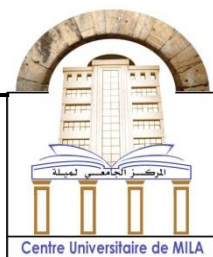


N° Ref :.....



Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie végétale

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème :

**Evaluation de l'activité biologique des extraits d'une plante
médicinale.**

Présenté par:

- Bouyana Nesserine
- Belimane Nessrine

Devant le jury:

Dr. Benmakhlouf Zebida

MCA

Présidente

Dr. Mekaoussi Radhia

MCB

Examinatrice

Dr. Beldi Hakima

MCB

Promotrice

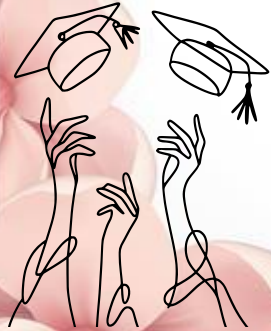
Année Universitaire: 2024/2025



Dédicace

À Allah Le Tout-Puissant, pour sa sagesse, sa miséricorde
et sa guidance à chaque étape

À ma chère famille, pour leur amour
et leur soutien inconditionnel



Bouyana Nesserine





Dédicace

À ma chère famille, tout mon amour et ma gratitude



Belimane Nesserine



Remerciements



Je rends grâce à **Allah Le Tout-Puissant** pour Son soutien, Sa guidance et Sa miséricorde qui nous ont accompagnées tout au long de ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à **Madame Beldi Hakima**, maitre de Conférences class B, pour sa disponibilité, la qualité de son encadrement et ses conseils précieux qui ont grandement contribué à la réalisation de ce mémoire, elle a été une véritable partenaire de travail plus qu'une simple encadrante.

J'exprime également ma profonde gratitude à **Madame Benmakhlouf Zebida**, enseignante et cheffe du département de biotechnologie au Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila, pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire, et ce, malgré ses lourdes responsabilités et ses nombreuses charges professionnelles. Sa présence et sa participation ont grandement enrichi ce travail. Ainsi qu'à **Madame l'Examinatrice Mekkaoussi Radhia**, pour avoir accepté d'évaluer ce travail, ainsi que pour leurs remarques constructives et leur bienveillance.

Un remerciement particulier à **Lina**, de la spécialité Microbiologie au sein de notre institut, pour son aide précieuse dans la réalisation de l'activité antibactérienne.

Un grand merci aux enseignants qui nous ont accompagnées tout au long de notre parcours universitaire, et qui nous ont transmis leur passion pour leur métier, devenant ainsi de véritables modèles pour nous.



Liste des figures

Numéro	Intitulé	Page
Figure 1	Morphologie du girofle.	4
Figure 2	Le girofle (<i>Syzygium aromaticum</i> L.) avant, pendant et après la période de floraison.	5
Figure 3	Principaux pays producteurs de clou de girofle au monde.	5
Figure 4	Activités biologiques de <i>Syzyguim</i> .	8
Figure 5	Principaux constituants de l'huile de <i>S. aromaticum</i> .	8
Figure 6	Classification générale des métabolites secondaires des plantes.	9
Figure 7	Structure de base des alcaloïdes.	10
Figure 8	Structure de l'unité isoprénique.	10
Figure 9	Structure de base des saponines.	11
Figure 10	Structure de base des composés phénoliques (phénol).	12
Figure 11	Différentes classes de polyphenols.	12
Figure 12	Squelette de base des flavonoïdes.	13
Figure 13	Différentes classes des flavonoids.	13
Figure 14	Types de tanins et leurs structures de base.	14
Figure 15	Classification des antioxydants.	18
Figure 16	Sources de production des radicaux libres.	19
Figure 17	Pathologies induites par le stress oxydatif chez l'homme.	20
Figure 18	Mécanisme de réduction du radical libre DPPH [•] par un antioxydant.	21
Figure 19	Vue microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> .	22
Figure 20	Observation microscopique de <i>Bacillus subtilis</i> .	23
Figure 21	Observation microscopique de <i>Escherichia coli</i>	23
Figure 22	Vue microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	24
Figure 23	Clou de girofle utilisé.	26
Figure 24	Protocole de préparation des extraits bruts	28
Figure 25	Infusion 5% (filtration après un contact de 15 à 20 min).	30

Figure 26	Etapes de dosage des polyphénols, A : Série de dilution de standard (l'acide gallique) et de deux extraits, B : Lecture au spectrophotomètre.	33
Figure 27	Etapes de dosage des flavonoïdes, A : Série de dilution de standard (la quercétine), et de deux extraits, B : Lecture au spectrophotomètre.	34
Figure 28	Etapes de dosage des flavons flavonols, A : Série de dilution de standard (la quercétine), B : Dilutions de <i>Syzygium aromaticum</i> L. (aqueux et hydro-éthanolique), C : Lecture au spectrophotomètre.	35
Figure 29	Etapes de dosage des tanins, A : Dilutions de <i>Syzygium aromaticum</i> L. (aqueux et hydro-éthanolique), B : Lecture au spectrophotomètre.	36
Figure 30	Lecteur au spectrophotomètre.	36
Figure 31	Dégradé de couleur du DPPH lors de son ajout à différentes concentrations de l'extrait.	38
Figure 32	Préparation du milieu Chapman pour l'isolement de <i>Staphylococcus aureus</i>	40
Figure 33	Préparation du milieu HK pour l'isolement d' <i>Escherichia coli</i>	40
Figure 34	Préparation du milieu GN pour l'isolement de <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	41
Figure 35	Préparation du milieu MH.	41
Figure 36	Stérilisation du matériel à l'autoclave.	42
Figure 37	Repiquage des différentes souches sur les milieux HK, Chapman et GN.	43
Figure 38	Série de dilution de l'extrait hydro-éthanolique.	44
Figure 39	Série de dilution de l'extrait aqueux.	44
Figure 40	Germes d'une culture de 24h.	45
Figure 41	Refroidissement de milieu de culture gélosé Mueller Hinton (MH) et préparation de l'inoculum.	46
Figure 42	Organigramme de la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé (Antibiogramme).	48

Figure 43	Aspect de deux extraits obtenus.	49
Figure 44	Rendements des extraits bruts (Hydro-Éthanolique et aqueux)	51
Figure 45	Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	54
Figure 46	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes	57
Figure 47	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavons et flavonols.	58
Figure 48	Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins.	60
Figure 49	Teneur en Polyphénols, Flavonoïdes, Flavones et Flavonols, Tannins des extraits aqueux de <i>Syzygium aromaticum</i> L.	64
Figure 50	Teneur en Polyphénols, Flavonoïdes, Flavones et Flavonols, Tannins des extraits hydro-éthanoliques de <i>Syzygium aromaticum</i> L.	64
Figure 51	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.	62
Figure 52	Présentation graphique de DPPH.	62
Figure 53	Valeurs IC50 des extraits aqueux et éthanolique de <i>Syzygium aromaticum</i> comparées au standard (acide ascorbique).	63
Figure 54	Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait hydro-éthanolique contre <i>Staphylococcus aureus</i> .	68
Figure 55	Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait hydro-éthanolique contre <i>Bacillus subtilis</i> .	68
Figure 56	Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait hydro-éthanolique contre <i>E. coli</i> .	68
Figure 57	Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait hydro-éthanolique contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	68
Figure 58	Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait aqueux contre <i>Staphylococcus aureus</i> .	70

Figure 59	Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait aqueux contre <i>Bacillus subtilis</i> .	70
Figure 60	Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait aqueux contre <i>E. coli</i> .	70
Figure 61	Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait aqueux contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	70

Liste des tableaux

Numéro	Intitulé	Page
Tableau 1	Classification botanique de l'espèce <i>Syzygium aromaticum</i> L.	6
Tableau 2	Présentation descriptive des diverses souches bactériennes examinées.	39
Tableau 3	Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.	47
Tableau 4	Résultats du criblage phytochimique des extraits de <i>Syzygium aromaticum</i> L.	51
Tableau 5	Résultats de la densité optique et de la charge microbienne des souches microbiennes testées.	66
Tableau 6	Sensibilité (zone d'inhibition en mm) des souches bactériennes testées vis-à-vis l'antibiotique.	67
Tableau 7	Diamètre des zones d'inhibition d'extrait hydro-éthanolique (mm).	69
Tableau 8	Diamètre des zones d'inhibition d'extraits aqueux (mm).	71

Liste des abréviations

AA : acide ascorbique.

Abs : absorbance.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium.

AQ : Aqueux.

ATCC : American Type Culture Collection.

B. subtilis : *Bacillus subtilis*.

°C : celsius.

CAT : catalase.

CH₃COONa : acétate de sodium.

°C : celsius.

DMSO : diméthyle sulfoxyde.

DO : densité optique.

DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle.

DRO : dérivés réactifs de l'oxygène.

EAG : Équivalent d'Acide Gallique.

EAg : Extrait aqueux.

EC : Équivalent Catéchine.

E. coli : *Escherichia coli*.

EHE : Extrait hydro-éthanolique.

EQ : Équivalent de Quercétine.

ERA : espèces réactives d'azote.

ERO : espèce réactive de l'oxygène.

Ext : Extrait.

FCR : Folin-Ciocalteu réactif.

FeCl₃ : chlorure ferrique.

GEN : Gentamicine

GN : Gélose Nutritif

GPx : glutathion peroxydase.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

H₂SO₄ : acide sulfurique.

H₃PMO₁₂O₄₀ : acide phosphomolybdique.

H₃PWO₁₂O₄₀ : acide phosphotungstique.

HCl : Acide chlorhydrique.

HK : Hektoen.

HNO₃ : acide nitrique.

IC 50: Concentration Inhibitrice Moyenne.

Mbp : Méga-paires de bases.

MeOH : Méthanol.

mg : milligramme.

MH : Mueller Hinton.

mL : millilitre.

min : minute

M II : Métabolites Secondaires.

Mm : Millimètre.

MO₈O₂₃ : molybdène.

µg : microgramme.

µg EAG/mg : microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme.

µL : microlitre.

µm : Micromètre.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NaCl : Chlorure de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

NH₄OH : ammoniacque.

nm : Nanomètre.

NO : oxyde nitrique.

O₂⁻ : l'anion superoxyde.

OH[•] : radical hydroxyle.

ONOO⁻ : anion peroxytnitrite.

P.aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

RL : Radicaux Libres.

RNS : Reactive nitrogen species.

ROO[•] : radical peroxy.

ROS : Reactive oxygen species.

S. aromaticum L. : *Syzygium aromaticum* L.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

SOD : superoxydismutase.

UFC : unités formant colonies.

W₈O₂₃ : Oxyde de tungstène.

TABLE DES MATIERES

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Résume	
ملخص	
Abstract	
Introduction	
Partie I : Rappel bibliographique	
Chapitre I : Clou de girofle	
I. Historique	3
I.1. Présentation de la famille des myrtaceae et l'espèce <i>Syzygium aromaticum</i>	3
I.1.1. Principales caractéristiques botaniques et répartition géographique	4
I.1.2. Place dans la systématique (botanique)	6
I.1.3. Usage et Effet thérapeutiques	7
I.1.4. Chimie de <i>S. aromaticum</i>	8
Chapitre II : Métabolites secondaires	
II.1. Généralités	9
II.2. Classification des métabolites secondaires	9
II.2.1. Alcaloïdes	10
II.2.2. Terpènes	10
II.2.3. Saponines	11
II.2.4. Composés phénoliques	11
II.3. Rôle des métabolites secondaires chez les plantes	15
Chapitre III : Activités biologiques	
III.1. Activités Antioxydantes	16
III.1.1. Radicaux Libres (RL)	16
III.1.2. Antioxydants et activité antioxydante	17
III.1.3. Stress oxydant et leurs pathologies	18
III.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	20
III.1.4.1. Méthode au DPPH• (Diphényl Picrylhydrazyle)	20

III.2. Méthode de détermination de l'Activité antibactérienne <i>in vitro</i>	21
III.2.1. Description des souches bactériennes étudiées	21
Partie II : Étude expérimentale	
Matériels et Méthodes	
IV.1. Achat de Matériel végétal	26
IV.2. Préparation des extraits bruts	26
IV.3. Détermination du rendement des extraits	29
IV.4. Analyse qualitative	29
IV.5. Analyse quantitative	31
IV.5.1. Dosage des polyphénols	32
IV.5.2. Dosage des flavonoïdes	33
IV.5.3. Dosage des flavon-flavonols	34
IV.5.4. Dosage des tannins	35
IV.6. Évaluation de l'activité antioxydante des extraits	36
IV.6.1. Test du piégeage du radical libre DPPH	37
IV.7. Evaluation de l'activité antibactérienne	38
Résultats et Discussion	
V.1. Détermination de rendement de l'extraction	49
V.2. Analyse qualitative	50
V.3. Analyse quantitative	54
V.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux	54
V.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux	56
V.3.3. Détermination de la teneur en flavones et flavonols	58
V.3.4. Détermination de la teneur en tannins	59
V.4. Résultats des activités biologiques	61
V.4.1. Activités antioxydantes	61
V.4.1.1. Résultat du test du piégeage du radical libre DPPH	63
V.4.2. Pouvoir antibactérien des extraits bruts	65
Conclusion et Perspectives	74
Références bibliographiques	76
Annexes.....	

Résumé

L'objectif de notre travail est l'étude phytochimique et l'évaluation des activités (antioxydantes et antibactériennes) des extraits aqueux et hydro-éthanolique des boutons floraux du clou de girofle (*Syzygium aromaticum* L.).

Le rendement le plus important est signalé avec l'extrait hydro-éthanolique (25,2%), tandis que l'extrait aqueux a présenté un rendement de (11,7%). Le screening phytochimique a mis en évidence la présence des tanins, saponines, polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, quinones, mucilage et protéines.

L'analyse quantitatives des deux extraits a mis en évidence des différences notables dans la concentration des composés bioactifs. L'extrait hydro-éthanolique s'est distingué par une teneur élevée en polyphénols ($26,78 \pm 0,19 \mu\text{g EAG/mg d'E}$), comparée à celle de l'extrait aqueux ($19,59 \pm 0,03 \mu\text{g EAG/mg d'E}$). En revanche, l'extrait aqueux a montré une teneur plus importante en flavonoïdes ($20,38 \pm 0,03 \mu\text{g EQ/mg d'E}$) par rapport à l'extrait hydro-éthanolique ($14,14 \pm 0,01 \mu\text{g EQ/mg d'E}$), ainsi qu'en flavones et flavonols ($50,79 \pm 0,15 \mu\text{g EQ/mg d'E}$) contre ($44,73 \pm 0,11 \mu\text{g EQ/mg d'E}$). La teneur en tanins était relativement proche entre les deux extraits ($34,52 \pm 0,002 \mu\text{g EC/mg d'E}$ pour l'extrait aqueux et $33,88 \pm 0,003 \mu\text{g EC/mg d'E}$ pour l'extrait hydro-éthanolique. Ces résultats reflètent la variation de l'extraction des composés selon le type de solvant utilisé.

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée à l'aide du test au radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), permettant de déterminer les valeurs IC_{50} de chaque extrait. L'extrait hydro-éthanolique a montré une meilleure activité antioxydante avec une IC_{50} de $33,20 \pm 0,003 \mu\text{g/mL}$, contre $113,41 \pm 0,003 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait aqueux.

Enfin, l'activité antibactérienne de deux extraits a été testée contre quatre souches bactériennes à Gram positif et Gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*, à différentes concentrations. Toutefois, aucun effet inhibiteur n'a été observé sur les souches testées.

Mots clés : *Syzygium aromaticum* L., Screening phytochimique, Etude quantitative, Activité antioxydante, activité antibactérienne

Abstract

The objective of our work is the phytochemical study and the evaluation of the biological activities (antioxidant and antibacterial) of aqueous and hydro-ethanolic extracts of the flower buds of clove (*Syzygium aromaticum* L.).

The highest extraction yield was recorded with the hydro-ethanolic extract (25.2%), while the aqueous extract showed a yield of (11,7%). Phytochemical screening revealed the presence of tannins, saponins, polyphenols, flavonoids, alkaloids, quinones, mucilage, and proteins.

Quantitative analysis of both extracts revealed significant differences in the concentration of bioactive compounds. The hydro-ethanolic extract was richer in polyphenols ($26,78 \pm 0,19 \mu\text{g EAG/mg}$) compared to the aqueous extract ($19,59 \pm 0,03 \mu\text{g EAG/mg}$). On the other hand, the aqueous extract exhibited higher levels of flavonoids ($20.38 \pm 0.03 \mu\text{g QE/mg}$) than the hydro-ethanolic extract ($14,14 \pm 0,01 \mu\text{g EQ/mg}$), as well as higher levels of flavones and flavonols ($50.79 \pm 0,15 \mu\text{g QE/mg}$ vs $44.73 \pm 0,11 \mu\text{g QE/mg}$). The tannin content was relatively similar between the two extracts ($34.52 \pm 0,002 \mu\text{g CE/mg}$) for the aqueous extract and ($33.88 \pm 0,003 \mu\text{g CE/mg}$) for the hydro-ethanolic extract. These results reflect the influence of solvent polarity on the extraction efficiency of bioactive compounds.

The antioxidant activity of the extracts was evaluated using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging assay, which allowed the determination of IC₅₀ values for each extract. The hydroethanolic extract showed stronger antioxidant activity with an IC₅₀ of $33.20 \pm 0,003 \mu\text{g/mL}$, compared to $113.41 \pm 0,003 \mu\text{g/mL}$ for the aqueous extract.

Finally, the antibacterial activity of both extracts was tested against four Gram-positive and Gram-negative bacterial strains: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus*, at different concentrations. However, no inhibitory effect was observed against the tested strains.

Keywords : *Syzygium aromaticum* L., Phytochemical screening, Quantitative analysis, Antioxidant activity, Antibacterial activity.

ملخص

يهدف عملنا الى دراسة بيوكيميائية وتقييم الأنشطة البيولوجية للمستخلصين المائي والمائي الإيثانولي لبراعم نبات القرنفل. بحيث تم الحصول على أعلى نسبة عائد في المستخلص المائي الإيثانولي بنسبة 25.2% اما المستخلص المائي فكان بنسبة 11.7%.

أظهر المسح الفيتوكيميائي وجود التانينات، الصابونيات، البوليفينولات، الفلافونويدات، القلويدات، الكينونات، مخاط نباتي والبروتينات.

وقد كشفت التحليلات الكمية لكل من المستخلصين المائي والمائي الإيثانولي لنبات القرنفل (سيزيجيوم اروماتيك) على وجود اختلافات واضحة في تركيز المركبات الفعالة. فقد تميز المستخلص المائي الإيثانولي بغناه بالبوليفينولات (0.19 ± 26.78 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ميليغرام) مقارنة بالمستخلص المائي (0.003 ± 19.59 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ميليغرام). في المقابل، أظهر المستخلص المائي محتوى أعلى من الفلافونويدات (0.03 ± 20.38 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين لكل ميليغرام) مقارنة بالمستخلص المائي الإيثانولي (0.01 ± 14.14 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين لكل ميليغرام)، وكذلك الفلافون والفلافونولات (0.15 ± 50.79 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين لكل ميليغرام) للمستخلص المائي، مقابل (0.11 ± 44.73 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين لكل ميليغرام) للمستخلص المائي الإيثانولي، أما محتوى التانينات فكان متقارباً بين المستخلصين، حيث بلغ في المستخلص المائي (0.002 ± 34.52 ميكروغرام مكافئ كاتيشين لكل ميليغرام) و (0.003 ± 33.88 ميكروغرام مكافئ كاتيشين لكل ميليغرام) في المستخلص الإيثانولي. تعكس هذه النتائج تباين قابلية استخلاص المركبات حسب نوع المذيب.

تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة لمستخلصات القرنفل باستخدام اختبار (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) DPPH، حيث تم تحديد قيم IC_{50} لكل من المستخلصين. أظهر المستخلص المائي الإيثانولي فعالية أعلى، إذ بلغت قيمة IC_{50} للمستخلص المائي الإيثانولي 0.003 ± 33.20 ميكروغرام لكل ميليلتر، مقارنة بالمستخلص المائي الذي بلغت قيمته 0.003 ± 113.41 ميكروغرام لكل ميليلتر.

وفي الأخير تم اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصين ضد أربع سلالات بكتيرية موجبة وسالبة الغرام: الإشريكية القولونية، الزائفة الزنجارية، العصوية الرقيقة، بالإضافة الى المكورة العنقودية الذهبية، بتركيزات مختلفة، غير أن النتائج أظهرت غياب أي تأثير مثبط لكلا المستخلصين اتجاه السلالات البكتيرية المختبرة.

الكلمات المفتاحية: سيزيجيوم اروماتيك (القرنفل)، المسح الفيتوكيميائي، الدراسة الكمية، النشاط المضاد للأوكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.



Introduction

Introduction

L'homme connaît les plantes depuis longtemps et les a utilisées pour se nourrir et soigner diverses maladies. Depuis les temps les plus anciens, il a eu recours aux plantes pour la cosmétique, la parfumerie, mais aussi pour le traitement de maladies, sans réellement connaître leurs propriétés ni posséder la moindre connaissance scientifique, même basique, permettant d'expliquer leurs vertus. Cette médecine traditionnelle ancienne constitue ainsi les prémices de la phytothérapie et de l'aromathérapie actuelles (Fontanay et *al*, 2015).

Si l'on définit la phytothérapie d'un point de vue étymologique, le terme « phyto » vient du grec ancien « phytôn », qui signifie « plante ». La phytothérapie est donc « le traitement par les plantes à des fins préventives, curatives, mais aussi esthétiques ». Pratiquée depuis l'Antiquité, la phytothérapie repose sur l'utilisation de plantes médicinales pour prévenir et traiter les maladies (Rostock et Saller, 2021).

Les plantes médicinales jouent un rôle essentiel dans les soins de santé grâce à leur richesse en métabolites secondaires, offrant un potentiel inexploité de composés bioactifs. En outre, les plantes aromatiques produisent des molécules odorantes qui constituent la base des huiles essentielles, connues pour leurs propriétés thérapeutiques (Chagra, 2019).

L'emploi de la phytothérapie et la consommation d'extraits de plantes médicinales a complètement envahi notre société ; néanmoins son utilisation reste aléatoire sans connaissance des risques ou des effets secondaires de celles-ci. Actuellement, la phytothérapie reçoit une attention considérable, dû à l'exploitation de plantes riches en métabolites secondaires comme les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes et tanins), les alcaloïdes (méthylxanthine), les terpènes (huiles essentielles) et les nutriments (glucides, protéines et minéraux), qui représentent une source de molécules bioactives considérées comme médicaments (Nouioua et *al*, 2022 ; Zerafa et *al*, 2023)

Les épices sont considérées comme l'un des premiers aliments fonctionnels enregistrés, avec un commerce international remontant à environ 4500–1900 av. J.-C. Elles sont généralement des parties de plantes aromatiques et séchées, obtenues à partir des graines, des fruits, des feuilles, des racines et de l'écorce. Plus de 100 espèces végétales sont actuellement utilisées dans le monde comme épices et agents aromatisants, jouant un rôle important dans la cuisine, les soins de santé et la conservation des aliments. De plus, les épices constituent une riche source de composés bioactifs (Xue et *al*, 2022)

Introduction

Par ailleurs, le girofle de son nom scientifique « *Syzygium aromaticum* » est une épice fréquemment utilisée au niveau mondial du fait de ses propriétés culinaires et médicinales diverses (Abdelmuhsin et *al*, 2025)

La majorité des études antérieures sur le clou de girofle se sont principalement concentrées sur l'huile essentielle, démontrant son fort potentiel antioxydant et antibactérien. En revanche, les extraits aqueux et hydro-éthanoliques de cet épice ont fait l'objet de beaucoup moins d'investigations, bien qu'ils soient plus simples à préparer et plus accessibles.

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'évaluer l'effet thérapeutique des extraits aqueux et hydro-éthanoliques des boutons floraux de cet épice. Pour cela, des analyses phytochimiques ont été réalisées (teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins, flavones et flavonols), suivies des tests biologiques d'activité antioxydante (DPPH) et antibactérienne contre quatre souches bactériennes.

Notre travail est organisé en trois grandes parties :

- **La première partie** présente une synthèse bibliographique regroupant les différentes définitions, une introduction sur la plante étudiée, ses métabolites secondaires, ainsi que ses activités biologiques, notamment l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne.

- **La deuxième partie** regroupe les différents modes opératoires et matériels utilisés pour nos expériences

- **La troisième partie** représente les résultats obtenus et leurs interprétations.

Enfin, nous terminons par une conclusion et des perspectives pour des nouvelles études.

Synthèse
bibliographique

Chapitre I :

Clou de girofle

I.1. Historique

Des siècles durant, des épices telles que le clou de girofle, l'origan, la menthe, le thym et la cannelle ont été employées comme agents de conservation pour les aliments et en tant que plantes médicinales, principalement en raison de leurs activités anti-oxydantes et antimicrobiennes. De nos jours, de nombreux rapports confirment les propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales et anti cancérigènes des plantes épicées. Le clou de girofle, en particulier, a attiré l'attention en raison de ses puissantes activités anti oxydantes et antimicrobiennes qui se distinguent des autres épices (Makhloufi et Tabchiche, 2024).

Le giroflier ou girofle (*Syzygium aromaticum* L.) est un arbre originaire des îles Moluques en Indonésie. Son usage comme épice et plante aromatique est plurimillénaire, il est mentionné dans des livres chinois d'avant l'ère chrétienne. Les produits du giroflier furent importés régulièrement en Europe dès le septième siècle (François, 1936 ; Maistre, 1964). Mais l'histoire moderne du girofle commence avec la découverte des Moluques par les Portugais et l'expédition commandée par Magellan. D'ailleurs, c'est "La Victoria", le premier navire à réaliser une circumnavigation en 1522, qui ramena en Espagne, un chargement d'épices dont le girofle (Ounaceur, 2023).

I.2. Présentation de la famille des myrtaceae et l'espèce *Syzygium aromaticum* L.

- **Famille des Myrtaceae**

La famille des **Myrtaceae** est une famille de plantes à fleurs d'une grande importance écologique, comprenant à la fois des arbres et des arbustes. Son nom est dérivé du genre *Myrtus* (myrte), un arbuste que l'on trouve principalement dans la région méditerranéenne, notamment en Afrique du Nord et en Amérique du Sud. Cette famille regroupe environ 140 genres et entre 3800 et 5650 espèces (Mitra et al, 2012). Sa plus grande diversité se concentre en Australasie et en Amérique du Sud. La famille des Myrtaceae est classée comme la troisième famille la plus riche en espèces d'arbres parmi les plantes à fleurs (Daroui, 2012 ; Nogales, 2017).

- ***Syzygium aromaticum* L. (Giroflier)**

Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum* L.) est un bouton floral aromatique non épanoui et séché, provenant d'un arbre à feuillage persistant dont la hauteur varie entre 10 et 20 mètres, appartenant à la famille des Myrtaceae (Idries, 2015). Les boutons floraux non épanouis sont utilisés comme épice dans la préparation des aliments à travers le monde (Dua et al, 2015).

Le terme "Clou de girofle " provient du mot français *Clou* et du mot anglais *Clout*, tous deux signifiant "clou", en raison de la ressemblance entre le bouton floral du giroflier et un clou à tête large (Ajobiewe et *al*, 2022).

I.2.1. Principales caractéristiques botaniques et répartition géographique

Le giroflier (*Syzygium aromaticum* L.) est un arbre de la famille des Myrtacées qui pousse exclusivement dans les pays tropicaux (Makhloufi et Tabchiche, 2024). C'est un grand arbre fruitier élancé, de forme conique, avec une hauteur moyenne de 10 à 12 mètres, pouvant atteindre jusqu'à 20 mètres de haut (Paskal, 2015). Il possède un port pyramidal, un tronc gris clair ridé et rigide, et peut vivre jusqu'à 150 ans (Barbelet, 2015). Il adopte fréquemment l'apparence d'un arbuste car il est régulièrement taillé afin de faciliter la récolte (Makhloufi et Tabchiche, 2024) (Figure 1).



