier les caractéristiques physico-chimiques, déterminer les compositions chimiques et d'évaluer l'activité antibactérienne de l'espèce *Syzygium aromaticum*.

L'huile essentielle extraite par hydrodistillation révèle un rendement faible de 3,62% ceci est dû à une perte d'huile dans la phase aqueuse, néanmoins ce résultat reste conforme aux normes AFNOR.

L'étude des propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de clou de girofle ont montré que notre l'huile présente une densité de 1,062 et son pH est de 5.5 révèle qu'elles sont conformes aux normes établies par les différentes pharmacopées et proches de certains travaux antérieurs.

Et la détermination des indices chimiques (indice d'acide, saponification et d'ester) nous a permis d'avoir certaines connaissances sur la qualité, la pureté de notre l'huile et la quantité des acides gras présents dans notre l'huile .

Par la suite, l'étude phytochimique et l'analyse spectroscopique IR nous a permis de découvrir les molécules existantes responsables des activités biologiques de l'huile essentielle de clou de girofle.

L'évaluation du pouvoir antibactériens du l'huile essentielle de clou girofle par la méthode de diffusion sur disques montre que notre l'huile est très active contre les deux souches : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition varie entre 10mm et 20mm.

De ce fait, l'huile essentielle de clou de girofle testée présente un large spectre d'activité antibactérien qui peut être utilisé comme étant un conservateur et un antiseptique dans les industries alimentaires, cosmétique et pharmaceutique.

La continuité de ce travail s'avère primordial et plusieurs axes de recherche sont ouverts. En perspectives, il serait donc intéressant de mener une étude plus approfondie sur la plante (clou de girofle).

Références Bibliographiques

- [1]- **Haddouch F, Benmansour A.**2008. Huiles essentielles et activités biologique. Les technologies de laboratoire,20(8).
- [2]- **Lobstien A, Couic-Marinier F, Barbelet S.**2017. Huile essentielle de clou de girofle, Actualité pharmaceutique, 569, p 59-60.
- [3]- **BOTANIEUM M.**2010. Botanique systématiques et appliquée des plantes à fleurs. TEC&DOC. Lavoisier paris, P283-286.
- [4]- **Bonnemain B.**2011.l'histoire de la pharmacie.pesée,98(371),375-378.
- [5]- **PERRIER DE LA BÂTHIE H.** 1953. Flore de Madagascar et des Comores, 152ème famille, Myrtacées. Paris : Firmin-Didot et Cie, p1-2.
- [6]- **AMSHOFF GJH.** 1966. Myrtacées. Paris : MNHN, 16, p 3-4.
- [7]- **DUPONT F, GUIGNARD JL.** 2012. Botanique : les familles des plantes. 15ed. Issy-les Moulinaux : Elsevier Masson. p16.
- [8]- **ARVY M-P, GALLOUIN F.**2003. Epices Aromates et Condiments.2ed. Paris : BELIN. P146-148.
- [9]- **CECCHINI T.**2008.Les plantes médicinales.Luçon France.Vecchi.
- [10]- **MOHAMMED N, AHMED H, HUSSEIN M.**2015.Qualitative analysis of the essential oil of syzygium aromaticum (l.) (clove) using gas chromatography-mass spectrometry (gc-ms). INTERNATIONAL JOURNAL OF RESEARCH IN PHARMACY AND CHEMISTRY, 5(2), 350-354.
- [11]- **Barbelet S.** 2015, Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle. Thèse de Doctorat d'Etat de docteur en pharmacie : Université de Lorraine, France.
- [12]- **Teuscher E, Anton R, Lobstein A.** 2005. Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et leurs huiles essentielles. Paris: Lavoisier p266.
- [13]- **Hakki A, Ertas M, Nitz S, Kollmannsberger H.**2007. Chiminal composition and content of essentiel oil from the bud of cultivated turkish clove (syzygium). Bioresources, 2(2) ,265-269.

