

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
**UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN**



# MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

**MASTER EN CHIMIE**

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Par :

**Mlle BENHEROUAL Kheira**

Sur le thème

---

## Etude chimique et biologique d'une plante du genre *Xanthium*

---

Soutenu publiquement le 25 juin 2019 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr SELLES Chaouki	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Mme BENDIABDELLAH Amel	MCB	Université de Tlemcen	Encadrante
Mme KENNICHE Assia	MCB	Centre Universitaire de Maghnia	Examinatrice

*Laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses.  
Laboratoire des substances naturelles et bioactives.  
BP 119, 13000 Tlemcen – Algérie.*

## *Dédicaces*

*A mes parents, Ben heroual Rabah et Hattabi Mimouna  
que dieu les garde,*

*En témoignage de ma profonde affection.*

*Qu'ils sachent que ce travail est en partie le fruit de leur  
soutien.*

*Merci à mes chers frères et sœurs : Mohamed,  
Abdelkader, Ismail , Abderrazak , Farouk , Nouria et  
Fatima.*

*A mes chères amies qui ont partagé avec moi les bons et  
les mauvais moments :*  
*Fatima, Rania, Sihem, Amina , Zoulikha et Fatna.*

*Sans vous tous,*

*Sans votre soutien moral et votre amour...*

*Rien n'aurait été possible.*

## Remerciement

Ce travail est l'aboutissement d'un travail réalisé au sein du laboratoire des substances naturelles et bioactives (*LASNABIO*) et au Laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses (*COSNA*) de l'Université Abou Bekr BELKAID de Tlemcen. Je profite de l'occasion qui m'est ainsi présentée pour exprimer ma respectueuse gratitude à Monsieur le Professeur **GHALEM Saïd**, Directeur du laboratoire de Substances Naturelles et Bioactives « *LASNABIO* » et à Monsieur le Professeur **ARRAR Zoheir**, Directeur du laboratoire Chimie Organique Substances Naturelles et Analyse « *COSNA* » pour m'avoir accueilli au sein de leurs laboratoires.

Je tiens tout particulièrement à remercier mon encadreur Madame **AYACHI Amel née BENDIABDELLAH**, MCB à l'Université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant la direction de mon travail. Sa pleine disponibilité, son aide permanente, ses précieux conseils et ses connaissances scientifiques, m'ont permis d'avancer plus loin dans mes recherches. Je la remercie, également, pour ses grandes qualités humaines et son soutien moral, tout au long de mon travail. Cela a été un privilège pour moi, de travailler sous sa direction.

Mes remerciements vont également à monsieur le Professeur **TABTI Boufeldja**, qui a mis à ma disposition, dans le cadre de son équipe de recherche les moyens indispensables à la bonne réalisation de cette recherche.

J'exprime ma gratitude à Monsieur le Professeur **SELLES Chaouiki**, Chef de département de chimie, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury.

Ma reconnaissance va également à Madame **KENNICHE Assia** pour avoir accepté d'examiner ce manuscrit et participer à mon jury de soutenance.

Je remercie l'équipe de Master chimie pharmaceutique et particulièrement le Professeur **J. Kajima Mulengi** pour leurs conseils, leurs aides et les efforts fournis durant toutes ces deux années.

J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur le Professeur **DIB Mohammed el amine** et au doctorant **SIMAOUI Mohammed** pour leurs contributions et leur aide dans la réalisation des analyses CG et CG/MS.

Je tiens à remercier la doctorante **SNOUCI Hanane** du laboratoire écologie et gestion des écosystèmes naturel, pour m'avoir aidé à effectuer l'activité antifongique.

Je tiens également à remercier monsieur **AISSAOUI Mohammed**, doctorant au laboratoire antibiotique antifongique : physico-chimie, synthèse et activités biologiques (LAPSAB), pour la réalisation de l'activité antimicrobienne et pour son aide dans l'interprétation des résultats relatifs à cette activité.

Je remercie également tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE.....	01
Chapitre I : Description botanique et chimique de la plante.....	03
<b>I.</b> La famille des Astéracées.....	03
<b>II.</b> Présentation de l'espèce <i>Xanthium strumarium</i> .....	03
II.1-Classification systématique de l'espèce.....	03
II-2. Description botanique.....	04
II-3. Origine et habitat.....	04
II-4.Utilisation en médecine traditionnelle .....	05
II-5. Toxicité de la plante.....	05
II-6.Etudes antérieurs sur les huiles essentielles de <i>Xanthium strumarium</i> .....	05
<b>III.</b> Méthodes d'extractions et Analyses chimiques .....	07
III.1.Les huiles essentielles .....	07
III.2. Principaux domaines d'applications des huiles essentielles.....	07
III.3. Techniques d'extractions des huiles essentielles.....	07
<b>IV.</b> Méthode d'analyse des huiles essentielles.....	08
IV.1. Analyse par CPG .....	08
III.2. Couplage CPG/spectrométrie de masse « SM » .....	09
<b>V.</b> Les polyphénols.....	09
CHAPITRE II : Matériel et méthodes.....	10
I.    Provenance et identification de la plante.....	10
II.   Procédés d'extraction des huiles essentielles .....	10
III.  III.Extraction de l'hydrolat .....	11
IV.   IV. Dégraissage du matériel végétal .....	12
V.    Préparation des extraits aqueux et éthanolique .....	12
VI.   Détermination des rendements en huiles essentielles et les huile fixe.....	13
VII.  Extraction des acides gras et des insaponifiables .....	13
VII.1. Saponification et extraction des insaponifiables.....	14
VII.2. La libération des acides gras .....	14
VIII. Tests phytochimiques.....	14
IX.   Conditions CPG/FID de Corse.....	15
X.    Conditions (CPG/SM) de Corse .....	16
XI.   Evaluation de l'activité antioxydante .....	16
XI.1.Piégeage du radicale libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).....	16
XI.2.Méthode de la réduction du fer (FRAP).....	17
XII.  Evaluation de l'activité antibactérienne .....	18
XII.1.Méthode de diffusion des disques sur milieu solide .....	18
XII.2.Méthode des dilutions sur milieu solide .....	18
XIII.  Activité antifongique <i>in vivo</i> .....	19
Chapitre III : Résultats et discussion : Partie chimique.....	20

# Sommaire

---

I.	Lieu de récolte et rendement .....	20
II.	Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de <i>X. strumarium</i> .....	20
III.	Extraction de l'huile fixe, des acides gras et des insaponifiables	
	III.1.Extraction de l'huile fixe .....	23
	III.2.Acides gras et insaponifiables .....	23
IV.	Résultats du criblage phytochimique .....	23
	Résultats et discussion : partie biologique.....	28
I	Evaluation de l'activité antioxydante .....	28
	I.1.Test de piégeage du radical libre DPPH .....	28
	I.2.Méthode de réduction des ions ferriques FRAP .....	29
II.	Etude de l'activité antibactérienne	
	II.1. La technique de diffusion sur gélose Mueller Hinton (méthode des disques).....	30
	II.3.Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) .....	31
III	Activité antifongique.....	32
	III.1.Effet des hydrolats sur l'inhibition de décroissance fongique <i>in vivo</i> de la tomate.....	32
	CONCLUSION .....	34
	Référence .....	36

## LISTE DES ABREVIATIONS

**H.E** : Huile essentielle.

**H.F** : Huile fixe.

**GC** : Chromatographie en phase gazeuse.

**GC/MS** : Chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse.

**X.** : *Xanthium* .

**X.E** : *xanthium strumarium*.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**CMF** : Concentration minimale fongicide.

**P.I** : Pourcentage d'inhibition.

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

**FRAP** : Ferric Reducing Ability of Plasma

**BHT**: Butylhydroxytoluène

**FID**: Flame Ionisation Detector

**HD**: Hydrodistillation

**H.E**: Huile Essentielle

**H.Y**: Hydrolat

**IR** : Indice de rétention

**ICR50R**: concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres

**PDA**: Potato Dextrose Agar

**PI**: Pourcentage d'inhibition

**A.A** : Acide Ascorbique.

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Les feuilles et la plante du <i>Xanthium strumarium</i> .....	04
<b>Figure 2</b> : Fruits et fleurs du <i>Xanthium strumarium</i> .....	04
<b>Figure 3</b> : Montage d'hydrodistillation de type Clevenger.....	10
<b>Figure 4</b> : Montage d'un extracteur de soxhlet .....	11
<b>Figure 5</b> : Extraction des insaponifiables.....	13
<b>Figure 6</b> : Précipitation des acides gras (pH =2).....	14
<b>Figure 7</b> : Spectrophotomètre et Changement de couleur de nos échantillons.....	18
<b>Figure 8</b> : Préparation des tomates pour les tests antifongique.....	19
<b>Figure 9</b> : Lieu de récolte (rachgoun).....	20
<b>Figure 10</b> : Rendements des huiles essentielles en fonction des organes.....	20
<b>Figure 11</b> : Les principaux composants de l'huile essentielle des feuilles.....	22
<b>Figure 12</b> : Rendement en acides gras et insaponifiables.....	23
<b>Figure 13</b> : Les résultat de quelque tests phytochimique .....	24
<b>Figure 14</b> : Variation de l'intensité de la couleur du DPPH en fonction de la concentration..	26
<b>Figure 15</b> : Les CI50(mg/ml) des huiles essentielles , extrait d'hydrolat et huile fixe de <i>xanthium strumarium</i> .....	27
<b>Figure 16</b> : CI50 des extraits et des insaponifiables de <i>Xanthium strumarium</i> .....	29
<b>Figure 17</b> : Les résultats de la méthode de FRAP.....	29
<b>Figure 18</b> : Effet protecteur de l'hydrolats vis-à-vis de souche fongique de <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i> .....	32
<b>Figure 19</b> : Effet protecteur de l'hydrolat vis-à-vis de souche fongique <i>Penicillium</i> 02 .....	33
<b>Figure 20</b> : Effet protecteur de l'hydrolats vis-à-vis de souche fongique <i>Trichoderma</i> : .....	33



## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1 :</b> Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de <i>Xanthium strumarium</i> .....	21
<b>Tableau 2 :</b> Rendement des extraits huileux.....	23
<b>Tableau 3 :</b> Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits éthanoliques des fruit de <i>Xanthium strumarium</i> par infusion, macération et décoction.....	24
<b>Tableau 4 :</b> Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits éthanoliques des feuilles de <i>Xanthium strumarium</i> obtenus par infusion, macération et décoction.....	25
<b>Tableau 5 :</b> Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits aqueux des fruit et des feuille de <i>Xanthium strumarium</i> préparés par infusion et maciration .....	25
<b>Tableau 6 :</b> Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits de <i>Xanthium strumarium</i> .....	31
<b>Tableau 7 :</b> Concentrations minimales inhibitrice de <i>Xanthium strumarium</i> .....	32

### Introduction

Pendant longtemps, les plantes aromatiques et médicinales ont joué un rôle très important en tant qu'agents thérapeutiques, présentant un intérêt à la fois pharmacologique et économique, en raison de leurs applications dans des secteurs très divers, principalement en aromathérapie pour leurs propriétés curatives, ainsi qu'en cosmétique, en parfumerie et dans l'agroalimentaire pour leurs propriétés organoleptiques et antioxydantes.

