



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abou-BekrBelkaid Tlemcen  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et  
de l'Univers  
Département de Biologie

## Projet de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du Diplôme De Master 2 en  
Biologie

*Option : Science des aliments*

*Thème*

Contribution à l'étude de l'analyse  
physicochimique de l'huile de  
*Citrullus colocynthis*(coloquinte) et de  
son pouvoir antimicrobien

*Présentée par : Mlle MEZIANE Wafa*

**Soutenu le : 10 /06/ 2014 devant les jurys composés de :**

President: **Mr. CHABANE SARI D.**

Professeur à l'université de Tlemcen.

Examineur: **Mr. SMAHI M.D.E.**

M.A.A à l'université de Tlemcen.

Encadreur: **Mr. LAZOUNI H.A.**

M.C.A à l'université de Tlemcen.

*Année universitaire: 2013/2014*

# Remerciements

*Je tiens tout d'abord à remercier « Dieu » très clément et sa sainte miséricorde qui m'a donné la force et la patience et de m'avoir aidé à réaliser et à accomplir ce travail.*

*J'exprime ma reconnaissance et ma profonde gratitude à l'égard de ceux qui de près ou de loin m'ont assistée par leurs conseils, leurs encouragements à l'élaboration de cette œuvre.*

*Je remercie en particulier :*

*\*Mr Lazouni H.A maitre de conférence à l'université de Tlemcen qui a bien voulu assurer mon encadrement et je tiens à lui exprimer tout mon respect.*

*\*Mr Chahane Sari D professeur à l'université de Tlemcen d'avoir accepté de présider ce travail;*

*\*Ainsi que Mr SMAHI M.D.E Qui a bien voulu examiner ce travail.*

# Dédicaces

Merci « Allah » de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « YA ALLAH ».

Après cinq années d'études supérieures, l'assistance de mes professeurs ainsi que celles de mon entourage m'ont permis de réaliser cet ouvrage que je dédie :

\* A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère...

\* A mon père, école de mon enfance, qui m'a toujours enseigné que la réussite est le fruit du travail, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie, à m'encourager à m'aider et à me protéger.

Que dieu me les garde et me les protège.

\* A mon frère Djelloul, mes sœurs Ilhem, Radjaa.

\* A ma grande mère, mes oncles et mes cousines.

\* A mes amis : Amel, Amine, Fatima, Hassiba, Hafsa, Meryem, Oussama, Sarah, Safia et Seyfou.

\* A tous qui me sont chers, A tous ceux qui m'aiment, A tous ceux que j'aime.

Wafaa

## *Liste des abréviations*

**ATCC:** American Type Culture Collection

**BHIB:** Bouillon Cœur Cerveau

**BN:** Bouillon Nutritif

**C :** Carbone

**D<sup>20</sup> :** densité relative

**DL<sub>50</sub> :** Dose létal

**DO:** Densité Optique

**EIA :** Esculine Iron Agar

**g:** gramme

**GNI:** Gélose Nutritive Inclivée

**IA :** indice d'acide

**II :** Indice d'Iode

**IP :** indice de peroxyde

**IR :** Indice de réfraction

**IS :** Indice de Saponification

**LAPRONA** : Laboratoire des produits naturels

**Rdt** : Rendement

## *Liste des photos*

<b>Photo 1</b> : Fruit de coloquinte .....	06
<b>Photo 2</b> : Graines de coloquinte .....	09
<b>Photo 3</b> : Résultat d'ensemencement de <i>P.aeruginosa</i> sur Mueller -Hinton.....	45
<b>Photo 4</b> : Résultat d'ensemencement de <i>B.subtilis</i> sur gélose nutritive.....	45
<b>Photo 5</b> : Résultat d'ensemencement d' <i>E.coli</i> sur Mac conkey.....	45
<b>Photo 6</b> : Résultat d'ensemencement d' <i>E.faecalis</i> sur gélose EIA.....	45
<b>Photo 7</b> : Résultat d'ensemencement de <i>S. aureus</i> sur Chapman.....	46
<b>Photo 8</b> : Résultat d'ensemencement <i>C. albicans</i> sur gélose sabouraud.....	46
<b>Photo 9</b> : Résistance de <i>C. albicans</i> à l'huile de coloquinte (contacte indirecte).....	47
<b>Photo 10</b> : Résistance d' <i>E.faecalis</i> à l'huile de coloquinte (contacte indirecte).....	47
<b>Photo 9</b> : Résistance de <i>C. albicans</i> à l'huile de coloquinte (contacte directe).....	48
<b>Photo 10</b> : Résistance d' <i>E.faecalis</i> à l'huile de coloquinte (contacte directe).....	48

## *Listes des figures*

<b>Figure 01</b> : Morphologie de la plante.....	08
<b>Figure 02</b> : La coloquinte.....	10
<b>Figure 03</b> : Extracteur de Soxhlet.....	20
<b>Figure 04</b> : Ensemencement par écouvillonnage.....	31

## *Listes des tableaux*

Tableau n° 01 : Composition en acide gras majoritaire des huiles végétales (huile de coloquinte et huile d'olive).....	13
Tableau n°02 : Quelques études sur les effets thérapeutiques de la coloquinte ( <i>Citrillus colocynthis</i> ) à travers le monde.....	15
Tableau n°03 : Nature du matériel biologique utilisée.....	29
Tableau n°04 : Milieux de cultures spécifiques pour l'isolement et la croissance des différentes souches de référence.....	30
Tableau n°05 : Différents milieux utilisés.....	30
Tableau n°06 : Densité de l'échantillon.....	35
Tableau n°07 : Densité de quelques huiles végétales.....	36
Tableau n°08 : Indice de réfraction de l'échantillon.....	37
Tableau n°09 : Indice de réfraction de quelques huiles végétales.....	37
Tableau n°10 : Indice d'acide de l'échantillon.....	38
Tableau n°11 : Indice d'acide de quelques huiles végétales.....	38
Tableau n°12 : Indice de peroxyde de l'échantillon.....	39
Tableau n°13 : Indice de peroxyde de quelques végétales.....	39
Tableau n°14 : Indice de saponification de l'échantillon.....	40
Tableau n°15 : Indice de saponification de quelques huiles végétales.....	41
Tableau n° 16 : Indice d'iode de l'échantillon.....	42
Tableau n°17 : Indice d'iode de quelques huiles végétales.....	42
Tableau n°18 : Récapitulatif des résultats d'analyse physico-chimique de l'huile de coloquinte.....	43
Tableau n°19 : Aspect général des souches sur les différents milieux utilisés.....	46



## *Résumé*

De tout temps, l'homme s'est intéressé aux lipides pour diverses utilisations : en agroalimentaire, en cosmétologie, en médecine,...etc. De nombreuses graines sont sources d'huile qui sont de plus en plus étudiées pour leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques. Dans notre travail, nous nous sommes intéressés à l'extraction de l'huile de graines de *Citrullus colocynthis*, communément appelée Coloquinte.

La conformité de l'huile à la norme du codex alimentarius exige la détermination de certains paramètres physiques (densité relative, indice de réfraction) et chimiques (indice d'acide, indice de peroxyde, indice de saponification, indice d'iode). Pour élargir notre contrôle, on a ajouté des analyses sur le pouvoir antimicrobien de cette huile.

Dans une première partie de ce mémoire, nous abordons, après extraction, les différentes caractéristiques physico-chimiques de l'huile. Par comparaison avec les paramètres d'autres huiles alimentaires. L'huile de coloquinte semble être une huile qui pourrait être destinée à un usage comestible.

La deuxième partie est consacrée à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile de coloquinte. Cette huile est testée sur des souches de référence : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* en utilisant les méthodes : de diffusion de puits et de diffusion des disques.

# Sommaire

<b>Introduction générale</b> .....	01
<b>I. Partie bibliographique</b>	
1. Généralité .....	05
2. Historique .....	05
3. Présentation de la plante .....	06
4. Origine et répartition géographique.....	07
5. Classification botanique.....	07
6. Description morphologique .....	08
7. Composition chimique de la plante .....	10
7.1.La pulpe.....	10
7.2.Les graines.....	11
7.3.Les tiges, les feuilles et les fleurs.....	12
7.4.Les racines.....	13
8. Composition chimique de l'huile.....	13
9. Propriétés biologiques de la coloquinte.....	14
9.1.Effets thérapeutiques.....	14
9.2.Utilisation populaire.....	17
9.3.Toxicité.....	17
9.4.Autres usages.....	18
<b>II. Partie expérimentale : Matériel et Méthodes</b>	
1. Extraction de l'huile de coloquinte.....	20
1.1.Matériel végétal .....	20
1.2.Extraction de l'huile.....	20
2. Analyses physico-chimiques de l'huile de coloquinte.....	21
2.1.Caractères physiques .....	21
2.1.1. Densité relative à 20°C « D <sup>20</sup> ».....	21
2.1.2. Indice de réfraction « IR » .....	22
2.2.Caractères chimiques.....	23
2.2.1. Indice d'acide « IA » .....	23
2.2.2. Indice de saponification « IS » .....	24

2.2.3. Indice de peroxyde « IP » .....	25
2.2.4. Indice d'iode « II » .....	27
3. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile de coloquinte.....	28
3.1.Evaluation de l'activité antibactérienne.....	28
3.1.1. Prélèvement .....	28
3.1.2. Souches utilisées.....	28
3.1.3. Repiquage et purification.....	29
3.2.Activité antibactérienne.....	30
3.2.1. Milieux de cultures.....	30
3.2.2. Méthodes utilisées.....	31
3.2.2.1. Méthode de diffusion des disques (contact indirect) .....	31
3.2.2.2. Méthode des puis (contact direct).....	32

### III. Résultats et discussion

1. Extraction de l'huile .....	34
2. Analyses physico-chimiques de l'huile de coloquinte.....	34
2.1.Caractères physiques .....	35
2.1.1. Densité relative à 20°C « D <sup>20</sup> ».....	35
2.1.2. Indice de réfraction « IR ».....	36
2.2.Caractères chimiques.....	37
2.2.1. Indice d'acide .....	37
2.2.2. Indice de peroxyde .....	38
2.2.3. Indice de saponification .....	40
2.2.4. Indice d'iode .....	41
3. Récapitulatif des résultats.....	42
4. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile de coloquinte.....	44
4.1.Isolement et purification.....	44
4.2.Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de coloquinte.....	47
4.2.1. Méthode de diffusion des disques (contact indirect).....	47
4.2.2. Méthode des puis (contact direct).....	48

IV.	<b>Conclusion</b> .....	51
v.	<b>Références bibliographiques</b> .....	54
vi.	<b>ANNEXES</b> .....	69

## **I**



# *Introduction générale*

Les huiles et les graisses jouent un rôle majeur dans notre alimentation ; nous les consommons directement sous forme d'huile raffinée ou vierge, ou bien indirectement à partir de nombreux produits de l'agro-alimentaire. Le consommateur que nous sommes, se montre de plus en plus exigeant en termes de qualité : la sécurité alimentaire et les aspects nutritionnels sont au centre de préoccupations sociétales actuelles.

En parallèle, l'utilisation des huiles végétales se développe dans le secteur non alimentaire ; cela résulte de leurs caractéristiques, de leur origine renouvelable et de leur caractère biodégradable. La formule maintenant usitée « de l'or noir à l'or vert » illustre ce nouvel engouement pour une chimie basée sur les agro ressources de notre planète. Les technologies d'obtention et de transformation des huiles se doivent de garantir parfaitement la qualité du produit et de fournir en final un produit répondant à des spécifications très complètes ; ces technologies ont su évoluer pour répondre à cette problématique et intégrer les contraintes actuelles de l'industrie de rentabilité et de respect de l'environnement.

Face à la maladie et à la recherche incessante de l'homme qui, observant la nature et les effets de ses propres expériences, a depuis longtemps découvert que le monde végétal est porteur d'une multitude de solutions aux problèmes de santé qui affligent les humains (**Sirois, 2008**).

Les médicaments à base de plantes sont prescrits largement en raison de leurs efficacités avec des effets secondaires négligeables et leurs coûts<sup>A</sup> relativement faibles (**Venkatesh et al., 2003**). Plusieurs études ont montré que certaines plantes médicinales utilisées dans les systèmes de médecine traditionnelle ont des effets bénéfiques (**Bradley et al., 2007**; **Triggiani et al., 2006**).

La quête des remèdes au sein du règne végétal date de plusieurs millénaires. Grâce à la transmission orale des savoirs, l'écriture a grandement contribué au transfert entre des générations des connaissances empiriques sur les plantes médicinales.

Dans bien des poèmes, les plantes sont évoquées lors de comparaisons ou de métaphores assez conventionnelles comme Antara Ibn Shadad Al-Absi (525-615) a vanté sa vengeance contre ses ennemis, amère comme la coloquinte (**Dero, 1998**).

Depuis le 19<sup>e</sup> siècle, les scientifiques s'appliquent à isoler des molécules responsables de l'activité thérapeutique des plantes. En 1999, neuf des vingt médicaments les plus vendus provenaient d'extraction végétale.

A ce jour, moins de 15% des 250 000 espèces connues du règne végétal auraient fait l'objet d'analyse visant à y déterminer la présence de molécules bioactives (**Balandrin et al., 1993**). Et parmi ces molécules bioactives se trouvent les corps gras qui ont fait l'objet de beaucoup de recherches explorant ce monde sans frontières.

Les corps gras occupent une place importante dans le monde ; les trois quarts de la production sont destinés à l'alimentation, le reste se partage entre les applications industrielles, pharmaceutiques et cosmétiques.

Dans l'alimentation, certaines huiles végétales apportent à l'organisme des vitamines liposolubles et des acides gras essentiels. Contrairement aux corps gras d'origine animale, elles contiennent une teneur élevée en acides gras insaturés ce qui limite avantageusement le cholestérol sanguin.

Les oléagineux industriels sont particulièrement importants sur le plan économique en raison de leur caractère irremplaçable.

Par ailleurs, le mot « gras » a suscité des réactions d'horreur chez des générations de professionnels de la santé et de la nutrition « *Loin de les fuir, apprenons à les apprivoiser* » (**Lecerf, 2010**).

Chaque corps gras a son empreinte spécifique, sa signature en acides gras qu'ils soient d'origine animale ou végétale. Ils ne représentent pas uniquement une réserve de calories mais aussi une source d'acides gras, dont les fonctions biologiques et les effets spécifiques sont multiples.