Figure 1. Morphologie du girofle (Flavien, 2023).

Les feuilles du giroflier de couleur vert foncé sont effilées, coriaces et persistantes. Ses fleurs sont blanches, légèrement rosées. Le calice, rouge et long, contient un bouton de fleur, qui s'ouvre en révélant quatre pétales. Si elle est fécondée, la fleur du giroflier donne un fruit appelé mère de girofle ou antofle (la partie la plus aromatique) figure 2 (Phytothérapie, 2019) (Ounaceur, 2023).



Figure 2. Le girofle (*Syzygium aromaticum* L.) avant, pendant et après la période de floraison (Merr. & L.M.Perry, 2019).

Les clous de girofle sont originaires de l'Indonésie et se trouvent surtout dans le nord et le centre de Maluka (Moluques) et Papua Barat (Irian Jaya) (Bhowmik et *al*, 2012). De nos jours, il est largement cultivé au Brésil, Haïti, Kenya, en Malaisie, à Maurice, au Mexique et aux Seychelles (Lim., 2014), en particulier aux Zanzibar, à Madagascar, aux Philippines, en Inde, au Sri Lanka et la Tanzanie (Charles., 2013 : Khemaissia et Benchikh, 2022).

Cette plante n'est pas cultivée en Algérie, car le girofle est importé de l'étranger. La superficie occupée par les girofliers à Madagascar est d'environ 37 000 hectares, une surface qui varie significativement d'une année à l'autre (Makhloufi et Tabchiche, 2024).

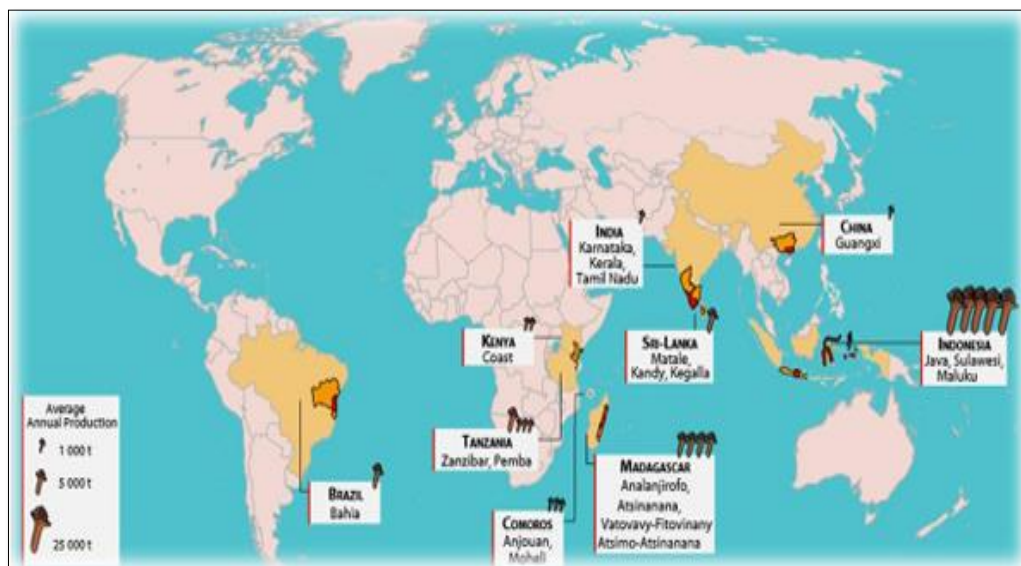


Figure 3. Principaux pays productrices de clou de girofle au monde (Khemaissia et Benchikh, 2022).

I.2.2. Place dans la systématique (botanique)

Les clous de girofle (*S. aromaticum* L.) font partie de la famille des Myrtacées, qui comprend plus de 3000 espèces et 130 à 150 genres (Tableau 1) (González et *al*, 2021).

Tableau 01. Classification botanique de l'espèce *Syzygium aromaticum* L. (Lone et Jain, 2022).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Super-division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>Syzygium aromaticum</i> L.

Nomenclature et dénomination mondiale

Comme beaucoup d'espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *Syzygium aromaticum* L. :

- *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)

Actuellement, les noms *Syzygium aromaticum* et *Eugenia caryophyllus* sont tous les deux employés (Mahomoodally et *al*, 2019).

I.2.3. Usage et Effet thérapeutiques

Le girofle est utilisé dans plusieurs méthodes de santé traditionnelles, notamment pour lutter contre les maladies ci-après :

- Infections dentaires, douleurs dentaires
- Hépatites virales
- Infections intestinales
- Maladies tropicales : paludisme, boubouille, choléra
- Infections gynéco-urinaires : métrites, salpingites, cystites
- Fatigue, asthénie, épuisement, hypotension (Lone et Jain, 2022) (Figure 4).

Les industries pharmaceutiques chimiques utilisent le girofle pour la production d'analgésiques de vanilline artificielle. Il est aussi utilisé dans la parfumerie, la peinture, le vernis et rentre dans les préparations dentaires tels que les bains de bouches, les dentifrices, les ciments dentaires grâce à son action antiseptique et antalgique pour la sphère bucco-dentaire et digestive en générale.

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

Le *S. aromaticum* a Plusieurs propriétés pharmacologiques, notamment : antiinfectieuse et antioxydants...etc (Makhloufi et Tabchiche, 2024).

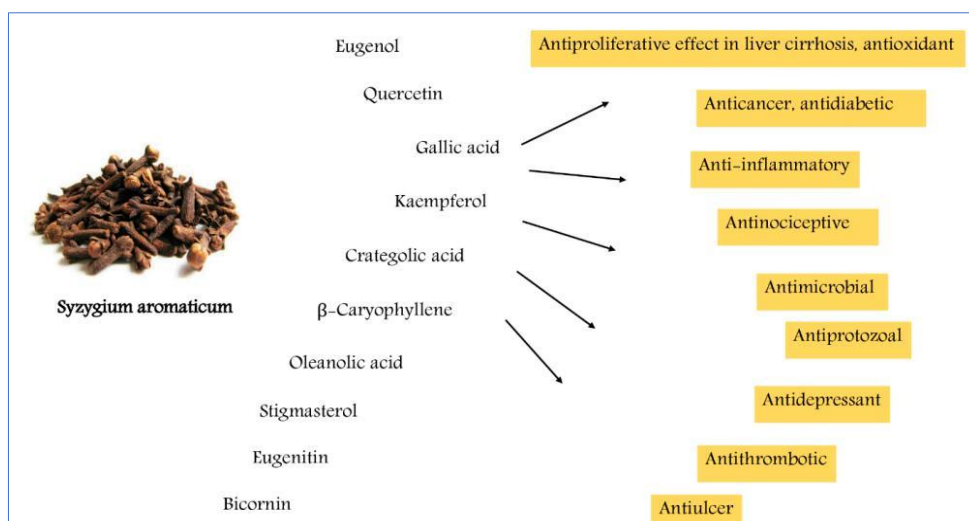


Figure 4. Activités biologiques de *Syzygium aromaticum* (Makhloufi et Tabchiche, 2024).

I.2.4. Chimie de *S. aromaticum*

Syzygium aromaticum L. représente l'une des principales sources végétales de composés phénoliques, tels que les flavonoïdes, les acides hydroxybenzoïques, les acides hydroxycinnamique et hydroxyphényl propènes, ainsi que les terpénoïdes (Bao et *al*, 2012 ; Cortés-Rojas et *al*, 2014). L'eugénol (1) est le composé principalement responsable de l'arôme du clou de girofle et constitue 72 à 90% de l'huile essentielle de girofle (Kamatou et *al*, 2012). Les autres constituants courants de l'huile essentielle comprennent l'acétate d'eugényle (2), le β-caryophyllène (3), le salicylate de méthyle (4), le pinène (5), la vanilline (6) et l'α humulène (7) (Ghedira et *al*, 2010 ; Kuete, 2017) (Figure 5).

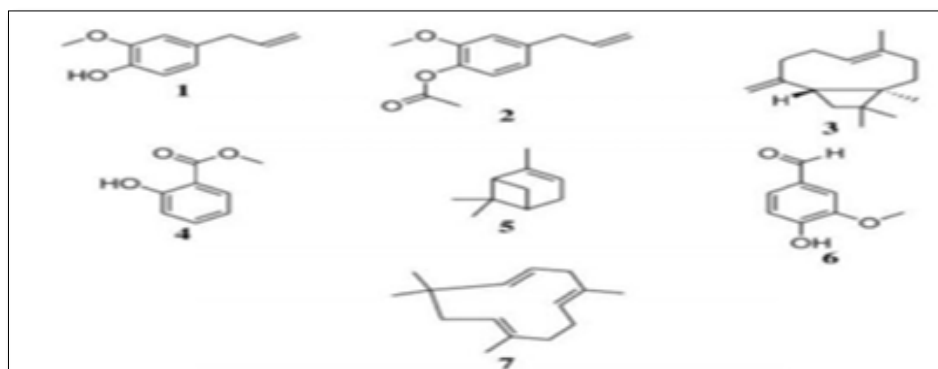
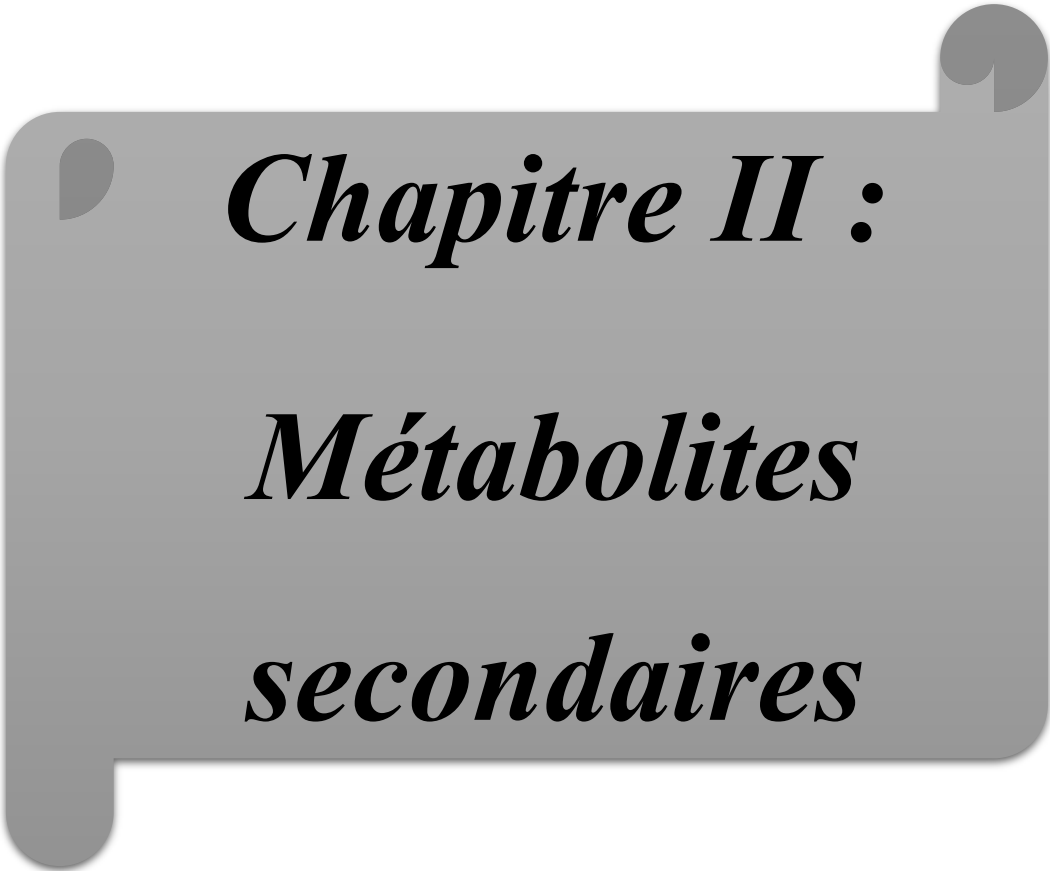


Figure 5. Principaux constituants de l'huile de *S. aromaticum* (Jirovetz et *al*., 2006).



Chapitre II :

Métabolites

secondaires

II.1. Généralités

L'une des particularités remarquables des plantes est leur aptitude à générer une grande variété de substances naturelles bioactives. Effectivement, en plus des **métabolites primaires** traditionnels (glucides, protéines, lipides et acides nucléiques), ils synthétisent souvent des métabolites qualifiés dites « **secondaires** » (Jean-Jacques et *al*,2005). Ces molécules varient selon les espèces, et même si leurs fonctions restent en partie mystérieuses, il est évident qu'elles jouent un rôle dans les interactions de la plante avec les êtres vivants qui l'entourent (Krief, 2003).

II.2. Classification des Métabolites Secondaires (M II)

Chez les plantes, les métabolites secondaires peuvent être classés en quatre grandes familles : les alcaloïdes, les terpènes (ou terpénoïdes), les saponines et les composés phénoliques (Figure 6) (Mahta, 2019).

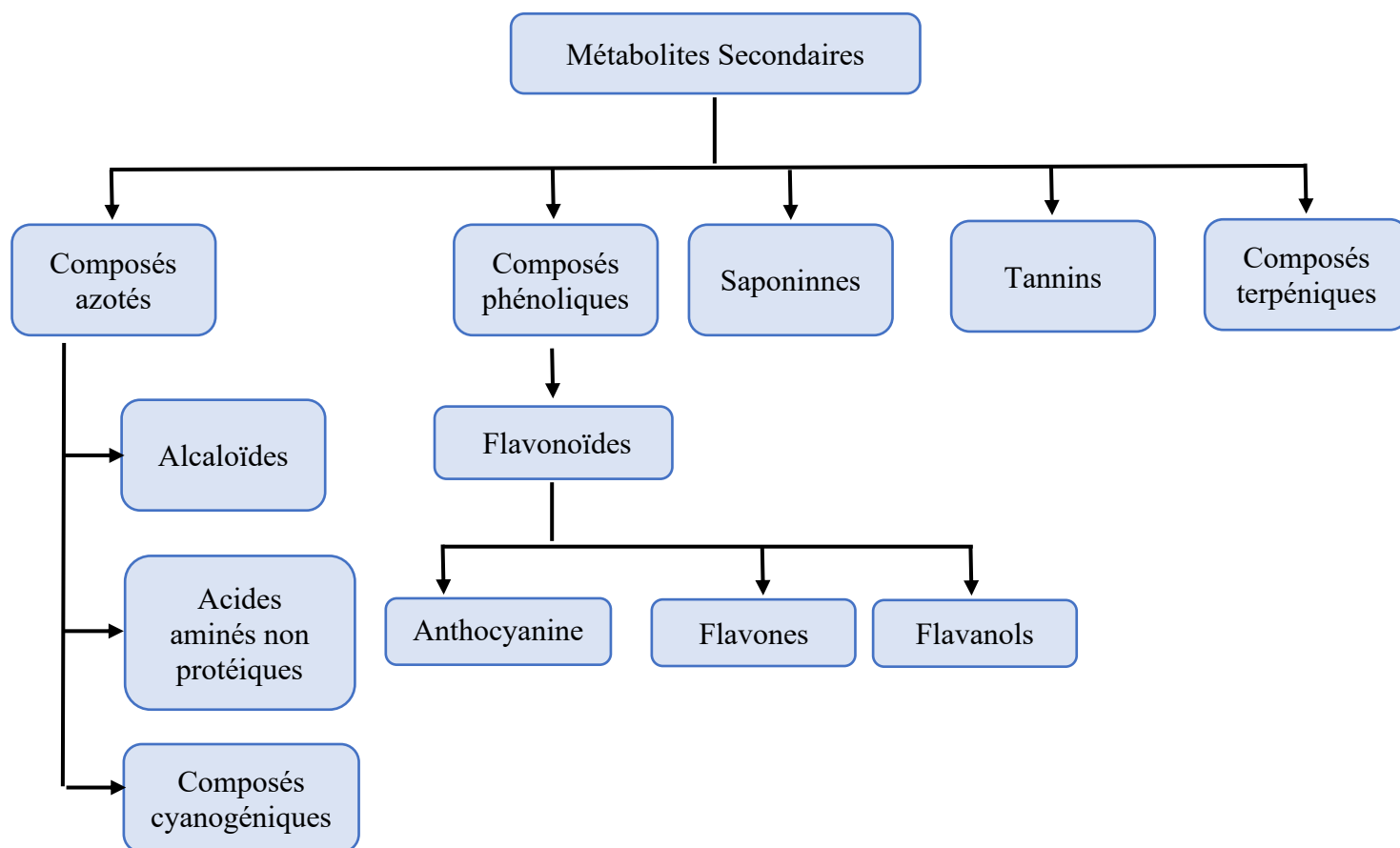


Figure 6. Classification générale des métabolites secondaires des plantes (Kuntal et Sevgi,2018).

II.2.1. Alcaloïdes

Le règne végétal constitue une source importante de molécules bioactives ayant des activités biologiques très intéressantes. Parmi ces molécules, on compte la famille des alcaloïdes. Ils sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique (Figure7). Ils sont principalement extraits des plantes fleurissantes, mais on les trouve également chez quelques animaux comme les fourmis, les grenouilles et les coccinelles. Le rôle de ces molécules bioactifs est souvent inconnu, et leur importance dans le métabolisme de la plante n'est pas très bien définie (Yinyang et *al*, 2014 ; Umereweneza, 2022).

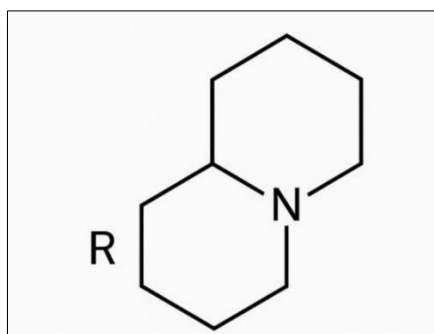


Figure 7. Structure de base des alcaloïdes (Sparg et *al*, 2004).

II.2.1. Terpènes

Les terpènes sont un autre métabolite secondaire courant, connu par leur structure hydrocarbonée simple. Une grande variété de terpènes existe dans la nature, et ils sont différenciés en fonction du nombre d'unités d'isoprène qu'ils contiennent (Figure8). Ils contribuent fortement à l'aromaticité des plantes et aident à repousser les prédateurs (Ninkuu et *al*, 2021 ; Elise, 2024).

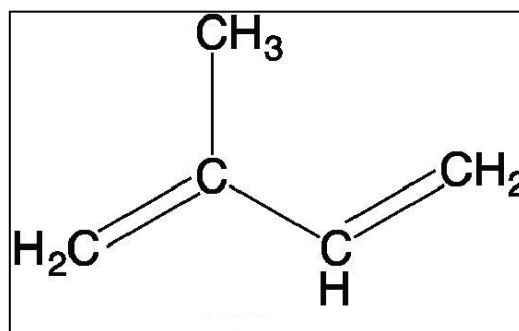


Figure 8. Structure de l'unité isoprénique (Labadie, 2015)

Cette classe de métabolites secondaire est caractérisée par une nature volatile et une forte odeur. Elle donne aux fleurs les parfums qui les caractérisent. De plus, elles ont beaucoup d'autres fonctions au niveau de la photosynthèse (constituant de la chlorophylle), de la photoprotection (caroténoïde) (Kouwelton, 2018).

II.2.3. Saponines

Les saponines sont des glycosides tensioactifs d'origine naturelle, caractérisés par leur capacité distinctive à produire de la mousse. Elles sont principalement produites par les plantes, mais aussi par certains animaux marins inférieurs et quelques bactéries. Historiquement utilisée comme savon (le mot latin *sapo* signifie savon). La combinaison d'une partie hydrophobe ou liposoluble (la sapogénine) et d'une partie hydrophile ou hydrosoluble (le sucre) (figure9) renforce la capacité des saponines à produire de la mousse (Güçlü Üstündağ et Mazza,2007 ; Sapna et *al*,2009).

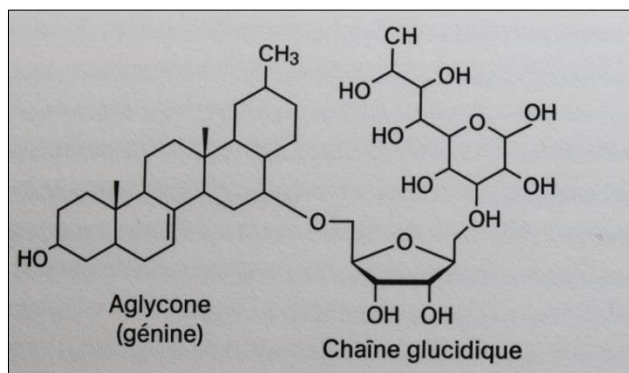


Figure 9. Structure de base des saponines (Sparg et *al*, 2004)

II.2.4. Composés phénoliques

Les substances phénoliques sont des molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. Ils se distinguent par la présence d'un ou plusieurs groupes hydroxyles attachés à un noyau aromatique : un seul groupe pour les phénols simples, et plusieurs pour les polyphénols (figure 10). Parmi les principales sous-classes des polyphénols, on retrouve les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (Figure 11), qui jouent divers rôles biologiques chez les plantes (Mahta,2019 ; Olivier, 2021).

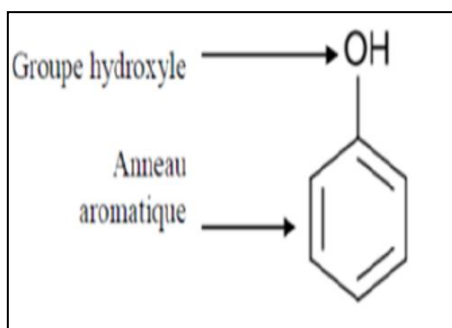


Figure 10. Structure de base des composés phénoliques (phénol) (Zagorskina *et al*, 2023).

Ces produits peuvent se regrouper en deux grands groupes : les flavonoïdes et les non flavonoïdes (figure 11) (Manach *et al*, 2004).

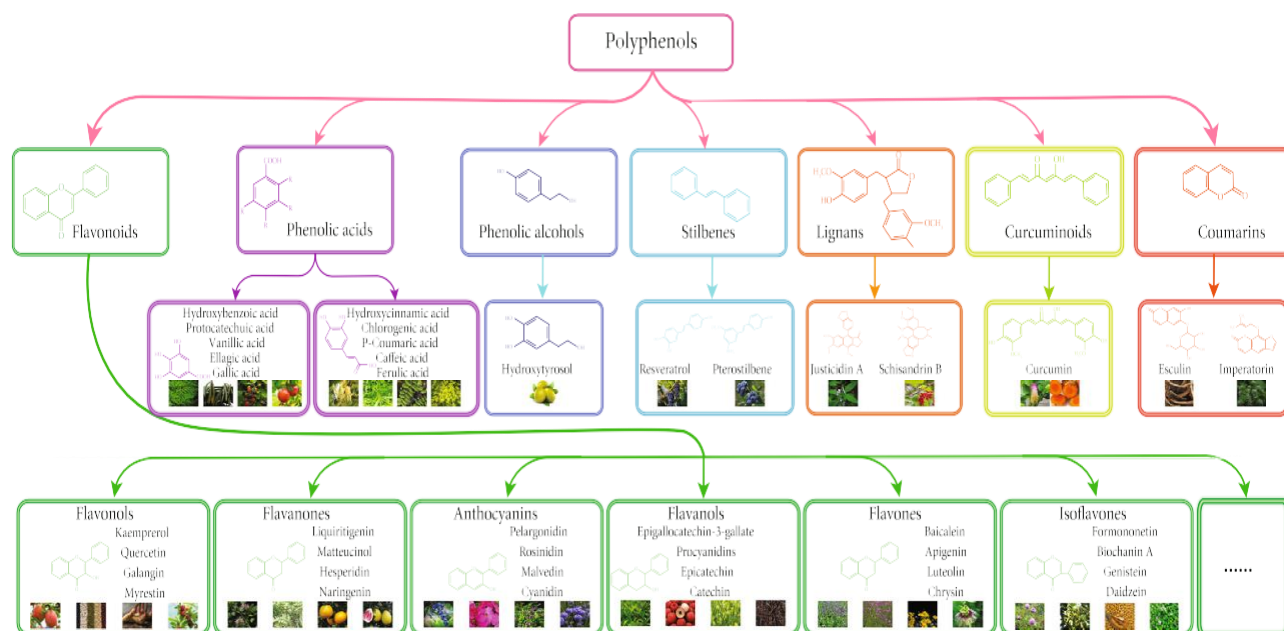


Figure 11. Différentes classes de polyphénols (Yan *et al*, 2022).

II.2.4.1. Flavonoïdes

Cette classe de M II constitue un groupe de composés naturels caractérisés par une grande structure de base des flavonoïdes est formée de 15 atomes de carbone, comprenant deux noyaux benzéniques liés par un cycle hétérocyclique à six chaînons (pyrane) (figure 12) (de Rijke, 2005 ; Kavuru, 2008).

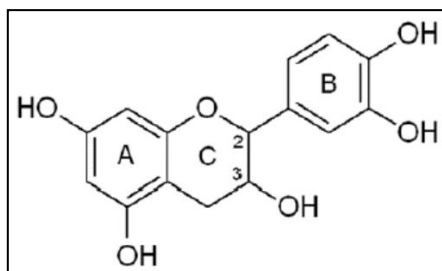


Figure 12. Squelette de base des flavonoïdes (Chaaban, 2017).

Ces molécules peuvent être classées en six sous-groupes principaux, sur la base de l'état d'oxydation de l'hétérocycle C (figure 13) :

- Flavonols (quercétine).
- Flavones (apigénine).
- Flavanones (naringénine).
- Isoflavones (biochanine A).
- Anthocyanidins et Flavanols (catéchine et proanthocyanidines) (Kumar et Pandey, 2013 ; Panche *et al*, 2016).

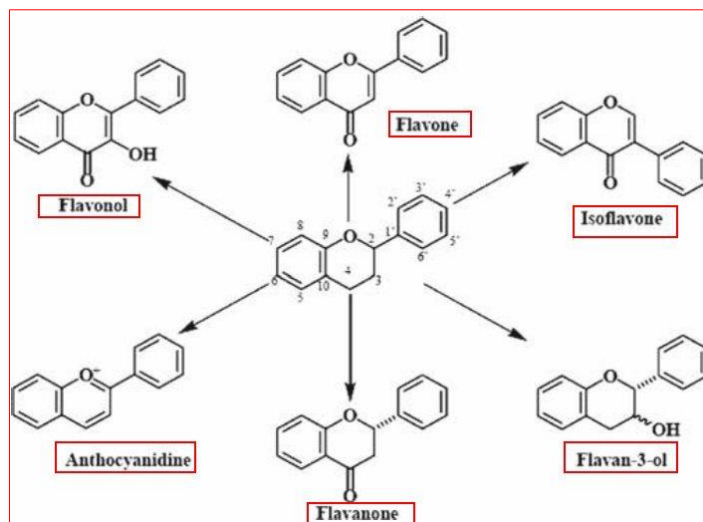


Figure 13. Différentes classes des flavonoïdes (Kinoshita et *al*, 2005).

II.2.4.2. Flavones Flavanols

Les flavones et les flavanols constituent deux groupes majeurs de flavonoïdes végétaux. Bien qu'ils partagent une structure de base similaire, avec un cycle aromatique insaturé entre les atomes 2 et 3, ils se distinguent principalement par la présence d'un groupe hydroxyle en position 3 des flavanols, tandis que les flavones en sont dépourvues (Panche et *al*, 2016 ; Mutha et *al*, 2021).

II.2.4.3. Tannis

Ce sont des oligomères hydrosolubles, riches en groupes phénoliques, capables de se lier ou de précipiter des protéines solubles dans l'eau. Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les Conifères, les Fagacées et les Rosacées. On les trouve principalement dans les tissus ligneux, les feuilles, les fleurs et les graines. Les tissus végétaux riches en tanins ont un goût très amer et sont évités par la plupart des animaux. Sur le plan structural, ces molécules sont divisées en deux groupes (figure 14) :

✓ **Tanins Hydrolysables** : Ce sont des hétérosides polyphénoliques issus de la combinaison d'un sucre estérifié (le glucose ou l'acide quinique) par un nombre variable de molécules d'acides phénoliques (acide gallique tanins gallique, ou acide hexahydroxydiphénique et ses dérivés tannins ellagiques).