Dans les pays en développement, en raison de contraintes économiques, près de 80% de la population dépend encore des extraits de plantes en tant que source de remèdes naturels. Il est à noter que l'utilisation excessive et répétée de produits pharmaceutiques dans la médecine moderne a entraîné la sélection des souches microbiennes résistantes aux antibiotiques, réduisant ainsi le nombre d'antibiotiques disponibles pour traiter les infections cliniques [ 1], par conséquent, l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques comme source de nouveaux agents thérapeutiques continue d'être un élément central des systèmes de soins de santé traditionnels [ 2 ].

Le potentiel floristique algérien, représente une richesse inestimable, tant par la biodiversité qui le caractérise, que par les immenses opportunités de développement durable qu'il pourrait offrir aux générations futures. Les composés phytochimiques des plantes peuvent servir de précurseurs ou de composés de base pour le développement de nouveaux produits pharmaceutiques [3], [4]. Depuis quelques années, un intérêt accru s'est porté sur des molécules d'origine naturelle ayant montré des propriétés antibactériennes sur les extraits aromatiques et les huiles essentielles. Ces dernières sont des produits obtenus à partir d'une matière première végétale, par entraînement à la vapeur, par des procédés mécaniques ou encore par distillation sèche.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à une plante envahissante de la famille des Astéracées du genre *Xanthium* , il s'agit de *Xanthium strumarium L.* . Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle chinoise, japonaise et dans d'autres pays tel que le Népal et l'Inde, pour le traitement de plusieurs maux [5].

### **Objectif :**

L'objectif principal de cette étude est la valorisation de *Xanthium strumarium* en Algérie par la production de son huile essentielle, l'analyse de sa composition chimique et l'étude de son activité biologique.

Notre travail est divisé en trois chapitres ; nous aborderons dans le **premier chapitre** : une recherche bibliographique portant sur :

Une description botanique sur le *Xanthium strumarium* ainsi que les travaux antérieurs effectués sur cette espèce.

Les diverses techniques d'extraction des HE, leur principaux domaines d'application ainsi que les méthodes d'analyses

Le **deuxième chapitre**, décrit le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude qui porte sur : L'obtention des huiles essentielles et leurs analyses par CPG et CPG/SM ;

Les tests phytochimiques effectués sur les extraits aqueux et éthanolique de la plante ;

L'extraction des acides gras et des insaponifiables.

L'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits, par deux méthodes : le piégeage du radical libre DPPH et la réduction de fer.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne et antifongique.

Dans Le **troisième chapitre** nous présenterons les résultats obtenus à travers les études chimiques et biologiques et leur discussion.

On termine par une conclusion générale qui résumera l'ensemble du travail réalisé.

## Chapitre I : Description botanique et chimique de la plante :

### I. La famille des Astéracées :

Les Astéracées (anciennement appelées Composées) sont une grande famille appartenant aux dicotylédones, C'est l'une des plus importantes familles des Angiospermes répartie en 1700 genres et plus de 26000 espèces décrites.

Les Astéracées peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces. Dans la majorité des cas, ce sont des plantes herbacées, rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et parfois, plantes charnues. L'aspect de l'appareil végétatif est trop variable pour la caractérisation des Astéracées sur ce seul critère. En revanche, les inflorescences de cette famille est très caractéristiques : le capitule. Le fruit est un akène [3]. Une des propriétés de cette famille est sa richesse, en composés naturels divers, en effet, on y trouve, les terpénoïdes, les flavones, les flavonols et des alcaloïdes [4]. plusieurs études ont montré que cette famille est largement utilisée en médecine traditionnelle et en phytothérapie [6].

### II-Présentation de l'espèce *Xanthium strumarium* :

Le genre *Xanthium* appartient à la famille des Astéracées et comprendrait plusieurs espèces [7]. Dans notre étude nous nous intéressons à l'espèce *Xanthium strumarium*.

Nom commun : Lampourde, lampourde aux écrouelles, lampourde antiscrofuleux, lampourde glouteron, nommés par les anglophones «Rough cocklebur» [8].

Nom latin: son nom *Xanthium* vient du latin et du grec «*Xanthos*» ou il désigne déjà le genre, mais aussi la couleur jaune blond faisant référence à ces propriétés tinctoriales qui étaient autrefois employés pour teindre les cheveux en blond, et son nom commun lampourde vient du latin «*Lapa*» qui désigne la bardane un nom commun qui date du 16ème siècle d'origine provençale «*Lapardo*» en oxidant «*lampardo*» [1].

Nom vernaculaire arabe : (schabita) شبيطة

### II.1-Classification systématique de l'espèce :

Règne :	Végétale
Embranchement:	Tracheobionata
Superdivision:	Spermatophyta
Division:	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida-dicotyledones
Sous Classe :	Asteridae

Ordre :               Asterals  
Famille:             Astéracées  
Genre :              *Xanthium*  
Espèces :            *Xanthium Strumarium* [6]

## II-2. Description botanique :

C'est une plante herbacée de 0,20 à 1,20 m, à feuilles vertes, triangulaires (10 à 15 cm), dentées, la base peut être en forme de cœur (figure 1). Les inflorescences sont verdâtres de deux sortes : au sommet des tiges capitules globuleuses de fleurs tubuleuses, sur les rameaux latéraux groupes de deux fleurs sans corolle dans un involucre à bractées crochues [9]. Les fleurs sont petites et vertes (figure 2). Le fruit : est une capsule ovale recouverte par des épines, et terminée par deux becs forts et recourbés, chaque capsule renferme deux graines. La racine est pivotante, solide, et branchue, et quelque peu boisée [16]. Les tiges sont solides, rigides, ont une forte odeur [8].



**Figure 1 :** Les feuilles et la plante du *Xanthium strumarium* .



**Figure 2 :** fruit et fleurs du *Xanthium strumarium*

## II-3. Origine et habitat :

La lampourde glouteron est assez commune dans une grande partie de l'Europe, en Asie occidentale, Afrique du nord, naturalisée en Amérique du nord, mais plusieurs espèces sont originaires d'Amérique ou d'Asie [8].

La plante *Xanthium strumarium* est souvent trouvée dans les régions ouvertes, particulièrement inondée, avec bonne humidité du sol [10]. Elle se trouve aussi dans une large variété d'habitat, fréquente dans les bords de la route et sur les champs agricoles [11]. *Xanthium strumarium* grandit sur une grande gamme de sols « sables ou argiles lourds » et sols riche en humidité [12].

#### **II-4.Utilisation en médecine traditionnelle :**

La médecine traditionnelle chinoise et japonaise utilise encore de nos jours le *X. strumarium* en fumigation pour traiter les sinusites urticaires et en infusion contre les douleurs articulaires [13].

**En Cuba** la plante *Xanthium strumarium* est utilisée avec d'autre plante pour traiter plusieurs maladies, ainsi, la mixture des parties aériennes des trois plantes *Xanthium strumarium* , *Ocimum tenuiflorum* , *Stachytarpheta jamaicensis* a été utilisée pour traiter l'insuffisance rénale [14].

**En Inde**, les racines et les feuilles de *Xanthium strumarium* sont utilisées pour traiter le cancer et certaines tumeurs [15].

**Au Népal**, les fruits sont utilisés pour traiter les conjonctivites [16].

#### **Autres usages :**

L'huile des graines du *Xanthium strumarium* était utilisée comme combustible pour les lampes. Les feuilles quant à elles sont une source de tanins, les anciens se servaient de cette plante pour teindre leurs cheveux en blond.

#### **II-5. Toxicité de la plante :**

Le *Xanthium strumarium* est **toxique chez les animaux** (les porcs, les moutons ou les vaches) [17]. L'intoxication peut survenir après une germination massive des graines [18]. .

**Toxicité chez l'homme :** La lampourde glouteron provoque des réactions allergiques comme la dermatite de contact chez les personnes sensibles [16] et [19].

Les parties de la plante concernée par la toxicité sont les graines, les feuilles, et les cotylédones [20].

#### **II-6.Etudes antérieurs sur les huiles essentielles de *Xanthium strumarium* :**

Nous ne dénombrons que peu d'articles sur les huiles essentielles du genre *Xanthium*. A notre connaissance seulement cinq études ont été réalisées à ce jour concernant l'espèce *Xanthium strumarium*, les huiles essentielles obtenues à partir de *X. strumarium* du Pakistan, Brésil, d'Iran (deux études) et d'Inde.

Ces travaux décrivent la composition chimique de l'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes ; Ainsi nous pouvons classer les échantillons en groupes sur la base de leur composition chimique :

L'huile essentielle des feuilles de *Xanthium strumarium* L. du **Pakistan** a été analysée par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse [21]. Les principaux composants de l'huile étaient le  $\beta$ -caryophyllène (17,53%), l' $\alpha$ -cadinol (6,66%), le spathuléol (6,09%), le limonène (5,66%) et le 1,3,5-triméthyl-2 [2-nitroallyl] benzène. (3,29%). Le Phytol (2,42%), l' $\alpha$ -muurolène (2,08%) et le copaène (1,47%) étaient présents en quantités appréciables.

Dans cette étude, le composant principal de l'huile essentielle s'est révélé être le  $\beta$ -caryophyllène (17,53%), ce qui n'était pas conforme à d'autres résultats antérieurs dans lesquels  $\beta$ -guaïène [22] ,[23] et limonène [24] et [25] étaient les principaux composants. Il est intéressant de noter que la  $\beta$ -guaïène, qui avait été rapportée comme constituant majoritaire de l'huile des feuilles [22] ,[23] s'est révélée absente dans cette étude. Le limonène (5,66%) était présent à faible concentration par rapport aux études précédentes [22] et [25]. La concentration de Phytol (2,42%) était en accord avec une étude précédente [24].  $\alpha$ -cadinol (6,66%), spathuléol (6,09%), 1,3,5-triméthyl-2 [2nitroallyl] benzène (3,29%),  $\alpha$ -muurolène (2,08%), copaène (1,47%) et E, E, Du Z-1,3,12-nonadécatriène-5,14-diol (0,27%) a été signalé pour la première fois dans cette étude à partir de l'huile essentielle de *X. strumarium*.

les principaux composants de l'huile essentielle extraite des feuilles de *X. strumarium* d'**Iran** [26] étaient le *cis* - $\beta$ -guaïène (34,2%), le limonène (20,3%), le bornéol (11,6%), l'acétate de bornyle (4,5%), le  $\beta$ -cubebène (3,8%). , sabinène (3,6%), phytol (3,1%),  $\beta$ -sélinène (2,8%), camphène (2,2%),  $\alpha$ -cubebène (2,4%),  $\beta$ -caryophyllène (1,9%),  $\alpha$ -pinène (1,8%) et la xanthinine (1,04%).