En plus des acides gras, les vertus des huiles résident notamment dans leur insaponifiable, c'est à dire dans leur partie non lipidique qui contient de nombreuses molécules telles que les

polyphénols en tout genre, les terpènes, les stérols, les caroténoïdes, les tocophérols,... etc.

Toutes ces molécules confèrent à chaque huile des propriétés particulières comme par exemple l'utilisation à visée cardio-vasculaire, antiproliférative (anti cancer) ou bien encore antidiabétique. Les propriétés thérapeutiques ne sont pas propres seulement à l'huile d'olive, mais aussi à l'huile d'argan qui pourrait lui ravir la vedette, ou encore de l'huile de nigelle, de pépin de courge, d'argousier...

Au Nigeria et dans certains pays d'Afrique de l'ouest, la coloquinte est cultivée seulement pour ses graines afin de produire de l'huile. Cette huile est utilisée pour les fritures et les préparations culinaires (El-Magoli et al., 1979 ; Casimir, 1992). Elle peut même être utilisée pour le traitement des morsures de serpent, les piqûres de scorpions, la dysenterie, la diarrhée, l'épilepsie, la poussée et le noircissement des cheveux (Panda, 2000). L'huile de graine de coloquinte peut aussi avoir un effet hypoglycémiant (Chabane Sari et al., 2007).

La coloquinte est utilisée en médecine traditionnelle par des personnes dans les zones rurales comme anti-inflammatoire, antirhumatismal, purgatif réputé, vermifuge, insecticide et molluscide, dans les pays méditerranéens (AL-Qarawi et Adam, 2003; Abd El-Baky et al., 2009). Elle est utilisée également comme un laxatif naturel dans plusieurs pays asiatiques (Fallah Huseini et al., 2009) et contre les douleurs d'estomac (Schafferman et al., 1998).

Durant les dernières années, les graines de *Citrullus colocynthis* ont été soumises à des enquêtes pharmacologiques, phyto-chimiques et nutritionnelles (Schafferman et al., 1998).

Deux thèmes sont abordés dans ce mémoire et lui donnent sa substance :

- Une étude physico-chimique qui permettra de caractériser l'huile de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) et de lui trouver des applications dans le domaine agro-alimentaire, pharmaceutique, cosmétique ou industriel.
- Une étude microbiologique pour évaluer les propriétés antimicrobiennes de cette huile.





## *Partie bibliographique*

## 1. Généralité

*Citrullus colocynthis* est une plante qui pousse spontanément dans les régions arides d'Algérie, et dont la communauté du sud l'utilise pour se soigner des différents maux (Balandrin et al., 1993).

Les Anglais donnent le nom de «bitter apple, Colocynth, bitter gourd, egusi (John et Cincinnati, 1898 ; MeradChiali, 1973 ; Batanouny et al., 1999) à la coloquinte pour l'amertume de ses fruits, les Espagnols « Coloquintida », les Français « coloquinte, chicotin », les Berbères « Taberka, Tefersite, Tadjellet » et les Algériens lui attribuent plusieurs noms vernaculaires comme *hidedj* حدج, *handhal* حنظل, *tifersitou taferzizt* تيفرسيت تيفرسيت, *tabarka* طبركت, *says* صيص, *âlgam* علقم, *mararetessahra* مرارة الصحراء...(Duke., 2008).

## 2. Historique

La coloquinte a joué un rôle considérable dans la pharmacopée des anciens ; ainsi que beaucoup d'écrivains grecs et latins nous l'apprennent, aujourd'hui même elle n'est pas sans usage. Elle est mentionnée dans plusieurs endroits de la Bible sous les noms de Paka et Pakuol (Brongniart et Decaisne., 1859).

La coloquinte était utilisée très anciennement pour les propriétés purgatives violentes de la pulpe de ses fruits, renfermant un glucoside amer ce qui justifie l'ancienne expression: "amer comme chicotin".

L'évidence archéologique a indiqué que les cucurbitacées étaient présentes dans les cultures anciennes et préhistoriques. La coloquinte a été citée par Hippocrate pour ses propriétés pharmacologiques et saveurs médicinales (Abdel-Hassan, 2000).

Elle est considérée comme médicament actif, contient un éther-résine soluble dans le chloroforme, un phytostérol glycoside (citrullol), d'autres glucosides (elaterin, B et elatericindihydro-elatercin B), les pectines et albuminoïdes. Autre substance est colocynthin et colocynthetin (James., 1983).

### 3. Présentation de la plante

La coloquinte est une plante herbacée, vivace de la famille des cucurbitacées. Sa tige est munie de vrilles et son fruit est une grosse baie sphérique de couleur ocre à maturité, de la dimension d'une grosse orange, lisse à sarcocarpe spongieux. Ses feuilles sont multilobées et velues et ses fleurs sont jaunes. Le fruit est d'un goût très amer (**Baba Aissa ., 2000**).



**Photo 1 :** Fruit de coloquinte

Malgré l'amertume de cette plante, les fruits sont mangés par les animaux de pâturage comme les gazelles, les ânes et les autruches. Les graines sont stockées par les rongeurs pour leur richesse nutritive. Les caprins et le gibier se nourrissent quant à eux de tiges et de feuilles de coloquinte.

Les bédouins consomment les graines après les avoir trempées dans l'eau, ce qui leur donne un apport en lipides et en protéines et sont ainsi capables de survivre dans des conditions extrêmes (**Duke, 2008**).

La coloquinte est une plante recensée dans plusieurs enquêtes ethnobotaniques (**Ziyyat et al., 1997 ; Jouad et al., 2001 ; Bnouham et al., 2002 ; Eddouks et al., 2007 ; Tahraoui et al., 2007 ; Allali et al., 2008 ; Abo et al., 2008**). Les effets antidiabétiques des extraits bruts et des principes actifs des graines de cette plante ont été fait l'objet de plusieurs travaux (**Abdel-Hassan et al., 2000 ; Nmila et al., 2000; Azzi et al., 2009 ; Benariba et al., 2009 ; Huseini et al., 2009**). Mais la coloquinte est reconnue aussi, comme plante toxique (**Al-Yahya et al., 2000; Dehghani et Panjeshahin, 2006**).

#### 4. Origine et répartition géographique

La coloquinte, originaire des sols arides, est très fréquente dans les régions tropicales humides ou modérément sèches (Asie tropicale, Afrique). Elle est peu présente dans les zones tempérées (Bruneton, 1996). Elle pousse spontanément dans le bassin méditerranéen et la zone pré désertique d'Afrique et d'Asie (Inde et Ceylan). Elle occupe une région très vaste qui s'étend du Nord-Africain, du Sahara, Egypte, Arabie Saoudite jusqu'à l'Inde, ainsi que la région méditerranéenne (John et Cincinnati, 1898 ; Batanouny et al., 1999).

La coloquinte était aussi bien connue chez les civilisations Grecques et Romaines que chez les Arabes (le *Handhal* est mentionné par Ibn El-Baytar dans ses prescriptions). Elle est mentionnée aussi dans un herbier Anglais du 11ème siècle (Trease, 1976 ; Memon et al., 2003).

#### 5. Classification botanique

*Citrullus colocynthis* appartient à la famille des cucurbitacées qui comprend deux (02) sub-familles bien déterminées, 118 genres et environ 825 espèces (Robinson et Decker-Walters., 1997). Elles ont une base génétique étroite qui contribue à l'élévation de leurs sensibilités aux maladies et parasites (Levi et al., 1994) et leur grande adaptation aux régions tropicales, subtropicales et les déserts arides (Giwa et al., 2010).

En région tempérée, cette famille est connue particulièrement par ses fruits comestibles : les courges (*Cucurbita*), les melons (*Cucumis melo*), les concombres (*Cucumis sativus*), les pastèques (*Citrullus lanatus*)...

La coloquinte constitue la transition entre les espèces alimentaires et les espèces toxiques comme la byrone (*Byronia*) ou le concombre d'âne (*Ecballium*) puisqu'une consommation excessive de ces fruits peut entraîner la mort (Armougom, 1998).

#### Taxonomie

La botanique à laquelle incombe la classification des espèces végétales, différencie la famille des cucurbitacées de la façon suivante (Jobst et al., Daniel et al., 2004):

**Règne:** végétale

**Sous règne:** plantes vasculaires

**EMBRANCHEMENT :** *Ptéridophytes*

**SOUS-EMBRANCHEMENT :** *Angiospermes*

**Super division:** spermaphytes

**Division:** angiospermes

**Sous classe:** dialypétales

**CLASSE :** *Dicotylédones*

**SERIE :** *Gamopétales tétra cycliques inférovariées à étamines libres*

**ORDRE :** *Curcubitales*

**FAMILLE :** *Cucurbitaceae*

**GENRE :** *Citrullus*

**Espèce:** *colocynthis*

**Nom binomial:** *Citrulluscolocynthis(L.) Shrader 1838*

On peut trouver la coloquinte sous d'autres noms tels que: *Cucumis colocynthis* Linné, (1753); *Colocynthis vulgaris* Schrader, (1833); *Cucumis pseudo colocynthis* Wender (1834) et *Colocynthis officinalis*, Schrader (1838) (Fursa et al., 1982; Esquinas-Alcazar and Gulick, 1983; Burkill, 1985; Hanelt, 2001).

## 6. Description morphologique

*Citrullus colocynthis* est une plante monoïque (fleurs mâles et fleurs femelles séparées), rampante herbacée, annuelle ou vivace. La pollinisation se fait naturellement par des insectes (Munger et al., 1991).

C'est une plante bisannuelle qui peut produire 15 à 30 fruits de 7 à 10 cm de diamètre en moyenne (Feinbrun-Dothan., 1978 ; Zohara et al., 1999). Les proportions de la pulpe, graines et écorce sont 15 :62 :23 respectivement dans 100g de fruit sec (Panda, 2000) :



**Figure 1 :** Morphologie de la plante

- Les tiges angulaires, rugueuses, rampantes ou migrantes, rudes et assez grêles et souvent cannelées, peuvent dépasser 10 mètres. Au niveau de chaque nœud se différencie un complexe axillaire muni de feuilles palmatilobées à 3-5 segments, d'une ou de plusieurs inflorescences, d'une ramification ou d'une vrille. Les vrilles, simples ou ramifiées, permettent aux tiges de s'accrocher à un support (**Armougom, 1998**).
- Les fleurs jaunes pâles ou verdâtres, solitaires à pédoncules courts, axillaires ; corolles à 5 pétales ovales, à marge sinueuse comprenant 5 étamines à anthères épaisses se touchant entre elles, elles apparaissent l'été entre Mai et Août à l'aisselle des feuilles (**Baba Aissa, 2000**).
- Les graines de petite taille (6mm de longueur), ovoïdes et aplaties, lisses de couleur variant de l'orange au brun noirâtre à maturité, ont une saveur amère (**Jayaraman et al., 2009**).



**Photo2 :** Graines de coloquinte

- Les fruits sont des baies appelées aussi pépons ou péponides, globuleux de 8 à 12 cm de diamètre, ressemblant à une petite pastèque, à épicarpe coriace, de couleur verte tachetée ou marbrée qui devient jaune à maturité et à pulpe blanchâtre à saveur très amère contenant de très nombreuses graines. Les grosses baies peuvent contenir jusqu'à 500 graines par unité (**Casimir, 1992**). La chair légère est spongieuse et de couleur jaune orangé. Une plante produit 15 à 30 fruits.
- La section transversale du fruit montre à l'intérieur une fente étoilée à 3 branches

rayonnantes, chaque secteur comprend les placentas volumineux portant de très nombreuses graines ovoïdes et jaunâtres (Armougom, 1998).

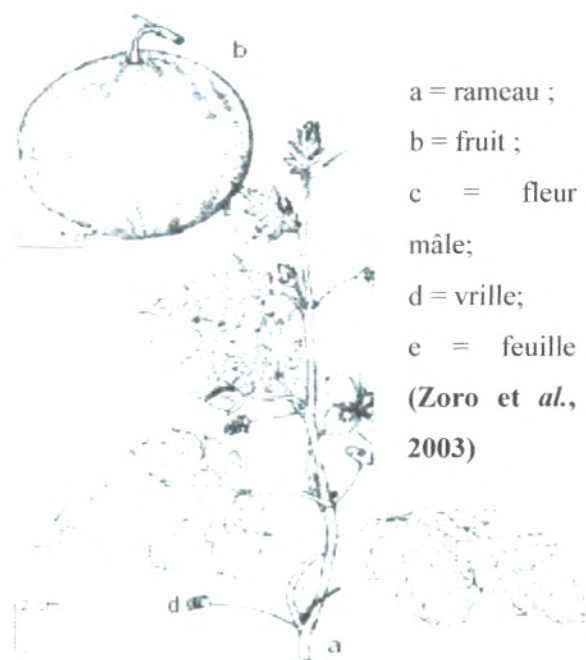
## 7. Composition chimique de la plante

### 7.1. La pulpe

Les cucurbitacées sont reconnues comme source de carbohydrates et de métabolites secondaires : les cucurbitacines.

Les cucurbitacines appartiennent aux groupes des triterpènes tétra-cycliques. Ce sont des molécules en C30 ou C32 possédant 7 à 9 atomes d'oxygène et plusieurs groupes méthyle ou acétyle. Elles peuvent être libres ou associées à un sucre. Ce sucre peut être attaché directement au noyau stéroïdien ou/et à la chaîne aliphatique (Harborne *et al.*, 1993).

La présence des cucurbitacines responsables de l'amertume peut engendrer des propriétés purgatives de cucurbitacées (racine de byrone, fruit de coloquinte, suc d'élatrium) (Takagi *et al.*, 1981).



**Figure 2 : Coloquinte**

La présence de cucurbitacines est liée à des facteurs génétiques, au stade de développement de la plante ainsi qu'à des facteurs environnementaux qu'ils représentent un moyen de défense de la plante. Ces composés apparaissent sous forme libre ou liés à un sucre. Ce sucre peut être attaché directement au noyau stéroïdien et/ou à la chaîne latérale aliphatique (Blaise, 1997). Ce sont des substances particulièrement toxiques ( $DL_{50}$  voisine de 1mg/kg chez la souris en I.P.) amères et cytotoxiques. Elles confèrent aux drogues qui en renferment des propriétés purgatives drastiques comme les graines de coloquinte (Bruneton, 1993).

