



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Agronomiques  
Laboratoire de Biotechnologie - Université de Mostaganem  
Laboratoire de Biotechnologie et de Nutrition des Zones Arides - Université de Tiaret

## THESE

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences

Filière : Sciences Agronomiques

Option : Biotechnologies végétale

Présentée par : M<sup>lle</sup> Tissouras Fatiha

Sous le thème

**Extraction, identification et mise en évidence des propriétés des huiles de graines des espèces d'*Acacia* (*A. arabica* et *A. raddiana*) des zones arides algériennes**

Soutenue publiquement le : 09 Juin 2014

### Composition du jury de soutenance :

<b>Président</b>	M. Boudroua Kaddour	Pr	Université de Mostaganem
<b>Examineur</b>	M. Kihal Mabrouk	Pr	Université d'Oran
<b>Examineur</b>	M. Aoues Abdelkader	Pr	Université d'Oran
<b>Examineur</b>	M. Bekada Ahmed Mohammed Ali	MCA	Centre universitaire de Relizane
<b>Promoteur</b>	M. Lotmani Brahim	Pr	Université de Mostaganem
<b>Co-Promoteur</b>	M. Larid Mohamed	MCA	Université de Mostaganem

Année Universitaire 2013-2014

## Remerciements

Ce travail a été réalisé grâce à la collaboration des laboratoires suivants :

- Laboratoire de biotechnologie et de nutrition des zones arides- Université Tiaret.
- Les laboratoires de la police scientifique de la sûreté des wilayas d'Oran et d'Alger.
- Laboratoire de contrôle de la qualité et la répression des fraudes d'Oran.
- Laboratoire des analyses LOARC de Casa Blanca du Maroc.

Je tiens à remercier tous les directeurs et ingénieurs de ces structures, pour leur soutien incontesté qui m'a beaucoup facilité la réalisation de ce travail.

- Ce travail a été effectué sous la direction du Professeur B. Lotmani et du Dr M. Larid, Maître de Conférence à l'université de Mostaganem.

Permettez-moi, messieurs les professeurs de vous exprimer toute ma gratitude pour m'avoir accordé votre confiance. Merci pour avoir été toujours disponible à mon écoute, pour m'avoir guidé en me laissant libre dans mes actions. Merci pour votre soutien tant scientifique que moral. Sachez-le, messieurs les professeurs que je tiens à vous exprimer toute ma gratitude.

### **Au président de jury.**

- J'adresse mes plus vifs remerciements au Pr K. Boudroua K., de l'université de Mostaganem d'avoir accepté la présidence de notre jury.

### **A notre jury de thèse.**

- Au Pr M. Kihal, Directeur du laboratoire de microbiologie à l'université d'Oran. Vous m'avez fait un grand honneur par votre présence. Je vous adresse l'expression de ma plus haute considération.
- Au Pr A. Aouas de l'université d'Oran que je tiens à remercier vivement pour sa présence et bienveillance coutumière à examiner ce travail.
- Au Dr A. Bekada, Maître de conférences au centre universitaire de Relizane. Vous m'avez fait un grand plaisir de vous voir parmi cet honorable jury en tant qu'examineur de ce travail.
- Mes chaleureux remerciements vont aussi au Pr R. Verpoote, Directeur du laboratoire pharmacologie à l'université Netherlands . Je lui suis profondément reconnaissante pour sa confiance, sa sympathie et ses encouragements durant ma participation au Congrès international «**Good Practice Traditional Chinese Medicine Congress**» in Netherlands April 15-18, 2012.
- Sans oublier mon cher ami Willems J. responsable technique à l'université Netherlands, un grand merci pour votre soutien moral dans les moments difficiles.
- Au Dr B. Louacini à l'université de Tiaret pour ses encouragements, sa gentillesse quotidienne et son amitié sincère qui m'ont beaucoup marqué.

- Mes vifs remerciements vont aussi aux responsables de la conservation des forêts et de l'institut national de recherche forestière de la wilaya de Tamanrasset (INRF et CFM), et plus particulièrement à monsieur Zerhouni, Mme Sahki R, et monsieur Reda M.
- J'exprime également mes vifs remerciements à Monsieur M. Mdjahed Maitre assistant à l'université de Mostaganem pour son aide précieuse durant le traitement statistique. Ainsi, qu'à tous les ingénieurs des laboratoires : Benfada N., Abdeli M., Khane M., Mahdaoui B., Debih M., Naser, M. Baha H.
- Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à quelques personnes qui me sont très chères et qui comptent énormément pour moi. Je pense tout particulièrement à ma mère, mes sœurs et mes frères et tous mes amies (Amel, Houaria, Maghnia, Badra, Amina, Dalila) et surtout ma chère sœur Aïcha, qui m'ont toujours soutenu et que je suis très fière de les avoir à mes côtés. Que vous dire, tous les mots ne suffiraient pas, merci pour votre soutien et votre amour.

**Un hommage à mon cher père, je souhaiterai te remercier et embrasser tes mains, malgré ton absence, tu es toujours omniprésent dans mon cœur.**

## Liste des abréviations

<i>A. a</i>	<i>Acacia arabica</i>
<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. r</i>	<i>Acacia raddiana</i>
Abs	Absorbance
ACI	Acide gras insaturé
AFNOR	Association Française de normalisation
AG	Acide gras
AGPIS	Acide gras polyinsaturé
AGS	Acide gras saturé
AOCS	American Oil Chemists' Society
<i>B. c</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>B. s</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
BN	Bouillon nutritif
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EC50	Concentration Effectrice permis de réduire 50% DPPH°
Fig	Figure
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute pression
MH	Mueller-Hinton
PDA	Pomme de terre dextrose agarose
PI	Planche
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Tab	Tableau
UICPA	International Union of pure and Applied Chemistry
UV/Visible	Ultraviolet/ Visible

## *Liste des tableaux*

N°	<i>Intitulé</i>	Pg
1	Classification des deux espèces d'acacia.	4
2	La variabilité génétique de l' <i>Acacia arabica</i> (Brenan, 1983 ; Fagg, 199)	7
3	La variabilité génétique de l' <i>Acacia raddiana</i> (Brenan, 1983 ; Fagg, 1991).	7
4	Présentation des coordonnées géographique des deux espèces sahariennes d'acacia dans l'Ahaggar.	103
5	Les caractéristiques principales des souches microbiennes utilisées.	46
6	La composition des différents milieux des cultures.	109
7	Les différentes concentrations des huiles utilisées pour les tests de l'activité antimicrobienne.	47
8	Paramètres physicochimiques des huiles de deux espèces d'acacia.	54
9	Comparaison des propriétés physicochimiques des huiles de trois variétés d' <i>A.arabica</i> d'origine de l'inde avec les deux espèces algériennes.	56
10	Caractéristiques physicochimiques de quelques huiles végétales brutes (AOCS Cd, 1987).	57
11	Composition en acide gras des huiles des graines d' <i>A. arabica</i> et <i>A. raddiana</i> des origines différentes.	60
12	Composition en acides gras de quelques huiles végétales brutes (D'après l'UICPA 2.301, 2.302 et 2.304).	62
13	Composition des tocophérols et tocotriénol des quelques huiles végétales brutes (UICPA 2.432).	64
14	Paramètres de l'activité antioxydante des huiles <i>A. arabica</i> et <i>A. raddiana</i> .	68
15	Comparaison des paramètres cinétique de l'activité antioxydante de quelques antioxydants purs avec les huiles d' <i>acacia</i> .	68
16	Activité antimicrobienne des huiles d'acacia par la méthode de diffusion en milieu liquide.	70
17	La gamme de dilution de l'huile d' <i>A. arabica</i> 0 à 0,316 mg/ml pour les Bactéries à Gram+ non sporulant.	110
18	La gamme de dilution de l'huile d' <i>A. arabica</i> 0 à 0,316 mg/ml pour les Bactéries à Gram-.	110
19	La gamme de dilution de l'huile d' <i>A. arabica</i> 0 à 0,316 mg/ml pour la levure <i>C. albicans</i> .	110
20	La gamme de dilution de l'huile d' <i>A. arabica</i> 0 à 0,316 mg/ml pour le champignon <i>A. niger</i> .	110
21	La gamme de dilution de l'huile d' <i>A. raddiana</i> 0 à 0,2111 mg/ml pour les Bactéries à Gram+ sporulant.	111
22	La gamme de dilution de 0 à 0,316 mg/ml pour les Bactéries à Gram+ non sporulant.	111
23	La gamme de dilution de 0 à 0,352 mg/ml pour les Bactéries à Gram-.	111
24	La gamme de dilution de 0 à 0,352 mg/ml pour la levure <i>C. albicans</i> .	111
25	La gamme de dilution de 0 à 0,316 mg/ml pour le champignon <i>A. niger</i> .	111
26	L'activité antimicrobienne des huiles d'acacia en milieu liquide à la concentration de 0 à 0,492 mg/ml.	112

27	Les CMI de l'activité antimicrobienne des huiles d'acacia en milieu liquide à la concentration de 0 à 0,4225 mg/ml.	112
28	Les CMI de l'activité antimicrobienne des huiles d'acacia en milieu liquide à la concentration de 0 à 0,352 mg/ml.	112
29	L'activité antimicrobienne des deux huiles d'acacia en milieu liquide à la concentration de 0 à 0,316 mg/ml.	112
30	Activité antimicrobienne des huiles d'acacia par la méthode de diffusion en milieu liquide.	72
31	Les CMI de l'activité antimicrobienne des huiles d'acacia en milieu liquide.	72
32	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. arabica</i> à la concentration de 0 à 0,504 mg/ml (méthode disque).	114
33	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. arabica</i> à la concentration de 0 à 0,492 mg/ml (méthode disque).	114
34	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. arabica</i> à la concentration de 0 à 0,4225 mg/ml (méthode disque).	115
35	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. arabica</i> à la concentration de 0 à 0,352 mg/ml (méthode disque).	115
36	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. arabica</i> à la concentration de 0 à 0,316 mg/ml (méthode disque).	116
37	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. raddiana</i> à la concentration de 0 à 0,504 mg/ml (méthode disque).	116
38	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. raddiana</i> à la concentration de 0 à 0,492 mg/ml (méthode disque).	117
39	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. raddiana</i> à la concentration de 0 à 0,4225 mg/ml (méthode disque).	117
40	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. raddiana</i> à la concentration de 0 à 0,352 mg/ml (méthode disque).	118
41	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. raddiana</i> à la concentration de 0 à 0,316 mg/ml (méthode disque).	118
42	Les diamètres des zones d'inhibition par la méthode de diffusion en milieu solide (disque) en présence des différentes concentrations des deux huiles d'acacia.	119
43	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. arabica</i> à la concentration de 0 à 0,504 mg/ml (méthode puits).	120
44	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. arabica</i> à la concentration de 0 à 0,492 mg/ml (méthode puits).	120
45	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. arabica</i> à la concentration de 0 à 0,4225 mg/ml (méthode puits).	121
46	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. arabica</i> à la concentration de 0 à 0,352 mg/ml (méthode puits).	121
47	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. arabica</i> à la concentration de 0 à 0,316 mg/ml (méthode puits).	122
48	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. raddiana</i> à la concentration de 0 à 0,504 mg/ml (méthode puits).	122

49	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. raddiana</i> à la concentration de 0 à 0,492 mg/ml (méthode puits).	123
50	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. raddiana</i> à la concentration de 0 à 0,4225 mg/ml (méthode puits).	123
51	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. raddiana</i> à la concentration de 0 à 0,352 mg/ml (méthode puits).	124
52	Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d' <i>A. raddiana</i> à la concentration de 0 à 0,316mg/ml (méthode puits).	124
53	Les diamètres des zones d'inhibition par la méthode de diffusion en milieu solide (méthode puits) en présence des deux huiles d'acacia.	125
54	Activité antifongique de l'huile d' <i>Acacia arabica</i> vis-à-vis <i>A. niger</i> .	126
55	Activité antifongique de l'huile d' <i>Acacia raddiana</i> vis-à-vis <i>A. niger</i> .	126
56	Diamètres des zones d'inhibition, les CMI et CMB des huiles d'acacia vis-à-vis les bactéries et la levure.	76
57	Les diamètres d'inhibition et les CMI et CMF d' <i>Aspergillus niger</i> des huiles par les deux méthodes de diffusion en milieu solide.	76
58	Les CMI (mg/ml) des extraits aqueux des gousses d' <i>A. nilotica</i> originaire de Soudan (Abd El Nabi et <i>al.</i> , 1992).	82
59	Les CMI (mg/ml) de l'activité antibactérienne des extraits d' <i>A. nilotica</i> du Sud d'Afrique (Eldeen et <i>al.</i> , 2005).	82
60	Comparaison des principales caractéristiques physicochimiques des huiles d'acacia Algériennes avec des huiles des plantes proches.	87

## Liste des figures

N°	Intitulé	Pg
1	Répartition géographique du genre <i>Acacia</i> dans le monde (Carter, 1994).	3
2	Répartition géographique de l' <i>Acacia arabica</i> et l' <i>Acacia raddiana</i> en Algérie (Tissouras, 2004).	4
3	Différents stades de la germination des deux espèces d' <i>acacia</i> (Tissouras, 2004).	8
4	Extracteur Soxhlet (Tech de l'Ing, n J2782).	17
5	Structure électronique de la molécule de dioxygène et de quelques dérivés.	19
6	Les réactions enzymatiques impliquées dans l'oxydation des lipides (Gardner, 1988).	22
7	Relation des souches avec les CMI (Jehl <i>et al</i> , 2000).	28
8	Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide.	29
9	Détermination de la CMI par dilution en milieu gélosé.	29
10	Carte géographique de la région de Tamanrasset (Google Maps, 2013).	36
11	Protocole expérimental général.	37
12	Courbe de calibration de la solution DPPH°µg/ ml M.	45
13	Test antibactérien par la technique de dilution en milieu liquide (Joffin et Leyral, 1996).	49
14	Humidité en pourcentage et le temps de séchage en minute (Tmn) des graines d' <i>acacia</i> .	51
15	Rendements des graines en huile des deux espèces d' <i>A arabica</i> par différents solvants.	52
16	Rendements des graines en huile des deux espèces d' <i>A raddiana</i> par différents solvants.	53
17	Chromatogrammes en acides gras de l'huile d' <i>Acacia arabica</i> .	105
18	Chromatogrammes en acides gras de l'huile d' <i>Acacia raddiana</i> .	106
19	La composition en acides gras de l'huile d' <i>Acacia arabica</i> .	58
20	La composition en acides gras de l'huile d' <i>Acacia raddiana</i> .	59
21	Chromatogrammes des tocophérols des huiles des graines d' <i>A arabica</i> .	107
22	Chromatogrammes des tocophérols des huiles des graines d' <i>A raddiana</i> .	108
23	Histogramme de la composition des tocophérols des huiles des graines des deux espèces d' <i>acacia</i> .	63
24	Pouvoir antioxydant de l'huile d' <i>A arabica</i> .	66
25	Pouvoir antioxydant de l'huile d' <i>A raddiana</i> .	66
26	Pouvoir antioxydant de l'acide gallique.	67
27	Densité optique des germes avant incubation avec différentes concentrations de l'huile d' <i>A. arabica</i>	73
28	Densité optique des germes après 24h d'incubation avec différentes concentrations de l'huile d' <i>A. arabica</i> .	74
29	Densité optique des germes avant incubation avec différentes concentrations de l'huile d' <i>A. raddiana</i> .	74
30	Densité optique des germes après 24 heures d'incubation avec différentes concentrations d'huile d' <i>A. raddiana</i> .	75
31	Analyse de la corrélation de la souche <i>B. cereus</i> en présence des huiles d' <i>acacia</i> .	84
32	Analyse de la corrélation de la souche <i>B. subtilis</i> en présence des huiles d' <i>acacia</i> .	84
33	Analyse de la corrélation de la souche <i>S. aureus</i> en présence des huiles d' <i>acacia</i> .	85
34	Analyse de la corrélation de la souche <i>E. coli</i> en présence des huiles d' <i>acacia</i> .	85
35	Analyse de corrélation de la souche <i>C. albicans</i> en présence des huiles d' <i>acacia</i> .	85
36	Analyse de corrélation de souche <i>A. niger</i> en présence des huiles d' <i>acacia</i> .	86

## Liste des planches

N°	Intitulé	Pg
1	Arbre d' <i>A. arabica</i> (Tissouras, 2010).	5
2	Arbre d' <i>A. raddiana</i> (Tissouras, 2004).	6
3	Matériel végétal	35
4	Sujets de prélèvement des deux espèces d'acacia dans la région de Teganaouene (W. Tamanrasset).	104
5	Photos de quelques résultats de l'activité antibactérienne en milieu liquide des huiles d'acacia.	127
6	Photos de quelques résultats de l'activité antibactérienne des huiles d'acacia à différentes concentrations par la diffusion en milieu solide (disque et de puits).	128

## Sommaire

### Introduction générale

	Pages
<b>Chapitre I : Généralités sur l'Acacia arabica et l'Acacia raddiana</b>	
1. Aire de répartition du genre d'Acacia.....	3
2. Systématique <i>A. arabica</i> et <i>A. raddiana</i> .....	4
3. Description morphologique .....	5
3.1. <i>Acacia arabica</i> .....	5
3.2. <i>Acacia raddiana</i> .....	6
4. Variabilités génétiques.....	7
4.1. <i>Acacia arabica</i> .....	7
4.2. <i>Acacia raddiana</i> .....	7
5. Régénération .....	8
6. Intérêts.....	8
6.1. Intérêt écologique et Ornemental.....	8
6.2. Intérêt agroalimentaire.....	9
6.3. Intérêt pharmaceutique et cosmétique .....	9
6.4. Intérêt Fourragère.....	10
7. Autres usages traditionnels.....	10
8. Conclusion.....	11
<b>Chapitre II : Extraction solide-liquide</b>	
1. Extraction solide-liquide .....	12
2. Principe .....	12
3. Mécanismes de l'extraction .....	13
3.1. Phase initiale.....	13
3.1.1. Absorption de solvant dans la phase solide.....	13
3.1.2. Lessivage.....	13
3.1.3. Dissolution des Composés solubles.....	13
3.1.4. Courants de solution.....	13
3.2. Périodes de diffusion .....	13
3.3. Transfert à travers les cellules .....	14
4. Facteurs influençant les performances de l'extraction .....	14
4.1. Nature de solvant.....	14
4.2. les critères de choix du solvant.....	14
4.3. Taille et forme des particules.....	15
4.4. Température .....	15
4.4.1. Extraction sans d'hydrolyses enzymatiques .....	15
4.4.2. Extraction avec hydrolyses enzymatiques .....	15
5. Les opérations de prétraitement.....	16
5.1. Le séchage.....	16
5.2. Le broyage.....	16
6. Les méthodes d'extraction classique .....	16
6.1. Les avantages de l'extraction par Soxhlet.....	17
6.2. Les inconvénients de l'extraction par Soxhlet.....	18
7. Conclusion.....	18
<b>Chapitre III : Activité antioxydante</b>	
1. Définition de l'activité antioxydante.....	19
2. Les radicaux libres.....	19
3. Réactivité chimique des acides gras insaturés.....	20

4. Oxydation des lipides .....	20
4.1. Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides.....	20
4.1.1. Peroxydation.....	20
4.1.2. Auto-oxydation.....	21
4.1.3. Photo-oxydation .....	21
4.1.4. L'oxydation enzymatique.....	22
5. Inhibiteurs de l'oxydation des lipides .....	22
5.1. Action antiradicalaire des antioxydants.....	22
5.2. Action anticatalytique des antioxydants.....	23
6. Les antioxydants .....	23
6.1. Les antioxydants type I .....	23
6.2. Les antioxydants type II.....	24
6.3. Les antioxydants type III .....	24
6.4. Les agents synergiques.....	24
7. Détection directe des radicaux libres.....	24
8. Conclusion .....	25

#### ***Chapitre IV : Activité biologique***

1. Activité biologique.....	26
2. Définition de la bactériostase.....	26
2.1. Concentration minimale inhibitrice.....	26
2.2. Détermination de la CMI.....	27
3. Notion de sensibilité/ Résistance.....	27
3.1. Définition de la résistance.....	27
3.2. Détermination des catégories S/I/R.....	27
4. Les Valeurs critiques déterminant les catégories cliniques.....	28
5. Notion de spectre et relation avec les CMI.....	28
6. Méthodes d'étude <i>in vitro</i> .....	28
6.1. Antibiogramme.....	28
6.1.1. Méthodes de dilutions.....	29
6.1.2. Méthodes de diffusion : antibiogramme standard.....	30
7. Les activités biologiques des huiles.....	30
8. Les souches bactériennes.....	31
8.1. Les bactéries à Gram positif.....	31
8.2. Les bactérie à Gram négatif.....	32
8.3 Les souches fongiques.....	33
9. Conclusion.....	34

#### ***Chapitre V Matériels et méthodes***

1. Objectifs de l'étude.....	35
2. Matériel végétales.....	35
3. Lieu de prélèvement.....	36
4. Protocole expérimental général.....	37
5. Etude phytochimiques.....	37
5.1. Détermination du taux d'humidité.....	38
5.2. Préparation des échantillons avant extraction.....	38
5.3. Extraction chimique par Soxhlet.....	38
5.4. Analyses physiques des huiles.....	39

5.4.1. Indice de réfraction .....	39
5.4.2. Densité .....	39
5.4.3. Teneur en phosphatides .....	40
5.4.4. La viscosité.....	40
5.5. Analyses chimiques des huiles.....	40
5.5.1. % d'acidité (%A).....	40
5.5.2. L'indice d'acide I <sub>A</sub> .....	41
5.5.3. L'indice de saponification I <sub>S</sub> .....	41
5.5.4. Indice d'iode.....	42
5.5.4. Pourcentage des insaponifiables.....	43
5.6. Analyses des acides gras des huiles par la CPG.....	44
5.7. Analyse des tocophérols des huiles par HPLC.....	45
5.8. Activité antioxydante des huiles par le DPPH° .....	45
6. Etude de l'activité biologique des huiles.....	46
6.1. Souches microbiennes.....	46
6.2. Milieux de cultures.....	46
6.3. Préparation des dilutions .....	47
6.4. Préparation de l'inoculum .....	47
6.4.1. Les bactéries.....	47
6.4.2. Les champignons.....	47
6.5. Tests de l'activité antimicrobienne des huiles.....	48
6.5.1. Méthode de diffusion en milieu liquide.....	48
6.4.2. Méthode de diffusion en milieu solide.....	49
7. Analyse statistique .....	50

## ***VI. Résultats et discussions***

1. Teneur en humidité des graines.....	51
2. Rendements des graines en huiles.....	52
3. Les propriétés physicochimiques des huiles.....	54
4. La composition en acide gras des huiles.....	58
5. La composition en tocophérols des huiles.....	63
6. Conclusion.....	65
7. Activité antioxydante des huiles.....	66
8. Conclusion.....	69
9. Activité antimicrobienne des huiles.....	70
9.1. Test de diffusion en milieu liquide.....	70
9.2. Test de diffusion en milieu solide.....	76
10. Analyse de corrélation.....	84
11. Conclusion.....	86
12. Aperçu économique sur les huiles les deux huiles d'acacia.....	87
Conclusion générale.....	89
Références bibliographiques.....	91
Annexes.....	103
Résumé	

# **Introduction générale**

## **Introduction générale**

Dans le monde, moins de 10% des espèces végétales ont été évaluées pour leurs activités biologiques et près de 2 500 000 espèces sont répertoriées. La nature reste donc la principale source d'agents biologiques. Aujourd'hui la flore africaine et Amazonienne font l'objet d'études intensives sur ces agents (Harvey, 2000).

Parmi cette flore si diversifiée, deux espèces d'arbres agroforestiers à savoir : *Acacia arabica* et *Acacia raddiana* sont considérés comme plantes à usages multiples. Ces deux espèces sont exploitées dans différents domaines (alimentaire, médicinale, pharmaceutique, cosmétique, énergétique, etc.). En plus, elles sont très recommandées par les praticiens traditionnels et les populations indigènes des zones arides dans le traitement de certaines maladies telles que la carie dentaire, les infections (ORL), respiratoires, conjonctivites, douleurs de poitrine, diarrhée et dysenterie (Muthana et Arora, 1980 ; Duke, 1981a et 1983a ; Batanouny, 1999).

Selon la littérature peu de recherches à travers le monde ont été réalisées sur le potentiel bioactif de ces deux espèces, mise à part quelques travaux sur l'activité antimicrobienne, des extraits organiques et aqueux des feuilles, des racines et des écorces de quelques espèces originaires d'Afrique (Soudan, Sénégal, Mali, Egypte, Afrique du sud) (Abd El Nabi *et al.*, 1992 ; Pinkard, 2003 ; Kaur *et al.*, 2005 ; Ncube *et al.*, 2012).

En ce qui concerne la phytochimie des graines et des gousses, quelques espèces d'origines différentes (Inde, Pakistan et Australie) ont fait l'objet de quelques études chimiques sur la composition de certains métabolites primaires tels que les glucides, les protéines et les lipides (Zaka *et al.*, 1986 ; Jamal *et al.*, 1987; Hosamani *et al.*, 2002) et les métabolites secondaires comme les polyphénols, les flavonoides, saponines etc. (Maity *et al.*, 1990 ; Abdelwaheb *et al.*, 1990 ; Malan, 1991; El-Mousallamy *et al.*, 1991 ; Abdelwaheb *et al.*, 1992; Seigler, 2003).

Toutefois, en Algérie, quelques études ont été entreprises sur les peuplements d'*Acacia* des zones désertiques (Sahara nord occidental) où la répartition géographique et la description morphologique ont été décrites par Quezel et Santa (1962) et Quezel et Simonneau en 1963. Entre autre, aucune étude phytochimique et notamment sur les huiles des graines n'a été mentionnée dans la littérature à l'exception du travail préliminaire que nous avons effectué en 2004, sur la composition des polysaccharides et des huiles extraites des gousses et des graines (Tissouras, 2004).

En effet, en Algérie les connaissances apportées sur les espèces forestières des zones arides et semi arides en particulier «*Acacia arabica* et *Acacia raddiana*» sont méconnues au

niveau de la phytochimie, la pharmacologie, la cosmétologie et même l'agroalimentaire. Cette biomasse forestière peut présenter un fort potentiel pour l'identification et le développement de nouveaux agents thérapeutiques, produits pharmaceutiques et ingrédients actifs en agroalimentaire ou en cosmétique.

Toutefois, les huiles de ces deux espèces désertiques et leurs compositions physicochimiques spécifiques présentent beaucoup d'intérêt comme source potentielle de nouvelles molécules naturelles bioactives. Dans ce contexte des recherches scientifiques dans divers domaines ont été développées pour l'identification et la quantification de leurs acides gras et de leurs composés antioxydants (Jamal *et al.*, 1987; Hosamani *et al.*, 2002 ; Kaur *et al.*, 2005).

Les propriétés naturelles des huiles de ces deux espèces produisent des agents de conservation et des produits phytopharmacologiques dont leurs avantages sont très prometteurs pour les différentes industries. Le recours à ces bioressources s'avère être un choix pertinent face au risque des produits chimiques ou synthétiques.

C'est dans ce contexte que le présent travail porte sur des idées et concepts à développer au sein d'une recherche appliquée menée pour la valorisation des huiles extraites des graines de deux espèces ligneuses des zones arides à savoir : *A. arabica* et *A. raddiana*.

Objectif général :

Le principal objectif de cette étude est l'évaluation des propriétés phytochimiques des huiles des graines des deux espèces désertiques (*A. arabica* et *A. raddiana*), ainsi que la mise en évidence de leur pouvoir antioxydant et leurs activités biologiques.

Objectifs spécifiques :

- Evaluation des rendements des graines en huiles extraites par différents solvants ;
- Caractérisation physicochimique des huiles ;
- Identification et quantification des acides gras par la CPG ;
- Détermination de la composition en tocophérols des huiles par HPLC;
- Evaluation du pouvoir antioxydant des huiles par le test DPPH° ;
- Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles par les techniques de diffusion en milieu liquide et en milieu solide ;
- Analyse de la variance ( $P \leq 0,005$ ) ANOVA des différentes données, suivi d'une analyse statistique de corrélation des activités biologiques.

Ces objectifs fixés pour ces huiles innovantes d'*A. arabica* et *A. raddiana* afin de les inclure dans l'inventaire des huiles des espèces forestières désertiques connues et pouvant concurrencer d'autres espèces.

## *Partie bibliographique*

# **Chapitre I**

## **Généralités sur**

*Acacia arabica et Acacia raddiana*

## I. Généralités sur l'*Acacia arabica* et l'*Acacia raddiana*

### 1. Aire de répartition du genre d'*Acacia*

En 1939, Bouhol a donné un chiffre de 500 espèces du genre acacia réparties dans les régions tropicales et subtropicales (Fig.1) et selon Perrot et Boudy (1950), 400 à 600 espèces sont respectivement annoncées, par contre Guinet et Vassal (1971), en déclarent 1200.

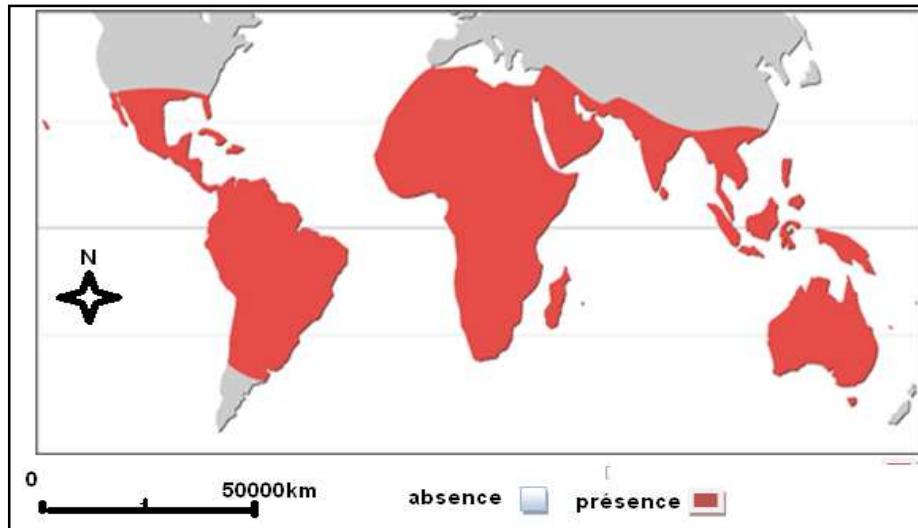


Fig. 1 : Aire de répartition géographique du genre *Acacia* dans le monde (Carter, 1994).

Cependant, il faut signaler que le genre *Acacia* est un arbre autochtone des régions arides et semi-arides. Ceci justifie sa localisation en Amérique du Sud, en Australie, en Asie et Afrique (Mugnier, 2000; Miller et al., 2003). Sur ce dernier continent, l'espèce se rencontre dans les zones sahariennes et subsahariennes, ainsi que dans la zone tropicale.

En Algérie, les espèces d'*Acacia* constituent ce que Maire nomme en 1940 la savane désertique épineuse. L'*Acacia arabica* se localise dans les grands oueds, oasis, Hoggar, Tassili n'Ajjer et dans le Sahara central (Quezel et Santa, 1962) (fig. 2). L'*Acacia raddiana* s'individualise au Sahara Nord occidental de l'Algérie, depuis l'Ougorta Zeghmra, Tabelbela, et Taghit jusqu'à Tindouf où elle colonise deux types d'habitats : d'une part les dayas développées au sein de la Hamada du Guir et de Tindouf et d'autre part dans les lits des grands oueds (fig.2) (Guinet et Sauvage, 1954; Quezel, 1965).



Fig. 2: Répartition géographique de l'*A. arabica* et l'*A. raddiana* en Algérie (Tissouras, 2004).

## 2. Systématique des *A. arabica* et *A. raddiana*

Le nom *Acacia* vient du mot «akakia» qui désigne en grec et de «akis», qui signifie épine pointe. D'après Mugnier (2000) et Seigler (2003), ce genre comprend plus de 1350 espèces d'arbres et arbustes persistantes. Selon Perrot (1923), Maire (1933), Boulhol (1939), Boudy (1950), Fournier (1952), Guinet et Vassal (1971) et Mugnier (2000), les deux espèces qui ont fait l'objet de cette étude font partie du taxon suivant (tab. 1):

Tableau 1 : Classification des deux espèces d'acacia.

Règne	Végétal
Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous- Classe	Rosidées
Ordre	Fabales
Famille	Fabacées
Genre	<i>Acacia</i>
Espèces	<i>arabica</i>
	<i>raddiana</i>

### 3. Description morphologique

#### 3.1. *Acacia arabica*

Le nom scientifique de l'*A. arabica* est *A. nilotica*, elle possède également des synonymes qui sont *A. scorpioides* (L) W, *arabica* de *mimosa*, *nilotica* de *mimosa*, *scorpioides* de *mimosa* (Willd, 1905 in Jansen et *al.*, 2005). Selon, Carter (1994), les noms vernaculaires de l'espèce diffèrent d'une région à une autre (babla, gommier rouge, neb neb, babul acacia). En Algérie, elle est appelée dbegh.

L'*A. arabica* est un arbre ou arbuste qui représente une hauteur de 10 à 12 m au maximum, à écorce brunâtre ou grisâtre rugueuse exsudant une gomme rougeâtre (Pl. 1, A, B et C).

L'arbre porte des tiges et des rameaux chargés d'épines fines qui se retrouvent à l'aisselle des feuilles. Ces dernières sont composées bipennées de 4 à 8 cm de longueur avec 3 à 6 paires de pinnules. Les fleurs sont de couleur jaune d'or en capitules globuleux de 1,5 à 2 cm de diamètre. Elles sont groupées sur des pédoncules courts assemblés en grappes axillaires ou terminale (Pl. 1, D), elles sont hermaphrodites, avec 4 à 5 pétales et 4 à 5 sépales et un nombre indéfini d'étamines. L'ovaire est formé d'un seul carpelle qui se transforme en un fruit appelé gousse (Pl. 1, E). Les gousses sont plates ou cylindriques, droites ou courbes, plus ou moins étranglées, glabres ou pubescentes, de 10 à 15 cm de longueur et de 1,5 à 2 cm de largeur (Carter, 1994). Les graines brunes, plus ou moins plates et rondes, atteignant 9 mm de diamètre (Carter, 1994). La racine est de type pivotant avec des racines secondaires susceptibles de puiser l'eau en profondeur et de fixer les sols.



Pl. 1 : Arbre d'*A. arabica* (Tissouras, 2010).

A : Jeune arbre,

B : Ecorce rugueuse,

C : Gomme rougeâtre,

D : Feuilles et fleurs,

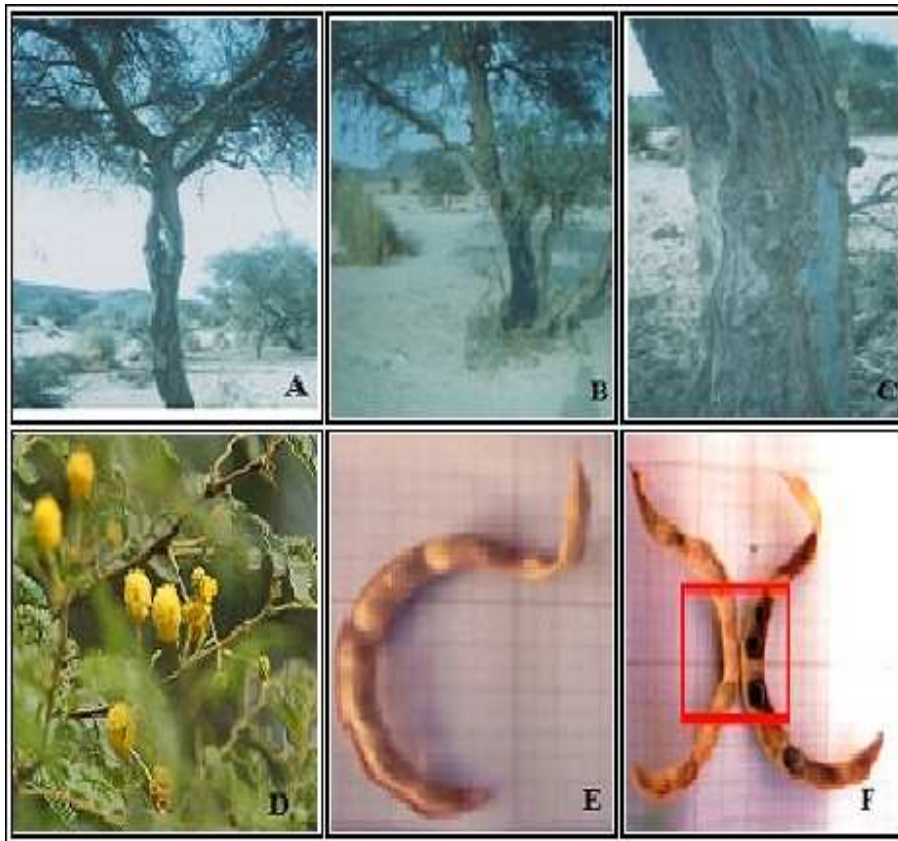
E : Gousses,

F : Graines

### 3.2. *Acacia raddiana*

Le nom scientifique de cette espèce est *A. tortilis* avec le synonyme *A. raddiana* Savi, (Bernan, 1983). Son nom vernaculaire en Algérie est Talha.

L'*A. raddiana* est un arbre dont la hauteur varie de 10 à 12 m, ramifié seulement à 3 ou 4 m du sol, une cime étalée en parasol et une écorce rugueuse de couleur grisâtre ou noirâtre (Pl. 2, A, B et C). Les feuilles sont composées bipennées et alternes, formées d'un rachis long de 4 à 6 cm portant 3 à 5 paires de pinnules. Elles sont portées par des rameaux épineux droits de couleur blanche (Pl. 2, D). Les fleurs sont de couleur jaune pâle ou blanchâtre en capitules denses de 1 à 2 cm de diamètre (Pl. 2, D). Le fruit présente des gousses contournées en spirale de 1 à 30 tours (tortillées) (Pl. 2, E). Leur longueur varie de 10 à 15 cm, vertes au stade juvénile et brun clair à maturité. Elles contiennent jusqu'à 10 graines brunes (Pl. 2, F), ovales avec deux cotés larges et une concavité ovale foncée (Von Maydell 1986).



Pl. 2 : Arbre d'*A. raddiana*  
(Tissouras, 2004).

A : ramification à 3 m du sol,

B : cime sous forme de parasol,

C : tronc rugueux noirâtre  
 $\text{Ø} = 85 \text{ cm}$ ,

D : Feuilles composées en petites folioles et fleurs pédoncule court,

E : Gousse de longueur 7 à 8 cm et de largeur de 0,5 à 1 cm,

F : Graines dans la gousse.

Profond et étendu, le système racinaire se développe dans les sols squelettiques avec une racine pivotante et des racines latérales devenant compactes et massives avec l'âge.

## 4. Variabilité génétique

4.1. *Acacia arabica*

Il s'agit d'un complexe polyploïde au sein duquel on distingue neuf sous-espèces (tab.2) dont les aires géographiques sont plus ou moins distinctes (Brenan, 1983 ; Fagg, 1992).

Tableau 2 : La variabilité génétique de l'A. *arabica* (Brenan, 1983 ; Fagg, 1992).

Sous-espèce	2n	Habitat	Répartition
<i>Tomentosa</i>	16x = 208	Berges des cours d'eau	Afrique de l'Ouest, du Sénégal au Nigéria et au Niger, Soudan et Ethiopie
<i>Nilotica</i>	8x = 104	Berges des cours d'eau	Nigéria et Cameroun, vers l'est, en direction de l'Egypte et du Soudan
<i>Adstringens</i>	4x = 52	Savane sèche	Du Sénégal au Cameroun, vers l'est, en direction du Soudan et de l'Ethiopie
<i>Subalata</i>	4x = 52	Savane sèche	Afrique de l'Est, du Soudan et de l'Ethiopie en direction du sud, vers la Tanzanie
<i>Leiocarpa</i>	4x = 52	Savane sèche	Afrique de l'Est, de l'Ethiopie à la Tanzanie
<i>Kraussiana</i>	4x = 52	Formations herbacées sèches	Afrique australe, de la Tanzanie à l'Afrique du Sud
<i>Indica</i>	4x = 52	Formations arbustives sèches; tolère les sols alcalins et salés	Yémen, Oman, Pakistan, Inde, Myanmar
<i>cupressiformis</i>	4x = 52	Formations arbustives sèches; tolère les sols alcalins et salés	Pakistan
<i>hemispherica</i>	4x = 52	Lits secs de cours d'eau	Pakistan

4.2. *Acacia raddiana*

Espèce polyploïde, reconnue avec quatre sous-espèces, plus ou moins localisées, dans les régions arides et semi-arides d'Afrique et du Proche-Orient (tab.3).

Tableau 3 : La variabilité génétique de l'A. *raddiana* (Brenan, 1983 ; Fagg, 1991).

Sous-espèces	2n	Habitat	Répartition
<i>tortilis</i>	4x = 52	Steppes boisées décidues et brousse.	Egypte: vers le sud, en direction de la Somalie, et vers l'est en direction de l'Arabie.
<i>spirocarpa</i>	4x = 52	Savanes/forêts sèches décidues et brousse, steppes boisées, broussailles semi-désertiques; de 520 à 1 500 m.	Soudan et Ethiopie, en direction du sud vers le Zimbabwe, le Botswana et la Namibie.
<i>heteracantha</i>	4x = 52	Savanes/forêts sèches steppes boisées et brousse, souvent au bord de cours d'eau; de 240 à 1 100 m	Mozambique, Zimbabwe, Botswana, Angola du Sud, Namibie, Afrique du Sud, Swaziland.
<i>raddiana</i>	8x = 104	Brousse semi-désertique et maquis, terres boisées décidues	Sénégal, vers l'Est en direction du Mali, du Soudan, de la Somalie et du Kenya, et s'étendant en Egypte en direction d'Israël, de la Jordanie et de l'Arabie saoudite.

## 5. Régénération

Pionnières, les deux espèces se régénèrent bien par rejets de souche ou par graines. Pour obtenir une bonne germination en pépinière, les graines sont préalablement trempées, soit quelques instants dans l'acide sulfurique, soit plusieurs heures dans de l'eau chaude ou froide (Fig. 3) (Tissouras, 2004).

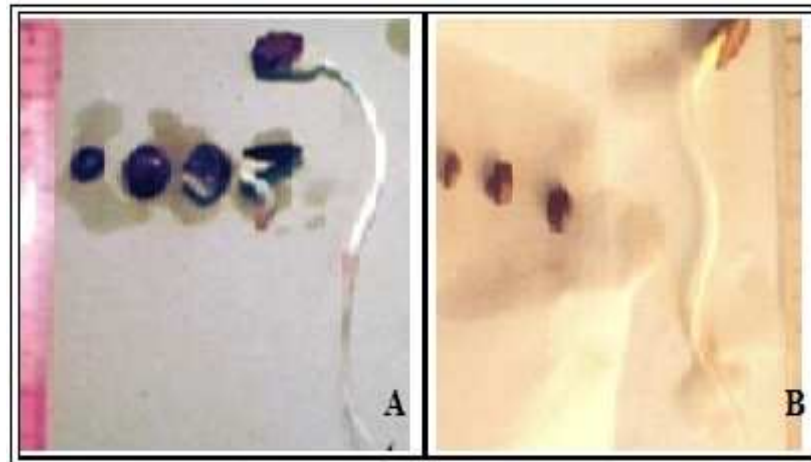


Fig. 3 : Stades de la germination (Tissouras, 2004).

A: *A. Arabica*,

B: *A. raddiana*

## 6. Intérêts

Les acacias présentent des intérêts multiples dans différents domaines.

### 6.1. Intérêt écologique et ornemental

Les deux espèces d'*Acacia* jouent un rôle écologique et ornemental important dans les régions arides et semi-arides. Elles peuvent résister aux conditions extrêmes de xéricité, comme elles peuvent se développer sur des sols squelettiques. Les deux espèces sont des légumineuses, qualifiées à fixer l'azote atmosphérique par la voie biologique grâce à la présence des nodosités au niveau de leurs racines. Cette fixation représente des intérêts bénéfiques par rapport à l'utilisation artificielle des engrais azotés (Dutta, Ramank et Agrwal, 2002; Toledo et *al.*, 2003 et Pinkard, 2003). Cette symbiose effectuée entre les racines et les bactéries fixatrices d'azote utilise l'énergie de la photosynthèse et rend le sol plus riche en N<sub>2</sub> et plus fertile (Hudua, Wang, Zhag et Qui, 2002; Sasaki et *al.*, 2003). Les deux espèces offrent de meilleures qualités et possibilités qui les qualifient comme un outil de premier choix dans les projets de reboisement et dans la lutte contre la désertification comme le montre l'exemple de la zone de Tiner-Kouk dans la wilaya d'Adrar au sud Algérien.

## **6.2. Intérêt agroalimentaire**

Les graines d'*A. arabica* grillées sont utilisées comme un condiment, au Niger. Les gousses d'*A. raddiana* récoltées et pilées sont consommées en mélange avec du lait caillé (Bernus, 1981). L'exploitation de la gomme arabique des *Acacias* a lieu pendant la saison sèche, elle s'exsude naturellement et se forme après l'écorçage des branches, où l'incision transversale de l'écorce. Cette gomme est inodore, insipide, adhérente à la langue, de couleur blanchâtre à jaunâtre ou faiblement ambrées.

Le composant majoritaire de la gomme arabique est un polysaccharide acide qui existe à l'état natif sous forme de sel avec le calcium, et dans une moindre mesure de magnésium et de potassium. Le polymère varie selon l'arbre, son origine géographique, et l'époque de la récolte (Whistler et Bemillet, 1993).

Dans l'industrie agroalimentaire, la gomme arabique est utilisée comme un stabilisant et un émulsionnant totalement atoxique (E<sub>414</sub>) dans la fabrication des boissons non alcoolisées, confiserie (bombons, mâches etc.) (Whistler et Bemillet, 1993).

Les tanins de l'*A. arabica* et *raddiana* et d'autres *Acacias* voisines sont largement utilisées, comme des colorants alimentaires (Bhattacharya et al., 2002; Moonga, 2003; Mbuna, Julius et Gaspar, 2003).

## **6.3. Intérêt pharmaceutique et cosmétique**

La gomme arabique a fait l'objet d'un commerce depuis au moins quatre mille ans chez les hiéroglyphes égyptiens. Cette gomme émolliente entre dans la composition des préparations classiques telles que les pâtes officinales, elle est soluble dans l'eau et forme des solutions visqueuses. La viscosité de ses solutions et leur bonne stabilité en milieu acide en font un auxiliaire intéressant en pharmacognosie : stabilisant des suspensions, émulsionnant, agent d'encapsulation d'arômes par nébulisation, additif pour la préparation de formes solides destinées à la voie orale (Jensen et al., 1993; Menzies, Osman, Malik et Baldwin, 1996; Moonga, 2003; Biswas et Phillips, 2003).

Des anthocyanosides ont été isolés des acacias et purifiés, le cyanide et le dérivé delphinidine, ces pigments sont plus utilisés en pharmacognosie (Asenstorfer et al., 2003).

Les tanins et les polyphénols des *Acacias* ont un effet inhibiteur sur le développement des bactéries *Echerichia coli* (Smith et al., 2003). Ainsi deux types de vaccins nommés le D et G ont été isolés à partir des graines germés. Ces vaccins sont des dérivés des saponosides, ils ont été testés *in-vitro* sur les tumeurs des cellules T humaines (Jayatilake et al., 2003).

Dans le domaine cosmétique, les tanins, les flavonoïdes ainsi que les huiles essentielles sont très utilisés dans la fabrication des produits cosmétiques, les crèmes, les lotions, les gels, les teintures et les parfums (Southwell, Russell et Smith, 2003 et Takeda, 2003).

#### **6.4. Intérêt fourrager**

La végétation ligneuse joue un rôle important dans les zones arides, elle contribue à une économie pastorale en fournissant du fourrage. Généralement, cette végétation est la moins chère et la majorité des bêtes s'en nourrit (Celles et Manier, 1980; Barakouda et *al.*, 1985).

Le rôle des *A. arabica*, *A. raddiana* et *A. seyal* est important dans l'alimentation des animaux. En saison sèche lorsqu'il n'y a pas de végétation des poacées et des plantes herbacées, seuls les arbres et les arbustes peuvent fournir des aliments nécessaires au bétail, c'est un usage traditionnel de la végétation ligneuse dans les régions arides. Alors que, si cette végétation n'existait pas, l'élevage pourrait être gravement affecté, car la population n'a pas les moyens de se procurer d'autre type d'aliments pour leur bétail. La création des ressources fourragères pour la situation de pénurie est donc une activité vitale pour maintenir la production animale dans les régions arides et semi-arides (Barakouda et *al.*, 1985).

Les précipitations dans les zones arides sont variables au cours de l'année, parfois il existe des variations considérables et d'autres fois des périodes prolongées de sécheresse. Dans ce cas les arbres et les arbustes prennent une plus grande importance en tant que réserve de fourrage d'urgence pour le bétail. La végétation ligneuse est plus apte de survivre à des périodes prolongées de sécheresse que les plantes annuelles.

