

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

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA
FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES
DEPARTEMENT DES SCIENS AGRONOMIQUES

MIMOIRE DE FIN D'ETUDE EN VUE DE
L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER ACADEMIQUE EN SCIENCE DE LA
NATURE ET DE VIE

Filère : science alimentaire

Spécialité science alimentaire

Thème

Etudes physico-chimique et l'extraction d'huile essentielle de
Clou de girofle (*Eugénia caryophyllata*)

Présenté par :

OUCHELLI ALI

Devant le jury composé de :

Mr. ELHADI Dj	MCA	USDB	President
M ^{me} HOUMANI. Z	Professeur	USDB	Promotrice
Mr.BENDALI. A	MAA	USDB	Co-promoteur
Mr. RAMDANE.S	MAA	USDB	Examineur
M ^{me} IDRES .S	MAA	USDB	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2011/2012

Liste des tableaux

Tableau I : Classification des principaux épices	7
Tableau II: Production en tonnes. Chiffres 2003-2004.....	22
Tableau III : Teneurs en % des principaux composés de l'huile essentielle du clou de girofle.....	27
Tableau IV : Les ingrédients de recette de makrout.....	55
Tableau V : Taux des impuretés dans l'échantillon de clou de girofle.....	57
Tableau VI : Résultats du contrôle physico-chimique du l'huile essentielle.....	60
Tableau VII : Composition biochimique de la poudre de clou de girofle.....	63
Tableau IX : Résultats des analyses microbiologiques.....	69
Tableau X : Résultats de l'analyse organoleptique.....	72

Introduction

L'histoire des épices est associée à l'évolution des civilisations; dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en alimentation, médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires **(Rhayour et al., 2003)**.

La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction de leurs huiles essentielles. Ces dernières sont des produits à forte valeur ajoutée, utilisées dans les industries agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

Les industries alimentaires préfèrent de plus en plus utiliser des extraits et des préparations élaborées, plutôt que les épices en l'état. Ce choix est dicté par des considérations organoleptiques et microbiologiques, par une plus grande facilité d'automatisation des chaînes de production et par une meilleure homogénéisation à l'intérieur du produit alimentaire **(Rombi, 1991)**.

Le développement des industries alimentaires a entraîné, depuis une trentaine d'années, une évolution sans précédent des matières premières aromatiques. Pour faire face à la demande d'arômes élaborés, spécifiquement adaptés à la fabrication d'aliments et typés en fonction des désirs des firmes alimentaires, bien souvent dictés par le goût des consommateurs, les industries de l'aromatique utilisent des extraits naturels et des produits de synthèse **(Bruneton, 1993)**.

L'étude des activités biologiques et biotechnologique des extraits de plantes est d'un grand intérêt (Youssef et Tawil, 1980). De nombreux travaux sur les activités antimicrobiennes des huiles essentielles d'une grande variété de plantes aromatiques montrent que ces propriétés sont en relation avec la composition chimique **(Shahidi et al., 1992)**.

Le giroflier, *Eugenia caryophyllata*, appelée aussi *Syzygium aromaticum* est une Myrtaceae, cultivé pour ses boutons floraux, que l'on appelle girofle ou clou de girofle. L'essence du girofle est officinale, elle est utilisée en médecine dentaire comme antiseptique caustique et analgésique. Elle rentre dans la préparation d'alcoolats (alcoolats de mélisse).

En alimentation, le clou de girofle est très utilisé comme épice dans les plats culinaires et en pâtisserie. Selon **Tucakov (1964)**, au cours du stockage ou des processus de fabrication, les pertes en composés volatils peuvent être importantes.

La popularité dont jouissent les épices reste liée aux propriétés et vertus qui leur sont attribuées et dont **Heath et Gatefosse** nous rappellent les principales : antioxydants, sialagogues ou stimulateurs de la sécrétion salivaire, carminatifs, c'est-à-dire opposant aux fermentations stomacales et intestinales, excitants hépatiques ou bactéricides. Il est certain qu'elles continueront à tenir une grande place dans l'alimentation de demain. Le domaine de leur utilisation en l'état ou sous forme de poudres ou d'extraits est extrêmement vaste (alimentation, pharmacologie, parfumerie, savonnerie, cosmétologie), et bien sûr, industries agricoles (**Heath, 1981**).

L'objet du présent travail est d'évaluer la qualité du produit en l'occurrence le clou de girofle commercialisé en vrac et dans des sachets en plastique transparents. Ainsi, sur des échantillons en poudre et en boutons floraux, nous avons adopté la méthodologie d'analyses suivante :

- Séparation des corps étrangers du produit brute : détermination du pourcentage de pureté (propreté)
- Extraction et évaluation des huiles essentielles des poudres et des boutons floraux,
- Analyses physico chimiques des poudres et des huiles essentielles extraites des boutons floraux et des poudres,
- Etat de la conservation des boutons floraux, mise en évidence de micro organismes s'il y a lieu.
- Essai d'application en pâtisserie algérienne (makrout).

Sommaire

Partie bibliographie

Introduction	1
Chapitre I : les épices	
I. Généralités	3
II. Histoire.....	4
III. Flaveur des épices.....	5
IV. Classification des épices.....	6
V. Utilisation des épices.....	7
V.1 Evolution des utilisations des épices.....	7
V.2 Utilisations alimentaires des épices par produit.....	8
V.3Utilisations des épices par segment alimentaire.....	8
V.3.1 Boissons non alcooliques	9
V.3.2 Confiserie.....	9
V.3.3 Produits laitiers.....	10
V.3.4 Produits carnés.....	10
V.3.5 Soupes, sauces, plats cuisinés.....	10
VI. Préparation des épices.....	11
VI.1 Technologies	11
VI.1.1 Déshydratation	11
VI.1.2 La décontamination	12
VI.1.3 Le mondage	13
VI.1.4 Le dépoussiérage.....	13
Chapitre II : généralité sur la plante : <i>eugenia caryophyllata</i>	
I. Historique	15
II. Origine et Etymologie.....	16
III. Classification botanique.....	16
III.1 Description botanique	16
III.2 Culture et récolte.....	18
III.3 Partie de la plante utilisé.....	19

IV. Constituants biochimiques du giroflier.....	19
V. Propriétés thérapeutiques.....	20
VI. Utilisation du giroflier.....	20
VII. Production de clou de girofle.....	21

Chapitre III : généralités sur les huiles essentielles

I. Définition	23
II. Localisation.....	23
III. Rôle d'huile essentielle de clou de girofle.....	24
IV. Méthodes et équipement d'extraction.....	24
IV.1 Extraction par hydrodistillation.....	25
V. Composition chimique d'Huile Essentielle de clou de girofle.....	26
V.1 Stabilité d' Huile Essentielle de clou de girofle.....	28
V.2 Toxicité d'huile essentielle de clou de girofle.....	28
V.3 Utilisation d'Huile Essentielle de clou de girofle	28
V.4Comment conserver huile essentielle de clou de girofle.....	29

Chapitre IV : matériel et méthodes

I. Matériel biologique.....	30
I.1 Matériel végétal	30
I.2 Choix de la variété.....	30
I.3 Nettoyage et pesé de clou de girofle	31
I.3.1 Préparation des échantillons	31
I.3.2 Détermination du poids des boutons de clou de girofle	32
I.3.3 Broyage et conservation.....	32
II. Matériel non biologique.....	33
III. Méthodes.....	33
III. 1 Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle.....	33
III.1.1 Extraction par hydrodistillation.....	33
III.2 Etude Cinétique.....	35

III.3	Contrôle physico-chimique de l'huile essentielle.....	35
III.3.1:	Mesure de la densité relative	35
III.3.2 :	Mesure de l'indice de réfraction	36
III.3.3	Mesure de l'indice d'acide	36
III.3.4	Pouvoir rotatoire	37
III.3.5	Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)	37
III.3.6	Mesure de la solubilité.....	38
III.4	Caractéristiques physique et chimique de la poudre de clou de girofle.....	39
III.4.1	Détermination de la teneur en eau.....	39
III.4.2	Détermination de la cellulose brute.....	40
III.4.3	Détermination de la teneur en matière grasse	41
III.4.4	Détermination des cendres	43
III.4.5	Détermination des matières azotées totales	45
III.4.6	Détermination de l'absorption et la rétention d'eau	48
IV.	Analyses microbiologiques	50
IV.1	Préparation des dilutions décimales	50
IV.2	Dénombrement des levures et moisissures	52
IV.3	Dénombrement des clostridium sulfito-réducteurs	52
V.	Fabrication de pâtisserie enrichie en clou de girofle (makrout)	54
V.1	Le choix de produit.....	54
V.2	Les taux d'incorporation.....	54
V.3	Ingrédients	54
V.4	Analyses organoleptiques.....	56
Chapitre V : résultats et discussions		
I	Détermination macroscopique des impuretés dans le produit commercialisé.....	57
II.	Cinétique de la distillation des huiles essentielles de clou de girofle.....	58
III.	Analyses physico-chimiques des huiles essentielles de clou de girofle.....	59
IV.	Résultat de Composition biochimique de la poudre de clou de girofle.....	63

IV.1. La teneur en eau.....	63
IV.2. Teneur en cellulose brute.....	64
IV.3. Teneur en matières grasses.....	65
IV.4. Teneur en cendre.....	66
IV.5. Teneur en protéine totales.....	67
IV.6. Capacité d'absorption et de rétention d'eau du son	68
V. Analyses microbiologiques.....	69
VI .Analyses organoleptiques du makrout.....	72
Conclusion.....	77

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents qui m'ont comblé d'amour et d'affection, qui m'ont toujours encouragé pour achever mes études tout en espérant voir le fruit de leurs sacrifices, qu'Allah les garde pour moi sains et saufs.

A mes frères et sœur : farroudja, amirouche, imene et boudjo pour leurs encouragements.

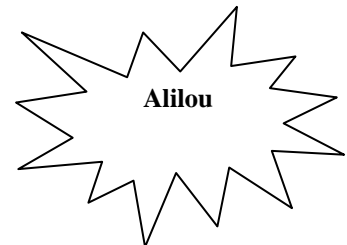
A toute la famille ouchelli et ouferhat en particulier mes tantes, mes cousins.

A mes chers ami (e) s: Amine, hacibe, islem, sid ali, Mohamed, momo, redouane, hamiti, iheb, Abdou, Mehdi, snono et tous les watinis.

. A tous les SNV promotion 2012. Je les remercie pour tous les bons moments et les beaux souvenirs que nous avons eu ensemble.

A tous ceux qui ont partagé avec moi les longues années d'études.

Et enfin à tous ceux qui m'aiment...



Résumé

Le clou de girofle a toujours été depuis des temps immémoriaux, un élément très important dans l'alimentation. Cependant, on constate à l'heure actuelle une évolution dans les habitudes alimentaire dans les pays producteurs et dans les diverses utilisations de clou de girofle. Ce qui nous amène à rechercher les meilleurs moyens de répondre à cette évolution en vue d'une valorisation de cette importance matière première.

Le présent travail vise l'étude et la caractérisation de la poudre et huile essentielle de clou de girofle et son effet sur l'alimentation

Le giroflier, *Eugenia caryophyllata*, appelé aussi *syzygium aromaticum* est une myrtaceae poussant en Afrique et Amériques de sud (Madagascar, Brésil, Zanzibar).

Les analyses ont montré que le clou de girofle vendu dans les commerces contient des impuretés minimales; mais nous ne pouvons pas considérer que l'échantillon est pur.

L'huile essentielle de clou de girofle extraite par hydro distillation a fourni un rendement : 12.62%, un rendement acceptable et peut être rentable à l'échelle industrielle et son contrôle physique et chimique a montré que c'est une huile conforme par rapport aux normes de la pharmacopée européenne.

L'analyse de la poudre de clou de girofle a montré sa richesse en protéine (9%) et sa faible teneur en eau (13%) qui permet une longue conservation, et le taux de cendres dans le clou de girofle nous donne une idée sur la richesse du bouton en matières minérales.