De nombreux travaux sur l'extraction de ces principes actifs ont été menés avec succès. C'est ainsi qu'une quinzaine de cucurbitacines ont été isolées à partir des cucurbitacées et

désignées par les lettres de l'alphabet : cucurbitacines A, B, C, D, E... (Armougom, 1998).

Parmi les cucurbitacines qui ont été identifiées à partir de l'extrait méthanolique de la plante de *Citrullus colocynthis* sont E, I, J, K et L (Bauer et al., 1983 ; Seger et al., 2005 ; Sturm et al., 2009).

Plusieurs de ces composés (cucurbitacines glucosides) ont diminué la croissance des cellules cancéreuses (cancer du sein) en provoquant des changements de la morphologie globale des cellules en diminuant l'organisation des filaments d'actine du cytosquelette (Tannin-spitz et al., 2007).

Par ailleurs, une revue de la littérature scientifique portant sur la grande famille des cucurbitacines souligne que ces molécules pourraient aussi protéger les cellules du foie contre certains composés toxiques et aurait également des effets anti-inflammatoires. Ces études sont essentiellement in vitro, ces résultats ne peuvent pas pour l'instant être appliqués à l'humain. Des chercheurs soulignent qu'il est impératif de mieux étudier ces composés afin de vérifier si certains d'entre eux ont des effets indésirables (Jayaprakasam, 2003 ; Chen, 2005 ; Vanier, 2006).

D'autres métabolites secondaires tels que l'acide caféique, l'acide chlorogénique, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpènes existent aussi dans le fruit (Galal, 1997 ; Gulcan, 2006 ; Tehila, 2007 ; Jayaraman et al., 2009).

## 7.2. Les graines

Les graines de *Citrullus colocynthis* représentent une bonne source de protéines et de lipides, elles font l'objet de beaucoup de recherches.

### ✓ Les protéines

La fraction protéique représente 8,25% en poids des graines. Elle est riche en lysine, leucine et en acides aminés soufrés telle la méthionine (Shaheen et al., 2003).

Au cours de la germination des graines, les globulines sont utilisées avant les albumines; leur destruction permet l'élaboration des protéines à la jeune plante (Jacks et al., 1979 ; Courtois et al., 1981).

Notons qu'un acide aminé non protéique présentant une activité antihelminthique a été identifié dans les graines de cucurbitacées ; il s'agit de la 3-amino-3-carboxypyrolidine ou



cucurbitin (**Gurudeeban et al., 2010**).

Les protéines des cucurbitacées intéressent également l'industrie. En Roumanie, elles sont utilisées pour la fabrication de colle à papier ou à bois.

✓ **Les glucides**

L'acide phytique ou ester hexa phosphorique de l'inositol identifié dans les graines représente une source importante de phosphate. Les graines contiennent 70 à 80 % de phytine (sels métalliques d'acide phytique). Des triterpènes-tétra-cycliques ou sous forme de glucosides appelés cucurbitacines sont présents. En revanche, l'amidon est apparemment absent (**Courtois et al., 1981**).

✓ **Les lipides**

Les graines de coloquinte sont riches en acides gras tels l'acide myristique, palmitique, stéarique, oléique, linoléique et linoléinique (**Khatri et al., 1993**).

**Akhtar et al. (1999)** rapportent que durant la germination des graines de coloquinte à l'obscurité à 30°C, la quantité relative de triacyl glycérols diminue et, le taux d'acides gras libres augmente de manière significative. Cependant, il a été mentionné que le taux d'acides gras saturés augmente par rapport aux acides gras insaturés (qui baissent graduellement pendant la germination).

La composition qualitative et quantitative des acides gras des huiles comestibles sont similaires à celles des huiles commercialisées (huile de soja, tournesol...). Leur richesse en acides gras insaturés et leur forte teneur en acide linoléique confèrent à ces huiles de bonnes propriétés diététiques (**Grompone, 1988 ; Karlesking, 1992**).

### **7.3. Les tiges, les feuilles et les fleurs**

Les feuilles et les fleurs de la coloquinte renferment de la quercétine et du kaempférol (**Khare, 2007 ; Meena et al., 2008**). Ce sont deux flavonols pourvus d'un excellent pouvoir antioxydant.

L'activité anti-oxydante au niveau des feuilles et des tiges de *Citrullus colocynthis* a révélé la présence des enzymes anti-oxydantes telles la catalase, la super oxyde dismutase (SOD), la glutathione reductase et la glutathione-S-transférase et d'autres molécules non-enzymatiques anti-oxydantes comme l'acide ascorbique,  $\alpha$ -tocophérols, les caroténoïdes et les flavonoïdes comme cités ci-dessus. Ceci a permis de conclure que *Citrullus colocynthis* pourrait être une

bonne source d'antioxydants. Par ailleurs, l'extrait (éther de pétrole) de feuilles a un effet anesthésiant local testé sur des grenouilles et un effet larvicide sur quelques espèces de moustiques (**Abdul Rahman et al., 2008 ; Ramanathan et al., 2011**).

#### 7.4 Les racines

C'est la partie de la plante où il y a eu le moins de recherches ; peu d'informations ont été élucidées sur les molécules présentes à ce niveau **Khare (2007)** a parlé de la présence de composés aliphatiques.

D'autres composés existent au niveau des racines comme l'hentriacontane (alcane longue chaîne hydrocarbonnée) et les saponines (**Memon et al., 2003**).

### 8. Composition chimique de l'huile

Cette huile contient une bonne quantité d'acide linoléique (C18: 2) qui est un acide gras essentiel et une petite teneur en acide linoléique (C18:3) (**Huang et al., 1994; Udayasekhara, 1994**).

Les analyses faites par chromatographie en phase gazeuse ont montré la composition en acide gras majoritaire dans le tableau suivant :

**Tableau 1** : Composition en acide gras majoritaire des huiles végétales (huile de coloquinte et huile d'olive).

Acide gras	Huile de coloquinte %	Huile d'olive %
Acide linoléique	76.4	3.5-21
Acide palmitique	8.1	7.5-20
Acide oléique	7.8	55-83
Acide stéarique	6.1	0.5-5
Acide linoléique	0.5	<1.5

**Source** : Résultats d'huile de coloquinte selon **Sebbagh et al(2009)** et d'huile d'olive selon **la norme de Codex Alimentarius**.

Concernant la qualité de l'huile, l'indice de peroxyde est relativement bas et reste dans les limites acceptables fixées pour les huiles végétales comestibles (**Zohara, 199 ; Sawaya et al., 2006**).

Quant à l'insaponifiable qui est la partie non glycéridique de l'huile et, qui renferme un

mélange d'hydrocarbures, d'aldéhydes, de cétones, de pigments et de vitamines liposolubles représente de 1% à 2,15 % de l'huile (**Badifu, 1991 ; Sawaya et al., 2006**).

Une étude chromatographique faite sur l'insaponifiable a révélé la présence de phytostérols qui est le composant majoritaire, comme dans la plupart des huiles végétales, est le  $\beta$ -sitostérol (60 à 65%) suivi par stigmastérol (19 à 20%) et le campestérol (10 à 11%) le fucostérol, puis avec un pourcentage plus bas le  $\beta$ -sitostéryl acétate et campestéryl acétate (2 à 4%) et des traces de  $\alpha$ -tocophérols et de  $\beta$ -carotène (**Badifu, 1991**).

## 9. Propriétés biologiques de la coloquinte

### 9.1 Effets thérapeutiques

La pulpe mûre et séchée a un effet purgatif énergique, antinéoplasique, antihydropsie, anti-goutte, anti-arthrite et peut être un remède pour la congestion cérébrale, le rhumatisme et la sciatique (**Armougom, 1998**). Elle peut être aussi utilisée pour traiter les hémorroïdes et les varices (**Khare, 2007**).

A forte dose, elle est émétique et irrite les muqueuses gastro-intestinales et, à petites doses un bon expectorant.

En pharmacie moderne, l'extrait sec de la coloquinte entre dans la formulation des comprimés traitant les affections hépatiques, les fièvres, les parasites intestinaux, la constipation et la congestion cérébrale (**Anonymous, 1970 ; Memon et al., 2003**).

La pâte des racines s'applique aux différentes inflammations, tuméfactions et dans le traitement de rhumatisme, de l'ictère, des maladies urinaires et le rhumatisme, les douleurs de joint, l'inflammation et extérieurement dans les maladies ophtalmiques, 180g de mixture de racines et de poivre long à quantité égale sont pris tous les jours par le malade. Pour les inflammations intestinales et tumeurs, la poudre de racines mixée avec l'huile de ricin est administrée au malade. La poudre seule peut être utilisée comme insecticide (**Dastur, 1962 ; Panda, 2000**).

Les feuilles sont utilisées pour le traitement de l'ictère et l'asthme, contre l'hémorragie, prescrites pour soulager les douleurs des membres inférieurs, le dos et les articulations (**Kirtikar et Basu, 1984**).

L'huile extraite à partir des graines est employée pour traiter des morsures de serpent, de

scorpion), épilepsie, pour favoriser la croissance de cheveux et pour noircir les cheveux gris (Roy *et al.*, 2007).

Plusieurs effets thérapeutiques des différentes parties de la coloquinte ont été recherchés scientifiquement au laboratoire *in vivo* et *in vitro* (Tableau 02).

**Tableau 2** : Quelques études sur les effets thérapeutiques de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) à travers le monde

Région	Métabolites/parties utilisées	Effets thérapeutiques
Iran	Flavonoïdes (Fruits)	Pouvoir antioxydant important
	Poudre (Fruits)	Effet antidiabétique sur des patients diabétiques de type 2
	Extrait des graines et de pulpe	Effets hypoglycémiant chez les lapins normaux et rendus diabétiques par l'alloxane
Arabie Saoudite	Extrait éthanolique (pulpe)	Pouvoir antioxydant puissant contre le stress oxydatif chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane
	Glycoside tri terpène Cucurbitacines E et I (Fruits)	Pouvoir anticancéreux (Carcinome hépatocellulaire)
Inde	Extrait méthanolique (Fruits)	Pouvoir antioxydant
	Extrait méthanolique (Graines)	Pouvoir antiulcéreux
	Extrait méthanolique (Feuilles)	Activité anti-inflammatoire
	Extrait d'éther de pétrole (Fruits)	Effet anti diabétique chez les rats rendus diabétique par STZ
	Extrait aqueux, éthanolique et chloroformique (racines)	Effet hypoglycémiant sur des rats normaux et rendus diabétique par l'alloxane
Soudan	Graines	Activité cancérogène après administration épi cutanée chronique aux Souris
Egypte	Cucurbitacine E (Fruits)	Une activité anti-allergique (un effet inhibiteur sur l'oreille : réactions passives anaphylactiques cutanées comme un modèle de type 1 allergies chez la souris)

	Extrait des graines	Effet hypoglycémiant, hypolipémiant chez les rats normaux et rendus diabétiques par STZ
<b>Tunisie</b>	Extrait aqueux et extrait acétone (différent parties)	Effet antibactérien (sur <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ) et antifongique ( <i>Candida albicans</i> et <i>Candida glabrata</i> )
	Extrait aqueux (différent parties)	Propriété analgésiques et anti-inflammatoire
	Extrait aqueux (Feuilles)	Effet anticoagulant et antimicrobien
<b>Pakistan</b>	Extrait méthanolique (Fruits)	Anti hémorragique contre les morsures de serpents
<b>Algérie</b>	Extrait aqueux (Fruits)	Activité immunostimulante
	Huile fixe des graines	Anti -hyperlipidémique chez les rats obèses
<b>Iraq</b>	Extrait aqueux, Saponines, alcaloïdes et glycosides	Effets hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant chez les lapins normaux et rendus diabétiques par l'alloxane
<b>Maroc</b>	B- (Pyrazol-1-yl)-L-alanine (Graines)	Activité insulino-stimulante

Source : AZZI, 2012.

Le cataplasme des feuilles est utilisé dans les migraines et les névralgies (**Kirtikar et al., 1957 ; Akhar, 1994 ; Khare, 2007**).

En Algérie, le traitement par le fruit du *Citrullus coloyntis* diffère d'une région à une autre sauf pour le traitement du diabète :

- Dans la région d'El Goléa, en plus du traitement du diabète, il est utilisé pour les dermatoses, odontalgies, infections génitales et algies rhumatoïdes.
- Dans la région de Béni Abbes, on s'en sert surtout pour les infections génitales et les algies rhumatoïdes.
- Dans la région d'Ouargla, on traite des plaies, des dermatoses et des piqûres de scorpions (**Maiza et al, 1993**).

## 9.2. Utilisation populaire

Il y a plusieurs modes d'utilisation:

- Pulvérisée, la coloquinte est très utilisée contre les hémorroïdes en application locale soit seule, soit associée à des feuilles de tabac ;
- La décoction de la coloquinte serait insecticide, elle est indiquée pour la destruction des puces ;
- Bouillies et torrifiées, les graines de coloquinte sont utilisées comme aliment de bétail dans les régions Saharienne ;
- Concernant le traitement du diabète par la coloquinte, plusieurs modes d'utilisation ont été mentionnés :
  - ✓ Graines séchées (mettre une sous la langue 2 à 3 graines par jour).
  - ✓ Décoction de 30g des graines broyées dans 1 litre d'eau et à prendre oralement 3 X50ml, par jour (**Said et al., 2002**).
  - ✓ Fruits frais coupés en tranche utilisés dans le bain de pied.
  - ✓ Préparation d'une poudre à partir de l'épicarpe séché et mélangé avec les aliments (**Merzouki et al., 2000**).

## 9.3 Toxicité

Bien que trop amère pour être consommée par erreur, la coloquinte est tout de même responsable d'accidents plus ou moins sévères résultant particulièrement de problèmes de doses. Les symptômes de surdosage, selon le mode d'administration, peuvent être de différentes natures: violentes coliques, vives douleurs épigastriques et rénales, ténésmes, nausées, vomissements, délire, rétention d'urine, crampes, hoquet, avortement. (**Merad, 1973**). La poudre de pulpe est toxique à 0,6-1g/Kg ; les recherches ont montré que le fruit a une activité cancérogène (**Khare, 2007**).

Depuis les périodes bibliques, les fruits de la coloquinte sont considérés comme poison mortel (**Yanif et al., 1999**).

