

### Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

#### III.1 Calcul du rendement

Le rendement d'extraction, exprimé en pourcentage, a été déterminé par la formule indiquée dans le chapitre Matériels et méthode dont :  $M = 1.1g$  et  $M_0 = 58.62g$

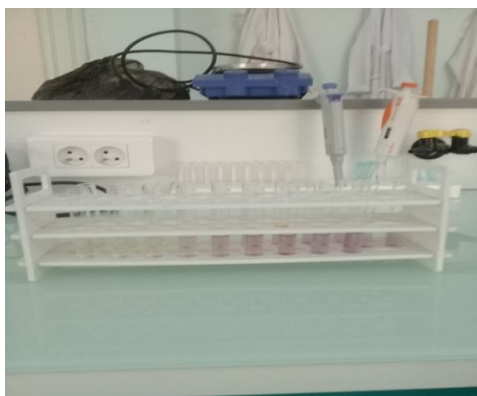
Le rendement d'extraction des H.E est : **R % = 1.6 %**

D'après ce résultat, on peut constater que notre plante est très riche en H.E, tenant compte la récolte fraîche (plante jeune). Les teneurs en H.E varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction des paramètres d'extraction : solide-liquide, la température, le solvant d'extraction, la taille des particules et le coefficient de diffusion du solvant. Il a été démontré aussi, que pour l'extraction à température élevée permettait d'obtenir des rendements plus élevés que lorsqu'ils sont obtenus à température ambiante. Cette richesse peut être aussi expliquée par les paramètres climatiques de la région de la récolte.

#### III.2 Pouvoir antioxydant

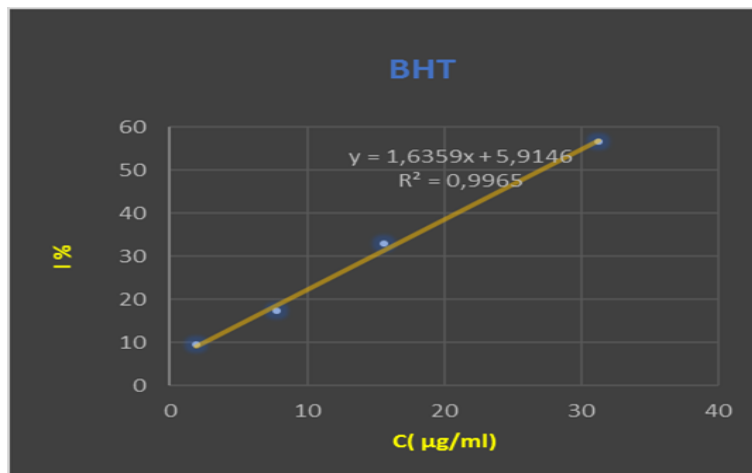
Plusieurs méthodes ont été développées pour évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles. Ces méthodes sont basées sur le piégeage des radicaux libres synthétiques à température ambiante en solution dans des solvants polaires, comme le méthanol. Dans notre étude, nous avons choisi la méthode de DPPH pour évaluer l'activité anti radicalaire de notre HE, en raison de sa stabilité, sa rapidité et son efficacité [52].

Elle est basée sur la détermination de la diminution de l'absorbance d'une solution méthanoïque de DPPH à 515 nm qui est due à sa réduction en une forme non radicalaire DPPH-H (Figure III.1).



**Figure III.1** : La gamme de dégradation du couleur de DPPH en fonction de concentration d'huile essentielle de *Rétama sphaerocarpa*.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer une courbe ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire (**Figure : III.2**), qui signifie la réduction maximale du DPPH en sa forme non radicalaire, comparativement à l'activité antiradicalaire d'un antioxydant standard, qui est le BHT.



**Figure III.2:** Tracé du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration du BHT, contre le Radical DPPH.



**Figure III.3 :** Tracé du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'huile essentielle (*Rétama sphaerocarpa*), contre le Radical DPPH.

Le profil d'activité anti radicalaire obtenus révèlent que l'huile essentielle de *Rétama sphaerocarpa* possède une activité anti-radicalaire dose dépendante (**Figure III.3**).