L'activité anti microbienne de la poudre de clou de girofle a montré que La poudre utilisée présente une qualité microbiologique acceptable, dans la mesure où les clostridium, les levures et les moisissures sont présents à des taux inférieurs aux normes.

Les mots clés : clou de girofle, huile essentielle, *Eugenia caryophyllata*, valorisation, L'activité anti microbienne, clostridium.

Abstract

The clove was always from time immemorial, a very important element in the food. However, we notice at the moment an evolution in the habits food in countries producer and in the diverse uses of clove. What brings us to look for the best means to answer has this evolution with the aim of a valuation of this importance raw material.

The present work aims at the study and at the characterization of the powder and oils the main part of clove and its effect on the food.

The clove tree, *caryophyllata Eugenia*, called also *syzygium aromaticum* is a myrtaceae growing in Africa and Americas of the South (Madagascar, Brazil, and Zanzibar)

Analyses shown that the clove sold in the businesses contains small impurities; but we cannot consider that the sample is pure.

The essential oil of clove extracted by hydro distillation supplied a yield: 12.96 %, an acceptable yield and can be profitable in the industrial scale and its physical and chemical control showed that it is a corresponding oil with regard to the standards of the European pharmacopoeia.

Analyses of the powder of clove showed its wealth in protein (9 %) and its low moisture content (13 %) which allows a long preservation and the rate of ashes in the clove gives us an idea onto the wealth of the button in minerals.

The activity anti microbial some powder of clove showed that the used powder presents an acceptable microbiological quality, as far as clostridium, yeasts and molds are present at rates lower than the standards.

Keywords: clove, essential oils, *Eugenia caryophyllata*, valuation, the activity anti microbial, clostridium.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chpitre I

Les épices

Chapitre II

Généralité sur la plante :

eugenia caryophyllata

Chapitre III

**Généralités sur les huiles
essentielles**

Chapitre IV

Matériel et méthodes

Chapitre V

Résultats et discussions

CONCLUSION

موجز

القرنفل موجود منذ قديم الزمان، هو عنصر مهم جدا في النظام الغذائي، واليوم نشهد تطورا للعادات الغذائية في البلدان المنتجة للقرنفل ولاستخداماته المختلفة. هذا ما يقودنا إلى البحث عن أفضل السبل للسير معي هذا التطور وتثبيت قيمة هذه المادة الأولية الهامة.

يهدف هذا العمل لدراسة ووصف المسحوق والزيت الأساسية من القرنفل وتأثيرها على المواد الغذائية.

القرنفل، *Eugenia caryophyllata*، ويسمى أيضا السيوية *myrtaceae aromaticum* وينمو في أفريقيا وأمريكا الجنوبية (مدغشقر والبرازيل وزنجبار).

أظهرت التحليلات أن القرنفل التي تباع في المتاجر تحتوي على كمية قليلة من الشوائب، ولكنه لا يمكننا اعتبار أن العينة صافية.

الزيوت الأساسية من القرنفل المستخرج بواسطة التقطير المائي وفرت عودة 12.96٪، وهذا ما يعتبر مردودا مقبولا وعائدا يمكن أن يكون مربحا على النطاق الصناعي. وكذلك فقد أظهرت التحاليل الفيزيائية والكيميائية أن هذه الزيت موافقة لمعايير دستور الأدوية الأوروبي.

أظهرت التحاليل أيضا أن مسحوق القرنفل تحتوي على نسبة عالية من البروتين (9٪) ونسبة قليلة من الماء (13٪) مما يسمح بالمحافظة على هذه المادة لفترة طويلة. ونسبة الرماد في القرنفل تعطينا فكرة عن غناها بالمعادن.

وأظهر نشاط مضادات الميكروبات من مسحوق القرنفل أن المسحوق لديه نوعية ميكروبيولوجية مقبولة، بما أن المطثيات، الخمائر والعفن موجودة على مستويات أدنى من المعايير.

كلمات البحث: القرنفل، زيت ضرورية، *Eugenia caryophyllata*، تقييم، مكافحة النشاط الجرثومي، كلوستريديوم.

Introduction

Remerciements

Je remercie Dieu tout puissant de m'avoir accordé la volonté et la patience dans l'accomplissement de ce travail.

Je tiens à adresser, mes respects et mes vifs remerciements à toutes les personnes ayant apporté leur contribution de près ou de loin à mon travail.

J'exprime ma reconnaissance et les plus sincères remerciements à madame **HOUMANI Z.**, professeur à l'université Saad Dahlab de Blida, pour avoir accepté de m'encadrer et de me diriger, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Mes sincères remerciements vont à mon Co-promoteur **Mr BENDALI A.**, maitre assistant à l'université Saad Dahlab de Blida.

J'exprime ma profonde reconnaissance à **Mr ELHADI Dj.**, Docteur à l'université Saad Dahlab de Blida, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury et pour avoir bien voulu lire ce mémoire et faire part de ses remarques.

Mes sincères remerciements vont également à **Mr RAMDAN S.** et **Mme IDRES** maitres assistants à l'université Saad Dahlab de Blida, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'examiner ce travail.

Je remercie les responsables et le personnel du laboratoire de contrôle de qualité de sidi Abdelkader, pour leur aide, leur disponibilité et leur bienveillance au cours du déroulement de mon travail.

Mes remerciements chaleureux à tous mes professeurs qui ont contribué à ma formation.

Je ne pourrais oublier de remercier tous les étudiants de ma promotion pour leur soutien moral.

Liste des abréviations

- **Abs** : Absence.
- **AC** : Acide.
- **AFNOR** : Association Française de normalisation
- **C** : Cendre.
- **C°** : degré Celsius.
- **CB** : Cellulose Brute
- **DHE** : densité de l'huile essentielle.
- **FAO**: Food and agriculture Organization.
- **g** : gramme.
- **h**: heurs.
- **H%** : teneur en eau ou humidité
- **HE** : huile essentielle
- **H2SO4**: acide sulfurique
- **IA**: indice d'acide
- **ISO** : Organisation internationale de la normalisation.
- **KOH** : hydroxyde de potassium
- **MAT** : Matière Azoté Total
- **M** : Masse.
- **MF** : Matière fraîche.
- **Min** : minute
- **MGT** : Matière Grasse Total.
- **MS** : Matière sèche.
- **NF** : Norme Française
- **OGA** : Glucose à l'Oxytetracycline.
- **pH** : potentiel d'Hydrogène.
- **RH** : rendement en huile
- **TSE**: Tryptic Soja Agar
- **V** : Volume.

Chapitre IV : matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée dans l'institut de **contrôle de qualité** à sidi Abdelkader (Blida). Tous nos essais ont été effectués au laboratoire de contrôle de qualité, particulièrement dans les laboratoires d'analyse, physico-chimie et le laboratoire de biotechnologie à l'université, pendant une durée de 2 mois (4 avril au 4 juin 2012).

L'objectif principal de ce travail est de vérifier la qualité du produit, en l'occurrence le clou de girofle vendu dans les commerces, au niveau macroscopique, et au niveau de la conservation de l'échantillon en utilisant les méthodes d'analyses suivantes :

I. Matériel biologique

I.1 Matériel végétal :

Notre Etude a été réalisée sur les clous de girofle, (*Eugenia caryophyllata*) en poudre et en boutons floraux commercialisés achetés dans les magasins d'alimentation générale dans la wilaya de Blida en 3 reprises, Les échantillons se trouvent dans des sachets en cellophane transparent d'environ 40g.

Les échantillons se présentent en deux lots :

Lot 1 : Clou de girofle en poudre comprenant 5 sachets

Lot 2 : Clou de girofle en boutons comprenant 5 sachets

Ces contrôles permettent non seulement de mieux définir la valeur commerciale des produits mais encore d'établir le degré d'urgence des traitements auxquels soumettre les boutons avant le stockage, la commercialisation ou la transformation ultérieure.

I.2 Choix de la variété :

Nous avons choisi dans notre étude la poudre de clou de girofle et son huile essentielle suivant certains critères qui sont :

- ✓ La disponibilité
- ✓ La composition (riche en protéine)
- ✓ Faible valeur marchande

I.3 Nettoyage et pesé de clou de girofle (Norme NF –V-03-401)

I.3.1 Préparation des échantillons :

Arrivé au laboratoire, l'échantillon a été nettoyé manuellement par une méthode traditionnelle pour obtenir un échantillon représentatif.

Principe (falsification) :

Le nettoyage consiste à éliminer d'une surface toute les impuretés macroscopiques ou microscopiques pouvant s'y trouver, le but rendre le produit propre dans de bonnes conditions d'hygiène.

Méthodes traditionnelles :

La méthode la plus simple de nettoyage, appelée aussi "vannage", consiste :

- lancer les boutons de clou de girofle en l'air et à laisser le vent emporter les impuretés les plus légères. Cette opération, éventuellement accompagnée d'un triage qualitatif des produits est indispensable avant le stockage, la commercialisation et la transformation ultérieure des produits.

Bien que largement répandue en milieu paysan, cette méthode de nettoyage ne permet pas d'éliminer les impuretés les plus lourdes (gravier, graines étrangères, terre, etc.).

- La deuxième étape est le triage manuel de toutes les autres impuretés après examen visuel de l'échantillon qui doit être fait a fin d'éliminer les corps étrangers ou les déchets tels que fragments de rameaux, feuilles, pierres, sable et parfois même bourgeons, Ensuite le tamisage de l'échantillon pour extraire les boutons cassés et les petits boutons.

A la fin la, pesée des différentes catégories d'impuretés à l'aide d'une balance analytique.

I.3.2 Détermination du poids des boutons de clou de girofle : (iso 1280 :1982)

Principe:

Le principe de la méthode repose sur le comptage manuel du nombre de bouton, entiers contenus dans une prise d'essai de masse connue.

Expression des résultats:

La masse de 100 boutons s'exprime en gramme avec un seul chiffre décimal si la masse est comprise entre 10 et 100 grammes.

Masse de 100 boutons tels quels :

$$X = (m_0 * 100) / N$$

m_0 : masse des boutons entiers (en gramme)

N : nombre des boutons contenus dans m_0 .

I.3.3 Broyage et conservation

Le matériel végétal a été broyé à l'aide d'un mixeur en une poudre fine, marron foncé, stocké dans des sachets conservés à l'abri de la lumière.

Le tamisage appliqué à la poudre de clou de girofle après broyage permet d'uniformiser les particules et de donner un aspect régulier à la poudre (figure 10), de ce fait on utilise un tamis dont le diamètre des mailles est de 0.19mm. La conservation doit se faire à l'égard de l'humidité, car une élévation de la teneur en eau des produits séchés peut provoquer des altérations ainsi qu'une formation de composés brunâtres et dégradation des composants biochimiques (Frey, 2001)

II. Matériel non biologique

Le matériel utilisé au laboratoire pour extraction d'huile essentielle et l'étude physique et chimique de la poudre de clou de girofle (la verrerie, l'appareillage et les réactifs) est illustré en annexe.

III. Méthodes

III. 1 Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

III.1.1 Extraction par hydrodistillation : selon la norme Pharmacopée Européenne (2004)

➤ **Principe :**

La méthode d'extraction choisie est l'hydro distillation selon la Pharmacopée Européenne (2004) (Figure 26, Annexe).

➤ **Mode opératoire**

La méthode d'extraction choisie est l'hydro distillation selon la Pharmacopée Européenne (2004) (Figure 10, Annexe 2).

Il s'agit d'introduire 100g de poudre dans un ballon contenant 400ml d'eau et de porter l'ensemble à ébullition (température environ 85°C). L'huile essentielle se vaporise par chauffage en même temps que l'eau et est entraînée par la vapeur d'eau vers le réfrigérant (zone froide). Les vapeurs se transforment en liquide. Ce dernier est en général formé de 2 liquides non miscibles encore appelés phases :

- La phase aqueuse, la plus abondante est constituée d'eau dans laquelle sont dissoutes très peu d'essences odorantes.
- La phase organique (huile essentielle) est constituée d'essences odorantes.