✓ **Tanins Condensés** : Ce sont les tanins catéchiques, oligomères et polymères d'aglycones polyphénols flavaniques (unités flavan-3-ols et flavan-3-4-diols), et ils sont résistants à l'hydrolyse. (Watrelet et Norton, 2020; Das et *al*, 2020; Hossain et *al*, 2021).

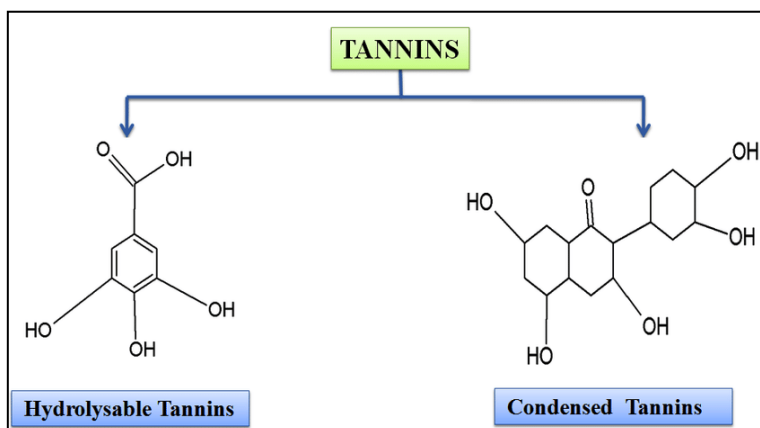


Figure 14. Types de tanins et leurs structures de base (Ghosh, 2015).

II.3. Rôle des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des substances fabriquées par les plantes qui les rendent compétitives dans leur propre environnement. Ces petites molécules exercent une large gamme d'effets sur la plante elle-même et sur d'autres organismes vivants. Elles induisent la floraison, la formation et l'abscission des fruits, maintiennent la croissance pérenne ou signalent un comportement caducifolié (Teoh, 2015).

Ces substances bioactives ne sont pas nécessaires à la vie d'une cellule (ou d'un organisme), mais jouent un rôle dans l'interaction de la cellule (ou de l'organisme) avec son environnement, assurant ainsi la survie continue de l'organisme dans ses écosystèmes.

Ils protègent les plantes contre les stress, qu'ils soient biotiques (bactéries, champignons, nématodes, insectes ou pâturage par des animaux) ou abiotiques (températures élevées, humidité, ombrage, blessures ou présence de métaux lourds). Aussi les métabolites secondaires sont utilisés comme substances chimiques, telles que des médicaments, des arômes, des parfums, des insecticides et des colorants par l'homme en raison de leur grande valeur économique (Saurabh et *al*, 2016 ; Aude, 2023).

Chapitre III :
Activités Biologiques

III.1. Activités Antioxydantes

Les plantes médicinales possèdent de multiples propriétés bénéfiques grâce aux composés actifs qu'elles contiennent, pouvant avoir un effet positif sur la santé humaine (Wadood et *al*, 2013). Pendant les réactions biochimiques, il est possible de produire des espèces réactives de l'oxygène (ROS) ainsi que des radicaux libres. Un surplus de ces derniers peut nuire à l'ADN et engendrer diverses pathologies comme le cancer (Soni et Sosa, 2013). Des molécules, synthétiques ou végétales, connues sous le nom d'« antioxydants », peuvent inhiber les effets nocifs des radicaux libres. Un des avantages des plantes pour la santé est qu'elles aident à prévenir les maladies chroniques. Ces derniers sont liés aux métabolites secondaires de ces végétaux, notamment aux composés phénoliques qui représentent une proportion significative de ces métabolites (Taslimi et *al*, 2019). Ces structures influencent les activités biologiques des cellules en utilisant des méthodes comme la suppression des radicaux libres et la restriction de certaines enzymes métaboliques (Bursal et Gülçin, 2011).

III.1.1. Radicaux Libres (RL)

III.1.1.1. Définition

Un radical libre est une molécule avec un ou plusieurs électrons non appariés, cela veut dire qu'il est non couplé avec un autre électron, ce qui provoque une très grande combativité avec un autre élément (Aidaoui et *al*, 2021).

Il est possible que les RL soit dérivé de l'oxygène (espèce réactive de l'oxygène : **ERO**) ou de l'azote (espèces réactives d'azote : **ERA**, ou Reactive Nitrogen Species : **RNS**) (Hocine et Gorine, 2017 ; Aidaoui et *al*, 2021).

Il a été démontré que les ROS et les RNS jouent un double rôle en tant qu'espèces bénéfiques et nocives, en fonction de leurs effets sur les systèmes biologiques (Ifeanyi, 2018). À des concentrations modérées, les ROS et RNS participent à la signalisation cellulaire et à l'homéostasie, tandis qu'une accumulation excessive peut endommager les composants cellulaires tels que les lipides, les protéines et l'ADN, perturbant ainsi les fonctions normales de la cellule (Droge, 2002). Pour maintenir l'équilibre entre leurs effets bénéfiques et délétères, les organismes vivants mettent en œuvre un mécanisme appelé régulation rédox, essentiel au maintien de l'homéostasie rédox (Ifeanyi, 2018).

III.1.1.2. Types des radicaux libres

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS) jouent un rôle clé dans de nombreux processus physiopathologiques.

Parmi les principales ROS, on retrouve le radical hydroxyle ($\text{OH}^\bullet$), considéré comme l'un des radicaux les plus réactifs, capable d'endommager l'ADN, les protéines et les lipides cellulaires. Une autre espèce importante est le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), une molécule relativement stable qui peut traverser les membranes cellulaires et participer à la formation d'autres ROS plus réactives (Dröge, 2002 ; Ifeanyi, 2018).

Du côté des RNS, le monoxyde d'azote ($\text{NO}^\bullet$) est une molécule clé, produite à partir de la L-arginine par l'enzyme NO synthase ; il intervient dans la signalisation cellulaire, mais peut devenir toxique en concentrations élevées. De plus, le peroxynitrite (ONOO^-), formé par la réaction de $\text{NO}^\bullet$ avec l'anion superoxyde, est un puissant oxydant capable d'induire des dommages oxydatifs sévères aux structures cellulaires (Dröge, 2002 ; Rahman, 2007 ; Phaniendra et al, 2015).

III.1.2. Antioxydants et activité antioxydante

Un antioxydant est une molécule capable de réduire ou d'inhiber l'oxydation d'une autre molécule (Hocine et Gorine, 2017). Il joue un rôle crucial dans l'interruption des chaînes de réactions radicalaires en cédant un électron aux radicaux libres, tout en évitant de devenir lui-même un radical libre instable.

Les antioxydants constituent ainsi un moyen naturel de protection cellulaire contre les attaques des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO), en maintenant un équilibre redox essentiel au bon fonctionnement cellulaire (Gupta, 2015).

Le corps humain possède ses propres systèmes antioxydants endogènes incluant des **enzymes** comme la superoxydedismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) et bénéficie également d'antioxydants exogènes (**non enzymatiques**) fournis par l'alimentation, tels que la vitamine C, la vitamine E, les carotènes et l'acide lipoïque (Figure 15) (Gupta, 2015).

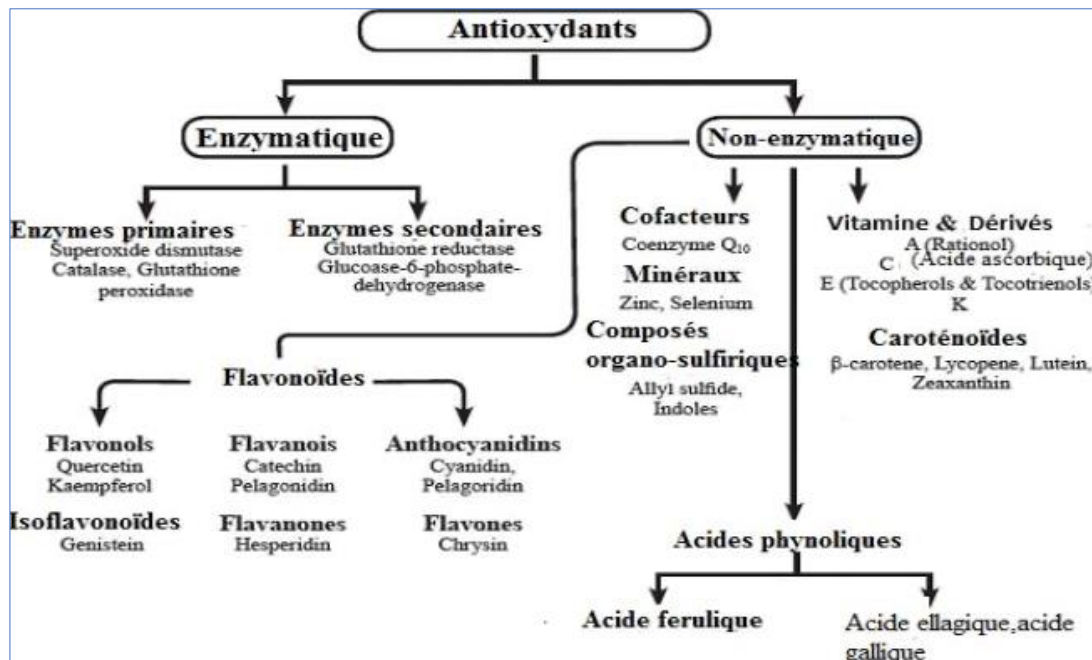


Figure 15. Classification des antioxydants (Carocho et Ferreira, 2013).

En plus de ce rôle d'interruption des réactions en chaîne, les antioxydants peuvent intervenir par plusieurs mécanismes : en neutralisant directement les espèces oxydantes réactives, en piégeant les radicaux libres, en chélatant les métaux de transition pro-oxydants, en inhibant les enzymes productrices de ROS, ou encore en agissant comme cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Alam *et al*, 2013 ; Gupta, 2015).

III.1.3. Stress oxydant et leurs pathologies

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités de défense antioxydante de l'organisme produit ce que l'on appelle le stress oxydatif (Favier, 2003 ; Gupta, 2015 ; Altin *et al*, 2017 ; Baudin, 2020). ce déséquilibre peut avoir plusieurs origines, telle que la surproduction endogène des entités oxydantes, un déficit nutritionnel ou productif en antioxydants au niveau de l'organisme ou une exposition à des facteurs déclenchant externes comme la pollution, les rayons gamma, ultraviolet, consommation de tabac et d'alcool et aussi prise des médicaments (figure 16) (Favier, 2003).



Figure 16. Sources de production des radicaux libres (Hocine et Gorine, 2017).

Bien que les ERO jouent des rôles physiologiques essentiels, notamment dans la signalisation cellulaire, leur accumulation excessive peut provoquer des dommages importants aux cellules et aux tissus (Pizzino et *al*, 2017) tels que : le diabète de type 2 (Oguntibeju, 2019), le cancer (Tucker et *al*, 2015; Nichols et *al*, 2017), les maladies respiratoires tels que l'inflammation pulmonaire (Duecker et *al*, 2018), les maladies cardio-vasculaires (Ichihara., 2013 ; Incalza et *al*, 2017) ainsi qu'un vieillissement anticipé (Belaich et Boujraf, 2016 ; Van Raamsdonk et *al*, 2017 ; Vina, 2019) (Figure 17).

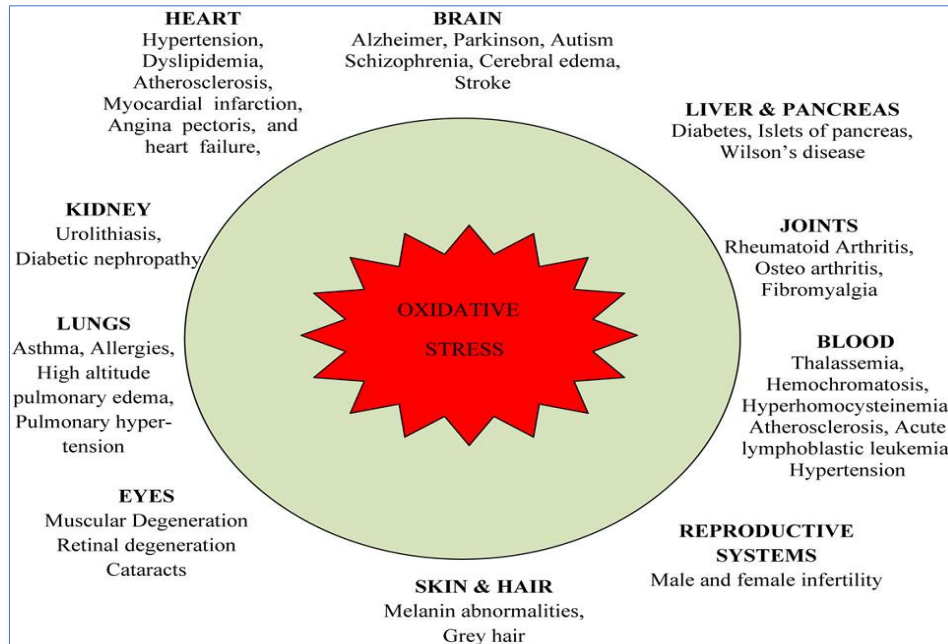


Figure 17. Pathologies induites par le stress oxydatif chez l'homme (Rahman et *al*, 2012).

III.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

L'identification de l'activité antioxydante est l'un élément crucial dans l'appréciation du potentiel thérapeutique des extraits botaniques. La technique DPPH est l'un des approches spectrophotométriques la plus simple, rapide et fréquemment employée pour évaluer la capacité des composés à neutraliser les radicaux libres.

III.1.4.1. Méthode au DPPH[•] (Diphényl Picrylhydrazyle)

La molécule 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est caractérisée comme un radical libre stable, grâce à la délocalisation de l'électron non apparié sur l'ensemble de la molécule, ce qui l'empêche de se dimériser, contrairement à la plupart des autres radicaux libres. Cette délocalisation électronique est également à l'origine de la couleur violette intense, caractérisée par une bande d'absorption dans une solution éthanolique, centrée autour de 517nm. Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée avec un substrat (AH) capable de donner un atome d'hydrogène, elle est alors réduite, ce qui entraîne la disparition de la couleur violette (Alam et *al*, 2013).

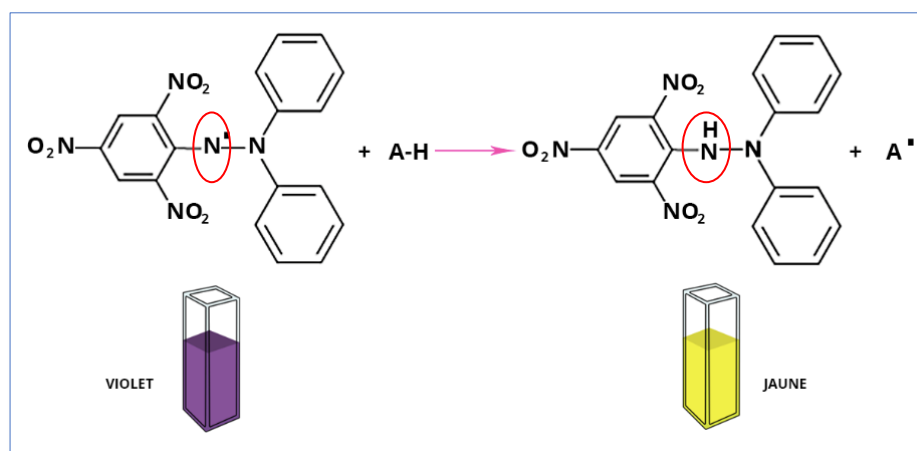


Figure 18. Mécanisme de réduction du radical libre DPPH[•] par un antioxydant (Alam et al, 2013).

III.2. Méthode de détermination de l'Activité antibactérienne *in vitro*

On dispose de diverses techniques pour évaluer l'activité antibactérienne *in vitro*, dont la méthode de diffusion sur disques (Antibiogramme) fait partie. Il s'agit d'une méthode employée en bactériologie médicale, connue sous le nom de méthode des disques ou méthode de diffusion sur gélose. Cette technique repose sur l'utilisation de disques de papier imbibés des diverses substances à examiner, qui sont ensuite disposés sur la surface d'une gélose uniformément peuplée par une suspension de la bactérie concernée. Suite à l'incubation, les colonies se propagent sur la gélose, créant des zones non colonisées autour des disques communément appelées zones d'inhibition (Boudechicha, 2024).

Le diamètre de la zone d'inhibition est directement proportionnel à l'activité antimicrobienne de la substance testée contre le micro-organisme. Une zone d'inhibition plus large indique une sensibilité accrue, tandis qu'une zone plus petite indique une résistance (Bhargav et al, 2016).

III.2.1. Description des souches bactériennes étudiées

Les bactéries constituent un ensemble remarquablement complexe et captivant. Il s'agit d'organismes cellulaires simples connues sous le nom de procaryotes, généralement retrouvées en abondance en raison de leur capacité à se reproduire rapidement. Malgré leur taille microscopique, on peut identifier diverses morphologies chez les bactéries. Les formes les plus fréquentes sont les tiges, les cocci (de forme circulaire) et la spirale. Elles peuvent être de

grande taille, de petite taille, ovales, épaisses, longues, courtes ou encore plus épaisses. On peut classer les bactéries en deux catégories (Gram-positif et Gram-négatif), en fonction de la distinction de la structure et de la composition chimique de leur paroi cellulaire.

♦ **Bactéries à Gram positives**

➤ ***Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)**

Selon le Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique (2015), *Staphylococcus aureus*, connu sous le nom de staphylocoque doré, est une bactérie cocci à Gram positif, qui se présente en amas au microscope. Elle est catalase positive et coagulase positive. Cette bactérie est naturellement présente sur la peau et les muqueuses de l'homme. Cependant, certaines souches sont capables de produire des toxines pouvant être à l'origine de divers syndromes cliniques, notamment les intoxications alimentaires.

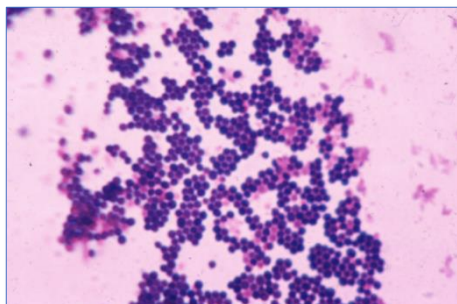


Figure 19. Vue microscopique de *Staphylococcus aureus* (Asadi et Jamali, 2017).

➤ ***Bacillus subtilis* (ATCC 6633)**

Bacillus subtilis est une bactérie aérobie à Gram positif présente naturellement dans le sol. Elle se distingue par ses applications en agriculture, notamment comme agent de biocontrôle, grâce à sa capacité à concurrencer les pathogènes, inhiber leur fixation et stimuler les défenses des plantes (Chambre d'Agriculture de la Gironde et IFV., 2021). En biotechnologie, elle est également exploitée pour la production de protéines hétérologues et la sécrétion d'enzymes variées facilitant son adaptation à différents milieux (Earl et al, 2008 ; Su et al, 2020).

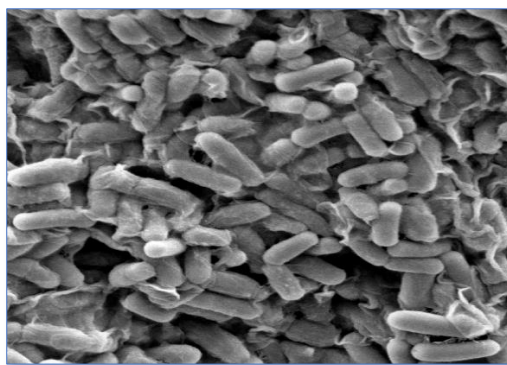


Figure 20. Observation microscopique de *Bacillus subtilis* (Kovács, 2019).

♦ **Bactéries à Gram négatif**

➤ *Escherichia coli* (ATCC 25922)

Est une bactérie à Gram négatif, de forme bacillaire, mesurant entre 1,1 à 1,5 μm de large et 2,0 à 6,0 μm de long, ce qui en fait un bon modèle de bactérie de taille moyenne (Willey et al, 2020). Elle fait partie de la flore digestive normale chez l'homme et les animaux, et constitue un indicateur de contamination fécale lorsqu'elle est détectée dans l'eau (Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique, 2015). *E. coli* est mobile, aéro-anaérobie facultative, et se cultive aisément sur des milieux contenant du lactose, formant après 24 h des colonies rondes et lisses de 2 à 3 mm de diamètre (Figure 21).

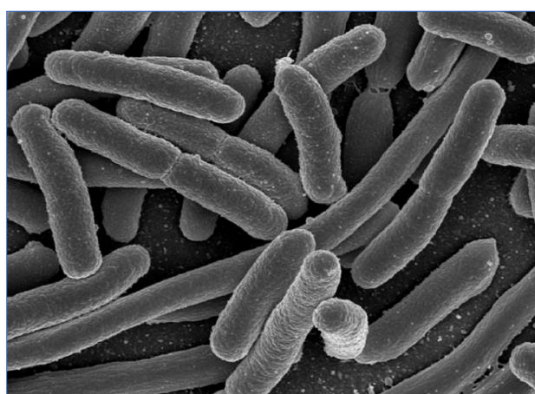


Figure 21. Observation microscopique de *Escherichia coli* (Panchangam, 2015).

➤ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

Est une bactérie mobile, non fermentante, Gram négative, en forme de bâtonnet, appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae* (Wu et al, 2015 ; El-Fouly et al, 2015). Son génome est relativement grand, de 5,5 à 7Mbp, comparé à celui d'autres bactéries (Schmidt et al, 1996 ; Lee et al, 2006), et présente une grande polyvalence génétique (Stover et al, 2000 ; Lister et al, 2009 ; Wu et al, 2015). Cette adaptation génétique permet à *P. aeruginosa* de survivre et de proliférer dans des environnements très variés, de produire de nombreux facteurs de virulence et de résister à la plupart des antibiotiques actuellement disponibles (Wu et al., 2015 ; Qin et al, 2022).



Figure 22. Vue microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* (Memdouh et Reddafi, 2018).

Etude

Expérimentale

***Matériels et
Méthodes***

IV. Matériel et méthodes

Le travail expérimental relatif à ce mémoire de Master a été effectué au niveau du Laboratoire pédagogique de biologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Centre universitaire Abd Elhafid Boussouf Mila.

La présente étude a pour objectif :

- ✓ Préparation des extraits bruts
- ✓ Détermination du rendement des extraits
- ✓ Analyse qualitative
- ✓ Analyse quantitative (Dosage)
 - Des polyphénols
 - Des flavonoïdes
 - Des flavon-flavonols
 - Des tannins
- ✓ Évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits (DPPH)
- ✓ Évaluation de l'activité antibactérienne

IV.1. Achat de Matériel végétale

Le clou de girofle, qui est une plante disponible sur le marché tout au long de l'année, représente la matière végétale utilisée comme composant. Sa valeur est due à son rôle dans la tradition culinaire algérienne et son utilisation en médecine traditionnelle. C'est un herboriste de la région de Ferdjioua qui l'a fourni en janvier 2025.

La photo suivante illustre le matériel végétal utilisé, qui possède les attributs suivants :

- Teinte: Brune
- Odeur: Forte



Figure 23. Clou de girofle utilisé (Photo Personnelle,2025).

IV.2. Préparation des extraits bruts

Deux méthodes d'extraction ont été adoptées pour l'obtention des extraits à partir de boutons floraux de l'espèce type : *Syzygium aromaticum* L. (Clou de girofle).

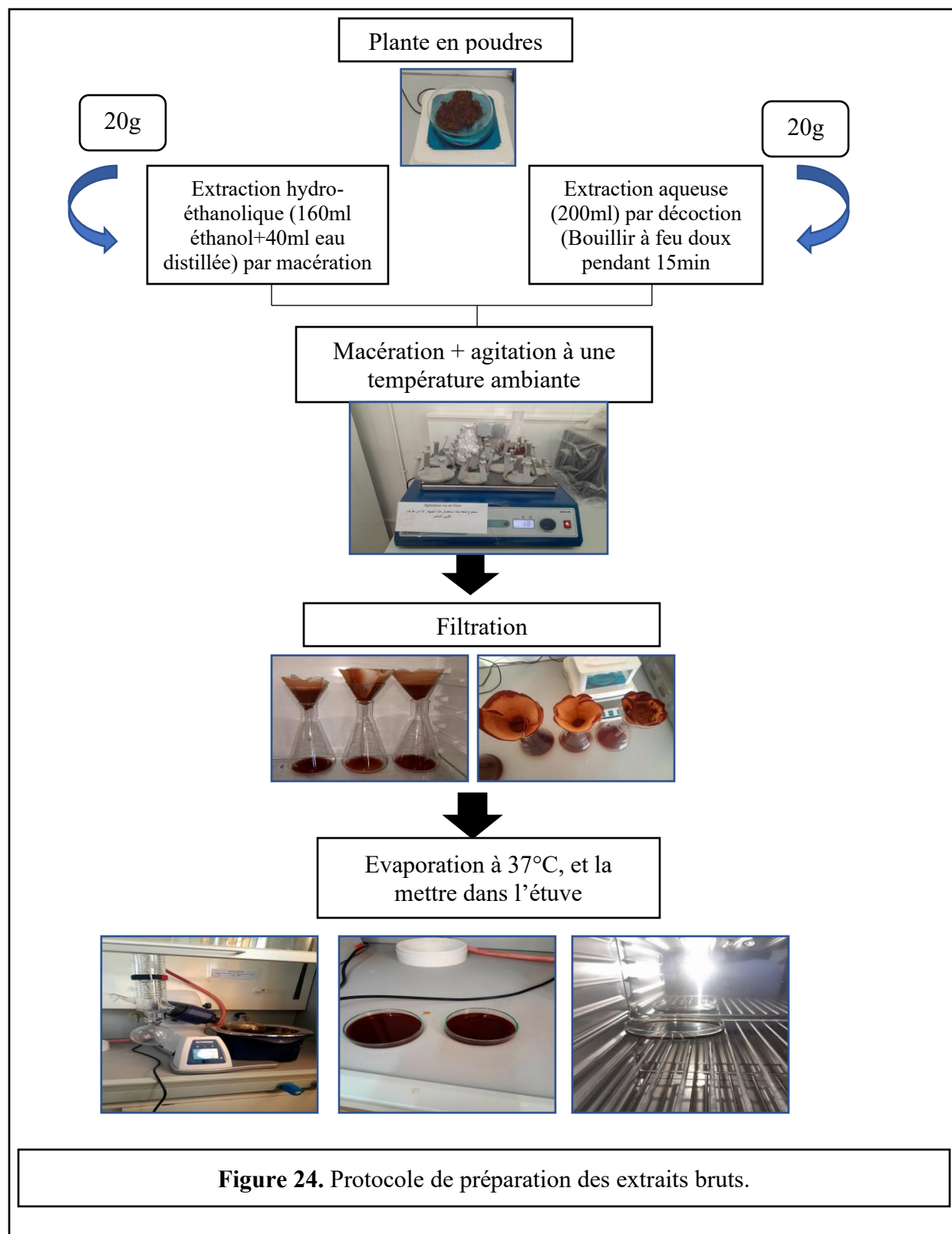
➤ Extrait Hydro-éthanoliques

L'extraction hydro-éthanolique a été effectuée par macération de la poudre dans l'éthanol 80%. Pour cela, 20g de matériel végétal est macérée dans 160ml d'éthanol+ 40ml d'eau distillée absolu à température ambiante pendant 48 heures et sous agitation. Le macérât est ensuite filtré et enfin le filtrat est concentré dans un rotavapor à 37°C (Plaskova et Mlcek, 2023). Le résidu obtenu est pesé pour estimer le rendement et conservé à -20°C à l'abri de la lumière jusqu'à leur analyse. Le processus d'extraction est résumé par l'organigramme reporté dans la Figure 24.