- [14]- **FRANÇOIS Edm.** 1936. Giroflier et Girofle. Inspecteur Général des Services de l'Agriculture dans les Colonies 16^e année, bulletin n°180, p 589-608.
- [15]- **Marionneau C, Charretier F.** 2009. Livret d'hiver. Gaulle : Satim. p 9.
- [16]- **Michels T, Bisson A, Ralaidovy V, Rabemananjara H, Jahiel M, Malézieux E.** 2011. Horticultural agroforestry systems in the humid tropics : Analysis of clove tree-based systems in Madagascar. *Acta Horticulturae*, 894, p161-167.
- [17]- **Brickell C, Mioulane P.** 2004. Royal Horticultural Society (Grande-Bretagne). Encyclopédie universelle des 15 000 plantes et fleurs de jardin. *Larousse*. Paris. p989.
- [18]- **Kamatou, G. P, Vermaak, I., & Viljoen, A. M.** 2012. Eugenol from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*, 17(6), p6953-6981.
- [19]- **PAUL I** .2001. LAROUSSE Encyclopedia des plantes médicinales : Identification, préparations, soins. 2ed. Londres : Annie Botrel. p 99.
- [20]- **Richard H.** 1978. Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles ; Bureau National d'Informations Scientifiques et Techniques (BNIST) ; Itec. Doc. Paris. p162.
- [21]- **Georgetti, S.R, Casagrande, R, Di Mambro, V.M, Azzolini Ana, E.C.S, Fonseca Maria, J.V.** 2003. Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the Chemiluminescence Methode. *AAPS Pharm Sci*, 5 (2), p 1-5.
- [22]- **Fu Y, Zu. Y, Chen L, Shi X, Wang Z, Sun S, Effeth.T.** 2007. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination ; Key Laboratory of Forest Plant Ecology ; Ministry of Education ; Northeast Forestry University. China, 53, p 45-78.
- [23]- **Lamendin H, Toscano G, Requirand P.**2004.Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires. *EMC-Dentisterie*, 1, p179-192.
- [24]- **UJU DE, OBIOMA NP.** 2011. Anticariogenic potentials of clove, tobacco and bitter kola. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 4(10), p 814 818.
- [25]- **KLEIN AH, CARSTENS ML, CARSTENS E.** 2013. Eugenol and carvacrol induce temporally desensitizing patterns of oral irritation and enhance innocuous warmth and noxious heat sensation on the tongue, *Pain*.154(10), p 2078-2087.

- [26]- **Ghedira K, Goetz P, Le Jeune R.** 2010. *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflie, Phytothérapie, 8, p 286-287.
- [27]- **AGBAJE EO.** 2008. Gastrointestinal effects of *Syzygium aromaticum* (L) Merr & Perry (Myrtaceae) in animal models. Nigerian quarterly journal of hospital medicine, 18(3), p 137-141.
- [28]- **SANTIN JR, LEMOS M, KLEIN-JUNIOR JC.** 2011. Gastroprotective activity of essential oil of the *Syzygium aromaticum* and its major component eugenol in different animal models. Naunyn Schmiedeberg's Archive of Pharmacology, 383(2), p 149-158.
- [29]- **Banerjee S, Kr.Panda C, Das S.** 2006. Clove (*Syzygium aromaticum* L.), A Potential Chemopreventive Agent for Lung Cancer, Carcinogenesis, 27, p1645-1654.
- [30]- **ADLI Djallal Eddine Houari.** 2015. Effets prophylactique de l'administration d'un extrait *Syzygium aromaticum* (clou de girofle) chez les rats wister en croissance intoxiqués au plomb et au magnèse. Etude biochimique, histologique et neurocomportementale : propriétés et utilisation. Thèse de Doctorat en biologie : université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella.
- [31]- **Alice D.** 2011. Faisabilité de la mise en place d'une Indication Géographique Sur le Clou de girofle à Madagascar Ecole supérieure d'Agro-Développement International ISTOM ; Thèse, p 65-72.
- [32]- **Viteri Jumbo L.O, Faroni L.R.A, Oliveira E.E, Pimentel M.A, Silva G.N.** 2014. Potential Use of Clove and Cinnamon Essential Oils to Control the Bean Weevil, *Acanthoscelides obtectus* Say, In Small Storage Units, Industrial Crops and Products, 56, p 27-34.
- [33]- **Smith Palmer A, Stewart J, Fyfe L.** 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essence against five important food born pathogens. Letters in Applied Microbiology. 26, p 118-122.
- [34]- **Société Chimique de France.** Vanille et vanilline [en ligne]. [Consulté le 04.09.2021]. < <http://www.societechimiquedefrance.fr/produit-du-jour/vanille-et-vanilline.html>>.