L'huile essentielle de clou de girofle a une densité supérieure à celle de l'eau (clou de girofle), VAN DEN DOOL (1981) préconise d'ajouter à l'échantillon une quantité connue d'un solvant moins dense et peu volatil (xylène).

Après 40 minutes, on observe l'apparition de la première goutte de distillat. La distillation se poursuit jusqu'à obtention d'environ 140 ml de distillat (après 4 heures). Ce dernier est transféré dans une ampoule à décanter de 500 ml et extrait par trois fois 15 ml de dichlorométhane. L'ensemble est agité et dégazé. Après décantation, on obtient deux phases : la phase supérieure (l'eau) et la phase inférieure (dichlorométhane + huile essentielle). Après la séparation des deux phases, on sèche la phase inférieure (phase organique) à l'aide du sulfate de magnésium et on filtre. Par la suite, on évapore le dichlorométhane (40°C) jusqu'à l'obtention d'une huile jaunâtre. L'huile essentielle est ainsi récupérée et conservée à une température 4°C, à l'abri de la lumière dans des flacons en verre sombre pour éviter sa dégradation.

III.2 Etude Cinétique : selon la norme Pharmacopée Européenne (2004)

Cette étude a pour but de suivre l'évolution du rendement en huile essentielle dans le temps. Pour cela, après un temps déterminé, on prélève l'huile que l'on pèse directement, et on calcule le rendement d'après la formule ci-dessous :

$$\mathbf{RH = (MH / Mmv) \times 100}$$

Où:

RH : rendement en huile (%)

MH : Masse de l'huile essentielle en grammes.

Mmv : Masse de la matière végétale en grammes.

III.3 Analyse physico-chimique de l'huile essentielle de clou de girofle

III.3.1: Mesure de la densité relative : selon la norme Afnor (2000)

La densité relative à 20 °C est le rapport exprimé en nombre décimal, de la masse volumique d'huile à 20 °C à la masse volumique de l'eau à la même température, La mesure de la densité se fait à l'aide d'un pycnomètre.

La méthode consiste à remplir le pycnomètre avec de l'eau distillée et mesurer le poids. Par la suite, on pèse la masse du même volume de l'huile essentielle.

La densité de l'huile essentielle est calculée par la relation :

$$DHE = M1 / M2$$

Dont :

DH.E : densité de l'huile essentielle.

M1 : masse en gramme d'un volume d'H.E.

M2 : masse en gramme d'un même volume d'eau distillée.

III.3.2 : Mesure de l'indice de réfraction : selon la norme Pharmacopée Européenne (2004)

L'indice de réfraction d'un milieu homogène est le pouvoir que possède ce milieu de dévier un rayon lumineux arrivant sur la surface. La mesure de l'indice de réfraction de l'huile essentielle s'effectue à l'aide d'un Réfractomètre (Figure 28, Annexe).

Après l'étalonnage de l'appareil à l'aide de matériaux de référence certifiés, on place l'huile essentielle du clou de girofle dans la cellule de mesure jusqu'au trait signal. Au bout de 15 secondes (temps nécessaire pour que l'appareil soit stabilisé). Lire la valeur affichée sur l'appareil.

III.3.3 Mesure de l'indice d'acide : selon la norme Afnor (2000)

L'indice d'acide IA, est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme de l'huile essentielle. On neutralise les acides libres par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium titré. Ainsi, on introduit 1g d'huile essentielle dans un bêcher auquel on ajoute 5 ml d'éthanol et 5 gouttes de solution de phénol phtaléine (indicateur coloré). Par la suite, la solution est neutralisée avec l'hydroxyde de potassium contenue dans la burette.

III.3.4 Pouvoir rotatoire : selon la norme **Pharmacopée Européenne (2004)**

Principe :

Le pouvoir rotatoire est la faculté que possèdent les différentes substances de faire tourner d'un certain angle le plan de polarisation d'un rayon de lumière polarisé qui le traverse. Cette polarisation est due à la présence de molécules n'ayant ni plan ni axe de symétrie.

Mode opératoire

Pour mesurer l'angle de rotation d'un échantillon on suit les étapes suivantes :

- Allumer la lampe à vapeur de sodium : le polarimètre (**Figure 27, Annexe**) peut être utilisé cinq à deux minutes après l'allumage de la source.
- Déterminer le zéro avec le tube rempli de solvant (éthanol). Ajuster la position de l'analyseur de manière à obtenir une zone de pénombre uniforme.
- Remplir le tube avec la solution de l'huile essentielle du clou de girofle et on détermine l'angle de rotation en tournant le prisme analyseur de manière à obtenir une zone de pénombre uniforme.

III.3.5 Mesure du potentiel d'hydrogène (pH) : selon la norme **Afnor (2000)**.

Principe :

Cette méthode est simple et rapide, on utilise un pH mètre directement (25°C). Après étalonnage du pH-mètre (solution tampon), on introduit l'électrode directement dans le produit. Le résultat est directement affiché sur le cadran. .

III.3.6 Mesure de la solubilité : selon la norme **Pharmacopée Européenne (2004)**.

La solubilité d'un composé, est la concentration maximale (moles / litre) de ce composé que l'on peut dissoudre ou dissocier dans un solvant (eau, alcool, acétone, éther...), à une température donnée. La solution ainsi obtenue est alors saturée. Il s'agit de faire dissoudre 1 ml d'huile essentielle dans 2 ml d'éthanol à 70°

III.4 Analyse physico-chimique de la poudre de clou de girofle

III.4.1 Détermination de la teneur en eau : (Norme NF- V-03-402)

La teneur en eau est déterminée sur une partie aliquote de 2g d'échantillon placé dans une étuve à une température de 105°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) durant 24heures. Après refroidissement dans un dessiccateur, l'échantillon est pesé. Les résultats sont exprimés selon les formules suivantes :

$$\text{Mi - Mt}$$

$$\text{H}\% = \frac{\text{Mi - Mt}}{\text{P}} \times 100$$

P

Soit :

H% : teneur en eau ou humidité

Mi : masse initiale (avant dessiccation) (matière fraîche +capsule)

Mf : masse finale (après dessiccation) (matière sèche + capsule)

P : masse de la prise d'essai

La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante :

$\text{Matière sèche}\% = 100 \% - \% \text{ humidité}$

III.4.2 Détermination de la cellulose brute (CB) : (Norme NF- V-03-408)

La teneur en cellulose brute est déterminée par la méthode de WEENDE.

Par convention, la teneur en cellulose brute est le résidu organique obtenu après deux hydrolyses successives, l'une en milieu acide et l'autre en milieu alcalin.

On introduit 2g d'échantillon végétal avec 100 ml d'une solution aqueuse bouillante contenant 12.5g/l d'acide sulfurique dans un ballon de 500ml surmonté d'un réfrigérant. Le mélange est porté à ébullition pendant 30mn en agitant régulièrement. Par la suite, la solution est transvasée dans des tubes et centrifugée afin d'obtenir un liquide limpide.

Le résidu est réintroduit dans le même ballon en le détachant du tube à centrifugé avec 100 ml de solution bouillante contenant 12.5 g/l de Soude et porté à ébullition durant 30 mn et filtré sur creuset (porosités 1 ou 2). Ce dernier contenant le résidu est placé à l'étuve à 105°C

jusqu'à poids constant. Après refroidissement, le creuset est pesé (A g) puis incinéré dans le four à moufle à 400°C durant 5 heures. Après refroidissement, l'ensemble est de nouveau pesé (B g).

La différence de poids entre les deux pesées représente les matières cellulosiques, une grande partie de cellulose vraie, une partie de la lignine et des résidus d'hémicellulose.

$$\text{Teneur en CB en \% MS} = \frac{(A - B) \times 100}{C \times \text{MS}}$$

A : poids du creuset + résidu après dessiccation.

B : poids du creuset + résidu après incinération.

C : poids de l'échantillon de départ.

III.4.3 Détermination de la teneur en matière grasse : NF V03-713 1984 ISO7302

La teneur en matière grasse totale (MGT %) représente le % en masse de substance déterminée par pesée après une extraction à l'hexane ou à l'éther de pétrole comme solvant, chaud par le SOXHLET.

On introduit 5g de poudre de clou de girofle dans la cartouche du Soxhlet, on introduit 200ml d'hexane dans le ballon surmonté d'un réfrigérant, on chauffe l'ensemble à 65°C. Après 4 à 6 siphonages, on sépare le solvant au rotavapeur. Placer le ballon contenant les lipides à l'étuve pendant 30 min à 103°C, puis au dessiccateur pendant 30 min, Réaliser une série de pesées, toujours après avoir séché le ballon à l'étuve puis au dessiccateur jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Matériels utilisés

- Extracteur SOXHLET (chauffe ballon, ballon, SOXHLET, cartouche, réfrigérant)
- Balance de précision, étuve, dessiccateur et évaporateur rotatif (ROTAVAPOR)
- Hexane ou éther de pétrole
- Coton exempt de matière grasse
- Produit à analyser : poudre de clou de girofle

La teneur en matière grasse totale, exprimée en pourcentage en masse du produit tel quel.

$$MG = \frac{m_2 - m_1}{m_0 \cdot m_s} \times 100$$

m_0 : est la masse en gramme de la prise d'essai.

m_1 : est la masse en gramme du ballon.

m_2 : est la masse en gramme du ballon et du résidu.

M_s : matière sèche

Exprimer les résultats à 0.01% de près.

III.4.4 Détermination des cendres (Méthode par incinération) : NF-V03-403

Nous avons procédé à l'incinération d'une prise d'essai (2 à 6g de poudre végétale : les particules présentent des dimensions inférieures ou égales à 1,7 mm) placé dans une nacelle et introduit dans un four à moufle à une température de $550^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$, jusqu'à combustion complète de la matière organique et obtention d'une masse constante.

Il est important de signaler que pour obtenir une incinération uniforme, on peut humecter la prise d'essai dans la nacelle, immédiatement avant le pré incinération, au moyen de 1 à 2 ml d'éthanol ou d'huile végétale

Le taux des cendres, exprimé en pourcentage en masse rapporté à la matière sèche est égal

$$a = m_1 \times \frac{100}{m_0} \times \frac{100}{100-H}$$

m_0 : est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

m_1 : est la masse, en grammes, du résidu.

H : est la teneur en eau, exprimée en pourcentage en masse, de l'échantillon pour la prise d'essai.

III.4.5 Détermination des matières azotées totales (NF-V -32-053, AFNOR 1970).

L'azote total est dosé par la méthode de **KJELDAHL**.

Principe :

Le principe de la méthode est basé sur la transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium sous l'action de l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur et dosé après déplacement en milieu alcalin et distillation sous forme d'ammonium.

Réactifs

- Acides sulfuriques pur (densité = 1.84)
- Sulfates de cuivre et de potassium (comme catalyseur)
- Acides borique à 4%
- Indicateur coloré (mélange de bleu de méthylène et rouge de méthylène)
- Soude de NAOH 4N
- Acides sulfuriques pour la titration à 0.05 N

Prise d'essai :

La plupart des échantillons de produits dérivés des végétaux (aliments en particulier) ne pouvant pas être obtenus dans un état de parfaite homogénéité, il est recommandé d'adopter des macros méthodes.

La prise d'essai, valable en quantité selon la teneur présumée en azote dosable par la méthode de kjeldahl, doit être représentative de l'échantillon et doit renfermer entre 0,005g et 0,2g d'azote et, de préférence une quantité supérieure à 0,02g.

➤ **Mineralisation :**

- Opérer sur un échantillon de 0.5 à 2g (selon l'importance de l'azote dans l'échantillon).
- L'introduire dans un matras de 250 ml, ajouter 2 g de catalyseur (composé de 250 g de K₂SO₄, 250 g de CuSO₄ et 5g de Se) et 20 ml d'acide sulfurique concentré (densité =1.84).
- Porter le matras sur le support d'attaque et chauffer jusqu'à l'obtention d'une coloration verte stable. Laisser refroidir, puis ajouter peu à peu avec précaution 200 ml d'eau distillée en agitant et en refroidissant sous un courant d'eau.