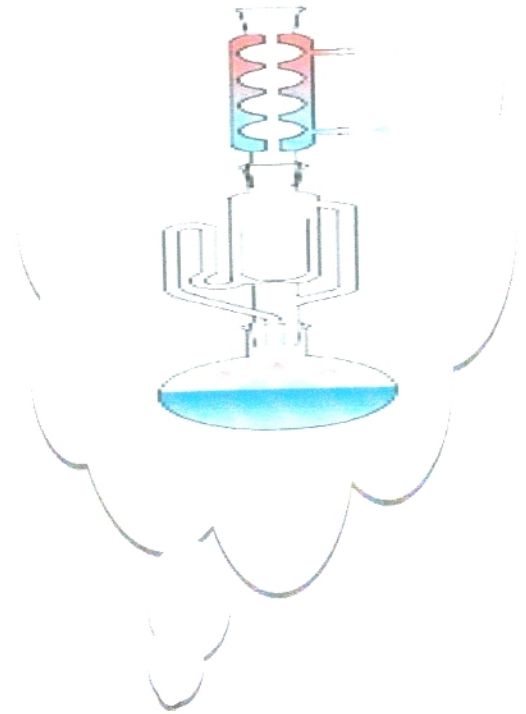
La coloquinte est une plante irritante. Elle agit même à des doses modérées, produisant abondamment des évacuations aqueuses, des inflammations de la membrane muqueuse des intestins, des vomissements et des selles sanglantes.

Les effets toxiques après utilisation chronique de cette plante, provoquent une hypokaliémie, oligurie et des œdèmes, semblables à une néphrite aiguë (**Hammouda et al., 2005**).

#### **9.4 Autres usages**

Les graines de la coloquinte sont comestibles. Dans les pays d'Afrique de l'Est, ces graines sont consommées, torréfiées (snacks), frites ou aussi sous forme de « cake » à partir de la farine des graines (**Odunfa, 1981 ; Ikereogu 1984 ; Okigbo, 1984**).

Au Nigeria, la graine est un bon épaississant pour la soupe « egusi » ou aussi après fermentation pour la préparation de « ogiri » qui est un agent aromatisant utilisé comme condiment (**Memon et al., 2003**).



# *Matériel et Méthodes*



## 1. Extraction de l'huile de coloquinte

### 1.1 Matériel végétal

Les fruits de la coloquinte (*Citrullus colocynthis* L. Schard); famille des cucurbitacées ; sont récoltés à maturité dans la Wilaya de Naâma, Sud-ouest algérien.

Au laboratoire, les graines sont séparées après maturité du fruit. Les graines de couleur marron sont lavées puis séchées à l'abri de la lumière.

### 1.2 Extraction de l'huile

L'extraction de l'huile de coloquinte a été réalisée comme suit :

- Les graines séchées sont broyées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique ;
- A partir de cette poudre, on extrait l'huile par un solvant organique polaire (hexane) à l'aide d'un appareil de Soxhlet contenant une cartouche remplie de 10 g de poudre de graines de coloquinte broyées, monté sur un ballon rempli de 250 ml d'hexane (40-60°C). Le tout est surmonté d'un réfrigérant. La durée d'extraction est de 6 heures.
- La matière grasse est séparée du solvant après évaporation à l'aide d'un rotavapeur. L'huile ainsi obtenue est conservée à 4°C à l'abri de la lumière afin d'éviter toute oxydation.
- Le rendement est calculé par la formule suivante :

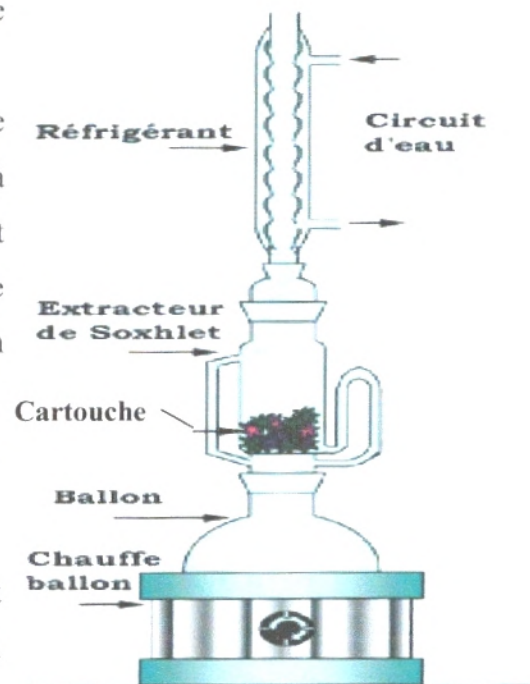


Figure 3: Extracteur de Soxhlet

$$Rdt = \frac{m_0}{m_1} \times 100$$

$m_0$ : masse en grammes d'huile évaporée

$m_1$ : masse en grammes de la prise d'essai (les graines broyées).

## 2. Analyses physicochimiques de l'huile de coloquinte

### 2.1 Caractères physiques

#### 2.1.1 Densité relative à 20°C « D<sup>20</sup> »: (NF ISO 6883)

##### 2.1.1.1 Définition

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

##### 2.1.1.2 Principe

A l'aide d'une balance analytique, effectuer des pesées successives de volumes égaux d'huile et d'eau à la température de 20°C.

##### 2.1.1.3 Mode opératoire

La densité relative est mesurée par une suite de pesées à l'aide d'un pycnomètre.

Ce dernier, après nettoyage avec de l'éthanol puis de l'acétone et séchage en faisant passer un courant d'air sec si nécessaire, il est pesé et rempli d'eau distillée (2g ) puis plongé dans un bain marie à 20°C pendant 30 mn dans le but de déterminer la masse de pycnomètre remplie d'eau distillée(m<sub>1</sub>).

La même procédure est suivie pour l'huile de coloquinte en remplissant le pycnomètre par 2g d'huile puis placé dans le bain marie à 20°C pendant 30mn. Ensuite, le pycnomètre est essuyé et pesé (m<sub>2</sub>).

##### 2.1.1.4 Méthode de calcul

La densité relative se détermine :

$$D^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \text{ (Wolff, 1986)}$$

*m*<sub>0</sub> : masse du pycnomètre vide,

$m_1$  : masse du pycnomètre rempli d'eau distillée,

$m_2$  : masse du pycnomètre rempli d'huile de coloquinte.

## 2.1.2 Indice de réfraction « IR »

### 2.1.2.1 Définition

L'indice de réfraction d'une huile est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile à température constante (**Lion, 1995**).

Cet indice varie en fonction des insaturations. Il croit avec le degré d'insaturation des acides gras contenus dans les matières grasses (**Ollé, 2002**).

Cependant, il autorise le suivi des opérations d'hydrogénation et de fractionnement des corps gras (**Adrian et al., 1998**).

### 2.1.2.2 Principe

Suivant le réfractomètre utilisé, soit qu'on mesure directement l'angle de réfraction, soit qu'on observe la limite de réfraction totale ; l'huile étant maintenue dans les conditions d'isotropisme et transparence.

### 2.1.2.3 Mode opératoire

La surface de prisme du réfractomètre est nettoyée et essuyée avec du papier Joseph et, après étalonnage avec de l'eau distillée dont l'indice de réfraction est égal à 1,33 à 20°C, une goutte d'huile de coloquinte est déposée sur le prisme.

On règle le cercle de chambre sombre et clair dans la moitié, et on effectue la lecture des résultats en prenant compte de la température.

### 2.1.2.4 Méthode de calcul

L'indice de réfraction est calculé comme suit :

$$N_D^T = N_D^t + (T-t) \times F$$

$N_D^T$  : indice de réfraction.

$N_D^t$  : indice de réfraction pris sur le réfractomètre.

$T$  : température de référence qui est 20°C.

$t$  : température de la détermination.

$F$  : facteur de correction, fonction de la température, égal à 0.00035 pour  $T=20^\circ\text{C}$ .

## 2.2 Caractères chimiques

### 2.2.1 Indice d'acide « IA » : (AFNOR T 60-204 et 60-221.IUPAC 2.201)

#### 2.2.1.1 Définition

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme de corps gras (Lion., 1995).

Cet indice indique le degré d'altération des esters (essentiellement des triglycérides) présents dans le corps gras.

#### 2.2.1.2 Principe

Il consiste à neutraliser les acides libres par une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium titrée.

#### 2.2.1.3 Mode opératoire

Après avoir pesé 0.5g d'huile de coloquinte dans un erlenmeyer de 250 ml. On les dissout avec 100 ml d'éthanol 95% / étherdiéthylique (50-50 v/v). On dose en suite avec une solution de KOH éthanolique de normalité 0.5 N après avoir ajouté 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine jusqu'à coloration rose persistante.

#### 2.1.2.4 Méthode de calcul

L'indice d'acide est calculé comme suit :

$$IA = \frac{V \times N \times M}{m} \quad (\text{Wolff, 1968})$$

*V*: volume de potassium utilisé (ml).

*N*: normalité de la solution de potasse (0.5 N).

*M*: masse molaire d'hydroxyde de potassium égal à 56.1 g/mole.

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

### 2.2.2 Indice de saponification « IS » : (AFNOR.NFT 60-206)

La détermination de l'insaponifiable est une opération caractéristique de l'analyse des lipides et destinée essentiellement aux contrôles industriels (savonnerie). Elle consiste à transformer en savons solubles (sodiques ou potassiques) la totalité des acides gras présents à l'état estérifié dans une matière grasse et à régénérer le glycérol dans le cas des triglycérides (Adrian et al., 1998).

#### 2.2.2.1 Définition

L'indice de saponification ou indice de Koettstoerfer est la masse en milligrammes de potasse nécessaires pour saponifier 1gramme de corps gras. En effet, plus les molécules d'acides ont d'atomes de carbone, moins l'indice de saponification est élevé c'est-à-dire que cette valeur est d'autant plus élevée que les acides gras sont de plus faible poids moléculaire. Il rend compte de la longueur des chaînes hydrocarbonées des acides gras. (Ollé, 2002; Salgarolo, 2003).

#### 2.2.2.2 Principe

On traite un ester par la potasse suffisamment concentrée et chaud. On régénère suivant une réaction totale d'alcool le sel de potassium de l'acide puis on donne naissance à l'ester.

La réaction de saponification est complète, irréversible et rapide.



### 2.2.2.3 Mode opératoire

Une masse de 2g d'huile est dissoute dans une solution de KOH (0,5N) dans l'éthanol, et introduite dans un ballon à col rodé. Le ballon est connecté à un réfrigérant à reflux et porté à ébullition durant au moins 60 minutes, en agitant de temps en temps.

L'excès de KOH est titré par une solution d'acide chlorhydrique HCl (0,5N), en présence de phénolphtaléine.

Un essai à blanc est préparé en suivant le même mode opératoire.

### 2.2.2.4 Méthode de calcul

L'indice de saponification (IS) se détermine ainsi :

$$IS = \frac{(V0 - V1) \times C \times 56.1}{m}$$

*V0*: est le volume d'acide chlorhydrique (ml) nécessaire pour titrer le blanc

*V1*: est le volume d'acide chlorhydrique (ml) nécessaire pour titrer l'essai.

*C* : est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution titrée d'acide chlorhydrique utilisée,

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

**56.1** : La masse molaire (g/ moles) de l'hydroxyde de potassium.

### 2.2.3 Indice de peroxyde « IP » : (AFNOR T 60.220, IUPAC 2 ,501)

L'indice de peroxyde est recherché pour évaluer l'état de conservation d'une matière grasse au cours du stockage. En effet les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains facteurs favorisant (UV, eau, enzyme, trace de métaux,...) (Cheftel et al., 1984).

Les premiers composés formés au cours de l'oxydation sont les peroxydes ou les hydro peroxydes. Ceux-ci vont ensuite évoluer vers des composés plus stables : aldéhydes, cétones, acides.

### 2.2.3.1 Définition

L'indice de peroxyde ou l'indice de Léa est le nombre de microgrammes d'oxygène actif contenus dans un gramme de corps gras et susceptibles d'oxyder l'iodure de potassium. Il est exprimé en microgrammes par gramme ou plus souvent en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme.

L'iode libéré est mesuré par la réaction avec le thiosulfate, sachant que 1 ml de thiosulfate à 0,01 N correspond à une quantité de 80 mg d'oxygène fixé sur les acides gras (Lion, 1995).

Cet indice permet d'apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative de l'huile (Ollé, 2002).

### 2.2.3.2 Principe

Il est basé sur le traitement de l'huile en solution dans de l'acide acétique et de chloroforme par une solution d'iodure de potassium (KI) ; c'est le titrage de l'iode libéré par une solution titré de thiosulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ).

### 2.2.3.3 Mode opératoire

Environ 5 g de matière grasse sont dissous dans 10 ml de chloroforme, 15 ml d'acide acétique puis 1 ml d'iodure de potassium saturé. L'Arène contenant ce mélange est fermée avec un bouchon et laissé pendant exactement 5 minutes à l'abri de la lumière à une température comprise entre 15°C et 25°C.

L'iode libéré est titré avec une solution de thiosulfate de sodium (0,02N) après avoir ajouté 75 ml d'eau distillée, en utilisant l'empois d'amidon comme indicateur coloré.

Un essai à blanc est préparé en suivant le même mode opératoire.

### 2.2.3.4 Méthode de calcul

L'indice de peroxyde (IP) s'effectue de la manière suivante :

$$\text{IP} = \frac{(V1 - V0) \times C}{m} \times 100$$

$V_0$ : est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour l'essai à blanc;

$V_I$ : est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour la détermination;

$C$  : est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution titrée de thiosulfate de sodium utilisée.

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

## 2.2.4 Indice d'iode « II » : (AFNOR, NFT 60-203)

### 2.2.4.1 Définition

L'indice d'iode appelé aussi *indice de Hübl*, est la masse en grammes d'iode fixé sur les doubles liaisons présentes dans 100 g de corps gras (Salgarolo, 2003).

La méthode de Wijs est certainement la plus utilisée (possibilité de trouver dans le commerce du réactif prêt à l'emploi) (Ollé, 2002).

### 2.2.4.2 Principe

Il est basé sur la fixation de l'iode sur les liaisons éthyléniques. Cette réaction d'addition se fait à la température ambiante et à l'ombre.

### 2.2.4.3 Mode opératoire

Le dosage consiste à faire réagir une solution halo-génante de 25 ml de réactif de Wijs sur une masse d'échantillon de 0,2 à 0,3g préalablement dissous dans 15 ml de tétrachlorure de carbone.