La composition chimique des huiles essentielles des tiges et des feuilles de *X. strumarium* d'**Iran** [27] sont différentes quantitativement et qualitativement. Vingt-deux composés ont été identifiés dans l'huile des tiges de la plante, représentant 86,4% de la composition totale de l'huile. Les principaux composés étaient l'acétate de bornyle (19,5%), le limonène (15,0%) et le  $\beta$ -sélinène (10,1%). Le bornéol (7,9%), le terpinène-4-ol (5,4%) et l' $\alpha$ -cadinol (5,3%) .

Dans l'huile des feuilles, 28 composés ont été identifiés, soit 85,2% de la composition totale de l'huile. Les principaux composés étaient le limonène (24,7%) et le bornéol (10,6%), tandis que le  $\beta$ -cubebène (6,3%), l'acétate de bornyle (5,9%) et le sabinène (4,2%) étaient retrouvés en grande quantité.

L'huile essentielle des feuilles de *X. strumarium* d'**Inde** est riche en monoterpènes hydrocarbonés [27]; chemotypè par le limonène.

L'huile essentielle des feuilles séchées s'est révélée contenir du limonène à 35%, du p-cymène à 5%, du  $\beta$ -caryophyllène à 6%, du terpinolène à 7.3% et de  $\alpha$ -ionone 10.9% et d-conveol 25%.

L'huile essentielle des feuilles de *X. strumarium* du **Brésil** est riche en sesquiterpènes hydrocarbonés [23] avec comme composé majoritaire le  $\beta$ -guaiène (79,6%)

### **III. Méthodes d'extractions et Analyses chimiques :**

#### **III.1. Les huiles essentielles :**

##### **Définition :**

Les métabolites secondaires constituent un ensemble de molécules qui ne sont pas strictement nécessaires à la survie d'une plante, Il s'agit majoritairement de molécules de taille et de masse faibles comparées aux molécules du métabolisme primaire (glucides, lipides et acides aminés). Elles sont majoritairement à la source d'odeurs jouant le rôle à la fois de répulsif envers les prédateurs et d'attractif de pigments permettant de capter le rayonnement solaire mais aussi de protéger la plante contre ce rayonnement.

Parmi les métabolites secondaires, les huiles essentielles; Il s'agit de mélanges naturels volatils complexes de plantes ou d'arbres aromatiques, obtenu par distillation , concentrés et hydrophobes offrant une forte concentration en principe actif mais en faible quantité vis-à-vis la masse du végétale.[28] Ces extraits sont liquides, mais, contrairement aux huiles végétales, elles ne sont pas grasses puisqu'elles s'évaporent.

#### **III.2. Principaux domaines d'applications des huiles essentielles :**

La composition chimique des huiles essentielles confère à ces extraits des propriétés intéressantes, leurs utilisations sont en expansion dans de nombreux domaines industriels, que ce soit dans les industries cosmétiques et pharmaceutiques, les secteurs de la santé, ou bien comme insecticides naturels.

\*En médecine : plusieurs huiles essentielles ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire et la prévention des caries. Elles sont également utilisées pour les massages pour leurs propriétés lipophiles qui leur permettent de pénétrer dans la peau [29]. Ces mélanges complexes de diverses molécules (alcools, terpènes, cétones, aldéhydes, etc.), sont largement utilisés pour traiter certaines maladies (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux) [29].



\*En industrie alimentaire, elles sont utilisées pour avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure, et pour réduire la prolifération des micro-organismes. Les huiles essentielles sont utilisées dans les aliments comme conservateurs antioxydant et antimicrobien [29].

\*En alimentation : des assaisonnements, des boissons, des colorants [30], et des composés aromatiques [31]. Les épices et les herbes aromatiques utilisés dans l'alimentation sont pour une bonne part responsable des plaisirs de la table [1]. Elle sont considérées aussi comme condiments et aromates [1].

\*En agriculture : pour lutter contre les insectes et les nématodes par exemple [32].

\*En cosmétique : des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produit d'hygiène [30].

### **III.3. Techniques d'extractions des huiles essentielles :**

De nombreuses revues décrivent les limites et les avantages des techniques généralement mises en œuvre pour l'extraction des composés volatils des plantes.

Pour la production des huiles essentielles, l'hydrodistillation et l'extraction à la vapeur sont les techniques de référence. L'extraction à la vapeur est un procédé plus utilisé dans les industries, tandis qu'à l'échelle du laboratoire on préfère l'hydrodistillation réalisée à l'aide d'appareillage de type Clevenger.

**Hydrodistillation de type Clevenger :** L'hydrodistillation de type Clevenger est une technique d'extraction très ancienne dont le solvant est l'eau [33]. L'obtention de l'huile essentielle à partir de la plante peut se résumer en trois étapes : l'hydro diffusion, la co-distillation et la coalescence.

On porte un mélange d'eau et de plante à ébullition : les substances odorantes (contenant l'extrait) se vaporisent en se mélangeant avec de la vapeur d'eau. Puis, on condense les vapeurs pour récupérer le distillat constitué d'une phase aqueuse (légèrement parfumée), *l'hydrolat*, et d'une phase organique contenant *l'extrait* très parfumé, également, appelée *huile essentielle*.

## **IV. Méthode d'analyse des huiles essentielles :**

### **IV.1. Analyse par CPG :**

L'analyse chimique telle que nous la connaissons aujourd'hui ne pourrait pas exister sans chromatographie en phase gazeuse, elle domine nos efforts d'analyse dans des domaines aussi

divers que l'alimentation, les arômes et les parfums, la pétrochimie, les études pharmaceutiques et environnementales. La GC a fortement contribué au développement de la science des huiles essentielles à la fois de la recherche académique et du point de vue industriel (contrôle de qualité, nouvelles sources de composés odoriférants).

C'est une technique d'analyse quantitative qui fournit d'une part, le pourcentage relatif de chaque signal par rapport à l'ensemble des signaux du mélange analysé et qualitative sur la base des temps de rétention d'autre part [33].

### **III.2. Couplage CPG/spectrométrie de masse « SM » :**

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse, pour la séparation des composés d'un échantillon, et de la spectrométrie de masse, pour la détection et l'identification des composés en fonction de leur rapport masse sur charge des différents constituants d'un mélange complexe [34].

## **V. Les polyphénols:**

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, ils sont présents dans toutes les parties des végétaux : racines, tiges, fleurs, fruits et feuilles [35] les polyphénols sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. [36] ,[37]. En effet ,ces composés phénoliques constituent le groupe le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus [38]. Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxy cinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines [39][35].

## CHAPITRE II : Matériel et méthodes

### I. Provenance et identification de la plante :

La plante de *Xanthium strumarium* a été collectée au mois de janvier, février et mars 2019 dans la wilaya de Ain Temouchent dans la région de Rachgoun .L'identification de cette dernière a été faite par le Professeur **Noury BENABADJI** du laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels de l'Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.

### II. Procédés d'extraction des huiles essentielles :

Dans notre étude, nous avons utilisé l'une des principales techniques de productions des huiles essentielles nommée : hydrodistillation de type Clevenger .

Ainsi, la matière végétale est introduite dans un ballon de 6L après avoir été coupée en petits morceaux, avec une quantité d'eau nécessaire pour l'immerger, le réfrigérant est mis en fonction avec le réglage du débit d'eau ,la mise en marche du chauffage se fait à une douce ébullition pendant 5 à 6h ,l'extraction commence lorsque la première goutte tombe dans le collecteur, les substances odorantes (contenant l'extrait) se vaporisent en se mélangeant avec de la vapeur d'eau , on obtient donc une phase organique « huile essentielle » qui est séparée de l'eau aromatique représentant « l'hydrolat ». L'huile essentielle ainsi obtenue est mise dans des piluliers en verre ambré dans un réfrigérateur à une température de 4c°.



**Figure 3:** Montage d'hydrodistillation de type Clevenger.

### III.Extraction de l'hydrolat :

L'extrait d'hydrolat de *Xanthium strumarium* a été obtenu, en récupérant le premier litre d'eau provenant de l'hydrodistillation puis extrait trois fois avec 200 ml d'éther diéthylique. La phase organique a été séchée sur MgSO<sub>4</sub>, puis évaporée en donnant une huile jaunâtre. De même que pour les huiles essentielles, l'extrait d'hydrolat est conservé dans un pilulier en verre ambré à 4°C jusqu'à analyse.

### IV. Dégraissage du matériel végétal :

Les matières grasses sont extraites à l'aide d'un solvant organique, l'éther de pétrole (dans notre cas), pour cela nous avons effectué trois méthodes: l'extraction dans un montage de type soxhlet, la macération à chaud et la macération à froid.

#### L'extraction dans un montage de type soxhlet :

L'opération consiste à introduire dans un siphon de 100 mL une cartouche de papier filtre contenant 20g de matière végétale coupée finement ou mise en poudre, cet extracteur est placé sur un ballon contenant 300 ml d'éther de pétrole. Le solvant est porté à ébullition, les vapeurs de ce dernier passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le siphon, faisant ainsi macérer la matière végétale dans le solvant. Celui-ci, condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à ce que le solvant atteigne un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute.

Ce cycle peut être répété plusieurs fois (plusieurs cycles), L'extrait obtenu est filtré et évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu, sous forme d'un extrait huileux, représente généralement la matière grasse. [40]



**Figure 4 :** Montage d'un extracteur de soxhlet.

**✚ La macération à froid :**

Ce procédé consiste à immerger la matière végétale dans un solvant froid pour en extraire les composés solubles. Pour cela 50 g de matière végétal à été immergé dans 150 ml d'éther de pétrole pendant 8 jours [41].

**✚ La décoction (macération à chaud) :**

Pour réaliser une décoction, les racines et les fruits de *Xanthium strumarium* sont coupées séparément puis placés dans l'éther de pétrole. Le mélange est porté à ébullition sous reflux pendant 8 h. Après refroidissement on filtre et on évapore le solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif.

**V. Préparation des extraits aqueux et éthanolique :**

Les extraits aqueux et éthanoliques ont été préparés de trois manières différentes, afin de comparer les rendements pour chaque extraction :

➤ **Infusion :**

Dans un erlenmeyer, 150mL de solvant mis a ébullition (eau ou éthanol) a été versé sur 10g de matière végétales; le mélange est laissé sous agitation magnétique jusqu'à refroidissement complet. À la fin de l'opération, l'extrait est récupéré par filtration et évaporation du solvant.

➤ **Macération:**

Dans un erlenmeyer, 10 g de matière végétale a été mise avec 150mL de solvant (eau ou éthanol) à une température ambiante, pendant 24h; À la fin de l'opération, l'extrait est récupéré par filtration et évaporation du solvant.

➤ **Décoction :**

Une masse de 10g de matériel végétal avec 150 ml de solvant (éthanol ou eau) ont été mis dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et placés dans un chauffe ballon en présence de quelques pierres ponce; le mélange est chauffé à une température d'ébullition stable, pendant 1 heure .Après refroidissement, l'extrait est récupéré par filtration et évaporation du solvant.