#### **7. Autres usages traditionnels**

Selon une enquête menée sur le terrain dans les régions d'Adrar et de Tamanrasset auprès de certains connaisseurs herboristes et nomades et selon aussi Arbonnier (2002), les principaux usages des deux espèces d'acacia sont :

##### **Usages médicaux recueillis avec des propriétés chimiques non vérifiées exemples :**

- **Racines :** Carie dentaire, infection (bouche, gorge), toux, inflammation diverses, conjonctivite, douleurs de poitrine, scorbut, blennorragie, diarrhée et dysenterie, hémorragie ;
- **Ecorce :** hémorragie ;
- **Ecorce+gommes+fruits** (partie ligneuse des gousses) : dysenterie ;
- **Rameaux :** lèpre ;
- **Feuilles :** douleurs de poitrine et pneumonie, diarrhée et dysenterie ;
- **Grains :** hémorroïdes, gingivite nombreux usages magico-religieux.

### **Usages alimentaire et culinaire**

- Les jeunes pousses sont préparées en légume ;
- **Ecorce** (bouillie) : succédané du café ;
- **Graines** (grillées) : condiment souvent commercialisé ;
- **Gomme** : parfois utilisée en confiserie.

### **Usages agricole, pastoraux et vétérinaire**

- **Fruits** : consommés par les chèvres, les moutons, les bovins, et utilisées pour soigner les plaies et la conjonctivite chez les animaux domestiques ;
- **Graines** : données en complément aux bovins.

### **Usages domestique, artisanaux et industriels**

- **Bois** : Dur et lourd, brun rouge, difficile à scier utilisé pour la construction, traverses de chemin de fer ;
- **Branches** : Manches d'outils et instruments aratoires et clôtures ;
- **Ecorce et fruit** (gousses vertes et égrenées) : Sont largement commercialisés car très riches en tanins d'excellente qualité pour tanner les cuirs. Les écorces sont utilisées pour fabriquer les liens et cordages;
- **Gomme** : Leur saveur est de moins bonne qualité que celle de l'A. *sénégal* utilisée comme colles fixatrice.

## **8. Conclusion**

Il ressort de cet aperçu bibliographique que les deux espèces d'acacia jouent un rôle socio-économique important dans les zones arides et semi arides en particulier pour les populations rurales «surtout pour les nomades ». Ces arbres sont des légumineuses fixatrices d'azote d'intérêt écologique important. Les écorces, les gousses et les graines d'A. *arabica* et d'A. *raddiana* sont très utilisées dans la médecine traditionnelle contre certaines maladies courantes. Ces deux plantes riches en tannin, en gomme, en saponines et certaines substances actives sont également exploitées par les diverses industries agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques dans différents pays.

Cependant, cette bioressource si riche en matières premières est complètement abandonnée et inexploitée en Algérie. C'est pour cela le choix du sujet a porté sur ces deux espèces d'acacia afin de mettre en évidence leurs qualités photochimiques.

# **Chapitre II**

## **Extraction solide liquide**

## **II. Extraction solide-liquide**

### **1. Définition de l'extraction solide-liquide**

Selon Poirot (2007), l'extraction solide-liquide est une opération qui permet d'extraire et de séparer certaines substances par immersion (liquide) ou par percolation (solide) à partir d'un solide. C'est une opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide qui contient la matière à extraire et une phase liquide qui est le solvant d'extraction.

Cependant, si l'échantillon se trouve dans un état liquide, il doit être transféré dans un autre liquide, il s'agit d'une extraction liquide-liquide. Si l'échantillon se trouve dans un état liquide est transféré dans un milieu solide, il s'agit d'une extraction liquide-solide. Le transfert de l'échantillon d'un milieu solide vers un autre milieu solide est une extraction solide-solide (Fontenean et Klusiewicz, 2008).

### **2. Principe**

L'extraction par solvant est une technique qui consiste à transférer une espèce chimique d'une première phase, liquide ou solide vers une deuxième phase généralement liquide (Bagard et Sinbmon, 2008).

L'extraction des espèces solides par un solvant est une technique couramment utilisée soit :

- par simple mélange d'un solide et d'un liquide (souvent en plongeant le flacon dans un bain à ultrason), suivi d'une filtration ou d'une centrifugation,
- en utilisant un appareil d'extraction en continue, comme le Soxhlet. Cette technique, décrite plus loin, est particulièrement appropriée aux analyses quantitatives.

Néanmoins, les problèmes liés à l'usage de solvants font que d'autres types de prétraitement doivent être considérés, tels que l'extraction par un fluide supercritique qui est une méthode de remplacement qui prend de l'importance particulièrement lorsque seule une analyse qualitative est requise (Toullec et Mottet, 2006).

L'extraction de l'huile des graines d'oléagineux par les solvants non-polaires est un procédé d'extraction solide-liquide. Le transfert de l'huile du solide vers le liquide peut se diviser en trois étapes (Berk, 1993) :

- Diffusion du solvant dans le solide ;
- Dissolution des gouttelettes d'huile dans le solvant ;
- Diffusion de l'huile des particules solides vers le liquide surnageant.

### 3. Mécanismes de l'extraction

Les mécanismes d'extraction et leurs importances relatives varient largement selon la nature de produit traité.

#### 3.1. Phase initiale

##### 3.1.1. Absorption de solvant dans la phase solide

Un gonflement des particules est observé, témoignant d'une sorption du solvant dans la phase solide. Cette sorption est provoquée par les forces osmotiques, les forces de capillarité et de solvation des ions des cellules (Mafart et Bellard, 2004).

##### 3.1.2. Lessivage

Une certaine proportion du soluté contenu dans les cellules blessées durant la découpe ou la mouture du produit est directement extraite par le lessivage. Cette proportion peut varier, entre 10% et 20% suivant la nature de produit (Dosse, 1978 *in* Mafart et Bellard, 2004).

##### 3.1.3. Dissolution des composés solubles

A cette dissolution des composés déjà solubles, s'ajoute très souvent une solubilisation d'une fonction naturellement insoluble par hydrolyse (Mafart et Bellard, 2004).

##### 3.1.4. Courants de solution

Le solvant chaud dénature les cellules par coagulation des lipoprotéines en rendant la perméabilité des deux parois cellulaires de moins en moins sélective. Par réchauffement, le volume de la phase initiale augmente en donnant lieu à des surpressions qui entraînent des courants de solutions centrifuges à travers les pores (Mafart et Bellard, 2004).

#### 3.2. Périodes de diffusion

La dénaturation cellulaire par le solvant rendant les membranes perméables et le processus de diffusion peut avoir lieu, celui-ci se déroule en deux phases (Mafart et Bellard, 2004) :

- Une phase interne à l'intérieur de la phase solide ;
- Une phase externe à travers des couches limites entourant les particules.

Dans la mesure où la suspension est agitée le soluté quitte la surface externe de la couche. Généralement, le transfert de masse peut s'écrire sous la formule suivante:

- $\dot{m}$  : débit massique de transfert du soluté ;
- $A$  : aire d'échange de la phase solide ;
- $C$  : concentration de la phase solide en soluté ;
- $C'$  : concentration de la phase liquide en soluté ;
- $K$  : coefficient globale de transfert de matière.

$$\dot{m} = \frac{dm}{dt} = -KA(C-C')$$

### 3.3. Transfert à travers les cellules

Selon Poirot (2007), dans la matière végétale, les solutés sont très souvent localisés à l'intérieur des cellules. Le transfert à travers une membrane est un phénomène courant en extraction solide-liquide. Par définition, c'est le passage d'un soluté à travers une membrane par diffusion d'une solution concentrée vers une solution diluée. En même temps, une diffusion du solvant en sens opposé est observée.

Dans le cas d'une solution diluée, l'intégration de la loi de Fick sous la condition qu'il n'y a pas de variation de volume de chaque côté de la membrane et que le coefficient de transfert reste constant lors de la diffusion, d'où l'équation de transfert suivante (Poirot, 2007):

$$Q_S = K_0 a_m \delta$$

- $Q_S$  : Le débit massique de soluté traversant la membrane ;
- $K_0$  : Le coefficient global de transfert de matière ;
- $a_m$  : La surface de la membrane ;
- $\delta_{x_{m1}-x_{m2}} = x_{m1} - x_{m2} / \ln(x_{m1}/x_{m2})$  : La différence logarithmique de la concentration des deux côtés de la membrane.

## 4. Facteurs influençant les performances de l'extraction

### 4.1. Nature de solvant

Selon Brule et al, (2007), le solvant peut être de nature aqueuse ou organique. Dans le premier cas, la vitesse de transfert par diffusion est déterminée par la loi de Fick qui dépend donc de la surface de l'interface liquide-solide, du coefficient de diffusion et du gradient de concentration des constituants à extraire à l'interface. Dans le second cas, la vitesse d'extraction dépend du coefficient de partage des constituants entre la phase aqueuse du produit et la phase organique.

Le choix du solvant se fait en fonction de la nature de la matière première, des composés à extraire, des utilisations de l'extrait et du coproduit résiduel.

### 4.2. Les critères de choix du solvant

Dans l'industrie alimentaire ou pharmaceutique, le choix du solvant est très important. Les normes et les règles d'hygiène et de sécurité sont très strictes. Il ne doit pas en rester dans les produits finaux où les traces doivent être suffisamment insignifiantes pour être inoffensives. De manière pratique, le choix du solvant se fait selon plusieurs critères (Poirot, 2007) :

- La solubilité des composants spécifiques dans le solvant ;
- La régénération du solvant si celui-ci doit être réemployé. Il ne doit pas former d'azéotrope avec un des composés qu'il solubilise et sa chaleur latente doit être faible ;

- La tension inter faciale et la viscosité doivent permettre au solvant de mouiller correctement la matrice solide ;
- Idéalement, il doit être non toxique, stable, non réactif, non inflammable, inoffensif pour l'environnement et peu couteux.

### **4.3. Taille et forme des particules**

D'après Mafart et Bellard (2004), il est clair qu'on a un double intérêt à travailler sur des particules fines. Les échanges osmotiques seront d'autant plus importants que la surface totale développée par les particules sera plus élevée et que le rayon des particules sera plus faible.

Puisque le facteur limitant la vitesse de l'opération d'extraction est la diffusion, on peut gagner beaucoup en réduisant la taille des particules solides. Cependant, la matière première ne peut pas être réduite en poudre fine, car l'écoulement du solvant autour des particules serait gêné et la micella du solide extrait deviendrait très difficile (Berk, 1993).

### **4.4. Température**

Il est difficile de cerner de façon simple l'influence de la température sur l'extraction, car ce facteur agit de façon complexe sur tous les effets concernant l'extraction.

#### **4.4.1. Extraction sans hydrolyses enzymatiques**

Dans ce cas les gammes élevées de température sont favorables au rendement de l'extraction et ceci pour quatre raisons principales :

- La chaleur facilite l'extraction en perméabilisant les cellules par dénaturation et augmente la solubilité des matières à extraire ;
- La chaleur augmente les coefficients de diffusion ;
- La chaleur diminue la viscosité de l'extraction, ce qui facilite non seulement le passage à travers la masse de substrat solide, mais aussi les opérations ultérieures de séparation (sédimentation ou filtration).

Une température excessive en revanche, agit en sens contraire par dénaturation des produits à extraire. Le souci de sélectivité peut être un facteur limitant à la température choisie, c'est pour ça on ne dépasse pas en huilerie la température de 50 à 55°C lors de mucilage.

#### **4.4.2. Extraction avec des hydrolyses enzymatiques**

Selon Mafart et Bellard (2004), on se range aux températures optimales d'activation des enzymes impliquées, ensuite cette température est modifiée après hydrolyse enzymatique pour l'adapter aux étapes suivantes.

## 5. Les opérations de prétraitement

Toute opération d'extraction solide-liquide est précédée d'une ou plusieurs opérations de préparation ou de prétraitement. Les opérations extractives peuvent, suivant les cas, se dérouler soit sur du matériel végétal frais, soit sur des plantes sèches (Ben Amor, 2008).

### 5.1. Le séchage

La plante fraîche renferme une importante proportion d'eau, celle-ci varie suivant la nature des organes considérés (plante entière, tige, fleurs, racines, graines, etc.). De plus, la plante comme tout organisme vivant contient de nombreuses enzymes. Ces enzymes, à la mort de la plante et s'ils sont maintenus en milieu aqueux, vont entraîner de nombreuses réactions de dégradation, qui ne seront plus compensées par des synthèses au sein de la cellule végétale. Pour les stopper, deux grands principes peuvent être utilisés :

- **L'inhibition** : L'inhibition enzymatique peut être obtenue en diminuant la teneur en eau de la plante, on peut obtenir ce résultat par différents procédés (dessiccation à l'air libre et au soleil ; dessiccation à l'ombre et sous abri ; dessiccation par rayons infrarouges ; dessiccation à l'étuve et sous vide ; lyophilisation ; dessiccation par trituration avec des sels neutres).
- **L'inactivation** : La dénaturation totale des enzymes de la plante a pour but de stabiliser sa composition chimique et d'éviter ainsi la destruction par différentes réactions enzymatiques. Les différents procédés utilisés sont (stabilisation par les courants de haute fréquence ; stabilisation par l'alcool bouillant ; stabilisation par la chaleur sèche ; stabilisation par les rayons ultraviolets).

### 5.2. Le broyage

Le traitement des échantillons solides nécessite des opérations préliminaires dont le broyage qui doit être réalisé à faible température +4°C. En effet, pour des échantillons biologiques solides (tissus), il est nécessaire de respecter l'intégralité des constituants. Le broyage des échantillons peut être réalisé au mortier, au broyeur à lame tournante ou au broyeur de Potter pour les échantillons fragiles (tissus) (Brisst et *al.*, 2005).

## 6. Les méthodes d'extraction classique

Les techniques classiques pour l'extraction par solvants de molécules actives à partir des matrices végétales sont basées sur le choix du solvant couplé à la température et/ou à l'agitation. Les techniques classiques existantes permettant d'extraire ces principes actifs incluent : l'hydro-distillation, l'infusion, la macération et la technique Soxhlet. Cette dernière, qui a été employé

pendant longtemps, est une technique standard est la référence principale pour évaluer la performance d'autres méthodes d'extraction solide-liquide (Ben Amor, 2008).

L'extraction par Soxhlet est une technique générale et bien établie, et qui dépasse en performance les autres techniques classiques d'extraction, excepté dans le cas de l'extraction des composés thermolabiles.

Comme le montre la figure 4, la matière végétale est placée dans une cartouche dans un système Soxhlet rempli de solvant frais évaporé à partir d'un ballon à distiller. Quand le liquide atteint le niveau de débordement, un siphon aspire la solution de la cartouche et la décharge de nouveau dans le ballon à distiller, portant ainsi les corps dissous extraits dans le liquide. Dans le ballon, le corps dissous (soluté) est séparé du solvant par distillation. Le soluté reste dans le ballon et le solvant passe de nouveau dans le lit de solide. L'opération est répétée jusqu'à ce que l'extraction complète soit réalisée.

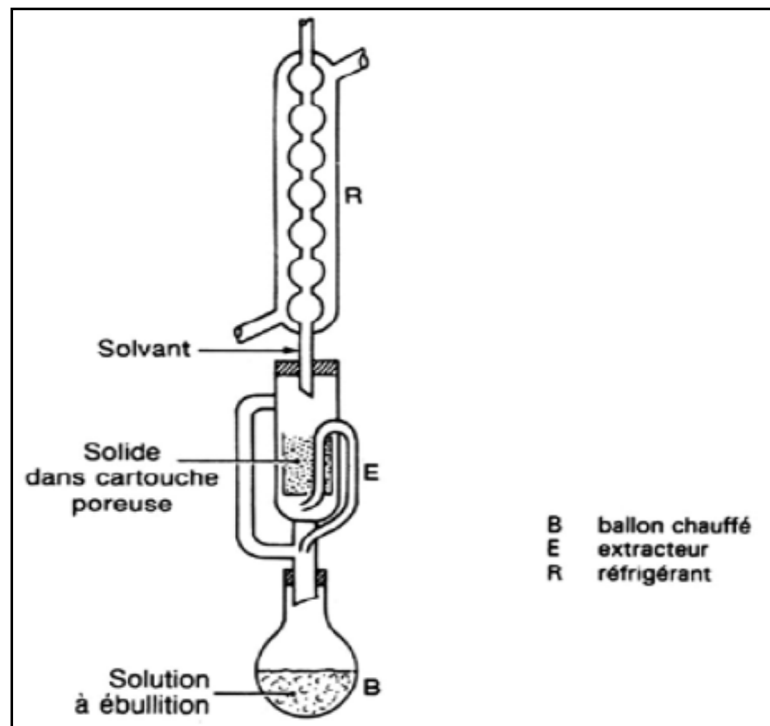


Fig. 4 : Extracteur Soxhlet (Techniques de l'ingénieur, n° J2782).

### 6.1. Les avantages de l'extraction par Soxhlet

La méthode de Soxhlet est très simple et présente les avantages suivant :

- Le déplacement de l'équilibre de transfert en mettant à plusieurs reprises le solvant en contact avec la matrice solide ;
- Le maintien d'une température relativement élevée d'extraction avec la chaleur du ballon à distiller ;
- Le temps d'extraction est court par rapport à d'autres techniques;

- Aucune nécessité de filtration après l'extraction.

### **6.2. Les inconvénients de l'extraction par Soxhlet**

Cependant, cette méthode présente non seulement des avantages mais aussi des inconvénients :

- Une grande quantité de solvant est nécessaire ;
- La grande quantité de solvant utilisée exige une étape d'évaporation /concentration ;
- La possibilité de dégradation thermique des composés cible ne peut pas être ignorée vu que l'extraction s'opère habituellement au point d'ébullition du solvant.

### **7. Conclusion**

Cet aperçu bibliographique a pour objectif de définir solide-liquide et voir quels sont les facteurs qui peuvent influencer l'extraction.

Toutefois, le présent travail est basé sur ce type d'extraction solide-liquide, où on a essayé de présenter brièvement les différentes techniques classiques qui existent dont on a expliqué en détail la technique d'extraction par Soxhlet.

Pour extraire les huiles des graines d'*A. arabica* et d'*A. raddiana*, on a choisi cette méthode vu sa simplicité et ses avantages. Cette technique est bien recommandée pour les extractions des huiles, elle permet d'avoir des meilleurs rendements.

# **Chapitre III**

## **Activité antioxydante**

### III. Activité antioxydante

#### 1. Définition de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ( $\text{OH}^\bullet$ ) et superoxydes ( $\text{O}_2^\bullet$ ) (Rice-Evans *et al.*, 1995 ; Bartosz, 2003).

#### 2. Les radicaux libres

Selon Constatin (2008), les radicaux libres sont définis comme tout atome, groupe d'atome ou molécules possédant un électron non apparié (célibataire) sur leur orbitale. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives cherchant dans leur environnement un électron pour s'apparier (c'est-à-dire pour former une liaison chimique) (Jadot, 1994).

Cependant, ils doivent impérativement réagir avec un autre radical pour se stabiliser avec un nombre pair d'électrons. Dans les formules chimiques, on représente les radicaux libres avec un point placé en haut à droite en exposant pour symboliser leur électron célibataire en réagissant avec un autre radical ou une autre molécule (Borel, 1997).

Le terme de radical libre renvoie à n'importe quelle espèce capable d'une existence indépendante contenant un ou plusieurs électrons non appariés. Les ERO désignent à la fois des espèces radicalaires de l'oxygène ( $\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^\bullet$ ) et des espèces non radicalaires ( $\text{O}_2^{2-}$ ,  $^1\text{O}_2$ ) (Fig. 5) (Bertrand, 2008).

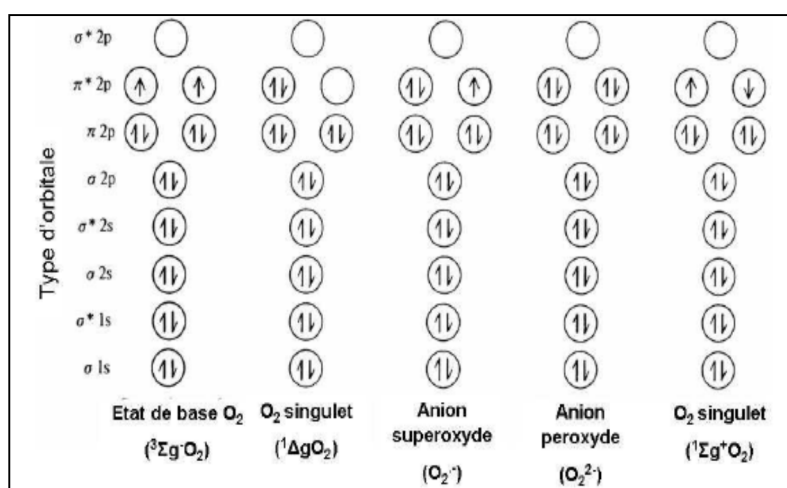


Fig. 5 : Structure électronique de la molécule de dioxygène et de quelques dérivés (Halliwell, 2006).

### 3. Réactivité chimique des acides gras insaturés

Les acides gras insaturés en hydrogène possèdent une ou plusieurs doubles liaisons tels que :

- L'acide oléique C<sub>18</sub> possédant une double liaison ;
- L'acide linoléique C<sub>18</sub> présente deux doubles liaisons ;
- L'acide linoléique C<sub>18</sub> possédant trois doubles liaisons ;
- L'acide arachidonique C<sub>20</sub> possédant quatre doubles liaisons.

L'existence des doubles liaisons est à l'origine de la réactivité chimique des acides gras insaturés (Hamon-Lorleac'H, 2008), à savoir :

- L'hydrogénation (addition de H<sub>2</sub> ou niveau de la double liaison) : son intérêt pratique est de durcir les huiles ;
- L'oxydation par l'oxygène atmosphérique, qui est à l'origine du rancissement des huiles qui se traduit par un goût et une odeur particuliers. Plus le nombre de doubles liaisons est élevé plus l'oxydation est rapide.

### 4. Oxydation des lipides

Les réactions de l'oxydation des lipides sont dues principalement à l'action de l'oxygène qui est un facteur de détérioration des corps gras. Elle entraîne la formation de composés volatils d'odeur désagréable (Fredot, 2007; Alis et *al.*, 2008). Ce processus de dégradation est lié à des transformations chimiques impliquant l'oxygène de l'air qui oxyde les lipides (auto-oxydation, peroxydation) (Lehn, 1997).

Les principaux substrats de l'oxydation sont les acides gras non saturés. Ils s'oxydent en général plus vite à l'état libre que lorsqu'ils font partie de molécules de triacylglycérols ou de phospholipides (Alis et *al.*, 2008).

#### 4.1. Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides

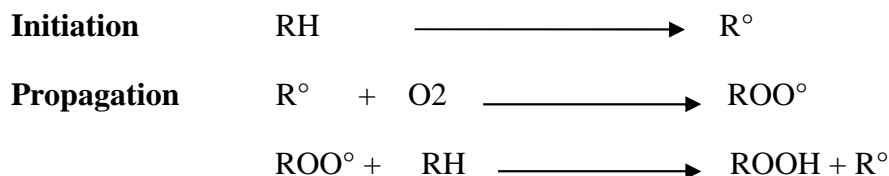
L'oxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs : Peroxydation, l'auto-oxydation, la photo-oxydation et l'oxydation enzymatique.

##### 4.1.1. Peroxydation

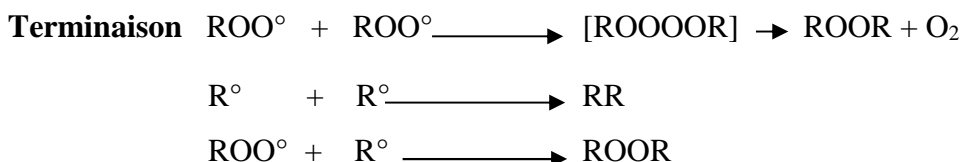
La peroxydation aboutit à la formation de peroxydes qui sont des composés aldéhydiques ayant une odeur caractéristique de rance. De plus, ce rancissement aldéhydique est catalytique c'est-à-dire que les peroxydes eux-mêmes stimulent l'oxydation des acides gras restants. La peroxydation est d'autant plus rapide quand la température est élevée. C'est pourquoi, au cours de l'extraction et du raffinage des huiles, on recherche les températures les plus basses possibles d'où le terme « pression à froid » pour les huiles vierges (Fredot, 2007).

### 4.1.2. Auto-oxydation

L'auto-oxydation est une réaction radicalaire où un lipide insaturé (R-H) transformé en radical (R°) dans une étape d'initiation, ce dernier réagit avec l'oxygène dans une étape de propagation pour conduire à un radical hydroperoxy (ROO°) qui réagit avec une autre molécule de lipide pour régénérer un radical (R°) et former un hydroperoxyde (ROOH) (Karleskind, 2013) :



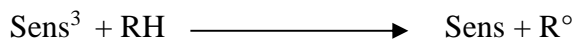
Les radicaux formés (R°, ROO°) réagissent entre eux pour conduire à un produit qui n'est pas un radical libre (Macarthur, 2003).



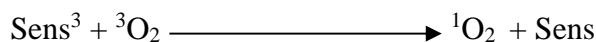
### 4.1.3. Photo-oxydation

La voie la plus importante de production des hydroperoxydes est la photo-oxydation. En présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs tels que les hémoprotéines ou la riboflavine, ces derniers (photosensibilisateurs = Sens) absorbent l'énergie lumineuse et passent à l'état triplet excité (Sens<sup>3</sup>). Les photosensibilisateurs interviennent dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes (Macarthur, 2003) :

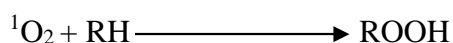
- **Les photosensibilisateurs de type I** telles que les riboflavines, agissent comme des radicaux libres initiateurs. Dans leur état triplet, elles arrachent un atome d'hydrogène ou un électron aux molécules lipidiques pour former un radical capable de réagir avec l'oxygène.



- **Les photosensibilisateurs de type II** telles que la chlorophylle et l'érythrosine, réagissent dans leur état excité (Sens<sup>3</sup>) avec l'oxygène triplet auquel elles transfèrent leur énergie pour donner de l'oxygène singulier (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>).



L'oxygène singulier ainsi formé est très électrophile et peut réagir directement sur un acide gras insaturé (RH) formant ainsi un hydroperoxyde ROOH.



#### 4.1.4. L'oxydation enzymatique

Les lipides sont oxydés à la suite de multiples réactions enzymatiques avec tout d'abord la libération des acides gras par l'action de lipases, phospholipases et lipide-acyl-hydrolases. Les acides gras libérés par la lipolyse peuvent ensuite être oxydés par la LOX et forment des hydroperoxydes d'acide gras. Ces composés très réactifs sont ensuite transformés en aldéhydes, acides aldéhydiques et acides gras oxygénés (Cheriot, 2007).

Un exemple de cette cascade de réactions enzymatiques est schématisé pour les acides linoléiques et linoléiques dans les céréales (Fig. 6) (Gardner, 1988).

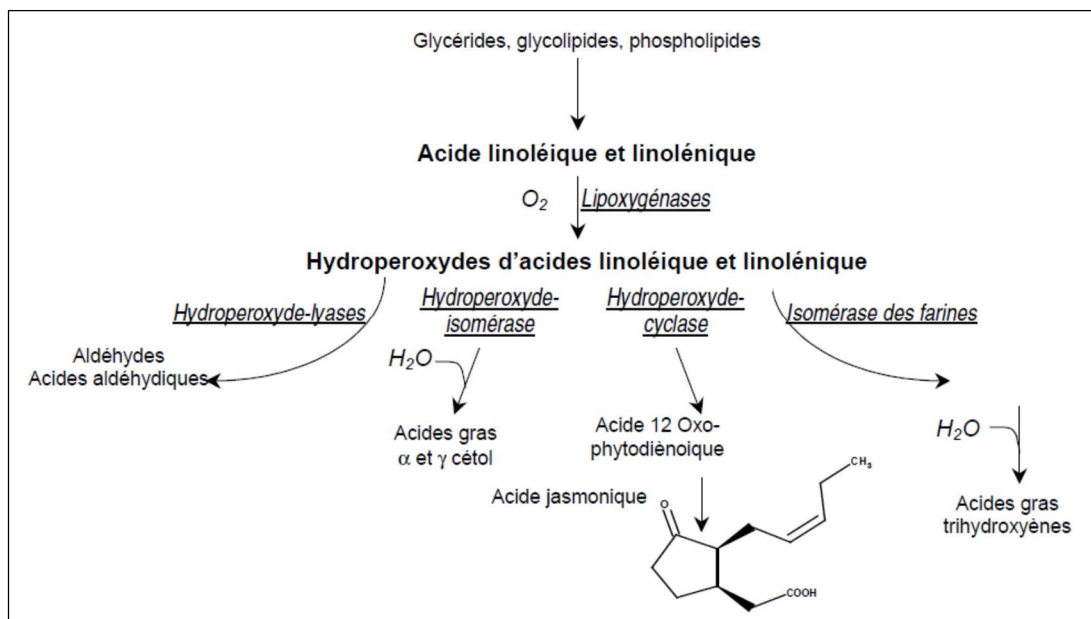
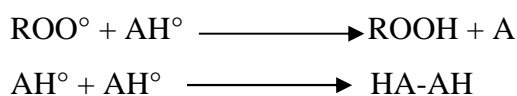


Fig. 6 : Les réactions enzymatiques impliquées dans l'oxydation des lipides (Gardner, 1988).

## 5. Inhibiteurs de l'oxydation des lipides

### 5.1. Action antiradicalaire des antioxydants

L'efficacité d'un antioxydant résulte de la présence d'une liaison de faible énergie faisant intervenir un atome d'hydrogène. Plus l'énergie de cette liaison est faible, plus le transfert de l'atome d'hydrogène à un radical lipidique est favorisé énergiquement et donc se produit rapidement. Cette efficacité dépend aussi de son aptitude à réduire l'énergie de sa structure radicalaire afin qu'il ne soit pas à son tour un catalyseur d'oxydation. Ainsi, les antioxydants radicalaires ( $AH^\bullet$ ) sont souvent stabilisés par une délocalisation des électrons par résonance. Ils peuvent transmettre un second hydrogène à un autre radical lipidique et adopter une structure moléculaire encore plus stable non radicalaire (A) ou réagir entre eux pour former un dimère stable (HA-AH) (Jeantet et al., 2006).



## 5.2. Action anticatalytique des antioxydants

D'autres antioxydants agissent par des mécanismes indirects en inactivant le catalyseur d'oxydation des lipides. Certaines molécules comme les caroténoïdes interfèrent avec le mécanisme de photo-oxydation des lipides par l'oxygène singulier. Elles rentrent en compétition avec les lipides insaturés pour la réaction d'addition de l'oxygène singulier où elles inactivent les photosensibilisateurs à l'état excité en absorbant leur excès d'énergie. Au cours de cette inactivation les photosensibilisateurs tels que les caroténoïdes passent par un état excité. A l'inverse des photosensibilisateurs, les caroténoïdes à l'état excité sont capables de retourner à leur état de plus basse énergie par dissipation de l'excès d'énergie dans le milieu environnant sans formation d'oxygène singulier (Jeantet et *al.*, 2006).

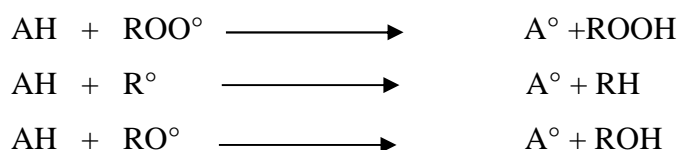
Certains antioxydants interviennent dans le piégeage des radicaux libres en transférant un atome d'hydrogène à l'espèce radicalaire. Les antioxydants réagissent préférentiellement avec les radicaux peroxydes car ce sont les radicaux majoritaires lors de l'oxydation des lipides. Cet échange d'atome d'hydrogène retarde significativement la propagation de l'oxydation (Jeantet et *al.*, 2006).

## 6. Les antioxydants

Les antioxydants sont tous des réducteurs capables d'interrompre la réaction de peroxydation et d'empêcher la formation des hydroperoxydes à partir des huiles insaturées en particulier. Selon Cano et *al.* (2007), les antioxydants sont classés en fonction de leurs mécanismes d'action.

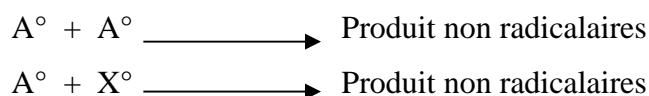
### 6.1. Les antioxydants type I

Il s'agit de substances capables d'interrompre la chaîne radicalaire en cédant un hydrogène ( $H^\circ$ ) du radical à un radical libre lipidique :



Le radical  $A^\circ$  qui se forme est relativement stable et ne réagit pas avec les lipides. Il subit une réaction d'arrêt aboutissant à la formation de produits non radicalaires.

Ces substances antioxydantes diminuent donc le nombre des radicaux libres, elles abaissent par conséquent la vitesse d'oxydation et prolongent la période d'induction (Cheftel et Cheftel, 1976) :



## 6.2. Les antioxydants type II

Selon Macarthur (2003), ce type d'antioxydant prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Certains chélates des ions métalliques réduisent l'effet pro-oxydant des ions comme c'est le cas des acides phosphoriques et citriques. L'acide ascorbique a une activité antioxydante à des concentrations supérieures à 0,5 %, tandis qu'il possède un effet pro-oxydant à faible concentration 0,02-0,03 %.

## 6.3. Les antioxydants type III

On classe dans cette catégorie des procédés de protection contre l'oxydation, qui consistent à mettre en œuvre des conditions physiques principalement la teneur en oxygène, l'humidité relative et la température convenablement (Cheftel et Cheftel, 1976).

## 6.4. Les agents synergiques

Ce sont des molécules qui améliorent l'action de certains antioxydants ce qui se traduit souvent par un accroissement de la période de protection. Parmi eux se trouvent les acides lactiques, tartriques et orthophosphoriques et leurs sels de sodium, potassium ou calcium. L'efficacité des antioxydants peut être augmentée par l'utilisation d'un mélange d'antioxydant de type I et II. L'association de ces deux types d'antioxydants permet d'inhiber les phases d'initiation et de propagation de l'oxydation des lipides (Macarthur, 2003).

## 7. Détection directe des radicaux libres

Les molécules radicalaires ou non absorbent dans le domaine UV-visible et elles se portent dans un état électronique excité. Ce phénomène est basé sur l'absorption d'un photon d'énergie  $h\nu$ , correspondant à la différence d'énergie entre deux niveaux électroniques par les molécules. A la fin, ceci peut provoquer une rupture de liaison ou bien l'éjection d'un électron (photoionisation) (Berges et *al.*, 2005). La transition entre deux niveaux électroniques donne naissance à une bande d'absorption relativement fine. Cependant, les spectres d'absorption des molécules sont en général composés des bandes larges qui correspondent à la structure vibrationnelle-rotationnelle de chaque niveau électronique. Lors de l'absorbance du rayonnement par l'échantillon, l'intensité lumineuse transmise  $I$  est reliée à l'intensité incidente  $I_0$  par loi de Beer-Lambert (Berges et *al.*, 2005) :

$$I = I_0 e^{-\varepsilon \lambda l C}$$

Dans cette relation,  $\varepsilon \lambda l C = A$  représente l'absorbance ( $A = \log I_0/I$ ), le coefficient d'extinction molaire pour cette longueur d'onde, exprimé en  $L \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ , caractéristique des

groupements chimiques des molécules,  $l$  est la longueur d'échantillon traversé exprimée en cm, et  $C$  la concentration de l'échantillon en  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

Les radicaux libres créés dans des liquides ont des temps de vie très courts, il n'est donc possible de les détecter que par des systèmes de détection résolus en temps. L'absorption est alors mesurée en fonction du temps (Berges et *al.*, 2005).

## **8. Conclusion**

En conclusion, nous pouvons déduire que les réactions de l'oxydation des lipides sont dues principalement à l'action de l'oxygène. Elles entraînent la formation de composés volatils d'odeur désagréable. Ce processus de dégradation est lié à des transformations chimiques impliquant l'oxygène de l'air qui oxyde les lipides (auto-oxydation, peroxydation). Les principaux substrats de cette oxydation sont les acides gras insaturés. Par ailleurs, les antioxydants jouent un rôle important contre l'oxydation de ces acides gras. Ils sont capables d'interrompre la réaction de peroxydation et d'empêcher la formation des hydroperoxydes pour les huiles insaturées en particulier.

**Chapitre IV**  
**Activité biologique**

## **IV. Activité biologique**

### **1. Activité biologique des plantes**

Les plantes aromatiques ainsi que les herbes sont utilisées depuis longtemps dans les préparations alimentaires et par la médecine traditionnelle à cause de leurs saveurs et leurs propriétés antibactériennes et antifongiques. L'activité biologique des plantes est due à des agents chimiothérapeutiques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol possédant une forte activité antimicrobienne. Les huiles végétales ont toutes des particularités, elles sont riches en antioxydants comme les composants phénoliques et les tocophérols qui sont reconnus comme des agents de conservation. Les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques sont très intéressées par les propriétés de ces composés.

Toutefois, un agent chimio-thérapeutique pour être efficace, il doit avoir une toxicité sélective dont le niveau peut être exprimé en termes de dose thérapeutique. C'est la concentration du produit requise pour le traitement d'une infection particulière ou dose toxique, d'où la concentration du produit à la quelle, l'agent devient trop toxique pour l'hôte. Le rapport de la dose toxique sur la dose thérapeutique présente l'indice thérapeutique. Plus cet indice est élevé, meilleur sera l'agent chimiothérapeutique. D'autres caractères sont importants à les identifier comme le champ d'efficacité de ces substances et leur origine synthétisés par voie biologique ou chimiques (Prescott et Klein, 2003).

### **2. Définition de la bactériostase**

La bactériostase correspond à un ralentissement de la croissance d'une population bactérienne pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la croissance. Cela n'est valable que si la bactérie est en phase de croissance avant le contact avec l'antibiotique. Dans le cas contraire, une absence de croissance peut correspondre aussi à une augmentation très prononcée du temps de latence (Burnicho et Texier, 2003).

#### **2.1. Concentration minimale inhibitrice**

La CMI est le paramètre le plus utilisé pour évaluer l'effet d'un antibiotique. Elle correspond à la concentration minimale d'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe en 24 heures. La CIM explore seulement l'effet bactériostatique, ce qui n'est pas limitatif sachant qu'en bactériologie clinique le but le plus souvent recherché est l'inhibition de la prolifération bactérienne dans la mesure où l'organisme est capable de se défendre contre les bactéries (Jehl et *al.*, 2000).

Plusieurs recherches confirment que la CIM est un bon prédicateur de l'efficacité de la thérapeutique antibiotique. Quand elle excède une certaine valeur, l'échec thérapeutique est courant. Quand elle est inférieure à une autre valeur, le succès est pratiquement assuré. Entre les deux valeurs précédentes, la prédiction est impossible (Freney et *al.*, 2000).

## **2.2. Détermination de la CMI**

La CMI n'est pas une constante biologique pour une bactérie donnée. Elle est définie comme étant la plus faible concentration d'une gamme de dilutions d'antibiotiques qui entraîne l'inhibition de toute croissance microbienne visible (CA-SFM, 2003). La méthode de dilution successive en milieu solide est la méthode de référence pour déterminer la sensibilité des germes aux antibiotiques. Cette détermination demande une standardisation rigoureuse du protocole expérimental. Il existe d'autre méthode comme la dilution successive en milieu liquide E-Test (bandelettes imprégnées d'un gradient d'antibiotique).

## **3. Notion de sensibilité/ Résistance**

### **3.1. Définition de la résistance**

La résistance des germes aux antibiotiques est soit naturelle, soit acquise. Dans le premier cas c'est une caractéristique propre concernant l'ensemble des souches de l'espèce ou du genre. Elle peut être portée par un chromosome donc toujours transmissible à la descendance ou présente un caractère permettant de définir le phénotype sauvage ou sensible de l'espèce. Cette résistance naturelle aide à l'identification des espèces (Freney et *al.*, 2000).

Dans le second cas la résistance acquise ne concerne qu'une proportion plus ou moins importante de souches d'une espèce variable dans le temps. Elle résulte d'une modification génétique par mutation ou par acquisition de plasmides ou de transposons transmissibles parfois entre espèces différentes. Elle définit des phénotypes résistants (Freney et *al.*, 2000).

La résistance croisée s'exprime au sein d'une même classe d'antibiotiques et est due au même mécanisme de résistance.

### **3.2. Détermination des catégories S/I/R**

Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité *in vitro* : Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I) :

- **Les souches catégorisées S** : sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandée dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP) ;
- **Les souches catégorisées R** : il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quel que soit le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée ;

- **Les souches catégorisées I** : présentent un succès thérapeutique imprévisible. Ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus *in vitro* ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique.

#### 4. Les Valeurs critiques des catégories cliniques

Le classement des souches est réalisé en utilisant la relation entre la CMI et le diamètre d'inhibition autour d'un antibiotique. Pour une bactérie et un antibiotique donnés, le diamètre d'inhibition mesuré est comparé aux diamètres critiques (Jehl et *al.*, 2000) :

- En dessous d'un diamètre critique inférieur  $d$ , la souche est classée R ;
- En dessus du diamètre critique supérieur  $D$ , la souche est classée S.

Les diamètres critiques  $d$  et  $D$  correspondent respectivement aux concentrations critiques hautes  $C$  et basse  $c$ .

#### 5. Notion de spectre et relation avec les CMI

Les souches sont classées en catégorie selon les concentrations et les diamètres d'inhibition (fig. 7) (Jehl et *al.*, 2000).

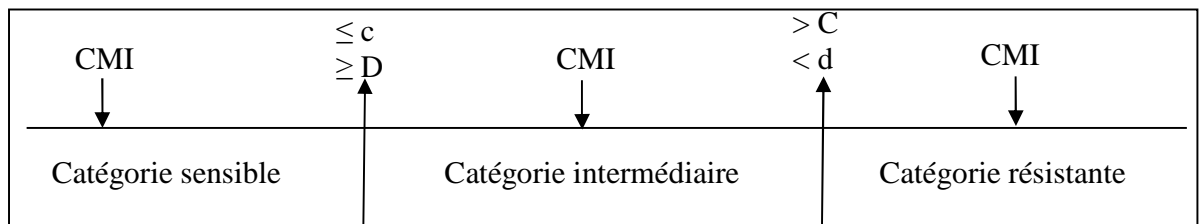


Fig. 7 : Relation des souches avec les CMI (Jehl et *al.*, 2000).

A chaque antibiotique est associée une liste d'espèces bactérienne qui constitue le spectre d'activité de la molécule. Pour faciliter le choix d'un traitement antibiotique, les espèces ont été réparties en trois classes (fig. 7). Les espèces sensibles 90% caractérisées par des CMI  $< c$  et moins de 10% sont résistantes ou de faible sensibilité. Les espèces intermédiaires 90% et plus des souches se situent dans la catégorie I. Les espèces résistantes pour lesquelles 50% des souches sont résistantes, présentent des CMI  $> C$ . Cette résistance peut être naturelle ou acquise (Jehl et *al.*, 2000).

#### 6. Méthodes d'étude *in vitro*

##### 6.1. Antibiogramme

L'antibiogramme a pour but de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis des divers antibiotiques. Par définition, la CMI est la plus faible concentration d'antibiotique capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une bactérie donnée, appréciable à l'œil nu, après une période d'incubation donnée (O.M.S, 2012).

### 6.1.1. Méthodes de dilutions

Les méthodes de dilutions sont effectuées en milieu liquide ou solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique.

En milieu liquide l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macrodilution) (fig. 8) ou de capsules (méthode de microdilution) contenant l'antibiotique. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la capsule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible.

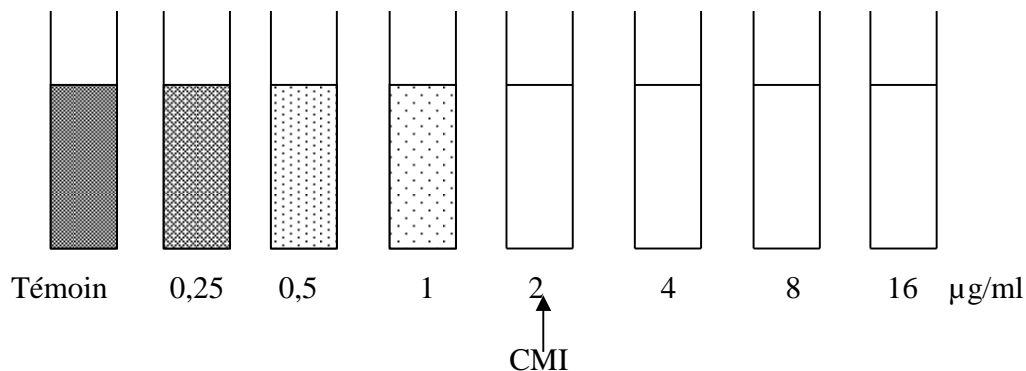


Fig. 8 : Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide.

En milieu solide, l'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé en boîte de Pétri. La surface estensemencée avec un inoculum des souches à étudier. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminé par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration (Fig. 9).

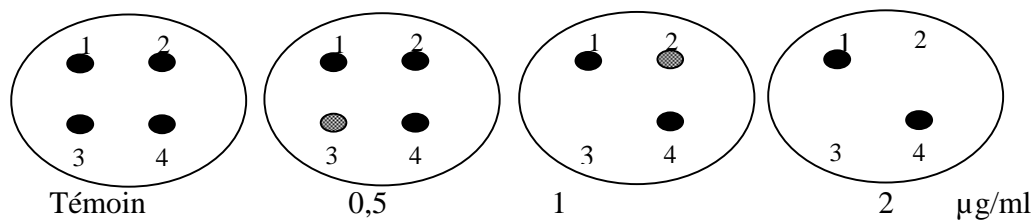


Fig. 9 : Détermination de la CMI par dilution en milieu gélosé.

Dans l'exemple présenté ci-dessus, le nombre des souches est limité à quatre. La CMI de la souche 3 vis-à-vis de l'antibiotique est de 1µg/ml. La CMI de la souche 2 est de 2µg/ml. La détermination des CMI 1 et 4 nécessitent de tester des concentrations plus forte en antibiotique (Jehl et *al.*, 2000).

### **6.1.2. Méthodes de diffusion : antibiogramme standard**

Les méthodes de diffusion ou antibiogramme standard sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic (Freney et *al.*, 2000). Dans des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé, préalablement ensemencée avec une culture pure de souche à étudier, des disques de papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester sont déposés. Les antibiotiques diffusent des disques de manière uniforme. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibitions circulaires correspondant à une absence de culture. Les diamètres des zones dépendent uniquement de la sensibilité du germe (Freney et *al.*, 2000).

A la limite des zones d'inhibition, il existe des concentrations d'antibiotiques égales aux CMI. Ces méthodes de diffusion ne permettent pas de chiffrer directement les valeurs des CMI. Toutefois, il existe une relation simple entre les diamètres des zones d'inhibition et les *log* base des CMI mesuré par la technique de dilution. Ces relations, appelées droite de concordance ou de régression. En théorie, les mesures des diamètres des zones d'inhibition et leur reports sur les courbes de concordance donne les valeurs des CMI en µg/ml (Freney et *al.*, 2000).

## **7. Les activités biologiques des huiles**

Les huiles essentielles généralement sont connues par leur large spectre d'activité biologique. Cette activité est liée à leurs composés chimiques majoritaires tels que les alcools, les polyphénols, les terpènes et les cétones ainsi que leurs effet synergiques (Paster et *al.*, 1990 ; Caccioni et *al.*, 1994 ; Cowan, 1999 ; Nielsen et *al.*, 2000 ; Lamiri et *al.*, 2001 ; Cimanga et *al.*, 2002).

Cependant, d'autres études ont montré que cette activité peut être liée aussi à la présence des tanins que l'on retrouve dans la composition chimique de certaines plantes, parmi lesquelles l'*A. arabica* et *raddiana* (Abdel...). L'étude de l'activité biologique des huiles est basée sur des méthodes *in vitro* qui font appel aux techniques de l'antibiogramme ou aromatobiogramme afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices.

Dans ce contexte quelques souches bactériennes et fongiques vont faire l'objet de l'étude *in vitro* de l'activité biologique des huiles des deux espèces d'acacia dans la partie expérimentale. Deux classes des souches bactériennes à Gram positif (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*) et à Gram négatif (*Escherichia coli*) et deux souches fongiques *Aspergillus niger* et *Candida albicans* vont être confrontées aux deux huiles d'acacia.

## 8. Les souches bactériennes

La plupart des cellules bactériennes sont de très petite taille (1 à 3µm). Toutefois, ces bactéries sont à l'origine de certaines maladies humaines responsables de toxico-infections alimentaires. Ces intoxications sont considérablement multipliées par l'apparition de souches résistantes (tels que certaines bactéries à Gram positif et à Gram négatif) à certains agents antimicrobiens et menacent de plus en plus la santé humaine.

### 8.1. Les bactéries à Gram positif

Actuellement de nombreux chercheurs travaillent sur l'activité antibactérienne des huiles végétales vis-à-vis les bactéries à Gram+ (Elden et *al.*, 2010 ; Lefsih et *al.*, 2010). Trois souches bactériennes à Gram positif ont été choisies pour le test antibactérien des deux huiles d'acacia. A savoir, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* :

#### ➤ *Bacillus cereus* :

La morphologie du germe correspond à un grand bacille en forme de bâtonnet de 1 µm de large pour 3 à 4 µm de long, sporulé, mobile grâce à une ciliature péritriche, d'une longueur supérieure à 3 µm et d'un diamètre moyen de 1,4 µm et de type respiratoire aéro-anaérobie facultatif. Il présente une coloration de Gram positivité, et synthétise deux types de toxines : une toxine thermostable et une toxine thermolabile. La bactérie appartenant au taxon suivant :

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Division</b>	Firmicutes
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Bacillaceae
<b>Genre</b>	<i>Bacillus</i>
<b>Espèce</b>	<i>cereus</i>

Le germe *Bacillus cereus*, retrouvé de manière ubiquitaire dans le sol, est fréquemment responsable d'intoxications alimentaires. Il s'agit très souvent de l'ingestion d'aliments non réfrigérés ou après cuisson par exemple.