L'erlenmeyer contenant la solution est bouchée hermétiquement et placée dans un endroit sombre pendant une heure après l'avoir agité fortement. On ajoute ensuite 20 ml d'iodure de potassium (KI) à 10% et 150 ml d'eau distillée afin d'extraire l'iode en excès dans la phase aqueuse.

On titre par le thiosulfate de sodium  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , 0,1N en présence d'empois d'amidon et cela jusqu'à décoloration complète des deux phases (Salgarolo, 2003).

La réaction peut être accélérée par l'emploi d'un catalyseur, l'acétate mercurique dans l'acide acétique (Guillemin, 2006).

Un essai à blanc est préparé en suivant le même mode opératoire.



#### 2.2.4.4 Méthode de calcul

L'indice d'iode se détermine de la manière suivante :

$$II = \frac{(V0 - V1) \times C \times 12.69}{m}$$

*V0* : est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour l'essai à blanc;

*V1* : est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour la détermination;

*C* : est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution titrée de thiosulfate de sodium utilisée.

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

### 3. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile de coloquinte

La maîtrise des infections bactériennes et fongiques devient complexe du fait de l'émergence de bactéries et de champignons résistants à de nombreux antibiotiques conventionnels.

Face aux problèmes de santé publique, les plantes médicinales pourraient apporter une réponse thérapeutique adaptée à ces phénomènes. Les remèdes à base de plantes constituent une nouvelle alternative pour combattre ces épidémies qui, à notre ère ne devaient plus exister.

#### 3.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

##### 3.1.1. Prélèvement

L'huile végétale a été fournie par le laboratoire des produits naturels "LAPRONA" dans un flacon stérile et étiqueté.

L'huile végétale a été stockée à 4°C à l'obscurité afin d'éviter toute oxydation.

##### 3.1.2. Souches utilisées

Les souches qui ont été testées pour déceler l'activité antibactérienne de l'huile de coloquinte sont des souches de référence fournies par "LAPRONA".

Les souches utilisées dans les tests font parties de deux groupes de microorganismes

(tableau 3) qui sont des pathogènes et des contaminants.

**Tableau 3:** Nature du matériel biologique utilisée.

<i>Bactéries</i>		<i>Levure</i>
Gram positif	Gram négatif	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Candida albicans</i> ATCC 33210
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212		

ATCC: American Type of Culture Collection.

### 3.1.3. Repiquage et purification

En respectant les conditions d'asepsie, et dans le but de revérifier nos souches de référence nous avons effectué le repiquage des 5 souches bactériennes à partir d'une culture conservée sur gélose nutritive inclinée (GNI), et à partir d'une gélose sabouraud inclinée dans le cas de *Candida albicans*.

Ces cinq souches bactériennes ont étéensemencées dans 5 ml de BN et incubées à 37°C/ 24h. Pour *Candida albicans* le bouillon sabouraud a été utilisé et l'incubation a été faite à 37°C /48h.

Ensuite, à partir de chaque tube incubé, nous avonsensemencé par la technique d'épuisement deux boites de pétri préalablement coulées contenant le milieu spécifique pour chaque souche, pour être incubées à 37°C / 24 h.

Les différents milieux utilisés pour la culture et l'isolement des différentes souches sont mentionnés dans le tableau.

**Tableau 4:** Milieux de cultures spécifiques pour l'isolement et la croissance des différentes souches de référence.

Souches	Milieux
<i>Staphylococcus aureus</i>	gélose Chapman
<i>Bacillus cereus</i>	gélose nutritive
<i>Enterococcus faecalis</i>	gélose à Esculine Iron Agar (EIA)
<i>Escherichia coli</i>	gélose Mac Conkey
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	gélose Mueller-Hinton
<i>Candida albicans</i>	gélose Sabouraud

Un repiquage successif sur bouillon nutritif et sur gélose nutritive est effectué en prenant à chaque fois une colonie distincte et isolée.

Durant toute la période expérimentale, ces souches sont entretenues par repiquage successif et conservées à + 4°C.

### 3.2. Activité antibactérienne

#### 3.2.1. Milieux de cultures

**Tableau :** Différents milieux utilisés

Milieu liquide	Milieu solide	Autre matériel
Bouillon cœur cerveau BHIB	milieu Chapman	Eau distillée
Bouillon nutritive	gélose nutritive	Eau physiologique
Bouillon sabouraud	milieu EIA milieu Mac Conkey milieu Mueller-Hinton milieu Sabouraud	Boîtes pétrie

Ces milieux ont été préparés et stérilisés.

### 3.2.2. Méthodes utilisées

Ce travail a pour but de montrer si l'huile de coloquinte a un pouvoir antibactérien sur les souches bactériennes pathogènes. Pour cela, nous avons choisi deux méthodes pour évaluer l'activité biologique de l'huile.

Les techniques utilisées pour étudier l'effet des huiles de coloquinte sont celles de la diffusion des disques sur gélose (contact indirect) et méthode des puits (contact direct).

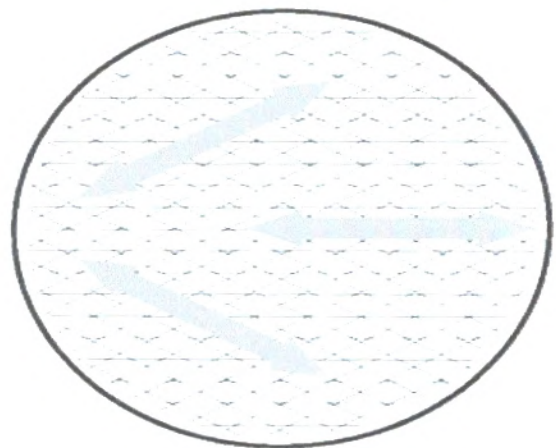
#### 3.2.2.1. Méthode de diffusion des disques (contact indirect)

Cette méthode suit le même principe de l'antibiogramme décrit par Kirby-Bauer (1960) et standardisée par le comité national des normes pour laboratoires cliniques (Prescott et al., 2003 ; NCCLS, 2003).

Elle est basée sur la diffusion des substances à tester, imprégnées sur des disques en papier filtre Whatman stériles de diamètre 6 mm qui doivent être déposés à la surface d'un milieu solideensemencé par écouvillonnage. Il se forme alors un gradient de concentrations autour du disque de papier et la croissance bactérienne est bloquée jusqu'au diamètre où les concentrations du gradient sont égales ou supérieures à la CMI (Rey, 2010).

Tandis que le mécanisme de diffusion se produit, la multiplication des germesensemencés à la surface de la gélose intervient. Au moment où se manifeste la phase logarithmique de croissance, les bactéries se multiplient rapidement que la diffusion du produit ne peut progresser et les cellules bactériennes non inhibées continuent à se multiplier jusqu'à ce que la culture puisse être visualisée.

L'ensemencement par écouvillonnage en strie doit toucher toute la surface du milieu en 3 reprises en faisant tourner la boîte de pétri de 60° après chaque application (figure 4).



**Figure 4:** Ensemencement par écouvillonnage

### **2-2-2 Méthode des puits (contact direct)**

Après avoir coulé la boîte, réaliser un puits au centre du milieu préalablement ensemencée, et déposer 20 µl d'huile de coloquinte.

Le milieu utilisé dans ces deux méthodes est la gélose Mueller Hinton pour les souches bactériennes et la gélose Sabouraud pour *Candida albicans*.



## *Résultats et discussion*

## **1. Extraction de l'huile**

L'huile de *Citrullus colocynthis* a été extraite des graines par la méthode du soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant. D'autres solvants d'extraction sont décrits dans la littérature tels que l'éther de pétrole et le chloroforme (Adrian et al., 1998). Dans notre travail, nous avons effectué l'extraction avec l'hexane (bp : 69°C) car il est plus volatil que le chloroforme (bp : 60.5-61.5°C) et on minimise ainsi les traces de solvant dans l'huile de coloquinte. (bp : « boiling point »).

Les résultats d'extraction de l'huile de coloquinte décrits dans la littérature ne dépassent pas 17- 19% (Zohara et al., 1999). Le temps d'extraction joue un rôle important dans les rendements en huile.

Le rendement obtenu après 6 heures d'extraction est 16,96%.

## **2. Analyse physico-chimique de l'huile de coloquinte**

Les techniques physicochimiques aboutissant à la composition chimique d'un produit sont anciennes, bien établies et codifiées, faciles à mettre en œuvre et la plupart d'entre elles sont aujourd'hui automatisées. Leur facilité d'emploi et leur coût de revient peu élevé en font des méthodes de routine appréciées, d'autant que leur délai d'exécution devient extrêmement court. Cela constitue un avantage aussi bien dans le domaine de la production que dans celui du contrôle industriel. De plus, ce sont des méthodes très souvent normalisées qui servent de référence dans les échanges commerciaux.

Elles s'appliquent aux composants majeurs (eau, protéines, lipides, glucides, cendres) comme aux éléments mineurs (vitamines et minéraux). Utilisée en routine pour une denrée définie, leur résultat est facilement reproductible et leur intérêt majeur est de fournir la quantité totale de l'élément présent dans l'échantillon.

Une analyse complète d'une huile végétale nécessite l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse de préférence couplée avec la spectrométrie de masse. Cependant, avant que ces

techniques aient été développées, on utilisait et on utilise encore des paramètres plus faciles d'accès pour caractériser les différentes caractéristiques physico-chimiques des huiles.

## **2.1. Caractères physiques**

### **2.1.1. Densité**

La densité relative d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C afin de vérifier la pureté de l'échantillon.

La densité de l'huile est mesurée à une température de 20°C. Toutes les précautions ont été prises pour mesurer précisément la densité à cette température, qui est la température recommandée dans la méthode officielle (NF ISO 6883).

**Tableau n°6 : Densité de l'échantillon**

<b>Auteur et Norme</b>	<b>Boublenza I., 2011</b>	<b>Norme codex Alimentarius., 1999</b>
<b>Densité</b>	0,909	0,910
<b>D<sub>20</sub> de l'échantillon analysé</b>	<b>0,903</b>	

La valeur obtenue est conforme à celle de la norme de Codex Alimentarius.

L'huile de coloquinte possède une densité inférieure à celles d'autres huiles réunies dans le tableau n °7.



<i>huiles végétales</i>	<b>densité à 20°C</b>
Olive	0,927
nigelle	0,911
<b>Coloquinte</b>	<b>0,903</b>

**Tableau n° 7** : Densité de quelques huiles végétales

La valeur de la densité de l'huile de coloquinte ne nous donne pas d'information supplémentaire, si ce n'est qu'elle est dans le même ordre de grandeurs que les huiles végétales comestibles.

### **2.1.2. Indice de réfraction**

L'indice de réfraction "IR", comme la densité, est considéré comme un critère de pureté d'une huile. Il varie avec la longueur d'onde de la lumière incidente ainsi qu'avec la température.

L'IR est proportionnel au poids moléculaire des acides gras, ainsi que leur degré d'insaturation, ce qui donne une appréciation sur la possibilité.

En fonction de l'indice de réfraction, on peut classer les corps gras en deux groupes (**Adrian et al., 1998**):

- ✓ Les graisses lauriques végétales : dont l'indice de réfraction est compris entre  $R = 1,448$  et  $R = 1,458$ .
- ✓ Les huiles végétales dont l'indice de réfraction est compris entre  $R = 1,468$  et  $R = 1,490$ .

Tableau n° 8 : Indice de réfraction de l'échantillon

Auteur et Norme	Boublenza I., 2011	Norme codex Alimentarius., 1999
Indice de Réfraction	1,474	1,468-1,490
IR de l'échantillon analysé	1,472	

Cette valeur est en accord avec celles d'autres auteurs qui donnent une valeur de l'indice de réfraction.

<i>huiles végétales</i>	<i>IR</i>
Olive	1,466
Nigelle	1,75
Coloquinte	1,472

Tableau n° 9: Indice de réfraction de quelques huiles végétales

## 2.2. Caractères chimiques

### 2.2.1. Indice d'acide

L'indice d'acide est la masse de potasse (en %) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres du corps gras. Il indique le degré d'altération des esters (essentiellement des triglycérides) présents dans le corps gras.

Tableau n° 10 : Indice d'acide de l'échantillon

Auteur et Norme	Boublenza I., 2011	Norme codex Alimentarius., 1999
Indice d'Acide	3,6	<3,3
IA de l'échantillon analysé	2,62	

A titre indicatif, nous donnons les indices d'acides de quelques huiles végétales, pour comparer l'indice d'acide de l'huile de coloquinte :

<i>huiles végétales</i>	<i>IA</i>
Olive	2,52
nigelle	1,470
<b>Coloquinte</b>	<b>2,62</b>

Tableau n° 11 : Indice d'acide de quelques huiles végétales

Un indice d'acide faible est indicatif d'une huile de bonne qualité.

### 2.2.2. Indice de peroxyde

Cet indice est un bon indicateur de l'état de conservation d'un corps gras, il mesure les hydroperoxydes totaux qui sont les premiers produits d'oxydation (il représente l'état d'oxydation au moment du dosage) (Kiritssakis., 1998).

La détermination de l'IP est un moyen pour prévoir une détérioration ultérieure des qualités organoleptiques de l'huile. Cependant, et en aucun cas, l'IP ne peut rendre compte du passé oxydatif de l'huile: un corps gras peut être rance ou présenter une qualité organoleptique médiocre sans pour cela avoir un IP élevé (Alain.KARLESKIND 1992).

**Tableau n° 12 : Indice de peroxyde de l'échantillon**

Auteur et Norme	Boublenza I., 2011	Norme codex Alimentarius., 1999
Indice de Peroxyde	1,17	<10
IP de l'échantillon analysé	1,09	

Il a été démontré que les huiles fraîches ont un indice de peroxyde inférieur à 10 meqO<sub>2</sub>/kg et elles deviennent rances quand l'indice de peroxyde se trouve dans la plage de 20 à 40 meqO<sub>2</sub>/kg (Onyeike et al., 2002).

L'IP trouvé dans notre cas est assez bas, ce qui nous permet de conclure que l'huile étudiée est fraîche et n'a pas encore subi d'altération.