➤ Extrait aqueux

La méthode d'extraction aqueuse a consisté à introduire 20g de poudre dans 200ml d'eau distillée. Le mélange est porté à une température élevée pendant un quart d'heure, puis il est laissé à macérer tout en étant agité pendant deux jours, à l'abri des rayons lumineux et à une

température ambiante. Suite à la macération, l'extrait aqueux a été passé au filtre et le filtrat ensuite été évaporé à 37°C à l'aide d'un évaporateur rotatif avant d'être séché dans une étuve à 27°C (Belhattab et *al*, 2004 ; Benzakour et *al*, 2012). On pèse le résidu obtenu pour déterminer le rendement, puis on le garde à -20°C, protégé de la lumière, pour une utilisation future (Figure 24).



IV.3. Détermination du rendement des extraits

On définit le rendement des extraits obtenus comme étant la proportion entre la masse de l'extrait sec obtenu après évaporation et la masse initiale de la poudre végétale utilisée. L'équation suivante sert à calculer ce rendement :

$$\text{Rendement (\%)} = M_0 / M_1 \times 100$$

Dont:

$\Rightarrow M_0$ = Poids du résidu sec évaporé.

$\Rightarrow M_1$ = Poids de poudre initiale.

IV.4. Analyse qualitative

L'examen phytochimique repose sur des réactions de coloration ou de précipitation, plus ou moins spécifiques, associées à chaque catégorie de principes actifs. Cela a été réalisé soit en utilisant la poudre de la plante, soit son infusion à 5%. Les techniques de caractérisation employées sont issues de celle décrite par : Amadou, 2005 ; Bekero et *al*, 2007 ; Benarba, 2016 ; El-Haoud et *al*, 2018.

Les résultats sont classés selon l'apparition en :

- Réaction franchement positive: (+ + +)
- Réaction positive: (+ +)
- Réaction moyennement positive: (+)
- Réaction négative: (-)

Préparation de l'infusé à 5%:

L'infusion à 5% se réalise en incorporant 5g de poudre végétale dans 100mL d'eau distillée chaude. La solution est filtrée avec du papier filtre après un contact de 15 à 20 minutes (Figure 25).



Figure 25. Infusion 5% (filtration après un contact de 15 à 20 min) (Photos Personnelle,2025).

➤ **Détection des Polyphénols**

Une goutte de chlorure ferrique (FeCl_3) à 2% est ajoutée à 2mL de l'infusé. La présence des polyphénols se traduit par une coloration bleue-noirâtre ou vert foncé.

➤ **Détection des Flavonoïdes**

Un volume de 5mL d'ammoniaque dilué (NH_4OH) et 1mL d'acide sulfurique (H_2SO_4 à 10%) sont ajoutés à 5mL de l'infusé. La présence de flavonoïdes se manifeste par une coloration jaune.

➤ **Détection des tannins**

Deux ml d'extrait brut sont additionnés quelques gouttes d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 2%. L'apparition d'une coloration bleu-noir ou vert-noir indique respectivement la présence de tannoïdes ou de tannins vrais.

➤ **Détection des saponides**

Les résidus sont repris dans 5ml d'eau distillée, puis introduits dans un tube à essai. Le tube à essai est agité vigoureusement. La formation d'une mousse (hauteur supérieure à 1cm) stable, persistant pendant 1h indique la présence abondante de saponines.

➤ **Détection des Alcaloïdes**

La détection de la présence des alcaloïdes est faite par différents tests avec le changement de réactif, parmi ces tests : test de Bouchardat et test de Wagner (Annexe 1). 2mL de décocté préparé pour les tests précédent sont additionnés à 2 gouttes du réactif de Bouchardat ou Wagner. Le résultat positif est révélé par une précipitation de couleur brun rougeâtre.

➤ **Détection des Anthocyanes**

Elle est réalisée par l'addition de 5mL H_2SO_4 à 10% et quelques gouttes de NH_4OH à 5mL de l'infusé. La présence de ces métabolites est confirmée par le virage de la couleur vers le bleu violacé.

➤ **Détection des Dérivés anthracénique**

• **Anthraquinone libre**

A 1g de poudre de la plante on ajoute 10mL de chloroforme et on chauffe pendant 3min au bain Marie. Après filtration, 1mL de l'extrait chloroformique est agité avec 1mL de NH_4OH . La présence des anthraquinones libres est confirmée par le virage de la couleur vers le rouge.

➤ **Détection des Quinones**

Faire bouillir 0,5g de poudre de plante dans 20ml de l'eau distillé, on filtre et à 1ml du filtrat on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré, la couleur rouge indique la présence des quinones.

➤ **Détection des Composés réducteurs**

Leur détection consiste à introduire 2ml du décocté (10%) dans un tube à essai et 2mL de la liqueur de Fehling (Annexe 1). Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 3min. L'obtention d'un précipité rouge brique au fond de tube à essai indique la présence des composés réducteurs.

➤ **Détection de Mucilage**

Après avoir introduit 1ml de décocté (10%) dans un tube à essai, 5mL d'éthanol absolu ont été ajouté, suivi d'une agitation. Le mélange a été reposé pendant dix minutes et la présence de mucilage a été indiquée par l'obtention d'un précipité floconneux.

➤ **Détection des Protéines**

Cinq ml de décocté préparé avant ont été chauffé avec quelques gouttes d'acide nitrique (HNO_3). La couleur jaune qui vire à l'orange lors de l'ajout d'une base (NaOH) prouve la présence des protéines.

IV.5. Analyse quantitative

La quantification des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des flavones et des flavonols des différents extraits est déterminée à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnages et exprimés en μg équivalent/ mg d'extrait. La raison principale pour le choix de

ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des plantes leur sont attribués

IV.5.1. Dosage des polyphénols

La teneur en polyphénols totaux des extraits Hydro-éthanolique et aqueux de *Syzygium aromaticum* L. a été déterminée par la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Erkan et al, 2008). Ce réactif est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PWO_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungsten (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}). La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 725nm. Elle est proportionnelle aux taux de composés phénoliques (Ereifej et al, 2016).

- **Mode opératoire**

- **Préparation de la solution de Carbonate de Sodium Na_2CO_3 à 7.5%**

Une quantité de 7.5g de Na_2CO_3 est dissous dans 100mL d'eau distillée (solution S1).

- **Préparation de la solution de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois**

Un ml de la solution de réactif de Folin Ciocalteu concentré, est complété à 10mL avec de l'eau distillée (solution S2).

- **Procédure**

Le protocole employé est fondé sur celui établi par Belkhiri et al, (2017) avec quelques ajustements apportés.

Un volume de 200µL de chaque extrait de la plante est ajouté dans des tubes en verre à hémolyse, avec des dilutions appropriées, à 1ml de S2. Après une incubation de 15 minutes à température ambiante, on ajoute 800µL de S1. Les tubes sont agités et conservés à l'abri de la lumière pendant deux heures. L'absorbance est lue à 765nm sur un spectrophotomètre (Figure 14). Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (éthanol ou l'eau distillé).

Avec 3 répétitions pour chaque essai, la teneur en polyphénols totaux est estimée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (10-120µg/mL) et est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait) (Figure 26).

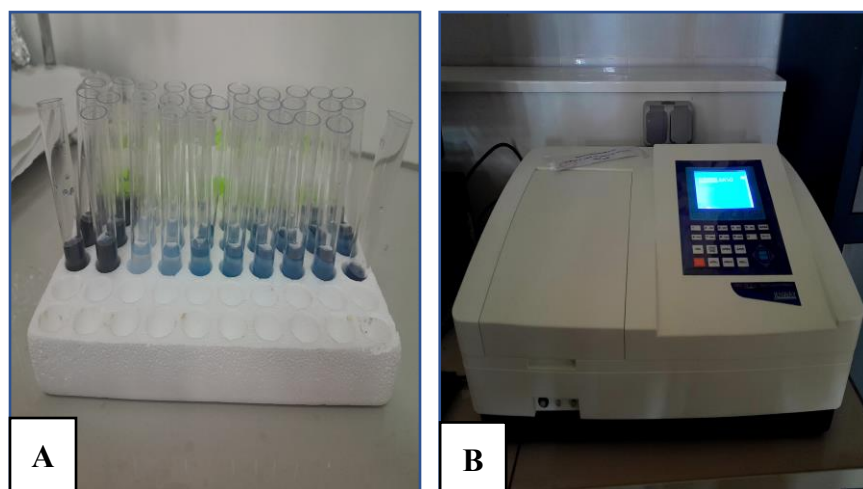


Figure 26. Etapes de dosage des polyphénols, A : Série de dilution de standard (l'acide gallique) et de deux extraits, B : Lecture au spectrophotomètre (Photos Personnelle, 2025).

IV.5.2. Dosage des flavonoïdes

L'évaluation des flavonoïdes présents dans *Syzygium aromaticum* L. a été effectuée à l'aide de la technique du trichlorure d'aluminium (AlCl_3). En la présence de ce dernier, les flavonoïdes ont la capacité de créer un complexe acide stable de teinte jaunâtre qui absorbe dans le spectre visible à 510nm. On effectue le dosage de ce complexe par spectrophotométrie à 430nm (Ali-Rachedi et al, 2018).

- **Mode opératoire**

- **Préparation de la solution d' AlCl_3**

Une quantité de 2g d' AlCl_3 est dissoute dans 100mL de méthanol (Solution S3).

- **Procédure**

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par Kosalec et al, (2004). Habituellement, dans des tubes à hémolyse en verre, 1mL de chaque extrait de la plante, préparés avec d'éthanol ou de l'eau distillée, est ajouté à 1mL d'une solution fraîchement élaborée de S3, après avoir effectué des dilutions appropriées. L'absorbance est mesurée à 430nm suite à une incubation de dix minutes dans l'obscurité. Un blanc est élaboré en substituant les extraits par le solvant employé lors de l'extraction. La concentration en flavonoïdes est déterminée à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (2,5-25 $\mu\text{g/mL}$) et elle est exprimée en microgrammes d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg d'E}$) (Figure 27).

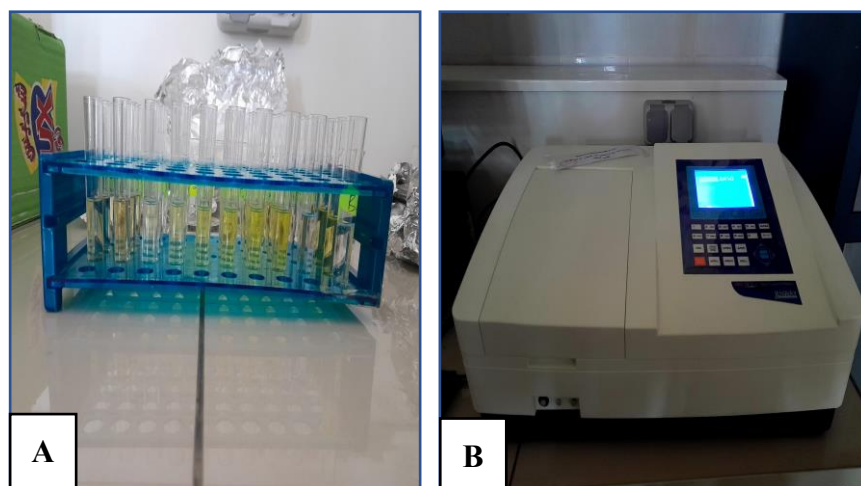


Figure 27. Etapes de dosage des flavonoïdes, A : Série de dilution de standard (la quercétine), et de deux extraits, B : Lecture au spectrophotomètre (Photos Personnelle, 2025).

IV.5.3. Dosage des flavon-flavonols

- **Mode opératoire**

- **Préparation de la solution d' AlCl_3**

Une solution S4 est obtenue en dissolvant 10g d' AlCl_3 dans 100mL de méthanol.

- **Préparation de la solution d'acétate de sodium (5%)**

Une solution S5 est obtenue en dissolvant cinq grammes d'acétate de sodium dans 100mL de méthanol.

- **Procédure**

La teneur en flavones et flavonols a été déterminée selon la méthode de Kosalec et *al*, (2004). Pour chaque échantillon, 500 μL d'extrait végétal ont été mélangés à 1500 μL d'éthanol, 100 μL de la solution S4, 100 μL de la solution S5, et 2800 μL d'eau distillée. Après 30 minutes de réaction, l'absorbance a été mesurée à 415nm. Un blanc a été préparé en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction. Toutes les analyses ont été réalisées en triplicata. La concentration a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec de la quercétine (1–200 $\mu\text{g}/\text{mL}$), et les résultats exprimés en μg équivalent quercétine par mg d'extrait ($\mu\text{g EQ}/\text{mg d'E}$) (Figure 28).

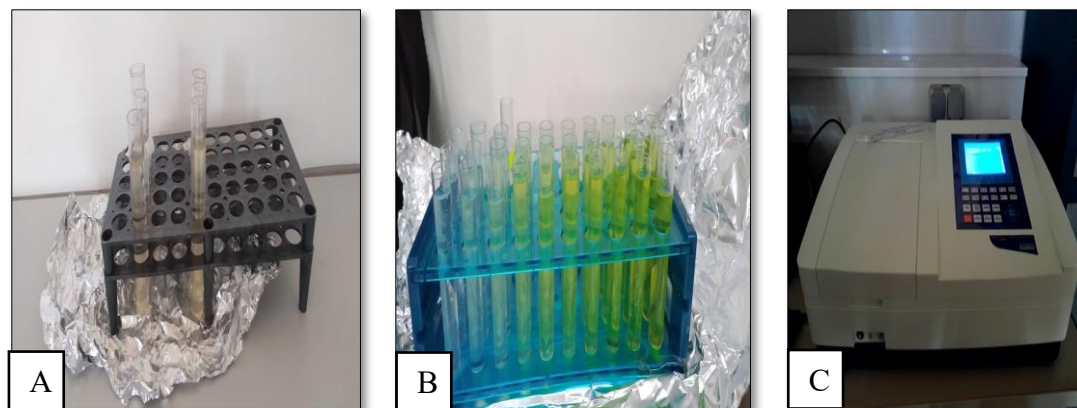


Figure 28. Etapes de dosage des flavons flavonols, A : Série de dilution de standard (la quercétine), B : Dilutions de *Syzygium aromaticum* L. (aqueux et hydro-éthanolique), C : Lecture au spectrophotomètre (Photos Personnelle, 2025).

IV.5.4. Dosage des tannins

- **Mode opératoire**
 - **Préparation de solution de vanilline (4%)**

Une quantité de 381mg de vanilline sont dissous dans 9.5mL de méthanol (solution S6).

- **Préparation de l'acide chlorhydrique**

Utilisation directe d'HCl concentré (solution S7).

- **La procedure**

La teneur en tanins condensés a été déterminée selon la méthode décrite par Ali-Rachedi et al, (2018). Un volume de 50 μ L d'extrait est ajouté à 1500 μ L de la (solution 6) de vanilline/méthanol (4 %), puis le mélange est agité vigoureusement. Ensuite, 750 μ L de la (solution 7) sont ajoutés. La solution est laissée réagir à température ambiante pendant 20 minutes. L'absorbance est mesurée à 550nm contre un blanc. La concentration est calculée à l'aide d'une courbe d'étalonnage préparée avec différentes concentrations de catéchine (0 à 1000 μ g/mL). Les résultats sont exprimés en μ g équivalent catéchine par mg d'extrait (μ g EC/mg d'E) (Figure 29).

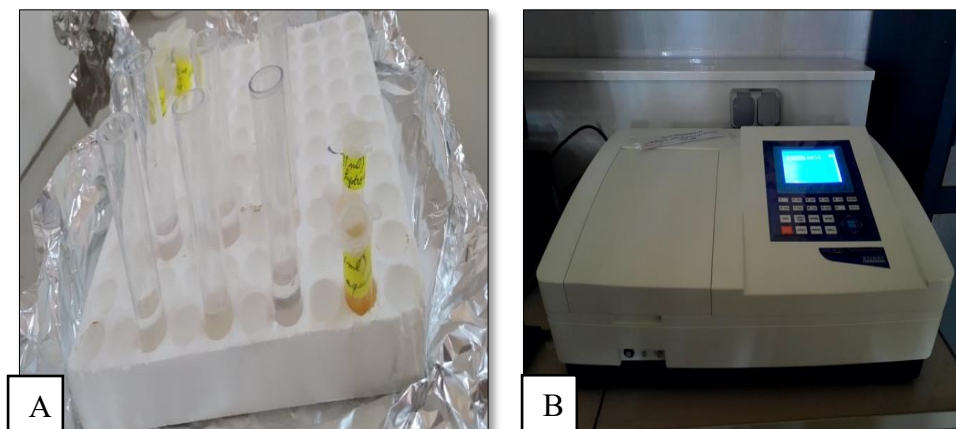


Figure 29. Etapes de dosage des tanins, A : Dilutions de *Syzygium aromaticum* L. (aqueux et hydro-éthanolique), B : Lecture au spectrophotomètre (Photos Personnelle, 2025).

IV.6. Évaluation de l'activité antioxydante des extraits

Dans le cadre de notre étude, la capacité antioxydante des substances a été évaluée par des méthodes *in vitro*, contrairement aux évaluations *in vivo* réalisées sur des organismes vivants. Parmi les différentes techniques disponibles, nous avons choisi d'appliquer une méthode : le piégeage du radical libre DPPH[•]. Cette méthode a été utilisée pour mesurer l'activité antioxydante d'extraits aqueux et hydroéthanoliques de *Syzygium aromaticum* L. à l'aide d'un spectrophotomètre (Figure 30).



Figure 30. Lecture au spectrophotomètre (Photo Personnelle, 2025).

Principe

Le test DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), est une méthode courante pour évaluer le pouvoir antioxydant d'une substance. Le principe repose sur la capacité d'un antioxydant à

réduire le radical libre DPPH. Un composé violet stable, on le transformant en une forme jaune pâle. Cette réduction est mesurée par spectrophotométrie, généralement à une longueur d'onde de 515nm, où le PPH présente son maximum d'absorption. Plus la solution devient jaune, plus l'activité antioxydante est élevée (Saani, 2016).

IV.6.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

➤ Préparation de la solution des extraits végétaux et de l'acide ascorbique

Cinq mg d'extrait végétale et de l'acide ascorbique sont dissous dans 5mL d'eau distillée ou éthanol pour l'extrait végétale et Méthanol pour l'acide ascorbique. À partir d'une solution mère ayant une concentration de 5mg/mL, nous prélevons 1250µL que nous complétons à 5000µL avec de l'eau distillée ou de l'éthanol. Ainsi, nous obtenons une solution mère diluée à une concentration de 0,25 mg/mL. Avec différentes concentrations d'extraits ont été utilisées. (Figure 31).

➤ Préparation de la solution méthanolique de DPPH

Quatre mg de réactif de DPPH a été dissoute dans 100ml de MeOH (solution S8). L'absorbance du mélange est mesurée à 517nm et doit être comprise entre à 0,7 et 0,8 nm (à $\lambda=517\text{nm}$). Ceci est dans le but d'assurer une quantité du radical (DPPH•) suffisante dans le milieu réactionnel pour le bon déroulement de la réaction (DPPH• (violet) → DPPH (jaune)).

➤ Procédure

Cet activité a été mesurée selon le protocole décrit par Blois, (1958) avec quelques modifications. Brièvement, une quantité de 400µL de chaque dilution a été placée dans des tubes à hémolyse. Ensuite, une quantité de 1000µL de la solution S8 a été ajoutée dans chaque tube contenant 400µL de dilution (AA, extraits végétaux). Les tubes ont été incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 517nm, en utilisant un blanc et un contrôle (pour l'AA et les extraits). Chaque test a été réalisé en triplicata, et le résultat est présenté sous forme de moyenne des trois essais.

Une faible valeur d'absorbance indique une activité de piégeage des radicaux libres plus élevée. La capacité de piégeage du radical DPPH• a été calculée selon l'équation suivante :

$$(\%) \text{ d'Inhibition } = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

Dont:

- $A_{\text{contrôle}}$: est l'absorbance de la solution DPPH.
- A_{extrait} : est l'absorbance de l'échantillon à une concentration donnée/standard.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50), plus la valeur de (IC50) est faible plus l'extrait est puissant vis-à-vis des radicaux libres.

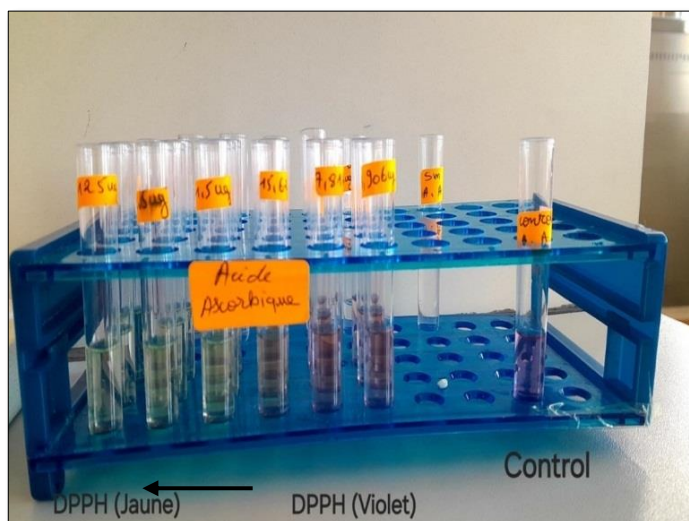


Figure 31. Dégradé de couleur du DPPH lors de son ajout à différentes concentrations de l'extrait (Photo Personnelle, 2025).

IV.7. Evaluation de l'activité antibactérienne

Dans le but d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits aqueux et hydro-éthanolique de la plante en laboratoire, nous avons employé la méthode de diffusion en disque sur le milieu de gélose Mueller-Hinton, qu'est une technique qualitative basée sur la mesure du diamètre des zones d'inhibition apparents autour des disques chargés d'extrait végétaux.

1.1. Souches testées

On a analysé les souches bactériennes afin d'évaluer l'efficacité des extraits de *Sygygium aromaticum* contre : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*.

a. Bactéries gram-positives

Les bactéries Gram-positives comme le *Staphylococcus aureus* ont une couche de peptidoglycane particulièrement dense. L'espace périplasmique chez eux est plus limité que

celui des bactéries Gram-négatif, mais il fonctionne comme un dépôt pour les enzymes, les nutriments, les protéines et les ions (Makhloufi et Tabchiche, 2024).

b. Bactéries Gram- négatif

Les bactéries Gram-négatives comme *Escherichia coli* ont une paroi cellulaire sophistiquée et complexe qui leur sert de protection tout en permettant une circulation sélective des nutriments depuis l'extérieur et des déchets vers l'extérieur (Makhloufi et Tabchiche, 2024).

L'efficacité antibactérienne des deux extraits a été évaluée sur des souches de référence provenant de l'American Type Culture Collection (ATCC). Toutes ces souches sont détaillées dans le tableau 2.

Tableau 2. Présentation descriptive des diverses souches bactériennes examinées.

Souche bactérienne	ATCC	Gram
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Positif
<i>Bacillus subtilis</i>	6633	Positif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Négatif
<i>Escherichia coli</i>	25922	Négatif

Technique de diffusion des disques sur milieu solide (Antibiogramme)

Cette technique sert à évaluer la sensibilité des bactéries aux substances contenues dans les extraits de la plante.

1.2.Préparation des milieux

➤ Milieu de Chapman (Agar Mannitol-Selé)

Le milieu de Chapman est utilisé pour l'isolement de *Staphylococcus aureus*. Environ 11g de poudre du milieu sont dissous dans 100mL d'eau distillée, puis chauffés à ébullition sur une plaque chauffante avec agitation jusqu'à dissolution complète, Le milieu est ensuite versé dans des boîtes de Pétri stériles et laissé à refroidir et solidifier. Il est essentiel de maintenir une zone de travail bien stérile tout au long de la préparation pour éviter toute contamination (Figure 32).



Figure 32. Préparation du milieu Chapman pour l'isolement de *Staphylococcus aureus* (Photo Personnelle, 2025).

➤ **Milieu de Hektoen (HK)**

Le milieu de HK est utilisé pour l'isolement des entérobactéries, notamment *Escherichia coli*. Pour sa préparation, environ 5,33g de poudre sont dissous dans 70mL d'eau distillée, puis le mélange est chauffé sur une plaque chauffante avec agitation jusqu'à ébullition complète. Ensuite, le milieu est versé dans des boîtes de pétri stériles et laissé à refroidir. Comme toujours, il est important de travailler dans des conditions aseptiques afin d'éviter toute contamination (Figure 33).



Figure 33. Préparation du milieu HK pour l'isolement d'*Escherichia coli* (Photo Personnelle, 2025).

➤ **Milieu de Gélose Nutritif (GN)**

Le milieu de gélose nutritive est utilisé pour l'isolement de *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*. Pour sa préparation, environ 14g de poudre sont dissous dans 500mL d'eau distillée, puis le mélange est chauffé jusqu'à ébullition sur une plaque chauffante avec agitation (Figure 34).

Le milieu préparé a été réparti dans des flacons stériles, puis stérilisé à l'autoclave. Ensuite, le milieu est versé dans des boîtes de Pétri stériles et laissé à refroidir pour

solidification. Il est impératif de maintenir des conditions aseptiques durant toute la manipulation pour éviter la contamination. Le reste du milieu préparé est réparti dans des flacons stériles et conservé pour des utilisations ultérieures.



Figure 34. Préparation du milieu GN pour l'isolement de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa* (Photo Personnelle, 2025).

1.3. Préparation du milieu Mueller Hinton (MH)

Environs 19g d'agar nutritif sont pesés puis dissous dans 500ml d'eau distillée, la solution obtenue est ensuite stérilisée à l'autoclave (à 120°C pendant 20min).

Après le milieu est coulé à raison de 4mm d'épaisseur pour permettre une bonne diffusion de l'extrait et laisser refroidir. Les boîtes doivent être disposées sur une surface plane afin d'assurer une bonne uniformisation de la surface avant solidification de la gélose (Figure 35).



Figure 35. Préparation du milieu MH (Photos Personnelle, 2025).

1.4. Préparation des disques

Les disques sont placés dans un tube à essai et autoclavés pendant 20min à 120°C, puis stockés à une température ambiante, en gardant le tube hermétiquement fermé.

1.5. Stérilisation du matériel

La stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 à 20 minutes a été effectuée sur l'eau distillée, les tubes de test utilisés pour préparer les suspensions bactériennes (inoculum), les milieux de culture et les disques en papier Whatman préparés, ainsi que sur nos échantillons et leurs dilutions (Figure 36).



Figure 36. Stérilisation du matériel à l'autoclave (Photo Personnelle, 2025).

1.6. Repiquage sur milieux différentiels

La réactivation des souches bactériennes conservées est une étape cruciale avant utilisation, car leur activité est nulle à l'état conservé. L'objectif est d'avoir une culture jeune, pure, prête à être utilisée dans les tests à venir.

Les quatre souches bactériennes ont été cultivées sur les milieux de culture appropriés mentionnés ci-dessus. L'intervention a été réalisée dans des conditions stériles strictes. À l'aide d'une anse en platine stérile, une petite quantité de chaque souche a été prélevée et soigneusement étalée sur la surface de boîtes de pétri contenant les milieux spécifiques (Figure 37).

La technique utilisée est basée sur l'inoculation par lignes successives : après chaque passage, la plaque est légèrement retournée afin de répartir les lignes et d'assurer un meilleur isolement des colonies. Chaque souche a été inoculée uniquement sur son milieu sélectif approprié.

Les boîtes ont ensuite été hermétiquement fermées, étiquetées et incubées dans un incubateur à 37°C pendant 24 heures pour permettre aux microcultures de se développer. Ces

cultures ont ensuite été utilisées pour préparer les suspensions bactériennes nécessaires aux tests (Amiri et Boualleg, 2014) (Boukalkola et *al*, 2021).



Figure 37. Repiquage des différentes souches sur les milieux HK, Chapman et GN (Photos Personnelle, 2025).