A partir des courbes des pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées, nous avons déterminé les valeurs d'IC50. Plus celle-ci est petite plus l'huile a une forte activité antioxydante (**Tableau III.1**).

**Tableau III.1** : Concentration inhibitrice IC50 de BHT et l'huile essentielle.

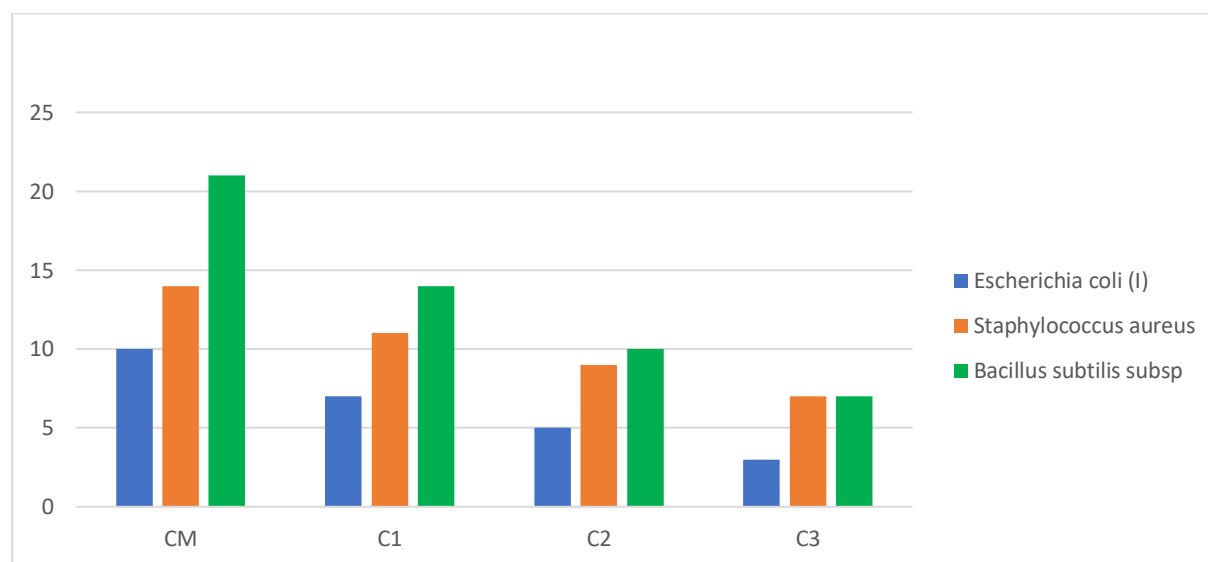
/	IC50% (mg/ml)
BHT	0.02694
Huile essentielle ( <i>Rétama sphaerocarpa</i> )	20.78

En comparant les deux valeurs d'IC50 trouvées l'huile essentielle *Rétama sphaerocarpa* a montré une capacité antioxydante inférieure à celle de BHT.

Cette différence est due au faible pouvoir antioxydant remarqué pour la majorité des huiles essentielles des plantes. Car et généralement le pouvoir antioxydant des extraits des plantes est dû à la présence des polyphénols et spécialement les flavonoïdes.

### III.3 Pouvoir antibactérien

Les diamètres des zones d'inhibitions de l'huile essentielle à différentes concentrations, et avec les trois souches bactériennes, ont été mesurés et regroupés dans la **Figure III.4**.



**Figure III.4** : Les diamètres de zones d'inhibitions de l'huile essentielle à différentes concentrations, sur les trois souches bactériennes.

Selon la **Figure III.4** on constate que notre huile essentielle présente une activité antibactérienne vis-à-vis des 03 souches bactériennes : *Escherichia coli* (I), *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* subsp.