**VI. Détermination des rendements en huiles essentielles et les huile fixe :**

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle (ou l'huile fixe) obtenue et la masse du matériel végétal que nous avons utilisé.

Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$Rn\% = (m_n / m_n') \times 100$$

**Rn** = rendement en huile essentielle en %.

**m<sub>n</sub>** =masse d'huiles essentielles récupérées en gramme (g).

**m<sub>n</sub>'** = masse de la matière végétale en gramme (g) .

## VII. Extraction des acides gras et des insaponifiables :

### VII.1. Saponification et extraction des insaponifiables

L'hydrolyse des huiles végétales peut être réalisée dans un milieu alcalin par le KOH en chauffant. Cette réaction appelée « saponification » permet la formation de sels d'acides gras. Pour cela, 2,5 g d'extrait d'éther de pétrole (extrait lipidique) est saponifié avec 50 ml de solution d'hydroxyde de potassium méthanoïque 2N (50 ml méthanol /5.6g de KOH), pendant 1h 30 sous reflux. Après refroidissement, on ajoute 20 ml d'eau et 2x100ml d'éther diéthylique ; les extraits sont rassemblés et lavés trois fois avec 50 ml d'eau déminéralisée. Une fois la phase organique séchée sur  $MgSO_4$  et filtrée, elle est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif.



**Figure 5** : Extraction des insaponifiables.

### VII.2. La libération des acides gras :

La solution savonneuse aqueuse obtenue précédemment est acidifiée avec du HCL 2N, jusqu'à précipitation des acides gras (pH= 2). Les acides gras libres sont extraits à l'éther diéthylique (2x100 mL) et séchés sur  $MgSO_4$ . Après évaporation de l'éther diéthylique, les acides gras libres sont pesés.



**Figure 6 :** Précipitation des acides gras (pH =2).

**Calcul du rendement :**

Le rendement en acides gras (ou insaponifiables) est défini comme étant le rapport entre la masse des acides gras (ou insaponifiables) obtenus par rapport à la masse de l'huile fixe.

$$R = (P_0/P) \times 100 \text{ Où}$$

**P :** le poids en gramme des acides gras obtenus.

**p<sub>0</sub> :** le poids de l'huile fixe.

**VIII. Tests phytochimiques :**

Les extraits éthanolique et aqueux obtenus ont été soumis à divers tests phytochimiques en vue de mettre en évidence les différents métabolites secondaires présents dans les fruits et les feuilles de *Xanthium strumarium* par des réactions de coloration, de précipitation et des observations sous lumière ultra-violette [42]. Ces tests ont été menés selon les techniques de caractérisation qualitatives.

**Les alcaloïdes :**

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl (1%) et ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5ml de réactif de Wagner dans le second tube. Un test positif est révélé par la présence de précipité ou turbidité.

**1. Réactif de Mayer:**

On dissout 1.358g de HgCl<sub>2</sub> dans 60 mL d'eau et 5 g de KI dans 10 mL d'eau. On mélange, ensuite, les deux solutions et on ajuste le volume total à 100 mL d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif une trouble plus un précipité blanc.

**2. Réactif de Wagner:**

On dissout 2g de KI et 1.27 g de I<sub>2</sub> dans 75 mL d'eau, la solution ainsi obtenue est ajoutée à 100 mL d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

▪ **Les composés polyphénoliques :**

✚ **Les tanins :**

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> (1%). La présence des tanins est indiquée par une coloration verte ou bleu-noire.

✚ **Les flavonoïdes :**

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune indique la présence des flavonoïdes.

✚ **Les coumarines :** Fluorescence UV

Dans deux tubes à essai, introduire 1ml de l'extrait à analyser, prendre le premier comme témoin et ajouter à l'autre 0,1 ml de NH<sub>4</sub>OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines

▪ **Les saponines :** test de mousse

Dans un tube à essai, introduire 10 ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm de mousse indique la présence de saponines.

▪ **Amidon:**

Traiter 5 mL de l'extrait aqueux avec le réactif d'amidon. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée.

**Réactif d'Amidon:**

Une solution de 1.2 g d'iode dans 50 mL d'eau distillée contenant 2.5 g d'iodure de potassium est chauffée pendant 5 min, puis diluée jusqu'à 500 mL. On chauffe 5mL de la solution à tester avec 10 mL d'une solution de NaCl saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition et on ajoute le réactif d'amidon. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée.

**IX. Conditions CPG/FID de Corse**

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Clarus 600 (Walton, MA, Etats Unis), équipé d'un injecteur split/splitless, de deux colonnes capillaires Rtx-1 (poly diméthyl-siloxane, 60 m x 0,22 mm



d.i., épaisseur du film de phase stationnaire : 0,25  $\mu\text{m}$ ) et Rtx-WAX (polyéthylène glycol, 60mx 0,22 mm d.i., épaisseur du film de phase stationnaire : 0,25  $\mu\text{m}$ ) et de deux détecteurs à ionisation de flamme. Le gaz vecteur utilisé est le dihydrogène, la pression en tête de colonne est de 25 psi avec un débit de 1 ml/mn, la température de l'injecteur et des détecteurs est de 280°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C à 2°C/mn puis en un palier de 35 mn à 230°C. L'injection se fait en mode split 1/50. Le volume injecté des échantillons est de 0,2  $\mu\text{l}$ . Pour chacun des composés, les indices de rétention polaire et apolaire sont calculés par extrapolation linéaire à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane.

### X. Conditions (CPG/SM) de Corse :

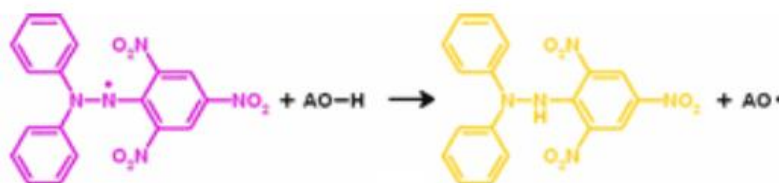
Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem XL (Walton, MA, Etats Unis), doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i. ; épaisseur du film de phase stationnaire : 0,25  $\mu\text{m}$ ) polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), couplées à un détecteur de masse Perkin Elmer Turbo Mass. Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70eV. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80. La quantité injectée est de 0,2  $\mu\text{L}$ . Les spectres de masse obtenus par impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse 35-350 Da. La température de la source est de 150°C. Les conditions chromatographiques (programmation de température, gaz vecteur, etc.) sont identiques à celles décrites précédemment.

### XI. Evaluation de l'activité antioxydante :

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles, hydrolat, huile fixe, a été effectué par deux méthodes : le piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer FRAP.

#### XI.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) :

L'évaluation de l'activité antioxydante a été effectuée par le test DPPH. Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable qui présente une absorbance dans le visible. Sa couleur violette foncée se transforme en jaune lors de sa réduction par une substance donneuse de proton. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents à donner des protons.



**Protocole :** la solution DPPH a été préparée à partir de 0.006 mg de DPPH solubilisé dans 100 mL de méthanol. Les échantillons (huile essentielle, hydrolat, huile fixe ...) on été préparés par

dissolution dans le même solvant (méthanol). A 1mL de chaque extrait de différentes concentrations (choisie après des essais préliminaires), on ajoute 1ml de la solution méthanolique du DPPH préparée. Le mélange est conservé dans le frigo à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. Les absorbances sont mesurées à une longueur d'onde de 517nm par un spectrophotomètre UV contre un blanc contenant du méthanol et le contrôle négatif contenant 1mL de méthanol et 1mL de DPPH.

Le pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire est estimé selon l'équation ci-dessous:

$$\text{AAR \%} = \left[ \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillons}}{\text{Abs contrôle}} \right] \times 100$$

Dans les deux méthodes de l'évaluation de l'activité antioxydante (DPPH - FRAP), l'acide ascorbique et le BHT sont employés autant que des références et aux mêmes conditions expérimentales.

Calcul des CI50 : La concentration inhibitrice de 50% est défini comme étant la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radicale libre DPPH (DPPH•). Les CI50 sont calculées graphiquement par les regréassions linéaires : pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des échantillons testés.

### **XI.2. Méthode de la réduction du fer (FRAP) :**

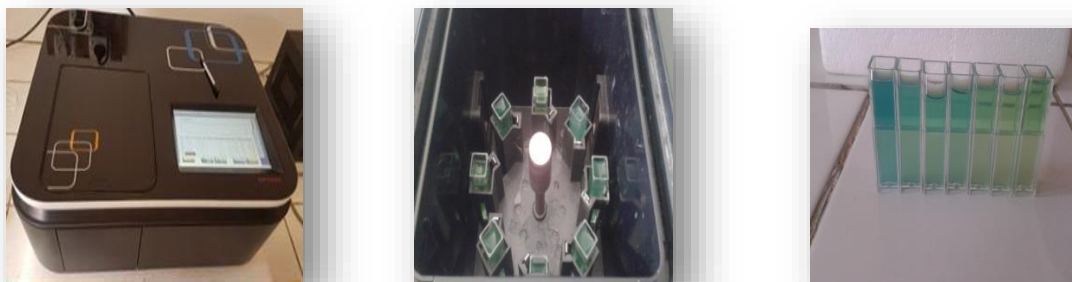
L'activité réductrice du fer des différents extraits préparés est déterminée selon la méthode décrite par [43] basée sur la réduction du  $\text{Fe}^{3+}$  de couleur jaune présent dans le complexe  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  aux ions ferreux  $\text{Fe}^{2+}$  de couleur bleu par un antioxydant .ce changement est mesuré par spectrométrie à 700 nm.

#### **Protocole :**

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2.5 ml d'une solution tampon phosphate 0.2 M (pH 6,6) et 2.5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%. L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C, pendant 20 minutes. Après incubation, 2.5 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 tpm pendant 10 minutes ; 2.5 ml du surnageant sont mélangés à 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de  $\text{FeCl}_3$  fraîchement préparé à 0,1%. La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm contre un blanc préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant dans lequel nous avons fais les dilutions ce qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre).

Le contrôle positif est une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. L'augmentation de

l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés



**Figure 7 :** Spectrophotomètre et Changement de couleur de nos échantillons.

## **XII. Evaluation de l'activité antibactérienne :**

L'activité antibactérienne a été évaluée vis-à-vis 14 souches bactériennes de référence en utilisant la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé et par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur milieu solide. Ces souches sont disponibles au niveau du laboratoire antibiotique antifongique : physico-chimie, synthèse et activités biologiques (LAPSAB), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Science de la Terre et de l'Univers, Université Abou BekrBelkaid – Tlemcen.

### **XII.1.Méthode de diffusion des disques sur milieu solide :**

A partir d'une culture jeune de 18 à 24 h sur milieu gélose nutritif, 3 à 5 colonies bien distinctes ont été prises puis mises dans l'eau physiologique 0.9%. La suspension bactérienne a été ajustée par la suite au 0,5 Mc Farland à l'aide d'un spectrophotomètre à 625nm qui correspond à une densité optique de 0.08-0.012 ( $10^8$  UFC/mL).