1.7. La série de dilution des extraits

Les extraits ont été dissolus dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour l'extrait hydro-éthanolique (Figure 26) et l'eau distillée (Figure 38). Pour préparer des solutions mères avec des concentrations de 25, 50, 100 et 200mg/mL. Une autre dilution a été ajoutée, qui était $T_{1/8}$:

- Solution mère (SM) : 200mg d'extrait avec 1ml DMSO (200mg/mL).
- $T_{1/2}$: 0.5ml SM avec 0.5ml DMSO (100mg/mL).
- $T_{1/4}$: 0.5 d'extrait de T1/2 avec 0.5ml DMSO (50mg/mL).
- $T_{1/8}$: 0.5 d'extrait de T1/4 avec 0.5ml DMSO (25mg/mL).



Figure 38. Série de dilution de l'extrait hydro-éthanolique (Photo Personnelle, 2025)

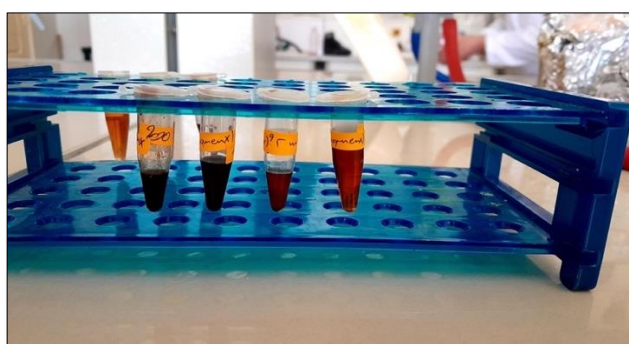


Figure 39. Série de dilution de l'extrait aqueux (Photo Personnelle, 2025).

1.8. Préparation de l'inoculum (Suspension bactérienne)

Nous préparons des suspensions pour les quatre souches en utilisant les boîtes contenant les germes d'une culture de 24 heures (Figure 40).

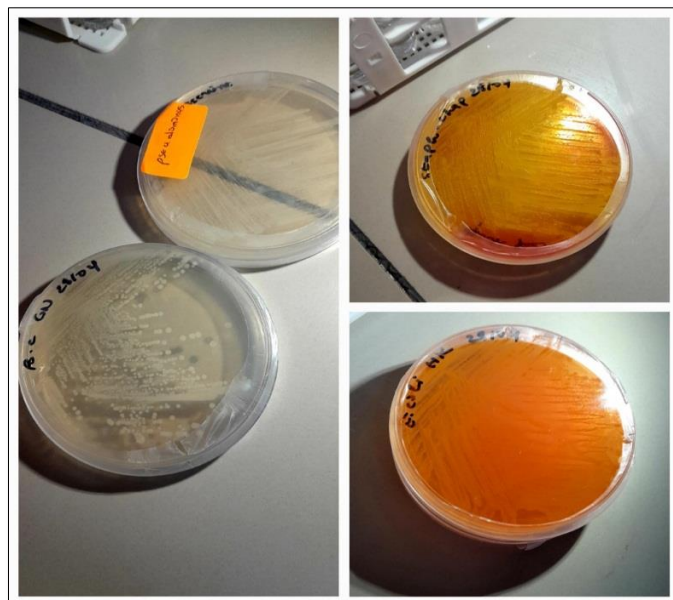


Figure 40. Germes d'une culture de 24h (Photos Personnelle, 2025).

A partir des cultures jeunes préparé précédemment, des suspensions bactériennes ont été préparées dans du sérum physiologique stérile (NaCl 0.9%) (Annexe 2), dont la densité optique (DO) doit être comprise entre 0.08 et 0.10 à 625nm. (Elle peut être ajustée par l'addition des cultures jeunes s'il est trop faible, ou par l'ajout de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort). Cet inoculum ne doit pas être utilisé au-delà de 15 minutes faute de quoi la concentration et donc l'opacité risque d'augmenter à cause de la croissance bactérienne (BIOMARK Laboratories, 2024).

Nous avons versé de manière aseptique le milieu de culture gélosé (MH) dans des boîtes de pétri devant une flamme de bec bunsen, puis laissé refroidir sur la paillasse (Figure 41).

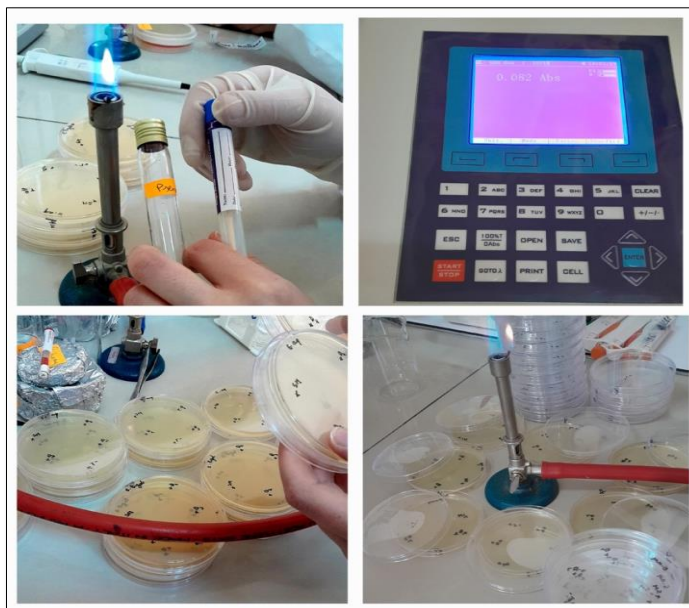


Figure 41. Refroidissement de milieu de culture gélosé Mueller Hinton (MH) et préparation de l'inoculum (Photos Personnelle, 2025).

1.9. Ensemencement

- On immerge un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- On le presse fermement contre la paroi interne du tube pour éliminer le maximum de liquide ;
- On frotte l'écouvillon sur toute la surface gélosée, de haut en bas, en formant des stries serrées. Cette opération est répétée deux fois, en tournant la boîte à 60° chaque fois ;
- Les disques sont placés aseptiquement à l'aide d'une pince stérile sur la gélose Mueller Hinton (GMH).
- On prélève 10µL pour chaque dilution de chaque extrait avec une micropipette et on les dépose sur les disques.

Une expérience a été menée avec des disques saturés uniquement de DMSO en tant que contrôle négatif, en répétant le processus en trois exemplaires pour chaque extrait et chaque bactérie afin de réduire les erreurs expérimentales. Les boîtes ont été placées en incubation à une température de 37°C pendant une durée de 18 à 24 heures (Figure 42).

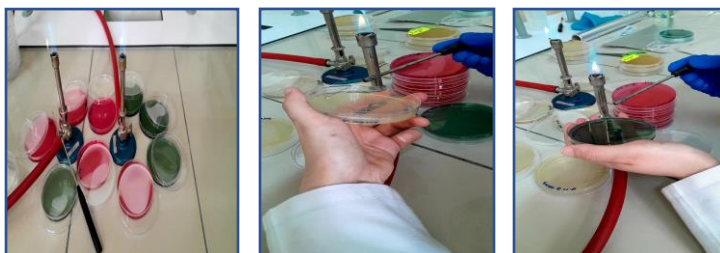
1.10. Lecture

L'effet antibactérien des extraits de la plante a été déterminé en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différentes concentrations autour des disques.

Tableau 3. Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (Benlahrache et Boukerzaza, 2021).

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible (-) ou résistante	Diameter moins de 8 mm
Sensible (+)	Diamètre compris entre 9 à 14 mm
Très sensible (++)	Diamètre compris entre 15 à 19 mm
Extrêmement sensible (+++)	Diameter plus de 20 mm

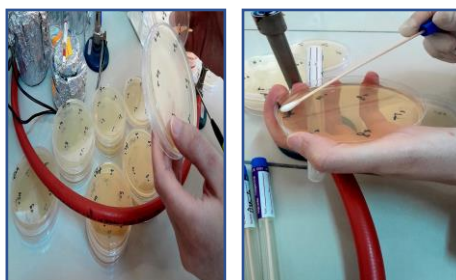
Repiquage des différentes souches sur différents milieux



Préparation de suspension bactérienne dans l'eau physiologique



Ensemencement du milieu gélose (GMH) à l'aide d'un écouvillon



Disposition des disques imbibés de 10 μ l des des différentes concentrations des extraits (25,50,100 et 200mg/mL (EHE) ; 25, 50, 100 et 200mg/mL (EAq)), et la mesure du halo d'inhibition



Figure 42. Organigramme de la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé (Antibiogramme) (photos personnelle, 2025).

***Résultats et
Discussion***

V.1. Détermination de rendement de l'extraction

Les extraits obtenus après évaporation sont généralement sous forme d'une poudre de couleur brunâtre (Figure 43). Le rendement de chaque extrait par rapport au poids du broyat est représenté dans la (figure 44) (Annexe 3).



Figure 43. Aspect de deux extraits obtenus (photo personnelle, 2025).

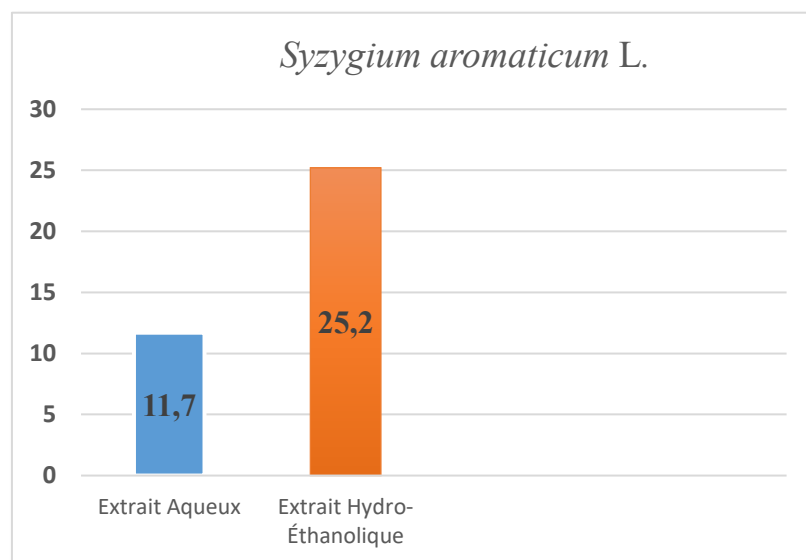


Figure 44. Rendements des extraits bruts (Hydro-Éthanolique et aqueux)

Les principes actifs ont été extraits des clous de girofle à l'aide de deux solvants différents : l'eau distillée et l'éthanol 80%. L'objectif de cette étape est de comparer l'efficacité de chaque solvant dans l'extraction de composés biologiquement actifs. Les résultats ont montré que le rendement de l'extrait aqueux était de 11.7%, tandis que le rendement de l'extrait Hydro-éthanolique était de 25.2%. Ce rendement est plus élevé que celle obtenu dans l'étude de Abo-

El Maati *et al*, (2016) qui était de 7,25%. Dans cette étude, ils ont utilisé d'autres types de solvants : le méthanol et l'acétate d'éthyle. Cette différence dans les rendements d'extraction de différents solvants est causée par les différences de polarité des constituants trouvés dans les matières végétales (Jayaprakasha *et al*, 2001).

Aussi, il est généralement reconnu que l'extrait hydro-éthanolique est plus efficace que l'extrait aqueux pour extraire les composés bioactifs du clou de girofle. Ceci est dû à la capacité de l'éthanol à dissoudre une variété importante de composés cellulaires, ainsi qu'à sa meilleure pénétration à travers les parois cellulaires des tissus végétaux par rapport à l'eau (Parekh et Ghanda, 2007).

Généralement, le rendement d'extraction dépend de plusieurs facteurs à savoir le temps de macération, la température, le solvant d'extraction et la nature chimique de l'échantillon (Lahsissene *et al*, 2009).

De nombreuses recherches antérieures ont mis en évidence que l'utilisation de l'éthanol comme solvant d'extraction permet d'obtenir un rendement plus élevé par rapport à l'eau, notamment en ce qui concerne l'extraction des composés phénoliques et bioactifs. (Molehin et Adefegha, 2014 ; Patel et Gokhale, 2016 ; Leliana *et al*, 2022 ; Efung *et al*, 2024).

V.2. Analyse qualitative

Cette analyse permet d'obtenir une première estimation des données initiales concernant les composants des extraits en démontrant l'absence ou la présence d'un type de métabolite à travers des tests rapides, fondés sur des réactions physicochimiques colorées, de précipitation ou de turbidité. Ces informations, bien évidemment, n'ont qu'un caractère indicatif, mais elles aident à guider les futures recherches.

Le tableau ci-dessous présente les résultats des tests de l'investigation phytochimique effectués sur les deux extraits.

Tableau 4. Résultats du criblage phytochimique des extraits de *Syzygium aromaticum* L.

Composé analysé	<i>Syzygium aromaticum</i> L.	Observation visuelle (photo des tubes)
Tannins	+++	
Saponines	+++	
Polyphénols	+++	
Flavonoïdes	+++	

Résultats et discussion

Anthocyanes	-	
Anthraquinone libres	-	
Alcaloïdes	+++	
Quinones	+++	
Composés réducteurs	-	

Mucilage	++	
Protéines	++	

(-) : absence de substance ; (+) : faible présence de substance ; (++) : Moyenne présence de substance ; (+++) : Forte présence de substance.

Les résultats du criblage phytochimique de *Syzygium aromaticum* L. révèlent une forte présence (+++) de plusieurs métabolites secondaires d'intérêt, notamment les tannins, les saponines, les polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les quinones.

L'absence des anthocyanes et des anthraquinones libres indique que ces composés ne sont pas des constituants majeurs de *Syzygium aromaticum* L. De plus, une présence moyenne (++) du mucilage et des protéines a été observée.

En revanche, les composés réducteurs sont absents ou peu représentés, ce qui signifie que les activités biologiques de cette plante reposent davantage sur ses polyphénols et alcaloïdes

Nos résultats ont montré une similitude notable avec ceux de Lone et Jain, (2022). Son analyse a révélé la présence des glucides, des lipides, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, ainsi que des stérols et des triterpènes. En revanche, l'absence des protéines, des saponines, des glycosides cardiaques et des anthraquinones a également été constatée.

La méthode utilisée pour détecter ces composés peut être légèrement différente, mais en général, les composés apparaissent ou disparaissent dans le clou de girofle.

Une autre étude a révélé la présence marquée des flavonoïdes, des tanins et des saponines, ainsi qu'une absence totale d'anthocyanes, ce qui concorde parfaitement avec les résultats de notre étude (Remita et Benzina, 2021). Par ailleurs, une autre étude a mis en évidence la présence de plusieurs composés, notamment : les saponines, les tanins, les phénols, les hétérosides cardiotoniques, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les dérivés anthracéniques (Oshomoh et al, 2015 ; Medfouni et Hafsi, 2017).

Ces résultats confirment donc le potentiel pharmacologique de *Syzygium aromaticum* L. particulièrement en tant qu'agent antimicrobien et antioxydant, ce qui justifie son utilisation en médecine traditionnelle et pourrait ouvrir des perspectives pour son exploitation dans la formulation de produits thérapeutiques ou cosmétiques.

V.3. Analyse quantitative

V.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Ce dosage a été réalisé en utilisant la technique de Folin Ciocalteu (FC). Leur quantification a été effectuée à l'aide d'une courbe d'étalonnage élaborée avec de l'acide gallique. L'expression de la concentration en polyphénols se fait en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme de matière sèche (μg EAG/mg d'E). La droite d'étalonnage obtenue à l'équation $Y = 0.0306x + 0.2205$ et un coefficient de corrélation R^2 de 0.9859 (Figure 45).

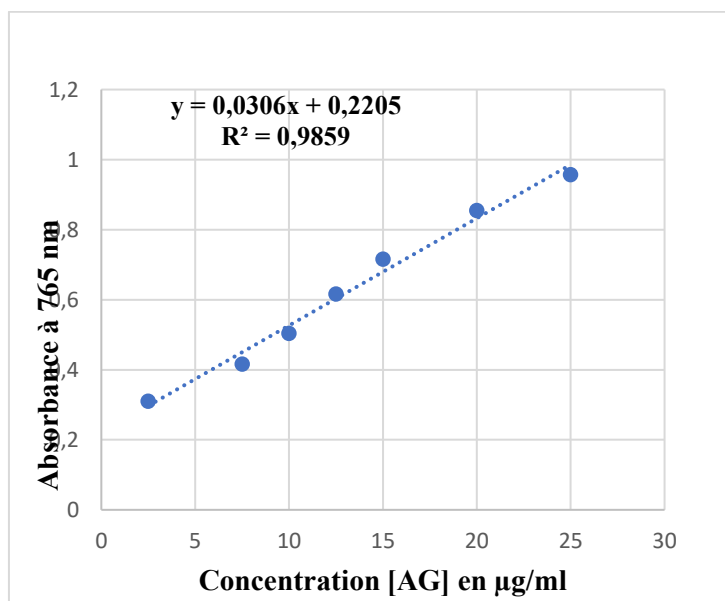


Figure 45. Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

L'analyse de la concentration totale en polyphénols a montré la présence de ces composés dans les deux extraits (aqueux et hydro-éthanolique à 80%), préparés à partir de la même quantité de clous de girofle entiers (*Syzygium aromaticum* L.), avec des quantités extraites variables selon le type de solvant utilisé.

➤ **Extrait aqueux:**

Après application de l'équation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage : $Y = 0,0306x + 0,2205$, la concentration totale en polyphénols dans l'extrait aqueux a été estimée. Notre étude a révélé une teneur totale en polyphénols dans l'extrait aqueux avec un résultat final de $19.59 \pm 0,03 \mu\text{g EAG/mg d'extrait sec}$.

➤ **Extrait hydro-éthanolique :**

En appliquant la même méthode et la même équation, la teneur en polyphénols totaux dans l'extrait hydro-éthanolique a été déterminée. Le résultat obtenu est de $26,78 \pm 0,19 \mu\text{g EAG/mg d'extrait sec}$, une valeur plus élevée que celle de l'extrait aqueux, ce qui montre une meilleure capacité de l'éthanol à 80 % à extraire les composés phénoliques.

L'extrait éthanolique présente une concentration en polyphénols totaux plus élevée que l'extrait aqueux. Cela peut s'expliquer par la nature polaire-apolaire de l'éthanol, qui lui permet d'extraire une plus grande diversité de composés phénoliques par rapport à l'eau seule.

Cependant, l'analyse menée par Ferhat et *al*, (2022) a démontré des concentrations très basses en dépit de l'emploi d'une plus grande quantité (30g) et d'une durée d'extraction prolongée (5 jours), obtenant des valeurs de $0,754 \mu\text{g EAG/mg}$ pour l'extrait aqueux et $0,274 \mu\text{g EAG/mg}$ pour l'extrait hydro-éthanolique. Cette diminution peut être imputée à la détérioration ou à l'oxydation des composés phénoliques causée par une macération trop longue, ou en fonction de la qualité du végétal employé.

La recherche effectuée par Kheild et Layachi, (2019), qui a employé de l'éthanol à 70% durant seulement deux heures, a produit un résultat de $17,82 \pm 0,53 \mu\text{g EAG/mg}$, et ce en dépit de l'usage du fruit sans la fleur. Cela met en évidence l'importance de la sélection de la partie végétale ainsi.

En outre, Ounaceur, (2023), a obtenu une concentration remarquablement haute de $176,02 \pm 0,040 \mu\text{g EAG/mg}$ suite à une macération aqueuse d'une durée de 24 heures. Cette

performance exceptionnelle pourrait être due à des conditions d'expérimentation optimisées ou à une qualité supérieure de l'échantillon végétal.

D'après l'extrait préparé par Abdelmuhsin et *al*, (2025) à l'aide de la méthode de décoction (2 à 6 heures de cuisson), il a affiché une concentration plutôt modeste de $7,225 \pm 0,12 \mu\text{g}$ EAG/mg. Cela peut s'expliquer par la sensibilité à la chaleur de certains composés phénoliques qui peuvent se décomposer lorsqu'ils sont exposés à une température élevée pendant une longue période.

Une autre étude Adaramola et Onigbinde, (2016) a également montré que l'extrait méthanolique contenait plus de polyphénols que l'extrait aqueux, et que les flavonoïdes contenaient beaucoup plus de polyphénols. Cela peut signifier que le bourgeon de girofle contient plus de flavonoïdes que de phénols. Les solvants d'extraction ont pu extraire plus de flavonoïdes des bourgeons de girofle que de phénols, ce qui est cohérent avec nos résultats.

On dit que les solvants à polarité moyenne sont préférés pour une utilisation dans l'extraction du phénol et antioxydants comparés aux solvants hautement polaires tels que l'eau ou aux solvants non polaires tels que l'hexane (Roudsari, 2007 ; Adaramola et Onigbinde, 2016).

Pour conclure, cette analyse souligne l'importance considérable du choix du solvant, de la technique et de la durée d'extraction, sans oublier le type de matière végétale, sur le contenu final en polyphénols. La performance notable des solvants organiques, en particulier les mélanges hydro-éthanoliques, met en évidence la nécessité de sélectionner habilement les conditions d'extraction pour maximiser le rendement en composés bioactifs.

V.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

L'évaluation des flavonoïdes a été réalisée en utilisant la technique d' AlCl_3 . Elle a été effectuée en se basant sur une courbe d'étalonnage établie avec un flavonoïde standard (quercétine) (Figure 34). Le contenu en flavonoïdes est quantifié en microgrammes d'équivalent de quercétine pour chaque milligramme d'extrait (μg EQ/mg d'E). L'équation de la droite résultant de l'étalonnage est $Y = 0.0341x + 0.0107$, avec un coefficient de corrélation R^2 de 0.9915.

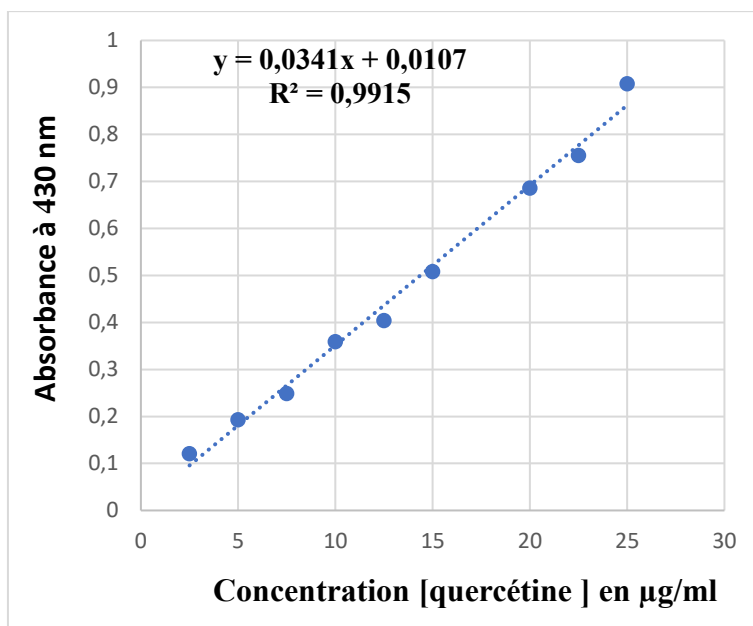


Figure 46. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

➤ Extrait aqueux:

L'application de cette équation a permis d'estimer la teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux à $20.38 \pm 0.03 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, indiquant une richesse modérée en flavonoïdes hydrosolubles.

➤ Extrait hydro-éthanolique :

Dans le cas de l'extrait hydro-éthanolique, la teneur obtenue est de $14.14 \pm 0.01 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, une valeur inférieure à celle de l'extrait aqueux.

Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux est plus riche en flavonoïdes que l'extrait hydro-éthanolique. Cela peut être attribué à la meilleure solubilité des flavonoïdes présents dans les clous de girofle dans l'eau, ou à leur nature majoritairement hydrophile. Le choix du solvant joue donc un rôle essentiel dans le profil des métabolites secondaires extraits.

En revanche, une étude antérieure a rapporté des concentrations beaucoup plus élevées (Ferhat et al, 2022), atteignant 58.495 mg EQ/g pour l'extrait aqueux et 5.73 mg EQ/g pour l'extrait hydro-éthanolique, en utilisant 30g de matière végétale dans 200mL de solvant. Malgré la grande différence entre les valeurs obtenues dans les deux études, que ce soit en termes de concentration ou de quantité de plante utilisée, la tendance générale reste similaire : l'extrait aqueux a montré une capacité d'extraction plus élevée des flavonoïdes que l'extrait hydro-éthanolique.

Cette variation des résultats peut être expliquée par plusieurs facteurs potentiels, notamment la nature de l'échantillon végétal utilisé, la partie de la plante prélevée, les conditions et la durée d'extraction (température, temps, pH, etc.), l'état physique de l'échantillon (frais ou sec), ainsi que la méthode d'évaluation chimique elle-même.

Dans une autre étude faite par Ounaceur, (2023) sur l'extrait aqueux de clou de girofle, la teneur en flavonoïdes a été estimée à $23.50 \pm 0.002 \mu\text{g EQ/mg}$.

Pour le taux des flavonoïdes totaux (comme la quercétine), ces derniers sont présents dans les clous de girofle à une concentration plus faible (17.5mg QE/g d'extrait) par rapport aux acides phénoliques (Abo-El Maati *et al*, 2016).

Dans une autre étude (Abdelmuhsin *et al*, 2025). Une macération à chaud a été utilisée pendant une durée allant de deux à six heures pour préparer l'extrait aqueux. Cette méthode a permis d'obtenir une teneur en flavonoïdes de $57.22 \pm 0.41 \mu\text{g/mg}$.

V.3.3. Détermination de la teneur en flavones et flavonols

La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant comme standard la quercétine (0– $200 \mu\text{g/mL}$). Tous les essais ont été réalisés en triplet et la concentration en flavones et flavonols a été déterminée à partir de la droite d'étalonnage ($Y = 0.0061x + 0.2528$, $R^2 = 0.9792$) et exprimée en $\mu\text{g EQ/mg d'E}$ (Figure 47).

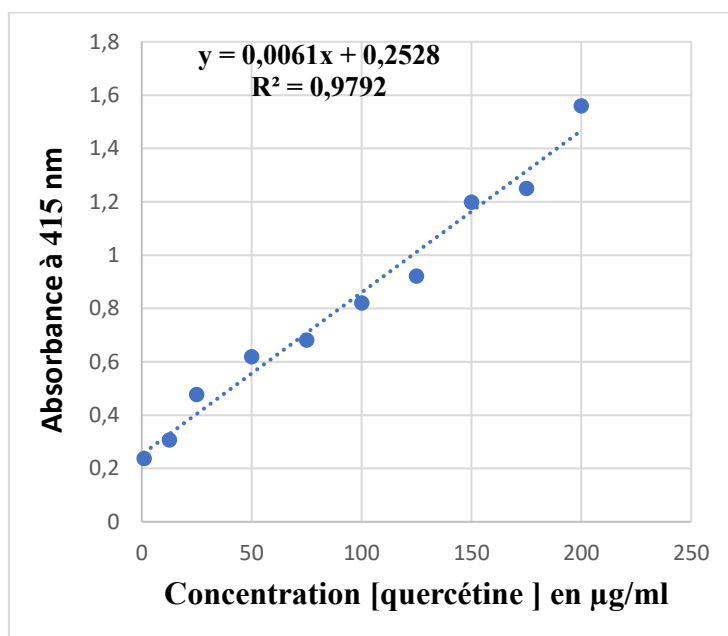


Figure 47. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavons et flavonols.

➤ Extrait aqueux

Après application de l'équation de la courbe d'étalonnage : $Y=0.0061x + 0.2528$, avec un coefficient de corrélation $R^2= 0,9915$, la concentration en flavones et flavonols dans l'extrait aqueux a été estimée. Le résultat final est de $50,79\pm0,15\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, ce qui indique une teneur relativement importante en ces composés.

➤ Extrait hydro-éthanolique

En utilisant la même équation d'étalonnage, la concentration en flavones et flavonols dans l'extrait hydro-éthanolique a été déterminée.