➤ **Distillation :**

- Transvaser 10 à 50 ml du contenu du matras dans l'appareil distillateur (**Buchi**), rincer la burette graduée. Dans un bêcher destiné à recueillir le distillat, introduire 20 ml de l'indicateur composé de :
 - 20 g d'acide borique.
 - 200 ml d'éthanol absolu.
 - 10 ml d'indicateur contenant : $\frac{1}{4}$ (**2.5 ml**) de rouge de méthyle à 0.2% (**0.2 g dans 100 ml**) dans l'alcool à 95° et $\frac{3}{4}$ (**7.5 ml**) de vert de bromocrésol à 0.1% (**0.1 g dans 100 ml**) dans l'alcool à 95°.
- Verser lentement dans le matras de l'appareil distillateur, 50ml de lessive de soude ($d = 1.33$) (**330 g de soude dans 1 litre d'eau distillée**), mettre en marche l'appareil, laisser l'attaque se faire jusqu'à l'obtention d'un volume de distillat de 100 ml au moins, titrer en retour par de l'acide sulfurique N/20 (**50 ml H₂SO₄ 1N + 950 ml d'eau distillée**) ou N/50 (**20 ml H₂SO₄ 1N + 980 ml d'eau distillée**) jusqu'à l'obtention à nouveau de la couleur initiale de l'indicateur.

1 ml d' H₂O SO₄ (1N) —————> 0.014g d'N

1ml d'H₂O SO₄ (N/20) —————> 0.0007g d'N

Expression et résultat :

$$Ng = X \cdot 0,0007 \cdot \frac{100}{Y} \cdot \frac{200}{A}$$

X : descente de la burette (ml)

Y : poids de l'échantillon de départ.

A : volume de la prise d'essai.

$$\text{ur en MAT (\%MS)} = N \text{ g} \times 6.25$$

III.4.6 Détermination de l'absorption et la rétention d'eau : (Méthode de Rasper, 1974)



Figure 11 : absorption d'eau par clou de girofle

Le principe est fondé sur la détermination de la quantité d'eau absorbée et retenue par la poudre de clou de girofle qui servira ensuite à la supplémentassion. Le même principe dans le cas du clou de girofle lavé dans une eau à pH neutre, de façon à éliminer toutes les particules farineuses qui y adhèrent.

Mode opératoire :

10g d'échantillon sont mis dans 100ml d'eau distillée, le tout est incubé à l'étuve pendant 15 minutes. On procède à la mesure du volume d'eau non absorbé, la différence entre l'eau absorbée et l'eau restante est déduite. Après l'application d'une force de 2 Kg sur l'échantillon déjà égoutté pendant 15mn, on effectue la mesure du volume d'eau récupéré après application de la force (2 kg).

Absorption du son :

L'absorption du son est calculée par la formule suivante :

$$X = \frac{V_0 - V_1}{E} \times 100$$

V_0 : volume en ml d'eau initial

V_1 : volume en ml d'eau récupéré après égouttage

X : le pourcentage d'eau absorbée

E : prise d'essai en g

Rétention du son :

La rétention d'eau du son est calculée par la formule suivante

$$Y = \frac{X - V}{E} \times 10$$

Avec :

V: volume en ml d'eau récupéré après application d'une force

X : le pourcentage d'eau absorbé

Y : le pourcentage d'eau retenu

E : prise d'essai en g

IV. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques ont pour but d'assurer que la poudre de clou de girofle présentent une qualité hygiénique et commerciale supérieure, et quelles soient sans risque pour la santé lors d'une préparation d'un produit.

Principe :

La recherche des germes consiste à placer les micro-organismes au contact d'un milieu nutritif approprié, puis les dénombrer.

Avant tout contrôle microbiologique, il est impératif de réunir toutes les conditions d'hygiène et d'asepsie.

Dans nos conditions expérimentales, nous avons procédé au nettoyage et à la désinfection des paillasse à l'eau de javel et à la stérilisation des outils d'analyses à l'étuve de stérilisation.

IV.1 Préparation des dilutions décimales :

Il est impératif d'effectuer des dilutions décimales (Figure12) afin d'éviter de surestimer le nombre de germes pouvant être présents dans les échantillons :

L'échantillon et le matériel ont été déposés sous hotte et un flux laminaire a été allumé. On pèse 10g du produit à examiner dans un flacon de 90 ml de solution tampon pH=7, si nécessaire un chauffage au bain marie à 40°C - 45°C jusqu'à obtention d'une émulsion sans dépasser 30 min c'est l'homogénéisât A ou la solution mère.

A partir de (l'homogénéisât A), on prélève 10 ml de l'échantillon dans 90ml de solution tampon pH= 7, c'est la dilution 10^{-1} .

A partir de la dilution 10^{-1} , on prélève 10 ml de solution dans 90 ml de solution tampon pH=7 (dilution 10^{-2}).

A Partir de la dilution 10^{-2} , on prélève 10 ml du mélange dans 90 ml de solution tampon pH=7 (dilution 10^{-3}).

A partir de la dilution 10^{-3} , on prélève 10 ml du mélange dans 90 ml de solution tampon pH=7 (dilution 10^{-4}).

A partir des dilutions 10^{-4} , on prélève 10 ml pour effectuer les analyses suivantes :

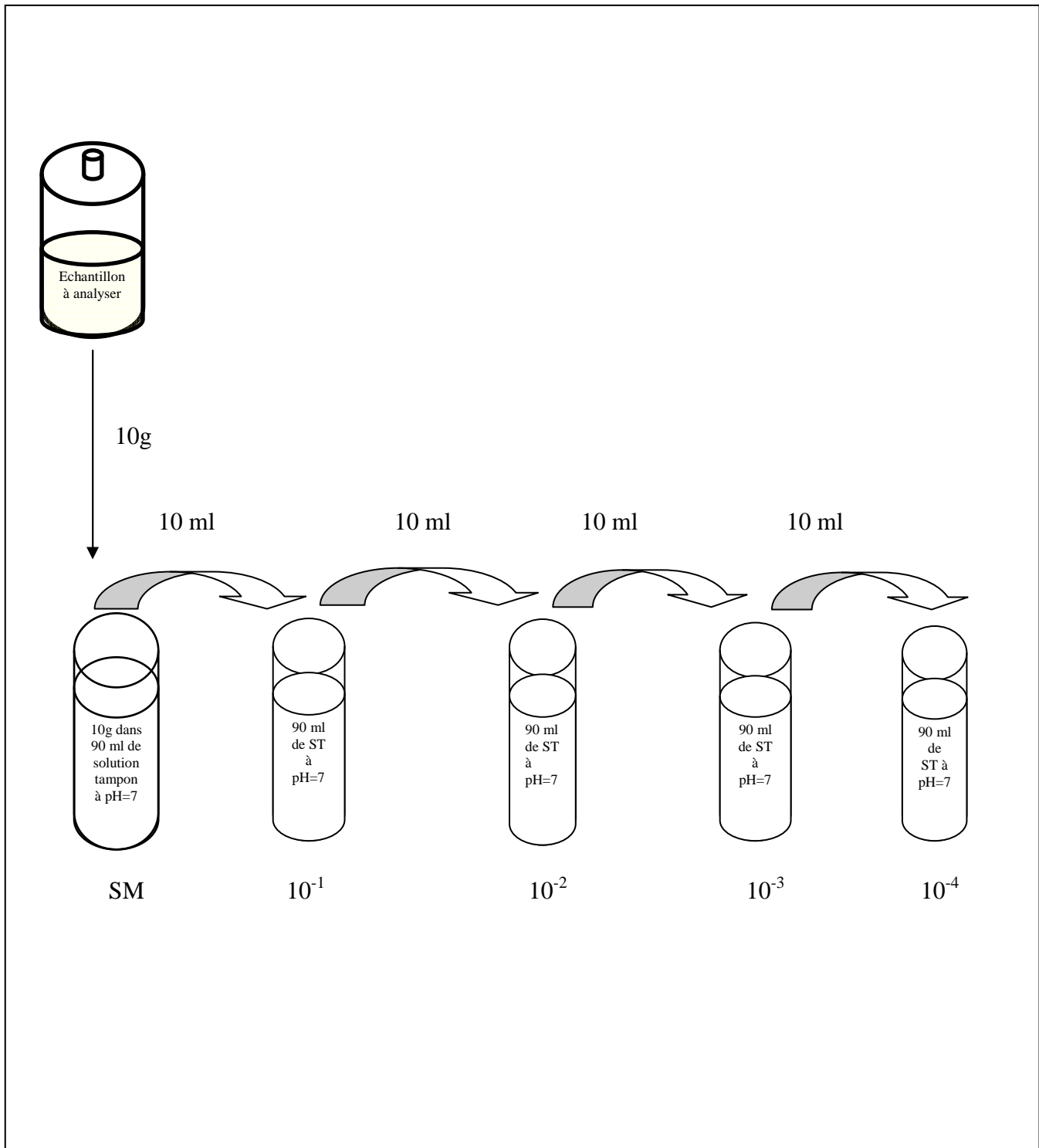


Figure12 : Préparation des dilutions décimales

IV.2 Dénombrement des levures et moisissures : (JORA 1998)

Les levures sont des eucaryotes hétérotrophes faisant partie du groupe des champignons dont on les distingue par leur caractère unicellulaire et l'absence de vrai mycélium. Elles sont microscopiques et immobiles.

Principe

Le dénombrement est réalisé sur le milieu gélose Sabouraud additionné de chloramphénicol ou sur OGA.

Mode opératoire

- Introduire aseptiquement 0,5ml de chaque dilution décimale dans des boites de Pétri contenant la gélose OGA.
- Ensemencer l'inoculum à l'aide d'un râteau stérile.
- Incuber les boites de Pétri à une température ambiante entre 20°C et 25°C pendant 5 jours.

Lecture :

- Les colonies caractéristiques des moisissures sont épaisses, grande, filamenteuses, pigmentées ou non et à aspect velouté.
- Pour le dénombrement faire un comptage des colonies.
- Le nombre est multiplié par l'inverse de la dilution.

La figure 12 résume les étapes de la recherche et du dénombrement des moisissures.

IV.3 Dénombrement des clostridium sulfito-réducteurs : (JORA1998)

Principe :

La plupart des milieux de culture utilisés pour dénombrier les *clostridium perfringens* Utilisent leur propriété de sulfito-réduction. En effet, presque tous ces milieux contiennent des sulfites et des sels de fer, la réduction des sulfites génère le dégagement d'H₂S qui réagit avec les sels de fer pour former un précipité de sulfure de fer, noir, insoluble, qui se dépose autour des colonies, et permet ainsi de les caractériser.

Mode opératoire :**Préparation du milieu :**

- Au moment de l'emploi faire fondre une façon de gélose viande foie, le refroidir dans un bain d'eau à 45°C puis ajouter une ampoule d'alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium.
- Mélanger soigneusement et aseptiquement
- le milieu est ainsi prêt à l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve à + 45°C jusqu'au moment de Futilisation.

Ensemencement :

Les tubes contenant les dilutions 10^{-1} et 10^{-2} , seront soumis:

D'abord à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 minutes, puis à un refroidissement immédiat et brutal sous l'eau de robinet.

A partir de ces dilutions, porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double, dans deux tubes à vis stériles, puis ajouter environ 15 ml de gélose viande foie prête à l'emploi, dans chaque tube.

Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes.

Incubation:

Les tubes ont été incubés à 37°C pendant 16, 24 ou au plus tard 48h.

Lecture :

La première lecture doit se faire immédiatement à 16 heures, car :

- D'une part, les colonies de *Clostridium* sulfito-réducteur sont envahissantes et on se trouvait en face d'un tube complètement noir ce qui rend l'interprétation impossible et l'analyse à refaire.
- D'autre part, il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussé en masse et d'un diamètre supérieur à 0,5 mm.

Dans le cas où il n'y a pas de colonies caractéristiques, réincorporer les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 24h voire 48h.