- [35]- **GLOANE C, C BOITA R, PORPHYRE V, TECHER K, JAHIEL M, WEIL M.** 2010. Valorisation des filières épices à Madagascar Potentiel et conditions d'émergence d'Indications Géographiques IG sur les filières poivre et girofle de Madagascar.
- [36]- **Georgetti S.R, Casagrande R, Di Mambro V.M, Azzolini Ana E.C.S, Fonseca Maria J.V.** 2003. Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the Chemiluminescence Methode. *AAPS Pharm Sci*, 5(2), p 1-5.
- [37]- **ROEMER E, DEMPSEY R, SCHORP MK.**2014. Toxicological assessment of kretek cigarettes, Part 1: Background, assessment approach, and summary of findings *Regul Toxicol Pharmacol*, 70(1), p 2-14.
- [38]- **Bakkal F, Averbek S, Averbek D, Idaomar M.**2007. Biological effect of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*,46(2008), 446–475.elesvier.
- [39]- **Kaloustian J, Hadji-Minaglou F.**2012. la connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie.Paris. *springer-verlag* .
- [40]- **Croteau R Kutchan T,Lewis N.**2000. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants. Physiologists American Society of Plant.*
- [41]- **Marianne Piochon.**2008.Etude des huiles essentielles d'espaces végétales de la flore laurentienne: composition chimique activités pharmacologique et hémisynthèse.thèse.université du Québec.
- [42]- **Abdelli Wafae.**2017.Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*.thèse doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem.
- [43]- **Tianming Zhao.**2014.Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques et médicinales oubliées ou sous-utilisées de Midi-Pyrénées (France) et Chongqing (Chine). thèse.université de Toulouse.
- [44]- **Asma Farhat.**2010. vapo-diffusion assistée par micro-onde: conception optimisation et application.Thèse. Université d'Avignon d'Aix Marseille
- [45]- **Lucchi Marie Elisabeth.**2005.Extraction sans solvant assisté par Micro-onde : Conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse. Université de la REUNION.

- [46]- **LAKHDAR.Leila**.2015.EVALUATION de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS* : Etude *in vitro*. Université MOHAMMED V DE RABAT.
- [47]- **Khalid A, Kurji B, Abdul M**.2015. Extraction and Modelling of Oil from *Eucalyptus camadulensis* by Organic Solvent. *Journal of Materials Science and Chemical Engineering*, 3, 35-42.
- [48]- **Besombes Colette**.2008.Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo-mécanique d'herbes aromatiques : Applications généralisées.Université de La Rochelle.
- [49]- **Chemat F, Abert Vian M**.2014. Alternative solvent for natural products extraction.springer-avignon.france.
- [50]- **Meullemiestre A, Breil C, Abert-Vian M, Chemat F**.2015.Modern Techniques and Solvents for the Extraction of Microbial Oils.springer.New York.
- [51]- **Ferhat A,Tigrine-Kordjani N, Chemat S, Meklati B,Chemat F**.2006.Rapid extraction Rapid Extraction of Volatile Compounds Using a New Simultaneous Microwave Distillation: Solvent Extraction Device.*Academia*,65,217-222.
- [52]- **Mnayer Dima**.2014. Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse.Universite d'Avignon et des pays de Vaucluse.
- [53]- **kordjani Nacéra**.2007. Apport de la technique du chauffage micro-onde dans l'extraction des huiles essentielles algériennes *Zygophyllum Album L*, et *Rosmarinus Officinalis L*.Université USTHB.
- [54]- **Rouessac F., Rouessac A**.(1998). Analyse Chimique. Méthodes et Techniques Instrumentales Modernes. Cours et Exercices Résolus, 4ème Eds. Dunod, Paris ; p 24-54.
- [55]- **Burgot G**.2006. Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications.2ème édition.Lavoisier. TEC & DOC Lavoisier.
- [56]- **Villupanoor A, Bhageerathy C, John Zacharia T**. 2008. Chemistry of spices.london.cabi.