Le résultat obtenu est de $44,7\pm0,11\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, soit une teneur légèrement inférieure à celle de l'extrait aqueux.

Ces résultats montrent que l'extrait aqueux contient une quantité plus élevée de flavones-flavonols que l'extrait Hydro-éthanolique. Cela peut s'expliquer par une meilleure affinité de ces composés avec les milieux très polaires comme l'eau, contrairement à l'éthanol qui, bien qu'il ait une polarité intermédiaire, pourrait extraire d'autres sous-types de flavonoïdes moins représentés ici.

Dans une étude ultérieure (Ounaceur, 2023), la teneur en flavones et flavonols combinés a été estimée à $50,79\mu\text{g/mg}$ dans l'extrait aqueux. Une autre étude a rapporté une teneur maximale en flavonols de 13mg/mg , ce qui pourrait être attribué à l'utilisation d'un solvant différent (le méthanol) ainsi qu'à une méthode d'extraction différente (Medfouni et Hafsi, 2017).

V.3.4. Dosage des tannins totaux

La concentration en tanins a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage, établie en utilisant la catéchine comme référence. Les résultats ont été obtenus à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage (Figure 48), et ils sont exprimés en mg EC/g ES et mg EC/g MS . L'équation de la droite résultant de l'étalonnage est $Y= 0.0026x - 0.0111$, avec un coefficient de corrélation R^2 de 0.9912.

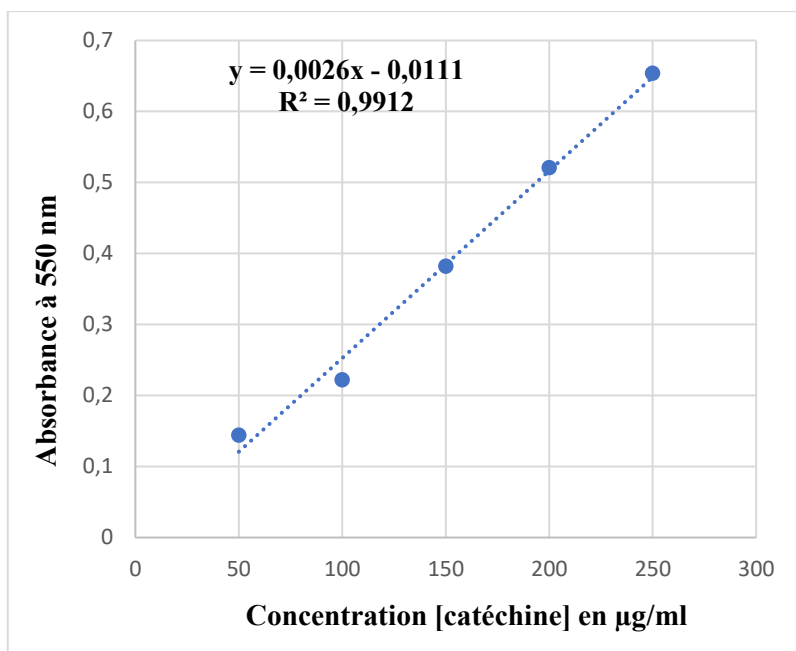


Figure 48. Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins.

➤ Extrait aqueux

L'évaluation de la teneur en tanins de l'extrait aqueux a été réalisée à l'aide de la méthode d'étalonnage basée sur la catéchine comme composé de référence. En appliquant l'équation de la droite de régression obtenue à partir de la courbe d'étalonnage ($Y = 0,0026x - 0,0111$, $R^2 = 0,9912$), la concentration en tanins a été estimée à $34,52 \pm 0,002 \mu\text{g EC/mg}$ d'extrait sec. Cette valeur indique une teneur relativement élevée en tanins dans l'extrait aqueux.

➤ Extrait hydro-éthanolique

De la même manière, l'extrait hydro-éthanolique a révélé une concentration en tanins de $33,88 \pm 0,003 \mu\text{g EC/mg}$ d'E, légèrement inférieure à celle obtenue dans l'extrait aqueux. Cette proximité dans les résultats suggère que les deux solvants ont une capacité similaire à extraire les tanins, avec une légère supériorité pour l'eau.

Bien que la différence soit minime, l'extrait aqueux a montré une concentration légèrement plus élevée en tanins par rapport à l'extrait hydro-éthanolique ce qui indique une meilleure efficacité de l'eau pour l'extraction de ce type de composés phénoliques.

Les figures 49 et 50 indiquent les résultats de dosage obtenus à partir d'extraits aqueux et hydro-éthanolique de *Syzygium aromaticum* L. (Annexe 4).

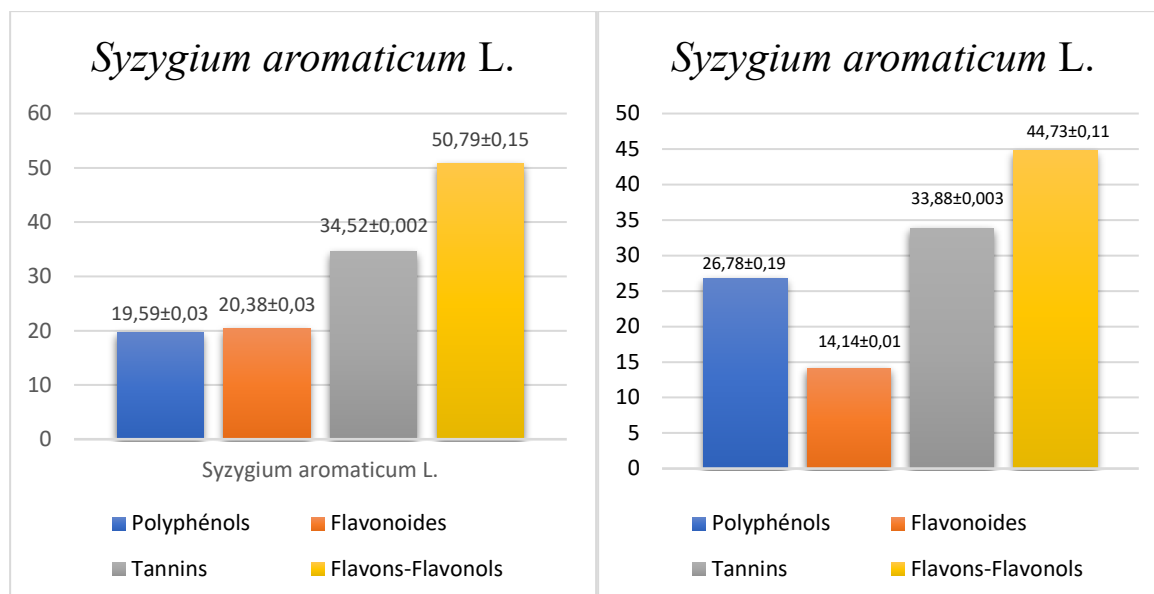


Figure 49. Teneur en Polyphénols, Flavonoïdes, Flavones et Flavonols, Tannins des extraits aqueux de *Syzygium aromaticum* L.

Figure 50. Teneur en Polyphénols, Flavonoïdes, Flavones et Flavonols, Tannins des extraits hydro-éthanoliques de *Syzygium aromaticum* L.

V.4. Résultats des activités biologiques

V.4.1. Activités antioxydantes

Le modèle de balayage le radical DPPH instable est une méthode largement utilisée pour évaluer les activités antioxydantes dans relativement peu de temps par rapport à d'autres méthodes.

Le DPPH est un radical libre instable et accepte un électron ou un radical hydrogène pour devenir une diamagnétique stable molécule. Le pouvoir antioxydant d'un extrait d'une plante dépend de sa composition ainsi que les conditions de manipulation dans lesquelles les tests ont été réalisés (Wong et Koh, 2006).

Selon (Talbi et al, 2015), l'activité antioxydante est évaluée soit par le dosage des produits formés (en particulier des hydroperoxydes), par des techniques photométriques plus ou moins directes, ou par la mesure du pouvoir d'un composé à piéger des radicaux libres.

On note que les valeurs des Concentrations Inhibitrice (IC₅₀) ont été déterminées graphiquement à partir de la droite de régression de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration pour chaque extrait ou standard testé (Figure 51). La relation entre la concentration d'acide ascorbique et son pouvoir réducteur est décrite par la formule de régression linéaire $y = 0,4246x + 43,421$, où y représente le pouvoir réducteur et x la concentration d'acide ascorbique. Le coefficient de corrélation R^2 associé à cette relation est égal à 0,9345.

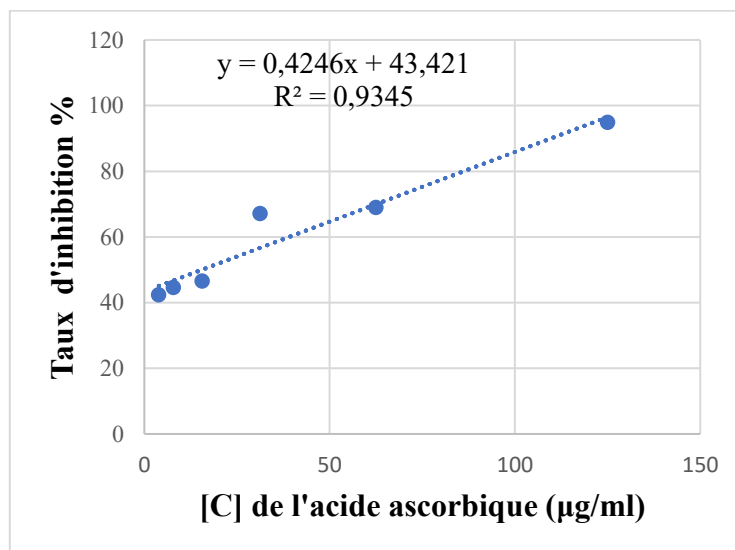


Figure 51. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la détermination de la capacité antioxydant totale.

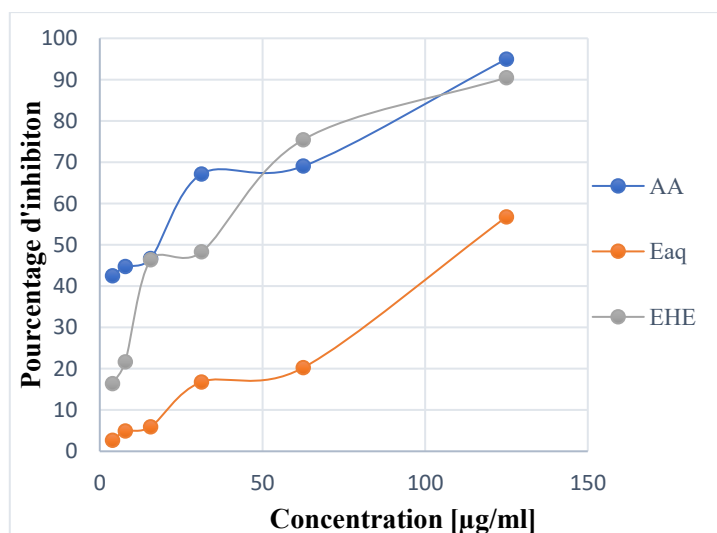


Figure 52. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits et de standard utilisé (AA).

La figure 52 montre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH à différentes concentrations ($\mu\text{g/ml}$) pour l'acide ascorbique (AA), l'extrait aqueux et l'extrait hydro-éthanolique. Nous constatons que la substance de référence (AA) présente la meilleure capacité de piéger le radical libre DPPH par rapport aux extraits, avec un taux d'inhibition dépassant 80% à la concentration la plus élevée, ce qui en fait un contrôle positif efficace. L'extrait hydro-éthanolique présente également une bonne capacité de piégeage environ 90%. bien qu'elle soit inférieure à celle de l'acide ascorbique (environ 100%), et cette capacité augmente considérablement avec l'augmentation de la concentration. En revanche, l'extrait aqueux a montré une activité plus faible, avec un taux d'inhibition ne dépassant pas 60%, même à la concentration la plus élevée testée. Ces résultats indiquent que la polarité du solvant utilisé pour l'extraction joue un rôle important dans la détermination de l'efficacité des composés antioxydants extraits.

V.4.1.1. Résultat du test du piégeage du radical libre DPPH

Dans cette étude les résultats de l'activité antiradicalaire au DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% (IC₅₀) (plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande), en se basant sur la capacité d'une substance à réduire le radical DPPH, par rapport aux antioxydants standards (AA) (Figure 53) (Annexe 5 et 6).

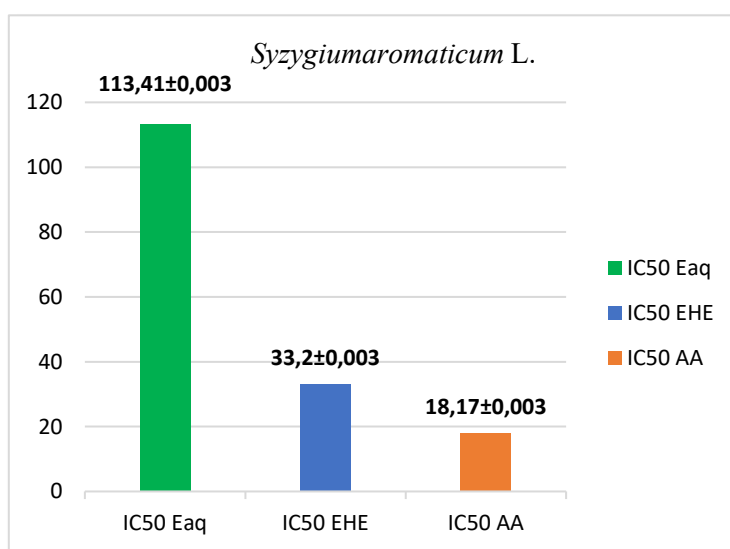


Figure 53. Valeurs d'IC₅₀ des extraits aqueux et hydro-éthanolique de *Syzygium aromaticum* L. comparées au standard (AA).

L'analyse du graphique montre que l'acide ascorbique a donné la meilleure activité antioxydante avec une $IC_{50}=18,17\pm0,003\mu\text{g/mL}$. Alors que l'extrait hydro-éthanolique a enregistré une valeur d' IC_{50} d'environ $33,2\pm0,003\mu\text{g/mL}$, indiquant une forte capacité à éliminer les radicaux libres DPPH. En revanche, l'extrait aqueux a montré une activité antioxydante beaucoup plus faible par rapport au témoin, avec une valeur IC_{50} d'environ $113,41\pm0,003\mu\text{g/mL}$. Cette valeur obtenue est également faible par rapport à celle retrouvée Dans l'étude d'Abo-El Maati et *al*, (2016), où l'activité antiradicalaire de l'extrait aqueux de clou de girofle était entre 25,3 - 91,4 mg/mL. Cependant, dans l'étude rapportée par Haro-Gonzalez et *al*, (2021), la quantité d'inhibition du DPPH de l'extrait aqueux de clou de girofle se rapprochait des valeurs obtenues à partir de notre extrait ($150\mu\text{g/mL}$). Ces valeurs augmentaient proportionnellement à la concentration de l'extrait aqueux de *Syzygium aromaticum* L. (Nikousaleh et Prakash, 2008).

Ces observations confirment que l'acide ascorbique est le plus efficace en termes d'activité antioxydante. Vient ensuite l'extrait hydro-éthanolique, qui s'explique par sa forte concentration en composés phénoliques, généralement plus solubles dans l'éthanol que dans l'eau. Ce résultat est également cohérent avec les informations dérivées de la dose totale de polyphénols, car l'extrait hydro-éthanolique a également montré un niveau plus élevé, soutenant l'idée que l'abondance de polyphénols dans les extraits affecte directement leur pouvoir antioxydant. Suivi par l'extrait aqueux, qui a enregistré l'activité antioxydante la plus faible, en raison de son absence de composés phénoliques.

De même, l'étude de Muzolf-Panek et *al*, (2021) a souligné que l'activité antioxydante du clou de girofle augmente avec la polarité du solvant, l'éthanol étant parmi les solvants les plus efficaces pour extraire les composés phénoliques.

L'étude d'El-Refai et *al*, (2020) a également révélé que l'extrait hydro-éthanolique du clou de girofle possède une activité antioxydante plus marquée, avec une valeur d' IC_{50} significativement plus faible que celle de l'extrait aqueux, reflétant une concentration plus élevée en composés phénoliques et flavonoïdes bioactifs.

De leur côté, (Qureshi et *al*, 2023) ont confirmé que l'extrait alcoolique présentait une meilleure capacité de piégeage des radicaux libres, insistant sur l'importance du choix du solvant dans l'efficacité de l'extraction des substances actives.

Enfin, les travaux d'Abdelmuhsin *et al*, (2025) appuyés par des analyses spectrales et des études *in silico*, ont montré que les composés responsables de l'activité antioxydante, comme l'eugénol, sont plus abondants dans les extraits obtenus avec des solvants organiques que dans ceux à base d'eau.

Cela a clairement démontré que le solvant d'extraction n'est pas seulement un facteur critique dans le niveau de récupération phytochimique, mais est également un facteur important à noter lors de l'examen de la capacité antioxydante des extraits de plantes. Il a été rapporté que la capacité antioxydante ainsi que le rendement des extraits de plantes dépendent de la nature du solvant d'extraction spécifique (Gong *et al*, 2012 ; Adaramola et Onigbinde, 2016).

La capacité réductrice des extraits de plantes est liée à leur teneur en phénols, c'est-à-dire que les extraits de plantes contenant des niveaux plus élevés de phénols totaux présentent une plus grande capacité réductrice (Siddhuraju et Becker, 2003).

Une autre étude a montré une relation positive directe entre la teneur en flavonoïdes, phénols et l'activité antioxydante (Javanmardi *et al*, 2003).

D'après les valeurs obtenues suite à l'étude de l'activité anti-oxydante (test DPPH), ainsi que le dosage des composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et flavones et flavonols), il semblerait que l'extrait hydro-éthanolique de *Syzygium aromaticum* L. possède un potentiel antioxydant important justement dû à la présence de concentrations plus ou moins importantes de composés phénoliques. Cette observation a été retrouvée dans la littérature (Shan *et al.*, 2005 ; Kiki, 2023) où plusieurs auteurs ont mis en évidence l'énorme potentiel des clous de girofle comme piègeurs de radicaux et comme source importante de composés phénoliques. Une autre étude, de Gülçin *et al*, (2012), est également parvenue à la même conclusion, mentionnant que les polyphénols végétaux sont multifonctionnels, pouvant agir comme agents réducteurs, donneurs d'atomes d'hydrogène et même comme piègeurs d'oxygène singulet.

V.4.2. Pouvoir antibactérien des extraits bruts

V.4.2.1. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

L'évaluation de l'activité antibactérienne des divers extraits de notre plante est réalisée à l'aide de la méthode de diffusion des disques. La sensibilité des souches évaluées est déterminée

par la mesure des diamètres des zones d'inhibition de chaque extrait, Après l'incubation des boîtes de petri pendant 24h, nous allons obtenus les résultats.

V.4.2.2. Lecture de la concentration de suspensions microbiennes préparées

Des suspensions microbiennes ont été élaborées à partir de colonies bactériennes extraites de milieux solides, puis homogénéisées dans une solution physiologique stérile. La concentration bactérienne a été modifiée pour atteindre une absorbance de 0,08–0,1 à 625nm, conformément à la norme 0,5 de McFarland ($\approx 1,5 \times 10^8$ UFC/mL), selon les recommandations du NCCLS (anciennement Clinical and Laboratory Institutes).

Tableau 5. Résultats de la densité optique et de la charge microbienne des souches microbiennes testées (Annexe 7).

Les souches microbiennes	Longueur d'onde utilisée (nm)	Densité optique (DO)	Concentration des suspensions microbiennes
<i>Escherichia coli</i>	625	0.112	10^7 à 10^8 UFC/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.082	
<i>Bacillus subtilis</i>		0.084	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		0.082	

V.4.2.3. Test de sensibilité aux antibiotiques

Un test de sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes employées a été effectué. Ce test a pour but d'étudier l'antibiogramme standard des germes et le comparer avec l'effet de nos extraits. Des disques d'antibiotiques sont placés sur une gélose Muller Hinton, qui a été précédemment inoculée avec une culture pure de la souche à examiner. L'évaluation de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques suit le même protocole que celui utilisé pour les extraits. Le tableau 6 présente les résultats des antibiogrammes.

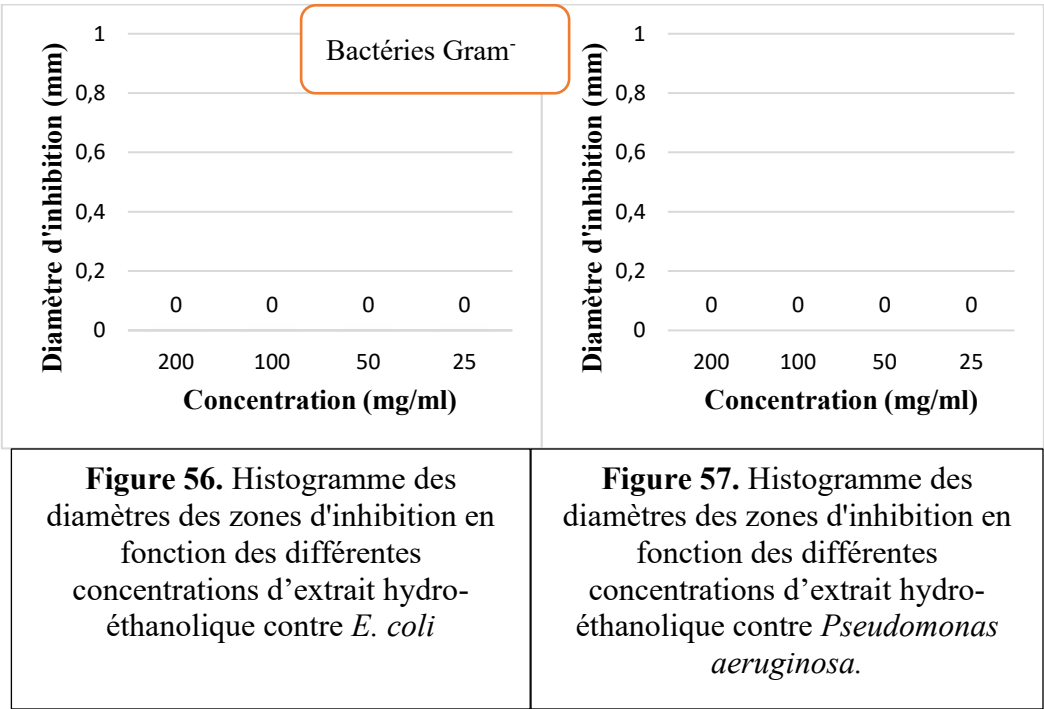
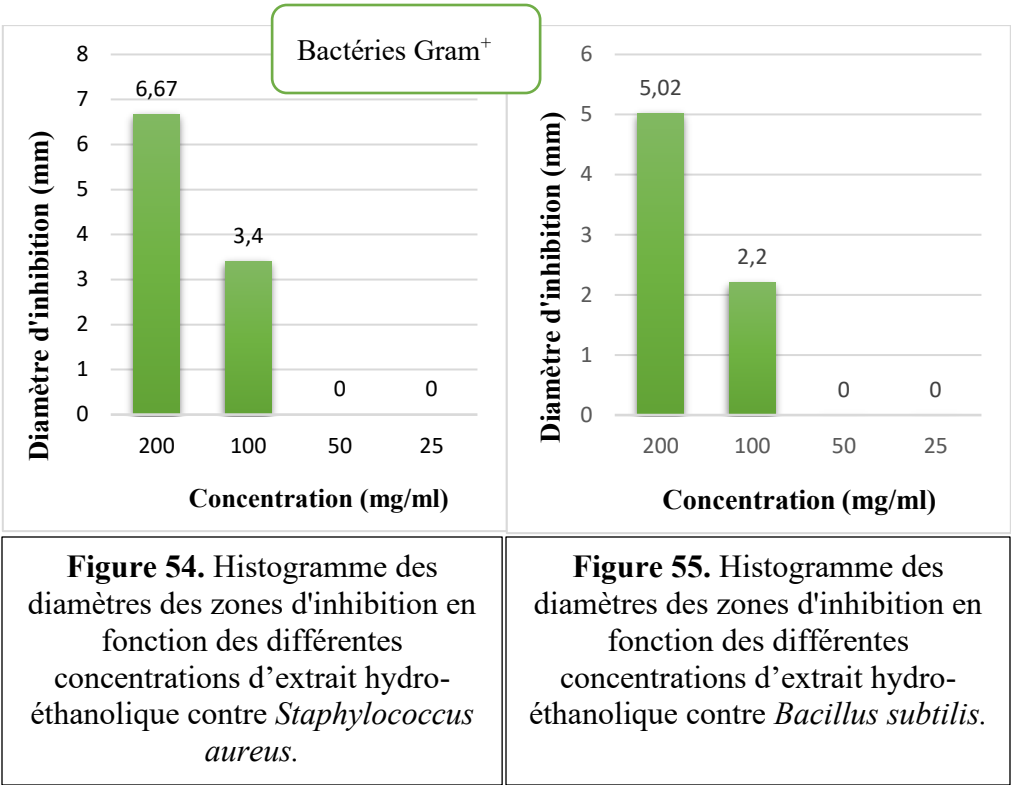
Tableau 6. Sensibilité (zone d'inhibition en mm) des souches bactériennes testées vis-à-vis l'antibiotique.

Souches bactériennes	Antibiotiques standards (contrôle positif)
	GEN
<i>Staphylococcus aureus</i>	13.22
<i>Bacillus subtilis</i>	14.38
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7.62
<i>Escherichia coli</i>	12.32

GEN: Gentamicine

➤ Extrait hydro-éthanolique :

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de *syzygium aromaticum* L. sur différents germes (Gram⁺ et Gram⁻) par la méthode de l'antibiogramme donne des diamètres qui varient en fonction de la souche testée. Cependant, les essais de sensibilité ont montré que la concentration de 200mg/mL de l'extrait a présenté un effet inhibiteur notable sur la majorité des souches testées. Toutefois, certaines souches se sont révélées résistantes à cette concentration, n'ayant présenté aucune zone d'inhibition. En revanche, les concentrations inférieures (100, 50, 25mg/mL) n'ont montré aucun effet inhibiteur significatif sur l'ensemble des souches (Figures : 54, 55 ,56 et 57).



Résultats et discussion

L'extrait hydro-éthanolique issu du clou de girofle a démontré une action antibactérienne uniquement à des concentrations élevées, en particulier contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. Cependant, à des concentrations diluées, l'effet a montré une diminution notable et aucune activité n'a été notée contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. Cela signifie que l'efficacité de l'extrait est fortement liée à sa concentration. Comme indiqué dans l'annexe 08, le diamètre de la zone d'inhibition n'a pas dépassé 8mm, ce qui indique que l'extrait, aux concentrations testées, ne possède pas d'activité inhibitrice évidente contre les souches étudiées, comme le confirment les données présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7. Diamètre des zones d'inhibition d'extrait hydro-éthanolique (mm).

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)															
Souches à Gram-positif									Souches à Gram-négatif						
<i>S. aureus</i>				<i>B. subtilis</i>					<i>E. coli</i>			<i>P. aeruginosa</i>			
Concentrations des extraits (mg/mL)															
25	50	100	200	25	50	100	200	25	50	100	200	25	50	100	200
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

➤ Extrait aqueux

L'extrait aqueux n'a démontré aucune activité d'inhibition significative contre la plupart des souches examinées. On n'a noté aucune zone d'inhibition notable, sauf pour la souche de *Pseudomonas*, qui a montré une sensibilité mineure à la concentration maximale testée (200mg/mL), Comme le document apparaît ci-dessous (Figures : 58, 59, 60 et 61).