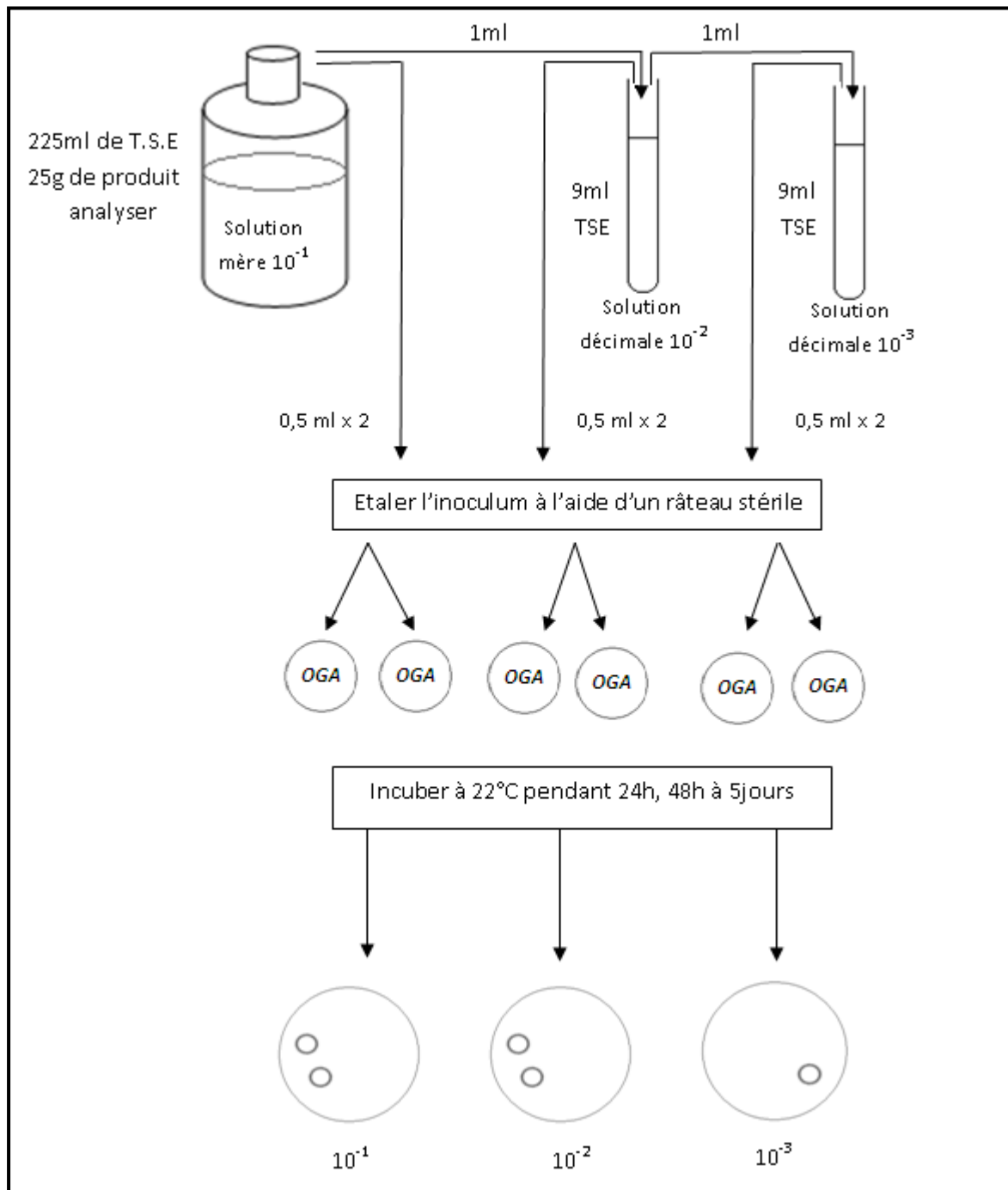


Figure13: Dénombrement des levures et moisissures

V. Fabrication de pâtisserie enrichie en clou de girofle (makrout)

V.1 Le choix de du produit:

Pour comparé l'effet de la poudre et d'huile essentielle de clou de girofle sur les aliments, nous avons choisi une recette de pâtisserie (makrout), en raison de leurs vertus nutritionnelles (Vitaminiques et glucidiques).

V.2 Les taux d'incorporation :

Dans nos conditions expérimentales, nous avons procédé à l'incorporation de la poudre et huile essentielle de clou de girofle dans la pâte alimentaire à différent taux (pour huile essentielle en goutte et la poudre en g) pour étudier son impact sur la qualité organoleptique du produit fini et définir la proportion du clou de girofle qui devrait être incorporée dans makrout.

V.3 Ingrédients :

Tableau IV : les ingrédients de recette de makrout

Echantillon 1 (témoin)	Echantillon 2	Echantillon 3
- 3mesures de semoule moyenne	- 3mesures de semoule moyenne	- 3mesures de semoule moyenne
- 1 mesure de margarine+smen	- 1 mesure de margarine+smen	- 1 mesure de margarine+smen
- Sel	- 1cuillère à café de clou de girofle	- Une goutte d'huile essentielle de clou de girofle
- Eau	- Sel	- Sel
- 500g de patte de date	- Eau	- Eau
	- 500g de pate de date	- 500g de pate de date

Mode opératoire :

- On commence par la préparation la pate de datte par l'ajout de la cuillère de clou de girofle ou d'un goutte d'huile essentiel et 1cuillère à café de margarine, tamisez la semoule afin d'enlever toute la poudre, Mettez la semoule en fontaine dans un grand plat. Versez au centre la margarine fondue, mélange bien le tout.
- **Le pétrissage :** Mettez 1/2litre d'eau environ dans une casserole, ajouter ½ cuillère à café de sel, Prenez une portion de la pate de semoule et arrosez la d'eau en mélangeant du bout des doigts sans pétrir jusqu'à ce qu'elle se tienne bien en bloc.
- Formez-en un genre de boudin, aplatissez ce dernier en essayant de faire une sorte de rigole au milieu, Introduisez un petit rouleau de pate de date dans cette rigole, ramenez les bords de la pate de semoule sur la pate de date pour bien enrober celle-ci, aplatissez ensuite le tout à l'aide d'un marchâmes ou Tabata.
- **La cuisson :** Le produit subit une cuisson à une température de 80°C pendant 20 minutes.

V.4 Analyses organoleptiques :

L'évaluation des paramètres organoleptiques est une condition très important pour l'acceptabilité d'un produit. L'analyse physicochimique d'un produit est bien évidemment incontournable. Néanmoins, elle est insuffisante pour refléter ce que perçoit le consommateur sur le plan sensoriel (**Pinard j, 1988**).

L'analyse organoleptique c'est faite par un test de dégustation au biais d'un jury formé de 10 personnes d'âge et de sexe différent. Chaque dégustateur donne son jugement séparément des autres et porte son avis sur une fiche de dégustation « Annexe » qui classe les paramètres : Couleur, odeur, goût et appréciation globale, sur une échelle de 1 à 5.

Chapitre II : généralité sur la plante : *eugenia caryophyllata*

I. Historique

On trouve la trace des clous de girofle dans des temps très anciens et tout au long des siècles. Un livre de médecine ayurvédique (médecine indienne) datant d'environ 1500 ans av. J-C aurait le premier décrit des clous de girofle et des traces en auraient même été retrouvées sur le sol d'une cuisine incendiée du site mésopotamien de Terqa (Syrie) daté de 1700 av. J-C. Au même siècle av. J-C, les clous de girofle étaient importés en Chine : les courtisans devaient en avoir en bouche pour purifier leur haleine avant de voir l'empereur. Apicius consacre le triomphe des épices dans le livre "De re coquinaria" ou "de l'Art Culinaire", paru au IIIème ou IVème siècle, ouvrage dans lequel les clous de girofle sont intégrés dans la liste des épices indispensables dans une maison (**Ilostettmann, 1997**).

Au IVème siècle, le clou de girofle fait son entrée en Europe occidentale. Le nom de cette épice est mentionné pour la première fois dans un texte établissant la liste des cadeaux offerts par l'empereur romain Constantin le Grand à saint Sylvestre, mais le commerce des clous de girofle ne s'est réellement développé dans les régions méditerranéennes qu'entre l'IVème et le VIIème siècle, grâce aux Arabes qui les importaient. Au XVIème siècle, les Portugais, débarqués aux îles Moluques, tentent d'en organiser seuls le commerce. En 1519, Antonio Pigafetta, lieutenant de Magellan, débarquait aux Moluques (Indonésie). Il sera le premier à décrire le girofler avec précision dans son journal retrouvé à la Bibliothèque Ambrosienne de Milan. Au siècle suivant, la Compagnie hollandaise des Indes orientales, soucieuse d'obtenir le monopole du commerce des épices, restreint la culture du girofler aux îles Moluques. Les clous de girofle seront introduits en terre française à partir du XVIIIème siècle sur l'île Maurice puis en Guyane et à Madagascar, à l'initiative de l'agronome Pierre Poivre, qui organisa des expéditions sur les îles Moluques pour importer des plants et ensuite adapter leur culture (**Eberhard et al., 2004**).

II. Origine et Etymologie

Le girofle est un arbre endémique des Moluques du nord (Indonésie) et était anciennement cultivé dans les îles de Trente, Tidore, Bacan et sur la côte Ouest d'Halmahera. Les girofliers poussent également sur d'autres îles de l'Afrique de l'Est, la plus importante étant Madagascar (**Bisset, 1993**).

Les clous sont à l'origine du nom latin *Clavus*. Le terme clou de girofle est apparu en 1225, *Eugenia* : en hommage à Eugène de Savoie-Carignan (1663-1736) humaniste et botaniste *Caryophyllata* : du grec, karuo (noyer) et phyllon (feuille) : à feuille de noyer.

Giroflier, Clove, Spicchio, Clavo, Gewürznelke, Koronfol, Cengekeh (**African pharmacopée, 1985**).

III. Classification botanique:

La position systématique *Eugenia caryophyllata* est selon **CTHT (2008)** :

Règle : Plante

Embranchement : Spermaphytes

Sous Embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédone

Sous Classe : Rosidées

Ordre : Myrtales

Famille Myrtaceae

Genre : *Syzygium ou Eugenia*

Espèce: *Syzygium aromaticum* (**L. Merr et L.M.Perry**), *Eugenia caryophyllata* (**S. Bullock et S. Harrison**).

III.1 Description botanique:

- Le giroflier est un arbre de 8 - 20 mètres de hauteur, au tronc gris clair (**Figure 5**).
- Le feuillage est persistant coriace vert luisant de 12 cm de long, qui dégage un effluve enivrant et sucré (**Figure 6**).

- Les fleurs sont petites, composées de 4 pétales blancs et de 4 sépales rouges disposées en cymes corymbiformes terminales de 25 fleurs environ, formant 3 fourches (**Figure 7**).
 - Le fruit de couleur rouge foncé est ovoïde et renferme une ou deux graines.
- Le giroflier donne en janvier — février des boutons floraux pourpres cramoisis, groupés en cimes terminales. Ces boutons ou clous de girofle, sont cueillis en juillet avant l'épanouissement de la corolle quand ils commencent à prendre une teinte rosée (**Pharmacopée européenne, 2004**).



Figure5 : Arbre de girofle
(Clair, 2007)



Figure6 : Feuilles de girofle
(Clair, 2007)



**Figure7 : fleur de girofle
(Barrios, 2001)**

III.2 Culture et Récolte :

Très délicat, le giroflier aime les terres fertiles, profondes, fraîches, et les expositions à l'est. Il se propage par semis de graines fraîches au printemps, ou bouture semi ligneuse en été à l'étouffé (sous plastique). En Europe il se cultive que dans des serres chaudes (**Pelt, 1983**).

La Récolte se fait 6 à 8 ans après la plantation et pour plus de 50 ans, réalisée à la main pour ne pas abîmer les branches. Les boutons sont récoltés à maturité juste avant l'épanouissement de la fleur (**figure 8**). Chaque arbre produit environ 34 kg de clou de 13 à 19 mm de long. Ils sont ensuite dégriffés (séparation du bouton du pédoncule qui est conservé pour extraire l'huile essentielle). Puis ils sont séchés au soleil, pour passer d'une couleur brun roux à brun foncé (**Cuvier, 2008**).