- [57]- **Barakat H.** 2014. Composition, Antioxidant, Antibacterial, Activities and Mode of Action of Clove (*Syzygium aromaticum L.*) Buds Essential Oil. *British Journal of Applied Science & Technology*, 4(13), p1934-1951.
- [58]- **Oussalah M, Caillet S, Saucier L.** 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food control*, 18(5), p 415-420.
- [59]- **Musthafa K.S, Voravuthikunchai S.P.** 2015. Anti-virulence potential of eugenyl acetate against pathogenic bacteria of medical importance. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 107(3), p 703-710.
- [60]- **Kim H.J, Lee J.S, Woo E.R, Kim, M.K, Yang B.S, Yu Y.G, Park H, Lee Y.S.** 2001. Isolation of virus cell fusion inhibitory components from *Eugenia caryophyllata*. *Planta Medica* 67, p 277–279.
- [61]- **TRAGOOLPUA Y, JATISATIENR A.** 2011. Anti-herpes simplex virus activities of *Eugenia caryophyllus* (Spreng.) Bullock & S.G. Harrison and essential oil, eugenol. *Journal of microencapsulation*, 28(1), p 82-91.
- [62]- **Martini H, Weidenborner M, Adams S, Kunz B.** 1996. Eugenol and carvacrol: the main fungicidal compounds in clove and savory. *Italian Journal of Food Science*, 8, p 63–67.
- [63]- **Kong Qiu L, Ain Song YizHong, Zhang Lili, Chen LiuYong, Qing Fang L.** 2004. Natural antifungal compounds from *Syzygium aromaticum*. *Acta Agriculturae Shanghai*, 20(3), p 68–72.
- [64]- **Pinto E, Vale-Silva L, Cavaleiro C.** 2009. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of medical microbiology*, 58(11), p1454-1462.
- [65]- **Batiha GE, Alkazmi LM, Wasef LG, Beshbishy AM, Nadwa EH, Rashwan EK.** 2020. *Syzygium aromaticum L.* (Myrtaceae): Traditional uses, Bioactive chemical constituents, Pharmacological and Toxicological Activities. *Biomolecules*, 10(2), p202.
- [66]- **Arora D.S, Jasleen Kaur J, Kaur J.** 1999. Antimicrobial activity of spices. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 12(3), p257–262.

- [67]- **Dorman H.J.D, Surai D, Deans S.G.** 2000. *In vitro* antioxidant activity of a number of plant essential oils and phyto constituents. *Journal of Essential Oil Research* 12, p 241–248.
- [68]- **Lee K.G, Shibamoto T.** 2001. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry]. *Food Chemistry*, 74(4), p 443–448.
- [69]- **Ghelardini C, Galeotti N, Di Cesare Mannelli L, Mazzanti G, Bartolini A.** 2001. Local anaesthetic activity of *b*-caryophyllene 11. *Farmaco* 56, p 387–389.
- [70]- **Srivastava K-C.** 1990. Antiplatelet components from common food spice clove (*Eugenia caryophyllata*) and their effects on prostanoid metabolism. *Planta Medica*, 56(6), p 501–502.
- [71]- **Janes SE, Price CS, Thomas D.** 2005. Essential oil poisoning: N-acetylcystein for eugenol-induced hepatic failure and analysis of national database. *Eur J Pediat*, 164(8), p 520.
- [72]- **WERNERM, VONBRAUNSCHWEIGR.** 2008. L'aromathérapie : principes, indications, utilisations. Paris : Ed. Vigot, p 334.
- [73]- **MAILHEBIAU P.** 1989. La nouvelle aromathérapie : caractérologie des essences et tempéraments humains. Toulouse : Ed. Nouvelle Vie, p 372.
- [74]- **OUIDIR S.** 2018. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* vis-à-vis des bactéries responsable d'infections urinaires : Conservation des H. ES. Thèse : Thèse de Master en biologie. Université Mouloud Mammeri Tizi ouzou. p22.
- [78]- **AFNOR.** 2000. « Recueil De Normes » : Les huiles essentielles, tome 2, Monographies relatives aux huiles essentielles, Paris, p 661-663.
- [79]- **Hamadou F, Touki S.** 2017. Extraction, Caractérisation des huiles essentielles des épices: Girofle, Poivre Noir.
- [80]- **Bruneton J.** 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentations Lavoisier.
- [81]- **Naili.N EP Kesraoui** ; 2013 Activité antibactérienne du Cumin velu *Ammodaucus leucotrichus* Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'études médicales Spécialisées (DEMS) en Botanique médicale et Cryptogamie.