#### ➤ *Bacillus subtilis* :

C'est une bactérie catalase-positif que l'on trouve habituellement dans le sol, mais c'est surtout une espèce ubiquitaire. Sa longueur varie de 2 à 4 µm et sa largeur de 0,5 à 2 µm. Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. Elle est mobile grâce à une ciliature péritriche. Elle est aérobique stricte, sa température optimale est de 40 degrés (espèce mésophile) et son type trophique est

chimioheterotrophe. Enfin, son temps de génération est d'environ 26 minutes. Les conditions optimales de croissance de cette souche se situent pour un pH compris entre 5,5 et 8,5, et à une température de 10°C à 50°C (Bridier et al., 2011). Cette espèce présente la classification suivante :

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Division</b>	Firmicutes
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Bacillaceae
<b>Genre</b>	<i>Bacillus</i>
<b>Espèce</b>	<i>subtilis</i>

➤ ***Staphylococcus aureus* :**

Ce sont des cocci à Gram positif appartenant à la famille des Micrococcaceae. Ils ont une organisation groupée en amas ayant une forme de grappe de raisin. Ils sont immobiles non sporulés, catalase positive. Très résistants dans le milieu extérieur. Parmi les 27 espèces du genre *Staphylococcus* les plus pathogène et les plus fréquents en communautaire et hospitalier (nosocomial) sont *S. aureus*, *S. epidemidis* et *S. saprophyticus*, car ils sont ubiquitaire et virulents. L'espèce aureus appartient au taxon suivant :

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Division</b>	Firmicutes
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Staphylococcaceae
<b>Genre</b>	<i>Staphylococcus</i>
<b>Espèce</b>	<i>aureus</i>

## 8.2. Les bactérie à Gram négatif

Ces bactéries à Gram positifs se distinguent des bactéries à Gram positifs par la composition de leurs parois cellulaires. Effet, la distinction entre bactéries Gram positif et bactéries Gram négatif repose sur une différence de composition pariétale. La paroi des bactéries Gram positif est riche en acide teichoïque, absent chez les bactéries Gram négatif et en acide diaminopimélique, moins abondant chez les Gram négatif lesquelles ont une paroi plus riche en lipides.

➤ *Escherichia coli* :

*Escherichia coli*, également appelée **colibacille**, est une bactérie intestinale (Gram négatif), des mammifères, très commune chez l'être humain. En effet, elle compose environ 80 % de notre flore intestinale aérobie. Cependant, certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes en entraînant des gastro-entérites, infections urinaires, méningites, ou sepsis (Le Minor et *al.*, 1954 ; Ingraham et *al.*, 1996). L'espèce présente la classification suivante :

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Embranchement</b>	Proteobacteria
<b>Classe</b>	Gamma Proteobacteria
<b>Ordre</b>	Enterobacteriales
<b>Famille</b>	Enterobacteriaceae
<b>Genre</b>	<i>Escherichia</i>
<b>Espèce</b>	<i>coli</i>

**8.3 Les souches fongiques**

Plusieurs travaux existent dans la littérature concernant l'activité antifongiques des huiles et des extraits aqueux et organiques des différents organes des végétaux vis-à-vis plusieurs souches fongiques tels que *Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Penicillium* etc (Smith-Palmer et *al.*, 1998 ; Lamiri et *al.*, 2001 ; Bagre et *al.*, 2006 ; Lefsih et *al.*, 2010).

➤ *Candida albicans* :

*Candida albicans* est une espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida*. Elle provoque des infections fongiques (candidiase ou candidose) essentiellement au niveau des muqueuses digestive et gynécologique. Les candidoses sont une cause importante de mortalité chez les patients immunodéprimés. *C. albicans* est champignon microscopique vivant à l'état naturel dans les muqueuses de l'être humain. On le retrouve chez 80 % de la population, et il n'entraîne aucune maladie ou symptôme en particulier. C'est un organisme commensal saprophyte (Lee et *al.*, 1999 ; Gow and berman, 2004 ; Sheppard et *al.*, 2004). Dans certains cas il peut devenir pathogène. Cette espèce est classée dans le taxon suivant :

Classification :	
<b>Règne</b>	Fung
<b>Division</b>	Ascomycota
<b>Classe</b>	Saccharomycetes
<b>Ordre</b>	Saccharomycetales
<b>Famille</b>	Saccharomycetaceae
<b>Genre</b>	<i>Candida</i>
<b>Espèce</b>	<i>albicans</i>

La culture des *Candida* donne des colonies qui sont grandes, rondes, de couleur blanche ou crème (*albicans* signifie blanchâtre).

➤ ***Aspergillus niger***

Les *Aspergillus* sont des champignons filamenteux, de type moisissure, dont la colonie se présente sous forme duveteuse. Le thalle, hyalin, présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, terminés en vésicule. L'aspect des conidiophores se terminent par une tête renflée.

Les *Aspergillus* ont une répartition mondiale. Ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales. Ils sont présents dans l'environnement humain, notamment dans les plantes, les fruits, la poussière, l'air. On trouve de 1 à 20 spores par mètre cube. La classification de cette espèce diffère à celle de *C. albicans* elle est classée selon le taxon suivant :

<b>Règne</b>	Fung
<b>Division</b>	Ascomycota
<b>Classe</b>	Eurotiomycetes
Sous-classe	Eurotiomycetidae
<b>Ordre</b>	Eurotiales
<b>Famille</b>	Trichocomaceae
<b>Genre</b>	<i>Aspegillus</i>
<b>Espèce</b>	<i>niger</i>

## **9. Conclusion**

Cette analyse des données sur l'activité biologique et les différentes techniques *in vitro* qui permettent d'évaluer le pouvoir biologique nous ont permis de choisir les techniques de l'antibiogramme les plus efficaces pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles des deux espèces d'*A. arabica* et *raddiana*. Ces techniques vont nous permettre de déterminer les CMI des deux essences d'acacia et de prédire les sensibilités de deux souches fongiques et de quelques bactéries de Gram positifs et négatifs dans la partie expérimentale.

# **Partie expérimentale**

# **Chapitre V**

## **Matériel et Méthodes**

## V. Matériels et méthodes

Les propriétés naturelles des huiles des deux espèces *A. arabica* et *A. raddiana* sont méconnues. Elles peuvent être une source des agents de conservation et des produits phytopharmacologies dont leurs avantages sont très prometteurs pour les différentes industries. Le recours à ces bio ressources s'avère être un choix pertinent face au risque des produits chimiques ou synthétiques. C'est dans ce contexte que le présent travail porte sur des idées et concepts à développer au sein d'une recherche appliquée menée pour la valorisation des huiles extraites des graines de deux espèces ligneuses des zones arides

### 1. Objectifs de l'étude

L'objectif général de cette étude est de mettre en évidence la phytochimie des deux huiles innovantes des espèces d'acacia (*A. arabica* et *A. raddiana*) des zones arides et semi arides et leurs effets antioxydant et antimicrobien. D'autres objectifs plus spécifiques de l'étude ont fait l'objet d'expérimentation à savoir:

- Evaluation des rendements des huiles extraites par différents solvants ;
- Détermination des propriétés physicochimiques des huiles des deux espèces d'acacia ;
- Analyse comparative des compositions en acides gras par la CPG des huiles;
- Analyse des composés tocophérols par HPLC des huiles ;
- Détermination du pouvoir antioxydant des huiles par la méthode DPPH ;
- Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des huiles ;
- Analyse statistique de données biologiques (ANOVA  $P < 0,05$ ).

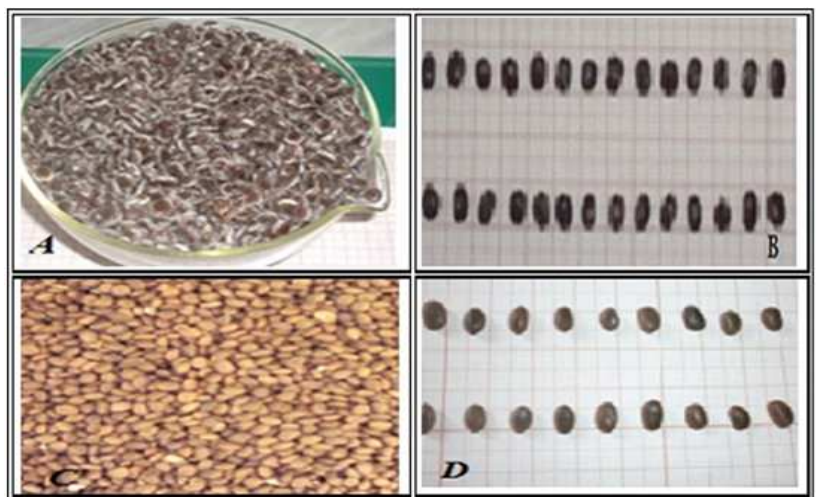
### 2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de graines d'*A. arabica* et *raddiana* de différentes dimensions (Pl. 3 : photo. A à D).

#### Planche 3 : Matériel végétal.

Photo A et B : graines d'*A. arabica*

Photo C et D : graines  
d'*A.raddiana*.



Ces deux espèces sont originaires de la région aride du Hoggar (Tegnoueu, Tessenaouene et Anfeeg) situé dans le sud algérien. Les coordonnées géographiques des différentes régions sont portées dans le tableau 4 en annexe I. Les graines ont été récoltées et identifiées par les services de l'institut national de recherche foresterie (INRFT) et la conservation des forêts de la wilaya de Tamanrasset (CFT) au mois d'avril de 2008 et de 2010.

### 3. Lieu de prélèvement

Le Hoggar est un massif montagneux de l'extrême Sud algérien, il se situe entre 12° et 25° de latitude Nord entre 3° et 6° de longitude Est (Fig.10). Il s'étale sur une superficie d'environ 554000 km<sup>2</sup> qui représente le quart de la surface globale de l'Algérie. Le climat est marqué par une saison sèche tout en long de l'année, les températures maximales absolues peuvent atteindre 40 °C à Tamanrasset (1395 m) et 28 °C à Assekrem (2760 m) durant le mois le plus chaud (Juin). Par ailleurs, le mois de janvier est le plus frais et les températures minimales sont très basses (-13,5 °C en 1993). Les précipitations sont rares, irrégulières, aléatoires de faible importance (100 à 200 mm/an). C'est dans cette zone que les prélèvements de graines des deux espèces ont eu lieu.

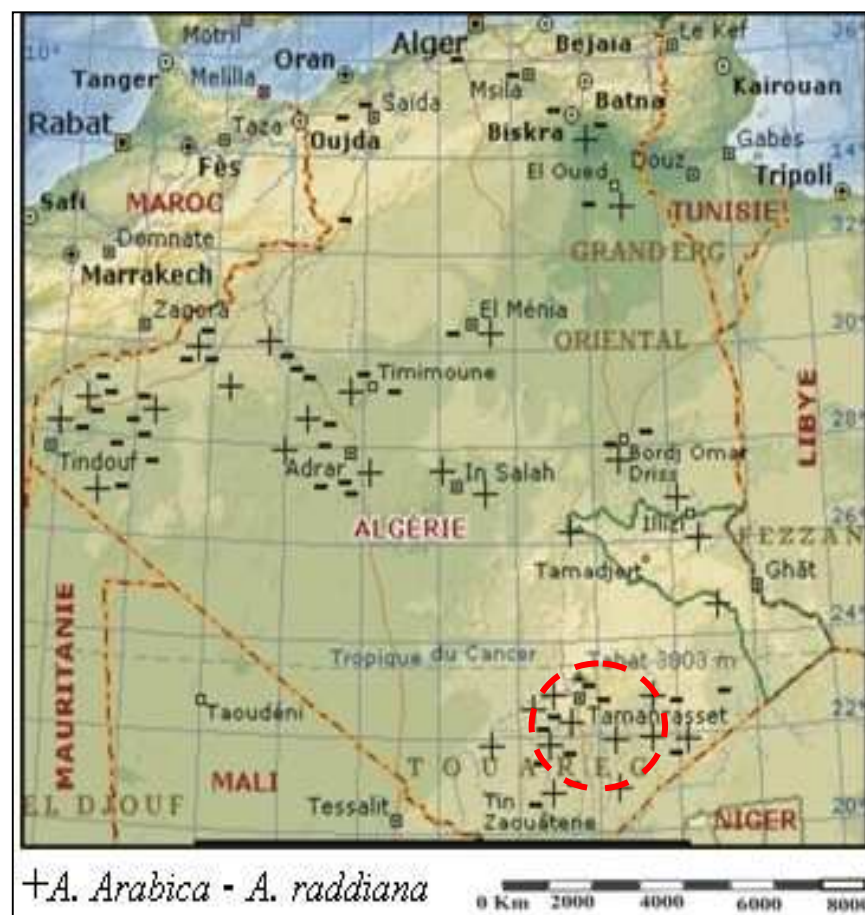
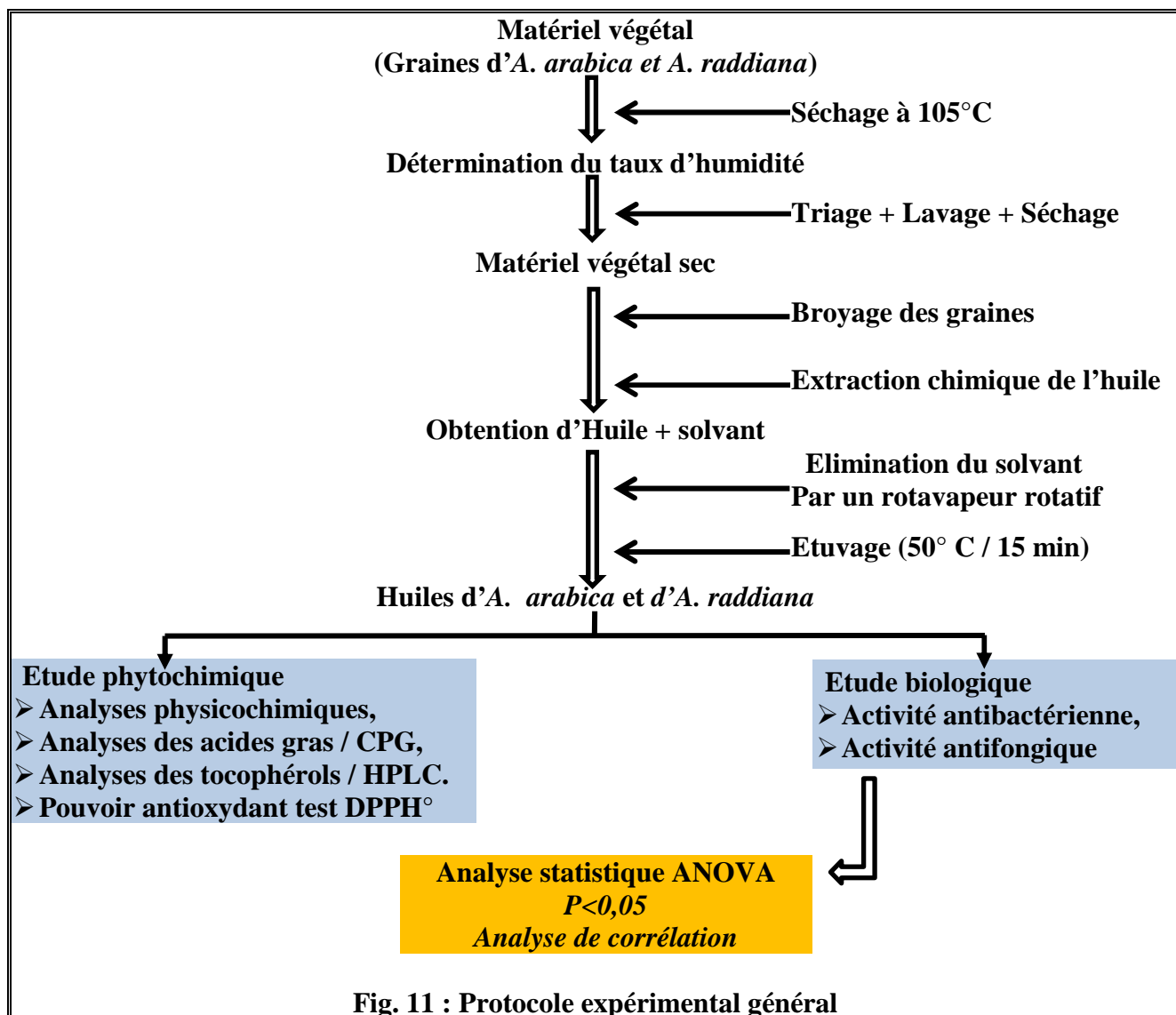


Fig. 10 : Répartition géographique de l'*A. arabica* et l'*A. raddiana* en Algérie (Tissouras, 2004).

#### 4. Protocole expérimental général

La figure 11 résume le protocole expérimental général suivi durant cette étude.



**Fig. 11 : Protocole expérimental général**

#### 5. Etudes phytochimiques

L'ensemble des techniques d'extraction et de caractérisation physicochimiques ont été effectuées selon les méthodes AFNOR (1985), dans les laboratoires de biochimie alimentaire et microbiologie de l'université de Tiaret à l'exception des analyses chromatographiques (CPG et HPLC) où ont été réalisées au niveau des laboratoires de police scientifique de la sûreté de la wilaya d'Oran et d'Alger; le laboratoire de contrôle de la qualité et la répression des fraudes d'Oran et le laboratoire des analyses physicochimiques de Casa blanca au Maroc.

### 5.1. Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité est la perte de masse en eau exprimée en pourcentage, que subit un l'échantillon dans les conditions décrites par la technique AFNOR, (1988). On procède à une dessiccation d'échantillon à la température 105°C dans une étuve jusqu'à une masse pratiquement constante. Le nombre de répétitions est de cinq et chaque répétition représente un poids de 10 g. Toute les 05 minutes, on détermine le poids jusqu'à sa stabilisation. La teneur moyenne en eau est exprimée en pourcentage selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100$$

H% : Pourcentage de l'humidité ;  $P_1$  : Poids frais de l'échantillon en gramme ;  $P_2$  : Poids sec de l'échantillon en gramme.

### 5.2. Préparation des échantillons avant extraction

L'étape de la préparation des échantillons pour une éventuelle extraction de l'huile est obligatoire, elle nécessite les opérations suivantes :

- **Triage** : C'est une opération préliminaire qui a pour but d'éliminer les graines non conformes ;
- **Lavage** : Il se fait par l'eau et quelques gouttes d'eau de javel. C'est une opération préliminaire qui a pour but d'éliminer les matières contaminantes ;
- **Séchage** : il se fait dans une étuve à une température de 100°C pour éliminer l'humidité;
- **Broyage** : Cette opération permet la réduction de la taille des graines de 6-9 mm de diamètre à 0,5 mm à l'aide un broyeur électrique à couteaux de type RETCH;
- **Conservation de la poudre** : La poudre est stockée dans un endroit sec et à l'abri de la lumière.

### 5.3. Extraction chimique par Soxhlet

L'extraction chimique des huiles des deux espèces d'acacia a été réalisée à l'aide de trois solvants de polarité différente afin de mettre en évidence la solubilité des huiles vis-à-vis des solvants utilisés. Selon la technique AFNOR (1998), l'extraction a été effectuée à l'aide de l'appareil de Soxhlet, qui présente un montage spécifique permettant un meilleur contact entre le solvant et la matière végétale. Cette dernière est mise dans une cartouche cellulosique et placée dans la colonne du Soxhlet.

Le ballon qui contient le solvant est maintenu en ébullition constante grâce au chauffe ballon. Le solvant évaporé se condense dans le réfrigérant lié à un réfrigérateur à une température de 10°C d'où se forment des gouttelettes et tombent dans la colonne en solubilisant la matière grasse. Une fois le solvant atteint le niveau du grand siphon, il est aspiré de nouveau vers le ballon. Après l'épuisement de la matière grasse, l'huile est séparée du solvant par une distillation au rotavapeur.

Pour déterminer le rendement de l'huile cinq répétitions ont été effectuées. Le pourcentage de rendement moyen en huile est calculé selon la formule suivante :

$$R_h \% = \frac{P_2 - P_1}{P_E} \times 100$$

- $R_h\%$  : Rendement en huile ;
- $P_2$  : Poids du ballon avec l'huile en gramme ;
- $P_1$  : Poids du ballon vide en gramme ;
- $P_E$  : Poids de la prise d'essai (poudre végétale) en gramme.

#### 5.4. Analyses physiques des huiles

Les principales analyses physico-chimiques ont été effectuées selon les techniques AFNOR, (1998).

##### 5.4.1. Indice de réfraction

L'indice de réfraction a été déterminé par un réfractomètre ABBE à une température fixée à  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  selon la méthode AFNOR (NF-60-22) qui consiste à étalonner le réfractomètre avec l'eau distillée dont l'indice de réfraction est égal à 1,333 et à déposer entre les deux prismes de l'appareil une à deux gouttes d'huile. Après, l'indice de réfraction et le % en matière sèche de l'huile sont déterminés à l'aide des deux échelles à  $20^\circ\text{C}$  et calculé selon la formule suivante :

$$\eta_D^{20} = I_t + 0.00045(t - t_0)$$

$\eta_D^{20}$  : Indice de réfraction à  $20^\circ\text{C}$  ;

$I_t$  : Indice de réfraction à la température  $20^\circ\text{C}$  ;

$T$  : température ambiante

Le nombre des répétitions varie de 5 à 10.

##### 5.4.2. Densité

La densité est mesurée à l'aide d'un pycnomètre à la température  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  selon la méthode AFNOR (NF60-214) qui consiste à :

- Peser le pycnomètre vide ( $P_0$ ) et plein d'eau distillée ( $P_1$ ) ;
- Vider et sécher le pycnomètre, puis le remplir avec l'huile et le peser ( $P_2$ ).

Les résultats sont donnés par la formule suivante :

$$d = \frac{P_2 - P_0}{P_1 - P_0} \times 100$$

- d : Densité de l'huile à 20°C ;
- P<sub>0</sub> : Poids du pycnomètre vide ;
- P<sub>1</sub> : Poids du pycnomètre remplie d'eau distillée ;
- P<sub>2</sub> : Poids du pycnomètre remplie d'huile.

### 5.4.3. Teneur en phosphatides

25 g d'huile sont dissoutes dans 200 ml d'acétone, à une température 4°C, ils sont laissés pendant 2 heures, ensuite le mélange est filtré sur papier filtre préalablement pesé, ce papier contient le résidu phosphatidique. Ce dernier est séché à une température de 100°C jusqu'à 150°C ; puis laissé dans le dessiccateur jusqu'à son refroidissement et enfin il est pesé. L'essai a été répété cinq fois. Le pourcentage des phosphatides est calculé selon la formule suivante :

$$(\%) \text{ phosphatides} = \frac{P_2 - P_1}{P_E} \times 100$$

- P<sub>1</sub> : Poids du papier filtre avant filtration en gramme ;
- P<sub>2</sub> : Poids du papier filtre après filtration en gramme ;
- P<sub>E</sub> : Poids de la prise d'essai.

### 5.4.4. La Viscosité

La viscosité pour une température donnée, c'est le coefficient de frottement moléculaire interne. Elle augmente avec le degré de saturation et décroît avec l'augmentation de la température (KARLIS KIND, 1992). Nous avons utilisé un viscosimètre à chute de bille avec bain thermostatique après avoir rempli le tube du viscosimètre avec l'huile, on place une bille de caractéristiques connues et on calcule le temps, en seconde, du déplacement de la bille entre les deux traits du tube du viscosimètre. La viscosité obtenue n est en m.Pa.s (milli. Pascal. Seconde).

$$n = tx(P_1 - P_2) \cdot k \quad \text{t : temps de chute de la bille en seconde ; } P_1 \text{ : densité de la bille utilisée ; } P_2 \text{ : densité de l'huile ; } k \text{ : constante caractéristique de la bille.}$$

## 5.5. Analyses chimiques des huiles

Les analyses chimiques ont été effectuées selon les techniques AFNOR, (1998).

### 5.5.1. Pourcentage d'acidité (%A)

L'acidité a été déterminée selon la méthode AFNOR dont les étapes sont les suivantes :

- Peser dans une fiole conique de 250 ml 0,5 à 1g de corps gras ;
- Ajouter 10 ml d'éthanol ;
- Titrer en agitant avec la solution éthanolique d'hydroxyde de sodium 0,1N jusqu'au virage de l'indicateur (phénolphaléine).

L'essai a été effectué cinq fois et le % d'acidité est donné par la formule suivante :

$$A\% = \frac{V \times C \times M}{10 \times E}$$

- V : volume de la solution de NaOH utilisée en ml ;
- C : concentration exacte de solution de NaOH utilisée (mol/L) ;
- E : la masse de la prise d'essai en gramme ;
- M : la masse molaire de l'acide oléique en g /mole (282 g/mole).

### 5.5.2. L'indice d'acide I<sub>A</sub>

Le dosage direct de l'acidité se fait en présence de phénolphthaléine : virage de l'incolore au rose. Lors d'un dosage indirect, le corps gras est dissous dans un excès précis de potasse alcoolique. L'excès est dosé par une solution d'acide chlorhydrique de concentration connue en présence de phénolphthaléine : virage du rose à l'incolore. La méthode AFNOR (60-204) consiste à :

- Peser dans une fiole conique de 250 ml, 0,5 à 1g de corps gras ;
- Ajouter 10 ml d'éthanol ;
- Titrer en agitant avec la solution éthanolique d'hydroxyde de potassium 0,1N jusqu'au virage de l'indicateur (coloration rose de phénolphthaléine).

L'indice d'acide est calculé selon la formule suivante :

$$I_A = \frac{V \times 56,1 \times N}{E}$$

- I<sub>A</sub> : Indice d'acide ;
- V : Le volume de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé, exprimé en millilitres ;
- E : La masse en gramme de la prise d'essai.

### 5.5.3. L'indice de saponification I<sub>S</sub>

L'indice de saponification a été déterminé selon la méthode AFNOR (NF60-206) qui consiste à :

- Peser dans une fiole conique, environ 2g de corps gras ;
- Ajouter 25 ml de solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (0,05N) ;
- Adapter au réfrigérant la fiole contenant la prise d'essai et la solution éthanolique d'hydroxyde de potassium ;
- Porter la solution à légère ébullition en agitant de temps en temps, après soixante minutes, arrêter le chauffage, ajouter 4 à 5 gouttes de solution de phénolphthaléine ;
- Titrer la solution savonneuse encore chaude avec la solution d'acide chlorhydrique (0,5N) ;

- Effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions.

L'indice de saponification est donné par la formule suivante :

$$I_s = \frac{(V_0 \times V_1) \times T \times 56,1}{E}$$

- $I_s$  : Indice de saponification ;
- $V_0$  : Le volume (ml) de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour l'essai à blanc ;
- $V_1$  : Le volume (ml) de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour l'essai avec l'huile ;
- $E$  : La masse en gramme de la prise d'essai ;
- $T$  : Titre de la solution d'HCl.

#### 5.5.4. Indice d'iode

L'indice d'iode correspond au nombre de grammes d'iode fixé pour la double liaison de 100 g de corps gras. 0.2 g d'huile sont additionnés à 25 ml de chloroforme et 25 ml de réactif du WIJS (CII). La solution est soumise à une agitation pendant quelques secondes puis laissée au repos pendant 1 heure et 30 minutes à l'abri de la lumière alors qu'un essai à blanc est effectué en parallèle. Après repos, 20 ml d'iodure de potassium à 10 % sont ajoutés au cours de la réaction plus 150 ml de l'eau distillée. L'iode libéré au cours de la réaction est titré par le thiosulfate de sodium  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (0,1N) jusqu'à l'apparition de la couleur jaune acajou.

Une fois la couleur devient jaune acajou, 1ml d'emploi d'amidon est ajouté. Après, la titration se fait par le thiosulfate de sodium jusqu'à ce que la couleur devienne jaune. L'indice d'iode est déterminé par la formule suivante:

$$II = (V_1 - V / P) \times 0.01269 \times 100$$

- $II$  : Indice d'Iode ;
- $V_1$  : Volume (ml) de la chute burette de la solution thiosulfate de sodium pour l'essai à blanc;
- $V$  : Volume (ml) de la chute burette de la solution thiosulfate de sodium pour l'essai à l'huile;
- $P$  : Poids de prise d'essai de 0,2 g ;
- 0,01269: Nombre de gramme d'Iode correspondant à 1ml de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  ;
- 100 : production en 100 g du corps gras.

### 5.5.5. Pourcentage des insaponifiables

Selon la méthode AFNOR (60-205-,1975), 5g d'huile a été mise dans une fiole munie d'un réfrigérant et additionné de 50 ml de KOH éthanolique (1N). On laisse bouillir pendant une heure, puis on ajoute 50 ml d'eau distillée on agitant. La solution est transvasée dans une ampoule à décanter, la fiole utilisée est rincée plusieurs fois avec un total de 50 ml d'hexane. Ensuite, une fois transvasés dans une ampoule qui sera bouchée, on agitera énergiquement pendant une minute. On la laisse reposer jusqu'à séparation complète des deux phases, puis on récupère la phase inférieure savonneuse pour la mettre dans une autre ampoule. La phase supérieure est lavée comme dans le premier cas deux fois avec 50 ml d'hexane. On récupérant la phase supérieure, après avoir rassemblé les phases supérieures dans une ampoule, on effectue trois lavages avec 25 ml d'une solution éthanol 10%. On récupère l'extrait lavé dans un ballon préalablement séché et pesé et on le chauffe au bain marie à 100°C pour éliminer le solvant. On termine le séchage de l'extrait à l'étuve à 103°C pendant 15 mn, puis on laisse refroidir dans un dessiccateur et on le pèse.

Le résidu est dissout dans 4ml d'oxyde diéthylénique auquel on ajoute 20 ml d'éthanol à 95 % puis quelques gouttes de phénolphtaléine et on titre avec une solution éthanolique de KOH (0,1N). Ce titrage sert à déterminer s'il y a présence d'acide gras libre dans le résidu ou non. Dans le cas d'un résultat négatif donné par le titrage, le pourcentage des matières insaponifiables s'exprime comme suite:

$$\%M_i = m_1 \times 100 / m_0$$

- %M<sub>i</sub> : Pourcentage de la matière insaponifiable ;
- m<sub>1</sub> : masse du résidu en g;
- m<sub>0</sub> : prise d'essai en g ;

Dans le cas où le titrage donne un résultat positif qui signifie la présence des acides gras libres provenant de l'hydroxyde de savon, le pourcentage de la matière insaponifiable s'exprime comme suite:

$$\% M_i = (m_1 - 0,28 \times T \times V) \times 100 / m_0$$

- V: volume de KOH ;
- T: titre de KOH.

### 5.6. Analyses des acides gras des huiles par la CPG

La chromatographie en phase gazeuse est une analyse qualitative et quantitative. Nous avons utilisé deux techniques différentes dont le but de déterminer et de confirmer la composition en acides gras des huiles des deux espèces d'acacia.

La première technique utilisée est celle de Tranchant et *al.* (1982), où les acides gras des huiles doivent être estérifiés avant l'analyse par la CPG. Cette analyse a été réalisée au niveau des laboratoires :

- Les laboratoires de police scientifique de la sûreté de la wilaya d'Oran et d'Alger;
- Laboratoire de contrôle de la qualité et la répression des fraudes d'Oran ;
- Laboratoire des analyses physicochimiques de Casa au Maroc.

La technique d'estérification consiste à mettre 2 gouttes d'huile dans un tube plus 1ml d'hexane avec une agitation de 2 secondes environ. Ensuite, introduire à l'aide d'une pipette un volume de soude méthanolique, boucher le tube, agiter pendant 10 secondes environ et porter au bain – marie à 50°C. Ajouter un volume d'acide chlorhydrique préparé dans du méthanol et laisser décanter. Injecter 0,2 µl de la phase surnageant dans la colonne de la CPG. Les acides gras sont identifiés sur la base de leurs temps de rétention et quantifiés au moyen des standards purs des esters méthyliques d'acides gras. Le chromatographe utilisé est de type Perkin Elmer Auto-System XL. Les paramètres de l'analyse sont :

- Colonne : Capillaire BPX70.
- Température de la colonne : 140 °C pendant 5 mn et 180 °C pendant 15 mn.
- Température d'injection 200 °C
- Température de détection 280 °C
- Détecteur FID
- Débit du gaz N<sub>2</sub> (15 ml/S).

La deuxième technique a été effectuée selon le mode opératoire d'AFNOR (1995). La technique utilisée pour l'identification et la quantification des esters d'acides gras libres consiste à mettre 0,2 g de l'huile dans 5 ml de solution alcoolique de KOH 2N plus 3ml du solvant isooctane (2,2,4-trimethylpentan) et 1g d'hydrogénosulfate de sodium monhydraté, agitation par un vortex et on laisse décanter quelques minutes selon les méthodes de AFNOR, (1986). 0,5 ml du surnageant avec 1,5 ml d'isooctane sont déposés dans des Vial pour l'injection dans le chromatogramme. L'appareil est de type Perkin Elmer Auto-System XL. Les chromatogrammes obtenus des deux huiles d'acacia seront reportés dans le chapitre suivant.

### 5.7. Analyse des tocophérols des huiles par HPLC

Les huiles d'*A. arabica* et *A. raddiana* ont été extraites par macération des poudres végétales des graines dans le solvant éther de pétrole à froid pendant 24h. Après, une filtration sur papier filtre et évaporation du solvant, 1g d'huile est dissout dans 10ml d'isooctane (2,2,4-triméthylpentan  $C_8H_{18}$ ) pour le dosage par HPLC de type RT-10A.L Shimadza. L'utilisation d'un détecteur à fluorescence, présente une grande spécificité qui permet l'injection directe des échantillons. Les longueurs d'onde optimales à l'excitation et à l'émission sont à 290/317nm. La colonne de HPLC est de silice et la phase mobile est un mélange des solvants isopropanol ( $C_3H_8O$ ) et isooctane (99,5 : 0,5v/v). Les chromatogrammes des deux espèces d'acacia seront présentés dans le prochain chapitre.

### 5.8. Activité antioxydante des huiles par le DPPH°

L'évaluation du potentiel anti-radicalaire est réalisé selon la méthode décrite par (Sanchez et al., 1998 ; Scherer et Godoy, 2009). Deux approches sont appliquées : d'une part la détermination de la réduction du radical DPPH° à un temps de référence (elle est définie par % RSA : Radical Scavenger Activity) ; et d'autre part le suivi de la cinétique de la réduction.

Dans un premier temps, la stabilité et l'intervalle de linéarité des solutions DPPH° ont été déterminés. Six concentrations de la solution méthanolique de DPPH° (50 à 250  $\mu\text{g/ml}$ ) ont été testées afin de choisir la concentration idéale de cette solution (Fig. 12).

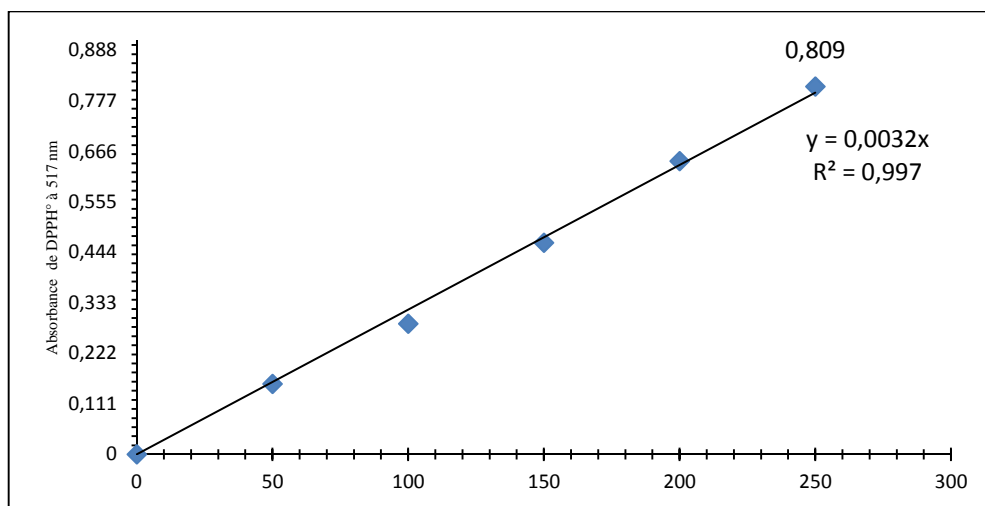


Fig. 12: Courbe de calibration de la solution DPPH°  $\mu\text{g/ml}$ .

La solution de DPPH° à 250 $\mu\text{g}/100\text{ml}$  est préparée, cette solution ne se conserve pas plus de 4 à 5 jours à  $-4^\circ\text{C}$  et l'obscurité. Les extraits des deux espèces d'acacia ont été préparés aux différentes concentrations (25 à 125 $\mu\text{g/ml}$ ) dans le même solvant. Des volumes de 0,1ml de chaque solution et concentration à tester ont été mélangés avec 3,5 ml de la solution DPPH° ( $DO = 0,809 \pm 0,001$  à 517nm). Le mélange est agité puis incubé à l'obscurité pendant un temps défini pour

atteindre le plateau d'équilibre. A des intervalles de temps réguliers, les absorbances à  $\lambda = 517$  nm ont été enregistrées contre le blanc par un spectromètre Shimadzu UV-VIS.

Les paramètres calculés de l'activité antioxydants sont :

- Pourcentage d'inhibition de % DPPH:  $(A_0 - A_1/A_0) \times 100$
- $A_0$  : Absorbance du blanc DPPH° dans le méthanol ;
- $A_1$  : Absorbance de l'échantillon d'essai.
- $IC_{50}$  : Concentration d'antioxydant pour réduire 50% du DPPH° en DPPHH ;
- $TIC_{50}$  : Temps nécessaire pour atteindre une concentration d'antioxydant égale à  $IC_{50}$  ;
- Efficacité anti radicalaire  $EAR = 1 / (IC_{50} \times TIC_{50})$ .

L'inhibition du radical libre DPPH° a été analysée par l'acide gallique comme solution de référence dans les mêmes concentrations et conditions opératoires.

## 6. Etude de l'activité biologique des huiles

### 6.1. Souches microbiennes

Quatre souches de collections ATCC bactériennes et deux souches fongiques ont été testées pour déterminer l'activité antimicrobienne des huiles brutes d'*A.arabica* et d'*A.raddiana*. Les souches bactériennes ATCC lyophilisées proviennent de l'institut Pasteur d'Alger par contre, les souches fongiques nous ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'institut vétérinaire de l'université de Tiaret et le laboratoire de microbiologie de l'université d'Oran (Tab.5).

Tableau 5 : Les caractéristiques principales des souches microbiennes utilisées.

Souches	Genre et espèce	Principales caractéristiques
Bactériennes	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 6633	Bacilles Gram +
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC11778	Bacilles Gram +
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862	Cocci Gram +
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bacille mobile Gram -
Fongiques	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 160404	Champignon
	<i>Candida albicans</i>	Levures

### 6.2. Milieux de cultures

Trois cinq de culture dont la composition est détaillée dans les tableaux 6 en annexe III ont été utilisés pour les souches bactériennes:

- le bouillon nutritif (BN),
- la gélose nutritive (GN),

- le milieu Mueller Hinton.

Pour les cultures fongiques nous avons utilisé :

- le milieu nutritif P.D (Pomme de terre dextrose),
- le milieu gélosé PDA (Pomme de terre Dextrose Agar) (Tab.6 en l'annexe III).

### 6.3. Préparation des dilutions des huiles

Des différentes gammes de dilutions des deux huiles d'*A. arabica* et *A. raddiana* ont été préparées dans 1 ml du solvant DMSO pour chaque germes (tab. 7).

Tableau 7: Les différentes concentrations des huiles utilisées pour les tests de l'activité antimicrobienne.

Concentrations des huiles en mg/ml $\times 10^{-3}$						
C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>
0	15,75	31,5	63	126	252	504
0	15,37	30,7	61,5	123	246	492
0	13,1	26,2	52,5	105	211,2	422,5
0	9,8	19,75	39	79	158	316

### 6.4. Préparation de l'inoculum

#### 6.4.1. Les bactéries

Les souches bactériennes indiquées dans le tableau 5 ont étéensemencées par stries sur un milieu gélosé dans des boites de pétrie de 9 cm pour préparer l'inoculum bactérien. Après 16 à 24 heures d'incubation à 37°C, trois à quatre colonies bien isolées sont prélevées et émulsionnées dans 5 ml de l'eau physiologique stérile en agite pendant quelques seconde au vortex. La standardisation de la suspension bactérienne est réalisé par un spectrophotomètre Shimadzu UV-VIS à une longueur d'onde de 600 nm contre une solution étalon Mac Farland jusqu'à l'obtention d'une DO de 0,1. Selon Mac Farland on admet une DO comprise entre 0,08 et 0,1 correspond à une concentration de  $10^7$  à  $10^8$  ufc/ml. A partir de cette concentration nous avons effectué des dilutions de suspension bactérienne de 1/10 dans l'eau distillée stérile afin d'avoir la concentration finale des bactéries de  $10^6$  UFC/ml (Joffin et leyrat, 1996 ; Jehl et *al.*, 2006).

#### 6.4.2. Les champignons

Dans des boites de pétrie contenant 20 ml de milieu PDA, des implants circulaires d'environ 6 mm de diamètre, le champignon filamenteux *Aspergillus niger* est déposé au centre des boites. Les précultures de *Candida albicans* ont été établies de la même façon que les bactéries en changeant le

milieu GN par PDA. Les précultures ont été incubées à 28°C pendant 48 heures pour *C. albicans* et à 25°C pendant 7 jours pour *Aspergillus niger*. A partir de deux à trois colonies de *C. albicans* des dilutions ont été effectuées afin de standardiser l'inoculum et d'obtenir des suspensions de spore de concentration finale de  $10^7$  ufc/ml. Pour *A. niger* un implant de quelques millimètres est dilué pour préparer un inoculum de  $10^7$  ufc/ml.

### **6.5. Tests de l'activité antimicrobienne**

Il existe différentes techniques pour étudier la sensibilité des germes vis-à-vis des substances antimicrobiennes. Pour tester les effets de l'huile d'*A. arabica* et d'*A. raddiana* sur les bactéries, nous avons utilisé deux techniques différentes la diffusion en milieu liquide et en milieu solide. Dans cette dernière technique nous avons utilisé deux méthodes différentes (méthode de disque et de puits).

#### **6.5.1. Méthode de diffusion en milieu liquide**

Des volumes de 1,5 ml ont été ajoutés de chaque dilution d'huile d'acacia déjà préparé dans des tubes contenant chacun 8,5 ml de bouillon nutritif et ensemencer avec 0,5 ml de suspension bactérienne  $10^6$  UFC/ml. Les cultures sont incubées à 37°C pendant 24 heures (Fig. 13). Des cultures bactériennes contenant que le solvant servent de témoins pour la lecture des résultats. Les résultats représentent la moyenne de Cinq répétitions pour chaque concentration d'huile.

Pour les souches fongiques les mêmes concentrations d'huiles ont été introduites en milieu dextrose de pommes de terre (PD). Un millilitre de suspension de spores ajusté à  $10^7$  CFU/ ml a été ajouté à chaque tube et incubé à 28°C pendant 48 heures pour *C. albicans* et à 25°C 7 jours pour *A. niger*. Le bouillon de dextrose de pomme de terre sans incorporation d'huiles et avec 1 ml de suspension de spores a servi de témoin positif. Cinq répétitions ont été effectués pour chaque test (Joffin et Leyral, 1996 ; Fernanda et al., 2007) (Fig. 13).

En outre, une évaluation des densités optiques des différentes cultures a été mesurée avant et après incubation par un spectrophotomètre Shimadzu UV-VIS à une longueur d'onde  $\lambda = 600$  nm (Fig. 13). La croissance des cultures bactériennes fongiques a été estimée à l'œil nu par une simple comparaison entre les cultures témoins en se basant sur l'apparition des troubles dans les cultures microbiennes et par la mesure des densités optiques des différentes cultures avant et après incubation.

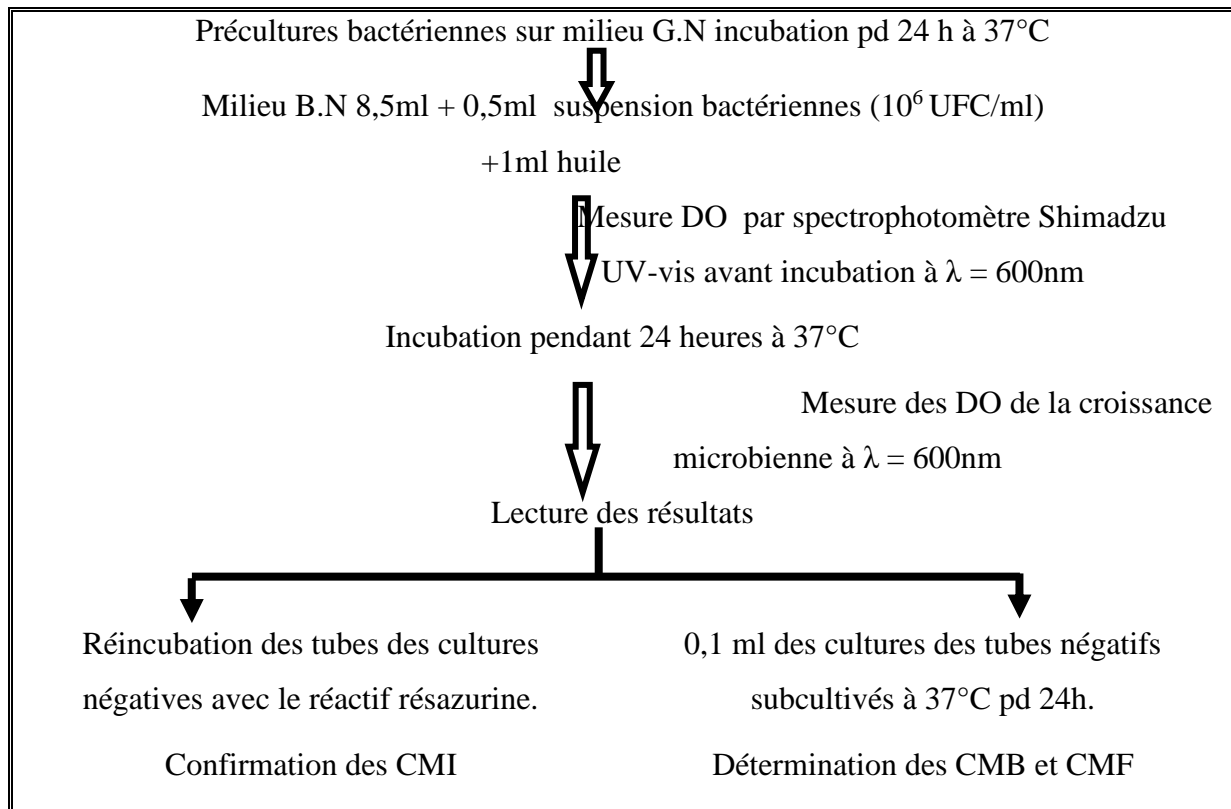


Fig. 13 : Test antibactérien par la technique de dilution en milieu liquide.

Les CMI détectées correspondent à la plus petite concentration d'huile qui ne produit pas de trouble dans le milieu de culture. Afin de confirmer les valeurs des CIM qui ont été déjà estimées une autre réincubation des tubes de cultures microbiennes négatives a été faite à la même température d'incubation durant un temps de 2 à 4 heures additionnées d'environ 0,05ml de réactif résazurine. Cet indicateur permet encore une fois de détecter la CIM qui correspond à la plus petite concentration d'huile qui ne produit pas le virage de la couleur de la résazurine.

Cependant, les concentrations minimales bactéricides et fongicides (CMB et CMF) ont été déterminées par une subculture de 0,1 ml des cultures négatives sur un milieu gélosé on respectant les temps et les températures d'incubation initiale. Les CMB et CMF correspondent à la plus petite concentration d'huile qui ne donne aucunes subcroissances observée (Fig. 13).

### 6.5.2. Méthode de diffusion en milieu solide

Deux méthodes différentes ont été utilisées pour mettre en évidence le pouvoir antimicrobien des deux huiles d'acacia.

- La première méthode est l'antibiogramme ou méthode de disque. Elle consiste à couler stérilement les milieux MH pour les souches bactériennes et PDA pour les souches fongiques dans des boîtes de pétri de 9 cm de diamètre, l'épaisseur du milieu doit être de 4 mm. Une fois les milieux solidifiés, 0,5 ml de la suspension bactérienne à la concentration 10<sup>6</sup> UFC/ml et

fongique à  $10^7$  UFC/ml ont été étalées en nappe sur leurs milieux de cultures appropriées. Après, trois disques en papier filtre de diamètre d'environ 6 mm, préalablement stérilisés et imprégnés de la solution d'huile à différentes concentrations ont été déposés à la surface du milieuensemencé. Le dépôt des disques doit être à 15 mm du bord de la boîte et distant entre eux pour éviter la fusion entre les zones d'inhibition. Ensuite, les cultures ont été incubées dans les mêmes conditions citées ci-dessus.