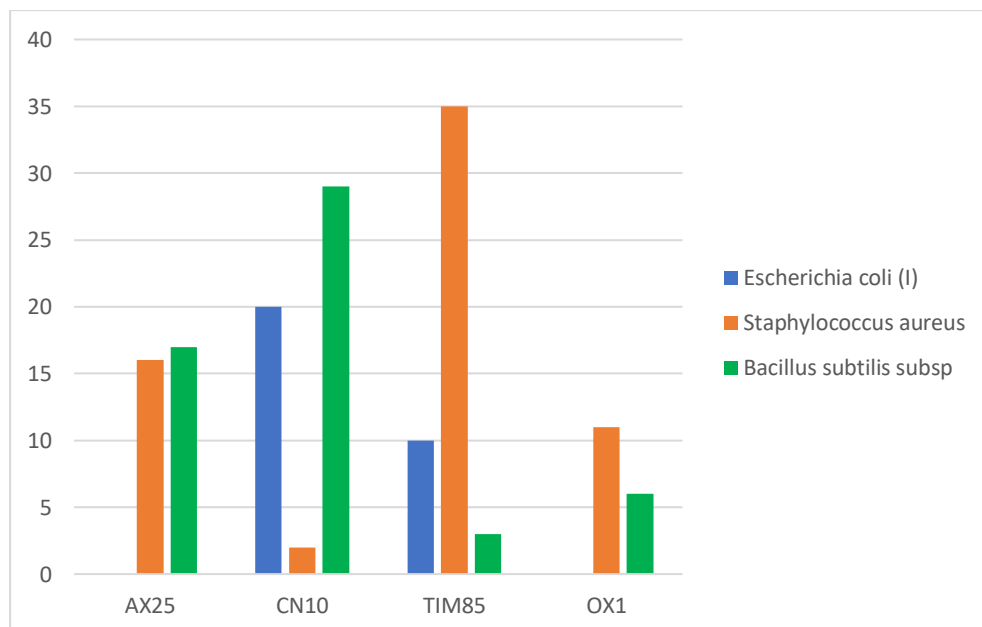
La zone d'inhibition de la solution mère CM est la plus élevée sur les 03 souches bactériennes comparativement aux autres solutions diluées C1, C2, C3.

La plus grande zone d'inhibition observée pour *Bacillus subtilis subsp* (21 mm), suivi par *Staphylococcus aureus* (14 mm) en fin par *Escherichia coli* (I) (10 mm).

La souche bactérienne *Escherichia coli* (I) se révèle la plus résistante pour notre huile essentielle.

### III.3.1 Test d'antibiogramme

Les diamètres de zone d'inhibition des antibiotiques, observés sur les trois souches bactériennes ont été mesurés et regroupés dans la **figure III.5** :



**Figure III.5** : Zone d'inhibition des souches bactériennes induites par les antibiotiques ; Amoxicilline25 (AX25), gentamicine10 (CN10), Ticarcilline85 (TIM85), Oxacilline1 (OX1).

Selon la **Figure III.5**, on constate les résultats suivants :

- ***Escherichia coli* (I)** : Très sensible pour l'antibiotique gentamicine 10 (20 mm), sensibilité limitée vis-à-vis Ticarcilline 85 (10 mm) et résistante pour Amoxicilline 25, Oxacilline1.

- ***Staphylococcus aureus*** : Très sensible pour les antibiotiques, Ticarcilline 85, gentamicine 10, Amoxicilline 25 (35 mm, 20 mm, 16 mm) respectivement et sensibilité limitée vis-à-vis Oxacilline 1 (11mm).