<i>huiles végétales</i>	<i>IP</i>
olive	1
nigelle	7
<b>Coloquinte</b>	<b>1,09</b>

**Tableau n° 13: Indice de peroxyde de quelques huiles végétales**

Un IP faible peut être expliqué par la présence d'importantes quantités en vitamine E qu'est un antioxydant puissant et qui permet la capture des radicaux libres et la neutralisation d'oxydation destructive.

Concernant la qualité de l'huile, l'indice de peroxyde est relativement bas mais reste dans les limites acceptables fixées pour les huiles comestibles.

### **2.2.3. Indice de saponification**

L'indice de saponification rend compte de la longueur des chaînes hydrocarbonées des acides gras. C'est la quantité de potasse, exprimée en milligrammes, nécessaire pour saponifier 1 g de corps gras.

L'IS d'un corps gras est d'autant plus élevé que la chaîne carbonée des acides gras est courte (Lion 1995).

**Tableau n° 14: Indice de saponification de l'échantillon**

<b>Auteur et Norme</b>	<b>Boublenza I., 2011</b>	<b>Norme codex Alimentarius., 1999</b>
<b>Indice de Saponification</b>	<b>219</b>	<b>204-206,44</b>
<b>IS de l'échantillon analysé</b>	<b>204,801</b>	

La valeur obtenue est comprise dans l'intervalle établi du CA et inférieure à celle citée par Boublenza. On conclut que c'est une huile de bonne qualité.

Les indices de saponification de différentes huiles végétales sont résumés dans le tableau suivant :

<i>huiles végétales</i>	<i>IS</i>
olive	210,37
nigelle	205,57
<b>Coloquinte</b>	<b>204,801</b>

**Tableau n° 15** : Indice de saponification de quelques huiles végétales

#### **2.2.4. Indice d'Iode**

L'indice d'iode mesure globalement le degré d'insaturation d'un corps gras en déterminant le nombre de grammes d'iode fixé par 100 g de corps gras. En présence d'un large excès d'halogénure d'iode, l'iode est fixé sur les doubles liaisons en une heure. L'iode non consommé est ensuite dosé en retour par le thiosulfate.

Plusieurs méthodes sont proposées :

- méthode de Wijs en présence de trichlorure d'iode ;
- méthode de Hanus en présence de mono bromure d'iode ;
- méthode au brome.

La méthode de Wijs est certainement la plus couramment utilisée et c'est la méthode que nous avons mise en œuvre pour déterminer l'indice d'iode de l'huile de coloquinte.

Tableau n° 16: Indice d'iode de l'échantillon

Auteur et Norme	Boublenza I., 2011	Norme codex Alimentarius., 1999
Indice d'Iode	86	122-129
II de l'échantillon analysé	<b>126,9</b>	

La valeur déterminée, après analyse par la méthode de Wijs, est de 126,9. Elle appartient à l'intervalle établi du Codex Alimentarius et supérieure à celle citée par Boublenza, donc notre produit est stable et difficilement altérable.

<i>huiles végétales</i>	<i>II</i>
Olive	39,88
Nigelle	119,63
<b>Coloquinte</b>	<b>126,9</b>

Tableau n°17 : Indice d'iode de quelques huiles végétales

### 3. Récapitulatif des résultats

Les différentes valeurs des caractéristiques physico-chimiques se divisent en 2 groupes :

- Ceux qui rendent compte de la qualité de l'huile (densité, indice de réfraction, indice de saponification et indice d'iode).
- Ceux qui rendent compte de l'altération de l'huile (indice d'acidité et indice de peroxyde).

Le récapitulatif de tous les résultats de l'analyse physico-chimique de l'huile sont représentés

dans le tableau suivant:

**Tableau n° 18:** Récapitulatif des résultats d'analyse physico-chimique de l'huile de coloquinte

<b>Caractéristique physico-chimiques</b>	<b>Résultats d'analyses</b>	<b>Indice de qualité ou d'altération</b>	<b>Normes selon Codex</b>
Densité relative à 20°C	0.903	Caractéristique de qualité	0.910
Indice de réfraction à 20°C	1.472		1.468-1.490
Indice de saponification (mg KOH/g)	204.801		204-206.44
Indice d'iode (wijs)	126.9		122-129
Indice d'acide (%)	2.62	Caractéristique d'altération	<3.3
Indice de peroxyde (meq/kg)	1.09		10 meq/kg*

\* : c'est une valeur imposée pour les huiles végétales sauf pour l'huile d'olive dont la norme est de 20meq/kg.

Dans notre cas, nous avons comparé les valeurs des caractéristiques physico-chimiques qui rendent compte de l'altération aux normes imposées par le Codex Alimentarius et le travail de Boublenza.

A la vue de ces résultats, notre huile de coloquinte pourrait être classée parmi les huiles comestibles, même si ce travail devrait être complété par une étude toxicologique.



#### **4. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile de coloquinte**

La maîtrise des infections bactériennes et fongiques devient complexe du fait de l'émergence de bactéries et de champignons résistants à de nombreux antibiotiques conventionnels.

Face aux problèmes de santé publique, les plantes médicinales pourraient apporter une réponse thérapeutique adaptée à ces phénomènes. Les remèdes à base de plantes constituent une nouvelle alternative pour combattre ces épidémies qui, à notre ère ne devaient plus exister.

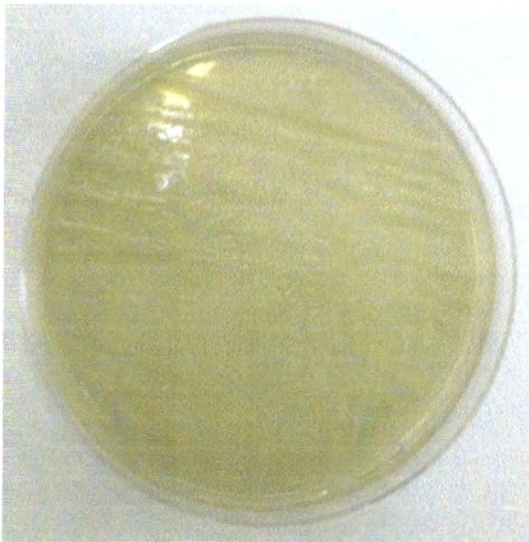
##### **4.1. Isolement et purification**

La revivification des six souches de références a donné pour chacune d'elles, des colonies pures et homogènes dès le premier essai et dont l'aspect général correspond parfaitement avec le caractère phénotype universel connu de ses souches.

La revivification des souches bactériennes a été faite dans du bouillon BHIB à 37°C pendant 24h. Dans tous les cas, la quantité d'inoculum est à  $10^8$  UFC/ ml fixée par la mesure de densité optique (DO) entre 0,08 et 0,1 à 652nm (**Hernandez et al., 2000**).

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

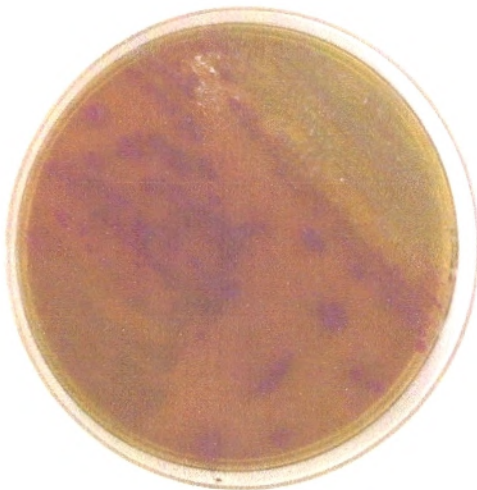
L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum (**Aboun et al., 2001**).



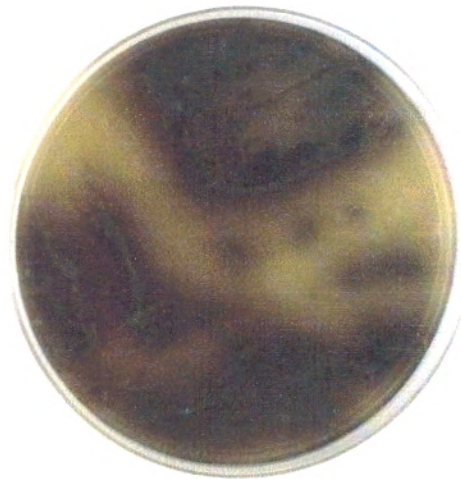
**Photo 3 :** Résultat d'ensemencement de *P.aeruginosa* sur Mueller –Hinton



**Photo 4 :** Résultat d'ensemencement de *B.subtilis* sur gélose nutritive



**Photo 5:** Résultat d'ensemencement d'*E.coli* sur Mac conkey



**Photo 6:** Résultat d'ensemencement *E.faecalis* sur gélose EIA



**Photo 7:** Résultat d'ensemencement de *S. aureus* sur Chapman



**Photo 8:** Résultat d'ensemencement *C. albicans* sur gélose sabouraud

**Tableau n°19 :** Aspect général des souches sur les différents milieux utilisés

Espèce	Milieu utilisé	Aspect des colonies
<i>S. aureus</i>	Gélose Chapman	Des colonies crémeuses, opaques et pigmentées (typiquement jaune d'or)
<i>Bacillus subtilis</i>	Gélose nutritive	Des colonies de formes irrégulières de consistance crémeuse
<i>E. coli</i>	Gélose Mac conkey	Des colonies rouges entourées d'un halo opaque de la même couleur
<i>Enterococcus faecalis</i>	Gélose EIA	Des petites colonies translucides entourées par un halo noir
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gélose Mueller- Hinton	Des colonies verdâtres et légèrement bombée à contour régulier
<i>C. albicans</i>	Gélose sabouraud	Des grandes colonies rondes de couleur blanche ou crème

#### **4.2. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de coloquinte**

Ce travail a pour but de montrer si l'huile de coloquinte a un pouvoir antibactérien sur les souches bactériennes pathogènes. Pour cela, nous avons choisi deux méthodes pour évaluer l'activité biologique de l'huile.

##### **4.2.1. Méthode de diffusion des disques (contact indirect)**

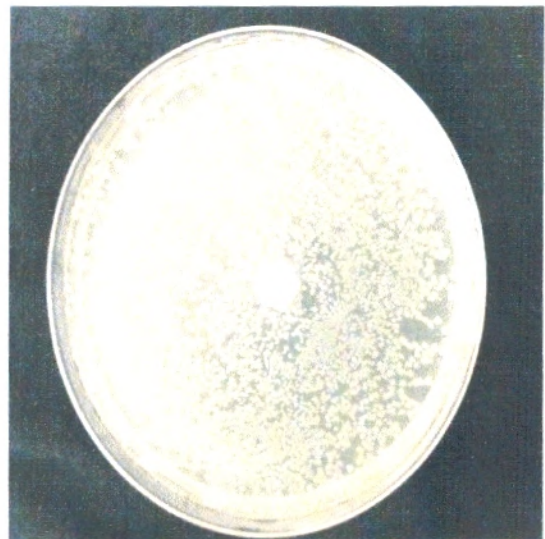
Le test antibactérien est réalisé sur l'activité antibactérienne de l'huile de coloquinte dont le disque est déposé au centre de la boîte de chaque souche.

Après incubation, on voit les zones d'inhibitions qui sont sous forme d'un halo clair autour des disques.

Ces résultats ont montré qu'il y'a une résistance de deux souches à l'huile de coloquinte parmi les six souches bactériennes (photos).



**Photo 9** : résistance de *C. albicans*  
à l'huile de coloquinte (contacte indirecte)



**Photo 10** : Résistance d'*E. faecalis*  
à l'huile de coloquinte (contacte indirecte)

La mesure des disques ne fournit que des informations qualitatives sur la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes vis-à-vis du produit à tester (Hart, 1999 ; Rey, 2010).

#### **4.2.2. Méthode des dilutions (contact direct)**

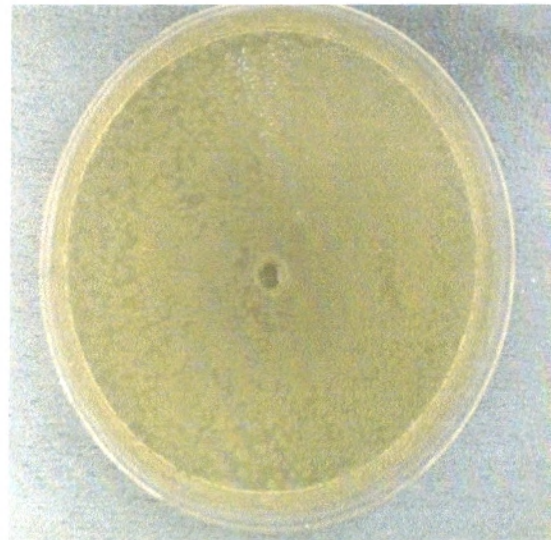
Le test antibactérien est réalisé sur l'activité antibactérienne de l'huile de coloquinte dont le puits est réalisé au centre de la boîte de chaque souche préalablementensemencée. Cette méthode est utilisée pour la confirmation des premiers résultats.

Après incubation, on voit les zones d'inhibitions qui sont sous forme d'un halo clair autour des puits.

Ce test a confirmé la résistance de deux souches à l'huile de coloquinte parmi les six souches bactériennes.



**Photo 11** : résistance de *C. albicans*  
à l'huile de coloquinte (contacte directe)



**Photo 12**: Résistance d'*E. faecalis*  
à l'huile de coloquinte (contacte directe)

Ce travail a montré que l'huile de coloquinte a un effet sur toutes les souches microbiennes utilisées, sauf *Enterococcus faecalis* et *Candida albicans*.

Certains chercheurs ont travaillé sur les extraits de toutes les parties de la plante *Citrullus colocynthis* tels les racines, la tige, les feuilles, les fruits et les graines, et ont montré que toutes les parties possèdent une activité antibactérienne contre le Gram positif (*E. faecalis* et *S. aureus*) et les Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) à un degré moindre pour les racines .

Les fruits et les graines qui n'ont pas atteint leur maturité ont été les plus actifs contre les bactéries déjà citées; ces auteurs ont également montré que les métabolites secondaires diffèrent d'une région à une autre en quantité et en qualité (exemple les alcaloïdes et les flavonoïdes) et par conséquent l'activité antibactérienne de chaque partie de la plante est tributaire de la composition de chaque plant (**Marzouk et al., 2009; Marzouk et al., 2010**).