- La deuxième méthode dite de puits où les disques sont remplacés par des puits. Après la polymérisation du milieu et à l'aide d'un emporte pièce stérile on perfectionne des puits de 6 mm de diamètre. Ensuite, chaque puits est rempli de 15  $\mu$ l d'huile à une concentration donnée. Les puits témoins sont remplis du solvant.

La sensibilité des espèces bactériennes est estimée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne autour du disque ou le puits en mm après 24h d'incubation à  $T = 37^\circ\text{C}$  à l'aide d'une règle graduée.

Pour les souches fongiques et après incubation à  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 48 heures (*C. albicans*) et 7 jours (*A. niger*) les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres, y compris le disque de 6 mm. Le pourcentage d'inhibition (I%) a été aussi calculé selon la Formule suivante:

$$I\% = [dc-de/dc] \times 100$$

- %I : Pourcentage du taux d'inhibition ;
- dc : Diamètre moyen des cultures témoins ;
- de : Diamètre moyen des cultures en présence d'huile.

Les différents tests ont été réalisés cinq fois et les moyennes des valeurs des diamètres sont représentées dans les tableaux 32 à 54 en annexe II.

## 7. Analyse statistique

Les résultats des données du test de diffusion en milieu solide de l'activité antimicrobienne ont fait l'objet d'une analyse statistique de variance selon le test Newman-Keuls (ANOVA  $P < 0,05$ ). Ainsi une analyse de corrélation a été menée afin de mettre en évidence s'il existe une corrélation entre les diamètres des zones d'inhibitions de la prolifération microbienne et les concentrations des huiles confrontées pour chaque espèce microbienne.

# **Chapitre VI**

## **Résultats et discussion**

# **Propriétés phytochimique des huiles**

## VI. Résultats et discussions

### 1. Teneur en humidité des graines

L'opération de séchage des graines des deux espèces d'acacia est obligatoire, elle a révélé un pourcentage d'humidité chez *A. raddiana* légèrement supérieur par rapport à l'espèce *arabica* respectivement 0,32 % et 0,21% avec un temps de séchage de  $59 \pm 1$  (0,80 h) et  $48 \pm 0,71$  minute (0,99 h) (fig. 14).

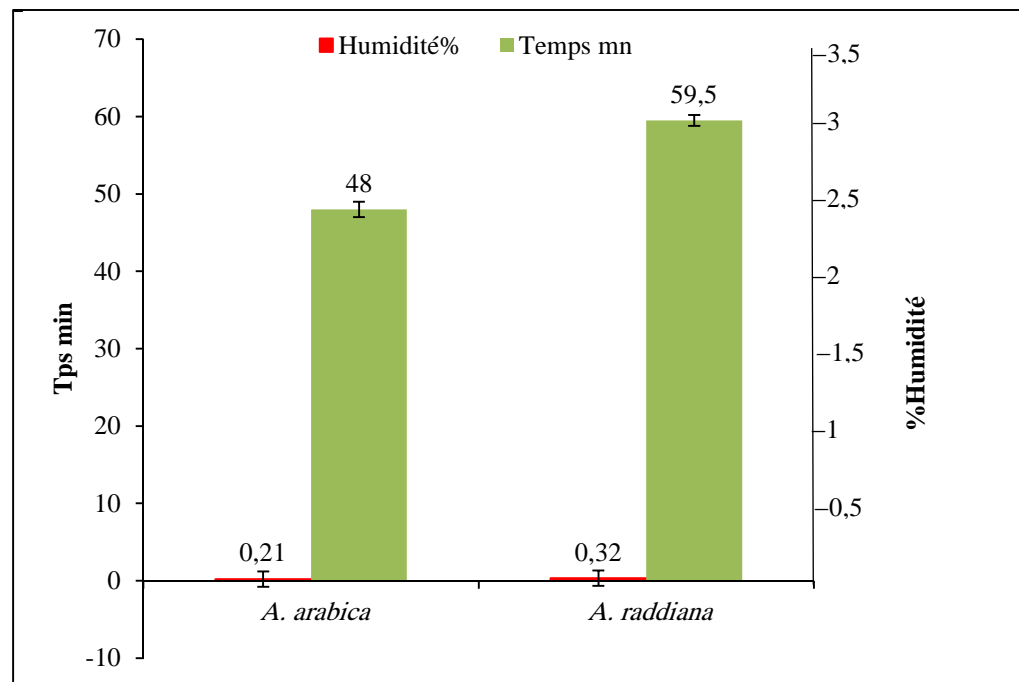


Fig. 14: Humidité (%) et le temps de séchage (heures) des graines d'acacia.

Cette différence est probablement liée à plusieurs facteurs tels que les facteurs biotiques et abiotiques. Comme tout organisme vivant les plantes contiennent de nombreuses enzymes. Ces dernières à la mort des plantes et si elles sont maintenues en milieu aqueux, elles vont entraîner de nombreuses réactions de dégradation qui ne seront plus compensées par des synthèses au sein de la cellule morte. Il survient donc une détérioration du contenu cellulaire qui a parfois comme conséquence la dénaturation totale des systèmes enzymatiques. Cela afin de conserver la composition chimique de certains composés fragiles et en même temps de faciliter l'extraction des huiles par les différents solvants organiques utilisés dans la prochaine opération.

## 2. Rendements des graines en huiles

La nature du solvant présente un facteur qui peut influencer les performances de l'extraction d'une manière significative. C'est pour cette raison on a utilisé trois solvants organiques différents à savoir l'acétone, l'hexane et l'éther de pétrole pour évaluer le rendement des graines en huile des deux espèces d'acacia, ainsi que leurs temps d'extraction (fig. 15 et 16). Les résultats obtenues présentes les observations suivantes :

- La plus forte concentration d'huile s'observe dans les graines d'*A. arabica*. Le pourcentage de rendement d'huile augmente respectivement de  $6,92 \pm 0,44$  %,  $10,05 \pm 0,18$  % à  $12,28 \pm 1,09$  % pour les solvants acétone, hexane et éther de pétrole. A l'inverse, leurs temps d'extraction diminuent au fur et à mesure de  $9,67 \pm 0,51$  à environ  $7 \pm 1,03$  heures (fig. 15).
- Les mêmes remarques sont enregistrées pour le pourcentage du rendement d'huile des graines de l'espèce *raddiana* vis-à-vis des solvants, sauf que, ce rendement reste plus faible par rapport à l'espèce *arabica*. Le temps d'extraction noté est presque identique pour chaque solvant (fig. 16).

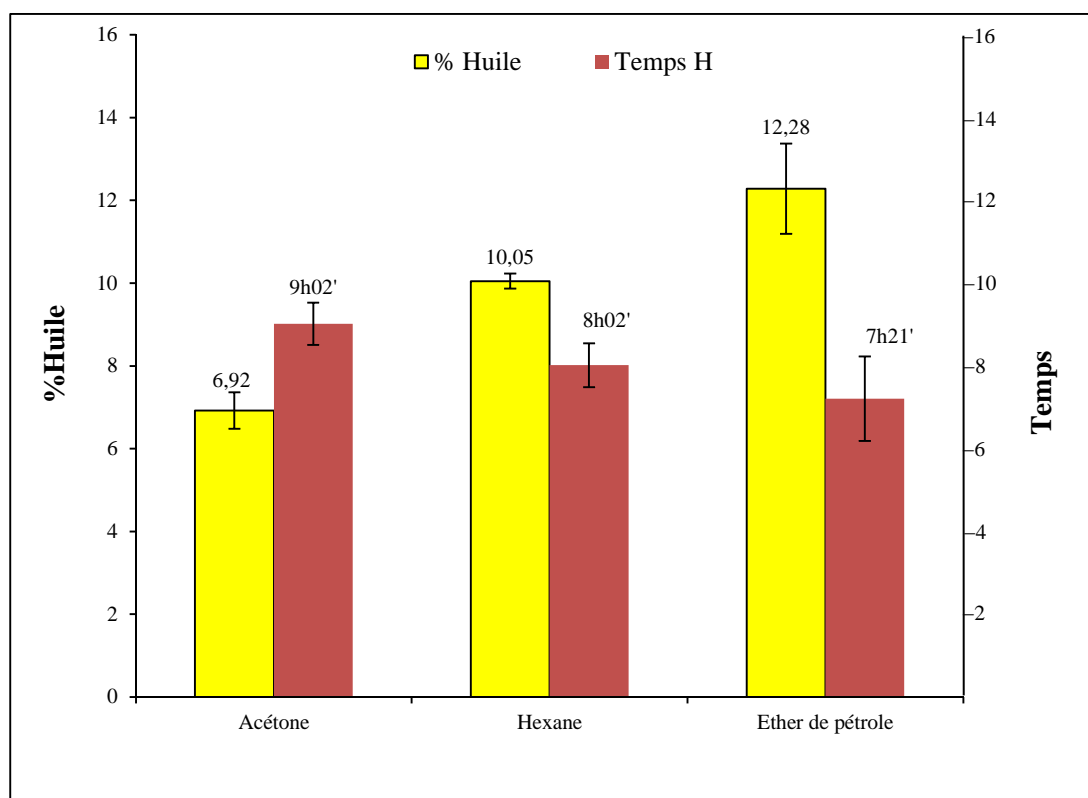


Fig. 15: Rendements des graines d'*A. arabica* en huile extraite par différents solvants.

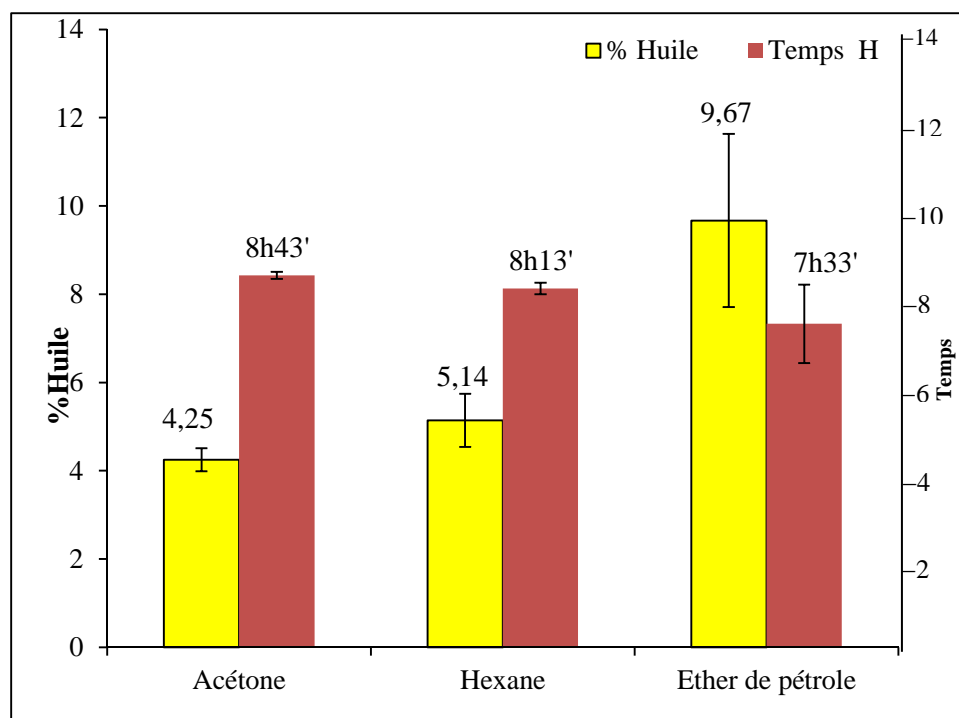


Fig. 16: Rendements des graines d'*A. raddiana* en huile extraite par différents solvants.

La teneur en huile extraite par l'hexane de l'espèce *arabica* algérienne ( $10,03\% \pm 1,48\%$ ) est deux fois supérieure à celle originaire de l'Inde dont sa teneur varie de 4 à 5% (Zaaka et al., 1986 ; Maity et Mandal, 1990). De même, les teneurs en huile de l'espèce *A. senegal* originaire du Pakistan voisine de l'*A. arabica* présente une faible teneur de 4,2 à 4,9% (Jamel et al., 1987 ; Benerji et al., 1988). Par contre, la teneur en huile des graines d'*A. arabica* se rapproche des teneurs obtenues sur d'autres espèces d'acacia d'origine australienne tels que *A. ligulata* et *A. lysiphloia* qui représentent respectivement 11 et 10% (Brown et al., 1987).

Par ailleurs, le résultat obtenu de l'espèce *raddiana* est légèrement supérieur ( $5,14\% \pm 1,65\%$ ) à celui obtenu par Benerji et al (1988) sur la même espèce d'origine d'Inde (3,3%). Cette variation entre les résultats obtenus et qui ont été rapportés dans les littératures en ce qui concerne le rendement d'huile des graines des deux espèces d'acacia semble être en relation avec plusieurs facteurs biotiques et abiotiques.

Les rendements des huiles des deux espèces d'acacia ainsi que leurs temps d'extraction restent intéressants de point de vue quantitatif comparativement à celui des graines d'*Argania spinosa* marocaines qui est un arbre non cultivable dont son huile est très connue et valorisée dans différents domaines. Cette espèce *spinosa* présente un rendement de 50% d'huile pour les amandes. Ce rendement diminue à 4,4% d'huile noté pour les amandes par rapport au fruit (Nada et al., 2003).

Nous avons constaté que les graines des deux espèces d'acacia sont rentables par rapport aux graines d'arganier.

Cependant, 100 Kg de graines d'acacia donnent environ 12,28 Kg d'huile équivalent de **14,53 l** d'huiles pour l'espèce arabica et 5 Kg d'huile environ **6,25 l** d'huiles pour l'espèce raddiana. En ce qui concerne l'espèce d'arganier 100Kg de graines renferment environ **3 l** d'huile (Charrouf, 1984, Bakel 2008, Abess et Douham 2009 ; Bentoumia et Belhouari, 2010). On voit clairement que la différence de rendement est très significative pour l'huile d'*A. arabica* qui présente environ trois fois le rendement des graines d'arganier en huile et le double pour le rendement des graines de l'espèce *A. raddiana*.

Suite à cette évaluation quantitative des rendements des graines en huiles nous pensons que les huiles de ces espèces non exploitée jusqu'à présent en Algérie doivent être analysées et évaluées qualitativement et quantitativement. Pour cette raison un ensemble des techniques physicochimiques a été utilisé pour l'évaluation de ses huiles dont les résultats seront discutés dans le prochain titre.

### 3. Les propriétés physicochimiques des huiles

Les résultats des analyses physicochimiques soulignent une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre certains paramètres mesuré tels que le pourcentage des phospholipides, l'indice d'acidité et l'indice d'iode (tab.8).

Tableau 8 : Paramètres physicochimiques des huiles de deux espèces d'acacia.

Propriétés physicochimiques	<i>A. arabica</i>	<i>A. raddiana</i>
Couleur	Jaune verdâtre	Jaune clair
Indice de réfraction $\eta^{20}_D$	1,4586 $\pm$ 0,0005 <sup>a</sup>	1,4626 $\pm$ 0,004 <sup>a</sup>
% Matière sèche	67,32 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	69,13 $\pm$ 1,77 <sup>a</sup>
Densité à 20°C	0,845 $\pm$ 0,001 <sup>a</sup>	0,799 $\pm$ 0,007 <sup>a</sup>
Viscosité mPa.s	28,67 $\pm$ 0,57 <sup>a</sup>	14,17 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>
% phospholipides	1,85 $\pm$ 0,76 <sup>a</sup>	0,70 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>
% insaponifiable	3,23 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	3,36 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>
% d'acidité	4,81 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>	0,93 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>
Indice d'acidité mg KOH/g	10,93 $\pm$ 1,16 <sup>a</sup>	1,4 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>
Indice saponification mg KOH/g	184,26 $\pm$ 1,55 <sup>a</sup>	168,53 $\pm$ 0,90 <sup>a</sup>
Indice de peroxyde meqO <sub>2</sub> /Kg	20 $\pm$ 0,86 <sup>a</sup>	14,16 $\pm$ 0,76 <sup>b</sup>
Indice d'iode meqO <sub>2</sub> /Kg	144,50 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>	155,26 $\pm$ 1,16 <sup>b</sup>

Test Newman-Keuls ( $P < 0,05$ ).

Nous remarquons à travers les résultats obtenus que :

- **Couleur** : Les huiles obtenues sont des lipides de couleur jaune verdâtre et jaune claire au jaune foncé (tab.8 ; photo 28 p.89). Par refroidissement, un précipité apparaît qui se redissout à la température 20-30°C, ce sont les impuretés qui varient entre 0,002 à 0,001% respectivement pour les espèces *arabica* et *raddiana*. Les deux huiles doivent leur coloration sûrement à la présence des pigments caroténoïdes qui n'ont pas été identifiées.
- **Indice de réfraction** : Les huiles ont des indices de réfraction avec des pourcentages élevés de matière sèche (tab.8). Cet indice croît avec l'insaturation et la longueur moyenne de la chaîne des acides gras (Cheftel et Cheftel, 1984).
- **Densité** : On a remarqué que l'huile d'A. *raddiana* a une masse volumique légèrement faible par rapport à l'huile de l'espèce *arabica* (tab.8). La masse volumique d'une huile augmente avec la longueur moyenne des chaînes d'acides gras (Cheftel et Cheftel, 1984).
- **Viscosité** : Les huiles ont une viscosité basse soit 20 mPa.s et 14 mPa.s respectivement pour l'espèce *arabica* et *raddiana*. Cette faible viscosité est un bon indicateur de la fluidité des deux huiles qui vient de confirmer les deux analyses précédentes en ce qui concerne l'insaturation. Cependant, ces valeurs de viscosité obtenues sont en accord avec les valeurs limites fixées par les normes AFNOR (1995) des corps gras.
- **Pourcentage des phospholipides** : Cette analyse a souligné une différence significative dont le faible pourcentage des phospholipides a été enregistré pour l'huile d'A. *raddiana* ( $0,70 \pm 0,17\%$ ) (tab.8). Les valeurs obtenues des phospholipides se rapprochent des valeurs recommandées par le Codex Alimentarius pour les huiles végétales alimentaires.
- **Pourcentage des insaponifiables** : On a noté que l'huile des deux espèces d'acacia est bien pourvue des fractions insaponifiables de l'ordre d'environ 3g pour 100 g d'huile (tab.8). Cette fraction confère aux huiles le critère de bonne qualité surtout lorsqu'il s'agit des tocophérols ce qu'on appelle la vitamine E. Une huile riche en insaponifiables signifie qu'elle est riche en substances nobles tels que les tocophérols, les stérols etc.
- **Indice d'acidité** : On a constaté que l'huile d'A. *arabica* a un indice d'acidité presque dix fois plus élevé (tab.8). Cette valeur est supérieure à la norme fixée par AFNOR (1995) ou le Codex Alimentarius pour les huiles raffinées alimentaires et qui reste inférieure à 1%. Ce critère ne permet pas en revanche de conclure s'il s'agit d'acides gras oxydés ou non. Sachant que les acides gras libres oxydés présentent le même intérêt nutritionnel que les acides glycéridiques non oxydés (Rossignol-Castera et al., 2005).

- **Indice de saponification** : L'huile d'*A. arabica* a présenté une valeur supérieure de 16 mg KOH/g par rapport à l'espèce *raddiana* (tab.8). On peut dire que cette différence est probablement liée à la valeur de l'acidité obtenue chez l'espèce *arabica* et qui a montré une augmentation importante.
- **Indice de peroxyde** : On a remarqué que l'indice de peroxyde de l'espèce *raddiana* est de 14 meqO<sub>2</sub>/Kg, valeur qui reste recommandé par les normes des corps gras végétaux. Par contre l'espèce *arabica* a présenté une valeur de 20 meqO<sub>2</sub>/Kg considérée comme une valeur limite max à ne pas dépasser pour certaines huiles végétales.
- **Indice d'iode** : Les deux huiles d'acacia ont un indice d'iode élevé 144,50 ± 0,50 et 155,26 ± 1,16meqO<sub>2</sub>/Kg de corps gras respectivement pour l'espèce *arabica* et *raddiana*. Cela affirme que les deux huiles sont riches par les acides gras insaturés.

D'une manière générale, en ce qui concerne les résultats des propriétés physicochimiques des huiles obtenues nous avons constaté une forte concordance entre elles.

En parallèle, nous avons établi une comparaison entre les résultats trouvés avec ceux rapportés dans la littérature sur certains paramètres physicochimiques des huiles d'*A. arabica* et *raddiana* de différentes origines voire le tableau 9.

Tableau 9 : Comparaison des propriétés physicochimiques des huiles de trois variétés d'*A.*

*arabica* originaire de l'Inde avec les deux espèces algériennes

Indices physicochimiques	<i>A. Arabica Teliababul</i>	<i>A. arabica Vediana</i>	<i>A. arabica Cupressiformis</i>	<i>A. arabica Algérie</i>	<i>A. raddiana Algérie</i>
$\eta^{20}_D$	/	/	/	/	/
D à 20°C	/	/	/	/	/
ViscmPa.s	/	/	/	/	/
%Ins	1,8	1,9	2,0	3,23	3,36
IA mgKOH/g	/	/	/	/	/
IS mgKOH/g	201	200	199	184	168
IP meqO <sub>2</sub> /Kg	/	/	/	/	/
II meqO <sub>2</sub> /Kg	116	108	114	144	155
Références	Hosamani <i>et al.</i> , 2002			Tissouras, 2013	
$\eta^{20}_D$ : Indice de réfraction ; D : densité ; Visc : Viscosité ; %Ins : Pourcentage des insaponifiables ; IA : Indice d'acidité ; IS : Indice de saponification ; IP : Indice de peroxyde ; II : Indice d'iode.					

Nous avons remarqué que les indices de saponification évalués sont légèrement faibles à ceux obtenus par Hosamani *et al.* (2002), à l'exception de la teneur des insaponifiables et l'indice d'iode qui présentent des valeurs un peu plus élevée (tab.9). Cette différence indique que les huiles d'acacias algériennes sont plus riches en acides gras insaturés et cette suggestion sera confirmée

ultérieurement par la CPG. Nous pouvons dire que cette variation notée peut être attribuée à divers facteurs tels que le climat, la pédologie du sol, le génotype des espèces etc.

A titre indicatif, nous avons relevé les propriétés physicochimiques de quelques normes des huiles brutes extraites des plantes oléagineuses (tab.10).

Tableau 10: Caractéristiques physicochimiques de quelques huiles végétales brutes (AOCS Cd, 1987).

Huiles	Caractéristiques physicochimiques							
	$\eta^{20}_D$	D g/ml	Visc mPa.s	% Ins	I <sub>A</sub> mgKOH/g	I <sub>S</sub> mgKOH/g	I <sub>P</sub> meqO <sub>2</sub> /Kg	I <sub>I</sub> meqO <sub>2</sub> /Kg
Tournesol	1,461- 1,468	0,918- 0,923	31,3	≤ <b>1,5</b>	0,6	188-194	≤10	<b>118-141</b>
Arachide	1,460- 1,465	0,914- 0,917	84	≤ 1,0	0,08-6	187-107	≤ 15	86-107
Mais	1,465- 1,468	0,917- 0,925	65-72	≤ <b>2,8</b>	≤	187-195	5-7	107-135
Coton	1,458- 1,466	0,918- 0,926	-	≤ 1,5	-	189-198	≤ 15	100-115
Soja	1,466- 1,468	0,919- 0,925	57-76	≤ 1,5	0,44	189-195	5,1	124-139
Colza	<b>1,465- 1,469</b>	0,910- 0,920	98	≤ <b>2,0</b>	2	<b>168-181</b>	≤ 15	94-120
Palme	1,458- 1,460	<b>0,899- 0,920</b>	-	≤ 1,3	10	194-202	≤ 15	≥ 56
Carthame	<b>1,467- 1,470</b>	0,922- 0,927	52-75	≤ <b>1,5</b>	0,086-6	<b>186-198</b>	4,5-5	<b>136-148</b>
Pépins de raisin	1,473- 1,477	0,923- 0,926	-	≤ <b>2,0</b>	-	188-194	-	130-138
Moutard	1,461- 1,469	0,910- 0,921	-	≤ <b>1,5</b>	-	170-184	≤ 15	92-125
<i>A. arabica</i>	1,4586	0,845	28,67	3,23	10,93± 1,16	184,26	20 ± 0,86	144,50
<i>A.raddiana</i>	1,4626	0,799	14,17	3,36	1,4 ± 0,26	168,53	14,16 ± 0,76	155,26
$\eta^{20}_D$ : Indice de réfraction ; D : densité ; Visc : Viscosité ; %Ins : Pourcentage des insaponifiables ; I <sub>A</sub> : Indice d'acidité ; I <sub>S</sub> : Indice de saponification ; I <sub>P</sub> : Indice de peroxyde ; I <sub>I</sub> : Indice d'iode ; - : Données à fournir								

Nous avons constaté que les valeurs limites fixées par les normes AOCS (1987) de certains paramètres physicochimiques indiquées pour les huiles de carthame, de colza et de maïs sont comparables à ceux des acacias obtenus. Il ressort de ces valeurs que l'huile des deux espèces d'acacia est une huile non siccative, riche en acides gras insaturés. A l'instar de la plupart des huiles végétales (palme, arachide), les huiles d'*A. arabica* et *raddiana* renferment des teneurs insaponifiables importantes (3%). Néanmoins, nous observons un grand écart pour certains paramètres physiques (ex : densité, indice de saponification, etc.).

Les résultats physicochimiques obtenus expérimentalement représentent des critères de pureté et de qualité pour les huiles. Toutefois, ils restent insuffisants pour leurs identifications ce qui nous a poussé à faire des analyses chromatographiques en phase gazeuse afin de déduire la composition des acides gras ce qui fera aussi l'objet de la discussion suivante.

#### 4. La composition en acide gras des huiles

Les chromatogrammes analytiques des huiles d'*A. arabica* et d'*A. raddiana* obtenus par la CPG révèlent 10 pics (fig. 17 et 18 en annexe). L'identification de ces pics a été réalisée par des composés authentiques de références et par comparaison des temps de rétention de chaque pic avec des échantillons dans les mêmes conditions. Les figures 19 et 20 donnent le pourcentage moyen relatif de la composition en acides gras et le temps de rétention de chaque pic identifié.

Huit composés sur les dix détectés ont été identifiés, soit 80% de la composition des huiles étudiés. Les figures montrent clairement que l'huile des deux espèces d'acacia est constituée d'acides gras polyinsaturés et mono insaturés dont l'acide linoléique C18:2 (47,89% et 51,58%) prédomine suivi de l'acide oléique (26,09% et 27,47%) respectivement observé chez l'espèce *arabica* et *raddiana*.

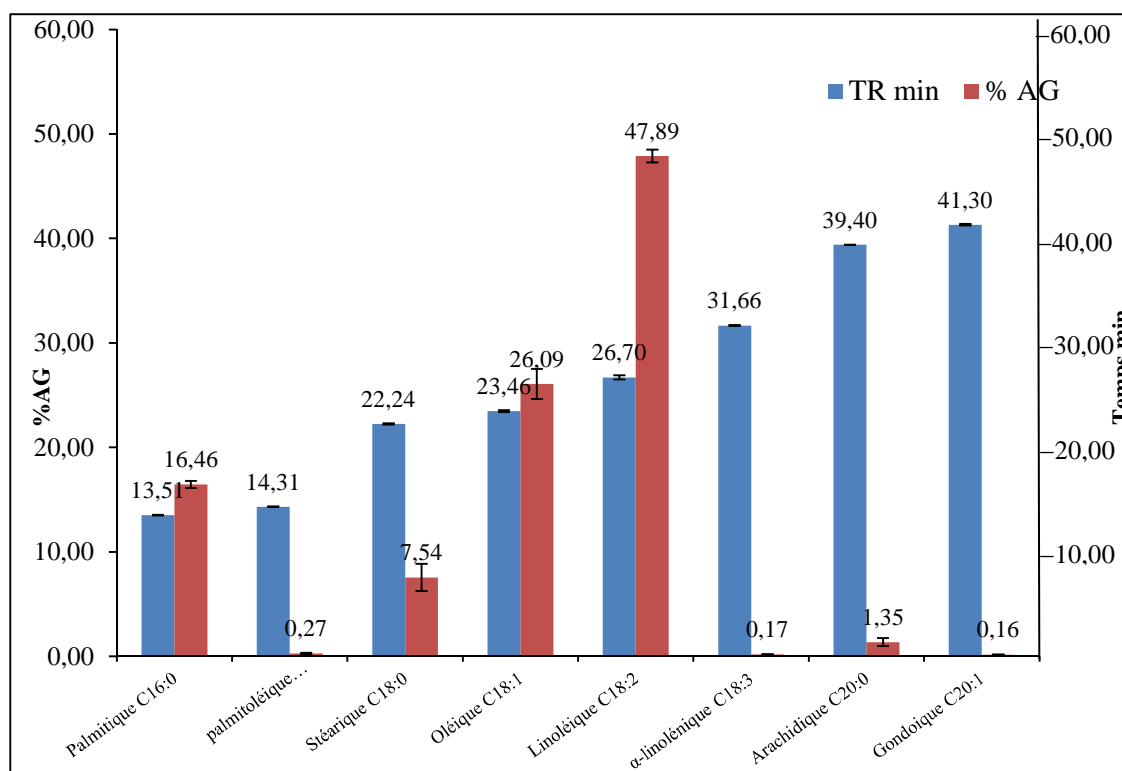


Fig. 19: Histogramme en % de la composition en acides gras de l'huile d'*A. arabica*.  
TR: Temps de rétention en minute; AG: % Acide gras.

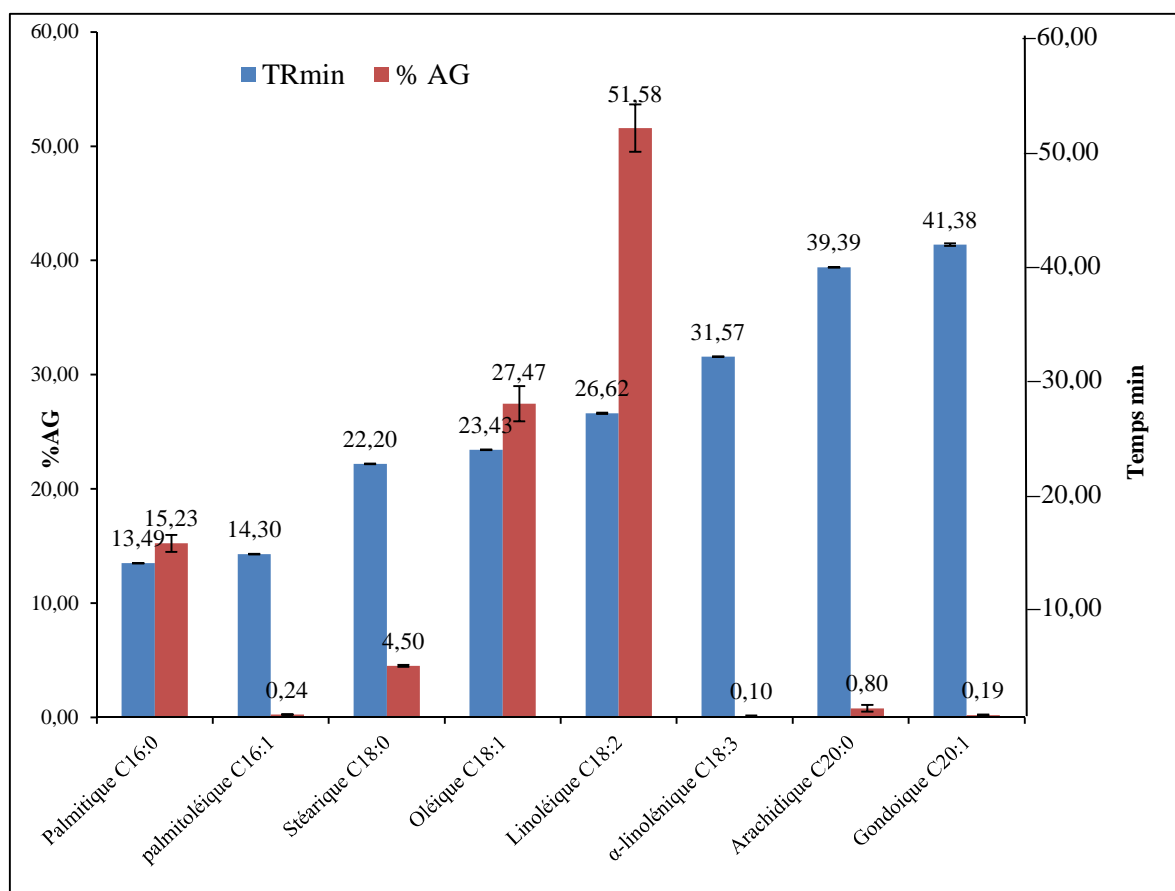


Fig. 20: Histogramme du % de la composition en acides gras de l'huile d'*A. raddiana*.

TR: Temps de rétention en; AG: % Acide gras

Selon des travaux récents de Salas-Salvadó *et al.* (2006), effectués sur l'acide linoléique conjugué de certaines huiles animales et d'après aussi une étude publiée en décembre 2000 par des chercheurs scandinaves sur le même acide gras confirment que les isomères géométriques et positionnels de C18:2 sont biologiquement actifs (Anonyme, 2009). Ils inhibent la cancérogenèse à des basses concentrations et ils présentent des intérêts biologiques en nutrition (Kelly et Bauman, 1996 ; Blankson *et al.*, 2000 ; Troegeler-Meynadier et Enjalbert, 2005). Nous soupçonnons que ses isomères sont présents dans les deux huiles étudiées suite à des observations préliminaires soulignées et quelques études « *in vivo* » qui sont en cours de réalisation sur l'effet métabolique des lipides chez les rats. Malheureusement, le manque de moyens tels qu'IR et RMN nous ont empêchés de caractériser le type des isomères qui peuvent exister pour l'acide C18:2 dans les huiles extraites. Ces techniques auraient facilité l'identification et la configuration de leurs isomères.

Les chromatogrammes obtenus ont révélés également la présence de 20% d'acides gras saturés dont l'acide palmitique C16:0 en teneur élevée (16,46% et 15,23%) suivi de l'acide stéarique avec une faible teneur. Les autres acides gras saturés comme le C20 :0 et C22: 0 sont d'ordre de trace. Cependant, les huiles riches en acides saturés sont critiquées par l'augmentation du taux du mauvais cholestérol. Certes, ces acides ont d'autres qualités comme une meilleure stabilité à l'oxydation et une plus grande flexibilité.

Suite à ses résultats trouvés, nous avons effectué des recherches bibliographiques sur la composition des huiles des deux espèces d'acacia en Algérie et dans différentes pays du monde afin de se situer. Aucune publication sur ce sujet n'a été réalisée en Algérie à l'exception du travail que nous avons présenté en 2004 (Tissouras, 2004). Entre autre, quelques études sur les huiles des graines d'*A. arabica* et d'*A. raddiana* d'origine tropicale et australienne ont été rapportées par des équipes indienne et pakistanaise. A titre indicatif leurs résultats ont fait l'objet d'une comparaison voir le tableau 11 ci-dessous.

Tableau 11 : Composition en acide gras des huiles de graines d'*A. arabica* et *A. raddiana* d'origines différentes

Huiles Acide gras	<i>A. arabica</i> Inde	<i>A. arabica</i> Pakistan	<i>A. nilotica</i> Inde	<i>A. raddiana</i> Inde	<i>A. victoriae</i> Australie	<i>A. arabica</i> Algérie	<i>A. raddiana</i> Algérie
<b>C16 :0</b>	<b>14,6</b>	<b>18,9</b>	<b>24,1</b>	<b>9,5</b>	<b>8</b>	<b>16,46</b>	<b>15,23</b>
<b>C16 :1</b>	Trace	Trace	Trace	0,1	Trace	0,27	0,24
<b>C17 :0</b>	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace
<b>C17 :1</b>	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace
<b>C18 :0</b>	6,2	12,4	5,8	2,4	2	7,54	4,50
<b>C18 :1</b>	<b>32,2</b>	<b>40,2</b>	<b>25,4</b>	<b>6,1</b>	<b>27</b>	<b>26,09</b>	<b>27,47</b>
<b>C18 :2</b>	<b>27,4</b>	<b>39,2</b>	40,3	2	<b>52</b>	<b>47,89</b>	<b>51,58</b>
<b>C18 :3</b>	Trace	3,1	<b>0,4</b>	<b>71,7</b>	1	0,17	0,10
<b>C20 :0</b>	Trace	Trace	0,9	1,1	2	1,35	0,8
<b>C20 :1</b>	Trace	Trace	3,1	0,2	2	0,16	0,19
<b>C20 :2</b>	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace
<b>C22 :0</b>	Trace	Trace	Trace	Trace	4	Trace	Trace
<b>∑AGMIS %</b>	32,2	40,2	29,4	6,4	27	26,52	27,9
<b>∑AGPIS %</b>	27,4	42,3	40,7	73,7	53	48,06	51,68
<b>∑AGS %</b>	<b>20,8</b>	<b>≤ 31,3</b>	<b>≤ 29,9</b>	<b>13,1</b>	<b>16</b>	<b>25,35</b>	<b>20,53</b>
<b>∑AGIS %</b>	<b>68,2</b>	<b>≤ 82,5</b>	<b>≤ 70,6</b>	<b>83,1</b>	<b>80</b>	<b>74,58</b>	<b>79,58</b>
<b>Références</b>	Zaka et al., 1986	Maity et al., 1990	Jamal et al., 1987	Banerji et al., 1988	Brown et al., 1987	Tissouras, 2013	
∑AGS % : Acides gras saturés Totaux ; ∑AGIS % : Acides gras insaturés Totaux ; ∑AGMIS % : Acides gras monoinsaturés ; ∑AGPIS % : Acides gras polyinsaturés; <b>Trace</b> : Quantité faible ≤ 0,05 ; <b>ND</b> : non détectable ≤ 0,01							

Les variations observées dans la composition en acides gras peuvent être dues à différents facteurs et notamment à la provenance géographique et l'effet du climat en particulier la pluviosité. Il a été rapporté que le taux des acides gras saturés et surtout l'acide palmitique et stéarique

augmente lorsque on passe de la plaine vers les haut plateaux et le taux des acides gras insaturés enregistre une augmentation avec la pluviosité et l'altitude (Nada et *al.*, 2003). Cela peut expliquer les taux des acides gras saturés (25,35%; 20,53%) et insaturés (74,58% ; 79,58%) élevés enregistré pour les deux huiles d'acacias algériennes par rapport aux autres origines à l'exception *A. nilotica* (tab. 11).

Néanmoins, ces résultats restent controversés, bien qu'il existe peu d'études n'arrivant pas à mettre en évidence cet effet. D'autre part, cette variation dans la composition des acides gras peut être aussi attribuée à la variabilité génétique des deux espèces d'acacia et même à l'interaction entre les différents facteurs déjà discutés et le génotype des plantes.

Après cette comparaison entre les résultats des mêmes espèces d'acacia d'origines différentes, nous avons établi une deuxième comparaison de la composition en acides gras avec quelques huiles brutes de différentes plantes. Le tableau ci-dessous résume la composition en acides gras de quelques huiles végétales alimentaires et industrielles selon les normes AOCS.

A travers le tableau de comparaison des différentes huiles alimentaires (tab. 12), nous avons constatés une forte correspondance entre les compositions en acides gras des huiles d'*A. arabica* et d'*A. raddiana* avec celles de Tournesol, Mais, Soja et Coton (tab.12). La composition en acide gras de ces huiles présente une forte teneur en acide gras linoléique C18:2 et oléiques C18:1 identique à celle des deux espèces d'acacia étudiée. Par contre, l'arachide et le colza présentent une insaturation des huiles qui est dominée par l'acide oléique C18:1 suivie de linoléique C18:2 (tab. 12).

En parallèlement, nous avons notés les mêmes observations pour les acides gras saturés dont leurs teneurs varient de 5,6 à 14,6 % pour les espèces tournesol, arachide, coco, colza et maïs (tab. 12).

De ce fait, nous pouvons distinguer que les résultats obtenus sur la composition en acide gras des deux huiles d'acacia prédestinées à des usages alimentaires puisque le rapport des acides gras polyinsaturés et saturés est noté de **2,9** et **3,87** respectivement chez l'espèce *arabica* et *raddiana*. Les rapports recommandés sont situés entre 3 à 4 (Troegeler-Meynadier et Enjalbert, 2005). Nos résultats sont compris dans cet intervalle recommandé.

A l'instar de la plupart des huiles végétales, les huiles d'acacia extraites renferment environ 74,4% et 79,58% des acides gras insaturés totaux, ces derniers présentent des doubles liaisons dont la position sur les acides gras est variable qui ont été déjà signalées dans les analyses physicochimiques par les valeurs élevées de l'indice de réfraction et de l'indice d'iode. La présence des doubles liaisons rendent les acides gras beaucoup plus instables, ce qui favorise leurs oxydations et altérations rapides et diminuent leurs durées de conservation.

Tableau 12 : Comparaison de la composition en acides gras de quelques huiles végétales brutes

Selon la norme UICPA (2.301, 2.302 et 2.304) avec les deux espèces d'acacia.

Acides gras	Tourne sol	Arachide	Maïs	Coton	Soja	Colza	Palme	Coco	A. arabica	A. raddiana
<b>C6:0</b>	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	ND 0,6	-	-
<b>C8:0</b>	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	4,6-9,4	-	-
<b>C10:0</b>	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	5,5-7,8	-	-
<b>C12:0</b>	ND 0,1	ND 0,1	ND 0,3	ND 0,2	ND 0,1	-	ND	<b>45,1-50,3</b>	-	-
<b>C14:0</b>	ND 0,2	ND 0,1	ND	0,6-1,0	ND 0,1	0,2	0,5-2,0	<b>16,8-20,6</b>	-	-
<b>C16:0</b>	<b>5,6-7,6</b>	<b>8,3-14,0</b>	<b>8,6-16,5</b>	<b>21,4-26,4</b>	<b>8,0-13,3</b>	<b>1,5-6,0</b>	<b>40,1-47,5</b>	<b>7,7-10,2</b>	<b>16,46</b>	<b>15,23</b>
<b>C16:1</b>	ND	ND 0,2	ND	ND 1,2	ND 0,2	ND-3,0	ND 0,6	ND	0,27	0,24
<b>C17:0</b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	ND	Trace	Trace
<b>C17:1</b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	ND	Trace	Trace
<b>C18:0</b>	2,7-6,5	1,9-4,4	ND 3,3	2,1-3,3	2,4-5,4	0,5-3,1	3,5-6,0	2,3-3,3	7,54	4,50
<b>C18:1</b>	<b>14,0-39,4</b>	36,4-67,1	<b>20,0-42,2</b>	<b>14,7-21,7</b>	<b>17,7-26,1</b>	8-60	<b>36,0-44,0</b>	5,4-8,1	<b>26,09</b>	<b>27,47</b>
<b>C18:2</b>	<b>48,3-74,0</b>	14,0-43,0	<b>39,4-65,6</b>	<b>46,7-58,2</b>	<b>49,8-57,1</b>	11-23	<b>6,5-12,0</b>	1,0-2,1	<b>47,89</b>	<b>51,58</b>
<b>C18:3</b>	ND	ND 0,1	0,5-1,5	ND 0,4	5,5-9,5	5-13	ND 0,5	ND 0,2	0,17	0,10
<b>C20:0</b>	0,2-0,4	1,1-1,7	0,3-0,7	0,2-0,5	0,1-0,6	ND 3,0	ND 1,0	ND 0,2	1,35	0,8
<b>C20:1</b>	ND 0,2	0,7-1,7	0,2-0,4	ND 0,2	ND 0,3	3-15	-	ND 0,2	0,16	0,19
<b>C20:2</b>	ND	ND	ND 0,1	ND 0,2	ND 0,1	ND 1,0	-	ND	Trace	Trace
<b>C22:0</b>	0,5-1,3	2,1-4,4	ND 0,5	ND 0,2	0,3-0,7	ND 2,0	-	ND	Trace	Trace
<b>C22:1</b>	ND 0,2	ND 0,3	ND 0,1	ND	ND 0,3	2-6,0	-	ND	-	-
<b>C22:2</b>	ND 0,3	ND	ND	ND	ND	ND 2,0	-	ND	-	-
<b>C24:0</b>	0,2-0,3	1,1-2,2	ND 0,4	ND	ND 0,4	ND 2,0	-	ND	-	-
<b>C24:1</b>	ND	ND 0,3	ND	ND	ND	ND 3,0	-	ND	-	-
<b>∑AGMIS %</b>	14-39	36-67	20-42,2	14,7-21,7	17-26,1	8-60	36-44	5-8	26,52	27,9
<b>∑AGPIS %</b>	48,6-74,7	14-43	39-65,6	46,7-58,2	49-57,1	11-23	6-12	1-2	48,06	51,68
<b>∑AGS %</b>	<b>9,2-16,3</b>	<b>8-14</b>	<b>8-16,5</b>	<b>21,4-26,4</b>	<b>8-13,3</b>	<b>1-6</b>	<b>40-47,5</b>	<b>80-98</b>	<b>25,35</b>	<b>20,53</b>
<b>∑AGIS %</b>	<b>62-75</b>	<b>57-67</b>	<b>59-85</b>	<b>60-71,7</b>	<b>66-83,2</b>	<b>19-83</b>	<b>42-56</b>	<b>6-10</b>	<b>74,58</b>	<b>79,58</b>

**AG** : Acide gras ; Données à fournir **∑AGS %** : Acides gras saturés Totaux ; **∑AGIS %** : Acides gras insaturés Totaux ; **∑AGMIS %** : Acides gras monoinsaturés ; **∑AGPIS %** : Acides gras polyinsaturés; **Trace** : Quantité faible ≤ 0,05% ; **ND** : non détectable ≤ 0,01%.

Nous avons remarqué durant les analyses physicochimiques que la teneur des insaponifiables était élevée ce qui ne laisse prédire que la présence des acides gras polyinsaturés est protégée par ses fractions insaponifiables qui sont lipophiles et antioxydantes.

Cela nous a poussés vers la réflexion suivante :

- Quel est le taux des tocophérols dans les huiles d'*A. arabica* et d'*A. raddiana* ?
- Quelle est la composition chimique de ses tocophérols ?

L'évaluation des tocophérols ont été réalisées par la technique de HPLC et les réponses sur les différentes questions seront discutées dans le prochain paragraphe.

### 5. La composition en tocophérols des huiles

Les chromatogrammes obtenus par HPLC indiquent que les deux huiles d'acacia présentent une forte concentration des fractions insaponifiables tocophérols totaux  $71,47 \pm 1,32$  mg/100g d'huile et  $86,49 \pm 0,34$  mg/100g d'huile respectivement pour l'espèce *arabica* et *raddiana* (Fig. 21 et 22 en annexe).

Ses chromatogrammes présentent 20 pics pour l'espèce *arabica* et 24 pour l'espèce *raddiana* (Fig. 21 et 22) dont nous avons identifié les 4 pics principaux qui représentent des teneurs élevées du  $\gamma$ -tocophérol ( $33,46 \pm 1,88\%$  et  $55,25 \pm 1,07\%$ ), suivi de  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\delta$ -tocophérol respectivement pour l'espèce *arabica* et *raddiana* (Fig. 23).

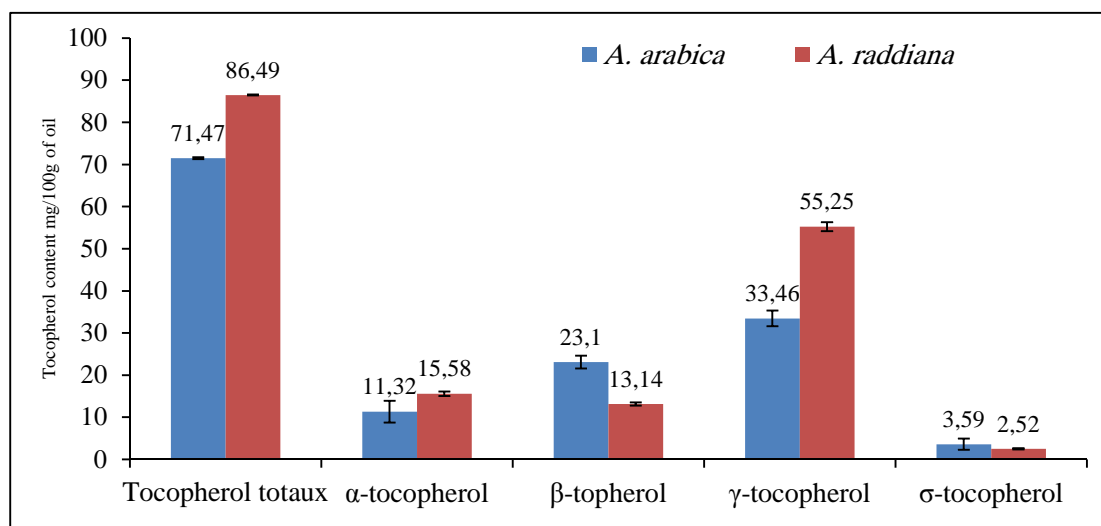


Fig. 23: Teneurs moyennes des tocophérols des huiles des graines des deux espèces d'acacia.