Figure 8 : boutons floraux récoltés

(Frey, 2001)



Figure 9 : poudre de clou de girofle

(Frey, 2001)

III.3 Parties de la plante utilisées :

L'huile essentielle est extraite à partir des clous de girofle, ainsi que des feuilles (les feuilles ont assez d'arômes pour les rendre potentiellement intéressantes). Les fruits mûrs (mère de girofle) n'ont qu'une utilisation locale (Illostettmann, 1997).

IV. Constituants biochimiques du giroflier :

Le clou de girofle est particulièrement riche en huile essentielle (15 à 20%), des flavonoïdes, des tanins et autres constituants : acides phénols, stérols, triterpènes, hétérosides de chromone, et huile grasse (Rombi, 1991).

V. Propriétés thérapeutique:

Le clou de girofle est très utilisé pour ses propriétés, anti-infectieuse, antivirale, antiseptique, antifongique, mais également antiparasitaire, et antibactérien puissant à large spectre d'action. Son utilisation stimule le système immunitaire. Effet stimulant général, mais aussi hypertensif, neurotoxique, utéro tonique, Aphrodisiaque léger, Activité antioxydant, Carminative, effet anesthésique particulièrement appréciée des dentistes, Stomachique (qui facilite la digestion gastrique) et Anti-inflammatoire (**Bakhrouf, 2007**).

VI. Utilisation du giroflier :

La partie de la plante utilisée est le bouton clou de girofle, Les girofles sont une ancienne épice et, à cause de leur exceptionnelle force aromatique, elles ont toujours été très estimées par les cuisiniers en Europe, dans le nord de l'Afrique et dans une majeure partie de l'Inde. La première utilisation recensée des girofles fut par les chinois au 1er siècle avant J.C. En Chine, les girofles n'étaient pas seulement utilisés pour la cuisine mais aussi comme désodorisant, toute personne ayant une audience avec l'empereur devait mâcher des girofles pour prévenir des mauvaises odeurs. L'eugénol est encore utilisé pour parfumer les dentifrices (**Pino et al., 2001**).

Les commerçants arabes importèrent les girofles en Europe au temps de Romains, à cette époque les girofles étaient encore très chers. De nos jours, en Europe, ils sont plutôt utilisés pour des types spéciaux de produits sucrés et pains sucrés et plus particulièrement dans les compotes de fruits. Le riz ordinaire est souvent parfumé par un ou deux clous de girofle.

En France, le girofle est souvent introduit dans les ragoûts de viande ou les viandes mijotées. En Angleterre, ils sont le plus répandus dans les conserves de cornichon. Les indonésiens sont les plus gros consommateurs de girofles et utilise presque 50% de la production mondiale. Mais non pas pour manger, mais pour fumer. Les cigarettes parfumées aux girofles (kretek) sont extrêmement populaires et presque tous les indonésiens (masculins) les apprécient. Leurs douceurs, comme les arômes d'encens, imprègnent les restaurants indonésiens, les bus, les marchés et les bureaux (**Bruneton, 1995**).

En Chine, au Sri Lanka, au nord de l'Inde, au Moyen Orient, dans beaucoup de pays arabes, et en Afrique du nord, les girofles sont privilégiés dans les plats à base de viande. Fréquemment, le riz est aromatisé avec quelques girofles. En Ethiopie, le café est souvent grillé avec quelques girofles, donnant ce qu'on appelle la « cérémonie du café ». Les girofles sont des épices pleines de ressources, qui peuvent être utilisées dans la préparation de liqueurs, de boissons et dans les opérations culinaires (**Blumenthal et al., 1998**).

VII. Production de clou de girofle

Le clou de girofle est une espèce autochtones dans les Moluques et au sud des Philippines ; il est communément utilisé dans de nombreuses régions tropicales d'Afrique (Madagascar, République Unie de Tanzanie), Amérique du Sud, Indonésie, Malaisie et Sri Lanka (**Tucakov, 1964**). Selon, l'auteur, un même produit peut présenter des variations dans la composition, selon l'origine des plantes (espèce, variété), les lieux de production (nature du sol et climat) et les modes de cueillette et de préparation. Face au problème soulevé depuis plusieurs années par la résistance des bactéries, la seule alternative fiable à l'usage des antibiotiques semble être celle des huiles essentielles Connue de façon empirique de puis des siècles, leur efficacité anti-infectieuse a été scientifiquement démontrée in vitro et in vivo.

Par ailleurs, au cours du stockage ou des processus de fabrication, les pertes en composés volatils peuvent être importantes. (**Tucakov, 1964**) a observé, sur des échantillons de thym, la disparition de 15 % de la fraction volatile après trois mois de stockage et de 80 % après neuf mois. Ce même phénomène, aggravé par les chocs thermiques, est également constaté par **Sanford et Heinz (1971)** pour la noix de muscade. Le stockage sous forme de poudre accentue les pertes ,et développe parfois des notes boisées et terreuses (**Bisset, 1993**).

Les principaux pays producteurs de clou de girofle sont : Indonésie, Madagascar, Tanzanie, Sri Lanka, Comores, la production mondiale de clou de girofle réalisé en 2004 est de 124392million de tonnes (**FAO2004**) quand a l'Indonésie a atteint une production de 87909tonnes(FAO2004) le tableau II résume les principaux pays producteur de clou de girofle :

Tableau II : Production en tonnes. Chiffres 2003-2004Données de FAOSTAT (**FAO**)

Pays	Production en tonne	%
Indonésie	87909	71 %
Madagascar	15500	12 %
Tanzanie	12500	10 %
Sri Lanka	4100	3 %
Comores	3013	2 %
Autres pays	1370	1 %
Total	124392	99 %

Chapitre III : généralités sur les huiles essentielles

I. Définition

Les huiles essentielles ont été initialement appelées "esprit" puis "essence". Pour un souci de normalisation, cette dénomination "essence" a été abandonnée au profit de celle d'« huile essentielle », seul terme en usage actuellement (**Bocchio, 1985**).

Selon **Duquenois (1979)**, il n'existe pas de définition standard pour l'huile essentielle, " la notion d'huile essentielle peut varier avec le point de vue auquel se placent des personnes de formations professionnelles aussi dissemblables que des botanistes, des physico-chimistes, des industriels, des parfumeurs ou des pharmacologues". Cependant, des organismes de normalisation tels que **l'AFNOR (2000)** et **l'ISO** ont donné une définition qui prend en compte le mode d'obtention des huiles essentielles : " Ce sont des mélanges huileux, généralement odorants et volatils, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau de végétaux ou de parties de ceux- ci, soit par expression du péricarpe frais de certains citrus".

II. Localisation

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et sont particulièrement abondantes dans certaines familles comme les rutacées, les labiées, les conifères, les myrtacées, les ombellifères et les lamiacées pour ne citer que les plus importantes.

Elles peuvent se retrouver dans tous les organes végétaux comme: les sommités fleuries (lavande, menthe), les fleurs (rose, jasmin, ylang-ylang), les feuilles (eucalyptus), les écorces (cassia, cannellier), les bois (camphrier, santal), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre), les fruits (anis, citron)

Sur le plan quantitatif, les teneurs en huiles essentielles des plantes pouvant les contenir sont très faibles, souvent inférieures à 1%. Des teneurs fortes comme celle du bouton floral du giroflier (15 à 20%) sont rares et exceptionnelles (**Bruneton, 1993**).

La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle dans les végétaux sont généralement liées à l'existence de structures histologiques spécialisées, localisées en certains points des tissus, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface de la plante.

Ces structures peuvent être:

- des cellules sécrétrices isolées (lauracées, magnoliacées) pouvant être épidermiques ou internes (**Mainebeau, 1994**).
- des poils sécréteurs externes (labiées, géraniacées) ou internes (eucalyptus)
- des canaux sécréteurs (ombellifères, conifères) (**Deysson, 1976**).

III. Rôles d'Huile Essentielle de clou de girofle

Le rôle d'huile essentielle de clou de girofle est connu. Certains auteurs (**Paris, 1981**) et (**Mainebeau, 1994**), pensent qu'elles auraient un rôle:

- une activité antibactérienne, antivirale, antifongique et antiparasitaire
- Grace à son odeur, elle est attractive vis-à-vis des insectes afin de favoriser la pollinisation
- de barrière contre l'évaporation
- protecteur par action antiseptique vis-à-vis de certains microorganismes
- Elle est également douée de propriétés anti inflammatoires et antalgiques, jouant le rôle d'un véritable anesthésique local
- rendant la digestion plus aisée en jouant sur le péristaltisme et en rééquilibrant la flore intestinale

IV. Méthodes et équipement d'extraction

Plusieurs méthodes sont utilisées pour l'obtention d'extraits aromatiques comme les huiles essentielles en fonction du matériel végétale. Chaque méthode peut avoir diverses variantes: - Entraînement à la vapeur d'eau (**Yayi, 1998**), Extraction par gaz supercritiques (**Bruneton, 1993**), L'expression à froid (**Martini et Seiller, 1999**), Extraction par solvant organique (**Legrand, 1993**) ;(**Dapkevicius et al., 1998**; **Kim et Lee, 2002**) et l'extraction par hydrodistillation, cette dernière est la plus utilisée.

IV.1 Extraction par hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition, elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation.

a)hydrodistillation sous pression

C'est une technique de choix pour les essences difficilement distillables (**Bocchio, 1985**). On traite ainsi certaines matières premières dont les constituants ne peuvent être entraînés par la vapeur à la pression atmosphérique du fait de leur masse moléculaire élevée, par exemple le santal, le girofle, les rhizomes de vétiver, de gingembre ou encore d'iris (**Tournaire, 1980; Garnero, 1985**). Bien que le procédé sous pression conduise à une amélioration du rapport d'entraînement, donc, à des économies d'énergie (**Bocchio, 1985 ; Garnero, 1985**), l'influence d'une température élevée (supérieure à 100°C) sur la qualité de l'huile essentielle donne lieu à certains artéfacts. De plus, les prix et les contraintes des équipements nécessaires contribuent à freiner l'utilisation du procédé (**Tournaire, 1980**).

b) Turbodistillation

C'est une hydrodistillation accélérée en discontinu, son objectif est de limiter les inconvénients d'une longue durée d'extraction ou d'une surpression. Pour activer la distillation à la pression atmosphérique, l'alambic est équipé d'une turbine qui permet d'une part, la dilacération des matières végétales, d'autre part une agitation turbulente, d'où un meilleur coefficient de transfert thermique et une augmentation de la surface de vaporisation.

Le procédé permet en outre la récupération des fractions les plus volatiles grâce à un système de condensation secondaire. La présence d'une colonne à plateaux contribue à l'enrichissement des vapeurs en huile essentielle, d'où une amélioration du rapport d'entraînement. Un système de cohobage recycle les eaux aromatiques en tête de colonne afin de favoriser l'entraînement des composés non décantés (**Ganou, 1993**).

c) hydrodistillation assistée par ultrasons

Il s'agit dans ce cas précis d'un traitement « pré » ou « post » opératoire; en effet, les microcavitations générées par les ultrasons, désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines celluloses. Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation des constituants des huiles essentielles. Dans certains cas, les rendements en huile essentielle sont augmentés et les cinétiques accélérées. L'utilisation des ultrasons pendant l'hydrodistillation est vaine. Une unité d'hydrodistillation équipée d'une fontaine d'ultrasons peut produire plus vite des points d'ébullition, mais ne dégonflent pas les bulles (**Vinatoru, 2001**). Par conséquent, les ultrasons ne sont pas une bonne option pour les procédés par ébullition. Cependant, l'extraction assistée par les ultrasons est une technique de choix pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction inférieures au point d'ébullition.