Cette activité de l'huile de coloquinte est corrélée à la présence de certains composés dont les hydrates de carbone, les flavonoïdes, les glycosides et les tannins qui sont présents dans l'extrait de la plante *Citrullus colocynthis*, ce dernier utilisé par **Memon et al (2003)** a été significativement actif, et a montré l'inhibition de la croissance appréciable de *S.aureus*, *Bacillus pumilus* et *Bacillus subtilis*. Par contre l'activité antibactérienne contre *E.coli* et *P.aeruginosa* est négligeable.



## *Conclusion générale*

Notre travail est consacré à une étude qualitative de l'huile de coloquinte dans le but de s'assurer de sa pureté, de l'incidence de certains paramètres et de leur conformité aux normes internationales.

Cette étude nous a permis, selon les moyens disponibles, de déterminer les principales caractéristiques chimiques, physiques et microbiologiques et d'en faire une comparaison pour déterminer la qualité intrinsèque de cette huile. Elle dépend principalement de la matière première et du processus d'extraction.

Nous avons réussi à optimiser le rendement en huile de coloquinte en fixant le temps d'extraction à 6 heures et en utilisant l'hexane comme solvant d'extraction. La graine de coloquinte (*Citrullus colocynthis L.*) donne un rendement considérable d'huile précieuse dûe à sa richesse en acide gras insaturés (acide oléique et linoléique) essentiels pour la nutrition humaine.

L'analyse physico-chimique de l'huile de coloquinte a révélé grâce à l'indice de réfraction 1,472 et à l'indice d'iode 126,9 que l'huile est riche en acide gras insaturé. Les valeurs des indices d'acide et de peroxyde, qui sont respectivement de 2,62 % et 1,09 meq d'O<sub>2</sub>/Kg, révèlent que cette huile peut être conservée convenablement au cours du temps en respectant bien sûr les conditions de stockage. L'indice de saponification de 204,801 révèle que cette huile pourrait avoir une application dans le cosmétique. En général les huiles végétales avec un indice de saponification élevé sont destinées à la production du savon.

Les valeurs des caractéristiques physico-chimiques de l'huile de coloquinte sont intermédiaires par rapport à celles d'autres huiles végétales décrites.

Dans une deuxième partie, notre travail est consacré à l'étude du pouvoir antimicrobien de l'huile de coloquinte. Peu de travaux sont rapportés sur les activités antibactériennes et antifongiques des huiles fixes.

A la lumière des résultats obtenus par l'étude du pouvoir antimicrobien de l'huile de coloquinte, on constate que cette huile a un effet sur les souches microbiennes utilisées les plus résistantes car elles sont sensibles à cette huile, sauf *Candida albicans* et *Enterococcus faecalis*.



Le pouvoir antimicrobien de l'huile de coloquinte nous a permis de conclure qu'il est important ; ceci est du probablement à sa richesse qui est doté d'une activité antimicrobienne considérable.



# *Références bibliographiques*

**A**

- **Abdel-Baky A., Abdulla A., Abdel-Mawgoud H., Abd El-Hay E., 2009.** Hypoglycemic and Hypolipidaemic Action of Bitter Melon on Normoglycemic and Hyperglycemic Diabetic Rats. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*; 4(2): 519-525.
- **Abdel-Hassan I., Abdel-Barry J.A., Mohammeda S.T., 2000.** The hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of *Citrullus colocynthis* fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. *J. Ethnopharmacol.*; 71: 325-330.
- **Abdel-Hassan I., Abdel-Barry J.A., Mohammeda S.T., 2000.** The hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of *Citrullus colocynthis* fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. *J. Ethnopharmacol.*; 71: 325-330.
- **Abdul Rahuman A. and Venkatesan P., 2008.** Larvicidal efficacy of five cucurbitaceous plant leaf extracts against mosquito species. *Parasitology Research* ; 130 : 133-139.
- **Abo K.A., Fred-Jaiyesimi A.A., Jaiyesimi A.E.A., 2008.** Ethnobotanical studies of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus in South Western Nigeria. *J. Ethnopharmacol.*; 115: 67– 71.
- **Adrian J., Potus J., Poiffait A., Dauvillier P., 1998.** Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires. *Techniques & documentation- Lavoisier* : P 47-53.
- **Akhar J., 1994.** Studies on composition and metabolism of lipids in seeds of *Citrullus* species ; *thèse de Doctorat, Pakistan* : p 7.

- **Akhtar J.M., Amraan W. and Nusrullah A., 1999.** Studies of lipase and phospholipase from the meal of *Citrullus colocynthis* of the family cucurbitaceae. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences* ; 36 :47-52.
- **Al- Qurawi A.A., Adam S.E.I., 2003.** Effects of Combination of *Capsicum frutescens* and *Citrullus colocynthis* on Growth, Haematological and Pathophysiological Parameters of Rats. *Phytother. Res*, 17: 92-95.
- **Allali H., Benmehdi H. , Dib M.A., Tabti B., Ghalem S., Benabadji N.,2008.** Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian journal of chemistry*; 20 (04): 2701-2710.
- **Al-Yahya M.A., AL-Farhan A.H., Adam S.E., 2000.** Preliminary toxicity study on the individual and combined effects of *Citrullus colocynthis* and *Nerium oleander* in rat. *Fitoterapia*; 7: 385-391.
- **Anonymous, 1970.** Hamdard Pharmacopoeia of Eastern Medicine. Handard National Foundation, Pakistan 2nd Impression p 373.
- **Armougom P. R., 1998.** Etude de la fraction lipidique des graines de cucurbitacées tropicales des genres *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica*. *Thèse de doctorat, la Réunion, France* : P 74-78.
- **Azzi R., Djaziri R., Lahfa F., 2009.** Recherche des effets anti-hyperglycémiantes des glycosides cucurbitacines extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur des rats Wistar normaux et rendus diabétiques par la Streptozotocine. *Substances Naturelles et innovation thérapeutiques*; 1 :50-52.
- **Azzi R., Djaziri R., Lahfa F., Sekkal F.Z., Benmehdi H., Belkacem N., 2012.** Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*; 6(10): 2041-2050.

## B

- **Baba Aissa F., 2000.** Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. *EDAS* : 77-78.
- **Badifu G. I. O., 1991.** Unsaponifiable matter in oils from some species of cucurbitaceae. *Journal of food and analysis* 4 ;360-365.
- **Balandrin M. F., Kinghorn A.D., Farnsworth N.R., 1993.** Human medicinals from plants. American chemical society : 2.
- **Batanouny K.H., Abou Tabl S., Shabana M., Soliman F., 1999.** Wild medicinal plants in Egypt: An Inventory to Support Conservation and Sustainable Use. Chapitre 2: Pharmacopoeial Wild Medicinal Plants in Egypt Academy of Scientific Research and Technology, Egypt International Union for Conservation (IUCN).
- **Bauer R., Wagner H., 1983.** Curcubitacin-containing drugs, Analysis and Standardization of medicinal drugs and plant preparations by high-performance liquid chromatography (HPLC) and other chromatographic methods; *Dtsch Apoth Ztg*, 123: 1313-1321.
- **Benariba N., Djaziri R., Zerriouth B.H., Boucherit K., Louchami K., Sener A., Malaisse W.J., 2009.** Antihyperglycemic effect of *Citrullus colocynthis* seed aqueous extracts in streptozotocininduced diabetic rats. *Metab. and Func. Res. on Diabetes*; 2: 71-76.
- **Blaise P., 1997.** Etude de lipides par spectroscopie de RMN, thèse de Doctorat I.N.P. de Toulouse.
- **Bnouham M., Mekhfi H., Legssyer A., Ziyat A., 2002.** Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int. J. Diabetes Metab.*; 10: 33-50.

- **Bradley R., Oberg E.B., Calabrese C., Standish L.J., 2007.** Algorithm for complementary and alternative medicine practice and research in type 2 diabetes. *J Altern Complement Med*, 13; 11-12.
- **Brongniart AD., Decaisne J., 1859.** Annales des sciences naturelles (4 ème série), Paris, Victor Masson ., P :100.
- **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. *Techniques & documentation- Lavoisier* ; ISBN : 2-85206-911-3 ; p606.
- **Bruneton J., 1996.** Plante toxique : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Tec Doc (Paris).
- **Burkill H.M., 1985.** The useful plants of West Tropical Africa. Vol.1. Families A-D 2nd ed. Royal Bot. Gardens, kew, 960 pp.

## C

- **Casimir Akoh C., Nwosu C. V., 1992.** Fatty acids of melon seed oil lipids and phospholipids. *JAACS*, Vol. 69, n°. 4 : 314-316.
- **Chabane Sari D., Sebbagh N., Taleb Bendiab S.A., Ouali F., Magnan C., Ktorza A., 2007.** Effet de l'huile de coloquinte « *Citrullus colocynthis* » sur le métabolisme glucidique et lipidique chez le rat *Wistar* rendu diabétique par la streptozotocine. *Diabets&metabolism* ;33 :151.
- **Cheftel J. C., Cheftel H., 1984.** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. *Techniques & documentation- Lavoisier* : Vol 1 : 244-249.
- **Chen JC., Chiu MH., Nie RL., Cordell G.A., Qiu SX., 2005.** Cucurbitacines and cucurbitane glycosides : structures and biological activities. *Natural Product Report* ; 22(3) :386-99.

- **Codex Alimentarius, 1999.** Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires. 2e Ed. *Commission du codex alimentarius*. [codex@fao.org](mailto:codex@fao.org)
- **Courtois J.E. et Perles R.,1981.** Précis de chimie biologique 2. *Masson*, p 135.

## D

- **Daniel J., Savolainen M., Rodolphe- edouard S., 2004.** Botanique systématique des plantes à fleurs, 3 ème ed ., presses polytechniques et universitaires romandes.
- **Dastur J.F., 1962.** Medicinal plants of India and Pakistan. D.B. Taraporevala Sons and Co. Pvt. Ltd. Bombay, India, p.56.
- **Dehghani F., Panjehshahin M.R., 2006.** The Toxic Effect of Alcoholic Extract of *Citrullus colocynthis* on Rat Liver. *Iranian journal of Pharmacology & Therapeutics*; 5: 117-119.
- **Dero A. C., 1998.** Cahiers N°5, Aspects de l'islam. *ULB, Ipho* :6.
- **Duke J.A., Duke P. A. K. et Cellier J.L., 2008.** Duke's Handbook of Medicinal Plants of the Bible. *CRC Press* : 115.

## E

- **Eddouks M., Ouahidi M.L., Farid O., Moufid A., Khalidi A., Lemhadri A., 2007.** L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie* ; 5: 194-203.
- **El-Magoli S.B., M.M. Morad, et A.A. El-Fara. 1979.** Evaluation of some Egyptian melon seed oils. *Fette Seifen Anstrichmittel* 81(5): 201.

- **Esquinas-Alcazar J.T et Gulick P.J., 1983.** Genetic resources of cucurbitaceae: a global report. Int. board for Plant Genet. Ressources , Rome; p101.

## F

- **Fallah Huseini H., Darvishzadeh F., Heshmat R., Jafariazar Z., Raza M., Larijani B., 2009.** The Clinical Investigation of Citrillus colocynthis (L) Schrad Fruit in Treatment of Type 2 Diabetic Patients: A Randomized, Double Blind, Placebo-controlled Clinical Trial. *Phytother. Res*, 23: 1186-1189.
- **Feinbrun-Dothan N., 1978.** Flora Palestina-Part III. *The Israeli Academy of Sciences and Humanities*. Jerusalem.
- **Fursa T.B., Filov I., 1982.** XXI Cucurbitaceae (Citrullus, Cucurbita). In *Flora of Cultivated plants*. Eds. O. N. Korovina and T. B. Fursa; Moscow; Vol 21: 279.

## G

- **Galal T.M., Saleh H., Snarkawy E., Jack M.S., Rosazz PN., 1997.** “C-p-Hydroxy benzoyl glycoflavones from *Citrullus colocynthis*. *Phytochemistry*; 44: 187-190.
- **Giwa S., Abdullah L.C., Adam N. M., 2010.** Investigating « Egusi » (*Citrullus colocynthis* L.) Seed Oil as Potential Biodiesel Feedstock. *Energies* ;3 ; doi :10.3390/en3040607 : 607-618.
- **Grompone M.A., 1988.** *Fat Sci. Technol.* 90. Jahrang, 12, 487.
- **Guillemin S., 2006.** Extraction aqueuse d’huile de colza assistée par hydrolyse enzymatique : optimisation de la réaction, caractérisation de l’émulsion et étude de procédés de déstabilisation. *Thèse de doctorat, Lorraine, France* : 75-77.



- **Gulcan AV., Esra K., Abdullah E., Erdem Y., Ismail K., 2006.** Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in Turkish folk medicine, *Journal of Ethnopharmacology*; 107:418-423.
- **Gurudeeban S., Satyavani K. and Ramanathan T., 2010.** Bitter apple (*Citrullus colocynthis*) : An Overview of Chemical Composition and Biomedical Potentials. *Asian Journal of Plant Sciences* 9 (7) : 394-401. ISSN 1682-3974.

## H

- **Hammouda F.M., Ismail S.I., Abdel-Azim N.S., Shams K.A., 2005.** *Citrullus colocynthis* L. A Guide to Medicinal Plants in North Africa: 87-89.
- **Hanelt P., 2001.** Mansfel's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops. *Institute of plant genetics and crop plant research; Ed Springer; Vol 3 : p 1533-1535.*
- **Harborne B. and Baxter H., 1993.** *Phytochemistry dictionary, a hand book of bioactive compounds from plants.* Taylor and Francis Ltd, London.
- **Huang K., C.C. Akoh, et M. C. Erickson., 1994.** Enzymatic modification of melon seed oil: Incorporation of eicosapentaenoic acid. *J. Agr. Food Chem*; 42:2646-2648.
- **Huseini H.F., Darvishzadeh F., Heshmat R., Jafariazar Z., Razali M., Larijani B., 2009.** The clinical investigation of *Citrullus colocynthis* (L.) schrad fruit in treatment of type II diabetic patients: A randomized, double blind, placebo-controlled study. *Phytotherapy Research*; 23(8): 1186-1189.

## I

- **Ikereogu J.E.G., 1984.** Some micro-environmental changes under cassava (*Manihot esculenta* crantz) maize (*Zea mays* L.) intercrops grown with okra (*Abelmoschus*

esculentus L.) and egusi melon (*Colocynthis vulgaris*L.). Ph. D Thesis, university of Ibadan, Nigeria, 259.