Les temps de rétention varient respectivement de 5 à 11 minutes pour les  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$  et  $\delta$ -tocophérol. D'autres antioxydants sont présents dans les deux huiles d'acacia en quantité très faibles dont ils n'étaient pas identifiés (fig. 21 et 22). Ces fractions insaponifiables sont

probablement les tocotriénols. Les valeurs des tocophérols obtenus comparées à la teneur en tocophérols de quelques huiles végétales comme le tournesol et le carthame montrent que les deux huiles d'acacia sont bien pourvues en tocophérols (tab.13).

Cependant, les valeurs des tocophérols des huiles d'acacia entrent dans les normes des huiles végétales de l'arachide, le maïs, le coton, le soja et le colza dont elles présentent une prédominance de gamma tocophérols suivie d'alpha et bêta-tocophérols comme les huiles d'acacia (tab. 13).

Tableau 13: Comparaison de la composition des tocophérols et tocotriénol de quelques huiles végétales brutes (UICPA 2.432) avec ceux des deux d'acacia Algérienne.

Tocophérols mg/Kg	Tournesol	Arachide	Maïs	Coton	Soja	Colza	Carthame	A. arabica	A. raddiana
$\alpha$ -tocophérol	403-935	49-373	23-573	136-674	9-352	100-386	234-660	110,32	150,55
$\beta$ -tocophérol	ND-45	ND-41	ND-356	ND-29	ND-36	ND-140	ND-17	230,2	13,14
$\gamma$ -tocophérol	ND-34	88-389	268-2468	138-746	89-2307	189-753	ND-12	330,45	550,25
$\delta$ -tocophérol	ND-7,0	ND	23-75	ND-21	154-932	ND-22	ND	30,59	20,52
$\alpha$ -tocotriénol	ND	ND	ND-239	ND	ND-69	ND	ND	ND	ND
$\gamma$ -tocotriénol	ND	ND	ND-450	ND	ND-103	ND	ND-12	ND	ND
$\delta$ -tocotriénol	ND	ND	ND-20	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Tocophérol total</b>	447-1514	176-1291	331-1185	388-1185	601-3363	438-2680	246-664	710,47	860,49
ND : Non détecté, défini comme $\leq 0,05\%$ ; Note l'huile de maïs contient également ND-52 mg/kg de bêta tocotriénol									

Toutefois, les isomères des tocotriénols sont présents mais à l'état de trace. Ils n'ont pas été identifiés faute de réactifs.

En ce qui concerne les sources alimentaires des tocophérols et tocotriénols (la nature et la répartition) la littérature est très abondante et elle est marquée de contradictions entre les différents auteurs. Ceci peut être dû d'une part à la variabilité des teneurs dans les échantillons et d'autre part à l'évolution des méthodes de dosage. L'étude détaillée de la structure chimique des tocophérols et tocotriénols est nécessaire pour la compréhension de leurs mécanismes d'action et leur mode de métabolismes.

Les tocophérols sont des antioxydants liposolubles, ils permettent d'arrêter ou de ralentir l'oxydation des produits alimentaires. Ils sont utilisés comme des conservateurs ou des antioxydants dans les domaines agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétologique. Ils stoppent l'oxydation des acides gras insaturés en s'oxydant à leur place. Selon Cheeseman et Slater (1993) et Kirschvink (2001), les tocophérols (ou vitamine E) interviennent surtout au stade de l'initiation. Ils cèdent un de leurs atomes d'hydrogène au radical peroxyde qui se stabilise et devient non réactif ainsi, les

réactions en chaîne vont être bloquées. Dans ce contexte nous avons essayé d'évaluer le pouvoir antioxydant des huiles d'acacia qui sont riches en tocophérols dans la seconde expérimentation afin de mettre en évidence leur qualité antioxydante.

## 6. Conclusion

Les résultats de cette étude ont montré que les graines d'*A. arabica* et d'*A. raddiana* ont un pourcentage d'humidité de 0,21 à 0,32 % avec un temps de séchage très faible (48 à 59 minutes).

Les rendements en huile des graines et le temps d'extraction varient selon la plante et le solvant d'extraction. Le meilleur rendement a été obtenu par l'éther de pétrole dont les valeurs varient respectivement de 5 à 12% selon la plante avec un temps d'extraction presque identique d'environ 8 heures.

Les valeurs des résultats des analyses physicochimiques ont présenté une forte corrélation entre eux. Ils correspondent aux valeurs limites fixées par les normes AOCS(1987) et indiquées pour certaines huiles végétales de carthame, de colza et de maïs. Il ressort de ces valeurs que l'huile des deux espèces d'acacia est une huile non siccative riche en acides gras insaturés (indice d'iode varie de 144 à 155 meqO<sub>2</sub>/Kg) et en insaponifiables (3%).

Huit composés sur les dix détectés par la CPG ont été identifiés, soit 80% de la composition des huiles étudiées. Les huiles des deux espèces d'acacia sont constituées d'acides gras polyinsaturés et monoinsaturés dont l'acide linoléique C18:2 (47,89% et 51,58%) prédomine suivi de l'acide oléique (26,09% et 27,47%) respectivement observé chez l'espèce *arabica* et *raddiana*. La CPG a révélé également la présence de 20% d'acides gras saturés dont l'acide palmitique C16:0 en teneur élevée (16,46% et 15,23%), suivie de l'acide stéarique avec une faible teneur. Les autres acides gras saturés comme le C20 :0 et C22: 0 sont d'ordre de trace.

En ce qui concerne les valeurs des tocophérols, les deux huiles d'acacia sont bien pourvues en tocophérols (71,47 ± 1,32 et 86,49 ± 0,34 mg/100g d'huile) comparées à la teneur en tocophérols de quelques huiles végétales comme les pépins de raisin et le carthame.

Cependant, les valeurs des tocophérols des huiles d'acacia entrent dans les normes des huiles végétales de l'arachide, maïs, coton, soja et colza dont elles présentent une prédominance de gamma tocophérols suivie d'alpha et bêta-tocophérols. La composition physicochimique spécifique des huiles des deux espèces d'acacia distinguée par les taux importants d'acides gras polyinsaturés et les tocophérols la prédestine à des usages multiples.

# **Pouvoir antioxydant des huiles**

7. Activité antioxydante des huiles

Nous avons vu précédemment que les analyses physicochimiques des huiles des deux espèces d'acacia ont révélé une composition chimique spécifique. Cette dernière a fait preuve d'un pouvoir anti-radicalaire important comme la montre les figures ci-dessous.

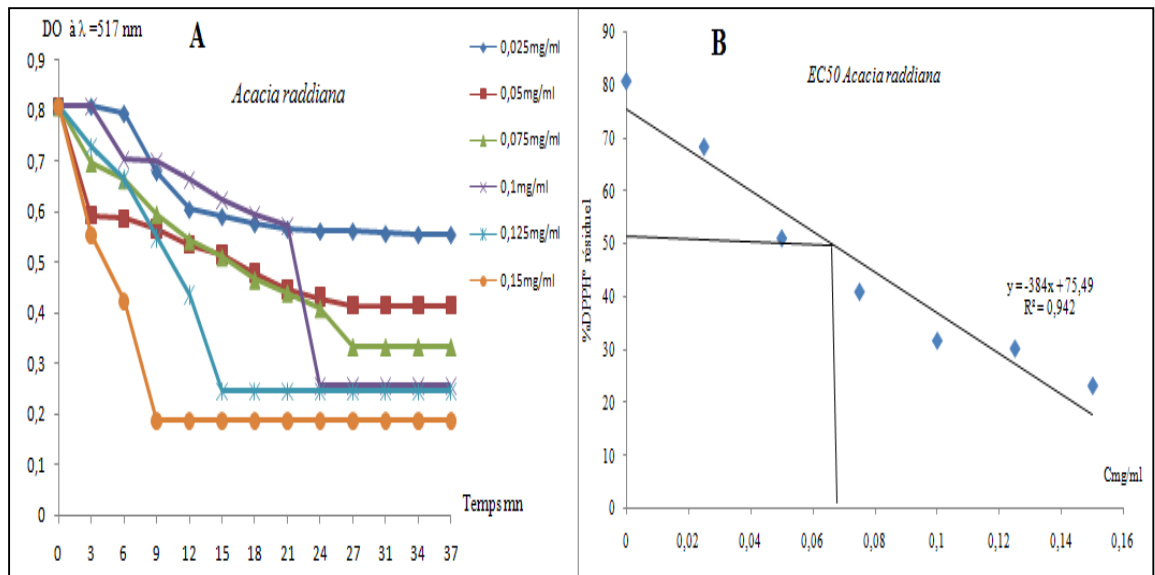


Fig. 24 : Pouvoir antioxydant de l'huile d'*A. raddiana* :

A. Cinétique de la réduction du radical DPPH°

B. Concentration réductrice EC50

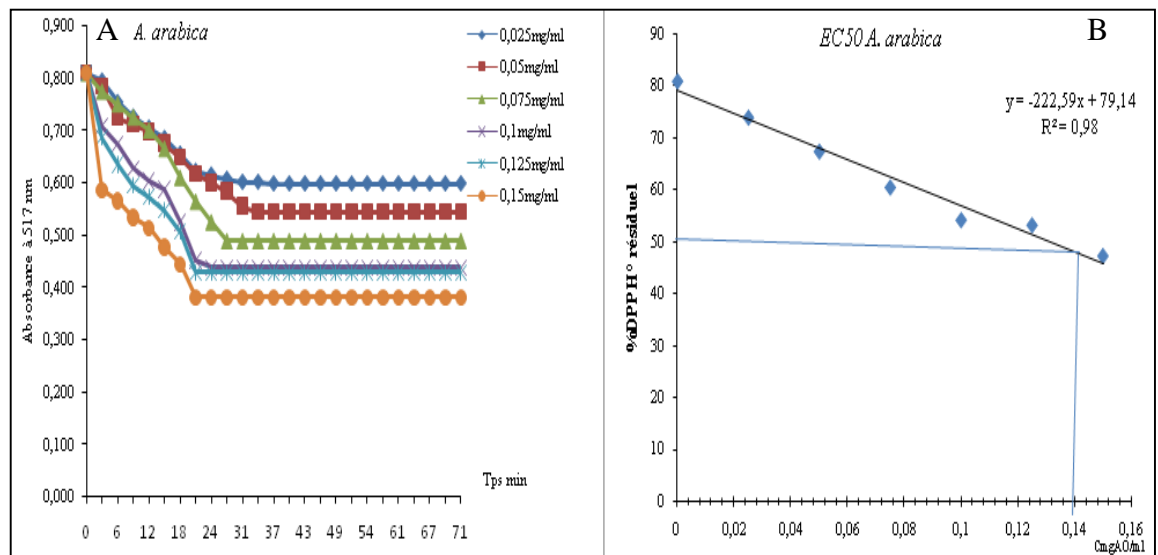


Fig. 25 : Pouvoir antioxydant de l'huile d'*A. arabica* :

A. Cinétique de la réduction du radical DPPH°

## B. Concentration réductrice EC50

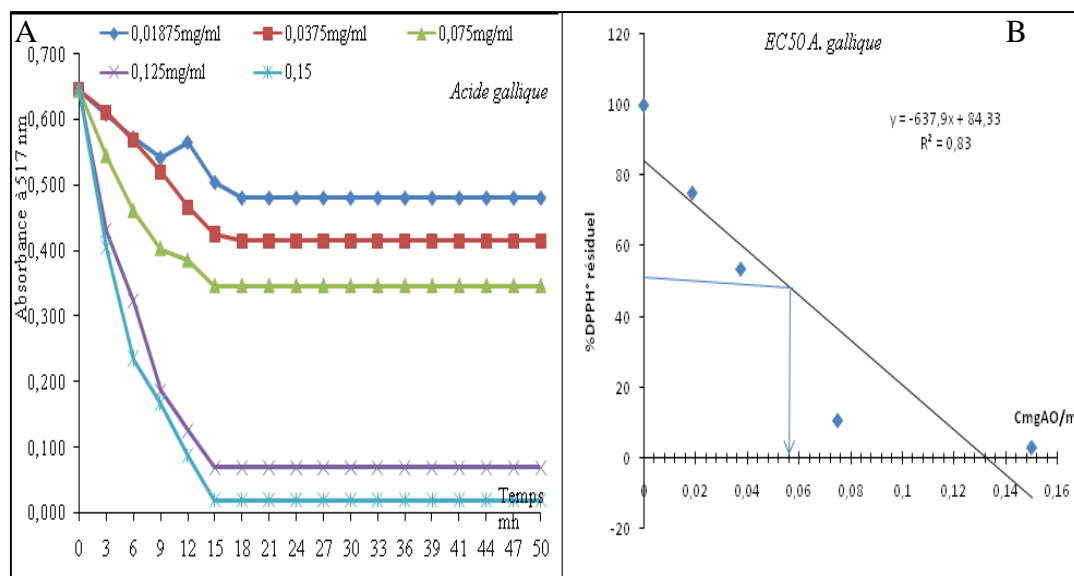


Fig. 26 : Pouvoir antioxydant de l'acide gallique :

A. Cinétique de la réduction du radical DPPH°

B. Concentration réductrice EC50

Nous avons constaté que la cinétique de la réduction de DPPH dans le milieu réactionnel en fonction du temps varie selon la concentration de l'huile de la plante. Cependant, cette réduction est fortement dépendante des rapports antioxydant (huile ou l'acide gallique) et l'oxydant DPPH. Plus l'antioxydant augmente, plus l'absorbance diminue (fig.24 A, 25 A et 26 A). Cela a été nettement noté pour l'acide gallique et l'huile d'*A. raddiana* à des concentrations de 0,15 mg/ml DPPH° le radical DPPH a été pratiquement consommé. De même, les temps nécessaires pour atteindre l'état d'équilibre  $T_{eq}$  varient en fonction des concentrations.

À partir des courbes traçantes, la relation entre le pourcentage de réduction de DPPH° et les différents teneurs des huiles (fig. 24 B, 25 B et 26 B) nous avons déduit par interpolation graphique la concentration efficace  $CE_{50}$  et le temps  $T_{C50}$  pour atteindre 50% de réduction.

Grâce à ces deux paramètres et selon la classification de Sanchez-Moreno et *al.* (1998) et Scherer et Gody (2009), qui ont utilisé la méthode de DPPH pour évaluer l'activité antiradicalaire des polyphénols, les solutions des huiles et de l'acide gallique testées ont été classées (tab.14). Cette classification de l'activité anti-radicalaire est définie par quatre groupes :

- Faible ( $1 \times 10^{-3} < EAR$ ) ;
- Intermédiaire activité ( $1 \times 10^{-3} \leq EAR \leq 5 \times 10^{-3}$ ) ;
- Elevée ( $5 \times 10^{-3} \leq EAR \leq 10 \times 10^{-3}$ ) ;
- Très élevée ( $EAR > 10 \times 10^{-3}$ ).

Tableau 14 : Paramètres de l'activité antioxydante des huiles *A. arabica* et *A.raddiana*.

	IC <sub>50</sub> (mg AO/ml DPPH°)	IC <sub>50</sub> (mg AO/g DPPH°)	TIC <sub>50</sub> (min)	EAR	Classification
<i>A. Arabica</i>	0,131	524	27,16	0,07×10 <sup>-3</sup>	<b>Faible</b>
<i>A. raddiana</i>	0,066	264	23,14	<b>0,16×10<sup>-3</sup></b>	<b>Faible</b>
<b>Acide gallique</b>	0,053	212	11,44	0,41×10 <sup>-3</sup>	<b>Faible</b>

IC<sub>50</sub> : Concentration d'antioxydant nécessaire pour réduire 50% de DPPH° ; TIC<sub>50</sub> : Temps d'équilibre pour IC<sub>50</sub> ; EAR : Efficacité anti-radicalaire.

Parmi les trois composés testés, l'acide gallique et l'huiles d'*A. raddiana* ont révélées une activité anti-radicalaire les plus élevée avec un temps de réaction jugé comme intermédiaire pour l'huile d'*A. raddiana* puisqu'il ne dépasse pas 30 minutes. Par contre, l'acide gallique qui est un composé pur a présenté un temps de réaction faible qui signifie que la réaction de réduction du radical libre DPPH est plus rapide en présence de cet acide (tab.14). Selon la classification de Sanchez-Moreno et al. (1998) et Scherer et Gody (2009), le pouvoir antioxydant de l'huile d'*acacia* sont classées comme faible comparant avec celui des polyphénols des pépins du raisin.

Cependant, la méthode de DPPH° a été utilisée par plusieurs chercheurs qui l'ont appliqué sur des substances pures antioxydantes très utilisées dans les différents domaines agroalimentaires, pharmaceutique, cosmétique pour de déterminer leurs pouvoirs antioxydants (tab. 15). Nous pouvons dire que les huiles d'*acacia* ont exercé un pouvoir antioxydant très élevé.

Tableau 15 : Comparaison des paramètres cinétiques de l'activité antioxydante de quelques antioxydants purs avec ceux des huiles d'*acacia*.

Paramètres cinétique DPPH°	Acide gallique	Epicatechine	Acide tannique	Acide ascorbique	<i>A. arabica</i> Algérie	<i>A. raddiana</i> Algérie
IC <sub>50</sub> (mg AO/g DPPH°)	43,8	54,18	74,33	76	524	264
TIC <sub>50</sub> (min)	10	10	30	1,15	27,16	23,14
EAR ×10 <sup>-3</sup>	<b>0,279</b>	<b>1,845</b>	<b>0,445</b>	<b>11,44</b>	0,07	<b>0,16</b>
Classification	<b>Faible</b>	<b>Intermédiaire</b>	<b>Faible</b>	<b>Très élevée</b>	-	-
Références	Sanchez-Moreno et al., 1998			Scherer et Gody, 2009	Tissouras, 2013	

DPPH : 2,2-diphényl-1picrylhydrazyl ; AO : antioxydant ; EAR : Efficacité anti-radicalaire.

Ces résultats obtenues avec les deux huiles d'*acacia* confirment également une certaine corrélation entre leurs teneurs en tocophérols qui ont été identifiées et quantifiées par la HPLC et leurs activité anti-radicalaire importante observée et notamment pour l'espèce *raddiana*.

Il est important de signaler que l'utilisation des différents protocoles de mesure ainsi que les indices d'évaluation du pouvoir antioxydant réduit la fiabilité d'une comparaison des valeurs.

Cependant, le test du DPPH fournit dans cette littérature expose une variation entre les valeurs qui sont relativement spécifique à chaque composé. Cette comparaison bibliographique montre que l'acide ascorbique est le plus actif avec une EAR =  $11,44 \times 10^{-3}$ , un temps de réaction très courts de 1,15 minute et une concentration plus grande de 76 mg/g DPPH par rapport aux autres composés (tab. 15). Ensuite, s'affichent le composé épicatechine avec suivi de l'acide tannique avec un temps un peu prolongé. L'acide gallique et les deux huiles d'*acacia* sont classés en dernier lieu à cause de leur faible EAR  $< 1 \times 10^{-3}$ . De ce fait nous pouvons classer les différents échantillons selon leur EAR croissante :

huile *A. arabica* < huile *A. raddiana* < Ac. Gallique < Ac. tannique < épicatechine < Ac. ascorbique

Des études sur la relation entre la structure chimique des composés phénoliques et leur pouvoir piègeur des radicaux libres comme le DPPH ont montré que l'activité anti-radicalaire est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituants sur les cycles. Ces mêmes paramètres sont liés aussi à la polarité des composés (Nanjo et al., 1996; Pannalás et al., 2001; Karamac et al., 2005; Tabart et al., 2009 ). Toutefois, les deux huiles brutes d'*acacia* présentent une hétérogénéité dans la composition qui peut se traduire par des propriétés différentes des structures chimiques et des polarités de ces composés vis-à-vis de leurs capacités de piégeage des radicaux libres.

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des composés qui sont des composés à la fois hydrophile et hydrophobe, il n'y a pas une technique universelle par laquelle nous pouvons mesurer avec précision l'activité anti-radicalaire. Des effets synergiques ou même antagonistes peuvent avoir lieu dans les solutions des échantillons testés qui peuvent contenir plusieurs composés fonctionnels doués d'activité anti-radicalaires. C'est pourquoi cette mesure de la cinétique anti-radicalaire peut générer une évaluation plus globale des propriétés antioxydantes des huiles étudiées. Entre autre, il faut combiner plusieurs tests pour avoir des indications sur les échantillons testés.

## 8. Conclusion

Le test au DPPH nous a permis d'avoir une estimation simultanée du pouvoir antioxydant, EAR, du temps nécessaire de réaction et les faibles concentrations des deux huiles d'*acacia* enregistrées (EC<sub>50</sub>: 523 et 264 mg/g DPPH). Néanmoins, ces résultats sont basés sur une simple estimation des activités des huiles brutes et des études sur des extraits purs seraient plus intéressantes à mener. Vu les résultats obtenus du pouvoir antioxydant de huiles des plantes d'*acacia*, nous avons jugé d'évaluer leurs activités antimicrobiennes dont les résultats seront exposés dans le prochain chapitre.

# **Activité antimicrobienne des huiles**

## 9. Activité antimicrobienne des huiles

### 9.1. Test de diffusion en milieu liquide

Les effets antimicrobiens des huiles d'acacia sur les différentes souches bactériennes et fongiques ont été estimés à l'œil nu par la présence ou l'absence du trouble dans les cultures microbiennes après 24 heures de croissance par rapport aux tubes témoins (tab. 16 et Pl. 5 en annexe IV).

Tab. 16: Activité antimicrobienne des huiles d'acacia par la méthode de diffusion en milieu liquide.

Souches microbiennes	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,0098	0,01975	0,039	0,079	0,158	0,316
	<b>L'huile d'A. arabica</b>						
<i>Bacillus cereus</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++++	+++	++	++	++	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	+++	++	++	±	-	-
<i>Escherichia coli</i>	++++	+++	++	++	±	-	-
<i>Candida albicans</i>	++++	+++	++	++	±	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	++++	+++	++	++	-	-	+++
	<b>L'huile d'A. raddiana</b>						
<i>Bacillus cereus</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	+++
(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence							

En milieu liquide, les deux huiles d'acacia ont exercé une forte activité antifongique et antibactérienne. Toutes les souches se sont montrées sensibles et sont inhibées à des concentrations des deux huiles d'acacia inférieures ou égales à 0,158 mg/ml (tab. 16).

A partir de la concentration 0,079 mg/ml de l'huile *A. raddiana* tous les germes se sont montrés sensibles (tab.16) à l'exception des deux espèces de *Bacillus*.

Après la réincubation de différentes cultures microbiennes négatives avec le réactif résazurine durant environ 4 heures, le réactif n'a pas changé de couleur pour les différentes cultures, à l'exception de la concentration 0,079 mg/ml en présence de l'huile d'*A. raddiana*. Nous avons notés que le réactif vire vers la couleur rose pour les cultures d'*E. coli* et *C. albicans*. Ce virage de

couleur confirme que la CMI des deux souches est différente à 0,079 mg/ml et elle représente la plus petite concentration dont la couleur n'a pas changé qui est de 0,158 mg/ml (tab. 16).

Par ailleurs, les subcultures de 0,1 ml qui ont été effectuées à partir des différentes cultures négatives sur des milieux gélosés afin de déterminer les CMB ont été négatives pour toutes les souches à la concentration 0,158 mg/ml.

En effet, pour toutes les souches qui ont été utilisées l'action des deux huiles d'acacia est directement bactéricide et/ou fongicide (CMB/CMI ou CMF/CMI= 2).

En conclusion de cette série d'essais qui a porté sur une dizaine de répétitions en présence des huiles de concentration authentiques, nous ne devons admettre les valeurs de CMI et CMB ou CMF de cette gamme de dilution que dans le cas où il n'y a pas de différences entre les concentrations vis-à-vis les deux huiles et les différents germes utilisés.

Dès ces premiers essais, il ne faut pas attendre de cette gamme de dilution une certitude lorsque les échantillons étudiés contiennent plus que 0,079 mg/ml de l'huile ou moins que 0,158mg/ml. Nous avons remarqués que la nuance (couleur) du réactif allant du rose au rose claire jusqu'au transparent lorsque la proportion des huiles croît pour certaines souches microbiennes (*E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans*).

D'après Ultee et al. (1999) ; Lambert et al. (2001) et Lacroix et al. (2007), l'utilisation des huiles dans les différents domaines alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques peut engendrer certains effets indésirables. Leur utilisation est conditionnée par le germe ciblé et l'effet recherché. Ce qui se traduit par des concentrations minimales inhibitrices des huiles qui ne seront pas identiques pour tous les germes. La première gamme de dilution utilisée est correcte pour les deux huiles mais elle ne permet pas de fixer avec précision les CMI des deux huiles pour une meilleure exploitation industrielle. Cela nous a poussé à poursuivre les observations systématiques sur les germes additionnés de proportions croissantes des huiles en prenant en considération les deux dilutions critiques obtenues par la première gamme de dilution (0,079 à 0,158 mg/ml).

A cet effet, des gammes de dilutions pour chaque germe ont été effectuée afin de déterminer les CMI et CMB/CMF (tab. 17 à 19 en annexe III).

Nous avons encore une fois confirmé que les deux huiles exercent un effet bactéricide et fongicide vis-à-vis les différents germes utilisés au cours de cette expérimentation. Ainsi les concentrations minimales inhibitrices varient selon le genre et l'espèce du germe et sont comprises dans l'intervalle des deux concentrations critiques trouvées précédemment (0,079 à 0,158 mg/ml) (tab. 17 à 29 en annexe III).

Deux tableaux récapitulatif des différents résultats obtenus par les différentes gammes de dilutions et pour chaque germe sont présentés ci-dessous à fin de montrer que les CMI obtenues ne sont pas identiques pour l'ensemble des germes (tab. 30 et 31).

Tableau. 30: Activité antimicrobienne des huiles d'acacia par la méthode de diffusion en milieu liquide.

Souches microbiennes	Concentration en huile [mg/ml]									
	0,0	0,039	0,079	0,088	0,105	0,123	0,126	0,158	0,176	0,252
	<b>L'huile d'A. arabica</b>									
<i>B. cereus</i>	++++	+++	+++	+++	+++	++	++	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	++++	+++	++	++	++	++	++	-	-	-
<i>S. aureus</i>	++++	+++	++	++	±	±	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	++++	+++	++	++	±	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	++++	+++	++	±	-	-	-	-	-	-
<i>A. niger</i>	++++	+++	-	-	-	-	-	-	±	+++
	<b>L'huile d'A. raddiana</b>									
<i>B. cereus</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	++++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	++++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	++++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. niger</i>	++++	+++	-	-	-	-	-	-	±	+++

(++++): Croissance très élevée ; (+++): élevée ; (++) : moyenne ; (±) : Faible ; (-) : Absence ;  
*B: Bacillus; S: Staphylococcus; E: Escherichia; C: Candida; A: Aspergillus.*

Toutefois, les CIM et les CMB/ou CMF sont vérifiées par les mêmes méthodes (réincubation avec le réactif résazurine et la subculture de 0,1 ml des cultures négatives). Le tableau 31 regroupe les différentes concentrations des deux huiles enregistrées pour chaque souches microbiennes en fonction des différentes gammes de dilution qui varient entre 0 à 0,25 ml/ml.

Tableau 31 : Les CMI de l'activité antimicrobienne des huiles d'acacia en milieu liquide.

Souches Bactériennes et fongiques	L'huile <i>A. arabica</i>		L'huile <i>A. raddiana</i>	
	CMI mg/ml	CMB/CMF mg/ml	CMI mg/ml	CMB/CMF mg/ml
<i>Bacillus cereus</i>	0,158	0,158	0,105	0,105
<i>Bacillus subtilis</i>	0,158	0,158	0,105	0,105
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,126	0,126	0,088	0,088
<i>Escherichia coli</i>	0,123	0,123	0,088	0,088
<i>Candida albicans</i>	0,105	0,105	0,088	0,088
<i>Aspergillus niger</i>	0,079	< 0,158	0,079	< 0,158

CMI: concentration minimale inhibitrice; CMB: concentration minimale bactéricide ; CMF : concentration minimale fongicide.

D'après ces résultats les bactéries *S. aureus* et *E. coli* se sont montrées très sensibles vis-à-vis les deux huiles d'acacia en particulier celui de l'espèce raddiana dont les CMI et CMB sont identiques et restent plus faibles par rapport à l'huile de l'espèce arabica (tab. 30 et 31).

En revanche, les deux espèces de *Bacillus* résistent à ces faibles concentrations (0,079 et 0,126). Par contre, elles sont inhibées à des CMI égales aux CMB et qui sont de l'ordre de 0,105 et 0,158 mg/ml respectivement pour l'huile d'*A. raddiana* et d'*A. arabica* (tab. 31).

Quant aux souches fongiques l'huile d'*A. raddiana* a un effet fongicide sur *C. albicans* avec une CMI= CMB= 0,088 mg/ml. A une CMI différente à la CMB (0,079 et 0,158 mg/ml), l'huile de raddiana a révélé un effet fongicide important pour *Aspergillus niger*. Bien que, ce résultat est le même relevé en présence de l'huile d'*A. arabica* pour *Aspergillus*, néanmoins, pour *Candida albicans* la CMI égale à la CMB et sont légèrement supérieures (0,105 mg/ml) (tab. 31).

Pour compléter les diverses observations notées pour les différentes cultures microbiennes à l'œil nu et à l'exception de la souche *Aspergillus niger* nous avons mesuré la densité optique avant et après incubation à une longueur d'onde de 600 nm pour chaque l'huile et chaque germe.

Les figures ci-dessous résument les DO obtenus pour les différentes souches microbiennes à leurs concentrations minimales inhibitrices (fig. 27 à 30).

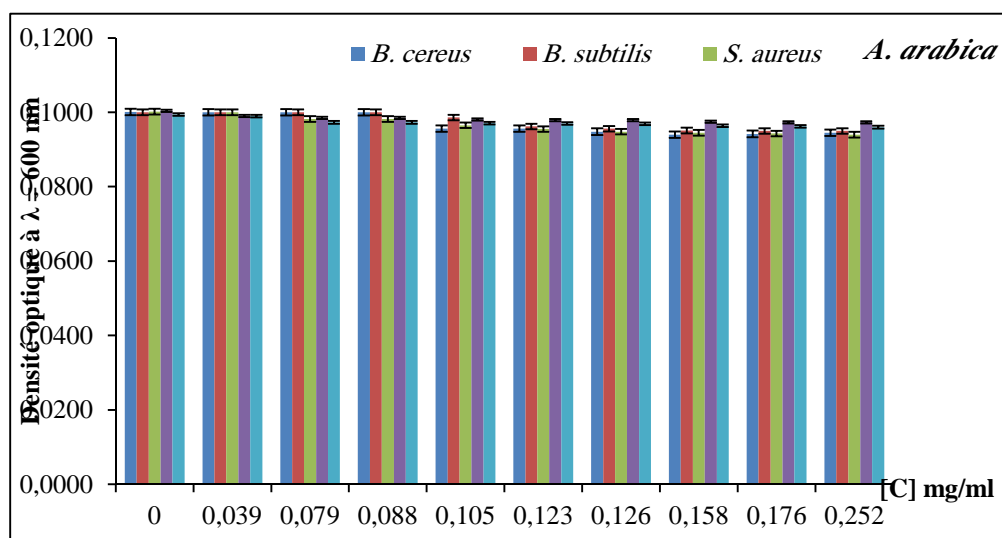


Fig. 27 : Densité optique des germes avant incubation avec différentes concentrations de l'huile d'*A. arabica*.

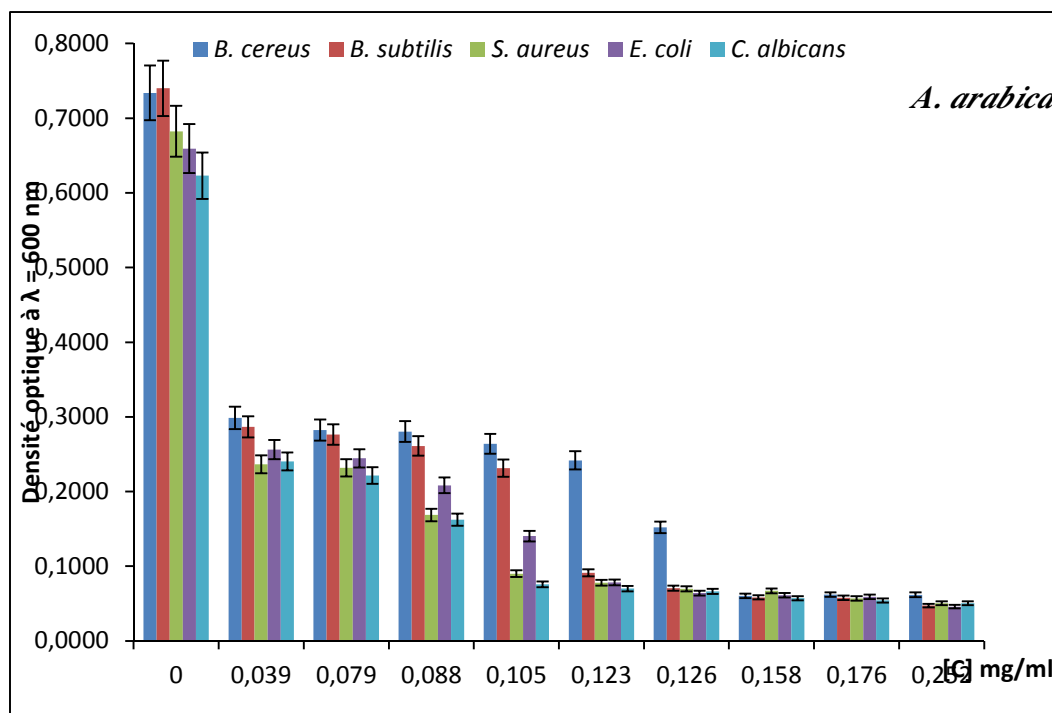


Fig. 28 : Densité optique des germes après 24h d'incubation avec différentes concentrations de l'huile d'*A. arabica*.

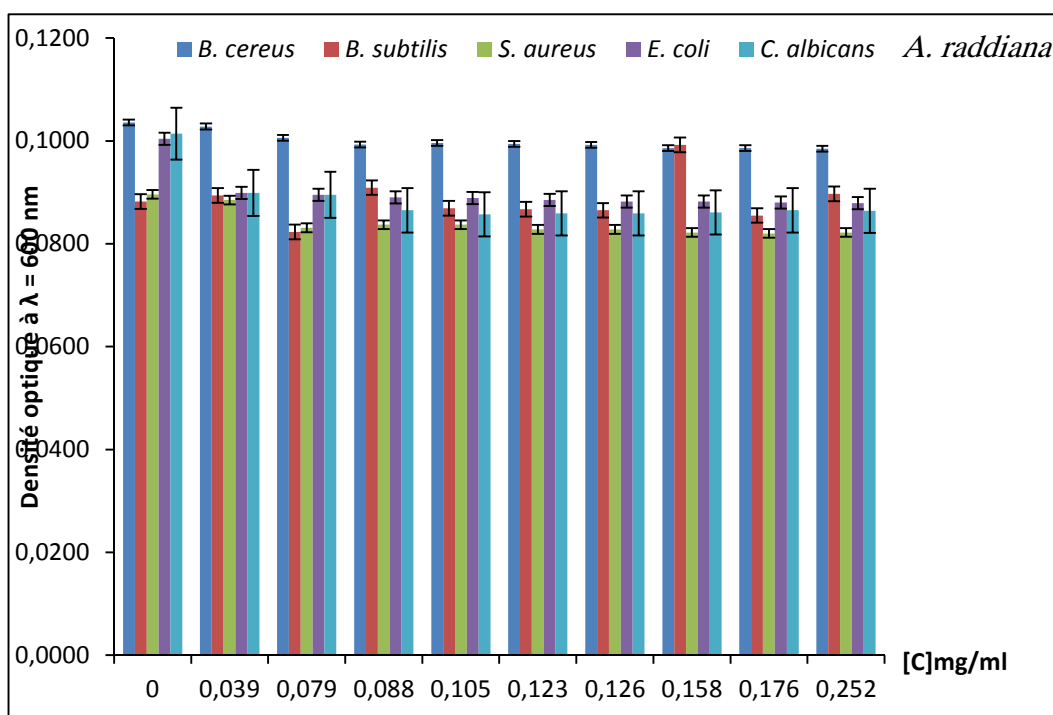


Fig. 29 : Densité optique des germes avant incubation avec différentes concentrations de l'huile d'*A. raddiana*.

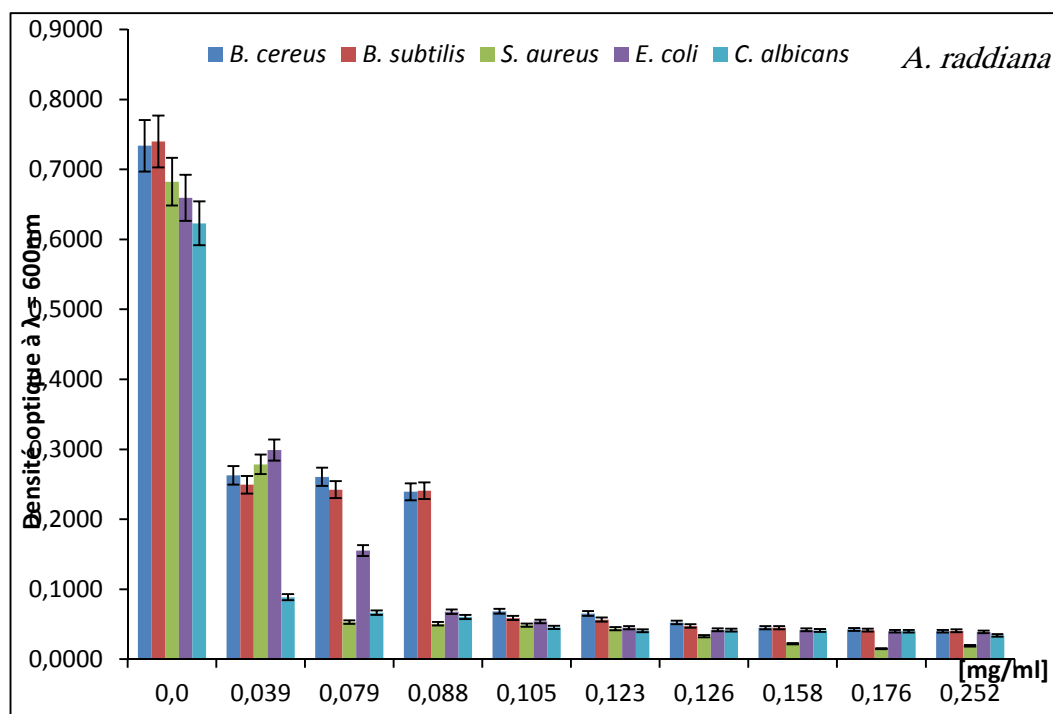


Fig. 30 : Densité optique des germes après 24 heures d'incubation avec différentes concentrations d'huile d'*A. raddiana*.

Toutefois, nous avons observé que la densité optique des différents germes diminue au fur et à mesure lorsque la concentration des huiles augmente dans les milieux de cultures et surtout après l'incubation (fig. 28 à 30).

En effet, ces résultats vont de pair et confirment ceux obtenus par la méthode de diffusion en milieu liquide. Ce qui explique la chute forte des charges microbiennes des différents germes de l'ordre d'environ de  $10^6$  à environ  $0,25 \times 10^6$  UFC/ml (fig. 28 et 30). Comparativement avec les témoins qui sont dépourvues des huiles d'acacia une augmentation de la DO est notée après l'incubation des différents germes. Où les charges microbiennes sont passées de  $0,12 \times 10^6$  à environ à  $1,2 \times 10^6$  UFC/ml (fig. 27 et 29). Par ailleurs, cette charge microbienne mesurée (DO) reste encore plus faible en présence de l'huile d'*A. raddiana* (fig. 29 et 30).

Néanmoins, ces résultats restent approximatifs et d'autres tests sont nécessaires pour compléter les différentes observations. A titre d'exemple un dosage des efflux d'ATP ou du glucose ou même des enzymes LHD qui peuvent être libérés lors de la mort cellulaires.

### 9.2. Test de diffusion en milieu solide

En milieu solide l'évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles d'acacia est déterminée par les mesures des diamètres d'inhibition en millimètre autour des disques et des puits. Les résultats des différents germes sont présentés dans les tableaux 32 aux 55 en annexe II.

Les diamètres des zones d'inhibition augmentent avec l'augmentation des doses des huiles. Cela est enregistré chez toutes les souches en utilisant la méthode de l'aromatogramme (disques) ou des puits à l'exception de l'*Aspergillus niger* (tab. 54 à 55 en annexe III). Ces résultats obtenus par les deux méthodes de diffusion en milieu solide sont regroupés et classés dans des tableaux récapitulatifs 56 et 57 après un traitement statistique.

Tableau 56 : Diamètres des zones d'inhibition, les CMI et CMB des huiles d'acacia vis-à-vis les bactéries et la levure.

Bactéries	Huile d' <i>A. arabica</i>			Huile d' <i>A. raddiana</i>		
	Disque Ø mm	Puits Ø mm	MIC=CM B mg/ml	Disque Ø mm	Puits Ø mm	MIC= MB mg/ml
<i>B. cereus</i> <sup>a</sup> ATCC6633	14,8 ± 0,57 <sup>a</sup>	15,36 ± 0,47 <sup>b</sup>	0,158 <sup>a</sup>	15,3 ± 0,67 <sup>a</sup>	20,92 ±0,63 <sup>c</sup>	0,105 <sup>b</sup>
<i>B. subtilis</i> <sup>a</sup> ATCC11778	20,76 ± 0,55 <sup>a</sup>	19,3 ± 1,2 <sup>a</sup>	0,158 <sup>a</sup>	17,6 ± 0,54 <sup>b</sup>	21,02 ± 0,57 <sup>c</sup>	0,105 <sup>b</sup>
<i>S. aureus</i> <sup>b</sup> ATCC33862	20,7 ± 0,97 <sup>b</sup>	19,4 ± 0,44 <sup>a</sup>	0,126 <sup>b</sup>	15,6 ± 0,54 <sup>c</sup>	22,3 ± 0,44 <sup>c</sup>	0,088 <sup>c</sup>
<i>E. coli</i> <sup>b</sup> ATCC25922	21,1 ± 0,74 <sup>b</sup>	25,06 ± 0,75 <sup>d</sup>	0,123 <sup>b</sup>	25,06 ± 0,36 <sup>d</sup>	25,96 ± 2,94 <sup>d</sup>	0,088 <sup>c</sup>
<i>C. albicans</i> <sup>a</sup> ATCC10231	32,75 ± 0,75 <sup>b</sup>	36,60 ± 0,43 <sup>a</sup>	0,105 <sup>b</sup>	33,66 ± 0,13 <sup>a</sup>	37,75± 0,66 <sup>b</sup>	0,088 <sup>c</sup>

*B.* : *Bacillus* ; *S.* : *Staphylococcus* ; *E.* : *Escherichea*; *C.* : *Candida*; MIC: Concentration minimal inhibitrice; CMB: Concentration minimale bactéricide.  
Test Newman-Keuls ( $P < 0,05$ ).

Tableau 57: Les diamètres d'inhibition, les CMI et CMF d'*Aspergillus niger* des huiles par les deux méthodes de diffusion en milieu solide.

Souche fongique	L'huile d' <i>A. arabica</i> <sup>b</sup>		L'huile d' <i>A. raddiana</i> <sup>a</sup>	
	MCI <sub>1</sub> = 0,088 mg/ml <sup>a</sup> CMF = 0,158 mg/ml	CMI <sub>2</sub> =0,079 mg/ml <sup>a</sup> CMF = 0,158mg/ml	MCI <sub>1</sub> = 0,088 mg/ml <sup>a</sup> CMF = 0,105 mg/ml	CMI <sub>2</sub> = 0,079 mg/ml <sup>a</sup> CMF = 0,105 mg/ml
<i>A. niger</i> <sup>a</sup> ATCC16404	39,00 ± 1 <sup>d</sup>	30 ,50 ± 0,43 <sup>c</sup>	25,1 ± 0,14 <sup>a</sup>	21,60 ± 0,14 <sup>b</sup>
	56,66 %	66,66 %	72,22 %	75,93 %

CMI<sub>1</sub>: Concentration minimal inhibitrice méthode de disque ; = CMI<sub>2</sub> : Concentration minimal inhibitrice par méthode de puits ; CMF : Concentration minimal fongicide ; % : Pourcentage d'inhibition.

Grâce à l'analyse multifactorielle des variances par le Test Newman-Keuls ( $P \leq 0,05$ ), Il existe désormais des preuves totalement convaincantes sur une action significative bactéricide et/ou fongicide des deux huiles d'acacia (tab. 56 et 57).

Des différences significatives ont été observée entre les concentrations minimales inhibitrices des huiles, les différents germes, ainsi que entre les deux techniques utilisées (disque et puits) (Pl.6 en annexe IV) (tab. 56 et 57). Rappelons que les résultats obtenus de cette étude correspondent nettement aux résultats du test de diffusion en milieu liquide.

Néanmoins, nous avons remarqué quelques petites différences en ce qui concerne les diamètres des zones d'inhibitions pour les deux classes de bactéries Gram positif et Gram négatif. Ces diamètres varient de  $14,8 \pm 0,57$  à  $20,76 \pm 0,55$  mm pour *B. cereus* et *B. subtilis* et augmente un peu pour *S. aureus* et *E. coli* de  $19,3 \pm 0,44$  à  $25,06 \pm 0,75$  pour l'huile d'*A. arabica* (tab. 56). Les mêmes remarques sont enregistrées pour l'huile d'*A. raddiana* (tab. 56)

Selon Ponce et *al.* (2003), le classement des germes se base sur les diamètres des zones d'inhibitions. Cette grandeur permet de prédire la sensibilité ou la résistance des germes vis-à-vis les huiles testés. Les zones d'inhibitions dont les diamètres sont inférieurs à 8 mm les germes sont classés résistants ou non sensibles. A des diamètres compris entre 9 et 14 les germes sont sensibles, les diamètres entre 14 et 15mm les germes sont très sensibles et au-delà de 20 mm ils sont extrêmement sensibles.

D'après les diamètres enregistrés au cours de cette expérience nous avons remarqués que à la concentration égale ou supérieures à 0,158 mg/ml les deux classes de bactéries à Gram positif (*B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*) et à Gram négatif (*E. coli*) s'avent très sensible et donnent des diamètres élevés (14 ; 20 ; 22 ; 21 mm) et (18 ; 21 ; 26 ; 31 mm) respectivement pour l'huile de l'espèce arabica et raddiana obtenus par la méthode de disque (tab. 42 en annexe III et Pl. 6 en annexe IV).

Toutefois, la méthode de puits a révélée des diamètres un peu supérieurs de (15 ; 19 ; 20 ; 27 mm) et (21 ; 20 ; 22 ; 26 mm) respectivement pour l'huile d'*A. arabica* et *raddiana* (tab. 52 en annexe III).

Par contre les souches fongiques sont montrées extrêmement sensibles avec des diamètres très élevés de ( $39 \pm 1$ ;  $32,75 \pm 0,75$  mm) et ( $25,1 \pm 0,14$ ;  $33,66 \pm 0,13$  mm) respectivement pour *A. niger* et *C. albicans* en présence des huiles d'*A. arabica* et d'*A. raddiana* par la méthode de disque (tab. 56 et 57). Les mêmes remarques sont notées pour la méthode de puits en ce qui concerne les souches bactériennes et fongiques sauf que les diamètres sont légèrement supérieurs (tab. 42 et 53 en annexe III).

Toutefois, les mêmes observations soulevées précédemment par la méthode de diffusion en milieu liquide confirment les résultats enregistrés par la méthode de diffusion en milieu solide. Sauf que, cette technique a permis une bonne évaluation de l'effet antibactérien et antifongique des deux huiles par l'estimation approximatives des diamètres des zones d'inhibition.

En effet, les diamètres des zones d'inhibitions enregistrés sur les souches fongiques et en particulier avec l'huile de l'espèce *A. raddiana* sont très élevés pour *C. albicans* et *A. niger* et par rapport à l'huile d'arabica (Pl. 6 en annexe IV). Ces dernières souches présentent les CMI les plus faibles (0,079 et 0,088 mg/ml) (tab. 56 et 57).

Cependant, il a été rapporté par Skandanis et Nychas (2001), que la CMI est définie comme étant la plus faible concentration en huile capable de réduire la croissance microbienne à 90%. Ce pourcentage a été calculé pour *A. niger*, il est de l'ordre d'environ 66 à 75% respectivement pour *A. arabica* et *A. raddiana* (tab. 56 et 57). De même les pourcentages d'inhibition enregistrés pour les souches bactériennes vont de l'ordre de 74 à 85% environ et se rapprochent un peu de 90%.

Selon Caillet et Lacroix (2007), les concentrations minimales inhibitrices des huiles ne seront pas identiques vis-à-vis des germes ciblés et même par rapport à l'effet recherché au cours de leurs utilisations dans les différents domaines. Ce qui corrobore avec les résultats obtenus.

D'après les CMI obtenues, les huiles d'acacia montrent une bonne performance antibactérienne à des faibles concentrations vis-à-vis de la bactérie à Gram positif *S. aureus* et à Gram négatif *E. coli*, à l'exception des deux *Bacillus* (tab. 56). Ces dernières bactéries se sont montrées moins sensibles à des faibles concentrations. Par contre, elles deviennent sensibles à la concentration de 0,158 mg/ml.