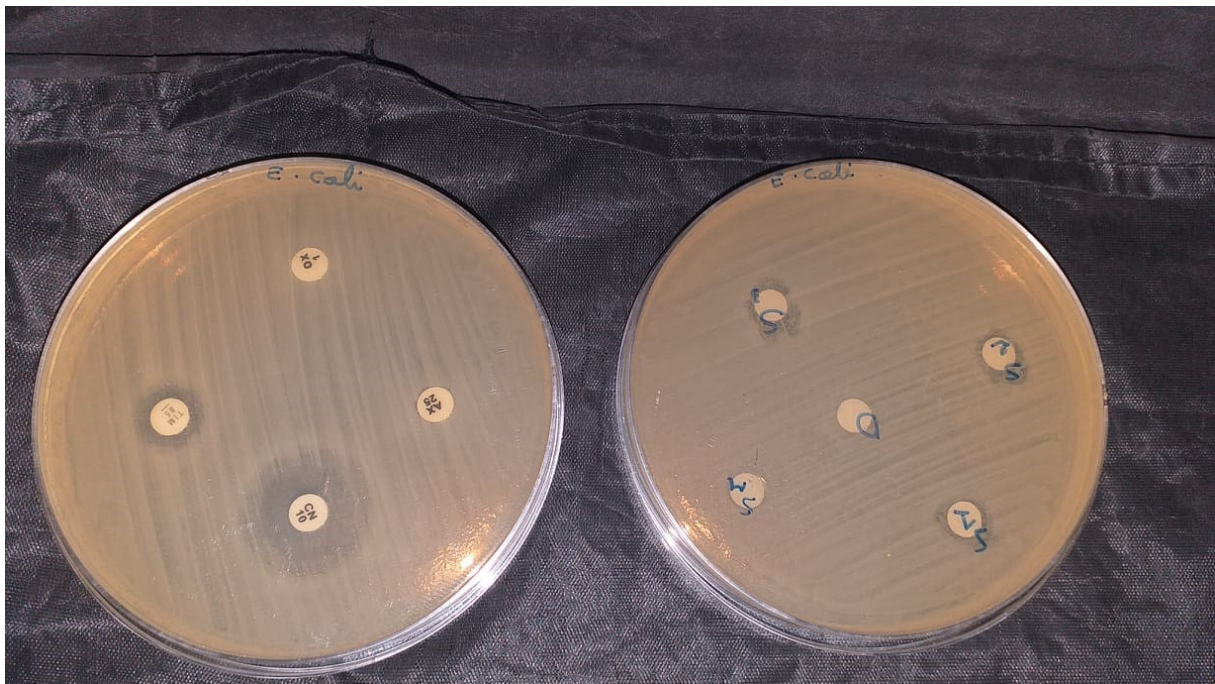
- ***Bacillus subtilis subsp*** : Très sensible avec Ticarcilline 85, Gentamicine 10 et Amoxicilline 25 (30 mm ,29mm ,17 mm) respectivement et résistante vis-à-vis Oxacilline1 (6mm).

La comparaison entre les figures (III.6, III.7 et III.8), nous permet de conclure que :

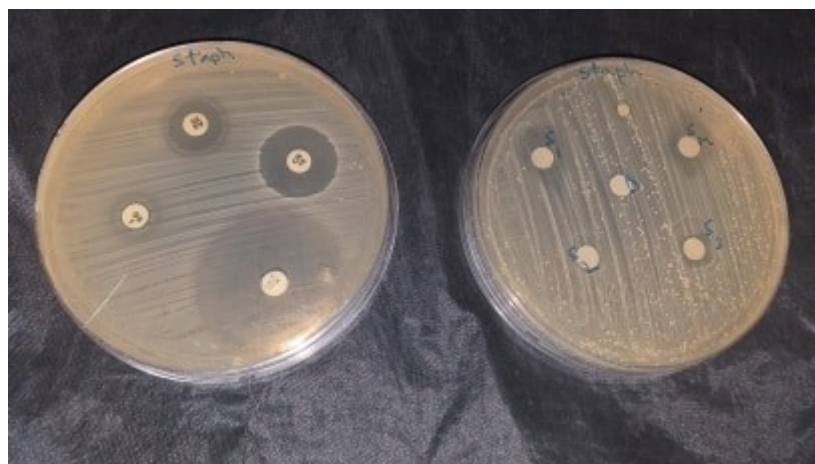
- La zone d'inhibition de CM est presque la même avec Amoxycilline 25 (14 mm, 16 mm) respectivement sur la souche *Staphylococcus aureus*.

- La zone d'inhibition de CM est la même avec Ticarcilline 85 (10mm) sur la souche *Escherichia coli* (I).