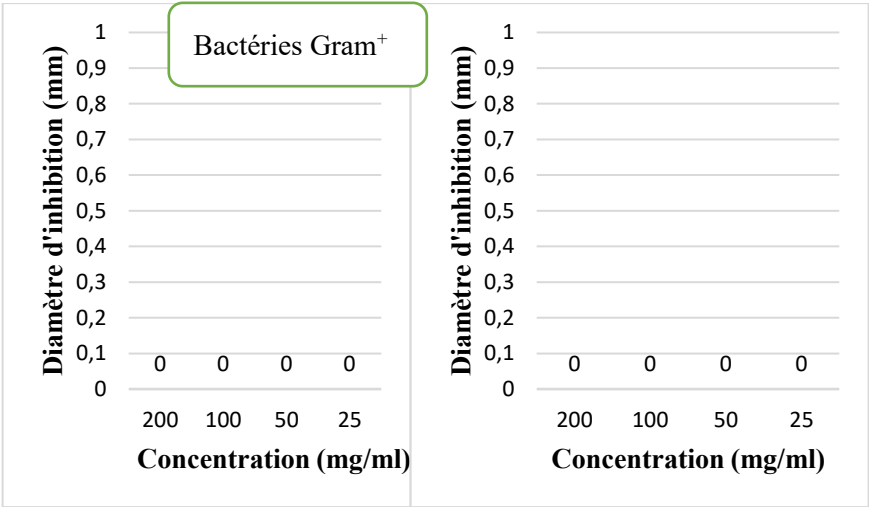


Figure 58. Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait aqueux contre *Staphylococcus aureus*.

Figure 59. Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait aqueux contre *Bacillus subtilis*

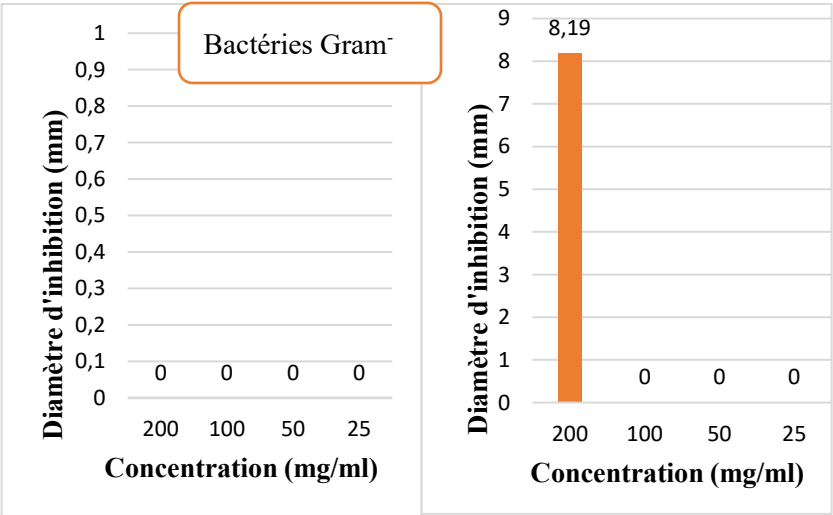


Figure 60. Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait contre *E. coli*

Figure 61. Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait aqueux contre *Pseudomonas aeruginosa*.

Résultats et discussion

Comme précisé dans l'annexe 8, la zone d'inhibition n'a pas excédé 9 mm, ce qui suggère que l'extrait, aux concentrations testées, ne possède pas d'activité inhibitrice évidente contre les souches étudiées, comme le confirment les données présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8. Diamètre des zones d'inhibition d'extraits aqueux (mm).

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)																
Souches à Gram-positif									Souches à Gram-négatif							
<i>S. aureus</i>				<i>B. subtilis</i>					<i>E. coli</i>			<i>P. aeruginosa</i>				
Concentrations des extraits (mg/mL)																
25	50	100	20	25	50	10	20	25	50	10	20	25	50	10	20	
			0			0	0			0	0			0	0	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Nos résultats ont montré l'absence de toute activité antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques de clous de girofle aux concentrations testées (25–200mg/ml). Des études antérieures (Mittal et *al*, 2014) ont indiqué que l'efficacité de ces extraits n'apparaît qu'en utilisant des concentrations élevées, comprises entre 500 et 1000mg/ml, ce qui explique la différence entre nos résultats et les résultats de ces études, car nos concentrations ne dépassaient pas le minimum requis pour montrer un effet antibactérien.

Malgré l'utilisation des mêmes extraits végétaux (aqueux et éthanolique de clou de girofle) et des mêmes souches bactériennes que celles utilisées dans l'étude de (Shehu et *al*, 2023) à l'exception de la souche de *Salmonella* remplacée dans notre cas par *Bacillus*, nos résultats ont montré une différence notable, marquée par l'absence ou la faiblesse de la zone d'inhibition, contrairement à son étude qui a révélé une activité antibactérienne significative.

Cette divergence peut être expliquée par plusieurs facteurs méthodologiques. Dans son étude, la technique des puits (well diffusion) a été utilisée, en appliquant un volume plus important d'extrait (entre 50 et 100µL) à l'aide d'un bouchon de liège stérilisé, ce qui permet une meilleure diffusion de la substance active dans le milieu. En revanche, notre étude a adopté la méthode de diffusion sur disque (disque de papier), avec un volume plus réduit (10µL) d'extrait à des concentrations allant de 25 à 200mg/mL par disque, ce qui pourrait être

insuffisant pour produire un effet inhibiteur visible, en particulier si les composés actifs sont faiblement concentrés ou si le papier n'a pas permis leur libération complète dans le milieu.

Par ailleurs, la technique des puits favorise une diffusion radiale directe dans l'agar, contrairement aux disques qui dépendent de la saturation du papier et de sa capacité à libérer progressivement l'extrait. Les caractéristiques de l'agar et le type de papier utilisé peuvent également influencer l'efficacité de la diffusion.

Ainsi, l'absence d'effet inhibiteur ne traduit pas nécessairement une faible efficacité de l'extrait, mais pourrait être liée à des facteurs techniques. Une reprise des essais dans des conditions similaires à celles de l'étude de (Shehu et al, 2023) serait donc nécessaire pour confirmer ou infirmer l'activité biologique des extraits.

En comparant nos résultats à ceux d'études antérieures, telles que celle menée par Oyebola., (2024), ainsi que d'autres ayant également utilisé l'extrait de clou de girofle selon la méthode de diffusion en puits avec l'application de 100µL d'extrait par puits, on observe clairement que la méthode employée pour évaluer l'activité antibactérienne influence considérablement les résultats. Dans les deux études précédentes, des zones d'inhibition larges et nettes ont été observées contre les mêmes souches bactériennes que celles utilisées dans notre travail, tandis que nos résultats ont révélé une absence ou une faiblesse marquée de l'effet inhibiteur.

Ce décalage potentiel peut s'expliquer par des différences techniques, notamment en ce qui concerne le volume d'extrait utilisé et le type de méthode appliquée. La technique de diffusion en puits permet l'introduction d'un volume plus important (50 à 100µL) directement dans le milieu de culture, facilitant ainsi la diffusion des composés actifs et augmentant la probabilité de contact avec les bactéries cibles. En revanche, la méthode des disques de papier limite le volume à 10µL seulement, ce qui peut s'avérer insuffisant pour produire un effet visible, en particulier si la substance active nécessite un certain seuil de concentration ou si sa diffusion à partir du papier vers le milieu est limitée.

Dans une autre étude (Wadi, 2025) la méthode de diffusion en puits a également été utilisée et a montré un effet inhibiteur puissant contre les bactéries.

Résultats et discussion

Dans une autre étude (Arslan, 2023), la même méthode de diffusion sur disque a été utilisée pour évaluer l'efficacité antibactérienne des extraits de clou de girofle, mais les chercheurs ont appliqué un plus grand volume d'extrait à chaque disque, soit 25µL au lieu de 10µL comme dans notre étude. Malgré cette taille doublée, certaines souches comme *Escherichia coli* n'ont montré aucune zone d'inhibition avec l'extrait aqueux ou éthanolique, indiquant un effet faible. *Staphylococcus aureus* a enregistré une légère zone d'inhibition (environ 10mm) avec l'extrait aqueux uniquement, tandis que *Bacillus subtilis* a montré une activité claire uniquement avec l'extrait éthanolique (11mm). Ces résultats étaient quelque peu similaires aux nôtres, ce qui soutient l'idée que la quantité d'extrait seule n'est pas suffisante pour garantir l'efficacité, et que d'autres facteurs tels que la concentration de composés actifs ou les caractéristiques de la souche bactérienne peuvent jouer un rôle important dans la détermination du résultat final.

*Conclusion et
Perspectives*

Conclusion et Perspectives

Les substances naturelles constituent de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit. Ce travail est consacré aux analyses qualitative et quantitative, et à l'évaluation de l'activité antioxydante (Neutralisation du radical DPPH) et l'activité antibactérienne des extraits des boutons floraux de la fameuse épice de *Syzygium aromaticum* L. connue sous le nom de giroflier, utilisant l'eau distillée et l'éthanol comme solvants d'extraction.

L'analyse qualitative des extraits, réalisée à l'aide de tests phytochimiques, a révélé la présence de plusieurs familles de composés naturelles à savoir les substances phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponines, les quinones, les protéines et les mucilages, et l'absence totale des composés réducteurs, les anthraquinones libres et les anthocyanes.

Tandis que L'analyse quantitative des extraits a montré que les bourgeons de girofle sont une riche source de composés phytochimiques de haute valeur biologique. L'extrait hydro-éthanolique a montré la teneur la plus élevée en polyphénols ($26,78 \pm 0,19 \mu\text{g EAG/mg}$), tandis que l'extrait aqueux s'est distingué par sa richesse en flavonoïdes ($20,38 \pm 0,03 \mu\text{g EQ/mg}$) ainsi qu'en flavones et flavonols ($50,79 \pm 0,15 \mu\text{g EQ/mg}$), avec également une teneur notable en tanins ($34,52 \pm 0,002 \mu\text{g EC/mg}$). Cette richesse chimique s'est traduite par une activité antioxydante significative de l'extrait éthanolique ($33,20 \pm 0,003 \mu\text{g/mL}$), proche de celle de l'acide ascorbique utilisé comme standard ($18,17 \mu\text{g/mL}$). En ce qui concerne l'activité antibactérienne, les tests réalisés n'ont pas démontré d'effet inhibiteur notable aux concentrations examinées contre les souches choisies. Cela indique qu'il serait peut-être nécessaire de recourir à des concentrations supérieures ou à des techniques d'extraction plus spécifiques pour obtenir une concentration plus importante des molécules actives.

Toutefois, les conclusions tirées indiquent que grâce à sa teneur élevée en composés phénoliques, le giroflier se distingue comme un potentiel antioxydant naturel. Il mérite des recherches plus poussées pour approfondir notre compréhension de ses mécanismes d'action et élargir ses possibilités d'application dans les secteurs de la santé et de la prévention.

Le Giroflier (*Syzygium aromaticum* L.) présente des activités biologiques et thérapeutiques variables selon la nature des substances renfermées, pour cela il est intéressant de compléter cette étude par :

Conclusion et Perspectives

- Analyser l'impact d'autres techniques d'extraction des polyphénols et d'autres types de solvants.
- Utiliser des techniques chromatographiques, pour identifier les principes actifs de cette espèce.
- Évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de cette plante.
- Tester d'autres activités biologiques à savoir les propriétés antifongiques, anti-inflammatoires et antivirales.
- Tester des concentrations plus élevées des extraits pour évaluer leur potentiel antimicrobien.
- Explorer d'autres méthodes d'extraction ou parties de la plante.

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques



Abdelmuhsin, A. A., Sulieman, A. M. E., Salih, Z. A., Al-Azmi, M., Alanaizi, N. A., Goniem, A. E., et Alam, M. J, (2025). *Clove (Syzygium aromaticum) Pods: Revealing Their Antioxidant Potential via GC-MS Analysis and Computational Insights*. *Pharmaceuticals*, 18(4), 504. <https://doi.org/10.3390/ph18040504>

Aboelmaati, M & Hassanien, M & Labib, Sh & Al-Gaby, A, (2016). ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF DIFFERENT EXTRACTS OF GARDEN CRESS (*Lepidium sativum* L.). *Zagazig Journal of Agricultural Biochemistry and its Application*. 43 (5). 1685-1697.

Adaramola, B., et Onigbinde, A, (2016). Effect of extraction solvent on the phenolic content, flavonoid content and antioxidant capacity of clove bud. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*, 11(3), 33–38.

Aidaoui. R, Kamouche. A, Menani. I, (2021). Thème : Evaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de quelques épices (*cuminum cyminum*, *curcuma longa* et *syzygium aromaticum*). Thèse De Master: Biologie Moléculaire Et Cellulaire.

Ajobiewe, HF., Elisha, E., Ibrahim AE., Ajobiewe, JO., Salami, AO, Umeji , LC., Udefuna, PA., Yashim, AN., Alau KK, (2022). Antimicrobial Activity of Clove Plant Flower Bud Extract (*Syzygium aromaticum*) on *Escherichia coli*. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences*.10(05), 674.

Ali-Rachedi. F, Meraghni S, Touaibia N & Mesbah S. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, (2018). 87(13): 1–21. URL: <https://popups.uliege.be/0037-9565/index.php?id=7398>.

Références bibliographiques

Alam MN, Bristi N.J, Rafiquzzaman M, (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharm J. 21(2):143-52. doi: 10.1016/j.jsps.2012.05.002.

Altin F, Yildirim H, Tanidir I, Yildiz O, Kahraman M, Ozturk E, Bakir İ, (2017). Alterations in antioxidant and oxidant status of children after on-pump surgery for cyanotic and acyanotic congenital heart diseases. Cardiology in the Young. 27(2), 325-332. doi:10.1017/S1047951116000573.

Amadou D, (2005). Etude de la phytochimie et des activites biologiques de *Syzygium guineense* willd. (Myrtaceae). Thèse de pharmacie, Université de Bamako ; Mali.

Amiri. F, Boualleg. W, (2014). Etude bactériologique de l'eau de la retenue collinaire "Hadjar Gafta" de la commune Nechmaya (Wilaya de Guelma). Santé, Eau et Environnement /Microbiologie de l'environnement: UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA. P47.

https://dspace.univ-guelma.dz/jspui/bitstream/123456789/1592/1/M570.450%20ECOLOGIE.pdf?utm_source=chatgpt.com

Aude, GK, (2023). Étude du rôle des métabolites secondaires fongiques dans les interactions plante-agents pathogènes. Thèse de doctorat en : Biochimie, Biologie Moléculaire. Université Paris-Saclay. Français.

Arslan, K, (2023). The antioxidant, antimicrobial, and total phenolic potential of clove extracts for inhibition of food pathogens. Erzincan University Journal of Science and Technology, 16(2), 453–464. <https://doi.org/10.18185/erzifbed.1279953>

Asadi. S et Jamali. M, (2017). Assessment the Frequency of *Staphylococcus aureus* Golden Methicillin- Resistant (MRSA) and Vancomycin-Resistant VRSA in Determining the MIC Using E-Test. Immunological Disorders and Immunotherapy. 2. 1-3.

Ayaprakasha, G.K ;Singh, R.P ; Skariah, K.K, (2001).Antioxidant activity of grape seed (*vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro.food chemistry.73.285-290.

B

Bao, L. M., Nozaki, A., Takahashi, E., Okamoto, K., Ito, H., & Hatano, T, (2012). Biological effects of essential oils.

Barbelet. S, (2015) Le giroflier : histoire description et utilisations de la plante et de son huile essentielle. Mémoire de fin d'étude Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université De Lorraine. P 24

Baudin B, (2020). Stress oxydant et protections antioxydantes : Oxydative stress and antioxydant protections. Revue francophone des laboratoires. ELSEVIER. P 22 30.

Bekero. Y.A, Mamyrbekova J.A, Boua B.B, Bi F.T, & Ehile E.E, (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). Sciences & Nature. 4(2) : 217-225. DOI:10.4314/scinat.v4i2.42146.

Belaich. R et Boujraf. S, (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. Médecine des Maladies Métaboliques, Vol. 10(1). P 38-42.

Belhattab, R., Larous, L., Kalantzakis, G., Boskou, D., & Exarchou, V, (2004). Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. extracts. Food, Agriculture & Environment, 2(1), 69–73. WFL Publisher.

Belkhiri F, Baghiani A, Zerroug M.M, & Arrar L, (2017). Investigation of antihemolytic, xanthine oxidase inhibition, antioxidant and antimicrobial properties of *Salvia verbenaca* L. aerial part extracts. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines. 14(2), 273-281.

Références bibliographiques

Benarba B, (2016). Anticancer activity, phytochemical screening and acute toxicity evaluation of an aqueous extract of *Aristolochia longa* L. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 6(1), 20-26. Doi : 10.24896/eijppr.2016614.

Benlahrache ,R et Boukerzaza. S. B, (2021). Evaluation de l'activité antibactérienne de deux extraits de la plante *Centaurea dimorpha*. Spécialité : Biochimie, Université Frères Mentouri Constantine 1. P 33.

Benzakour. G, Amrani. M, & Oudghiri. M, (2012). A Histopathological analyses of in vivo anti-tumor effect of an aqueous extract of *Aristolochia longa* used in cancer treatment in traditional medicine in Morocco. *International journal of plant research*. 2(2), 31-35.

Bhargav, H. S., Shastri, S. D., Poornav, S. P., Darshan, K. M., & Nayak, M. M, (2016). *Measurement of the zone of inhibition of an antibiotic*. *International Conference on Advances in Computing, Communications and Informatics (IACC) IEEE*.
<https://doi.org/10.1109/IACC.2016.82>

Bhowmik, D., Kumar, K. S., Yadav, A., Srivastava, S., Paswan, S., & Dutta, A. S, (2012). Recent trends in Indian traditional herbs *Syzygium aromaticum* and its health benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(1), 13-23

BIOMARK Laboratories, (2024). *Technical Sheet – McFarland Standard Set (BA132)*. Retrieved from <https://www.biomarklabs.com>

Blois M. S,(1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical [10]. In *Nature*,; 181 : 4617. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>.

Boukalkola. F, Aichaoui. D, Aichaoui. O , (202). Recueil des milieux de culture de bactérie électif ; sélectif et general. *Biochimie Appliquée: Université Ahmed DRAÏA – Adrar*. P 43, 46, 47.

Boudechicha. A, (2024). In vitro Control of Multidrug-resistant Bacterial Isolates and Fungi by Essential Oils and their Nanoformulations. Thèse de Doctorat : Applied Microbiology. Setif 1 University-Ferhat ABBAS, P 29.

Références bibliographiques

Bouzaa. F, Zid. H, Hariza. E, (2021). Etude des activités antimicrobiennes de l'huile essentielle de la plante *Syzygium aromaticum*. Mémoire de Master : Mycologie et Biotechnologie Fongique. Université Frères mentouri constantine 1, p18.

Bursal E, Gülçin İ, (2011). Polyphenol contents and in vitro antioxidant activities of lyophilized aqueous extract of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) Food Res Int.; 44:1482–1489. doi: 10.1016/j.foodres.2011.03.031.

C

Carocho M,(2013). Ferreira I.C.F.R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, Food and Chemical Toxicology. 51 :15-25. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>.

Chaaban, H, (2017). Étude cinétique et modélisation des effets des traitements thermiques et de l'environnement physico-chimique sur la dégradation et l'activité antioxydante des flavonoïdes [Thèse de doctorat, Université de Lorraine]. Université de Lorraine.

Chambre d'Agriculture de la Gironde & Institut Français de la Vigne et du Vin (IFV), (2021, juillet). *Bacillus subtilis* [Fiche technique]. Centre de ressource Cuivre.

Charles, D. J, (2013). Antioxidant properties of spices, herbs and other sources: Springer Science & Business Media.

Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique, (2015). *Fiche technique : Escherichia coli* (Fiche technique bactériologie n°153, EN.FTBAC. 07-09-17.01). Dr. Danielle Clave, CHU Toulouse.

Cortés-Rojas, D. F., de Souza, C. R. F., & Oliveira, W. P, (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 4(2), 90–96. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60215-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60215-X)

D

Daroui, M.H, (2012). Etude Phytochimique Et Biologique Des Especes Eucalyptus Globulus (Myrtaceae), Smyrnum Olusatrum (Apiaceae), Asteriscus Maritimus Et Chrysanthemum Trifurcatum (Asterarceae). Thèse De Doctorat En : Biochimie Appliquee. Badji Mokhtar-Annaba University.P :28

Das, A. K., Islam, M. N., Faruk, M. O., Ashaduzzaman, M., & Dungani, R, (2020). *Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities*. South African Journal of Botany, 135, 58–70. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.008>

Dröge, W, (2002) 'Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function', *Physiol Rev*, 82(1): 47-95.

Dua, A., Singh, A., Mahajan, R, (2015). Antioxidants of clove (*Syzygium aromaticum*) prevent metal induced oxidative damage of biomolecules *Res. International Research Journal of Pharmacy* 6(4):273.

Duecker R, Baer P, Eickmeier O, Strecker M, Kurz J, Schaible A, Henrich D, Zielen S, Schubert R, (2018). Oxidative stress-driven pulmonary inflammation and fibrosis in a mouse model of human ataxia-telangiectasia, *Redox Biology*;14:645-655. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.11.006>.

E

Earl AM, Losick R, Kolter R, (2008). Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends Microbiol.* 2008;16:269–75.

Efong, M. E., Umeokwochi, C. P., Afolabi, I. S., & Chinedu, S. N, (2024). Comparative antioxidant activity and phytochemical content of five extracts of *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom). *Scientific Reports*, 14, 3794. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54201-x>

EL-Haoud H, Boufellous M, Berrani A, Tazougart H et Bengueddour R, (2018). Screening phytochimique d'une plante medicinale: *Mentha spicata* L. *Am. J. innov. res. appl. sci.*

Références bibliographiques

El-Fouly.M.Z, A.M, (2015). Sharaf, A.A.M Shatin. Biosynthesis of pyocyanin pigment by *Pseudomonas aeruginosa*, J. Radiat. Res. Appl. Sci. 8 (1) 36–48,doi: 0.1016/j.jrras.2014.10.007

El-Refai, A. A., Sharaf, A. M., Azzaz, N. A. E., & El-Dengawy, M. M, (2020). Antioxidants and antibacterial activities of bioactive compounds of clove (*Syzygium aromaticum*) and thyme (*Thymus vulgaris*) extracts. *Journal of Food and Dairy Sciences, Mansoura University*, 11(9), 265–269. <https://doi.org/10.21608/jfds.2020.118367>

Ereifej K.I, Feng H, Rababah T.M, Tashtoush S.H, Al-U'datt M.H, Gammoh S, & Al-Rabadi, G.J, (2016). Effect of extractant and temperature on phenolic compounds and antioxidant activity of selected spices. *Food and Nutrition Sciences*, 2016 ; 7(5), 362-370.

F

Favier A, (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. Vol(12) 108-111.

Ferhat A, Merakcha M, et Sadaoui N, (2022). Effets des substances bioactives des clous du girofle sur quelques paramètres biochimiques chez les lapins diabétiques. *Mémoire: Biochimie appliquée*. Institut des Sciences et de la Technologie Département des Sciences de la Nature et de la Vie, Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF - Mila, p68.

Flavien. F, (2023). Valorisation Du Girofle : Formulation De Bain De Bouche D'huile Essentielle De Feuilles De *Syzygium Aromaticum*. Université D'antananarivo, P 12.

G

Ghedira K., Goetz P and Le Jeune R. (2010). *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier. *Phytothérapie*.p37-43.

Ghosh, D, (2015). Tannins from foods to combat diseases. *International Journal of Pharma Research & Review*, 4(5), 40–44. <https://www.rroij.com/open-access/tannins-from-foods-to-combat-diseases.pdf>

Goetz, P, (2021). *Syzygium aromaticum* (L.) – Giroflier. *Phytothérapie*, 19, 55–59. <https://doi.org/10.3166/phyto-2021-0248>

Gong, Y, Liu, X, He, W. H, Xu, H. G, Yuan, F, and Gao, Y. X, Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue. *Fitoterapia* 83, 2012, 481–489.

Gong, L., Goswami, S., Giacomini, K. M., Altman, R. B., & Klein, T. E, (2012). Metformin pathways: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenetics and Genomics*, 22(11), 820–827. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3283559b22>

Gupta D, (2015). Methods for determination of antioxidant capacity: A review. *International journal of pharmaceutical sciences and research*. 6 (2).546-66.

Güçlü Üstündağ, Ö et Mazza, G, (2007). Saponins: Properties, Applications and Processing. *Critical reviews in food science and nutrition*. 47 : 234.

Gülçin, İ., Elmastaş, M., & Aboul-Enein, H. Y, (2012). Antioxidant activity of clove oil – A powerful antioxidant source. *Arabian Journal of Chemistry*, 5(4), 489–499. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.09.016>

H

Haro-González J.N, Castillo-Herrera G.A , Martínez-Velázquez M,Espinosa-Andrews H, (2021). Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules*. 26,6387.

Références bibliographiques

Hocine F.M, et Gorine M.A, (2017). Evaluation de l'exposition au plomb et cadmium et impact sur quelques paramètres du statut oxydation/antioxydant chez les ouvriers exposés aux fumées de soudages. Thèse de master II. Université Abou Bakr Belkhir- Tlemcem. P 45-65.

Hossain, M. T., Furhatun-Noor, Asadujjaman, M., Matin, M. A., Tabassum, F., & Harun Ar Rashid, M, (2021). A review study on the pharmacological effects and mechanism of action of tannins. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research (EJPMR)*, 8(8), 5–10. http://www.ejpmr.com/home/abstract_id/9007

I

Ichihara, S, (2013). The pathological roles of environmental and redox stresses in cardiovascular diseases. *Environ Health Prev Med* 18, 177–184. <https://doi.org/10.1007/s12199-012-0326-2>

Idries, M.A, (2015). Evaluation of Antioxidant Activity of Clove (*Syzygium Aromaticum*). *Int. J. Chem. Sci.*: 13(1), p :23.

Ifeanyi O.E, (2018). A Review on Free Radicals and Antioxidants. *International Journal of Current Research in Medical Sciences*. 4(2): 123-133.

Incalza M.A, D'Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F, (2018). Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases, *Vascular Pharmacology*, 100 : 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2017.05.005>.

J

Javanmardi. J, Stushnoff. C, Locke. E, and Vivanco. J. M, (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry*, 83, 2003, 547–550.

K

Références bibliographiques

Kamatou, G. P., Vermaak, I., & Viljoen, A. M, (2012). Eugenol from the remote Maluku Molecules, 17(6), 6953-6981.

Kavuru, P, (2008). Crystal engineering of flavonoids [Master's Thesis, University of South Florida]. USF Graduate Theses and Dissertations. <https://digitalcommons.usf.edu/etd/325>

Khemaissia.O, Benchikh.A, (2022). Etat des connaissances portant sur Les activités biologiques de l'huile essentielle de Syzygium aromaticum. Thèse de Master : Biochimie appliquée. UNIVERSITÉ LARBI TEBESSI -TEBASSA-.

Kheild. S, et Layachi. M, (2019). Etude de quelques paramètres phytochimiques du clou de girofle "Syzygium aromaticum" et de l'écorce de grenade "Punica granatum L". Université A. MIRA – Bejaia: Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire. p 27.

Kiki, M. J, (2023). Biopigments of microbial origin and their application in the cosmetic industry. *Cosmetics*, 10(2), 47. <https://doi.org/10.3390/cosmetics10020047>

Kinoshita T, leep Z, Chuman H, (2005). Construction of a novel database for flavonoids. The Journal of Medical Investigation. 52: 291 – 292.

Kouwelton, PFOK, (2018). Applications des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée ivoirienne. Thèse de doctorat en : Chimie analytique. Institut National Polytechnique Felix Houphoët Boigny – Yamoussoukro.p :26-27

Kosalec I, Bakmaz M, Pepeljnjak S, & Vladimir-Knezevic S. A. N. D. A, (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta pharmaceutica*, 54(1), 65-72.

Kovács, Á. T, (2019). *Bacillus subtilis*. Microbe of the Month, 27(8), 724–725.

Kuete, V, (2017). Chapter 29 Syzygium aromaticum Medicinal Spices and Vegetables from Africa (pp. 611-625): Academic Press.