Entre autre, les bactéries à Gram positif sont plus sensibles aux huiles que les bactéries à Gram négatif. Selon certains auteurs, Tortora et *al.* (2003) et Campbell (2007), les bactéries à Gram positif possèdent une simple membrane formée de protéines peptidoglycane d'épaisseur de 10 à 80 nm. Par contre les bactéries à Gram négatif présentent une structure membranaire plus compliquées ( $6 \leq \emptyset \leq 15$  nm) avec une paroi à double membrane riche en liposaccharidiques et constitue une barrière qui pourra bloquer la pénétration de certains agents pathogènes néfastes.

Bien que les deux huiles d'acacia aient exercé des effets bactéricides important sur *E. coli*. Ce genre de bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, fait partie de la microflore du gros intestin de l'être humain et des animaux. C'est un bacille non pathogène à l'état normal. Cependant, il peut acquérir dans certains cas une virulence très importante et engendre certains affections comme des diarrhées infantiles, infection urinaire etc. (Lechat et Lagier, 1980).

Toutefois cette bactérie à Gram négatif (*E. coli*) s'est montrée très sensible vis-à-vis des huiles des deux espèces d'acacia dont nous avons enregistré des diamètres allant de  $21,1 \pm 0,74$  à  $25,06 \pm 0,36$  mm respectivement pour l'huile de la plante arabica et raddiana. Il semble que ce résultat confirme l'usage traditionnel des graines sous forme de poudre par la population de Touareg dans la région de Hoggar afin de remédier à certaines maladies infectieuses.

D'après une enquête qui a été menée sur le terrain auprès de quelques praticiens traditionnels, ces gens nous ont confirmé l'utilisation des *A. arabica* et *A. raddiana* dans certaines recettes préparées à base des graines pour les traitements des plaies et des infections etc. Le résultat obtenu vis-à-vis *S. aureus* est très encourageant. Ce germe est un coccus à Gram positif, il ne sporule pas et c'est un germe aéro-anaérobie facultatif. Il est à l'origine des intoxications alimentaires humaines dues à l'ingestion des entérotoxines staphylococciques (SE) protéines thermorésistantes préformées dans l'aliment. Ces toxines peuvent déclencher des infections parfois mortelles (panaris, etc.) (Rizzi, 2011).

En ce qui concerne les deux espèces de *Bacillus*, les résultats obtenus montrent clairement une résistance de ces germes pour des faibles concentrations des huiles par rapport aux autres germes. Selon Tortora et *al.* (2003), ces Bacilles à Gram positif sont bien connus pour leur résistance vis-à-vis d'un large spectre de biocides. D'après la littérature, *Bacillus cereus* est responsable de toxi-infections caractérisées par des symptômes diarrhéiques et d'intoxication se traduisant par des symptômes émétiques. Il s'agit d'un bâtonnet à coloration Gram positif sporulant et aéro-anaérobie facultatif. La principale voie de transmission de cette bactérie à l'homme est alimentaire. En effet, son abondance dans le sol et la résistance de ses spores, *Bacillus cereus* peut contaminer pratiquement toutes les catégories d'aliments et en particulier les végétaux (FAO/OMS, 2008 ; Afssa, 2009). Toutefois, à des concentrations des huiles d'*A. raddiana* et d'*A. arabica* respectivement de 0,105 à 0,158 mg /ml ses deux bacilles se sont montrés très sensibles (tab. 56).

Quand aux souches fongiques, *Candida albicans* appartenant à la famille des cryptococcaceae. C'est une levure qui se présente dans la bouche chez l'être humain, le tube digestif et les voies génitales. Elles peuvent devenir pathogènes dans certaines conditions, elles provoquent des affections candidose ou mycosique (Samson et *al.*, 2001). En effet, dans les régions arides algériennes et certains pays africains, l'homme utilise les graines et d'autres parties des arbres des deux espèces d'acacia (exemple : écorce, racine) pour soigner certaines maladies gynécologiques.

Toutefois, il n'est pas surprenant lorsque les huiles des graines des deux espèces d'acacia ont inhibées la croissance de *C. albicans* à une faible concentration, en effet le mécanisme d'action des huiles et leurs sélectivités envers certains microorganismes restent méconnues.

En ce qui concerne *Aspergillus niger* est l'un des champignons les plus connus des *Aspergillus*. Il apparaît sous forme de moisissure de couleur noire. Ces champignons sont avérés très sensibles aux huiles. Il ressort que lorsque les huiles sont appliquées sur ce champignon à une faible concentration, l'effet fongicide est meilleur. Toutefois, l'activité fongicide a été prononcée surtout pour l'huile d'*A. raddiana* (Pl.6 en annexe IV).

Par contre et à l'exception des autres germes lorsque la concentration des huiles augmente au-delà de 0,176 mg/ml un bon développement de la croissance mycélienne a été observé pour cette espèce (Photos 24 et 25 en annexe IV). Au fait *A. niger* est une espèce toxique et pathogène. Elle provoque des otomycoses chez l'homme et aussi de l'aspergillose. Cependant, elle possède des toxines à propriétés insecticides actives surtout sur les moustiques (Parize et al., 2008). Entre autre, il n'est pas contradictoire lorsque la dose de l'huile augmente la croissance des mycéliums d'*A. niger* augmente. Cette espèce est bien connue pour ses enzymes qui dégradent les protéines interfibrillaires et hydrolysent aussi les huiles et les graisses en acides gras libres ce qui endommage les cuirs dans les industries tanneries. Ces acides gras libérés vont présenter une source d'approvisionnement en carbone et en énergie pour le champignon. Cela rend le milieu plus propice pour leur développement. La deuxième hypothèse pourrait être que les huiles des deux espèces d'acacia tanières peuvent présenter dans leurs compositions chimiques des tanins. Ces molécules si elles sont présentes dans le milieu de culture de *A. niger*, elles peuvent le rendre plus sélectif ce qui va leur permettre une bonne croissance. Ces résultats semblent être contradictoires avec l'utilisation des deux espèces dans les industries tanières. Au fait, ces industries utilisent les écorces et les gousses qui sont faibles en matière grasses de l'ordre de 0,02% (Tissouras, 2004), mais elles sont très riches en tanins. Cet effet, stimulant d'*A. niger* nécessite des études plus approfondies pour mieux cerner cette activité antifongique.

Un fait d'appréciation pourrait être dégagé de ces résultats et qui concerne les deux huiles d'acacia. En effet, ces huiles se sont montrées très actives vis-à-vis les différentes souches bactériennes et fongiques. En particulier, sur *A. niger* et *C. albicans* suivi des autres souches bactériennes *S. aureus* ; *E. coli* ; *B. Subtilis* et *B. cereus* à des CMI variantes entre 0,079 à 0,158 mg/ml et 0,079 à 0,105 mg/ml pour l'huile d'*A. arabica* et d'*A. raddiana* (tab. 56 et 57).

Il est à noter que l'étude statistique a révélé une variation significative ( $P < 0,05$ ) entre les deux extraits huileux. Il semble être plus approprié que l'huile d'*A. raddiana* présente une activité

antibactérienne et antifongique *in vitro* plus importante que celle de l'huile d'*A. arabica*. Cela pourrait s'expliquer à la façon dans laquelle les huiles se diffusent dans les matrices des germes et à la composition chimique de chaque huile.

Cependant, la composition et la structure chimique des huiles conditionnent leurs modes d'action antimicrobienne (Ultee et *al.*, 2002). Ces huiles sont des produits de composition généralement complexe, renfermant des métabolites secondaires représentés par des principes actifs.

Les huiles des plantes sont connues pour leurs grandes biodiversités et leurs propriétés antimicrobiennes et dans la majorité des cas cette bioactivité est due à ces constituants actifs tels que les polyphénols, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les alcools, les stéroïdes et les tocophérols etc. Compte tenu de leurs nombres de groupes différents et complexés, ces substances sont synthétisées par les végétaux supérieurs en réponse à des conditions de stress et surtout pour lutter contre les agents pathogènes infectieux et les parasites. Les mécanismes d'action des huiles et leurs sélectivités envers certains microorganismes restent méconnus. Les propriétés antibactériennes des huiles et ces composés sont en partie liés à leurs caractères lipophiles (Cimanga et *al.*, 2002 ; Bustta et *al.*, 2008, Kaur et *al.*, 2005 ; Ncube et *al.*, 2012).

Effet, plusieurs auteurs ont rapporté que l'accumulation des huiles au niveau des parois bactériennes perturbent le fonctionnement et la perméabilité membranaire ce qui provoque la dégradation de la paroi cellulaire, des dommages sur les protéines, des fuites des contenus des cellules, une coagulation du cytoplasme et l'épuisement de la force motrice des H<sup>+</sup> (Helander et *al.*, 1998; Ultee et *al.*, 1999 ; Lambert et *al.*, 2001 ; Ultee et Smid, 2001).

Bien que les propriétés chimiques de certaines huiles végétales et leurs pouvoirs antimicrobiens soient largement étudiés leurs mécanismes d'action ne sont pas encore élucidés entièrement.

Toutefois, ces deux plantes d'acacia sont des arbres tanières très utilisées dans la médecine traditionnelle africaine (Mali, Sénégal, Soudan, Egypte) et dans le sud algérien par les nomades. Elles sont très recommandées dans les traitements de certaines maladies tels que les diarrhées, les infections pulmonaires, les maladies inflammatoires etc. En effet, dans ce sens certains travaux ont été publiés par plusieurs équipes de recherche et qui ont travaillé sur les extraits aqueux et organiques des racines, des feuilles, et surtout des écorces.

A titre comparatif, Abd El Nabi et *al.* (1992), ont travaillé sur les extraits aqueux des gousses d'*A. nilotica* synonyme de *arabica* obtenus à différentes températures. Ils ont confrontés ces

extraits à différentes concentrations allant de 0,05 à 1,6 mg/ml vis-à-vis des souches microbiennes tels que les bactéries à Gram positif, à Gram négatif et la levure *C. albicans* (tab. 58).

Tableau 58 : Les CMI (mg/ml) des extraits aqueux des gousses d'*A. nilotica* originaire de Soudan (Abd El Nabi et al., 1992).

Microorganismes	CMI (mg/ml)			
	37°C	55°C	70°C	95°C
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC1831	0,4	0,4	0,1	0,2
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0,4	0,2	0,2	0,2
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	<b>1,6</b>	1,6	1,6	0,8
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0,1	0,1	<b>0,05</b>	<b>0,05</b>

Les résultats des extraits aqueux des gousses d'*A. nilotica* de Soudan montrent un effet antimicrobien important sur la souche *C. albicans* suivi de *S. aureus*, *B. subtilis* et *E. coli*. Ce résultat confirme encore les résultats obtenus par les deux extraits huileux des graines d'*A. arabica* d'Algérie. Nous avons remarqué aussi que les CMI sont complètement différentes par rapport aux extraits aqueux des gousses. Cela pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs tels que la nature du solvant la méthode d'extraction, l'organe de la plante utilisé etc.

Cependant, Eldeen et al. (2005), ont étudié le pouvoir antibactérien des extraits organiques et aqueux des différents organes de l'espèce *A. nilotica* de l'Afrique du sud (feuilles, écorces et racines) à l'exception de leurs graines sur des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (tab. 59).

Tableau 59: Les CMI (mg/ml) de l'activité antibactérienne des extraits d'*A. nilotica* du Sud d'Afrique (Eldeen et al., 2005).

Partie Plante	Bactéries testées											
	Extrait d'éthyle acétate				Extrait Ethanolique				Extrait aqueux			
	<i>B. s</i>	<i>S. a</i>	<i>E. c</i>	<i>K. p</i>	<i>B. s</i>	<i>S. a</i>	<i>E. c</i>	<i>K. p</i>	<i>B. s</i>	<i>S. a</i>	<i>E. c</i>	<i>K. p</i>
Feuille	0,780	1,560	3,125	3,125	0,780	1,560	3,125	3,125	5,00	6,25	>12,5	>12,5
Ecorce	0,092	0,092	0,780	0,780	0,094	0,092	0,780	0,780	0,780	0,780	6,125	6,125
Racine	0,195	0,390	0,780	0,780	0,780	0,780	1,560	1,560	2,500	0,600	6,250	6,250

*B. s* : *Bacillus subtilis* ; *S. a* : *Staphylococcus aureus* ; *E. c* : *Escherichia coli* ; *K. p* : *Klebsiella pneumoniae*.

Il ressort de ces résultats obtenus par Eldeen et al. (2005), en comparaison avec les extraits huileux des graines des deux espèces d'acacia que ces dernières ont exprimées une activité antibactérienne importante avec des CMI plus faibles par rapport aux extraits de feuilles, des écorces ou même des racines (tab. 56 et 59).

En plus nous dégageons une autre remarque sur la nature des solvants de l'extraction qui peuvent influencer sur l'effet antibactérien se qui va se traduire par des CMI faible ou supérieurs.

Cela a été bien prouvé par plusieurs auteurs dont les extraits aqueux présentent des CMI les plus élevés (>12,5mg/ml voir tab. 58 et 59).

Plusieurs travaux de recherche sur l'espèce arabica ont été publiés sur son activité antimicrobienne et sur la toxicité des extraits organiques de ses écorces. Les travaux de Kaur et *al.* (2005), ont indiqué que les extraits organiques apolaires et peu polaires des écorces d'*A. nilotica* ont présentés un effet de cytotoxicité important sur les cellules humaines cancéreuses (HOS human osteosarcoma) et PC-3 (human prostate cancer).

D'après les données bibliographiques existantes sur les deux espèces d'acacia la plupart des travaux sont orientés sur les extraits des différents organes de la plante (feuilles, écorce, racine etc.). Bien que, les graines ont montrées un pouvoir antimicrobien intéressant sur les souches utilisées, aucune analyse identique n'a été publiée ou rapportée dans la littérature pour parachever les comparaisons.

Selon les résultats obtenus, il est évident que l'activité biologique des huiles des deux espèces est en partie liée à leurs composés actifs. D'où les résultats des analyses physicochimiques ont révélés une teneur très élevée des insaponifiables d'environ de  $3,23 \pm 0,22$  % et  $3,36 \pm 0,21$  % respectivement pour l'espèce arabica et raddiana. Cette fraction pourrait présenter des substances actives qui peuvent être à l'origine de cette activité antimicrobienne telles que les saponines, les triterpènes, les tanins etc. Rappelons que l'analyse de HPLC a montrés que les deux huiles sont riches en tocophérols. Ces substances lipophiles sont douées d'un pouvoir antioxydant remarquable noté sur le radical libre DPPH°. Il se peut que ses tocophérols soient en partie responsables de cette activité antimicrobienne enregistrée.

Il faut souligner que plusieurs auteurs ont prouvés que les deux plantes d'acacia leurs écorces, feuilles, racines et gousses présentent une variation de métabolites secondaires très actifs tels que les saponines, les triterpènes, les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tanins. Ces molécules procurent à ces deux plantes une certaines activités biologiques pour se lutter contre les attaques abiotiques et biotiques (Tindale et Roux, 1975 ; Sahai et *al.*, 1980 ; Malan, 1991 ; El-Mousallamy et *al.*, 1991 ; Hosamani et *al.*, 2002; Seigler, 2003 ; Pinkard, 2003, Ncube et *al.*, 2012).

Compte tenu de tous les facteurs existants et les interactions entre la méthode d'extraction, la substance, le microorganisme et le milieu de culture, qui peuvent exister nous pouvons dire que l'action antimicrobienne est complexe comme tout phénomène biologique. Alors l'étude de cette activité nécessite des techniques plus fines et approfondies pour une meilleure évaluation.

### 10. Analyse de corrélation

Cette analyse a été effectuée afin de déterminer s'il existe une corrélation entre les concentrations des huiles et les diamètres d'inhibition de la croissance des différents germes.

Les figures de 31 à 36 montrent des fortes corrélations entre l'augmentation des concentrations et les diamètres des zones d'inhibition des germes pour les deux huiles à l'exception de l'*Aspergillus niger*.

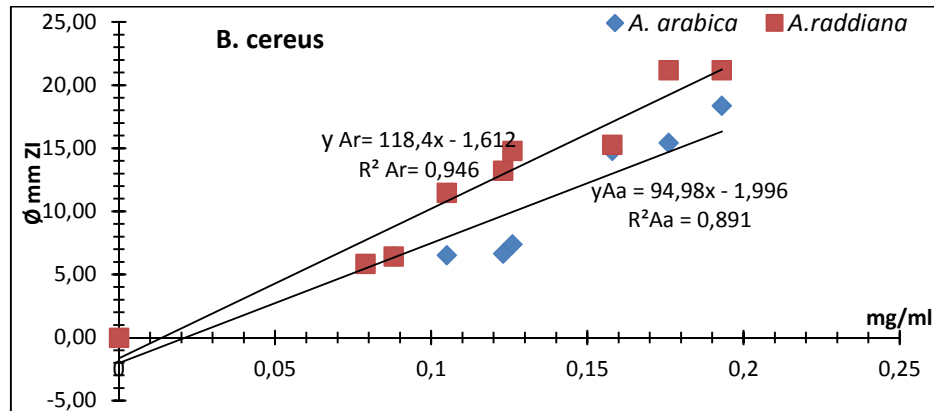


Fig. 31 : Analyse de la corrélation de la souche *B. cereus* en présence des huiles d'acacia.

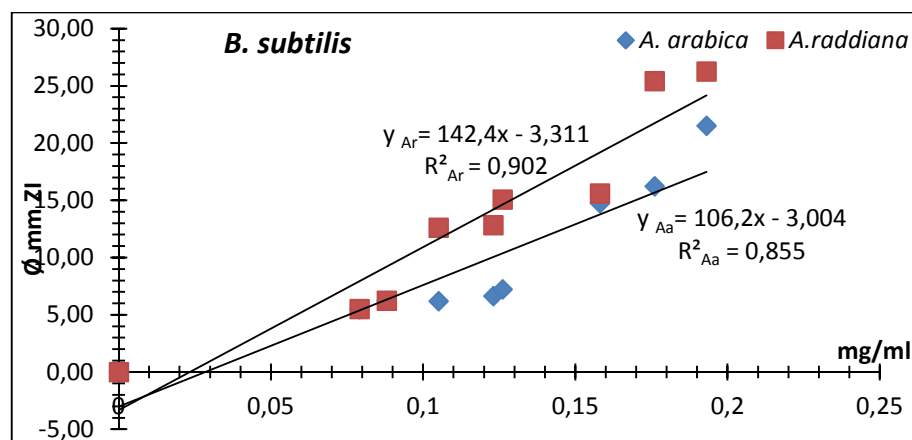


Fig. 32 : Analyse de la corrélation de la souche *B. subtilis* en présence des huiles d'acacia.

Notant que les coefficients des corrélations pour les souches bactériennes varient de 0,92 à 0,98. Ce qui explique le rapprochement des valeurs de la droite de régression. Cela peut signifier qu'il existe une bonne corrélation entre les deux variables pour les quatre souches bactériennes (fig. 31 à 34).

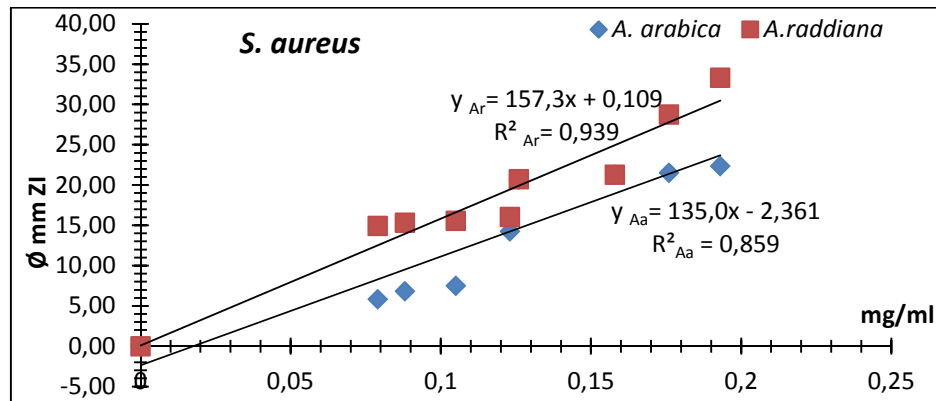


Fig. 33 : Analyse de la corrélation de la souche *S. aureus* en présences des huiles d’acacia.

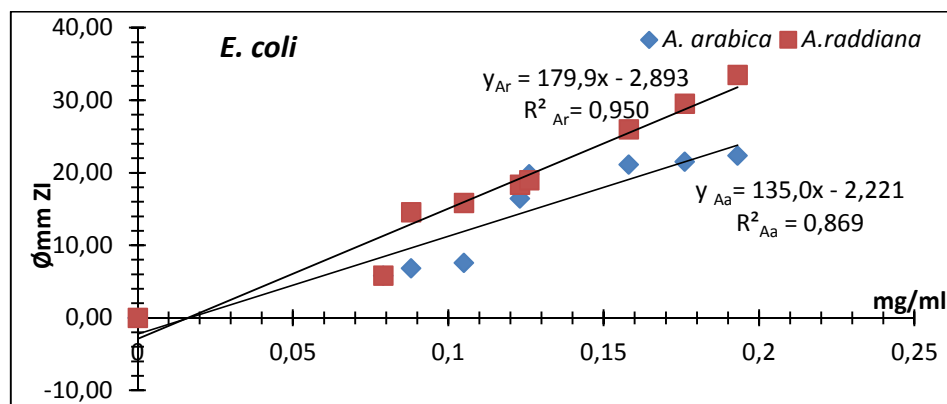


Fig. 34 : Analyse de la corrélation de la souche *E. coli* en présences des huiles d’acacia.

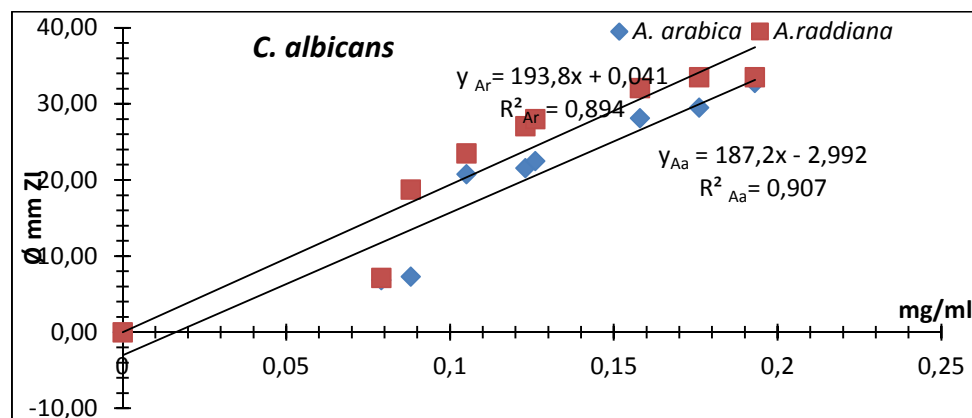


Fig. 35 : Analyse de corrélation de la souche *C. albicans* en présence des huiles d’acacia.

Pours la souche *C. albicans* les coefficients de corrélation pour les deux huiles sont 0,80 et 0,90 pour *A. raddiana* et *A. arabica* respectivement (fig. 35).

Bien que la droite de régression soit négative pour l'espèce *A. niger* les coefficients sont positifs. Nous remarquons clairement que les diamètres diminuent avec l'augmentation concentrations en présence des deux huiles et en particulier de l'espèce arabica (fig. 36).

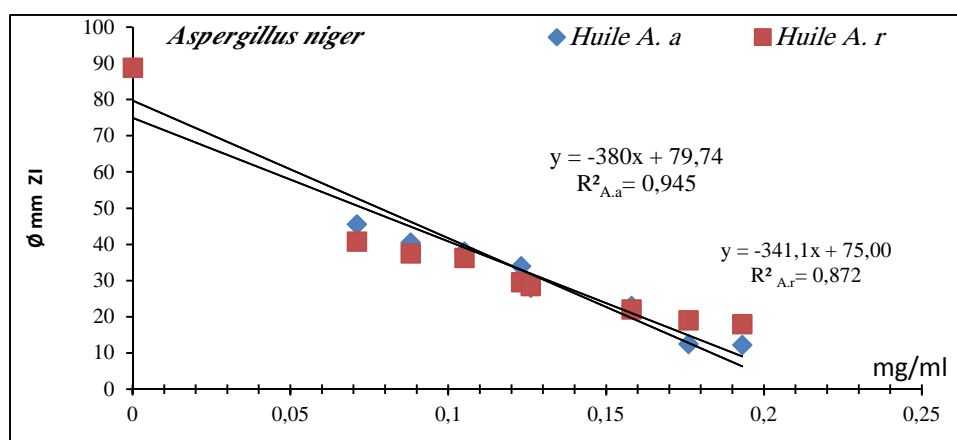


Fig. 36 : Analyse de corrélation de souche *A. niger* en présence des huiles d'acacia.

## 11. Conclusion

Les tests biologiques réalisés avec les deux huiles brutes d'acacia ont révélé une forte activité antifongique sur *A. niger* et *C. albicans* avec des CMI de 0,079 et de 0,088 mg/ml. Le rapport des CMF/ CMI enregistré ne dépasse pas 2, cela indique que l'effet des deux huiles est fongicide. Au-delà de la concentration fongicide l'effet des deux huiles devient stimulant pour l'espèce fongique *Aspergillus niger*.

Les deux bacilles à Gram positives ont présentée une résistance à des faibles concentrations en huiles. Cependant, cette résistance diminue face à des CMI égale 0,158 ml/g et 0,105 ml/g respectivement noté pour les huiles de la plante *arabica* et *raddiana*. Par contre, les deux espèces *E. coli* et *S. aureus* se sont montrés très sensibles à des CMI de 0,12 et 0,088 mg/ml respectivement pour les huiles de l'espèce arabica et raddiana. L'effet des deux huiles d'acacia est bactéricide vis-à-vis de toutes les souches bactériennes utilisées.

En dernier, nous pouvons dire que cette étude préliminaire a fourni au moins quelques données descriptives sur l'effet antimicrobien des deux huiles d'acacia vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques qui sont les plus pathogènes pour la santé humaine.

Néanmoins, cette étude biologique de ces huiles pourra être suivie dans l'avenir avec d'autres objectifs et par d'autres méthodes plus approfondies et avancées afin de mieux cerner les intérêts pharmacologiques et thérapeutiques des huiles de ses plantes.

**Aperçu économique sur les huiles  
d'acacia**

## 12. Aperçu économique sur les huiles les deux huiles d'acacia

La plupart des industries alimentaires, cosmétiques et pharmacologiques sont très intéressées par les propriétés des composés naturels d'autant plus qu'il s'agit des produits innovants originaires des bioressources. A cet effet, nous voulons à titre indicatif projeter quelques comparaisons entre les deux huiles d'acacia algérienne et celle originaire du Burkina en même temps avec une autre espèce qui est très proche de l'acacia sur le plan physicochimiques de l'huiles d'*Argania spinosa* du Maroc (tab.60).

Tableau 60 : Comparaison des principales caractéristiques physicochimiques des huiles d'acacia Algériennes avec des huiles des plantes proches.

Principales caractéristiques	Huiles des plantes				
	<i>A. nilotica</i> Burkina	<i>Palme</i>	<i>Argania spinosa</i> Maroc	<i>A. arabica</i> Algérie	<i>A. raddiana</i> Algérie
Rendement Huile Kg d'huile/100Kg graines	≈10	12	3	12	5
C16 :0	24,1	47,5	13,49	16,46	15,23
C18 :0	5,8	6	5,40	7,54	4,50
C18 :1	25,4	44	41,19	26,09	27,47
C18 :2	40,3	12	38,90	47,89	51,58
∑ AGS %	29,9	53,5	19,31	25,35	20,53
∑ AGIS %	70,6	56	39,5	74,58	79,58
% Insaponifiables	1 -2	< 1,3	< 1,1	3,23 ± 0,22	3,36 ± 0,21
Tocophérols totaux mg/Kg	/	438-2680	600-900	714,7	864,9
Prix € d'un volume de 1l	566,66 à 600	0,57€	113,33	Espèce non exploitée	
Prix en DA	53832 à 57000	54	10766,66	-----	
Références	<a href="http://www.labbo-hevea.com/huile.essetiel">http://www.labbo-hevea.com/huile.essetiel</a>	<a href="http://www.labbo-hevea.com/huile.essetiel">http://www.labbo-hevea.com/huile.essetiel</a>	Nada et al., 2003	Tissouras, 2013	
<p><b>C16:0</b>: Acide palmitique ; <b>C18</b>:Acide stéarique ; <b>C18:1</b> : Acide oléique ; <b>C18:2</b> : Acide linoléique ;  <b>∑ AGS %</b> : Acides gras saturés totaux ; <b>∑ AGIS %</b> : Acides gras insaturés totaux ;</p>					

**NB** : Les prix sont approximatifs et selon le taux de change en cours 24/08/2013.



Photo 27 : L'huile originaire du Burkina 15 ml vendu à 9 € (Internet).

Photo 28 : Les huiles extraites d'acacia originaires Algériennes restes non exploitées.

Sachez que les deux espèces étudiées sont complètement délaissées et non exploitées jusqu'à présent en Algérie à l'exception de quelques usages traditionnels par les populations nomades dans les régions sahariennes. Toutefois, aucune étude économique n'a été entreprise ni sur les huiles ni sur les arbres dans les différents domaines. C'est pour cela que nous avons essayé de donner cet aperçu économique à titre indicatif pour donner plus d'importance à ces espèces (tab. 60).

Cependant, les différences approximatives notées entre les prix de l'huile d'acacia et d'arganier et de palme reviennent aux caractéristiques précieuses et à la spécificité de cette huile. Nous avons remarqué que sur le plan de rendement et de composition en acides gras polyinsaturés, que l'huile d'acacia reste la plus rentable et riches en AGPIS et en tocophérols. C'est pour cette raison, elle est vendue plus cher, environ 566,66 à 600 € pour un 1 litre d'huile, l'équivalent de 53832 à 57000 DA algériens. Cette huile est conditionnée dans des flacons de 15 ml est vendue de 8,5 à 9 € (photo. 27). En contre partie, cette bioressource est complètement abandonnée et inexploitée en Algérie. Bien que les huiles extraites des deux espèces d'acacia algériennes ont révélé une composition phytochimique et un pouvoir antioxydant et antimicrobien important (tab. 60 et photos. 28).

Vu cette composition phytochimique et ses qualités, cette l'huile est très recommandée dans la médecine traditionnelle pour certaines maladies au Burkina, Mali et au Sénégal.

Cependant, dans les régions semi-arides, *A. arabica* et *A. raddiana* jouent un rôle très économique et écologique important. Ces arbres fournissent de l'ombre aux nomades et à leurs animaux en plus, leurs fruits en gousses procurent de la nourriture pour les animaux (les chèvres et les dromadaires). De plus, ces espèces présentent une symbiose bactérienne qui se fait au niveau des racines pour fixer l'azote atmosphérique.

Enfin, la situation actuelle des deux espèces d'acacia dans les zones arides et semi arides est menacée de disparition suite à la pression entropique et la sécheresse exercée sur ses arbres. Alors nous pouvons dire que les qualités de ces deux espèces leur donnent un avantage comparatif et leurs succès actuels devraient inciter les autorités à lutter contre la désertification et à améliorer la gouvernance des régions arides et semis arides en favorisant la mise en place des régimes fonciers pour la préservation et la valorisation de ces arbres dans leurs régions natives et ceci dans le cadre d'un développement rural et durable.

# **Conclusion générale**

## **Conclusion générale**

Les travaux entrepris au cours de cette étude ont permis, dans un premier lieu de mettre en lumière le potentiel phytochimique des huiles des graines de deux espèces agroforestières (*Acacia arabica* et d'*Acacia raddiana*) des régions désertiques. Les résultats obtenus montrent :

- Un taux d'humidité de 0,21 à 0,32%, et un temps de séchage très réduit de 48 à 59 mn ;
- Des rendements élevés des huiles ont été enregistré par le solvant éther de pétrole 12,28±1,09 % pour l'espèce arabica et 9,67 ±0,51 pour raddiana avec un temps d'extraction d'environ 8 heures ;
- Les paramètres physicochimiques correspondent aux valeurs limites fixées par les normes des huiles végétales. Les valeurs obtenus ont indiquée que les huiles sont non siccatives, riches en acides gras insaturés (Indice d'iode varie de 144 à 155 meqO<sub>2</sub>/Kg) et en insaponifiable (3%) ;
- La CPG a confirmé l'insaturation des deux huiles d'acacia avec des pourcentages des AG insaturés de 74 à 79% prédominant d'acides gras polyinsaturés oméga w6 (C18 :2) suivie et des omégas w9 (C18 :1). Ces acides gras dits essentiels assurent des fonctions vitales et indispensables pour le fonctionnement de l'organisme. Cependant, pour les acides gras saturés, la présence qui est de l'ordre de 20% dont l'acide palmitique C16:0 montre une teneur élevée (16,46% et 15,23%) suivie de l'acide stéarique avec une faible teneur.
- En ce qui concerne les tocophérols, les deux huiles d'acacia sont également des sources de la vitamine E antioxydante avec respectivement 71,47 ±1,32% et 86,49 ±0,34 mg/100g d'huile pour l'espèce *arabica* et *raddiana*.
- La composition physicochimique spécifique des huiles des deux espèces d'acacia distingué principalement par les taux importants d'acides gras polyinsaturés et des tocophérols les prédestine à des usages multiples.
- Les propriétés antioxydantes des huiles d'acacia possèdent des composés antioxydants puissants vis-à-vis le radical libre DPPH°. L'estimation simultanée du pouvoir antioxydant EAR est forte avec des temps de réaction moyens et des faibles concentrations en huiles pour les deux espèces (EC<sub>50</sub> : 524 et 264 mg/g DPPH ; Teq : 27 et 23 mn). Néanmoins, ces résultats sont basés sur une simple estimation des activités des huiles brutes et des études sur des extraits purs seraient plus intéressantes à mener.
- Les tests biologiques révèlent que les huiles présentent une forte activité antifongique vis-à-vis *A. niger* et *C. albicans* avec des CMI de 0,079 à 0,105 mg/ml et de 0,079 à

0,088 mg/ml respectivement pour l'huile d'*A. arabica* et d'*A. raddiana*. De même ses huiles exercent des effets inhibiteurs marqués sur les bactéries Gram<sup>-</sup> et Gram<sup>+</sup> en particulier *E. coli* et *S. aureus* ( $0,123 \leq \text{CMI} \leq 0,126\text{mg/ml}$  ;  $0,088\text{mg/ml} = \text{CMI}$ ) respectivement pour les huiles de l'espèce arabica et raddiana. Par contre, les deux bacilles ont présenté une résistance à des faibles concentrations en huiles. Entre autre, cette résistance diminue face à des CMI de 0,158 et 0,105 mg/ml respectivement noté pour l'huile de l'espèce arabica et raddiana.

- Il est fort possible que les autres propriétés non identifier comme les insaponifiables (3%) peuvent avoir des effets biologiques synergiques ou antagoniste d'intérêt biotechnologique.

### **Perspectives**

Finalement, l'objectif premier de cette recherche semble être atteint puisque tous les résultats obtenus mettent en évidence le potentiel phytochimique des huiles des deux espèces. Cette bioressource complètement délaissée et non exploitée jusqu'à présent en Algérie à l'exception de quelques usages traditionnels par les populations indigènes des régions sahariennes recèlent une composition phytochimique et un pouvoir antioxydant et antimicrobien important. Critère de qualité, la présence des taux élevés des AG polyinsaturés et des tocophérols, ces huiles pourraient bien être recommandées pour une exploitation plus rationnelle dans diverses utilisations alimentaire, pharmaceutique, cosmétique etc.

Nous pouvons dire que les qualités de ses deux espèces leurs donnent un avantage comparatif et leurs succès actuel devrait inciter les autorités à lutter contre la désertification, améliorer la gouvernance des régions arides et semis arides en favorisant la mise en place de régimes fonciers respectueux de l'environnement afin de préserver et valoriser ces deux espèces *Acacia* dans le cadre d'un développement rural et durable.

# **Références bibliographiques**

**Références bibliographiques**

- Abd El Nabi Osman M., Reisinger Emil C., Reinthaler Franz F., Still F., Eibel U., and Krejs Guenter J., 1992. Antimicrobial activity of *Acacia nilotica* (L) Willd. Ex Del. Var. Journal of Ethnopharmacology, 37 (1992) 77-79
- Abdelwaheb S.M., Wassel G.M., Aboutabl E.A., Ammar N.M., El-Fiki N., and Afifi M.S., 1990. The saponin content of *Acacia nilotica* L. Will. Bull. Fac. Pharm., Cairo Univ., 28(1): 87-90.
- Abdelwaheb S.M., Wassel G.M., Aboutabl E.A., Ammar N.M., El-Fiki N., and Afifi M.S., 1992. Investigation of mucilage of the pods of *Acacia nilotica* L. Will and *Acacia farnesiana* L. Will growing in Egypte. Egypte J. Pharm.Sci., 33 (1,2): 319-325.
- Abess F., et Douham M., 2009. Extraction et identification physico-chimiques de l'huile des graines d'*Argania spinosa* de la région de Tindouf. Mémoire Ing Etat en NTAA, Univ Tiarret, Algérie.
- AFNOR 1986: Recueil de normes françaises. Corps gras graines oléagineuses produits dérivés. 1<sup>ère</sup> édition 1978, l'AFNOR.
- AFNOR, 1988. Corps gras, graines oléagineuse, produit dérivés, recueil de norme Française, 4<sup>ème</sup> édition Lavoisier. Paris.536 p.
- Alis G., et Micho L., 2008. Biochimie alimentaire. Ed Dunod, 6<sup>ème</sup> édition, p 69.
- Anonyme, 2009. Natural Medicine Comprehensive Database 2009. Therapeutic Research faculty (Pharmacist's Letter) Stockon CA USA. p 319.
- AOCS 1987. Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society (3<sup>rd</sup> ed). American Oil Chemists' Society, Champaign, II, USA, Method Cd 8 53.
- Arbonnier M., 2002. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'ouest. Ed CIRAD, MNHN, 2<sup>ème</sup> édition, p 372-373.
- Asenstorfer R.E., Morgan A.L., Hayasaka Y., Sedgley M. and Jones G.P., 2003. Purification of anthocyanins from species of *Banksia* and *Acacia* using high-Voltage papar. Phytochemical Analysis; 14 (3), 150-154.
- Avril J., Dabernat IL., Denis F., and Monteil IL., 1992. Bacteriologie clinique. Ed Marketing. Paris 15<sup>ème</sup> p511.
- Bagard S., et Sinbmon N., 2008. Physique-chimie TP et enseignement : Tout-en-un, Ed Bréal, p 127.
- Bagre I., Bahi C., Meite S., Djaman A.J., Guede G.F., 2006. Evaluation et amélioration in vitro de l'activité antifongique de *Morinda Morindoide* (Baker) Milne-Redh (Rubiaceae) sur *Cryptococcus neoformans*, un champignon responsable de mycose humaine. J. Sci. Pharm. Biol., Vol 7, 37-46.

- Bakel G., et Aissat A., 2008. Extraction et identification physico-chimiques de l'huile des graines d'*Argania spinosa* L. de la région Stidia wilaya de Mostaganem. Mémoire Ing Etat en NTAA. Univ Tiaret, Algérie.
- Barakouda Y., et Vonder Sar D., 1985. L'*Acacia raddiana* dans la région de Béni Abbas .Bull. Soc. His. Nat. Afr. Nord.
- Bartosz G., 2003. Generation of reaction oxygen species in biological systems. Comments on Toxicology. 9, 5-21.
- Batanouny K.H., 1999. Wild Medicinal Plants in Egypt. With contribution of support of Swiss developpement Co-operation (SDC).
- Ben Amor B., 2008. Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principe actifs : texturation par détente instantanée contrôlée DIC. Thèse de doctorat en Génie des Procédés Industriels, université de la Rochelle UFR des Sciences, pp 10-21.
- Benerji, R., Chowdhury A.R., Misra, G., and Nigam, S.K., 1988. Chemical composition of *Acacia* seeds. Journal American Oil Chemical Society, 65: 1959-1960.
- Bentoumia N., et Belhouari S., 2011. Etude de l'extraction, propriétés physico-chimiques et l'activité anti oxydante de l'huile d'*Argania spinosa*. Mémoire DES en Biochimie, Univ Tiaret, Algérie.
- Berges J., Sicard-Rpselle C., et Houee-Leoin C., 2005. Chimie et biochimie radicalaires. Ed belin, p 22-11.
- Berk Z., 1993. Technologie de production de farine alimentaires et de produit protéique du soja. Ed FAO, p 39-40.
- Bernan J.P.M., 1983. Manual on taxonomy of *Acacia* species: present taxonomy of four species of *Acacia* (*A. albida*, *A. Senegal*, *A. nilotica*, *A. tortilis*). FAO, Rome, Italy, 47 pp.
- Bernus E., 1981. Touaregs nigériens ; unité culturelle et diversité régionale d'un peuple pasteur, ORSTOM, coll. Mémoires, n° 94 (Réd. 1993, L'Harmattan).
- Berrouane N., 1997. Les *Acacias* épineux (ou gommiers), Programme pour l'Afrique du Nord : Projet Education et Conservation de la Biodiversité.
- Bertrand P., 2008. Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*, thèse de doctorat en Ecotoxicologie. Institut National Polytechnique de Toulouse, pp16-20.
- Bhattacharya S.K., Dutta C., and Chatterjee S. M., 2002. Dyeing of silk with some natural colourants. Phytotherapy Research 45 (8), 279-308.

- Biswas B., and Phillips G.O., 2003. Computation of specific optical rotation carbohydrate composition of exudate gums *Acacia senegal* and *Acacia seyal*. Calcutta, India. Food Hydrocolloids, 17 (2), 177-189.
- Blankson H., Stakkestad J.A., Fagertun et al., 2000. Conjugated linoleic acid reduces fat mass in overweight and obese humans. J. Nutr 2000; 130 (12): 2943-8.
- Borel J.P., 1997. Biochimie dynamique. Ed de Boeck, p 687-688.
- Boudy P., 1950. Economie Forestière Nord africaine : Monographie et traitements des essences forestières. 2, (1), Ed. Larousse Paris.
- Boulhot P., 1939. Les acacias épineux du sud marocain. Bull. Soc. Sci. Nat. Maroc. Rabat. 73-93.
- Brenan J.P.M., 1983. Manual on taxonomy of *Acacia* species: present taxonomy of four species of *Acacia* (*A. albida*, *A. senegal*, *A. nilotica*, *A. tortilis*). FAO, Rome, Italy. 47 pp.
- Bridier A., Le Coq D., Dubois-Brissonnet F., Thomas V., Aymerich S., Briandet R., 2011. The spatial architecture of *Bacillus subtilis* biofilms deciphered using a surface-associated model and in situ imaging. Planta Medica. 6(1):16177.
- Brisst J-L., Addou M., Drzoui M., Moussa D., et Abdelmalek F., 2005. Chimie analytique en solution principes et application. Ed Tec Doc, Lavoisier, Paris p 506.
- Brown A.J., Cherikoff V., and D.C.K. Roberts., 1987. Fatty acid composition of seeds from the Australian *Acacia* species. Lipids. Phytochemical Analysis, 22: 490-493.
- Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie Plantes médicinales. Edition Technique et documentation, 3<sup>ème</sup> Edition Lavoisier, Paris 1120.
- Burt S.A., 2004b. Essential oils: their antibacterial proprieties and potential application in foods. International Journal of Food Microbiology, 94 (3), 22-25.
- Bustta C., Vidal R.C., Popiolski A.S., Mossi A.J., Dariva C., Rodriguez M.R.A., Corraza M.L., and Vldimir O.J., and Cansian R.L., 2008. Application of origanum majoranal essential oil an antimicrobial agent in sausage. Food Microbiology, 25, 207-211.
- Caccioni D.R.L., and Guizardi M., 1994. Inhibition of germination of fruit and postharvest pathogenic fungi by essential oil components. J, Essent. Oil Res., 6, 173-179.
- Caillet S., et Lacroix M., 2007. Les huiles essentielles : Leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaires. Laboratoire de Recherche En Sciences Appliquées à l'alimentation (Resala de l'INRS-Institut Armand Frappier, Université de laval (Québec).
- Cano N., Barnoud D., Schneider S., Vasson M-P., Hasselman N., et Reverte X., 2007. Nourrir l'homme malade-traité de nutrition artificielle de l'adulte. Ed springer-verlage France.
- CA-SFM., 2003. «Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie». Communiqué 2003. Edition de janvier 2003- <http://www.sfm.asso.fr>

- Celles J. C., et Manier R., 1980. Remarques sur la distribution en Afrique du Nord occidentale d'*Acacia seyal* Delile et d'*Acacia ehrenbergiana* Hayne. *Candollea*, 35:183-200, Genève.
- Champetier G., 1974. Les industries des corps gras : Industries-production-environnement. Technique à documentation, Lavoisier, Paris p36-43-207-211.
- Charrouf Z., 1984. Contribution à l'étude chimique d'*Argania spinosa* (L) Sapotaceae. Thèse Dr université Perpignan.
- Charrouf Z., et Guillaume A., 1998. Lipide et dérivé carboniques. 2<sup>ème</sup> Edition Lavoisier, Paris, p12-14.
- Cheeseman K.H., and Slater T.F., 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.*, 1993, 49, 481-493.
- Cheftel J.C., et Cheftel H., 1977. Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Ed, Entreprise Moderne, Paris, p317-322.
- Cheriot S., 2007. Rôle des produits de la réaction de Maillard dans l'inhibition de l'oxydation enzymatique des phénols et des lipides. Thèse de doctorat en sciences de l'aliment, Institut des Sciences et Industries de l'Environnement, p 53-98.
- Cimanga K., Kambu K., Tonal L., Apers S., De Bruyene T., Hemans N., Totte J., Pieters L., and Vlittinck A.J., 2002. Correlation between Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the democratic republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, 79, 213-220.
- Compbell , Neil A., Reece, et Jane B., 2007. Biologie. Edition Du Renouveau Pédagogique. Inc, 1333 p.
- Constatin J-P., 2008. Pathologies vasculaires oculaires. Ed Société Française d'Ophtalmologie, Paris, p 181.
- Cowan M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12, 564-582.
- Debbou B., 2003. Extraction et caractérisation biochimique de l'huile d'argan *Argania spinosa* (L.) *Skeels*. Thèse d'ingénieur en Technologie alimentaire, Institut National Agronomique (Alger), pp 50-54.
- Dose, 1978 In Mafart P., et Bellard E., 2004. Génie industriel alimentaire : Technique séparatives. Tome 2, 2<sup>ème</sup> Ed Tec Doc, Lavoisier, Paris pp 37-56.
- Duke J.A., 1981a. Medicinal plants of the bible. Trado-Medic Books, Owerri, NY.
- Duke J.A., 1983a. Hand book of legumes of world economic importance. Plenum Press, NewYork.
- Dutta R., Raman K., and Agrawa M., 2002. Effect of tree plantations on the soil characteristics and microbial activity of coal mine spoil land. *Tropical Ecology*, 43 (2), 315 -324.

- El-Mousallamy A.M.D., Barakat H.H., Souleman A.M.A., and Awadallah S., 1991. Polyphenols of *Acacia raddiana*. *Phytochemistry* 30, 3767-3768.
- Fagg, 1991. *Acacia tortilis* : Fodder tree for desert sands.
- FAO/OMS, 2008. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture/ organisation de la santé]. Code d'usages international recommandé- Principe généraux d'hygiène (CAC/RCP 1-1969) dans hygiène alimentaire, Textes de base (Quatrième édition), 2009.
- Fernanda Braga G., Maria L., Bouzada M., Rodrigo Fabri L., Francis Moreira O., Elita Sc., and Elaine Coimbra S., 2007. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007; 111: 396-402.
- Ferron A., 1979. Bactériologies médicales à usage des étudiants en médecine. Edition Grouan et Roques, Paris 1979.
- Firouzi R., Azadbakht M., and Nabinedjab A.M, 1998. Antilisterial activity essential oils of some plantes. *Journal of Applied. Animal Research*, 14, 75-80.
- Fontenean J- M., et Klusiewicz P., 2008. Travaux pratiques de préparation et de conditionnement des médicaments. Ed Porphyre, p 84.
- Fournier, 1952 :
- François R., 1974. Les industries des corps gras: biochimie extraction, raffinage, nuisance et réglementation. Éd Tec et doc, Lavoisier, Paris, 431p.
- Fredot E., 2007. Connaissance des aliments. Ed Tec Doc, Lavoisier, Paris 4<sup>em</sup> tirage, p 331.
- Frenney J., Renaud F., Hansen W., et Bollet C., 2000. Précis de bactériologie clinique. Edition ESKA février 2000. P709 : 1071-1095.
- Frenot M., et Vierling E., 2001. Biosciences et techniques : biochimie des aliments diététiques du sujet bien portant. 2<sup>ème</sup> Ed Dion, p 96-97.
- Gardner P., 1988. Superoxide-driven a conitase FE-S center cycling. *Bioscience Rep.* 17, 33-42.
- Gavrilovic M., Maginot M-J., et Wallach J., 1996. Biosciences et techniques de manipulation d'analyse biochimique. 3<sup>ème</sup> Ed Dion, pp 36-38.
- Gow N.P., and Berman J., 2004. Trends in microbiology.
- Guinet Ph., and Vassal J., 1978. Hypothesis on the differentiation of the Major group in the genus *Acacia* (Leguminosae). *Kew. Bull.* 32, (3), 509-527.
- Guinet Ph., et Sauvage CH., 1954. Les Hamadas sud marocaines. *Trav. Inst. Sc. Chérifien, Série Gener.* 2, 75-167, 12 pl. carte.
- Hamon-Lorleac'h F., Ridoux L., Harlaay A., Charpentier B., Huard A., et Chanselle S., 2008. Guide du préparateur en pharmacie. 3<sup>ème</sup> Ed Masson, p 209.
- Harvey A., 2000. Drug discovery today. Lavoisier, Paris 5, 294-300.