- La zone d'inhibition de CM et C1 (21 mm ,14 mm) presque la même avec Amoxycilline 25 (17 mm) sur la souche *Bacillus subtilis subsp* et inférieure à la gentamicine 10 (29mm).



**Figure III.6 :** L'activité antibactérienne d'huile essentielle sur la bactérie *E. Coli*.



**Figure III.7 :** L'activité antibactérienne d'huile essentielle sur la bactérie *Staphylococcus aureus*

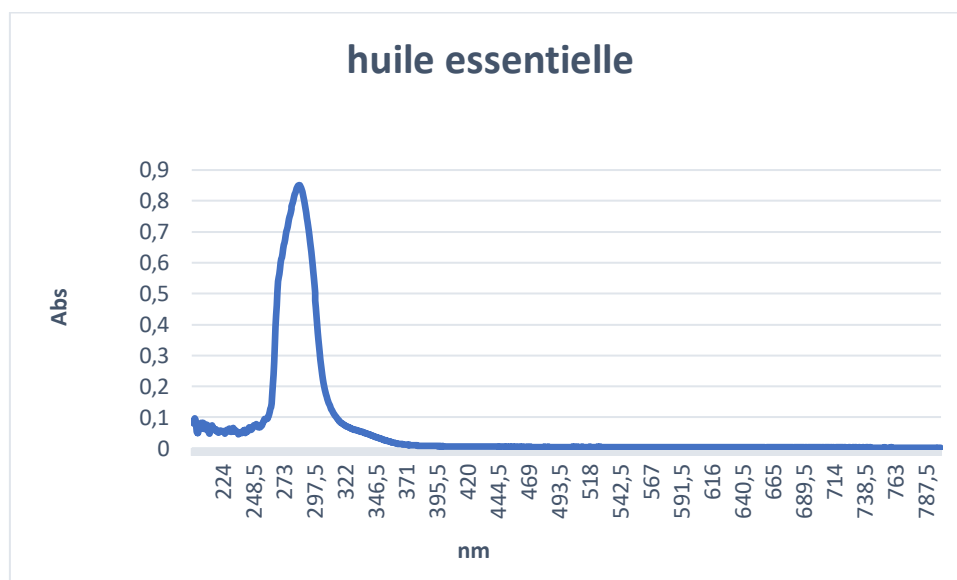


**Figure III.8 :** L'activité antibactérienne d'huile essentielle sur la bactérie *Bacillus subtilis* *subs*

### III.4 Méthodes d'identification structurale

#### III.4.1 Spectrométrie ultraviolet (UV-VISIBLE)

L'enregistrement du spectre d'absorption dans le domaine ultraviolet-visible (200-800 nm), d'une solution diluée de l'huile essentiel de la *Rétama sphaerocarpa* (**figure III.9**), montre l'apparition d'un pic d'absorption aux allants-tour de 280 nm, avec un très faible épaulement autour de 330 nm.