De nombreux travaux d'extraction assistée par ultrasons sont décrits, pour des cas récents comme l'extraction des graines de carvi par (**Chemat et al 2004**), de fenouil (*Foeniculum vulgare*), houblon (*Humulus lupulus*), consoude (*Calendula officinale*), Rue de Syrie (*Peganum harmala*), menthe (*Mentha piperita*), tilleul (*Tilia cordata*) par **Toma et al (2001)**, de menthe, arnica (*Arnica montana*), sauge (*Salvia officinalis*), coriandre (*Coriandrum sativum*), aneth (*Anethum graveolens*) et fenouil (*Foeniculum vulgare*) par **Vinatoru et al (1997)**. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée d'extraction, d'augmenter le rendement en extrait et de permettre on faciliter l'extraction de molécules thermosensibles.

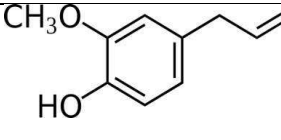
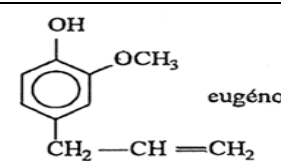
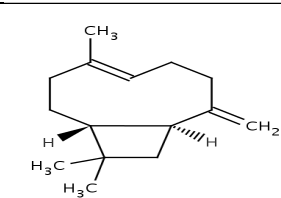
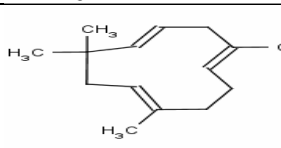
V. Composition chimique d'Huiles Essentielle de clou de girofle

L'étude de la composition chimique d'huile essentielle de clou de girofle a permis de déterminer Les éléments chimiques naturels qui la constituent, elle est dominé par l'eugénol (pouvant atteindre 82,27% du produit s'il est de première qualité). L'acétate d'eugényle fait également partie des composants de l'huile essentielle de girofle avec un taux de 12,7% ainsi que la bêta-caryophyllène (3,99%) et l'alpha-humulène (0,48%) (**Farnsworth, 1998**)

L'étude des huiles essentielles par **(Bruneton, 1995)** a montré aussi qu'il s'agit de mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent de façon quasi exclusive à deux groupes caractérisés par des origines bio- synthétiques distinctes:

- Le groupe des terpénoïdes constitué presque exclusivement de mono et sesquiterpènes et leurs produits d'oxydation
- Le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane beaucoup moins fréquents

Tableau III : Teneurs en % des principaux composés de l'huile essentielle du clou de girofle

Auteur/norme composés	(Bruneton, 1995; Farnsworth, 1998; Blaschek et al., 1998)	(Pharmacopée Européenne, 2004)	Structure chimique
Eugénol	60 - 95	70 - 88	
Acétate d'eugényle	2 - 27	4 - 15	
β - caryophyllène	5 - 10	5 - 14	
α - humulène	-	0 - 1	

V.1 Stabilité d'Huile Essentielle de clou de girofle

Le huile essentielle de clou de girofle est très volatile et généralement très sensibles au phénomène d'oxydation, elle est souvent associées à d'autres substances, telles que les gommés et tendent même à se résinifier par exposition à l'air. Ces phénomènes d'altération modifient fortement la composition chimique des huiles essentielles mais améliorent l'activité antimicrobienne (**Chiron, 1996**).

Les procédés conduisant à l'altération naturelle sont en général les activités causées par la chaleur et l'oxygène de l'air et sont catalysées par la lumière et la présence de certains métaux.

V.2 Toxicité d'huile essentielle de clou de girofle

Certaines substances naturelles peuvent présenter des effets néfastes pour l'homme au même titre que certaines substances de synthèse. Les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses. Surtout huile essentielle Clou de girofle, elle peu aussi provoquer des réactions cutanées allergiques (**Meynadier et Peyron, 1997**).

Puisque l'huile essentielle de clou de girofle est très utilisé en parfumerie elle peu se comporter en irritant des muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement de crises d'asthmes pour les asthmatiques (**Elberling et Skov, 2007**). Elle est aussi toxique pour le foie (**Steinmetz et al., 1980**).

V.3 Utilisation d'Huile Essentielle de clou de girofle

Les industries consommatrices d'essences de girofle utilisent surtout des produits moins coûteux, principalement les huiles essentielles des feuilles : près de 2000 tonnes en 1994 contre 70 tonnes pour les huiles essentielles des clous (**Brunet, 1999**).

Ces essences sont utilisées dans la parfumerie et dans la cosmétologie pour leurs propriétés parfumantes, leurs qualités olfactives, quelque fois jugées irremplaçables pour leur originalité ou leur puissance, grâce à son odeur agréable est recherchée en cosmétologie et en parfumerie haut de gamme, associée à d'autres essences telles que le santal, le patchouli ou la rose pour lesquelles elle joue le rôle de fixateur naturel (**Jouhannau, 1975**).

La fabrication de dentifrice, de savon, de crèmes, de lotions et de parfums. Les doses maximales autorisées sont estimées à 0,25% dans les savons et 1% dans les parfums (**Leung et Foster, 1996**).

L'huile essentielle du clou de girofle est utilisée Dans l'agroalimentaire, elle est utilisée pour parfumer les vins chauds et les punches de fruits (**Iwu, 1993**). Pour leurs propriétés aromatisantes, elle est utilisée aussi dans les laitages, les boissons non alcoolisées (**Sandret, 1967**).

Dans les spécialités pharmaceutiques et les produits utilisés par les médecines dites douces (phytothérapie et aromathérapie) pour leurs propriétés thérapeutiques et ses propriétés anti-infectieuses, cicatrisantes et pour la réparation des tissus (**Hamamouchi et al., 1990**), de stimulant de l'expectoration dans les bronchites chroniques, dans le traitement des inflammations du nez et de la gorge (**Adjanohoum et al., 1988**). et pour la fabrication de calmants dentaires et de médicament contre la toux

V.4 Comment conserver huile essentielle de clou de girofle

L'huile essentielle de bonne qualité se conserve parfaitement durant plusieurs années si vous les entreposez de façon correcte. En ce qui concerne les essences d'agrumes, elles se conservent entre 2 et 3 ans, Pour l'huile essentielle de clou de girofle La première précaution à prendre est de systématiquement bien visser le bouchon. Parce que elle est très volatiles et en refermant mal le flacon, les arômes s'échappent, et le lieu idéal pour les entreposer devra être frais et sombre afin d'empêcher leur oxydation et de se transformer en résine, il faut aussi les conserver à l'abri de la lumière directe et de la chaleur (**ROUZET et TOUCHE, 1992**).

L'huile essentielle de clou de girofle a la faculté de "ronger" le plastique. Aussi assurez-vous de garder les flacons debout, afin de protéger le bec compte-goutte et le bouchon, souvent en matière plastique.

Conclusion

Jusqu'à aujourd'hui l'utilisation du clou de girofle en alimentation a été limitée soit par l'huile essentielle soit par la poudre. Néanmoins, l'étude que nous avons menée sur le clou de girofle, a révélé que ce dernier contient des micronutriments essentiels en alimentation humaine (5,03% des cendres, 8,2% de protéines.). Pour cette raison nous avons essayé de valoriser les rebuts de clou de girofle par l'extraction d'huile essentielle et par l'utilisation de sa poudre dans les produits alimentaires.

À travers les résultats, les taux des matières non désirables ou altérées de La poudre de clou de girofle sont minimales représentant 7,58% et nous considérerons que les échantillons de clous de girofle commercialisés dans des sachets en plastiques transparents fermés ne sont pas totalement purs.

Leur disponibilité et leur faible valeur marchande, constituent une matière première de choix destinée à la transformation. De ce fait, on a appliqué une extraction par hydro distillation pour avoir l'huile essentielle de clou de girofle qui a fourni un rendement de 12,62 % une valeur acceptable de la plante étudiée et peut être rentable à l'échelle industrielle. De plus, les composés majoritaires de cette huile présentent plusieurs activités biologiques intéressantes.

Le contrôle physico-chimique d'huile essentielle de clou de girofle a montré que c'est une huile conforme aux normes de la pharmacopée européenne donc son utilisation en alimentation est permise.

Par ailleurs, les analyses physicochimiques de la poudre de clou de girofle montrent une composition très intéressante en éléments nutritionnels. Elle contient un taux en eau de (13%) ce qui lui confère une longue durée de conservation. Sa teneur en cendres totales est de 5.3%, et présente une composition très riche en sels minéraux dont les éléments prédominants sont : le Potassium, Calcium et le Phosphore .La poudre de clou de girofle présente une teneur importante en protéines (8.2%) et en matières grasses (2.04%), mais elle est pauvre en cellulose brut (0.69%). Son pH de 5.6 permet une plus longue durée de stockage en rendant le milieu défavorable au développement des microorganismes.

D'un autre côté, l'analyse microbiologique est en parfaite conformité avec les normes et répond aux conditions d'hygiène et de salubrité (absence des levures et moisissures).

L'incorporation de la poudre et l'huile essentielle de clou de girofle s'avère très intéressante d'un point de vue sensoriel et nutritionnel. En effet, l'incorporation de l'huile essentielle permet d'améliorer le goût, la saveur, la couleur, et l'apport énergétique du produit, On peut dire donc que le produit fini répond à l'appellation d'un aliment diététique.

Après tous ses résultats on peut dire que l'utilisation des extraits et des préparations élaborées, plutôt que les épices en poudre est plus efficace. Et ce choix est dicté par des considérations organoleptiques et microbiologiques, par une plus grande facilité d'automatisation des chaînes de production et par une meilleure homogénéisation à l'intérieur du produit alimentaire.

Comme perspectives, il est très intéressant de poursuivre et d'approfondir les études concernant les aspects suivants :

- Amélioration des techniques d'extraction d'huile essentielle de clou de girofle.
- Etude de la stabilité de la poudre de clou de girofle durant le stockage.
- Elargissement du domaine d'application dans le secteur agroalimentaire.
- Elaboration de produits diététiques à base d'huile essentielle de clou de girofle.

Annexes

Matériel utilisé pour l'extraction d'huile essentiel :

Appareillage	Verries et autres	Réactifs et solutions
Chauffe ballon	Ballon de 11	Eau distillée
Support	ampoule a décantation	Phénol phtaléine
Réfrigérant	Bécher	Alcool HCL
Balance analytique	Fioles jugées	
Hotte	Flacon ombré	

Matériels des analyses physico-chimiques de la poudre de clou de girofle:

Appareillage	Verries et autres	Réactifs et solutions
Etuve	Bécher	Eau distillée
Dessiccateur	Capsule	Acide sulfurique
Réfrigérant	Ballon	Ethanol
Centrifugeuse	Burette gradué	Ether de pétrole
Four	Entonnoir	Acide borique
Soxhlet		NAOH
Rotavapeur		alcool
Balance analytique		

Annexes

Matériel de l'étude physico-chimique

Appareillage	Verries et autres	Réactifs et solutions
Agitateur magnétique	Bécher	Eau distillée
Balance analytique	Burettes à robinet gradué	Phénol plateine
Ph mètre	Fioles jugées	Alcool HCL
Réfractomètre	Pipettes graduées	
Polarimètre	Tubes à essai stériles	
Mixeur		
Bain marie		

Matériel utilisé pour les analyse microbiologique

Appareillage	Verries et autres	Réactifs et solutions
Vortex	Boite de pétri	Désinfectant (eau de javel)
Etuve d'incubation	Disque en papier	Isopropyl méristate
Buc bunsen	Pince de laboratoire	Huile essentielle extraite
	Tube a essaie	
	Pipettes graduées	

Annexes

Milieu de culture :

Préparation de TSA (g/l)	Milieu sabouraud (g/l)
Tryptone : 15g Peptone de soja : 5g Chlorure de sodium : 5g Agar : 5g Eau distillé : 1L Autoclave 121 °C pendant 15 minutes	Peptone de viande de caséine : 10g Glucose 20g Agar : 5g Eau distillée : 1L pH = 5,7 +1- 0,2 autoclave 121°C pendant 15 minutes

Annexes



Figure26 : hydrodistillateur



Figure27 : pycnomètre



Figure28 : refractomètre



Figure29 : polarimètre

Annexes



Figure30 : pH-mètre



Figure31 : centrifugeuse



Figure32 : soxhlet



Figure33 : rotavapeur



Figure34 : weende

Annexes

Remarque. : L'attribution des notes s'effectue en respectant la notation suivante :

Attribution	1	2	3	4	5
Couleur	Acceptable	Mauvaise	Moyenne	Agréable	Excellente
Odeur	Sans	Désagréable	Acceptable	Agréable	Très agréable
Goût	Non sucré	Légèrement sucré	Sucré	Très sucré	Extrêmement sucré
Appréciation globale	Acceptable	Médiocre	moyen	Bon	Excellent

Fiche de degustation:

dégustateur	age	sexes	echantillon	gout	couleur	odeur

Adjanooum E.J., Ahyi A. M et al., 1988. « Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République du Congo ». ACCT, Paris, P.15-58

African pharmacopée, 1985. Vol.1, 1 st ed. Lagos, Organization of African Unity, Scientific Technical & Research Commission.