- Helander I.M., Alakomi H.L., Latva-Kala K., Mattila-Sandholm T., Pol I., E.J., Gorris L.G.M., and Vonwright A., 1999. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (9), 3590-3595.
- Hosamani K.M., Patil A.S., and Pattanashettar R.S., 2002. *Acacia Arabica* varieties - *Telia babul*, *Vediana* and *Cupressiformis* seed oils: a moderate source of coronaric and cyclopropene fatty acids. *Industrial Crops and Products. International Journal* 15 (2002) 131-137.
- Hu B., Duan C., Wang Z., Zhang S., and Qui L., 2002. Effect of vegetation rehabilitation measures on soil fertility and soil enzymatic activity in degraded ecosystem. *Environmental Science, China. Turang Xuebao*, 39 (4), 604-608.
- Ingraham J.L., Lin E.C.C., Low K.B., Magasanik B., Reznikoff W.S., Riley M., Schaechter M., and Umbarger H.E., 1996. *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Cellular and Molecular Biology*, Washington, DC, ASM Press, p. 1553-1569.
- Jadot G., 1994. Antioxydants et vieillissement. Ed John libbey eurotrxt, paris, p 34.
- Jamel S., Faroqui, M.S. Ahmed and Mannan, A., 1987. Chemical investigation of acacia seed oils. *Journal of Sciences food Agricol*, 39, 203-206.
- Jansen P.C.M., et Cardon D., 2005. Ressource végétales de l'Afrique tropicale 3, colorant et tanins, Ed fondation PROTA, Wageningen, pays bas, pp 24-26.
- Jayatilak G. S., Freeberg D. R., Liu Z., and Richeimers S. L., 2003. Isolation and structures of Avicins D and G: Invitro Tumor Inhibitory Saponins Derived from *Acacia victoriae*. *Journal of Natural Products*: 0163-3864.
- Jeanet R., Croguennec T., Schuck P. et Brule G., 2006. Science des aliments : stabilisation biologique et physico-chimique, Ed Tec Doc, Lavoisier, Paris. Volume 1, pp 101-111.
- Jeanet R., Croguennec T., Schuck P., et Brule G., 2007. Science des aliments : technologie des produits alimentaires. Ed Tec Doc, Lavoisier, Paris. Volume 2, p 403-404.
- Jehl F., Chomar M., et Gerard A., 2000. De l'antibiogramme à la prescription. Editions Biomérieux, Février 2000.
- Jensen C. D., Spiller G. A., Gates J. E., Miller A. F., and Whittam J. H., 1993. The effect of *Acacia* gum and a water-soluble dietary fiber mixture on blood lipids in Humans. *J. Am. Coll. Nutr.*, 12, 147-154.
- Joffin J.N., et Leyral G., 1996. Microbiologique technique I. Dictionnaire Technique. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine.
- Karamac M., Kosicska A., and Pegg R.B., 2005. Comparasion of radical-scavanging activities for selected phenolic acids. *Pol. J. Food. Nutr. Sci.* 2005, 14/55 (2), 165-170.
- Karleskind A., 2013. Manuel des corps gras : 2 volumes © 2013 Lavoisier S.A.S.

- Kaur K., Michael H., Arora S., Härkönen P., and kumar S., 2005. In vitro bioactivity-guided fractionation and characterization of polyphenolic inhibitory fractions from *Acacia nilotica* (L.) Willd.ex Del. *Journal of Ethnopharmacology* 99(2005) 353-360.
- Kelly, M.L., and Bauman, D.E., 1996. Conjugated linoleic acid : a potent anticarcinogen found in milk fat. *In: Proc. Cornell. Nutr. Conf. Ithaca, NY, 1996*, 68-74.
- Kirschvink N., 2001. Etude du rôle des F<sub>2</sub>-isoprostanes en tant que marqueur et acteur du stress oxydant pulmonaire. PhD thèses, Université de Liège : Liège, 2001, 303p.
- Lambert R.J.W., and Pearson J., 2001. Susceptibility testing : accurate and reproducible minimum inhibitory concentration (MIC) and non inhibitory concentration (NIC) values. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 784-790.
- Lamiri A., Lhaloui S., Benjillali B., and Berrada M., 2001. Insecticidal effects of essential oils against hessian fly, *Mayetiola Destructor* (Say). *Field Crops Res.*, 71, 9-15.
- Le Minor L., Nicolle P., Buttiaux R., Chabbert Y., and Le Minor S., 1956. Studies on *Escherichia coli* Isolated in Infantile Gastroenteritis. *Ann. Inst. Pasteur*, vol. 86, 1954, pp. 204-226.
- Lechat P., et lagier G., 1980. *Pharmacologie médicale*. 4<sup>ème</sup> Ed. Masson. P670.
- Lee S.H., Lee J.R., Lunde C.S., and Kubo I., 1999. In vitro antifungal susceptibilities of *Candida albicans* and other fungal pathogens to polygodial, a sesquiterpene dialdehyde. *Planta Medica* 65, pp 204-208.
- Lefsih K., Roncales P., Yanguela J., and Djenane D., 2010. Biological effects of Algerian essential oils and their application in liquid eggs. New challenges in Food preservation. Processing-Safty-Sustainanility, 11 Nov, Budapest.
- Lehn J.M., 1997. *Chimie organique-méthode et modèles*. Ed de Boeck, p 365.
- Macarthur E., 2003. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés, thèse de doctorat en biochimie. Université de Nantes, p 39.
- Mafart P., et Bellard E., 2004. *Génie industriel alimentaire : Techniques séparatives*. Tome 2, Ed Tec Doc, 2<sup>ème</sup> éditions Lavoisier, Paris, pp 37-56.
- Maire R., 1933. Etude sur la flore et la végétation du Sahara Central. *Men. Soc. Hist. Nat. Afrique du Nord. Mission Hoggar II*, (3), 433 p.
- Maity C.R., and Mandal B., 1987. Chemical and nutritional studies on the seed oil of *Acacia Arabica*. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 67 (7), 433-434.
- Malan E., 1991. Derivatives of (+) catechin-5-gallate from the bark of *Acacia nilotica*. *Phytochemistry*. 30, 2737-2739.

- Mbuna Julius J., and Mhiniz Gaspar S., 2003. Evaluation of gum exsudates from three selected plant species from Tanzania for food and pharmaceutical applications. *Journal of the Science of the food and agriculture*, 83 (2), 142 -146.
- Menzies A.R., Osman M.E., Malik A.A., and Baldwint C., 1996. A comparison of the physicochemical and Immunochemical proprieties of plant gum exsudates of *Acacia Senegal* (gum Arabic) and *Acacia seyal* (gumTahla). *Food Addit. Contam.* 13, 991-999.
- Miller Joseph T., Andrew R., and Bayer R.J., 2003. Molecular phylogenetics of the Australian *acacias* of subg. Phyllodineae (Fabaceae: Mimosoideae). *Australian Journal of Botany*, 51 (2), 167-177.
- Moonga Gur-Sharan U.K., 2003. Capsules for medicaments, beverages, food colorings and flavors. *Brit. uk. Pat. Appl*, 7pp. 2003 :13 39 85.
- Mungnier J., 2000. La nouvelle classification des plantes à fleurs pour la science 2000. Lavoisier, Paris, pp52-59.
- Muthana K.D., and Arora G.D., 1980. Performance of *Acacia tortilis* (Forsk) under different habitats of the Indian arid zone. *Ann. Arid Zone* 19 (1/2): 110-118.
- Nada R., 2003. L'Arganier arbre du sud Ouest Marocain en péril protégé, Thèse pour le diplôme d'état en pharmacie. Université Hassen II, Maroc : p9-13.
- Nanjo F., Goto K., Seto R., Suzuki M., sakai M., and Hara Y., 1996. Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radic Boil Md.* 1996, 21(6), 895-902.
- Ncube B., Finnie J.F., and Staden Van J., 2012. In vitro antimicrobial synergism within plant extract combinations from three South African medicinal bulbs. *Journal of Ethnopharmacology* 139 (2012) 81-89.
- Nia N., 2008. Suivi et comparaison des paramètres physico-chimiques de l'huile de soja raffinée chimiquement et enzymatiquement, produites par Cevital. Mémoire d'Ingéniorat en génie biologie, Université Abderrahmane Mira-Bejaïa, pp 43-51.
- Nielsen P.V., and Rios R., 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food Microbial.*, 60, 219-229.
- Norme UICPA 2.423. American Oil Chemists' Society, Champaign, II, USA, Method Cd 8 53.
- Norme UICPA. 2. 301, 2. 302, 2.304. AOCS d8b-90 American Oil Chemists' Society, Champaign, II, USA, Method Cd 8 53.

- Pannalás A.S., Chan T.S., O'Brien P.J., and Rice-Evans C.A., 2001. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: Fast reaction Kinetics. *Biochemical and Biophysical research communications* 2001, 282, 1161-1168.
- Pariza M.W., Parky Y., and Cook M.E., 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog.lipid Res.*, 2001, 40, 283-298.
- Parize P., et al., 2008. Antifungal therapy of *Aspergillus* Invasive otitis externa. Efficacy of voriconazole and Review Antimicrob. Agents Chemother. December 2008
- Paster N., 1990. Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on molds and foodborne bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.*, 11, 33-37.
- Perrot E.M., 1950. Les productions végétales indigènes cultivées de l'Afrique occidentale (Sahara, Soudan, Nigeria, Haute Volta, Guinée). M. com, Ind France. 468 p.
- Pinkard E.A., 2003. Growth and physiological responses of Blackwood (*Acacia melanoxylon*) growing with a *Pinus radiata* nurse crop following applications of nitrogen and phosphorus. *Forestry Tasmania Trees (Heidelberg, Germany)*,17(4),325-335.
- Poirot R., 2007. Méthodologie pour le passage en continu d'extraction de solide à partir de matière végétale. Thèse de doctorat génie des procédés et environnement, Institut national polytechnique de Toulouse, pp 8-17.
- Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C., and Roura S.I., 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organique. *Swiss Chard. Lebensmittel- Wissenschaft und.Technologic*, 36, 679-684.
- Poole K., 2001. Multidrug resistance in Gram- negative bacteria. *Current Opinion in Microbiology*, 4, 500-508.
- Prescott., Harley., Klein., 2002. *Microbiologie*. De Boeck University, 1014p.
- Quezel P. et Simonneau P., 1963. Les peuplements d'*Acacia* du Sahara nord occidental. *Trav. Int. Rech. Sahara. Alger.* 20, 79 -121.
- Quezel P., et Santa S., 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1 C.N.R.S. Paris. 565 p.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J., Bolwell P.G., Bramley P.M., and Pridham J.B., 1995. The antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research.* 22, 375-383.
- Rossignol-Castera Anne., Coustille Jean-Louis., Mazette Stéphane., and Bouvarel Isabelle., 2005. Etude de la composition et de la qualité des huiles acides industrielles vue d'une meilleure reconnaissance de leur valeur nutritionnelle. 6<sup>ème</sup> Journée de la Recherche Avicole, Malo, 30 et 31 mars 2005.

- Sahai R., Agarwal S.K., and Rastogi R.P., 1980. Auriculoside, a new flavan glycoside from *Acacia auriculiformis*. *Phytochemistry* 19, 1560-1562.
- Salas-Salvadó J., Marquez-Sandoval F., and Bulló M., 2006. Conjugated linoleic acid intake in humans a systematic review focusing on its effects on body composition, glucose and lipid metabolism. *Crit Rev Food Sci nutria*. 2006; 46(6): 479-488.
- Samson R.A., Houbraken J., Summerbell R.C., Flannigan B., and Miller J.D., 2001. Common and important species of fungi and actinomycetes in indoor environments. In: *Miroorganisms in Home and Indoor. Work Environments*. New York: Taylor & Francis. Pp. 287-292. ISBN
- Sanchez-Moreno C., Larrauri A., and Saura-Calixto F., 1998. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1998, 76(2), 270-276.
- Sasaki K., Tomioka Y., Hirajima T., and Tsunekawa M., 2003. Study on microbially mediated dissolution of arsenopyrite by acidithiobacillus ferroxidans and its suppression by two organic matters of *Environmental Science, Japan*. 119 (2), 61-65.
- Scherer R., and Godoy H.T., 2009. Antioxidation activity index (AAI) by the 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* 2009, 112, 654-658
- Seigler D.S., 2003. *Phytochemistry of Acacia-sensu lato*. *Biochemical systematic and ecology* 31, 845-873.
- Sharma Om P., and Bhat T.K., 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry* 2009, 113 (4), 1202.
- Sheppard D.C., et al., 2004. Functional and structural diversity in the Als protein family of *Candida albicans*. *J. Biol. Chem*, 279: 30480-30489.
- Skandamis P.N., and Nychas G.J.E., 2001. Effect of oregano essential oil on microbiological and physicochemical attributes of minced stored in air and modification atmospheres. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 1011-1022.
- Smith Alexandra H., Imalay J. A., and Mackie R. I., 2003. Increasing the oxidative stress response allows *Escherichia coli* to overcome inhibitory effects of condensed tanins. *Applied and Environmental Microbiology*. 69 (6), 3406 -3411.
- Smith-Palmer A., Stewart J., et Fyfe L., 2001. The potential application of essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18, 463-470.
- Southwell I.A., Russelle M.F., and Smith R.L., 2003. Chemical composition of some navel aromatic oils from the Australian flora. *Acta Horticulturae*. 597, 79-89.

- Tabart J., Kevers C., Pincemail J., Defraigne J., and Dommes J. 2009. Comparative antioxydant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry* 2009, 113, 1226-1233.
- Takeda R., 2003. Antiaging cosmetics containing plant extracts and UV absorbents. *J. Japan.* 9pp.
- Tindale M.D., and Roux D.G., 1975. Phytochemical studies on the heartwoods and barks of African and Australian species of *Acacia*. *Boissiera* 24, 299-305.
- Tissouras F., 2004. Caractérisation biométrique des gousses et des graines, extraction et identification des polysaccharides pariétaux et des huiles de deux légumineuses ligneuses des zones arides algériennes «*Acacia arabica* et *Acacia raddiana*». Mémoire Magister en Biotechnologie. Univ USTO, Algérie.
- Tissouras F., Lotmani B., Mjahed M., and Larid M., 2013. Chemical composition and antimicrobial activity of the crude oils extracts seeds of *Acacia arabica* and *Acacia raddiana* from Hoggar South Algeria. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(3): 1354-1358, 2013.
- Toledo I., Lloret L., and Martinez R. E., 2003. *Sinorhizobium americanus* sp. nov., a new *Sinorhizobium* species nodulating native *Acacia* spp-in Mexico. *Systematic and Applied Microbiology*, 26 (1), 54 - 64.
- Tortora , Funke, Case, 2003. *Introduction à la microbiologie*. Ed Du Renouveau Pédagogique. Inc, 945 p.
- Tortorat G.J., Funk B.R., and Case C.L., 2007. *Microbiology an Introductory*. 11<sup>th</sup> Student edition Peareson. Boston Columbus Indianapolis NewYork.
- Toullec J., et Mottet M., 2006. *Analyse chimique quantitative de Vogel*. Ed de Boeck, 6<sup>ème</sup> édition, p 231.
- Tranchant J., Gardais J.I., Gorin P., Prévôt A., Serpinet J., et Untz G., 1982. *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse*. Troisième édition Masson. Paris.
- Troegeler-Meynadier A., et Enjalbert F., 2005. Les acides linoléiques conjugués. Intérêt biologiques en nutrition. *Revue Méd. Vét.*, 156, 4, 207-216.
- Ultee A., and Smid E.J., 2001. Influence of Carvacol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 373-378.
- Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelan R., 2002. The phenolic hydroxyl groupe of carvacol is essential for action against the food borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (4), 1561-1568.
- Vassal J., 1972. Apport des recherches ontogéniques et séméiologiques. L'étude morphologique, taxonomique et phylogénique du genre *Acacia*. *Bull, Soc, Hist, Nat, Toulouse*. 108, 125 -147.
- Von Maydell H.J., 1983. *Arbre et arbustes du Sahel. Leurs caractérisations et leurs utilisations*

Whistler R.L., et Bemiller J.N., 1993. Industrial gums. 3<sup>ème</sup> Ed., Academic Press. New York.

Willd, 1806: *In* Jansen P.C.M., et Cardon D., 2005. Ressources végétales de l'Afrique tropicale, Colorants et tanins. P 22, 23, 23, 25.

Zaka S., Asghar B., Raie M.Y., Khan S.A., and Bhatti M.K., 1986. Composition of total lipids from *Acacia arabica* and *farnesiana* seed oils. Pak.J.Sci. Ind. Res., 29(6): 427-429.

Zouhaier N., 2010. *Acacia tortilis* (forssk). Hayne subsp. *Raddiana* (savi) *Brenen* en Tunisie pré-Saharienne : Structure du peuplement, réponse et effet biologique et environnementaux. P 33, 34, 35, 36. Thèse de doctorat en sciences biologiques à l'université de Bordeaux 1(France).

### **Références internet**

Internet 1 : Les huiles essentiels, page consulté le 12/ 06/ 2011 [en ligne], Adress : URL

<http://www.labbo-hevea.com/huile.essetiel>

Internet 2 : Les arbres essence, page consulté le 12/ 06/ 2011 [en ligne], Adress : URL

<http://www.labbo-hevea.com/huile.essetiel>

Internet 3 : Les huiles acacias essence, page consulté le 12/ 06/ 2011 [en ligne], Adress : URL

<http://www.labbo-hevea.com/huile.essetiel>

Internet 5 : Prix de l'huile de Palme, page consulté le 12/ 06/ 2011 [en ligne], Adress : URL

<http://www.labbo-hevea.com/huile.essetiel>

Internet 6 : Anses : [www.anses.fr](http://www.anses.fr)

Internet 7 : EFSA : [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu)

# **Annexes**

### Présentation du site de prélèvements (Hoggar)

Le Hoggar est un massif montagneux de l'extrême Sud algérien, il se situe entre 12° et 25° de latitude Nord entre 3° et 6° de longitude Est. Il s'étale sur une superficie d'environ 554000 km<sup>2</sup>, qui représente le quart de la surface globale de l'Algérie. Il est divisé en 21 régions naturelles, dont les principales sont :

- l'**Atakor**, zone fortement montagneuse où on trouve les plus hauts sommets d'Algérie **Tahat 3003 m, Ilâman 2789 m, Assekrem 2760 m, Tefedest** au Nord de l'**Atakor**, l'**Anahaf** à l'Est, l'**Immîdir**, l'**Ahnet**, etc.
- Le **Hoggar** subit l'influence de deux régimes climatiques : le méditerranéen sur ses marges septentrionales et le tropical sur ses marges méridionales. Le climat est marqué par une saison sèche tout en long de l'année, les températures maximales absolues peuvent atteindre 40 °C à Tamanrasset (1395 m), et 28 °C à Assekrem (2760 m) durant le mois le plus chaud Juin. Par ailleurs, le mois de Janvier est le plus frais, les températures minimales sont très basses (-13,5 °C en 1993), les précipitations sont rares, irrégulières aléatoires de faible importance quantitative (100 à 200 mm/an). C'est ainsi que se localisent les régions des prélèvements des deux espèces *A. arabica* et *A. raddiana* (Tab.4),

Tableau 4 : Présentation des coordonnées géographiques des deux espèces sahariennes d'acacia dans l'Ahaggar.

Espèces	Lieu de récolte	Longitude	Latitude	Altitude m
<i>Acacia arabica</i>	Teganaouene	22 22 31	05 15 51	979
	Tessenaouene	22 44 59	05 27 07	1313
<i>Acacia raddiana</i>	Anfege	22 17 20	05 46 44	953

**Planche. 4 :** Sujets de prélèvement des deux espèces d'acacia station de Tamanrasset.



**Photo.1 et 2 :** Pieds d'*Acacia raddiana* « Talha » à 2100 m d'altitude.



**Photo. 4 et 5 :** *A. arabica* et *A. raddiana*, présentant une formation végétale mixte avec d'autres genres « *Zizyphus lotus* et *Balanites aegyptiaca* » dans un grand Oued du versant méridional du Hoggar :



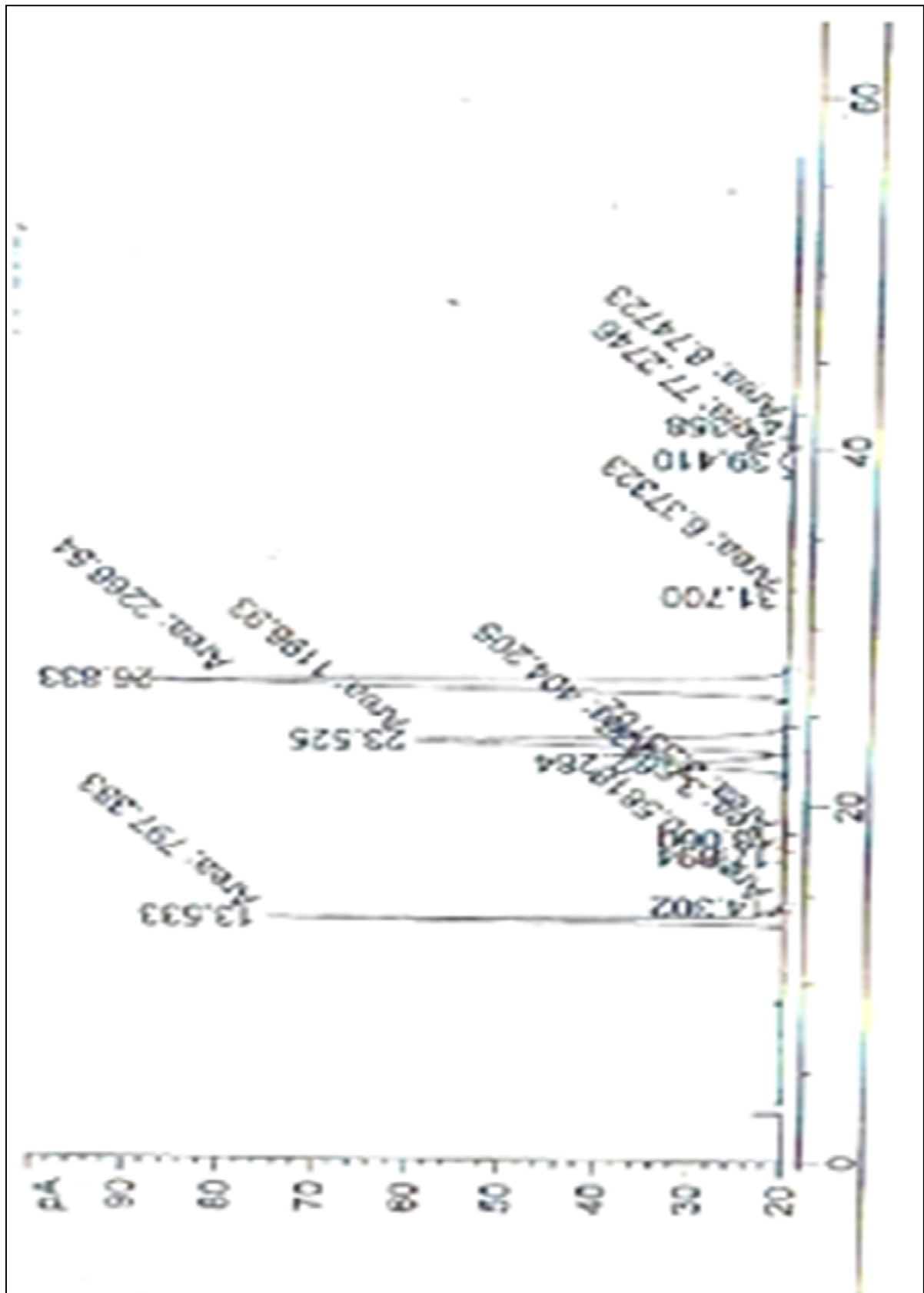


Fig. 19 : Chromatogramme obtenue par la CPG des acides gras de l'huile d'*A. raddiana*.

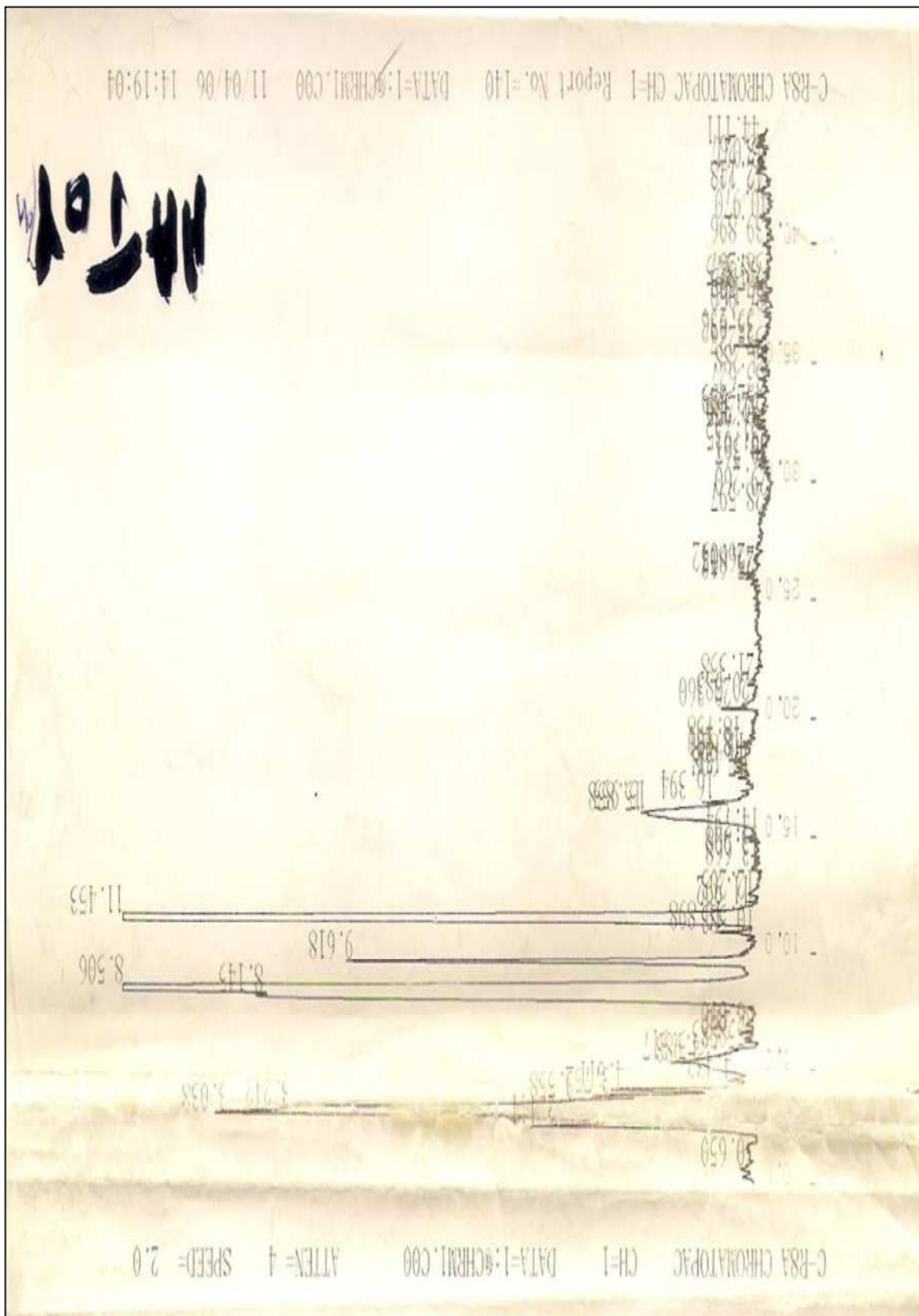


Fig. 21 : Chromatogramme obtenue par HPLC des tocophérols de l'huile des graines d'*A. arabica*.

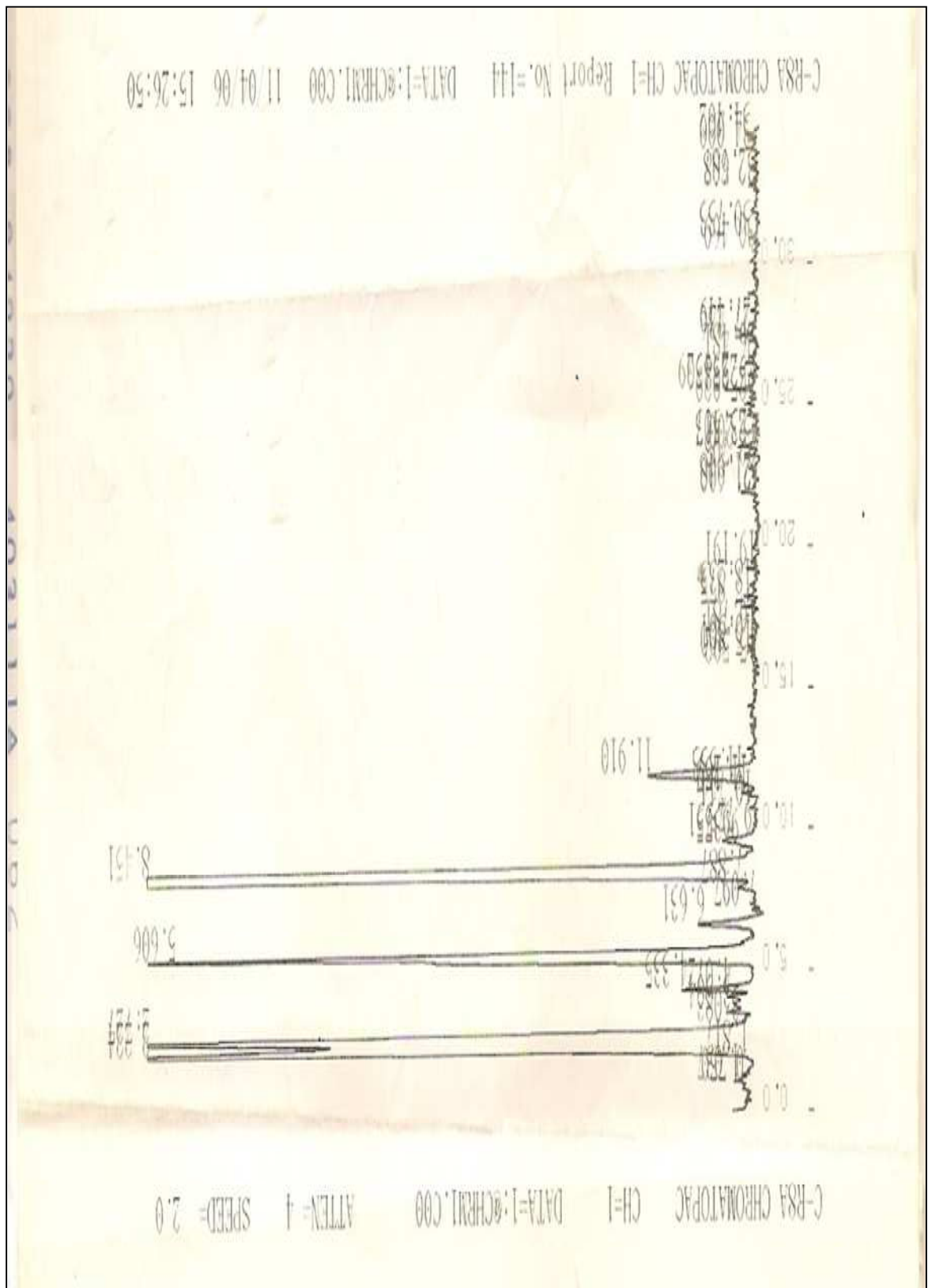


Fig. 22 : Chromatogramme obtenue par HPLC des tocophérols de l'huile des graines d'A. raddiana.



## 1. Activité antimicrobienne des huiles

1.1. Test de diffusion en milieu liquide de l'huile d'*A. arabica***Tableau 16** : La gamme de dilution de 0 à 0,316 mg/ml pour les Bactéries à Gram+ sporulant.

<i>Souches microbiennes</i>	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,0098	0,01975	0,039	0,079	0,158	0,316
<i>Bacillus cereus</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++++	+++	++	++	++	-	-

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

**Tableau 17** : La gamme de dilution de 0 à 0,504 mg/ml pour les Bactéries à Gram+ non sporulant.

<i>Souches microbiennes</i>	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,01575	0,0315	0,063	0,126	0,252	0,504
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	+++	++	++	-	-	-

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

**Tableau 18** : La gamme de dilution de 0 à 0,492 mg/ml pour les Bactéries à Gram-.

<i>Souches microbiennes</i>	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,01537	0,0307	0,0615	0,123	0,246	0,492
<i>Escherichia aureus</i>	++++	+++	++	++	-	-	-

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

**Tableau 19** : La gamme de dilution de 0 à 0,4225 mg/ml pour la levure *C. albicans*.

<i>Souches microbiennes</i>	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,0131	0,0262	0,0525	0,105	0,2112	0,4225
<i>Candida albicans</i>	++++	+++	++	++	-	-	-

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

**Tableau 20** : La gamme de dilution de 0 à 0,316 mg/ml pour le champignon *A. niger*.

<i>Souches microbiennes</i>	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,0098	0,01975	0,039	0,079	0,158	0,316
<i>Aspergillus niger</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	+++

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

1.2. Test de diffusion en milieu liquide de l'huile d'*A. raddiana***Tableau 21** : La gamme de dilution de 0 à 0,4225 mg/ml pour les Bactéries à Gram+ sporulant.

<i>Souches microbiennes</i>	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,0131	0,0262	0,0525	0,105	0,2112	0,4225
<i>Bacillus cereus</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

**Tableau 22** : La gamme de dilution de 0 à 0,316 mg/ml pour les Bactéries à Gram+ non sporulant.

<i>Souches microbiennes</i>	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,0098	0,01975	0,039	0,079	0,158	0,316
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	+++	++	++	-	-	-

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

**Tableau 23**: La gamme de dilution de 0 à 0,352 mg/ml pour les Bactéries à Gram-.

<i>Souches microbiennes</i>	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,011	0,022	0,044	0,088	0,176	0,352
<i>Escherichia aureus</i>	++++	+++	++	++	-	-	-

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

**Tableau 24**: La gamme de dilution de 0 à 0,352 mg/ml pour la levure *C. albicans*.

<i>Souches microbiennes</i>	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,011	0,022	0,044	0,088	0,176	0,352
<i>Escherichia aureus</i>	++++	+++	++	++	-	-	-

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

**Tableau 25** : La gamme de dilution de 0 à 0,316 mg/ml pour le champignon *A. niger*.

<i>Souches microbiennes</i>	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,0098	0,01975	0,039	0,079	0,158	0,316
<i>Aspergillus niger</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	+++

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

**Tableau 26** : L'activité antimicrobienne des huiles d'acacia en milieu liquide à la concentration de 0 à 0,492 mg/ml.

Souches microbiennes	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,01537	0,0307	0,0615	0,123	0,246	0,492
L'huile d'A. arabica							
<i>Bacillus cereus</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++++	+++	++	++	+++	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	+++	++	±	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	++++	+++	++	±	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	++++	+++	++	++	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	++++	+++	++	++	-	+++	++++
L'huile d'A. raddiana							
<i>Bacillus cereus</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	++++	+++	+++	+++	-	+++	++++

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

**Tableau 27**: Les CMI de l'activité antimicrobienne des huiles d'acacia en milieu liquide à la concentration de 0 à 0,4225 mg/ml.

Souches microbiennes	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,0131	0,0262	0,0525	0,105	0,2112	0,4225
L'huile d'A. arabica							
<i>Bacillus cereus</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++++	+++	++	++	++	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	+++	++	++	±	-	-
<i>Escherichia coli</i>	++++	+++	++	++	±	-	-
<i>Candida albicans</i>	++++	+++	++	++	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	++++	+++	++	++	-	+++	++++
L'huile d'A. raddiana							
<i>Bacillus cereus</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	++++	+++	+++	+++	-	+++	++++

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

**Tableau 28** : Les CMI de l'activité antimicrobienne des huiles d'acacia en milieu liquide à la concentration varie de 0 à 0,352 mg/ml.

Souches microbiennes	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,011	0,022	0,044	0,088	0,176	0,352
	L'huile d'A. arabica						
<i>Bacillus cereus</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++++	+++	++	++	+++	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	+++	++	++	++	-	-
<i>Escherichia coli</i>	++++	+++	++	++	±	-	-
<i>Candida albicans</i>	++++	+++	++	++	±	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	++++	+++	++	++	-	±	++++
	L'huile d'A. raddiana						
<i>Bacillus cereus</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	++++	+++	+++	+++	-	±	++++

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

**Tableau 29**: L'activité antimicrobienne des deux huiles d'acacia en milieu liquide à la concentration de 0 à 0,316 mg/ml.

Souches microbiennes	Concentration en huile [mg/ml]						
	0,0	0,0098	0,01975	0,039	0,079	0,158	0,316
	L'huile d'A. arabica						
<i>Bacillus cereus</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Escherichia coli</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Candida albicans</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	++++	+++	+++	++	-	-	+++
	L'huile d'A. raddiana						
<i>Bacillus cereus</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++++	+++	+++	+++	+++	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	+++	+++	+++	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	++++	+++	+++	+++	++	-	-
<i>Candida albicans</i>	++++	+++	+++	+++	++	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	++++	+++	-	-	-	-	+++

(++++) croissance très élevée ; (+++) élevée ; (++) : moyenne ; (±) : faible ; (-) Absence

### 1.3. Test de diffusion en milieu solide (méthode de disque)

Les diamètres moyens des zones d'inhibitions vis-à-vis les souches microbiennes à différentes gammes de dilution des huiles d'acacia sont représentées dans les tableaux ci-dessous :

**Tableau 32 :** Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. arabica* à la concentration de 0 à 0,504 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,01575	0,0315	0,063	0,126	0,252	0,504
		L'huile d' <i>A. arabica</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	2,58	4,43	5,67	7,42	20,57	34,67
	Ecart	0,00	0,38	0,40	0,06	0,03	0,40	1,53
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	2,75	5,10	6,00	7,23	25,17	35,42
	Ecart	0,00	0,50	0,96	0,50	0,64	0,38	0,38
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	2,25	3,17	5,25	21,75	25,17	43,83
	Ecart	0,00	0,66	0,38	0,25	0,50	0,52	2,67
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	2,08	3,92	7,15	19,80	32,92	45,17
	Ecart	0,00	0,29	0,52	0,49	0,18	0,63	0,76
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	2,33	4,42	6,75	33,25	38,17	51,25
	Ecart	0,00	0,52	0,52	0,66	0,25	0,38	1,64

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 33 :** Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. arabica* à la concentration de 0 à 0,492 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,01537	0,0307	0,0615	0,123	0,246	0,492
		L'huile d' <i>A. arabica</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	2,62	5,00	5,73	6,68	23,77	33,33
	Ecart	0,00	0,15	0,62	0,21	0,46	0,75	1,53
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	2,58	4,75	5,78	6,65	24,83	34,50
	Ecart	0,00	0,14	0,66	0,13	0,10	0,76	1,32
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	2,17	3,00	5,00	12,83	23,67	42,42
	Ecart	0,00	0,38	0,25	0,25	0,38	1,76	2,38
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	2,33	4,25	6,75	21,15	32,00	42,33
	Ecart	0,00	0,29	0,25	0,66	0,66	1,32	2,36
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	1,50	3,83	7,63	21,57	37,58	47,83
	Ecart	0,00	0,43	0,14	0,13	0,16	0,63	0,95

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 34** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. arabica* à la concentration de 0 à 0,4225 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,0131	0,0262	0,0525	0,105	0,2112	0,4225
		L'huile d' <i>A. arabica</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	2,35	4,15	5,00	6,53	17,80	28,83
	Ecart	0,00	0,13	0,38	0,50	0,50	2,80	0,58
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	2,67	4,12	5,00	6,18	21,83	29,00
	Ecart	0,00	0,76	0,61	0,90	0,46	1,01	0,87
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,88	2,75	4,75	7,75	21,08	41,50
	Ecart	0,00	0,54	0,25	0,25	0,73	0,88	2,46
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	1,93	4,35	5,83	8,00	30,08	40,25
	Ecart	0,00	0,28	0,41	0,63	0,50	0,80	0,25
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	1,47	3,67	6,58	32,75	36,50	46,88
	Ecart	0,00	0,20	0,29	0,38	0,75	0,25	0,32

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 35** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. arabica* à la concentration de 0 à 0,352 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,011	0,022	0,044	0,088	0,176	0,352
		L'huile d' <i>A. arabica</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,67	4,70	5,08	6,43	15,44	25,67
	Ecart	0,00	0,29	0,26	0,63	0,40	0,01	0,58
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,67	4,33	5,05	6,23	21,18	27,25
	Ecart	0,00	0,38	0,52	0,91	0,25	0,35	0,66
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,33	2,88	4,82	6,82	16,67	35,58
	Ecart	0,00	0,38	0,54	0,39	0,35	0,14	5,08
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	1,50	3,08	5,25	7,58	23,00	36,92
	Ecart	0,00	0,25	0,63	0,25	0,63	0,50	2,79
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	1,33	3,42	5,92	8,63	34,83	41,33
	Ecart	0,00	0,14	0,38	0,52	0,15	0,14	1,42

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 36** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. arabica* à la concentration de 0 à 0,316 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,0098	0,01975	0,039	0,079	0,158	0,316
		L'huile d' <i>A. arabica</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,58	3,73	4,40	5,87	14,81	27,50
	Ecart	0,00	0,38	0,49	0,17	0,12	0,01	1,32
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,58	3,73	4,40	5,50	20,72	28,35
	Ecart	0,00	0,14	0,49	0,17	0,30	0,06	0,54
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,32	2,75	4,42	7,13	22,50	33,25
	Ecart	0,00	0,16	0,25	0,14	0,13	0,25	1,98
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	1,75	2,67	4,58	5,83	21,13	33,58
	Ecart	0,00	0,25	0,38	0,38	0,63	0,59	2,65
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	1,13	2,58	4,50	7,17	34,58	39,52
	Ecart	0,00	0,13	0,38	0,90	0,38	0,14	0,28

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida* ; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 37** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. raddiana* à la concentration de 0 à 0,504 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,01575	0,0315	0,063	0,126	0,252	0,504
		L'huile d' <i>A. raddiana</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,25	2,88	6,92	16,83	29,92	45,92
	Ecart	0,00	0,25	0,54	0,52	0,88	0,52	0,95
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,75	3,75	7,33	20,17	31,00	47,08
	Ecart	0,00	0,25	0,25	0,38	0,38	0,87	0,63
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,88	3,85	7,30	24,38	34,50	50,33
	Ecart	0,00	0,32	0,26	0,48	0,86	0,50	0,76
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	2,00	4,13	7,17	29,33	35,52	50,75
	Ecart	0,00	0,25	0,38	0,38	0,52	0,28	0,25
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	3,58	5,43	6,83	35,92	57,33	68,17
	Ecart	0,00	0,14	0,26	0,38	0,88	0,52	0,38

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida* ; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 38** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. raddiana* à la concentration de 0 à 0,492 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,01537	0,0307	0,0615	0,123	0,246	0,492
		L'huile d' <i>A. raddiana</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,30	2,67	4,92	13,25	27,58	40,92
	Ecart	0,00	0,18	0,14	0,29	0,25	0,88	0,52
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,75	3,42	7,00	18,42	31,00	44,08
	Ecart	0,00	0,66	0,52	0,50	0,38	0,50	0,63
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	2,00	3,73	7,05	19,68	36,75	46,42
	Ecart	0,00	0,43	0,45	0,52	0,16	0,25	0,38
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	2,33	3,92	7,25	27,17	37,75	46,75
	Ecart	0,00	0,52	0,52	0,50	0,29	0,66	0,25
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	3,63	5,25	6,50	35,75	43,08	64,08
	Ecart	0,00	0,13	0,25	0,66	0,25	0,52	1,84

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 39** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. raddiana* à la concentration de 0 à 0,4225 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,0131	0,0262	0,0525	0,105	0,2112	0,4225
		L'huile d' <i>A. raddiana</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,05	2,25	6,80	15,03	25,67	39,08
	Ecart	0,00	0,26	0,25	1,43	0,78	0,76	1,28
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,42	2,92	7,22	17,63	30,50	40,42
	Ecart	0,00	0,38	0,38	0,06	0,12	0,50	0,88
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,63	3,17	7,52	18,58	32,50	44,75
	Ecart	0,00	0,44	0,80	0,28	0,14	0,50	0,25
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	1,88	3,50	7,63	26,42	34,33	46,58
	Ecart	0,00	0,34	0,25	0,13	0,38	1,04	0,52
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	2,42	4,58	6,22	35,25	50,17	59,33
	Ecart	0,00	0,29	0,14	0,26	0,66	0,38	0,52

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 40** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. raddiana* à la concentration de 0 à 0,352 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,011	0,022	0,044	0,088	0,176	0,352
		L'huile d' <i>A. raddiana</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,27	1,88	4,47	6,43	21,22	35,17
	Ecart	0,00	0,46	0,32	0,20	0,40	0,30	1,04
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,30	2,25	6,83	6,23	26,67	36,25
	Ecart	0,00	0,64	0,90	0,58	0,25	0,29	0,66
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,47	2,30	7,00	15,06	29,25	39,25
	Ecart	0,00	0,60	0,83	0,25	0,27	0,66	0,66
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	1,83	4,25	7,67	25,06	33,35	39,97
	Ecart	0,00	0,14	0,66	0,14	0,10	0,77	0,46
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	2,13	4,35	5,92	33,63	38,42	51,75
	Ecart	0,00	0,13	0,26	0,29	0,13	0,38	0,75

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 41** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. raddiana* à la concentration de 0 à 0,316 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,0098	0,01975	0,039	0,079	0,158	0,316
		L'huile d' <i>A. raddiana</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	0,88	1,85	3,83	5,87	18,63	31,00
	Ecart	0,00	0,13	0,26	0,38	0,12	0,63	1,00
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	0,98	2,08	4,00	5,50	21,33	32,75
	Ecart	0,00	0,18	0,29	0,25	0,30	0,52	0,25
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,50	2,67	7,38	15,62	26,28	36,75
	Ecart	0,00	0,25	0,38	0,55	0,15	0,60	0,25
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	1,58	2,50	5,50	7,67	31,33	36,92
	Ecart	0,00	0,14	0,25	0,25	0,14	0,52	0,38
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	2,08	3,63	5,55	7,15	37,42	50,17
	Ecart	0,00	0,38	0,13	0,26	0,79	0,63	0,38

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 42** : Les diamètres des zones d'inhibition par la méthode de diffusion en milieu solide (disque) en présence des différentes concentrations des deux huiles d'acacia.

		Huile <i>A. arabica</i>								
Concentration [mg/ml]		Témoin	0,079	0,088	0,105	0,123	0,126	0,158	0,176	0,193
<i>B. cereus</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	5,87	6,43	6,53	6,68	7,42	14,81	15,44	18,40
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,12	0,40	0,50	0,46	0,03	0,01	0,01	0,02
<i>B. subtilis</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	5,50	6,23	6,18	6,65	7,23	20,72	21,18	25,53
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,30	0,25	0,46	0,10	0,64	0,06	0,35	0,06
<i>S. aureus</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	7,13	6,82	7,75	12,83	21,75	22,50	16,67	22,34
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,13	0,35	0,73	0,38	0,50	0,25	0,14	0,03
<i>E. coli</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	5,83	7,58	8,00	21,15	19,80	21,13	23,00	28,37
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,63	0,63	0,50	0,66	0,18	0,59	0,50	0,08
<i>C. albicans</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	7,17	8,63	32,75	21,57	33,25	34,58	34,83	38,75
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,38	0,15	0,75	0,16	0,25	0,14	0,14	0,44
		Huile <i>A. raddiana</i>								
<i>B. cereus</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	5,87	6,43	15,03	13,25	16,83	18,63	21,22	26,22
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,12	0,40	0,78	0,25	0,88	0,63	0,30	0,89
<i>B. subtilis</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	5,50	6,23	17,63	18,42	20,17	21,33	26,67	26,23
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,30	0,25	0,12	0,38	0,38	0,52	0,29	0,23
<i>S. aureus</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	15,62	15,06	18,58	19,68	24,38	26,28	29,25	33,30
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,15	0,27	0,14	0,16	0,86	0,60	0,66	0,26
<i>E. coli</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	7,67	25,06	26,42	27,17	29,33	31,33	33,35	38,50
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,14	0,10	0,38	0,29	0,52	0,52	0,77	0,26
<i>C. albicans</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	7,15	33,63	35,25	35,75	35,92	37,42	38,42	42,50
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,79	0,13	0,66	0,25	0,88	0,63	0,38	0,75

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida* ; Moy : Moyenne des diamètres des zones d'inhibition en mm.