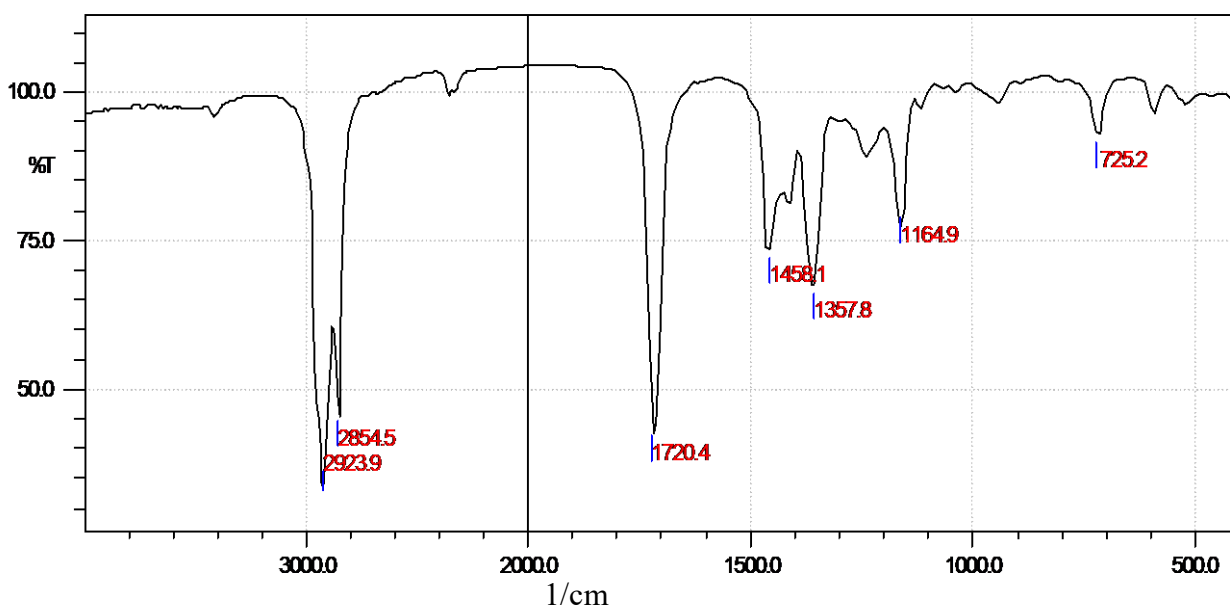
**Figure III.9 :** Spectre ultraviolet-visible d'huile essentiel *Rétama sphaerocarpa*.

Comme on constate aussi, l'absence complète d'absorption dans la région du visible, ceci peut être expliqué par la présence des composés incolores (transparents), dans la composition de l'HE.

La présence d'absorption dans l'ultraviolet explique une information utile dans la structure et indique peut être l'absence des lipides saturés ou d'alcane dans les fractions lipidiques, des amino-acides aliphatiques ou sucres dans les fractions solubles dans le DMSO.

Cependant, le pic situé vers 280 nm peut être attribué aux transitions  $\pi-\pi^*$  (les électrons des liaisons insaturées). En effet, l'épaule vers 330 nm peut être dû aux transitions  $n-\pi^*$ , des électrons des doublets non liants (la possibilité de présence des composés oxygénés).

### III.4.2 Spectrométrie infrarouge (IR)



**Figure III.10:** Spectre infrarouge d'huile essentielle

Le spectre infrarouge à transformée de fourrier (FTIR) représente les pics moléculaires d'absorption et de transmission qui correspondent à la fréquence des vibrations entre les atomes de différentes liaisons existantes.

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux aromatiques très complexes et très concentrés. Elles peuvent contenir plus d'une centaine de molécules aromatiques dans des proportions très variables. Mais dans la plus part du temps, l'huile essentiel peut contenir un ou plus de produits majoritaires, qui sont responsables de leur odeur caractéristique.

L'observation du spectre IR de l'huile de *Rétama sphaerocarpa*, nous permis d'une part de remarquer la clarté de ce spectre, qui peut être dû à la présence d'un composé majoritaire.

D'autre part d'attribuer les différents bandes d'absorption aux :

- 2923,9  $\text{cm}^{-1}$  correspondant au groupement  $\text{CH}_3\text{-CH}$  (vibration d'élongation)
- 2854,5  $\text{cm}^{-1}$  correspondant au groupement  $\text{CH}_3\text{-CH}_2$  (vibration d'élongation)

- 1720,4  $\text{cm}^{-1}$  correspondant au groupement C=O saturé (vibration d'élongation)
- 1458,1  $\text{cm}^{-1}$  correspondant au groupement  $\text{CH}_3\text{-CH}_2$  (vibration de déformation)
- 1357,8  $\text{cm}^{-1}$  correspondant à la fonction d'alcool HO (vibration de déformation)
- 1184,9  $\text{cm}^{-1}$  correspondant au groupement C-O-C (vibration d'élongation)
- 725,2  $\text{cm}^{-1}$  correspondant au groupement C-H (vibration de déformation)