Des disques stériles de 6mm de diamètres ont été imprégnés par un volume de 10 $\mu$ L des extraits avec une dose finale de 512  $\mu$ g/disque puis transférés sur une boîte déjàensemencée à l'aide d'un écouvillon sur milieu Mueller-Hinton. Après une incubation pendant 24 h à 37°C, la mesure des diamètres des zones d'inhibition a été effectuée en prenant la moyenne de trois mesures différentes.

### **XII.2.Méthode des dilutions sur milieu solide :**

Cette étude consiste à déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits qui ont seulement une activité par la méthode des disques.

19mL de Mueller Hinton ont été mélangés avec 1mL des différents extraits de *Xanthium strumarium* avec des concentrations allant de 0,01 à 5 mg/mL. Le mélange a été transféré par la suite dans des boîtes de Pétri stériles. Après solidification du mélange, un ensemencement

par dépôt d'un spot qui contient  $10^4$  UFC/mL a été effectué. Les boîtes de Pétri ont été séchées incubées pendant 24h à 37°C. Après incubation, la détermination de la CMI a été effectuée à l'œil nu dans laquelle aucune croissance visuelle n'est décelée.

Chaque test a été répété trois fois.

### **XIII. Activité antifongique *in vivo* :**

Le Procédé selon [44] a été utilisé et légèrement modifié afin de déterminer les effets de l'hydrolat sur des blessures inoculés (activité protectrice).

Les tomates ont été achetées auprès d'un marché et sélectionnées par l'uniformité de taille, l'apparence, la maturité et l'absence de défauts physiques. Pour déterminer l'effet protecteur de l'hydrolat sur les fruits avec une plaie inoculés.

#### **Protocole expérimental**

Les fruits de tomate sélectionnées pour les expériences ont été lavés à l'eau, trempé dans de l'éthanol (70%) pendant 2 minutes, puis rincé deux fois avec de l'eau distillée (10 min chacun) et séché à l'air les fruits de tomates ont été trompé et lavés directement avec l'hydrolat. Les surfaces des tomates stérilisées ont été blessées avec un clou à une profondeur uniforme de 3 mm. Les inoculum fongiques contenant  $10^6$  spores/mL ont été préparées par raclage de la matière de spores à partir de la surface des colonies avec un coton-tige humide. Les tomates sont ensuite mises dans des boîtes en plastique, bien fermées et stockés à température ambiante (24°C) pendant 20 jours.



**Figure 8 :** préparation des tomates pour les tests antifongique.

## Chapitre III : Résultats et discussion : Partie chimique.

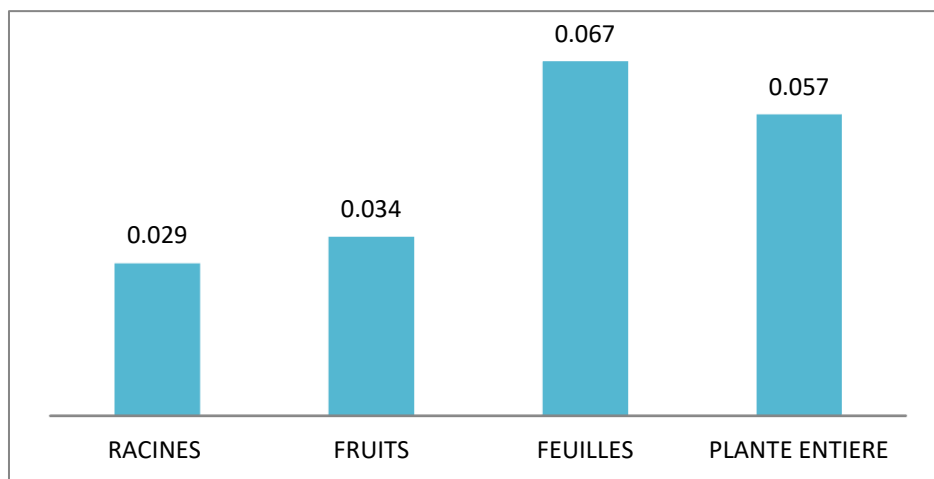
### I. Lieu de récolte et rendement :

L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger durant 5 heures. La plante de *X. strumarium* a été récoltée au mois de décembre janvier février et mars, dans la wilaya de Tlemcen plus précisément dans la région de Rachgoun à une longitude de 1°28` Ouest et une latitude de 35°17` Nord.



**Figure 9** : lieu de récolte (Rachgoun).

Les huiles essentielles produites de tous les organes (racines, feuilles, fruits) sont de couleur jaune pâle ; les rendements calculés par rapport à la matière végétale sèche sont représentés dans la figure 10.



**Figure 10** : Rendements des huiles essentielles en fonction des organes

### II. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *X. strumarium* :

L'huile essentielle des feuilles de *Xanthium strumarium* L. a été analysée par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse. Les résultats sont regroupés dans le tableau 1

**Tableau 1** : Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Xanthium strumarium*

Composition chimique	RI pol	RI th	RI apol	% D'identification
alpha pinene	1034	931	939	4,9
Camphène	1079	941	952	1,0
Sabinène	1129	964	974	3,3
beta pinène 1	1119	970	980	0,4
beta pinène 2			989	0,5
Limonène	1211	1020	1033	41,5
alpha campholènal	1481	1105	1091	0,1
trans pinocarveol			1115	0,4
trans verbenol	1676	1129	1126	0,1
Pinocarvone	1558	1136	1130	0,1
Borneol	1698	1148	1149	1,1
Myrtenol	1789	1177	1174	0,1
trans carveol	1832	1196	1204	0,2
alpha copaene	1488	1379	1387	0,3
beta bourbonene	1515	1385	1394	0,4
beta cubebene	1548	1387	1397	3,2
trans caryophyllene	1591	1424	1429	2,2
alpha humulene	1665	1456	1462	1,0
germacrene D	1717	1480	1489	14,2
cis Muurolo-4(15),5-diene			1498	0,8
bicyclogermacrene	1706	1494	1503	0,3
delta cadinene	1764	1516	1528	3,2
alpha calacorene	1905	1531	1542	0,2
Spathulenol	2119	1557	1557	3,2
Globulol	2074	1580	1582	2,4
aromadendrene oxide	2002	1617	1608	0,3
Cubenol	2013	1632	1627	0,7
beta eudesmol	2219	1648	1637	0,2
alpha cadinol	2232	1645	1642	0,2
calamenene-10-alpha-ol			1659	1,5
eudesma-4(15),7-dien-1-beta-ol	2347	1672	1665	0,7
cis -14-nor muurolo-5en-4-one			1716	0,5
14-hydroxy-alpha-muuroloene	2531	1758	1760	0,2
2-pentadecanone-6,10,14-trimethyl			1842	0,67
Phytol				3,2
TOTAL	-	-	-	90,07
Composés hydrocarbonés				77,4
Monoterpènes hydrocarbonés				51,6

Sesquiterpènes hydrocarbonés	25,8
Composés oxygénés	12,67
Monoterpènes oxygénés	2,1
Sesquiterpènes oxygénés	7,37
Diterpènes oxygénés	3,2

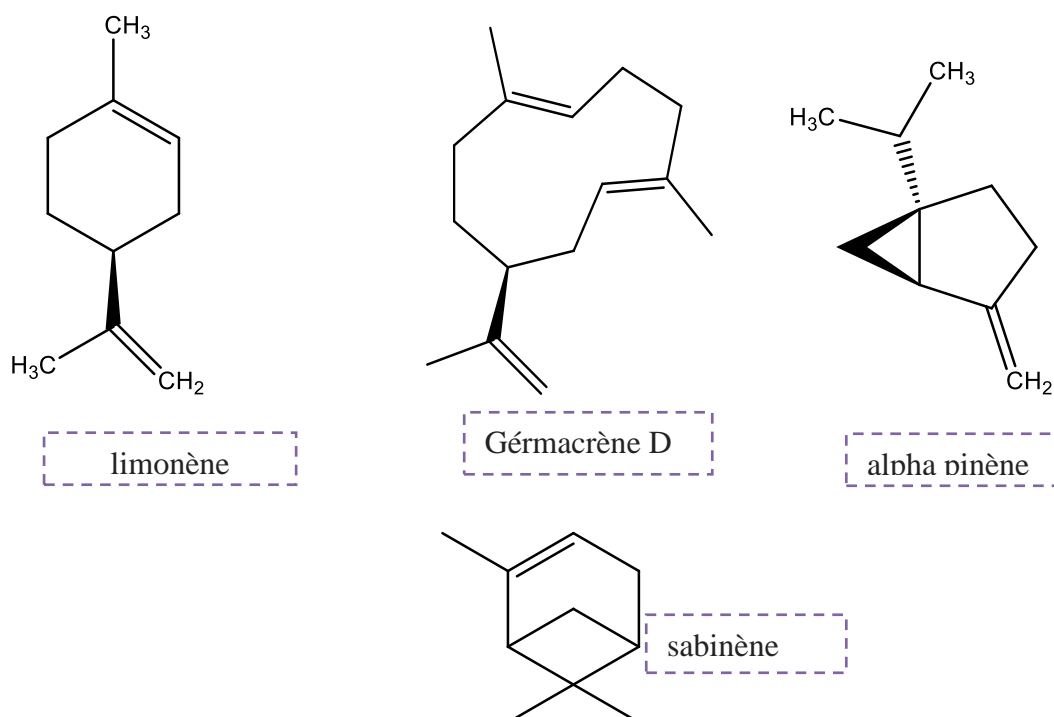
L'huile essentielle des feuilles de *Xanthium strumarium* est constituée principalement par 34 composés, représentant 90,07% de la composition totale de l'huile. L'identification des composants a été effectuée en comparant leurs indices de rétention et les spectres de masse avec ceux de la bibliothèque "Arômes" de Corse (Tableau 1).

Cette huile essentielle est largement dominée par de composés hydrocarbonés (77,4%) et plus particulièrement par les monoterpènes hydrocarbonés qui représente plus de la moitié de la composition chimique de l'huile essentielle (51,6%), suivis des sesquiterpènes hydrocarbonés (25,8%). Les composés oxygénés présentaient un pourcentage de (12,67%); (2,1%) des monoterpènes oxygénés, (7,37%) des sesquiterpènes oxygénés et (3,2%) des diterpènes oxygénés.

Les principaux composants de l'huile essentielle des feuilles sont le limonène (41,5%), gérmacrène D (14,2%), alpha pinène (4,9%) et le sabinène (3,3%).

Leurs structures chimiques sont représentées ci-dessous :

**Figure 11 :** Les principaux composants de l'huile essentielle des feuilles



En comparant nos résultats avec ceux de la littérature, nous constatons que la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Xanthium strumarium* d'Algérie est proche de celles des feuilles de *Xanthium strumarium* d'Iran [26] et d'Inde [27] dans les quelles le limonène est le composé majoritaire (25% et 35% , respectivement).