[82]- Rafidimanantsoa Patrice ;(2010). Caractérisation de l'huile de Pepins de PassifloraEdulis et de l'huile de Pepins de Pepo ; Mémoire d'ingénieur ; université d'Antananarivo

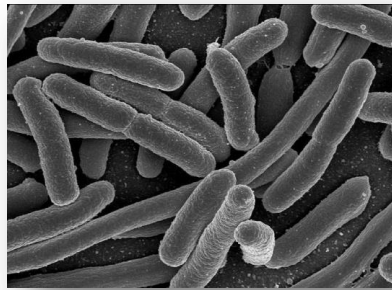
[83]- Ponce A-G, Fritz R, Del Valle C, Roura S-I. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Society of Food Science and Technology*, 36(7),p 679-684.

[84]- Khadija Rhayour ; Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillus subtiliset sur Mycobacterium phleiet Mycobacterium fortuitum
Thèse Présentée en vue de l'obtention du Doctorat National.

❖ Les souches des bactéries testées

• *Escherichia coli*

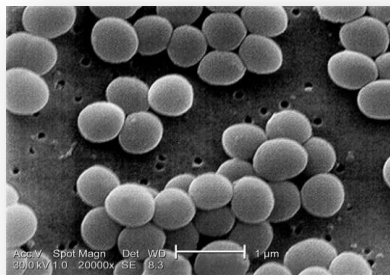
Escherichia coli, également appelée colibacille et abrégée en *E. coli*, est une bactérie intestinale (Gram négatif) des mammifères de la famille des *Enterobacteriaceae*, en forme de bâtonnet, très commune chez l'être humain. Elle est une bactérie anaérobie facultative que l'on trouve dans l'intestin des vertébrés. En effet, elle compose environ 80 % de notre flore intestinale aérobie. Découverte en 1885 par Theodor Escherich, dans des selles de chèvres, c'est un coliforme fécal généralement commensal. Cependant, certaines souches d'*E.coli* peuvent être pathogènes, entraînant alors des gastro-entérites, méningites, elle provoque également des infections urinaire ; génitales ; hépatobiliaires ou digestives, infection alimentaires, manifestation intestinales telles que des diarrhées variables selon la souche en cause : diarrhées des voyageurs ou turista grève destruction des globules rouge et lésions rénales due a la souche sécrétant une puissante toxine appelée toxine Véro vomissement.



Escherichia coli

• *Staphylococcus aureus*

Ce sont des coques gram positif arrondis d'environ 1µm de diamètre immobiles dépourvus de spores et de capsules un membre des Firmicutes, un membre habituel de la flore microbienne du corps, fréquemment trouvée dans le tractus respiratoire supérieur et sur la peau. Elle est responsable de septicémie, infection alimentaire et entérocolites aiguë ; inflammation locales et infection cutané muqueuse, panaris abcès du poumon, entérites, inflammation de épithélium vulvo-vaginal.



Staphylococcus aureus

❖ La paroi des bactéries à Gram positif et négatif

La paroi est une structure rigide et résistante qui protège la bactérie et lui donne sa forme. Sa nature variable est à l'origine de la coloration de Gram qui permet de distinguer deux grands groupes bactériens, les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif.

✓ Bactéries Gram négatif

Les bactéries à Gram négatif ont une paroi plus complexe. La couche de peptidoglycane est plus fine que celle des Gram positif, et elle est entourée par une membrane externe composée de lipopolysaccharides et de lipoprotéines.

Les bactéries à Gram négatif sont mises en évidence par une technique de coloration appelée coloration de Gram. Les bactéries à Gram négatif apparaissent alors roses au microscope. La technique de coloration repose sur les caractéristiques membranaires et de paroi de la bactérie. Néanmoins, il ne s'agit pas d'un facteur de classement phylogénétique : en effet, les groupes Gram + et Gram – sont tous deux non-monophylétiques. Les bactéries Gram négatifs ont adopté une solution différente pour protéger leur Membrane cytoplasmique.

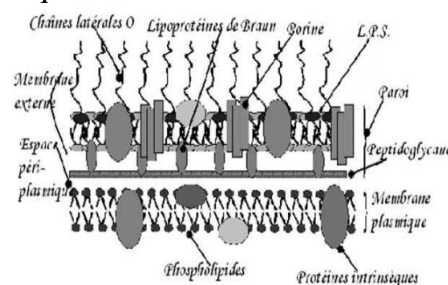


Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif.