Kumar, S., & Pandey, A. K, (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. The Scientific World Journal, 2013, Article ID 162750, p:2. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>

Kuntal, D et Sevgi, G, (2018). Secondary plant metabolites, their separation and identification, and role in human disease prevention. Annals of Phytomedicine An International Journal .7(2) : 15.

L

Labadie, C, (2015). Analyse fine et stabilisation des hydrolats de rose et de fleur d'oranger [Thèse de doctorat, Université de Montpellier]. École doctorale SP-SA, UMR 408 INRA. Disponible sur Thèses.fr Disponible sur Thèses .f : <http://www.theses.fr/2015MONT039/document>

Lahsissene, H., Kahouadji, A., Tijane, M., & Hseini, S, (2009). *Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental)* (N° 186, Nouvelle série). Lejeunia – Revue de Botanique. Les Éditions de Lejeunia.

Lee. D.G, J.M. Urbach, G. Wu, (2006). Genomicanalysisrevealsthat Pseudomonas aeruginosa virulence iscombinatorial, Genome. Biol. 7 (10) R90, doi:10.1186/gb-2006-7-10-r90.

Leliana, L., Setyaningsih, W., Palma, M., Supriyadi, et Santoso, U, (2022). Antioxidant Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts of Coconut (*Cocos nucifera*) Fruit By-Products. *Agronomy*, 12(5), 1102. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051102>

Lim TK, (2014). Syzygium aromaticum Edible Medicinal and Non Medicinal Plants. Springer Dordrecht Heidelberg New York London, vol 8 (460-482),

Lister. P. D, D.J. Wolter, N.D, (2009). Hanson, Antibacterial-resistant Pseudomonas aeruginosa:clinical impact and complex regulation of chromosom allyencodedresistance mechanisms, Clin. Microbiol. Rev. 22 (4) ;582–610, doi:10.1128/CMR.00040-09.

Lone, Z. A., & Jain, N. K, (2022). Phytochemical Analysis of Clove (*Syzygium aromaticum*) Dried Flower Buds Extract and its Therapeutic Importance. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 12(4-S), 87-92.



Mahomoodally M., Ugurlu A., Llorent-martínez E., Meenathee N., MarieCarene P., Mehmet B., Yasemin A., Muzzammil H et Gokhan Z, (2019). Industrial Crops & Products *Syzygium coriaceum* Bosser & J. Guého. An endemic plant potentiates conventional antibiotics, inhibits clinical enzymes and induces apoptosis in breast cancer cells. *Ind. Crop. Prod.* (June) :111948.

Makhloufi. L et Tabchiche. R, (2024). Evaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*). Mémoire : Biochimie. Constantine : Université Constantine 1 Frères Mentouri ; p 6, 3.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L, (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727–747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>

Medfouni. R et Hafsi. N, (2017). Contribution à l'étude phytochimique et les activités biologiques d'une plante médicinale *Syzygium aromaticum*. Thèse de Master: Biochimie Appliquée; P 22.

Memdouh. S et Reddaf. N, (2018). Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de Constantine. Thèse de Master : Microbiologie et Hygiène Hospitalière.

Merr. & L.M.Perry, (2019) the chemical and pharmacological basis of cloves (*Syzygium aromaticum* (L.) as potential therapy for type 2 diabetes and associated diseases. 29 (4):2170-2193.

Mittal, M., Gupta, N., Parashar, P., Mehra, V., et Khatri, M, (2014). Phytochemical evaluation and pharmacological activity of *Syzygium aromaticum*: A comprehensive review. *International*

Références bibliographiques

Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6(8), 67-72.
https://www.researchgate.net/publication/282368692_Phytochemical_evaluation_and_pharmacological_activity_of_syzygium_aromaticum_A_comprehensive_review

Mitra, S.K., Irenaeus T.K.S., Gurung, M.R., Pathak, P.K., Pradyot, M.R., (2012). Taxonomy and importance of Myrtaceae. *Acta Horticulturae* ;959, 23.

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

Molehin, O. R. et Adefegha, S. A, (2014). Comparative study of the aqueous and ethanolic extract of *Momordica foetida* on the phenolic content and antioxidant properties. *International Food Research Journal*. 21. 401-405.

Mutha, R. E., Tatiya, A. U., & Surana, S. J, (2021). Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: An overview. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00161-8>

Muzolf-Panek, M., & Stuper-Szablewska, K, (2021). Comprehensive study on the antioxidant capacity and phenolic profiles of black seed and other spices and herbs: Effect of solvent and time of extraction. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 4561–4574. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01028-z>

n

Nichols H.B, Anderson C, White A.J. Milne G.L. et Sandler D.P, (2017). Oxidative stress and breast cancer risk in premenopausal women. *Epidemiology*. 28(5) :667-674.

Nikousaleh, A., & Prakash, J, (2015). Antioxidant components and properties of dry heat treated clove in different extraction solvents. *Journal of Food Science and Technology*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2113-8>

Références bibliographiques

Ninkuu, V.; Zhang, L.; Yan, J.; Fu, Z.; Yang, T.; Zeng, H, (2021). Biochemistry of Terpenes and Recent Advances in Plant Protection. International Journal of Molecular Sciences. 22 :2

Nogales, D.C.V, (2017) Morphological homogeneity, phylogenetic heterogeneity and systematic complexity in species-rich groups: a case study of floral evolution in Myrteae (Myrtaceae). Doctoral thesis (Ph.D), UCL (University College London) p :16



Oguntibeju O.O, (2019). Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation : examining the links. Int J PhysiolPathophysiolPharmacol.11(3): 45-63.

Olivier, P, (2021). Identification et cartographie des métabolites secondaires de nouvelles souches de levures tropicales. Thèse de doctorat en : Chimie organique. Normandie Université, Français. P :21-2

Oshomoh, E. O., Idu, M., et Udinyiwe, O. C, (2015). Phytochemical screening and antimicrobial sensitivity of clove flower (*Syzygium aromaticum*, L. Merrill and Perry) bud on dental pathogens. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 3(2), 28–33.

Ounaceur L.S, (2023). Screening Chimique Et Effets Phytotherapeutiques De L'extrait De Clou De Girofle Dans Un Modele D'asthme Experimental. Thèse de doctorat : Immunotoxicologie. Universite Badji Mokhtar – Annaba, P 17, 19.

Oyebola, M. K, (2024). Toxicological effects of aqueous and ethanol extracts of clove (*Syzygium aromaticum*) on various pathogenic bacteria. Systematic Review Pharmacy, 15(11), 335–338. <https://doi.org/10.31858/0975-8453.15.11.335-338>



Panchangam. S. C, (2015). *Escherichia Coli*. 10.13140/RG.2.1.5159.9846. DOI:[10.13140/RG.2.1.5159.9846](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5159.9846)

Références bibliographiques

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R, (2016). Flavonoids: An overview. Journal of Nutritional Science, 5, e47, 1–15. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>

Parekh. J et Chanda. S, (2007). In Vitro Antimicrobial Activity And Phytochemical Analysis of Some Indian Medicinal Plants. Turkish Journal of Biology: Vol. 31: No. 1, Article 9 <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol31/iss1/9>

Pascal R.E, (2015). Mémoire de Fin d'Études En vue de l'obtention du diplôme de MASTER, Titre Ingénieur en Génie des Procédés Chimiques et Industriels, UNIVERSITÉ D'ANTANANARIVO ESPA, GENIE DES PROCEDES CHIMIQUES ET INDUSTRIELS.

Patel, S., et Gokhale, M, (2016). *Comparative study of antioxidant activity of ethanol and aqueous extracts of different parts of Nyctanthes arbor-tristis Linn.* Pharmacognosy Journal, 8(2), 119–123. DOI:[10.5530/pj.2016.2.3](https://doi.org/10.5530/pj.2016.2.3)

Phaniendra A, Jestadi D.B, Periyasamy L, (20115). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. Ind J Clin Biochem. 30(1):11–26.

Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A, (2017). Oxidative stress: Harms and benefits for human health. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017, Article ID 8416763. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>

Plaskova A, Mlcek J, (2023). New insights of the application of water or ethanol-water plant extract rich in active compounds in food. Front Nutr. 10:1118761. doi: 10.3389/fnut.2023.1118761. PMID: 37057062; PMCID: PMC10086256.



Qin, S., Xiao, W., Zhou, C. et al, (2022). Pseudomonas aeruginosa: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. SigTransduct Target Ther 7, 199. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>

Qureshi, T. M., Nadeem, M., Iftikhar, J., Salim-ur-Rehman, Ibrahim, S. M., Majeed, F., & Sultan, M, (2023). Effect of traditional spices on the quality and antioxidant potential of paneer prepared from buffalo milk. *Agriculture*, 13(2), 491. <https://doi.org/10.3390/agriculture13020491>

R

Rahman,K, (2007) 'Studies on free radicals,antioxidants, and co-factors.', Clinicalinterventions in aging, 2 (2), pp. 219-36.

Rahman T., Hosen I, (2012). Towhidulislam M. et Uddin shekhar H. Oxidative stress and human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 3 : 997-1019.

Remita. E et Benzina.M, (2021). Contribution à l'étude des propriétés phytochimiques et biologiques du giroflier (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry). Thèse de Master: Biologie et physiologie de la reproduction; P 39.

Rijke, E, (2005). Trace-level determination of flavonoids and their conjugates: Application to plants of the Leguminosae family [PhD Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

Roudsari. M. H, (2007). Subcritical water extraction of antioxidant compounds from canola meal, M.Sc. Thesis, University of Saskatchewan, Saskatoon.

S

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

Schmidt.K. D, Tümmler. B, Römling, (1996). Comparative genomemapping of *Pseudomonas aeruginosa* PAO with *P. aeruginosa* C, which belongs to a major clone in cysticfibrosis patients and aquatic habitats, *J. Bacteriol.* 178 (1) (1996) 85–93, doi:10.1128/jb.178.1.85-93.1996.

Shan, B., Cai, Y. Z., Sun, M., & Corke, H, (2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20), 7749–7759. <https://doi.org/10.1021/jf051513y>

Shehu, I., Sanusi, S. B., et Saka, H. K, (2023). Study on antibacterial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) crude extract against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., and *Pseudomonas* sp. *Science World Journal*, 18(1), 97. Faculty of Science, Kaduna State University.

Siddhuraju. P, and Becker. K, (2003). Antioxidant properties of various extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* lam.) leaves. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51, 2144-2155.

Soni A and Sosa S, (2013). Phytochemical Analysis and Free Radical Scavenging Potential of Herbal and Medicinal Plant Extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2013; 2 (4): 22- 29.

Sparg, S. G., Light, M. E., & Van Staden, J, (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(2–3), 219–243.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.05.016>

Stover. C. K, X.Q. Pham, A.L. Erwin, et al, (2000). Complete genomesquence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunisticpathogen, *Nature* 406 (6799) (2000) 959–964, doi:10.1038/35023079.

Su, Y., Liu, C., Fang, H. et al,(2020). *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. *Microb Cell Fact* **19**, 173.
<https://doi.org/10.1186/s12934-020-01436-8>

T

Taslimi P, Caglayan C, Farzaliyev V, Nabiyeve O, Sujayev A, Turkan F, Gulçin İ, (2019). "Synthesis and discovery of potent carbonic anhydrase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and α -glycosidase enzymes inhibitors : The novel N, N'-bis-cyanomethylamine and alkoxymethylamine derivatives". Journal of biochemical and molecular toxicology, 32(4), e22042.

Tucker P.S, Scanlan A.T and Dalbo V.J, (2015). Chronic Kidney Disease Influences Multiple Systems: Describing the Relationship between Oxidative Stress, Inflammation, Kidney Damage, and Concomitant Disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 1-8. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/806358>.

V

Van Raamsdonk J.M, Vega I.E et Brundin P, (2017). Oxidative stress in neurodegenerative disease: causation or association?. Oncotarget. 2017; 8:10777-10778.

Vina J, (2019). The free radical theory of frailty: Mechanisms and opportunities for interventions to promote successful aging. Free Radical Biology and Medicine. 134: 690–694.

W

Wadi. M. A, (2025). Evaluation of antibacterial activity and chemical analysis of clove aqueous extract (*Syzygium aromaticum*). BMC Complement Med Ther. 2025 Apr 21;25(1):146. doi: 10.1186/s12906-023-04243-x.

Wadood A.A, Ghufraan M, Jamal S.B, Naeem M, Khan A, Ghaffar R and Asnad I, (2013). Phytochemical Analysis of Medicinal Plants Occurring in Local Area of Mardan. Biochem Anal Biochem 2013, 2(4) : 1-4. DOI: 10.4172/2161-1009.1000144.

Watrelot, A. A., & Norton, E. L, (2020). Chemistry and reactivity of tannins in *Vitis* spp.: A review. *Molecules*, 25(9), 2110. <https://doi.org/10.3390/molecules25092110>

Willey, J. M., Sandman, K. M., & Wood, D. H, (2020). Prescott's microbiology (11th ed.). McGraw-Hill Education.

Wu, W., Jin, Y., Bai, F., et Jin, S, (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. In Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Poxton, & J. Schwartzman (Eds.), *Molecular Medical Microbiology* (2nd ed., Vol. 2, pp. 753–767). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00041-X>

Y

Yinyang, J; Mpondo, E; Tchatat, M; Ndjib, R.C; Mvogo Ottou, P.B; Dibong,S.D,(2014). Les plantes à alcaloïdes utilisées par les populations de la ville de Douala (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences* 78(1) :6601

Yan, R., Song, S., Li, H., & Sun, H, (2022). Functional analysis of the eTM-miR171-SCL6 module regulating somatic embryogenesis in *Lilium pumilum* DC. *Fisch. Horticulture Research*, 9, uhac045. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac045>

Z

Zagoskina, N. V., Zubova, M. Y., Nechaeva, T. L., Kazantseva, V. V., Goncharuk, E. A., Katanskaya, V. M., Baranova, E. N., & Aksenova, M. A, (2023). Polyphenols in Plants: Structure, Biosynthesis, Abiotic Stress Regulation, and Practical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1074. <https://doi.org/10.3390/ijms24021074>



Annexes

Annexes

Annexe 1. Composition des réactifs utilisés pour le screening phytochimique

Réactif de Wagner

Iodure de potassium (KI).....02g

Di-iodure (I₂) 1.27g dans 75 ml d'eau.

Ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

Réactif de Bouchardat

Iode...02g

Iodure de potassium.....02g

Eau distillé.....100mL

Composés réducteurs

Liqueur de Fehling

Réactif à chaud

CuSO₄.....35g

Eau distillée..... 500 mL contenant 5 mL d'H₂SO₄

Laisser refroidir puis compléter au litre avec l'eau distillée

Annexe 2. Composition des milieux de culture utilisés dans l'activité antibactérienne.

Eau physiologique stérile :

Chlorure de sodium (NaCl).....9g

Eau distillée.....1000mL

Annexe 3. Résultats des rendements des extraits Hydro-éthanolique et aqueux de *Syzygium aromaticum* L.

Partie de la plante	Clou de girofle	
Rendement en %	Extrait aqueux	11.7
	Extrait Hydro-ethanolique	25.2

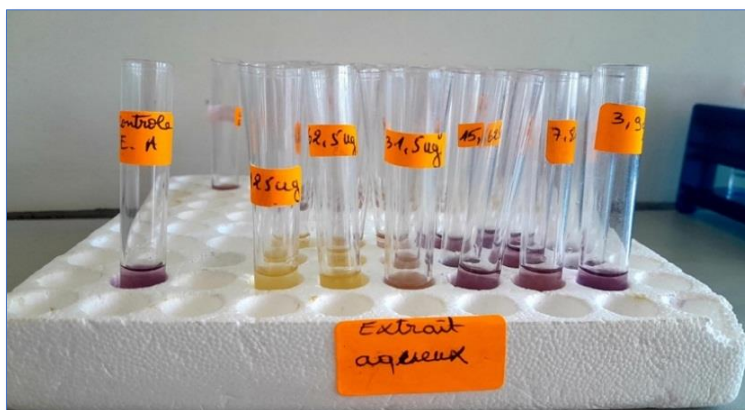
Annexe 4. Teneur en polyphénols, flavonoïdes, flavones et flavonols, des tannins, des extraits de *Syzygium aromaticum* L.

La plante	Les extraits et les dilutions	polyphénols	flavonoïdes	Flavones et flavonols	tannins
		µg Equivalent Acide Gallique / mg d'extrait	µg Equivalent Acide Gallique / mg d'extrait	µg Equivalent Acide Gallique / mg d'extrait	µg Equivalent Acide Gallique / mg d'extrait
<i>Syzygium aromaticum</i> L.	Aqueux	19.59±0.03	20.38±0.03	50.79±0.15	34.52±0.002
	Hydro-éthanolique	26.78±0.19	14.14±0.01	44.73±0.11	33.88±0.003

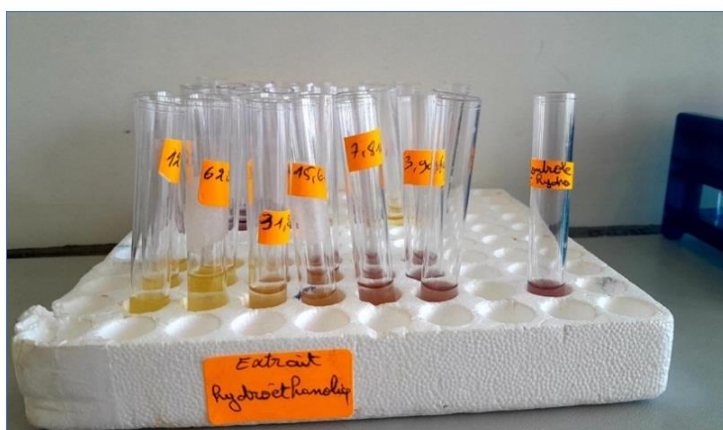
Annexe 5. Suivi visuel de l'évolution colorimétrique des extraits et de l'acide ascorbique.



Aspect final de l'acide ascorbique



Aspect final de l'extrait aqueux.



Aspect final de l'extrait hydroéthanolique.

Annexe 6. Taux d'inhibition de différentes concentrations de standard et de deux extraits.

Extrait s (μg /ml)	(%) d'Inhibition de DPPH						
	3,906 μg	7,812 μg	15,625 μg	31,25 μg	62,5 μg	125 μg	CI50 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
AA	42,46 $\pm$ 0,00 1	44,72 $\pm$ 0,00 1	46,65 $\pm$ 0 001	67,17 $\pm$ 0,002	69,03 $\pm$ 0,00 2	94,97 $\pm$ 0,00 2	18,17 $\pm$ 0,003
EA	2,65 $\pm$ 0,002	4,89 $\pm$ 0,001	5,95 $\pm$ 0,002	16,80 $\pm$ 0,002	20,23 $\pm$ 0,00 2	56,77 $\pm$ 0,00 4	113,41 $\pm$ 0,00 3
Ehe	16,39 $\pm$ 0 ,00 2	21,67 $\pm$ 0,00 1	46,35 $\pm$ 0,000 9	48,26 $\pm$ 0,000 9	75,45 $\pm$ 0,00 2	90,48 $\pm$ 0,00 1	33,20 $\pm$ 0,003

Annexe 7. Résultats de la densité optique des souches microbiennes testées



Résultats de la densité optique de *Pseudomonas aeruginosa*.



Résultats de la densité optique de *Staphylococcus aureus*.



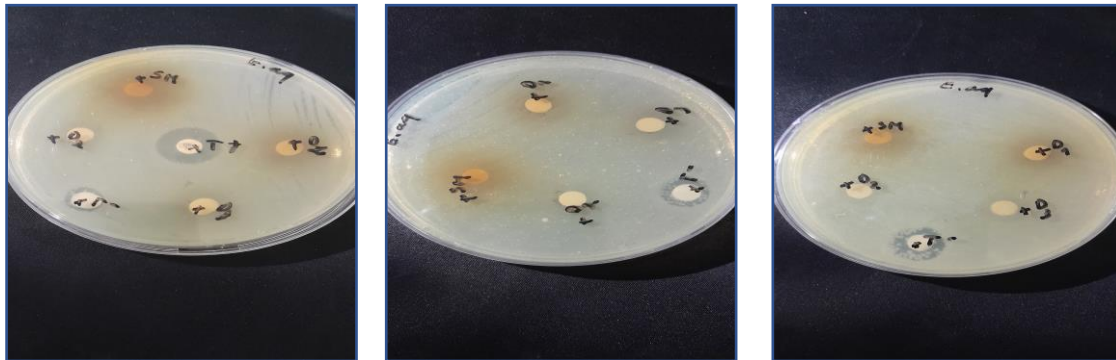
Résultats de la densité optique de *Escherichia coli*.



Résultats de la densité optique de *Bacillus subtilis*.

Annexe 8. Annexe des photos de l'activité antibactérienne.

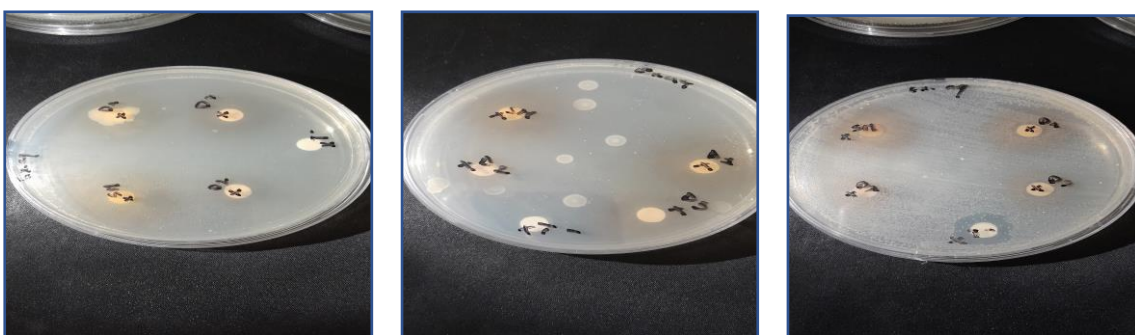
Annexe 8.1. Résultats de l'activité antibactérienne d'extrait aqueux.



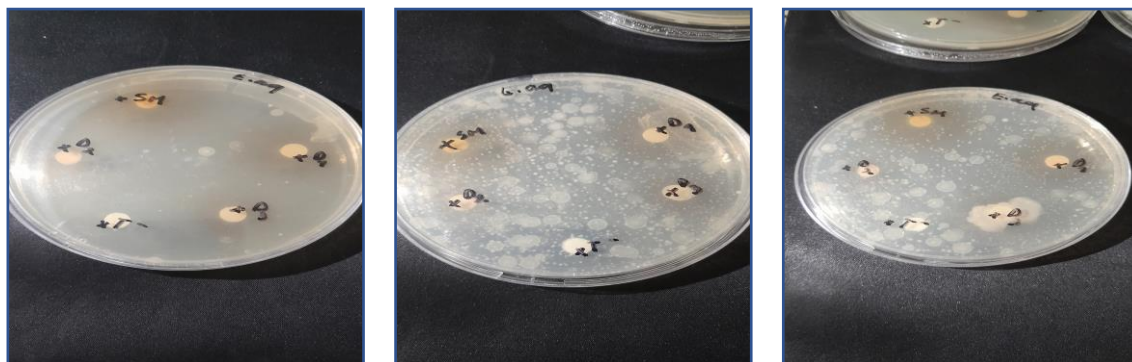
Pseudomonas aeruginosa (les trois répétitions + GEN)



Staphylococcus aureus (les trois répétitions + GEN)

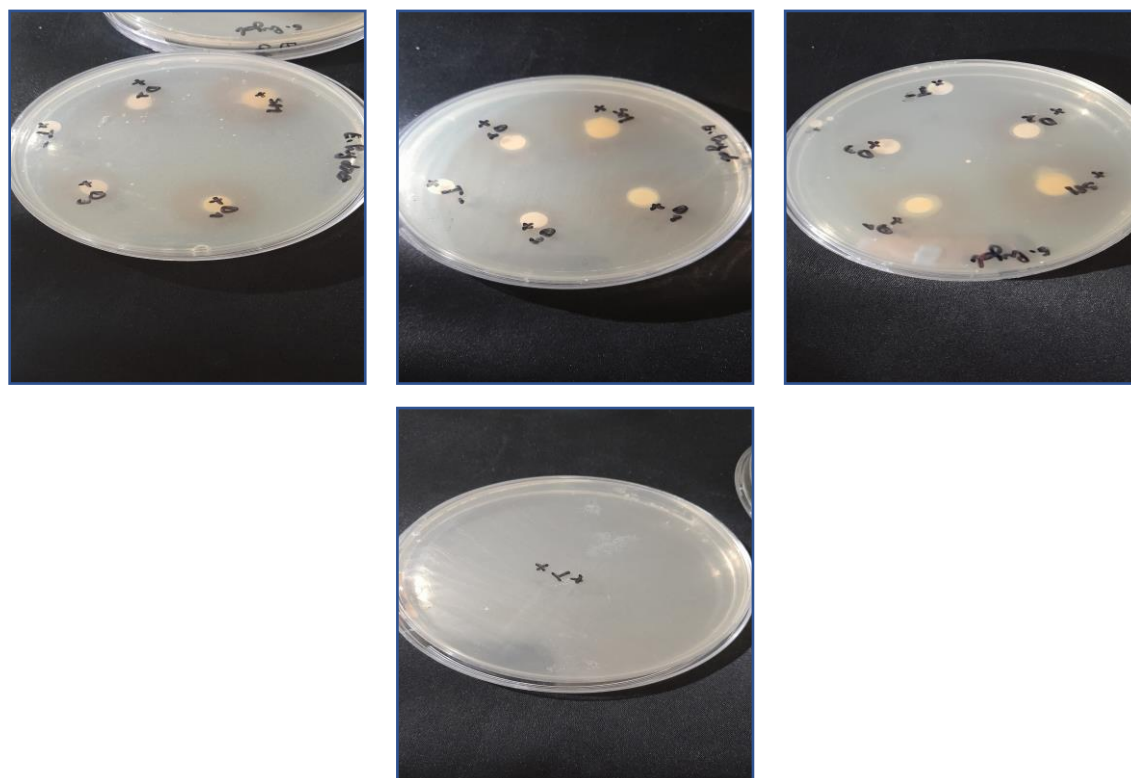


Escherichia coli (les trois répétitions)



Bacillus subtilis (les trois répétitions)

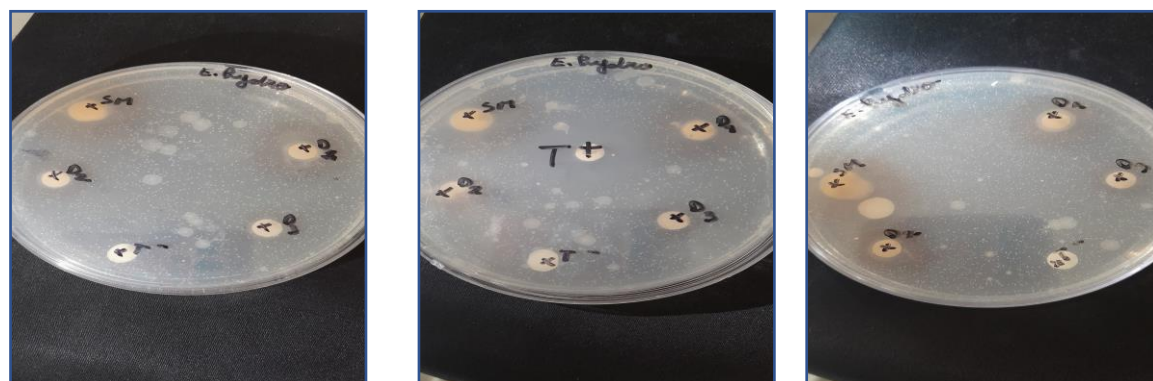
Annexe 8.2. Résultats de l'activité antibactérienne d'extrait hydroéthanolique



Escherichia coli (les trois répétitions + GEN)



Staphylococcus aureus (les trois répétitions + GEN)



Bacillus subtilis (les trois répétitions + GEN)



Pseudomonas aeruginosa (les trois répétitions + GEN)