Allegrini J., Simmeon de Buochberg M et Billot A, 1973. Emulsions d'huiles essentielles, fabrication et application en microbiologie. Travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier, 33 : 73-86

Association Française de Normalisation, 2000. Recueil de Normes Française « huile essentielles», AFNOR. Paris.

Association Française de Normalisation, 1988. Contrôle de la qualité des produits alimentaires, épices et aromates, Recueil des normes françaises.afnor.paris.

Audigié.CL, Dupont.G et Zonszaine.F, 1995. Principe des méthodes d'analyse biochimique. Edition doin, tome 1, 207p

Barrios J, 2001. Boutons floraux (giroflie).Futurascience

Bakhrouf A, 2007. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L.). Phytother. Res., 21, 501-506

Benjlali B, Tantaoui-Elaraki A., Ismaili-Alaoui M and Ayadi A, 1986. Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plantes Médicinales et Phytothérapie., 20(2): 155-167.

Bennis S., Chami F.,Chami N., Rhayour K., Tantaoui Laraqui A. and Remmal A, 2004. Eugenol induces damage of bacterial and fungal envelope. Moroccan Journal of Biology. 1: 33-39

Beylier Maure! M.F, 1976. Activité bactériostatique des matières premières de parfumerie. Rivista Italia ana. E.P. P. O. S. 58: 283-286.

Bisset NG, 1993. Herbal drugs and phytopharmaceuticals. Boca raton, FL, CRC Press

Blaschek W et al., 1998 eds. Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. Folgeband 2: Drogen A-K, 5th ed. Berlin, Springer-Verlag,

Blumenthal M and al., 1998.The complete German Commission E monographs. Austin, TX, American Botanical Council

Bocchio E, 1985. Natural essentials oils. Parfums Cosmét. Arômes.63: 61

Breitmaier E, 2006. Terpenes: Flavors, fragrances, pharmaco, pheromones. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim, 214 p.

Bruneton J, 1993. Phannacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris, Lavoisier.278-279

Bruneton J, 1995. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris, Lavoisier.

Bruneton J, 1999. Pharmacognosie - Phytochimie - Plantes médicinales. Éd. Tec et Doc et EMI. Paris

Buchbauer g., 1990. "Aromatherapy : do essential ails have therapeutic properties ?" Perfumer br Flavorist, vol. 15, n° 3, pp. 47 à 50.

Carson C.F. and Riley T.V, 1995. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. J. Appt Bacteriol, 78(3): 264-269

Caillet S., Lacroix M. (2007). Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alime ntaire. Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier, Université de Laval (Québec).

Centre technique horticole de tamatave, 2008. Les filieres girofle.

Chami N. et al., 2004. Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats, Braz. J. Infect. Dis., vol. 8 n° 3, Salvador June, doi: 10.1590/151413-86702004000300005

Chemat S., Lagha A., AitAmar H., Bartels P.V., Chemat F, 2004. Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. Flavour and Fragrance Journal. 19:188- 195.

Chiron F, 1996. Synthèse d'hydroperoxydes de terpènes. Relation avec l'activité anti microbienne et application à la synthèse de polyterpènes hydroperoxydés. Mémoire présenté en vue d'obtenir le Diplôme d'ingénieur CNAM.

Clair J, 2007. Clair's Gallery. Photo 65.

Corbin Alain, 1986. *Le miasme et la jonquille. L'odorat et l'imaginaire social XVIIIe-XIXe siècles.* Flammarion, Paris, 336 p.

Dapkevicius A., Venskutonis R, Van Beek TA., Linssen IPOH, 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of Science Food and Agriculture* 77(1): 140-146.

Deysson G, 1976. Organisation et classification des plantes vasculaires, Tome. II: Organisation Soc. D'Ed. et Ens. Sup., Paris.

Delaveau Pierre, 1987. *Les Epices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments.* Albin Michel Editeur, Paris, 372 p.

Buccellato f., 1990. "Spice notes in Perfumery", *Perfumer et Flavorist*, vol. 15, n° 5., pp. 1 à8.

Dorman 11.J. and Deans S.G, 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88(2): 308-316.

Duquenois P, 1979. Les médicaments aromatiques, leurs caractères, leur contrôle. *Les actualités pharmaceutiques*, 154, 17-2

Eberhard T., Robert A et Annelisse L, 2004. *Plantes aromatiques, épices, aromates.* Paris.Lavoisier. p 213

Elberling J and Skov PS, 2007. Increased release of histamine in patients with respiratory symptoms related to perfume. *Clin Exp Allergy*. Nov, 37 (11): 1676-80.

Farnsworth NR, 1998. University of Illinois at Chicago, production (an online database available directly through the University of Illinois at Chicago or through the Scientific and Technical Network (STN) of Chemical Abstract Services). ed. NAPRALERT database Chicago

Faure p., 1987. *Parfums et aromates de l'Antiquité*, Fayard, Paris.

Flamini G. Cioni P.L., Puleio R., Morelli I. and Panizzi L, 1999. Antimicrobial activity of the essential oil of *Calamintha nepeta* and its constituent pulegone against bacteria and

fungi. *Phytother Res.*, 13(4): 349-351.

Fournier P., 1990. *Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France* (en 3 volumes). Lechevalier Editeur, Paris, Vol. 1, 444 p., Vol. 2, 504 p., Vol. 3, 636 p.

Frédéric Cuvier, 2008. Dictionnaires des sciences naturelle volume 18. FG.levrault. 1820. p572.

Frey c, 2001. Detection of synthetic flavorant addition to some essential oils by selected ion monitoring GC/MS, *Flavors and fragrances : A world perspective*. Proceedings of the 10th International Congress of Essential Oils, Fragrances and Flavors, Elsevier Editeur, Amsterdam, 517.

Ganou L, 1993. Thèse de doctorat n° 689, Institut National Polytechnique de Toulouse.

Garnero J, 1985. Semipreparative separation of terpenoids from essential oil. *Phytotherapy*. 15: 19

Guerin JC., Reveillere HP, 1985. Antifungal activity of plant extracts used in therapy. II Study of 40 plant extracts against 9 fungi species. *Annales de Pharmacie française*, 43:77-81.

Hala G.M., Christ H and Carla K, 2000. Traditional uses of *Salvia libanotica* (East Mediterranean sage) and the effects of essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*, 71(3): 513-520.

Hamamouchi M., Tantaoui-eleraki A., Es-safi N et Agoumi A, 1990. Mise en évidence des propriétés antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles d'eucalyptus. *Plantes médicinales et phytothérapie*, 24(4), 278-289

Heath Henry B., 1981. *Source book of flavors*. AVI Publishing Company, Inc., Westport (Connecticut U.S.A.), 863 p.

Hostettmann K, 1997. Tout savoir sur le pouvoir des plantes, sources de médicaments. Éd. Favre, Lausanne

Iwu MM, 1993. *Handbook of African medicinal plants*. Boca raton, FL, CRC Press.

Jouhannau D. G, 1975. La médecine des plantes aromatiques : phyto-aromathérapie et les huiles essentielles de l'océan indien. Azalées Edition, St Denis, p.153

Juven B.J., Kanner J., Schved F and Weisslowicz H, 1994. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J. Appl. Bacteriol.* 76: 626-631.

Karaman S., Digrak, M., Ravid U. and Ilcim A, 2001. Antibacterial and antifungal activity of essential oils of *thymus revolutus* Celak from Turkey. *J. Ethnopharmacology*; 76(2): 183-186

Kybal i., 1987. Plantes aromatiques et culinaires, Grün&

Kim N.S and Lee D.S, 2002. Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.* 982: 31-47.

Legrand G, 1993. Manuel de préparateur en Pharmacie. Masson, Paris.

Leung AY and Foster S, 1996. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics, 2nd ed. New York, NY, John. Wiley & Sons, 174-177.

Lis-Balchin M., Hart S and Simpson E, 2001. Buchu (*Agathosma betulina* and *A. crenulata*, Rutaceae) essential oils: their pharmacological action on guinea-pig ileum and antimicrobial activity on microorganisms. *J. Pharm Pharmacol.*, Apr; 53(4): 579-582.

Lewis Y.S., 1984. Spices and herbs for the food industry. Food Trade Press, Orpington (England), 208 p

Mac leod Patrick et SAUVAGEOT François, 1986. Bases neurophysiologiques de l'évaluation sensorielle des produits alimentaires. *Cahiers de l'ENS.I3ANA*, Dijon (France), 5, 97-133.

Mainebeau P, 1994. La nouvelle Aromathérapie, 2ème édition Jakin, Paris, 28-9

Marino M., Bersani C. and Comi G, 1999. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. *J. Food Prot.*, 62(9): 1017-23

Martini MC et Seiller M. 1999. Actifs et additifs en cosmétologie. Procédés d'extraction des huiles essentielles. Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales. p 563.

Meynadier IM et Raison-Peyron N, 1997. Allergie aux parfums. Re. Fr. Allergol., 37 (5), 641-650.

MICROSOFT ENCARTA (2008)

Oussalah M., S. Caillet, L. Saucier and M. Lacroix, 2006. Inhibitory effects of selected plant essential oils on *Pseudomonas putida* growth, a bacterial spoilage meat. Meat Science. 73, 236-244.

Paris M et Murabielle H, 1981. Abrégé de Matière médicale. Pharmacog, nosie. Tome I Masson, Paris, 182-194.

PEYRON L., 1985. "Les matières premières", RIA, 346, 18-35.

Pelt J. M, 1983. Drogues et plantes magiques. Éd. Fayard, Paris.

Perez C., Agnese A.M. and **Cabrera IL, 1999.** The essential oil of *Senecio graveolens* (Compositae): Chemical composition and antimicrobial activity tests. J. Ethnopharmacol, 66(1): 91-96.

Peyron l., 1985. "Les matières premières", RIA, 346, 18-35

Pharmacopée Européenne 2004, 5^e édition. Conseil de l'Europe, Strasbourg. p : 681-682-683.

Pinard j., 1988. Les Industries alimentaires dans le monde, Masson, Paris.

Pino J.A., Marbot R., Agüero J. and Fuentes V, 2001: essential oil from buds and leaves of clove (*Syzygium. aromayicum* (L.) Merr et Perry) Brown in. Cuba. In: journal essential oil research, n°13, pp278-279

Ithayour K, fiouchikhi T., Tantaoui Elaraki A., Sendide K. and Remmal A, 2003. The mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Essent. Oil. `des.* 15:286-292

Rombi M., 1991. 100 plantes médicinales. Composition, mode d'action et intérêt thérapeutique. Éd. Romard, Nice.

Sandret F.G, 1967. « Annales de la Recherche Forestière au Maroc ». Tome 9.rapport 1965, P.259.

K. Sanford, d. Heinz, 1971. *Phytochem.*, 10, 1245.

Shahidi F., Janitha D. K., Wanasandura P. D, 1992. Critical Reviews in Food Science and Nutrition., 32, 67.

Tucakov,j, 1964. *La France et ses Parfums*, 7, (40), 277.

Richard Hubert, 1987. *Le nez des Herbes et des Epices*. Jean LENOIR Editeur, Carnoux-enProvence (France), Coffret de 54 arômes munis de leur fiche respective et accompagné d'un livret de 74 p.