### III.Extraction de l'huile fixe, des acides gras et des insaponifiables :

#### III.1.Extraction de l'huile fixe :

##### Calcul du rendement :

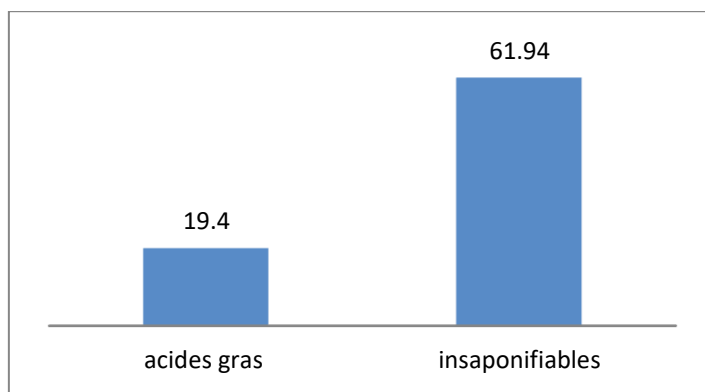
Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile fixe obtenue et la matière végétale que nous avons utilisé.

**Tableau 2:** Rendement des extraits huileux.

Rendements	Soxhlet	Décoction (Macération à chaud)	Macération à froid
Extrait de l'éther de pétrole	8.56%	5,32%	5 ,56%

#### III.2.Acides gras et insaponifiables :

Les rendements des acides gras et des insaponifiables sont définis comme étant le rapport entre la masse des acides gras ou insaponifiables obtenus par rapport à la masse de l'huile fixe



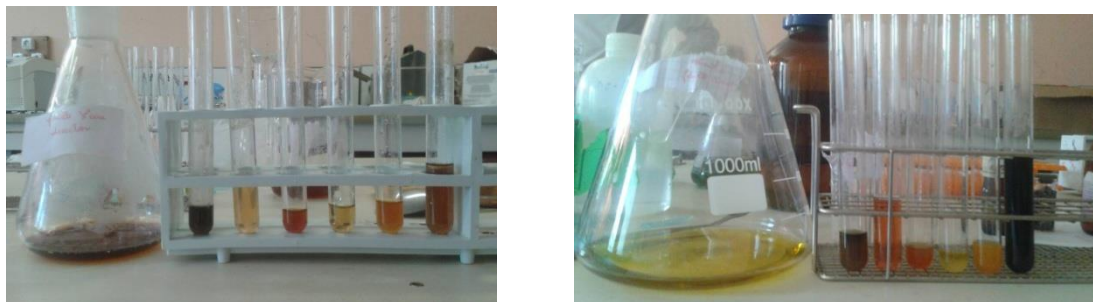
**Figure 12 :** Rendement en acides gras et insaponifiable.

### IV.Résultats du criblage phytochimique :

Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits des fleurs et de la partie aérienne de *Xanthium strumarium* sont rassemblés dans les Tableaux (3,4 et 5). L'eau et l'éthanol ont été utilisés comme solvant pour la préparation des extraits avec différentes méthodes d'extraction (décoction, macération à froid et infusion).



Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits éthanoliques et aqueux des fruits et des feuilles de *Xanthium strumarium*, préparés par infusion, décoction et macération.



**Figure 13 :** Les résultats de quelques tests phytochimiques

**Tableau 3:** Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits éthanoliques des fruits de *Xanthium strumarium* par infusion, macération et décoction.

Tests phytochimiques		Les résultats des extraits éthanoliques des fruits		
Métabolites secondaires	Réactifs	Par infusion	Par décoction	Par macération
Tanins	FeCl <sub>3</sub> 1%	+++	+++	+
Flavonoïdes	Hcl+mg <sup>2+</sup>	+++	++	+++
Saponines	Test de mousse	-	-	-
Alcaloïdes	Mayer	+	-	-
	Wagner	+	-	-
Amidon	KI + I <sub>2</sub>	-	-	-
Hétérosides	Acide sulfurique + chloroforme	+++	+++	+++

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif

Les résultats obtenus (Tableau 3 ) ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, et des hétérosides dans les extraits éthanoliques des fruits obtenus par infusion, macération et décoction tandis que les alcaloïdes étaient présents que dans l'extrait éthanolique obtenu par infusion .

L'amidon et les saponines quant à eux étaient absents dans les extraits éthanoliques obtenus par les différentes méthodes.

**Tableau 4:** Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits éthanoliques des feuilles de *Xanthium strumarium* obtenus par infusion, macération et décoction.

Tests phytochimiques		Les résultats des extraits éthanoliques des feuilles		
Métabolites secondaires	Réactifs	infusion	macération	décoction
Tanins	FeCl <sub>3</sub> 1%	+++	+	+++
Flavonoïdes	Hcl+mg <sup>2+</sup>	++	+++	+++
Saponines	Test de mousse	-	-	-
Alcaloïdness	Mayer	+	+	+
	Wagner	+	+	+
Amidon	KI + I <sub>2</sub>	-	-	-
Hétérosides	Acide sulfurique + chloroforme	+++	+++	+++

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif

Les résultats du (Tableau 4) ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, des hétérosides et des alcaloïdes dans les extraits éthanolique des feuilles obtenus par infusion, décoction et macération, tandis que les saponines et l'amidon sont absents dans les différentes préparations.

**Tableau 5:** Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits aqueux des fruits et des feuilles de *Xanthium strumarium* préparés par infusion et macération.

Tests phytochimiques		Les résultats des extraits aqueux des feuilles et des fruits		
Métabolites secondaires	Réactifs	infusion fruits	infusion feuilles	macération feuilles
Tanins	FeCl <sub>3</sub> 1%	+++	+++	-
Flavonoïdes	Hcl+mg <sup>2+</sup>	++	++	-
Saponines	Test de mousse	-	-	-
Alcaloïdes	Mayer	+	+	-
	Wagner	+	+	-
Amidon	KI + I <sub>2</sub>	-	-	-
Hétérosides	Acide sulfurique + chloroforme	+++	+++	-

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif

Nous avons observé dans le (Tableau 5), que les extraits aqueux obtenus par infusion des fruits et des feuilles ont montré une réaction positive pour le test des hétérosides, alcaloïdes, tanins et flavonoïdes, tandis que les saponines et l'amidon sont absents dans ces deux extraits.

Cependant, tous les tests produisent des inférences négatives avec l'extrait aqueux des feuilles obtenu par macération.

D'après les résultats des tests phytochimiques obtenus sur le *Xanthium strumarium*, nous avons pu déceler les différentes familles de composés chimiques par de simples réactions de coloration et de précipitation.

Les résultats montrent que la plante est d'une grande importance, elle est riche en composés phénoliques tels que les tanins, les flavonoïdes et hétérosides qui sont connus par leur pouvoirs antioxydants [42]

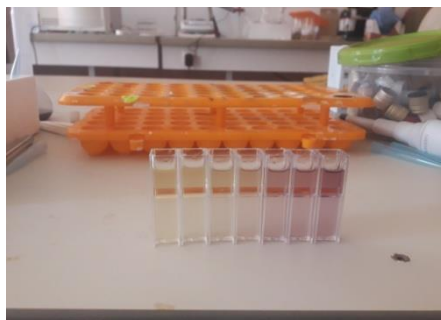
## Résultats et discussion : partie biologique.

### V. Evaluation de l'activité antioxydante :

#### V.1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

La méthode de piégeage du radical libre DPPH a été étudié par un spectrophotomètre UV, elle est utilisée pour comparer l'activité antiradicalaire de nos extraits (huile essentielle, hydrolat, extrait huileux, acides gras et insaponifiables) des différentes parties de *Xanthium strumarium* avec l'acide ascorbique comme antioxydant de référence.

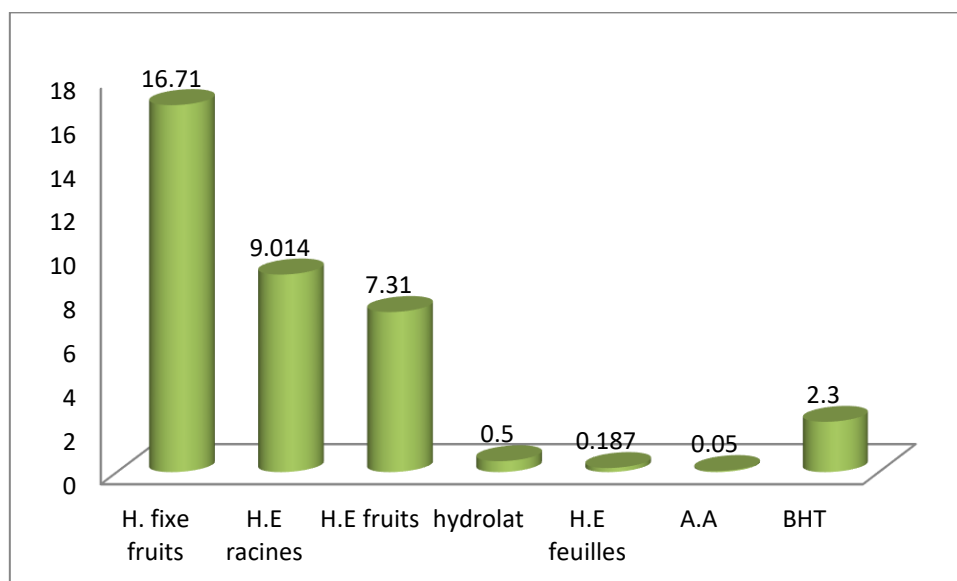
Une solution de DPPH fraîchement préparée de couleur violette ; cette couleur disparaît progressivement et passe au jaune en présence d'un bon donneur d'hydrogène, c'est à dire, un antioxydant fort.



**Figure 14 :** Variation de l'intensité de la couleur du DPPH en fonction de la concentration

Le tableau ci-dessous exprime les résultats de ce test traduit par le taux d'inhibitions en fonctions des différentes concentrations de nos extraits. Les CI50 sont calculées graphiquement par la formule de la régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des échantillons testés (voir l'annexe).