#### 1.4. Test de diffusion en milieu solide (méthode de puits)

Les diamètres moyens des zones d'inhibitions vis-à-vis les souches microbiennes à différentes gammes de dilution des huiles d'acacia sont données dans les tableaux ci-dessous :

**Tableau 43 :** Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. arabica* à la concentration de 0 à 0,504 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,01575	0,0315	0,063	0,126	0,252	0,504
		L'huile d' <i>A. arabica</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	2,08	2,83	4,67	7,83	20,58	37,17
	Ecart	0,00	0,80	0,38	0,76	0,76	0,38	0,58
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,83	3,17	5,13	8,00	27,42	36,50
	Ecart	0,00	0,14	0,38	0,13	0,25	0,14	0,25
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,50	4,00	6,42	19,42	25,58	48,08
	Ecart	0,00	0,66	0,25	0,14	0,38	0,29	0,52
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	2,17	4,58	7,58	26,42	34,25	46,08
	Ecart	0,00	0,63	0,72	0,14	0,38	0,43	0,29
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	2,17	4,75	8,25	41,67	47,13	54,42
	Ecart	0,00	0,14	0,66	0,43	0,14	0,13	0,14

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 44 :** Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. arabica* à la concentration de 0 à 0,492 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,01537	0,0307	0,0615	0,123	0,246	0,492
		L'huile d' <i>A. arabica</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,75	2,83	4,17	7,58	19,00	34,25
	Ecart	0,00	0,25	0,14	0,80	0,76	0,25	0,66
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,58	2,83	5,75	7,33	26,47	35,75
	Ecart	0,00	0,14	0,38	0,00	0,14	0,64	0,25
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,42	3,58	6,13	12,58	24,42	46,58
	Ecart	0,00	0,29	0,14	0,13	0,52	0,14	0,14
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	1,83	4,05	6,75	25,06	32,08	43,67
	Ecart	0,00	0,38	0,26	0,50	0,10	0,29	0,14
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	1,97	3,97	6,75	40,33	46,17	52,97
	Ecart	0,00	0,20	0,20	0,25	0,14	1,01	0,20

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 45 :** Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. arabica* à la concentration de 0 à 0,4225 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,0131	0,0262	0,0525	0,105	0,2112	0,4225
		L'huile d' <i>A. arabica</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,42	2,42	4,08	6,83	17,08	30,67
	Ecart	0,00	0,14	0,29	0,52	0,14	0,52	0,76
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,33	2,58	4,33	6,67	23,25	30,58
	Ecart	0,00	0,38	0,14	0,52	0,14	0,43	0,29
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,17	3,05	5,97	8,17	22,92	43,25
	Ecart	0,00	0,14	0,26	0,20	0,38	0,14	0,66
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	1,58	3,92	6,50	8,75	30,00	36,83
	Ecart	0,00	0,38	0,29	0,25	0,25	0,43	0,38
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	1,42	3,67	5,83	39,00	45,42	51,75
	Ecart	0,00	0,14	0,14	0,14	0,66	0,14	0,90

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 46 :** Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. arabica* à la concentration de 0 à 0,352 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,011	0,022	0,044	0,088	0,176	0,352
		L'huile d' <i>A. arabica</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,13	1,97	3,33	6,25	16,83	27,00
	Ecart	0,00	0,13	0,41	0,38	0,25	0,14	0,87
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,17	2,42	3,83	6,08	21,83	30,17
	Ecart	0,00	0,14	0,29	0,38	0,29	0,38	0,38
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,08	2,42	5,08	7,67	21,25	37,42
	Ecart	0,00	0,29	0,58	0,52	0,14	0,43	0,38
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	1,17	3,50	6,00	8,50	28,42	36,42
	Ecart	0,00	0,14	0,25	0,43	0,25	0,29	0,58
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	1,13	3,38	5,92	36,75	44,33	49,83
	Ecart	0,00	0,13	0,32	0,72	0,43	0,14	0,14

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 47** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. arabica* à la concentration de 0 à 0,316 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,0098	0,01975	0,039	0,079	0,158	0,316
		L'huile d' <i>A. arabica</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,08	2,25	2,88	5,88	15,37	22,33
	Ecart	0,00	0,21	0,50	0,34	0,23	0,38	0,29
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	0,83	2,33	3,97	5,42	19,30	29,00
	Ecart	0,00	0,14	0,29	0,20	0,29	0,40	0,25
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	0,92	1,92	4,83	6,92	20,67	33,83
	Ecart	0,00	0,14	0,63	0,14	0,29	0,14	0,14
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	1,12	2,67	5,58	8,00	27,42	35,42
	Ecart	0,00	0,23	0,38	0,14	0,25	0,29	0,29
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	1,42	2,67	7,58	36,13	42,42	48,48
	Ecart	0,00	0,52	0,63	0,14	0,13	0,14	0,25
<i>B</i> : <i>Bacillus</i> ; <i>S</i> : <i>Staphylococcus</i> ; <i>E</i> : <i>Escherichia</i> ; <i>C</i> : <i>Candida</i> ; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.								

**Tableau 48** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. raddiana* à la concentration de 0 à 0,504 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,01575	0,0315	0,063	0,126	0,252	0,504
		L'huile d' <i>A. raddiana</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,25	2,88	6,92	23,58	30,83	47,92
	Ecart	0,00	0,25	0,54	0,52	0,14	0,58	0,14
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	2,17	4,08	7,88	24,08	32,83	48,50
	Ecart	0,00	0,52	0,29	0,32	0,38	0,76	0,25
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	2,58	4,42	8,17	25,97	37,25	52,42
	Ecart	0,00	0,14	0,29	0,38	0,20	0,43	1,88
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	2,83	5,13	7,33	30,10	38,25	53,08
	Ecart	0,00	0,38	0,63	0,52	0,43	0,25	0,95
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	2,58	4,83	7,83	45,50	58,00	68,75
	Ecart	0,00	0,14	0,14	0,14	0,25	0,43	0,25
<i>B</i> : <i>Bacillus</i> ; <i>S</i> : <i>Staphylococcus</i> ; <i>E</i> : <i>Escherichia</i> ; <i>C</i> : <i>Candida</i> ; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.								

**Tableau 49** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. raddiana* à la concentration de 0 à 0,492 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,01537	0,0307	0,0615	0,123	0,246	0,492
		L'huile d' <i>A. raddiana</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	3,33	4,17	7,67	22,08	33,00	44,58
	Ecart	0,00	0,72	0,63	0,14	0,29	0,50	0,63
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,67	3,75	7,08	22,75	32,33	43,92
	Ecart	0,00	0,63	0,50	0,29	0,25	0,29	1,51
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	2,55	3,92	7,08	24,83	36,33	47,67
	Ecart	0,00	0,09	0,29	0,38	0,14	0,52	0,29
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	2,55	4,42	6,83	28,33	37,75	50,22
	Ecart	0,00	0,09	0,76	0,38	0,29	0,66	0,70
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	2,42	5,50	7,33	45,17	58,00	65,58
	Ecart	0,00	0,76	0,25	0,14	0,29	1,09	0,14

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 50** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. raddiana* à la concentration de 0 à 0,4225 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,0131	0,0262	0,0525	0,105	0,2112	0,4225
		L'huile d' <i>A. raddiana</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	2,05	4,00	7,47	20,92	26,25	40,33
	Ecart	0,00	0,26	0,66	0,30	0,76	0,25	0,52
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,75	2,42	6,55	21,02	30,25	41,08
	Ecart	0,00	0,25	0,29	0,61	0,04	0,66	0,72
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,97	3,33	7,00	23,80	33,92	45,92
	Ecart	0,00	0,20	0,38	0,25	0,33	0,80	0,29
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	2,72	4,58	7,08	26,92	35,67	47,17
	Ecart	0,00	0,38	0,14	0,38	0,52	0,76	0,29
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	1,97	3,92	6,00	40,00	57,67	63,83
	Ecart	0,00	0,20	0,29	0,43	0,87	0,29	2,47

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 51** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. raddiana* à la concentration de 0 à 0,352 mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,011	0,022	0,044	0,088	0,176	0,352
		L'huile d' <i>A. raddiana</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,75	3,83	4,47	8,00	26,17	35,17
	Ecart	0,00	0,50	0,52	0,20	0,25	0,38	1,04
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,13	2,55	7,42	8,17	28,50	37,25
	Ecart	0,00	0,13	0,43	0,63	0,38	0,90	0,66
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,67	1,83	6,42	22,30	29,58	41,25
	Ecart	0,00	0,52	0,52	0,38	0,30	0,52	0,25
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	1,72	3,92	6,92	25,97	35,33	40,63
	Ecart	0,00	0,38	0,52	0,29	0,42	0,52	0,13
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	1,75	2,72	5,17	37,75	56,00	59,75
	Ecart	0,00	0,25	0,38	0,58	0,66	0,25	0,25

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 52** : Les diamètres moyens des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile d'*A. raddiana* à la concentration de 0 à 0,316mg/ml.

Souches microbiennes		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,0098	0,01975	0,039	0,079	0,158	0,316
		L'huile d' <i>A. raddiana</i>						
<i>B. cereus</i>	Ø Moy	0,00	1,75	3,00	7,25	7,92	24,83	31,83
	Ecart	0,00	0,25	0,25	0,43	0,52	0,38	1,04
<i>B. subtilis</i>	Ø Moy	0,00	1,33	3,08	7,53	7,75	26,38	33,42
	Ecart	0,00	0,14	1,04	0,10	0,25	0,98	0,38
<i>S. aureus</i>	Ø Moy	0,00	1,17	2,75	5,25	8,25	28,17	37,33
	Ecart	0,00	0,14	0,43	0,43	0,66	0,80	0,63
<i>E. coli</i>	Ø Moy	0,00	1,42	3,42	6,67	7,83	32,58	38,08
	Ecart	0,00	0,29	0,38	0,14	0,63	1,81	0,38
<i>C. albicans</i>	Ø Moy	0,00	2,08	3,63	5,55	8,43	51,25	50,17
	Ecart	0,00	0,38	0,13	0,26	0,59	0,66	0,38

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida*; Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres.

**Tableau 53** : Les diamètres des zones d'inhibition par la méthode de diffusion en milieu solide (méthode puits) en présence des deux huiles d'acacia.

		Huile <i>A. arabica</i>								
Concentration [mg/ml]		Témoin	0,079	0,088	0,105	0,123	0,126	0,158	0,176	0,193
<i>B. cereus</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	5,88	6,25	6,83	7,58	7,83	15,37	16,83	19,33
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,23	0,25	0,14	0,76	0,76	0,38	0,14	0,10
<i>B. subtilis</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	5,42	6,08	6,67	7,33	8,00	19,30	21,83	24,37
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,29	0,29	0,14	0,14	0,25	0,40	0,38	0,63
<i>S. aureus</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	6,92	7,67	8,17	12,58	19,42	20,67	21,25	26,45
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,29	0,14	0,38	0,52	0,38	0,14	0,43	0,05
<i>E. coli</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	8,00	8,50	8,75	25,06	26,42	27,42	28,42	31,42
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,25	0,25	0,25	0,10	0,38	0,29	0,29	0,38
<i>C. albicans</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	36,13	36,75	39,00	40,33	41,67	42,42	44,33	45,75
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,13	0,43	0,66	0,14	0,14	0,14	0,14	0,25
		Huile <i>A. raddiana</i>								
<i>B. cereus</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	7,92	8,00	20,92	22,08	23,58	21,07	24,83	28,43
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,52	0,25	0,76	0,29	0,14	0,90	0,38	0,40
<i>B. subtilis</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	7,75	8,17	21,02	22,75	24,08	20,92	26,38	28,67
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,25	0,38	0,04	0,25	0,38	0,29	0,98	0,29
<i>S. aureus</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	8,25	22,30	23,80	24,83	25,97	22,30	28,17	35,15
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,66	0,30	0,33	0,14	0,20	0,10	0,80	0,26
<i>E. coli</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	7,83	25,97	26,92	28,33	30,10	26,50	32,58	35,60
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,63	0,42	0,52	0,29	0,43	0,17	1,81	0,40
<i>C. albicans</i>	<i>Moy Ømm</i>	0,00	8,43	37,75	40,00	45,17	45,50	33,07	51,25	57,50
	<i>Ecartype</i>	0,00	0,59	0,66	0,87	0,29	0,25	0,90	0,66	0,66

*B* : *Bacillus* ; *S* : *Staphylococcus* ; *E* : *Escherichia* ; *C* : *Candida* ; Moy : Moyenne des diamètres des zones d'inhibition en mm.

### 1.5. Test de diffusion en milieu solide (méthode de disque et de puits)

Les diamètres moyens des zones d'inhibitions vis-à-vis le champignon *Aspergillus niger* à différentes concentrations des huiles d'acacia sont données dans les tableaux ci-dessous :

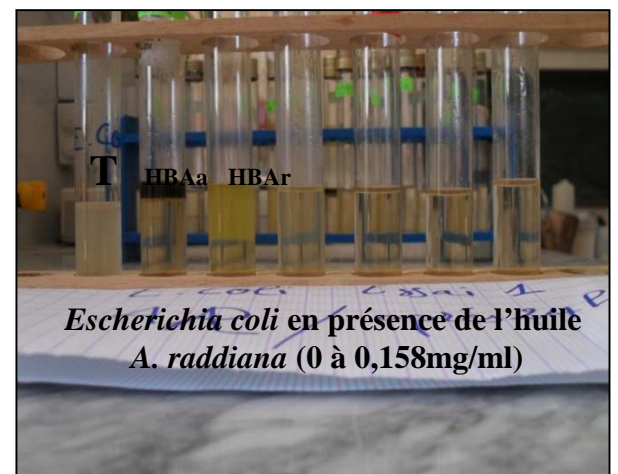
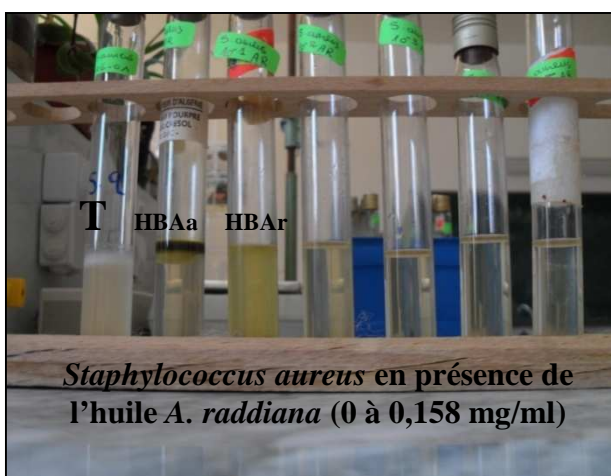
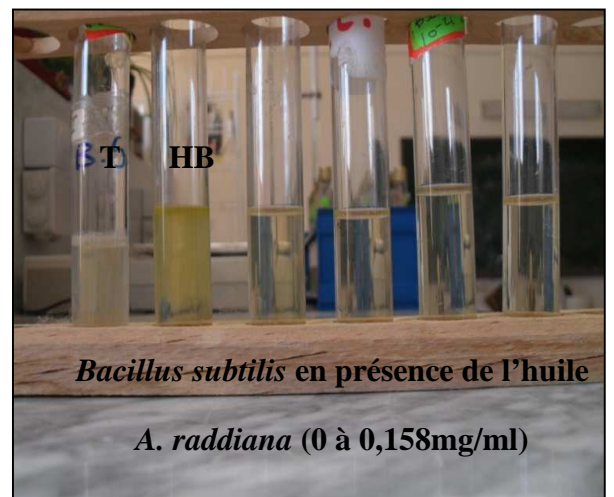
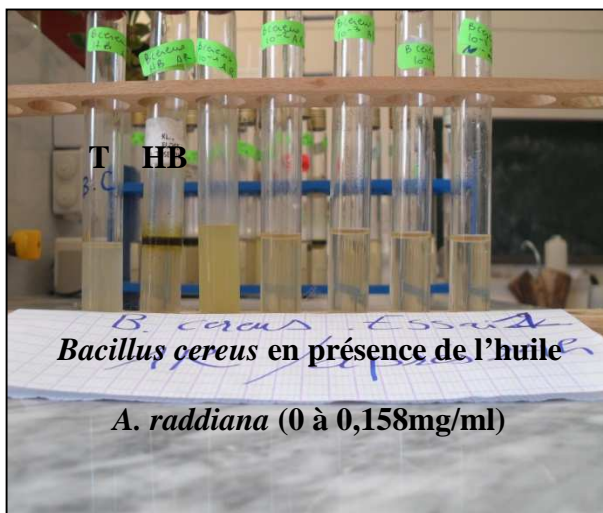
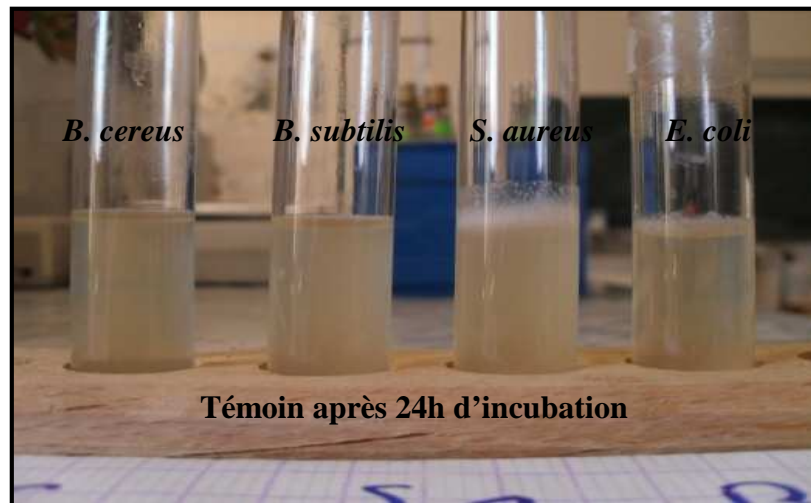
**Tableau 54** : Activité antifongique de l'huile d'*Acacia arabica* vis-à-vis *A. niger*.

		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,0098	0,01975	0,039	0,079	0,158	0,316
Méthode de disque	Ø Moy	0,00	9,75	10,08	15,25	30,00	43,58	58,08
	Ecart	0,00	1,09	0,63	0,25	0,43	1,59	0,38
	%Moy	0,00	89,16	88,80	83,05	66,66	51,57	35,46
Méthode de puits	Ø Moy	0,00	9,83	11,00	13,58	39,00	47,50	60,25
	Ecart	0,00	0,29	0,87	0,52	1,00	0,50	0,25
	% Moy	0,00	89,07	87,77	84,91	56,66	47,22	33,05
Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres ; % : Pourcentage d'inhibition.								








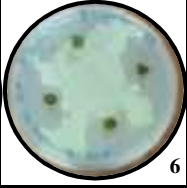

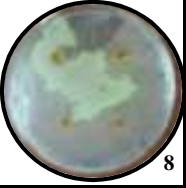







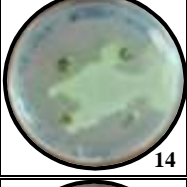

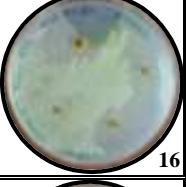




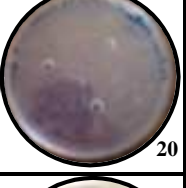





**Tableau 55** : Activité antifongique de l'huile d'*Acacia raddiana* vis-à-vis *A. niger*.

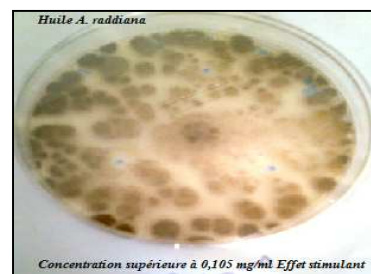
		Concentration en huile [mg/ml]						
		0	0,0098	0,01975	0,039	0,079	0,158	0,316
Méthode de disque	Ø Moy	0,00	10,33	13,42	14,42	25,08	40,83	55,00
	Ecart	0,00	0,58	0,38	0,38	0,14	1,15	0,50
	%Moy	0,00	88,52	85,10	83,98	72,22	54,63	38,88
Méthode de puits	Ø Moy	0,00	10,42	11,00	14,75	21,67	40,08	53,33
	Ecart	0,00	0,14	1,32	0,75	0,14	0,38	2,89
	% Moy	0,00	88,43	87,77	83,61	75,93	55,46	40,74
Ø Moy: Diamètres des zones d'inhibition moyen en mm ; Ecart : Ecartype moyen des diamètres ; % : Pourcentage d'inhibition.								

**Planche 5 :** Photos de quelques résultats de l'activité antibactérienne de l'huile d'*A. raddiana* en milieu liquide.



**Planche 6** : Photos de quelques résultats de l'activité antibactérienne des l'huiles d'acacia à différentes concentrations par la diffusion en milieu solide (disque et de puits).

Culture	Témoin Sans huile	Présence d'huile d' <i>A. arabica</i>		Présence d'huile d' <i>A. raddiana</i>	
		0 à 0,158mg/ml	0 à 0,158mg/ml	0 à 0,105mg/ml	0 à 0,105mg/ml
<i>Bacillus cereus</i>					
<i>Bacillus subtilis</i>					
<i>Escherichia coli</i>					
<i>Staphylococcus aureus</i>					
<i>Candida albicans</i>					
<i>Aspergillus niger</i>					



Photos 25 et 26 : Effets stimulant des huiles des deux espèces d'acacia du développement de l'*Aspergillus niger* au-delà des CMI.

# *Publication*

## ORIGINAL ARTICLES

### Chemical composition and anti-microbial activity of the crude oils extracts seeds of *Acacia arabica* and *raddiana* from Hoggar South Algeria.

<sup>1,2</sup>F. Tissouras, <sup>2</sup>B. Lotmani, <sup>2</sup>M. Medjahed, <sup>2</sup>M. Larid

<sup>1</sup>Départements of Biological Sciences, Faculty of Natural and Life Sciences - University of Tiarret.

<sup>2</sup>Departments of Biotechnology, Faculty of Natural and Life Sciences - University of Mostaganem.

---

#### ABSTRACT

The objective of this study is the highlighting of traditional spontaneous use with phytochemical potential on antibacterial activity of crude extracts of the seeds of two medicinal plants *Acacia arabica* and *Acacia raddiana* of Hoggar region in southern Algeria. After chemical extraction of crude oil seeds by hexane, the physicochemical properties especially tocopherols were measured by HPLC. The antibacterial activity of these extracts was tested *in vitro* on strains ATCC Gram+ bacteria (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) and Gram- bacteria (*Escherichia coli*) by micro-dilution diffusion in solid medium (discs and wells). The results were statistically treated (MANOVA). The results showed that the extracts have a high content of tocopherols compounds and exhibit a high antibacterial effect. Micro-dilution reveals important MIC against the Gram + bacteria *B. subtilis*, *S. aureus*, *B. cereus* ( $0.088 \leq \text{MIC} \leq 0.158$  mg/ml) and Gram- bacteria *E. coli* ( $0.088 \leq \text{MIC} \leq 0.123$  mg/ml) respectively for crude extracts of *A. raddiana* and *A. arabica*. The antibacterial activity of crude extracts explains the importance of traditional use by local people. However, extensive studies on their pharmacological active compounds allow their use in the treatment of certain human diseases.

**Key words:** *Acacia arabica*, *Acacia raddiana*, phytochemical potential, tocopherols, essential oil, antibacterial activity.

---

#### Introduction

Plants oils and extracts have been used for a wide variety of proposes for many thousands of years. Recently, the essential oils and various extracts of plants have provoked interest as a source of natural products. They have been screened for their potential uses as alternative remedies for the treatment of many infectious diseases and the prevention of food from the toxic effects of oxidants (Siti Amirah *et al.*, 2012). In this study two medicinal plant species *Acacia arabica* and *Acacia raddiana* were considered. These plants are located in the Hoggar region in extreme south of Algeria. Both species have scientific names; *Acacia nilotica* subsp *arabica* (Jansen and chard, 2005) and *Acacia tortilis* subsp *raddiana* (Grouzis and Edward, 2003). These two plants are widely used in traditional medicine by indigenous nomads as remedies against inflammatory diseases of the throat, colds, diarrhea and diabetes (Eldeen *et al.*, 2010; Siti Amirah *et al.*, 2012)<sup>o</sup>.

Vernacular names in Asia of *Acacia arabica* is the gum red, neb neb and balbla (Jansen and chard, 2005). In Algeria, *arabica* species is called the Dbegh. According to Hammiche and Maiza (2005), indigenous Tassili N'ajjer called *raddiana* species Thalha. In some countries of the world as Egypt, Sudan and South Africa, scientific studies are done on the use of the two species in traditional medicines, where, gums, stems, leaves, fruits and seeds which are used against several diseases: colds, bronchitis, pneumonia, blindness, diarrhea and bleeding (Watt, 1962; Fleurentin and Pelt, 1982; Eldeen *et al.*, 2005; Eldeen and Van Staden, 2007; Kaur *et al.*, 2005; Eldeen *et al.*, 2010). In Sudanese traditional medicine, the infusion of 5g powder of *Acacia nilotica* seeds in 200ml of cold water are used against colds and the treatment of inflammation of the throat (Abdelnabi *et al.*, 1992). The effect of essential oils of seed extract from *Acacia arabica* and *Acacia raddiana* have not been previously investigated.

This paper was conducted to screen the antimicrobial activity of the crude oils extracts of seeds of both *Acacia* plants, to establish a link between the importance of the traditional uses of seeds and biological effect. The chemical compositions of the essential oils were also analyzed by gas chromatography mass spectroscopy.

#### Materials and methods

##### *Plant material:*

Samples of seeds of *A. arabica* and *A. raddiana* were collected in June 2010 in the Hoggar region (Tegnoueuén, Tessenauouéne and Anfeeg), these regions are located in southern Algeria.

*Extraction and physicochemical analysis:*

The seeds of both species were sorted, crushed and placed in cellulosic Soxhlet cartridges for chemical extraction by hexane. Physicochemical evaluation of crude extracts focused on percentage of unsaponifiables acid value and the saponification value (Audigie, 1980). Tocopherols were analyzed by RT-HPLC with detector 10A.L Shimadza fluorescence and a column of silica (AFNOR, 1978).

*Preparation of extract solutions:*

Solutions extracts were prepared using DMSO (dimethyl sulfoxide, 1mg/ml). In this is concentration, this solvent has no effect on the growth of bacteria used in the *in vitro* experimenting unlike some other solvents.

*Antimicrobial screening:*

A panel of four pathogenic bacteria used in this study including three Gram positive bacteria, *Bacillus cereus* ATCC6633, *Bacillus subtilis* ATCC11778, *Staphylococcus aureus* ATCC33862 and one Gram negative bacteria *Escherichia coli* ATCC25922. All bacteria were obtained from microbiology department of Pasteur Institute of Algiers. The evaluation of the antimicrobial potency extracts of *Acacia* was carried out by three different methods:

-Microdilution method to determine minimum inhibitory concentrations (MIC) described by Thornsberry *et al.* (1983). 1 ml of each dilution of extract was mixed with 8.5 ml of nutrient broth and inoculated with 0.5 ml of bacterial suspension  $10^6$  cfu/ml. Then, serial dilutions were made from  $10^{-1}$  to  $10^{-8}$ . The cultures were incubated at 37° C for 24 h. Bacterial growth was estimated and compared to the control.

-The disc diffusion method was employed for the determination of antimicrobial activity of the essential oils, according to the methods suggested by the national community for clinical laboratory standard (NCCLS, 2001). The suspension of tested microorganisms ( $10^6$  cfu/ml) was uniformly swabbed on agar plates (Mueller Hinton agar) for bacteria. Steril blank discs (6 mm in diameter, Whatman paper) were individually impregnated with 15 µl of pure crude oils and placed onto the inoculated agar plate. The plates were inverted and incubated at 37°C for 24 h.

Antibacterial activity was evaluated by measuring diameter of the resulting zone of inhibition against the tested bacteria in millimeters.

The latter method has been well development wells in the MH agar culture medium and fills approximately 15µl of each dilution of the extract according to the protocol described by Thornsberry *et al.* (1983) and Eloff *et al.* (1998).

*Statistical Analysis:*

Statistical analysis of data was made by MANOVA (\* P <0.05) according to the Newman-Keuls test.

*Results:**Antibacterial activity:*

**Table 1:** Antibacterial activity oils seed of *Acacia arabica* and *Acacia raddiana* by measuring diameter of inhibition and MIC.

Bacterial strains	<i>Acacia Arabica</i> extracts			<i>Acacia raddiana</i> extracts		
	Disk (mm)	Well (mm)	MIC [mg/ml]	Disk (mm)	Well (mm)	MIC [mg/ml]
<i>B. cereus</i> ATCC6633	14,8 ± 0.57 <sup>b</sup>	15,36 ± 0.47 <sup>c</sup>	≤ 0.158	15,3 ± 0.67 <sup>c</sup>	20,92 ± 0.63 <sup>b</sup>	≤ 0.105
<i>B. subtilis</i> ATCC11778	20,7 ± 0.97 <sup>a</sup>	19,3 ± 0.44 <sup>b</sup>	≤ 0.158	17,6 ± 0.54 <sup>b</sup>	21,02 ± 0.57 <sup>b</sup>	≤ 0.105
<i>S. aureus</i> ATCC33862	14,76 ± 0.55 <sup>b</sup>	19,4 ± 1.2 <sup>b</sup>	≤ 0.126	15,6 ± 0.54 <sup>c</sup>	22,3 ± 0.44 <sup>b</sup>	≤ 0.088
<i>E. coli</i> ATCC25922	21,1 ± 0.74 <sup>a</sup>	25,06 ± 0.75 <sup>a</sup>	≤ 0.123	25.06 ± 0.36 <sup>a</sup>	25.96 ± 2.94 <sup>a</sup>	≤ 0.088

<sup>a, b, c</sup> homogen groups according to Newman-Keuls test at P <0.05.

The results measured by the methods of disk and wells confirmed the MIC found by microdilution varying in the range 0.088-0.158 mg/ml (Tab. 1).

*Physicochemical characterization:*

The results show that the seeds of two species of *Acacia* have yields of 5 to 10% of crude oils whose color varies from yellow to greenish yellow (Tab. 2).

**Table 2:** Essential oils composition of two *Acacia Arabica* and *Acacia raddiana* seeds using chemical extraction by hexane.

Physicochemical properties of oils	<i>Acacia arabica</i>	<i>Acacia raddiana</i>
seed yield in oil %	10,06 ± 1,48	5,14 ± 1,65
Color	Green yellow	Yellow
Acid value mg KOH/g	10,93 ± 1,16	1,4 ± 0,26
Saponification value	184,26 ± 1,55	168,53 ± 0,90
Unsaponifiables %	3,23 ± 0,22	3,36 ± 0,21
Tocopherol content mg/100g of oil	71,47 ± 0,22	86,49 ± 0,13
α-tocopherol	11,32 ± 2,56	15,58 ± 0,52
β-topherol	23,10 ± 1,52	13,14 ± 0,36
γ-tocopherol	33,46 ± 1,88	55,25 ± 1,07
σ-tocopherol	3,59 ± 1,32	2,52 ± 0,16

There was a high acidity for crude oil of *Acacia Arabica* about ten times *Acacia raddiana*. The values of other parameters were slightly different (Tab.2).

*Discussion:*

Tocopherols are a group of four ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , and  $\sigma$ ) lipophilic antioxidants synthesized by photosynthetic organisms, occurring mainly in leaves and seeds. Their antioxidant function is attributed to inhibition of membrane lipid peroxidation and scavenging of reactive oxygen species, but also other functions have been shown in plant metabolism such as role in sugar export from leaves to phloem. The literature data on tocopherols' content and isomers' composition were mainly devoted to seed oils because of the nutritional importance of vitamin E (Szyman and Kruk, 2008.).

The antibacterial tests showed that crude extracts of two species of *Acacia* have significant bactericidal activity to minimal levels of 0.088-0.158 mg/ml of strains *E. coli* and *S. aureus* (Table 1), which confirms the popular practices used in the gastroenteritis treatment. Otherwise, *B. subtilis* and *B. cereus* exhibit higher MIC and lower diameters inhibitions zones compared to other bacteria (Tab.1).

These strains are known for their strength, the latter is due to sporulation implemented by these bacteria to adapt to a hostile environment (Tortora *et al.*, 2003). Indeed, daily observations of culture media have revealed an acceleration of sporulation, translated by the presence of spores after 24 to 48 hours of incubation at low concentrations of both extracts. These results are in agreement with those obtained by Abdelnabi *et al.* (1992), who worked on the fruits of *Aacacia nilotica (arabica)* of Sudanese origin, except that MIC found against *B. cereus*, *B. subtilis* and *E. coli* are slightly different and range from 0.4 to 1.6 mg/ml. Other studies have been conducted on different organs of plants *A. arabica* and *A. raddiana*, such as leaves, bark and roots. Crude extracts of these parts obtained by different solvents (methanol, chloroform, acetone, ethyl acetate, and petroleum ether) have also shown that extracts exhibit important antimicrobial activity with variable MIC according to the solvent extraction, organ and the origin of the plant (Kambizi and Afolayan, 2001; Eldeen *et al.*, 2005; Eldeen *et al.*, 2010).

These variations encountered in the different results may be due to the chemical composition of crude extracts from qualitative and quantitative view, and factors such as the environmental factor, the part of the plant used, the age or even the genetic factor of the plant. The physicochemical properties obtained of the two extracts validate *in vitro* biological studies tests. It was noted that the two crude oils are rich in unsaponifiables and tocopherols (Tab. 2), these components have an antibacterial effect because they are antioxidants which can play a positive role in inhibiting the growth of various bacteria.

These results are almost identical with the results of some researchers who worked on the two species of *Acacia* originated from Africa, India, Pakistan and Australia (Grindley, 1945; Gustone *et al.*, 1968; Gustone *et al.*, 1972, Chowdhry *et al.*, 1983, Rathee and Kaushal, 1983, Zaka *et al.*, 1986, Brown *et al.*, 1987, Jamel *et al.*, 1987; Benerji *et al.*, 1988; Maity and Mandal, 1990; Kallappa *et al.*, 2002). In fact, the important bioactivity of two extracts *A. arabica* and *A. raddiana* is related to the phytochemical composition of active components. Indeed, several authors (Tindale and Roux, 1969; Malan and Roux, 1975; El Mousallamy *et al.*, 1991; Kirtikar and Basu, 1993; Seigler, 2003) showed that the two *Acacia* species have a wide variety of secondary metabolites such as flavonoids, polyphenols, derived polyphenols and other antioxidants that are endowed with antioxidant and antimicrobial activity.

### Conclusion:

This work has allowed us to conclude that the crude extracts of the seeds of two species of *Acacia* have antibacterial activity on the tested strains. We can say that there is a concordance between popular practices and results, other deeper biochemical and microbiological studies on the active compounds of its extracts are needed to better understand their traditional therapies properties.

### Acknowledgment

This work was carried out with the support of INRF (Forest Research Institute) of Tamanrasset which provided us with the seeds material. As this work has been the subject of an oral communication at the GP-TCM congress in Leiden the Netherlands our heartfelt thanks to Professor Verpoorte R. The authors are extremely grateful to the Professor Kihal M. of the department of microbiology university of Oran for your helps.

### References

- Abdelnabi, O., M. Reisinger, C. Emil, F. Reinthaler, S.F. Eibel, U. Krejs and J. Guenter, 1992. Antimicrobial activity of *Acacia nilotica* (L.) Will. Ex Del. Var. *nilotica* (Mimosaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 37 : 77-79.
- AFNOR, 1978. Recueil de normes françaises. Corps gras graines oléagineuses produits dérivés. 1<sup>ère</sup> édition 1978, Edité par l'AFNOR.
- Audigié, C.I., J. Figarella and F. Zonszain, 1980. Manipulation d'analyse biochimique. Doin Editeur. P270.
- Benerji, R., A.R. Chowdhury, G. Misra and S.K. Nigam, 1988. Chemical composition of *Acacia* seeds. *Journal American Oil chemical Society*, 65: 1959-1960.
- Brown, A.J., V. Cherikoff and D.C.K. Roberts, 1987. Fatty acid composition of seeds from the Australian *Acacia* species. *Lipids. Phytochemical Analysis*, 22: 490-493.
- Chowdhury, A.R., R. Benerji, G. Misra and S.K. Nigam, 1983. Chemical composition of *Acacia* seeds. *Journal American Oil chemical Society*, 60: 1893-1894.
- El Mousallamy, A.M.D., H.H. Barakat, A.M. Souleman and S. Awadallah, 1991. Polyphenols of *Acacia raddiana*. *Phytochemistry*, 30: 3767-3768.
- Eldeen, I.M.S., E.E. Elgorashi and J. Van Staden, 2005. Antibacterial and anti-inflammatory, anti-cholinesterase and mutagenic effects of extracts obtained from some trees used in South African traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 102: 457-464.
- Eldeen, I.M.S., F.R. Van Heerden and J. Van Staden, 2010. *In vitro* biological activities of niloticane, a new bioactive cassane diterpene from the bark of *Acacia nilotica* subsp. *Kraussiana*. *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 555-560.
- Eldeen, I.M.S. and J. Van Staden, 2007. *In vitro* pharmacological investigation of extracts from some trees used in Sudanese traditional medicine. *South African Journal of botany*, 73: 435-440.
- Eloff, J.N., 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimale inhibitory concentration of plante extracts for bacteria. *Planta Medica*, 64: 711-713.
- Fleurentin, J. and J.M. Pelt, 1982. Repertory of drugs and medicinal plants of Yemen. *Journal of Ethnopharmacology*, 6: 85-108.
- Grindley, D.N., 1945. Investigation of the seed oils of some Sudan Mimosaceae. *Journal Society Chemical Ind.*, 64: 152.
- Grouzis, M. and F. Edward, 2003. Un arbre au désert, *Acacia raddiana*, IRD Paris, 313p.
- Gustone, F.D., S.R. Steward, J.A. Cornelius and T.W. Hammonds, 1972. New tropical seed oils. IV. Component acids of leguminous and other seed oils including use full sources of crepenynin and dehydrocrepenynic acid. *Journal of Science Food Agricol.*, 23: 53-60.
- Gustone, F.D., G.M. Taylor, J.A. Cornelius and T.W. Hammonds, 1968. New tropical seed oils. II. Component acids of leguminous and other seed oils. *Journal of Science Food Agricol.*, 19: 706-709.
- Hammiche, V. and K. Maiza, 2005. Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology*, 105: 358-367.
- Jamel, S., J.A. Farouqi, M.S. Ahmad and A. Mannan, 1987. Chemical investigation of acacia seed oils. *Journal of Science Food Agricol*, 39: 203-206.
- Jansen, P.C.M. and D. Cardon, 2005. Ressource végétales de l'Afrique tropicale 3, colorant et tanins, Ed fondation PROTA, Wageningen, pays bas, pp: 24-26.
- Kallappa, M., H. Andanagouda, S. Patil and S.P. Raviraj, 2002. *Acacia arabica* varieties-*Telia babul*, *Vediana* and *Cupressiformis* seed oils: a moderate source of coronaric and cyclopropene fatty acids. *Industrial Corps and Production*, 15: 131-137.

- Kaur, K., H. Michael, S. Arora, P. Härkönen, S. Kumar, 2005. *In vitro* bioactivity-guided and characterization of polyphenolic inhibitory fractions from *Acacia nilotica* (L.) Willd. Ex Del. *Journal of Ethnopharmacology*, 99: 353-360.
- Kirtikar, K.R. and B.D. Basu, 1993. *Indian Medicinal plants*, Vol. II, Lalit Mohan, Allahabad: India, pp: 922-224.
- Maity, C.R. and B. Mandal, 1990. Chemical and nutritional studies on the seed oil of *Acacia Arabica*. *Journal American Oil Chemical. Soc.*, 67(7): 433-434.
- Malan, E. and D.G. Roux, 1975. Flavonoids and tannins of *Acacia* species. *Phytochemistry*, 14: 1835-1841.
- NCCLS, 2001. National Community for Clinical Laboratory Standard. Performance standards for anti-microbial susceptibility testing eleventh informational supplement. Document M100-S11. Wayne: National Community for Clinical Laboratory Standard.
- Rathee, K.S. and R. Kaushal, 1983. Fatty oil of *Acacia arabica* Willd of Indian origin. *Acta Cien. Indica [ser]. Chemistry*, 9(1-4): 21-23.
- Seigler, D.S., 2003. Phytochemistry of *Acacia* sensu lato. *Biochemical Systematic and Ecology*, 31: 845-873.
- Siti Amirah Tg., Tg. Kamazeri, O. Abd Samah, M. Taher, D. Susanti, H. Qaralleh, 2012. Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* from Malaysia. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 202-209.
- Szyman, R. and J. Kruk, 2008. Tocopherol content and isomers' composition in selected plant species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46: 29e33.
- Thornsberry, C., J. Anhalt, A.L. Barry, E.H. Gerlach, J. Hossom, R.N. Jonnes, J.M. Matsen, R.C. Moellering, R. Norton, 1983. Methods for dilution Antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *National Committee for Clinical laboratory Standards*, 3(2): 33-72.
- Tindale, M.D. and D.G. Roux, 1969. A phytochemical survey of the Australian species of *Acacia*. *Phytochemistry*, 8: 1713-1727.
- Tortora, G.J., B.R. Funk and C.L. Case, 2003. *Introduction à la microbiologie*. Edition du Renouveau pédagogique Inc, Québec.
- Watt, J.M., 1962. Leguminosae. In : Watt J.M. and M.G. breyer-Brandwijk (Eds), *The medicinal and poisonous plants of southern and Eastern African*. Livingstone Ltd., Edinburgh, p. 546.
- Zaka, S., B. Asghar, M.Y. Raie, S.A. Khan, M.K. Bhatti, 1986. Composition of total lipids from *Acacia Arabica* and *farnesiana* seed oil. *Pak. J. Sci. Ind. Res.*, 29(6): 427-429.

## Résumé

Deux espèces forestières «*Acacia arabica* et *Acacia raddiana*» originaires d'Ahaggar (W. Tamanrasset) à multiples intérêts sont surexploitées en Algérie par les populations rurales à l'exception de quelques usages traditionnels des graines et des gousses. Elles constituent une bio ressource renfermant plusieurs composés actifs tels que les tanins et les oléorésines qui nécessitent compte tenu de leur état de dégradation un intéressement particulier pour leur valorisation et préservation.

L'objectif principal de cette étude est l'évaluation des potentiels phytochimiques par la CPG et HPLC des huiles des graines des deux espèces, ainsi que la mise en évidence de leur pouvoir antioxydant par le test de DPPH° (1,1-diphényl-2-pycrylhydrazyl) et leurs activités biologiques par les techniques de diffusion en milieu liquide et solide (méthode de disque et de puits).

Les résultats obtenus montrent que les rendements des huiles extraites des graines par l'éther de pétrole sont respectivement de 12% et 9% pour *A. arabica* et *A. raddiana* avec des paramètres physicochimiques correspondant aux normes des huiles végétales. La CPG révèle que ces huiles sont riches en acides gras insaturés Oméga 6 et Oméga 9 (74,58 ; 79,58%) avec une prédominance de l'acide linoléique (C18 :2). En plus, l'HPLC a montré que ces huiles présentent des teneurs élevées en tocophérols (Vitamine E) variant respectivement de 71,47 ±1,32 et 86,49 ±0,34 mg/100g d'huile pour *A. arabica* et *A. raddiana*. Cette composition chimique des huiles a exercé une forte activité antioxydante à des concentrations faibles (CE<sub>50</sub> : 564 et 264 mg AO/g DPPH), qui ont permis de réduire 50% le radical libre DPPH° en DPPHH avec un temps de réaction moyen (23 et 27mn). Les tests biologiques montrent également une forte activité antimicrobienne vis-à-vis des souches fongiques *Aspergillus niger* et *Candida albicans*. De même cette activité a été observée pour les souches bactériennes de Gram<sup>-</sup> *E. coli* et de Gram<sup>+</sup> *S. aureus* à l'exception des deux bacilles utilisées (*B. Cereus* et *b. subtilis*). Les différentes concentrations inhibitrices minimales enregistrées ont été de l'ordre 0,077 ≤ CMI ≤ 0,158mg/ml.

De ces résultats il ressort que les propriétés phytochimiques des huiles ainsi que leurs pouvoir antioxydant et antimicrobien peuvent constituer des perspectives intéressantes de recherche pour une exploitation rationnelle.

**Mots clés** : *A.arabica*, *A.raddiana*, potentiel phytochimique, huiles, pouvoir antioxydant, activité antimicrobienne

## Abstract

Both native Ahaggar forest species "*Acacia arabica* and *Acacia raddiana*" (W. Tamanrasset) multiple interests are overexploited in Algeria by rural populations with the exception of some traditional uses of seeds and pods. They are a resource containing several active organic compounds such as tannins and oleoresins that require given their state of degradation a particular incentive for their development and preservation.

The main objective of this study is to assess the potential phytochemicals by GC and HPLC oils from seeds of both species, as well as highlighting their antioxidant power test DPPH ° (2,2-diphénylpycrylhydrazyl) and their biological activities by the techniques of diffusion in the liquid and solid (method disc and well) environment.

The results obtained show that the yields extracted from the seeds by petroleum oils are 12% for *A. arabica* and 9% for *A. raddiana* with physicochemical parameters corresponding to the standards of vegetable oils. GC showed that these oils are rich in unsaturated fatty acids Omega 6 and Omega 9 (74.58; 79.58%) with a predominance of linoleic acid (C18: 2). In addition, HPLC showed that these oils have high levels of tocopherols (Vitamin E) ranging respectively 71.47 ± 1.32 and 86.49 ± 0.34 mg/100 g oil of *A. arabica* and *A. raddiana*. The chemical composition of oils exerted a strong antioxidant activity at low concentrations (EC50: 564 and 264 mg AO / g DPPH), which have reduced 50% of the free radical DPPH ° an DPPHH with average reaction time (23 and 27mn). The biological tests also showed strong antimicrobial activity overlooked fungal strains *Aspergillus Niger* and *Candida albicans*. So this activity was observed for bacterial strains of Gram- *E. coli* and Gram + *S. aureus* except two bacillus used (*B. cereus* and *B. subtilis*). The different minimum inhibitory concentrations were recorded in the range 0.077 ≤ MIC ≤ 0.158mg/ml.

From these results it appears that the phytochemical properties of the oils and their antioxidant and antimicrobial potency may be interesting research opportunities for rational exploitation.

**Keywords**: *A.arabica*, *A.raddiana*, phytochemical potential, oils, antioxidant, antimicrobial activity

## ملخص

فصلتين من الأشجار (*Acacia arabica* و *Acacia raddiana*) من منطقة الهقار (ولاية تمنراست) متعددة الفوائد هي غير مستغلة في الجزائر باستثناء بعض الاستعمالات التقليدية للبذور و الفصوص من قبل سكان الريف (خصوصا عند البود و الرحل). هذه الموارد الحيوية تحتوي على العديد من المركبات العضوية النشطة مثل التانينات و الراتينجات الزيتية التي تتطلب نظرا لتدهور حالتها مما يشكل حافزا خاصا لتنميتها و الحفاظ عليها. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو التقييم القدرة البيوكيميائية لزيوت بذور هاتين فصلتين بالطرق الكروماتوغرافية (CPG;HPLC). كما تم الكشف عن قدرة هذه الزيوت على الأكسدة بواسطة الجذر الحر ° DPPH. أما فيما يخص القوة البيولوجية لهذه الزيوت تم الكشف عليه بتقنيات النثر في الوسط السائل و الصلب ( طريقة القرص و البئر). أخضعت مختلف بيانات النتائج إلى تحاليل إحصائية ANOVA ( $P < 0,05$ ).

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن البذور تحتوي على مردود زيت مستخلص بمحلول إيثر البترول يتراوح بين 12% و 9% على التوالي لنباتات (*Acacia arabica* و *raddiana*) مع نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية تتوافق مع المعايير العالمية للزيوت النباتية. أما فيما يخص التحاليل الكروماتوغرافية الغازية فقد بينت أن الزيوت غنية بالأحماض الدهنية الغير مشبعة من النوع w6 و w9 (74.58, 78,58%). حيث أن حمض اللينوليك يمثل النسبة الكبرى. أما التحاليل HPLC لتوكوفيرول أظهرت نسبة عالية لهذا الفيتامين E.  $71,47 \pm 1,32$  و  $86,49 \pm 0,34$  mg / 100 مغ / 100 غ زيت للفصلتين (*Acacia arabica* و *Acacia raddiana*) كما أن هذه الزيوت أظهرت قوة أكسدة عالية ضد الجذر الحر ° DPPH. بتركيز منخفضة (CE<sub>50</sub>: 564 - 264 ملغ/غ ° DPPH) وزمن تفاعل متوسط قدره 23-27 د. أيضا الاختبارات البيولوجية أظهرت قوة فعالة ضد الميكروبات خاصة ضد سلالة الفطريات (*Aspergillus niger* و *Candida albicans*) نفس التأثير كان على البكتيريا وخاصة على (*E. Coli* et *S. aureus*) إلا أنها لم تؤثر على بكتيريا العصيات (*Bacillus cereus* و *subtilis*). أما فيما يخص تركيز الحد الأدنى المثبطة فإنها تتراوح بين 0,077 و 0,158 ملغ/ملل.

تبعاً لهذه النتائج يمكننا القول أن الخصائص الفيزيوكيميائية للزيوت ومفعولها المؤكسد والبيولوجي يمكن أن يفتح آفاق مهمة في مجال البحث العلمي والاستغلال العقلاني لها.

كلمات مفتاحية : *A.arabica*, *A.raddiana* ; القوة البيوكيميائية ; الأكسدة القوة البيولوجية الزيت.