## J

- **Jacks T.J., Hensarling T.P., Yatsu L.Y., 1979.** Economic botany, 2, 135.
- **Jayaraman R., Shivakumar A., Anitha T., Vishal D., Joschi, Narahari N., Palei, 2009.** Antidiabetic effect of petroleum ether extract of *Citrullus colocynthis* fruits against streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *Rom. J. Biol.-Plant Biol*; 54: 127-134.
- **Jayarprakasam B., Seeram NP., Nair MG., 2003.** Anticancer and anti-inflammatory activities from *Curcubita andreana*. *Cancer letters*; 189(1):11-6.
- **John U., Cincinnati O., 1898.** *Citrullus colocynthis*. Reprinted from the Western druggist. Chicago.
- **Jouad H.M., Haloui M.H., Rhiouani H., El Hilaly J.M., Eddouks M., 2001.** Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez–Boulemane). *J. Ethnopharmacol.* 77: 175-182.

## K

- **Karlesking A.,1992.** Manuel des corps gras 1.*Techniques&documentation., Lavoisier.*
- **Khare C. P., 2007.** Indian medicinal plants. *Springer; ISBN:978-0-387-70637-5: 152.*
- **Khatri L.M., Nasir M.K., Saleem R. and Valhari, 1993.** Characteristics and chemical composition of *Citrullus colocynthis*. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*; 36: 384.

- **Kirtikar K.R., Basu B.D., An I.C.S., 1957.** Indian Medicinal Plants; 2nd Ed., L.M. Basu, Allahabad; 2; 1147.

## L

- **Lecerf J. M., 2010.** Huiles végétales. *Phytothérapie* : 8 Doi 10.1007: 75-76.
- **Lion PH, 1995 .** Travaux pratique de chimie organique. Ed. Dunod, Paris.

## M

- **Maiza K., Brac de la Perrière R. A., Hammiche V., 1993.** Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. *Médicaments et aliments : l'approche ethnopharmacologique* : 169-171.
- **Meena M.C. and Patni V., 2008.** Isolation and identification of flavonoid quercetin from *Citrullus colocynthis* (Linn.) Schrad. *Asian Journal of Experimental Science*, 22 : 137-142.
- **Memon U., Brohi A. H., Waseemuddin S. A., Azhar I., Bano H., 2003.** Antibacterial screening of *Citrullus colocynthis*. *Pakistan Journal of the Pharmaceutical sciences*;16: 1-6.
- **Merad-Chiali M., 1973.** Contribution à la connaissance de la pharmacopée traditionnelle algérienne. *Thèse de doctorat, Alger, Algérie.* 149-151.
- **Merzouki A., Ed-Derfoufi F., Molero M.J., 2000.** Contribution to knowledge of Rifian traditional medicine. Folk medicine in Ksar Lakbir (NW Morocco). *Fitoterapia*; 71: 278-307.

- **Munger H.M. and Robinson R.W., 1991.** Nomenclature of *Cucumis melo* L. Curcubit Genetics Cooperative 14: 43-44.

## N

- **National Committee of Clinical Laboratory Standards NCCLS, 1999.** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: ninth informational supplement; Wayne; Pennsylvania: M100-S9, Vol 19.  
[http://www.cdc.gov/idsr/files/french\\_lab\\_manual\\_idsr/chpt9.htm](http://www.cdc.gov/idsr/files/french_lab_manual_idsr/chpt9.htm)

- **Nmila R., Gross R., Rchid H., Roye M., Manteghetti M., Petit P., Tijane M., Ribes G., Sauvaire Y., 2000.** Insulinotropic effect of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. Planta Med.; 66: 418-423.

## O

- **Odunfa S.A., 1981.** Microbiology and amino acid composition of 'Ogiri', a food condiment from melon seeds. Die Nahrung, 25: 811-816.
- **Okigbo B.N., 1984.** Neglected plants and horticultural and nutritional importance in traditional farming systems in tropical Africa; Act. Hort., 53: 131-150.
- **Ollé M., 2002.** Analyse des corps gras. *Bases documentaires: techniques d'analyses*; Référence P3325; Ed. Techniques de l'ingénieur. <http://www.techniques-ingenieur.fr>

## P

- **Panda H., 2000.** Herb Cultivation and Medicinal Uses. *National Institute of Industrial Re* ; ISBN 8186623469, 9788186623466 : p 240-243.
- **Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., Bacq Colberg C-M., Dusart J., 2003.** Microbiologie. 5e ed. De Boeck&Larcier s.a. : p 809.

## R

- **Ramanathan T., Gurudeeban S., and Satyavani K., 2011.** Local anesthetic effect of *Citrullus colocynthis* on *Rana exadactyla*. *Research Journal of Medicinal Plants*; 5 (3):338-342. Doi 10.3923/rjmp.2011.338.342
- **Rey J.F.G.S., 2010.** Détermination des valeurs critiques pour l'antibiogramme vétérinaire par une approche de type Monte Carlo. *Thèse (pour l'obtention du diplôme docteur vétérinaire)*. Université de Toulouse, France. p 16.
- **Roy R.K., Thakur M., Dixit V.K., 2007.** Development and evaluation of polyherbal formulation for hair growth-promoting activity. *J. Cosmet. Dermatol.*; 6: 108-112.

## S

- **Said O., Khalil K., Fulder S., Azaizeh H., 2002.** Ethnopharmacology survey of medicinal herbs in Israel, the Golan height and the West Bank region. *J. Ethnopharmacol.*; 83: 251-265.
- **Salgarolo P., 2003.** Pratique des manipulations de chimie- à l'usage des biologistes. *Techniques & documentation- Lavoisier* : 229-237.
- **Sawaya W. N., Dagher N. J., Khan P., 2006.** Chemical characterization and edibility of oil extracted from *Citrullus colocynthis* seeds. *Journal of food science*; volume 48, issue1: 104-106.
- **Schafferman D., Beharav A., Shabelschy E, Yaniv Z., 1998.** Evaluation of *Citrullus colocynthis*, a desert plant native in Israel, as potential source of edible oil. *Journal of arid environments*. 40: 431-139.

- **Sebbagh N., Cruciani-Guglielmacci C., Ouali F., Berthault M.F., Rouch C., Chabane Sari D., Magnan C., 2009.** Comparative effects of *Citrullus colocynthis* , sunflower and olive oil-enriched diet in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Diabetes&Metabolism* 35: 178-184.
- **Seger C., Sturm S., Mair ME., Ellmerer E., Stuppner H., 2005.** <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR signal assignment of cucurbitacines derivatives from *Citrullus colocynthis* (L.) Schrader and *Ecbalium elatrium* L. (Cucurbitaceae). *Magnetic resonance in chemistry*; 43: 489-491. Doi:10.1002/mrc.1570
- **Shaheen A.M. and Hamed A.I., 2003.** Comparative studies and nutritional values of some weedy species collected from newly reclaimed areas (Western shore of Lake Nasser, Aswan, Egypt). *Egypt.J.Biotechnol.*, 13: 176-186.
- **Sirois C., 2008.** Valorisation des extraits de pin gris (*Pinus banksiana*) par l'étude de leur compositions chimiques et leurs activités biologiques. *Mémoire. Université du Québec à Chicoutimi* ; 14-15 ; 31-33.
- **Sturm S., Schneider P., Serger C., Stuppner H., 2009.** Analysis of *Citrullus colocynthis* Cucurbitacine Derivatives with HPLC-SPE-NMR. *Scientia pharmaceutica* ; 77 : 254. Doi :10.3797/scipharm. Oephg. 21. PO-55.

## T

- **Tahraoui A., El-Hilally J., Israili Z.H., Lyoussi B., 2007.** Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in South-eastern Morocco. *J. Ethnopharmacol.*; 110: 105-117.
- **Takagi T., Itabashi Y., 1981.** *Lipids*, 16 : 546.
- **Tannin-Spitz T., Grossman S., Dovrat S., Gottlieb H.E. and Bergman M., 2007.** Growth inhibitory activity of cucurbitacin glucosides isolated from *Citrullus colocynthis* on human breast cancer cells. *Biochemichal pharmacology*, 73 :56-67.

- **Tehila S., Shlomo Grossman, Sara Dovrat, Hugo E., Gottlieb, Margalit Bergman, 2007.** Growth inhibitory activity of cucurbitacin glucosides isolated from *Citrullus colocynthis* on human breast cancer cells. *Biochemical pharmacology*; 73: 56-67.
- **Trease G.E., 1976.** A text-book on Pharmagnosy. *Bailliere Tindall and Cox*. London. England. P 646.
- **Triggiani V., Resta F., Guastamacchia E., 2006.** Role of antioxidants, essential fatty acids, carnitine, vitamins, phytochemicals and trace elements in the treatment of diabetes mellitus and its chronic complications. *Endocr Metab Immune Disorders Drug Targets*, 6: 77-93.

## U

- **Udayasekhara Rao, P. 1994.** Nutrient composition of some less-familiar oil seeds. *Food Chem.* 50 : 379- 382.

## V

- **Vanier P., 2006.** Courge. Passeport santé. Net sur [http://passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliment/Fiche.aspx?doc=courge\\_nu](http://passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliment/Fiche.aspx?doc=courge_nu)
- **Venkatesh S., Reddy G.D., Reddy B.M., Ramesh M., Rao ANVA., 2003.** Antihyperglycemic activity of *Caralluma attenuata*. *Fitoterapia*, 74: 274-279.

## W

- **Wolff J.P 1968 :** Manuel d'analyse des corps gras Ed, Azoulay.Paris.

**Y**

- **Yanif Z., Ellashabelsky, Schafferman D., 1999.** Colocynth : Potential arid land oil seed from an ancient cucurbit. *in*: J. Janick ( Ed). Perspectives on new crops and new use. ASHS press; Alexandria VA.

**Z**

- **Ziyyat A., Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M., Benjelloun W., 1997.** Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *J. Ethnopharmacol.*; 58: 45-54.
- **Zohara Y., Shabelsky E., Schafferman D., 1999.** Colocynth: Potential Arid Land Oilseed from an Ancient Cucurbit. *Perspectives on new crops and new uses*: 257- 262.





# *Annexes*

### **Gélose à Esculine : Esculine Iron Agar (EIA)**

Peptone	10.0 g
Esculine	1.0 g
Citrate de fer ammoniacal	1.0 g
Agar	20.0 g
PH	7.4
Préparation	32 g/l
Stérilisation à 121°C/15 mn	

### **Gélose chapman :**

Trytone	5 g
Extrait de viande	3 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de sodium	7 g
Peptone bactériologique	10 g
Mannitol	10 g
Rouge de phénol	0.05 g
Eau distillée	qsq 1L
pH	7.4 à 37°C
Préparation	119 g/l
Stérilisation à 121°C/ 15 mn	

## ملخص

في جميع العصور اهتم الانسان بالدم لاستعمالات شتى في تجهيز الاغذية، ومستحضرات التجميل، والطب،... الخ. الكثير من البذور هي مصادر للزيوت و التي تسعى في البحوث العملية من اجل خصائصها المغذية والعلاجية. في بحثنا اهتمنا باستخراج الزيت من البذور معروفة بالحدج و الحنظل

الامتثال النفط إلى مستوى الدستور الغذائي يتطلب تحديد البارامترات الفيزيائية (الكثافة النسبية، معامل الانكسار) والكيميائية (حمض، البيروكسيد، رقم التصين، قيمة اليود). لتوسيع سيطرتنا، و اضاف نحن التحليل على فاعلية مضادات الميكروبات من هذا النفط.

في المرحلة الاولى من هذا العمل بعد استخراج الزيت اضطررنا في البحث عن الخصائص الفيز و كيميائية للزيت. بعد مقارنتها مع مميزات الزيوت الغذائية

في المرحلة الثانية المخصصة لتقييم نشاط الفعل ضد الميكروبي (ضد البكتيريا و ضد الفطريات) لزيت الحنظل

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Bacillus cereus* ATCC11778, *Aspergillus flavus* MNHN994294

**الكلمات المفتاحية:** الحنظل-استخراج الزيت-الخصائص الفيزيوكيميائية-الفعل الميكروبي المضاد

## Résumé

De tout temps, l'homme s'est intéressé aux lipides pour diverses utilisations : en agroalimentaire, en cosmétologie, en médecine,... etc. De nombreuses graines sont sources d'huile qui sont de plus en plus étudiées pour leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques. Dans notre travail, nous nous sommes intéressés à l'extraction de l'huile de graines de *Citrullus colocynthis*, communément appelée Coloquinte.

La conformité de l'huile à la norme du codex alimentarius exige la détermination de certains paramètres physiques (densité relative, indice de réfraction) et chimiques (indice d'acide, indice de peroxyde, indice de saponification, indice d'iode). Pour élargir notre contrôle, on a ajouté des analyses sur le pouvoir antimicrobien de cette huile.

Dans une première partie de ce mémoire, nous abordons, après extraction, les différentes caractéristiques physico-chimiques de l'huile. Par comparaison avec les paramètres d'autres huiles alimentaires. L'huile de coloquinte semble être une huile qui pourrait être destinée à un usage comestible.

La deuxième partie est consacrée à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile de coloquinte. Cette huile est testée sur des souches de référence : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* en utilisant les méthodes : de diffusion de puits et de diffusion des disques.

**Mots clés :** *Citrullus colocynthis*, extraction d'huile, indices physico-chimiques, pouvoir antimicrobien

## Abstract

Any time, the man was interested in lipids for various uses: food, cosmetics, medicine... A lot of seeds is lipids which are more and more subjects of researches for their nutritional and therapeutic and properties. In our study we are interested by extracting oil from seeds of *Citrullus colocynthis* said "bitter apple".

The conformity of the oil standard codex alimentarius exige the determination of physical parameters (relative density, refractive index) and chemical (acid value, peroxide value, saponification index, iodine index). To expand our control was added analysis on the antimicrobial potency of this oil

In the first part of this research, we approach, after extraction, the different physico-chemical of oil. The comparison with the parameters of other edible oils. bitter apple Oil seems to be an oil that could be intended for edible use.

The second part was consecrated for evaluation of antimicrobial activity (antibacterial and antifungal) of bitter apple oil. This oil is tested on reference strains: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* using the methods of diffusion wells and dissemination of records.

**Key words:** *Citrullus colocynthis*, oil extraction, physico-chemical parameters, anti-microbial activity.