Echantillons	Activité anti-oxydante	après 30 minutes					
<b>H.E Feuilles</b>	<b>concentration (mg/ml)</b>	<b>1</b>	<b>0.5</b>	<b>0.33</b>	<b>0.25</b>	<b>0.11</b>	<b>0.083</b>
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	88.50	59.54	49.1	39.12	32.28	20.54
<b>H.E Fruit</b>	<b>concentration (mg/ml)</b>	<b>17.72</b>	<b>8.86</b>	<b>5.90</b>	<b>4.43</b>	<b>2.96</b>	<b>1.96</b>
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	78.22	60.06	50.06	42.99	30.94	30.09
<b>H.E racine</b>	<b>concentration (mg/ml)</b>	<b>15.2</b>	<b>7.6</b>	<b>5.06</b>	<b>4.43</b>	<b>2.53</b>	<b>1.68</b>
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	74.61	40.56	21.91	18.16	13.2	8.04
<b>Hydrolat</b>	<b>concentration (mg/ml)</b>	<b>1</b>	<b>0.5</b>	<b>0.33</b>	<b>0.25</b>	<b>0.11</b>	<b>0.083</b>
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	70	42.33	27.12	24.76	11.79	10.02
<b>Acide ascorbique</b>	<b>concentration (mg/ml)</b>	0,04	0,05	0,06	0,08	-	-
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	39,04	51,23	68,57	97,84	-	-
<b>BHT</b>	<b>concentration (mg/ml)</b>	<b>0.2</b>	<b>0.4</b>	<b>0.5</b>	<b>0.8</b>	<b>1.0</b>	<b>2.0</b>
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	24.9	30.3	30.6	33.9	36.7	47.6



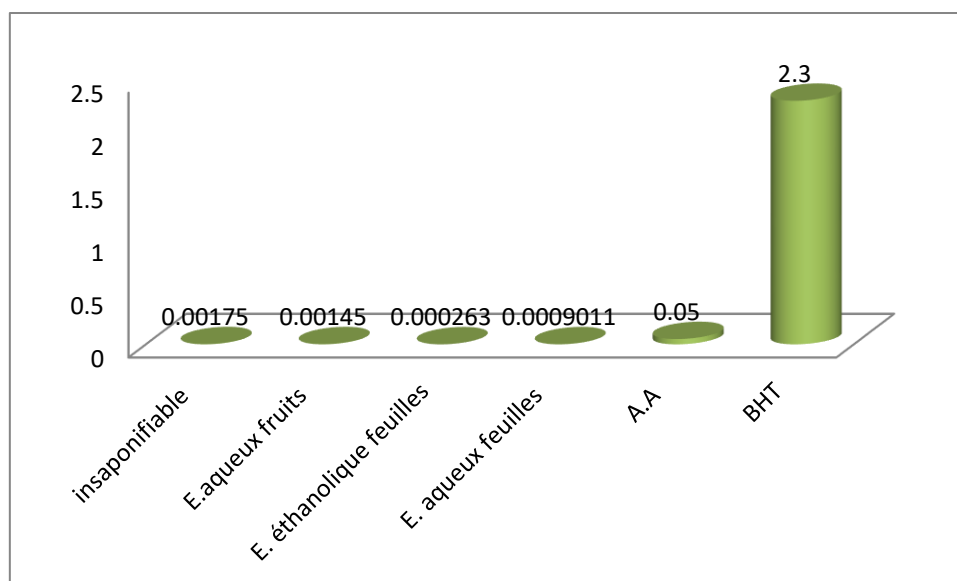
**Figure 15 :** les CI50 (mg/mL) des huiles essentielles , extrait d'hydrolat et huile fixe de *Xanthium strumarium*.

La valeur de la CI50 exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour neutraliser 50% de la concentration initiale du radical libre DPPH•. Plus la valeur de la CI50 est faible plus l'activité antioxydante est importante. La figure 13 représente les résultats des CI50 obtenues

pour les huiles essentielles, l'hydrolat ainsi que celle des références (l'acide ascorbique et BHT).

En comparant les CI50 des huiles essentielles des différents organes de *Xanthium strumarium* avec l'huile fixe et l'hydrolat ,on peut dire que l'huile essentielle des feuilles présente la meilleure activité avec une CI50 de 0,405 mg/mL ,suivie de l'hydrolat (CI50 de 0,668 mg/mL) puis l'huile essentielle des fruits (CI50 de 7,43mg/mL) et l'huile essentielle des racines (10,12 mg/mL) et finalement, l'huile fixe, qui semble être la moins efficace avec une CI50 de 16,71 mg/mL. De plus, on remarque que l'huile essentielle des feuilles ainsi que l'extrait d'hydrolat présentent un pouvoir antioxydant supérieur a celui du BHT , mais inferieur a celui de l'acide ascorbique .

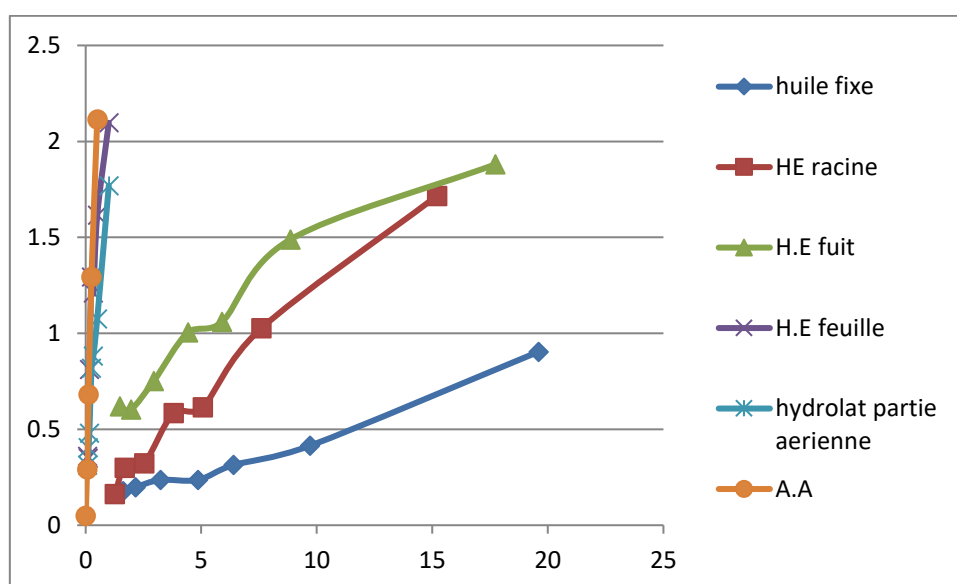
Echantillons	Activité anti-oxydante					
	30	15	10	7.5	5	3.33
<b>H. Fixe fruits</b> concentration (mg/ml)						
Effet du balayage sur le DPPH (%)	80.23	53.77	35.2	22.62	20.89	13.03
<b>E.aqueux Fruits</b> concentration (mg/ml)	$3.6 \cdot 10^{-4}$	$1.8 \cdot 10^{-4}$	$1.2 \cdot 10^{-4}$	$9 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-5}$	
Effet du balayage sur le DPPH (%)	86.89	60.85	52.12	40.15	33.12	
<b>E.aqueux feuilles</b> concentration (mg/ml)	$4.2 \cdot 10^{-4}$	$2.1 \cdot 10^{-4}$	$1.4 \cdot 10^{-4}$	$1.04 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-5}$	
Effet du balayage sur le DPPH (%)	88.46	70.8	62.88	55.8	45.84	
<b>E. éthanol feuilles</b> concentration (mg/ml)	$5 \cdot 10^{-4}$	$2.5 \cdot 10^{-4}$	$1.6 \cdot 10^{-4}$	$1.05 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-5}$	
Effet du balayage sur le DPPH (%)	70.27	55.97	38.65	37.32	27.92	
<b>Insaponifiables</b> concentration (mg/ml)	$5 \cdot 10^{-3}$	$2.5 \cdot 10^{-3}$	$1.66 \cdot 10^{-3}$	$1.25 \cdot 10^{-3}$	$8.33 \cdot 10^{-4}$	
Effet du balayage sur le DPPH (%)	90.70	75.35	60.01	45.30	36.5	
<b>Acide ascorbique</b> concentration (mg/ml)	0,04	0,05	0,06	0,08	-	
Effet du balayage sur le DPPH (%)	39,04	51,23	68,57	97,84	-	
<b>BHT</b> concentration (mg/ml)	0.2	0.4	0.5	0.8	1.0	2.0
Effet du balayage sur le DPPH (%)	24.9	30.3	30.6	33.9	36.7	47.6



**Figure 16:** CI50 des extraits et des insaponifiables de *Xanthium strumarium* .

Par ailleurs, d'après les résultats de la figure 14, tous les extraits testés : extrait éthanolique des feuilles, extrait aqueux des fruits et des feuilles et les insaponifiables des fruits, présentent un pouvoir antiradicalaire extraordinaire, très supérieur à celui de l'acide ascorbique et BHT. La forte capacité antioxydante des extraits aqueux et éthanolique pourraient être dues à la présence de certains composés potentiellement actifs (les polyphénols) beaucoup plus active que l'acide ascorbique avec une CI50 de 0,05mg/mL.

## V.2.Méthode de réduction des ions ferriques FRAP :



**Figure 17 :** Les résultats de la méthode de FRAP

Dans la méthode FRAP, la présence d'antioxydant dans l'échantillon aurait pour résultat la réduction de  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  en donnant un électron, la quantité du complexe  $Fe^{2+}$  peut ensuite être contrôlée par la mesure de la formation du bleu de Perl à 700 nm, l'augmentation de l'absorbance (DO) indique une augmentation de la capacité réductrice.

L'évaluation de l'activité antioxydante des échantillons est déterminée par rapport à l'acide ascorbique. Les résultats de l'activité réductrice des huiles essentielles ainsi que la référence sont regroupées dans la figure 15, ci-dessous.

Les résultats obtenus par la méthode FRAP confirme les résultats obtenus par le test DPPH, en effet, l'huile essentielle des feuilles possèdent la meilleure activité suivie de l'hydrolat des parties aériennes, leurs courbes sont proche a celle de l'acide ascorbique, l'activité réductrice de ces deux extraits est nettement supérieure à celle de l'H.E des fruits des racines et l'huile fixe des fruits respectivement.

## II. Etude de l'activité antibactérienne

### II.1. La technique de diffusion sur gélose Mueller Hinton (méthode des disques)

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée dans un premier temps par la technique de diffusion de disque sur milieu Mueller-Hinton gélosé. C'est une technique qualitative permettant de mesurer le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre (mm), qui apparait autour des disques imprégnés par les différents extraits.

Les résultats des diamètres des zones d'inhibitions des extraits de *Xanthium strumarium* vis-à-vis des souches bactériennes (Gram+ et Gram-) sont représentés dans le (Tableau 6).

Nous constatons que l'huile fixe des fruits de *Xanthium strumarium* ne présente aucun effet antibactérien vis-à-vis *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Proteus mirabilis* ATCC 35659 et *Citrobacter freundii* ATCC 8090.

En revanche, cette huile fixe avait une bonne activité vis-à-vis *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 49452, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 et *Micrococcus luteus* ATCC 9341 avec des zones d'inhibitions allant de 10.5 mm à 15 mm.

Nous observant également que l'huile essentielle des feuilles de *Xanthium strumarium* avait une activité antibactérienne vis-à-vis *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 et *Micrococcus luteus* ATCC 9341.