✓ Bactéries Gram positif

Les bactéries Gram positif protègent leur membrane avec une paroi épaisse qui est constituée d'une couche de peptidoglycane, à laquelle sont associés des polymères d'acide, le composant majeur de la paroi est polymère complexe de sucres et d'acides aminés, appelé muréine ou peptidoglycane.

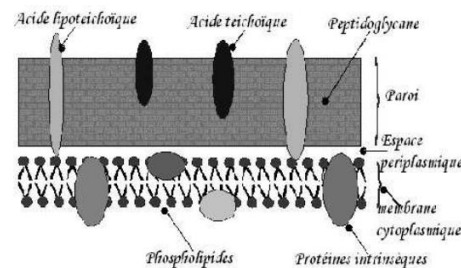


Schéma de la paroi des bactéries à Gram positif.

❖ **Technique utilisée (Aromatogramme)**

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. C'est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antimicrobienne. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des huiles essentielles testées, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé réalisée dans des boîtes de Pétrie. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée d'une huile essentielle.

❖ **Milieu de culture utilisé**

• **La gélose Mueller-Hinton**

La gélose Mueller-Hinton est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard. Permet la croissance de nombreuses bactéries. Le nom Mueller-Hinton vient de leurs codécouvreurs : le microbiologiste John Howard Mueller et le docteur vétérinaire Jane Hinton de l'université Harvard.

• **Préparation**

Pour préparer ce milieu

- On pèse 38g de la poudre.
- porter à l'ébullition jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou flacons et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Au moment de l'emploi, faire fondre le milieu au bain marie bouillant et le couler en boîtes pétrie, l'épaisseur de la couche de gélose doit être de 4mm. Sécher les boîtes 30 min à 37°C.

• **Composition**

Formule théorique en g/l d'eau purifiée :

Peptones de viande « Bovin ».....	2g
Peptones de caséine « Bovin »	17.5g
Fécule de pomme de terre « amidon »	1.5g
Ion Ca ⁺⁺	45à75mg/l
Ion Mg ⁺	20à35mg/l
Agar.. .. .	17g

Résumé

L'objectif de cette étude est d'extraire l'huile essentielle du clou de girofle par hydrodistillation afin d'effectuer une étude de l'activité antibactérienne et des propriétés physicochimiques y compris une analyse spectroscopique IR et une étude phytochimique qui met en évidence la présence des familles de molécules actives, pour connaître la composition chimique globale de l'extrait.

L'extraction de l'huile essentielle des boutons floraux de *Syzygium aromaticum* est réalisée par la méthode d'hydrodistillation type Clevenger. Le test de mise en évidence de son pouvoir antibactérien est effectué sur deux souches bactériennes : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Les résultats ont montré que l'huile essentielle du clou de girofle possède une forte activité antibactérienne représentée avec des diamètres d'inhibition variant entre 10 mm et 20 mm pour les souches bactériennes. Le rendement obtenu est de 3,62% ce pourcentage malgré sa faiblesse reste meilleur que ceux obtenus par d'autres auteurs, et nos résultats des analyses physicochimiques sont conformées aux normes AFNOR. L'analyse de sa composition chimique et sa pureté par les méthodes spectroscopiques (IR) et phytochimiques ont permis de découvrir les molécules existantes responsables des activités biologiques.

Mots clés: Clou de girofle, *Syzygium aromaticum*, huile essentielle, activité antibactérienne, Extraction.

Abstract

The objective of this study is to extract the clove essential oil using the steam distillation in order to perform a study of the antibacterial activity and physicochemical properties including an IR spectroscopic analysis and a pytochemical study that highlights the presence of families of active molecules, to know the overall chemical composition of the extract.

The extraction of the essential oil from the flower buds of *Syzygium aromaticum* was obtained by steam distillation using a Clevenger type system. In this study we have tested the antibact rial activity on two strains: *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

The results showed an important antibacterial activity represented with diameters of inhibition for both bacterial strains varying between 10 mm and 20 mm. The yield obtained is 3.62%; this value is acceptable which despite its weakness is better than those obtained by other authors, the results of analyses physicochemical were adapted to the AFNOR norms. The analysis of its chemical composition and its purity by spectroscopic (IR) and pytochemical methods allowed us to identify the existing molecules responsible for biological activities.

Key words: Clove, *Syzygium aromaticum*, essential oil, antibacterial activity, Extraction.