**Tableau n° 06** : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits de *Xanthium strumarium*

	Huile fixe <i>Xanthium Strumarium</i> fruits	Huile essentielle <i>Xanthium strumarium</i> feuilles	Gent
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	6	6	22
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603	6	6	19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	6	6	12
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	6	7	35
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	6	6	18
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	6	6	25
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	10.5	6	22
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	6	6	21
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	12	6	32
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	11	12	22
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452	15	6	21
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	11	6	22
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	14.5	10	22

### II.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) :

Les résultats de la CMI vis-à-vis des souches bactériennes de références qui ont montré des résultats positifs dans la technique de diffusion sur gel sont représentés dans le tableau n°7. Nous avons remarqué que l'huile fixe des fruits de *Xanthium strumarium* avait presque la même CMI.

En effet, nous constatons que l'huile fixe *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Enterococcus faecalis* ATCC 49452 et *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 une CMI qui égale à 2,5 mg/mL. Alors que *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 avaient une bonne CMI et qui est 1,25 mg/mL.

Concernant l'huile essentielle de *Xanthium strumarium* des feuilles, nous constatons que *Micrococcus luteus* ATCC 9341 et *Bacillus subtilis* ATCC 6633 présentent une CMI qui est



de 2,5 mg/mL. En revanche, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 présente une CMI supérieur a 2,5 mg/mL.

Nous pouvons conclure que les bactéries réagissent de différentes manières soit par rapport à la nature de l'extrait utilisé ou le degré de la résistance et de la sensibilité vis-à-vis d'une seule et même substance.

**Tableau 7** : Concentrations minimales inhibitrice de *Xanthium strumarium*

	Huile fixe des fruits mg/mL	Huile essentielle des feuilles mg/mL	Gentamicyne µg/mL
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	1,25	2,5	0,65
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	2,5	-	0,65
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452	2,5	-	2,6
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2,5	-	0,19
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	1,25	-	0,19
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	1,25	2,5	0,12
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	-	>2,5	0,65

### III. Activité antifongique

#### III.1.Effet des hydrolats sur l'inhibition de décroissance fongique *in vivo* de la tomate

- Les résultats des tests *in vivo* sur la souche *Fusarium oxysporum* ont montré une forte activité antifongique Même à la fin du 20<sup>ème</sup> jour. et nous avons remarqué une forte incidence du champignon sur la tomate non traité.



**Figure 18** : Effet protecteur de l'hydrolats vis-à-vis de souche fongique de *Fusarium oxysporum*

Les résultats des tests *in vivo* sur la souche *Penicillium 02* ont montré une bonne activité antifongique après 15j de stockage à une température de 24C , la tomate traité n'a pas été affectée mais le témoin est affecté.



*Penicillium 02*

Après 15j a 24c

Figure 19 : Effet protecteur de l'hydrolat vis-à-vis de souche fongique *Penicillium 02*

- Les résultats des tests *in vivo* sur la souche *Trichoderma* ont montré une forte activité antifongique après 15j, la tomate non traité était complètement affectée mais la tomate traité n'a pas été affecté ce qui explique que l'hydrolat des parties aériennes de *Xanthium strumarium* possède une très forte activité antifongique.



*Trichoderma*

Après 15j a 24c

Figure 20 : Effet protecteur de l'hydrolats vis-à-vis de souche fongique *Trichoderma*

## Conclusion

Dans le cadre de ces travaux, nous nous sommes intéressés à une plante envahissante de la famille des Astéracées du genre *Xanthium*. L'objectif principal de cette étude est de valoriser cette espèce par la production de son huile essentielle.

Les travaux antérieurs décrivent la composition chimique des huiles essentielles obtenues à partir des parties aériennes. En comparant nos résultats avec ceux de la littérature, nous constatons que la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Xanthium strumarium* d'Algérie est proche de celles des feuilles de *Xanthium strumarium* d'Iran [27] et d'Inde [31] dans les quelles le limonène est le composé majoritaire (25% et 35% , respectivement).

L'analyse de l'huile essentielle des feuilles de *Xanthium strumarium* montre que cette dernière est largement dominée par des composés hydrocarbonés (77.4%) et plus particulièrement par les monoterpènes hydrocarbonés qui représente plus de la moitié de la composition chimique de l'huile essentielle (51,6%), suivis des sesquiterpènes hydrocarbonés (25.8%). Les principaux composants de l'huile essentielle des feuilles sont le limonène (41.5%), gérmacrène D (14.2%), alpha pinène (4,9% ) et le sabinène (3,3%) .

D'après les résultats des tests phytochimiques obtenus sur le *Xanthium strumarium*, nous avons pu déceler les différentes familles de composés chimiques par de simples réactions de coloration et de précipitation. Les résultats montrent que la plante est d'une grande importance, elle est riche en composés phénoliques tels que les tanins, les flavonoïdes et hétérosides qui sont connus par leur pouvoirs antioxydants.

l'huile essentielle des feuilles ainsi que l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne présentent un pouvoir antioxydant respectivement (CI50 0,405 et 0,668 mg/mL) supérieur a celui du BHT , mais inferieur a celui de l'acide ascorbique .

Tous les extraits testés présentent un pouvoir antiradicalaire supérieur à celui de l'acide ascorbique et BHT. La forte capacité antioxydante des extraits aqueux et éthanolique pourraient être dues à la présence de certains composés potentiellement actifs (les polyphénols) beaucoup plus actifs que l'acide ascorbique.

Les résultats de la CMI vis-à-vis des souches bactériennes de références, ont montré de bons résultats, avec l'huile fixe des fruits de *Xanthium strumarium* ,qui avait presque la même CMI.

## CONCLUSION GENERALE

---

En effet, nous avons constaté que l'huile fixe présente une CMI égale a 2,5 mg/mL contre le *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 , *Enterococcus faecalis* ATCC 49452 et *Salmonella typhimurium* ATCC 13311. Alors que contre *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 elle avait une bonne CMI de 1,25 mg/mL.

Concernant l'huile essentielle des feuilles de *Xanthium strumarium*, nous constatons que la CMI est de 2,5 mg/mL contre le *Micrococcus luteus* ATCC 9341 et *Bacillus subtilis* ATCC 6633. En revanche, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 présente une CMI supérieur a 2,5 mg/mL. Nous pouvons conclure que les bactéries réagissent de différentes manières soit par rapport à la nature de l'extrait utilisé ou le degré de la résistance et de la sensibilité vis-à-vis d'une seule et même substance.

Les résultats des tests antifongiques *in vivo* de l'hydrolat des parties aériennes sur les souches *Trichoderma*, *Penicillium 02* et *Fusarium oxysporum* ont montré une forte activité antifongique. Après 15j, la tomate non traité était complètement affectée mais la tomate traité n'a pas été affecté ce qui explique que l'hydrolat des parties aériennes de *Xanthium strumarium* possède une très forte activité antifongique. L'hydrolat n'a présenté aucune activité antifongique contre le *Penicillium 01*, en effet, la tomate traité et non traité avec l'hydrolat étaient les mêmes.

### Références

- [1] Delaveau P., **1987** : les épices, Histoire, description et usage des différents épices,aromates et condiments Albin Michel Editeur, p 372.
- [2] SK. Bhavsar, S. Singh, S. Giri, MR. Jain, DD. Santani, Journal of Ethnopharmacology. 124(**2009**) 426
- [3] Harborne,J. B. and Swain,T. ,Perspective in Phytochemistry, **1963** Academic press London,New york.
- [4] Jahodar, L. ,Klekakova,J. ,Journal of chemistry,**1999**,93,320-326.
- [5] Qin L, Han T, Li H, Zhang Q, Zheng H. A new thiazinedione from *Xanthium strumarium*. Fitoterapia**2006**;77:245-6.
- [6] Tutin, T. G., Löve, D., Hansen, A., (**1976**). *Flora Europea, Vol 4*. Cambridge University press, Cambridge
- [7] <http://www.plantencyclo.com/> Accéder le15/11/**2005**
- [8] Mc Millan, C., Chavez, P.L., Plettman, S.G., Mabry, T.J, Biochem . syst .Ecol. **1975**, 2, 183-184
- [9] Wang, S.X. et al. Zhongcaoyao **1983** 14, 1.
- [10] Martin, R. J. and J. A. Carnahan. 1982. Distribution and importance of Noogoora and Bathurst burrs in eastern Australia. Australian Weeds **1982** ,2:27-32.
- [11] Holm, L. G., P. Donald, J. V. Pancho, and J. P. Herberger. **1977**. The World's Worst Weeds: Distribution and Biology. The University Press of Hawaii, Honolulu, Hawaii. 609.
- [12] Hartwell, J. L. (**1968**). Plants used against cancer. *Journal of Natural Product*, 31, 71-17
- [13]. Juan Hernandez Cano, Gabriel Volpato.Herbal mixture in the medecine of eastern cuba ,Journal of Ethnopharmacology **2004**:1-24.
- [14] Pandey B N ,Sinha G N , Sharma P C, **1989**.Some folklore medicines of Singhbhum (Bihar) Sachitra Ayurved 37: 253-258. 19
- [15] Manandhar N P. Ethnobotanical notes on certain medicinal plants used by tharus of dang – deokhuri district Nepal.Int J Crude Drugs Res**1985**, 23:153-159.
- [16] Goodwin, M. A., Mllinson, E.T. Brown, J. et al: toxicological Pathology of Cocklebur *Xanthium SPP.* for Broilers Chickens, Avian dis. **1992**, 36, 444- 446.
- [17] Martin, T., Stan, E. L. et Danison, L.: Cocklebur Roionni : in cettle. J. Am. V et. Med. Assoc. **1986**, 189;562 -563.

## Références

---

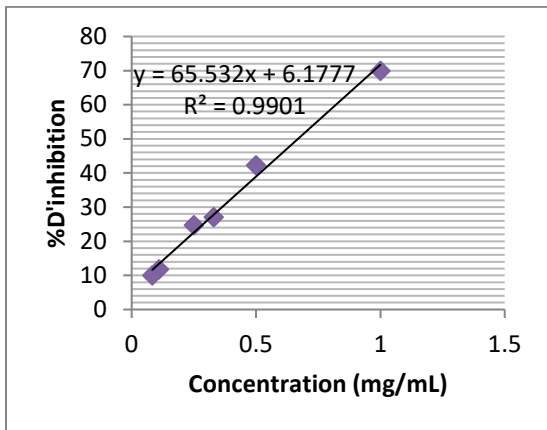
- [18] Mitchell, J. C., Rook, A.. Botanical dermatology green glass LTD, Vancouver, B. C., Canada. 1979, 787PP.
- [19] Turgut, M., Alhan, C. C., Gürgöze, M., Kurt, A., Doğan, Y., Tekatli, M., Aygün, A. D. (2005)
- [20] Hardt (H) .-Dtsche Ap .Ztg .,1972 , 112 , 921-932
- [21] ] Sattar A.Extraction and processing technology of essential oils. Proceedings: 1st national symposium of essential oils perfumes and flavours;1989, p. 7-10.
- [22] Sharifi-Rad J, Hoseini-Alfatemi SM, Sharifi-Rad M, Sharifi-Rad M, Marcello I, Sharifi-Rad M, *etal.* Phytochemical compositions and biological activities of essential oil from *Xanthium strumarium*L. Molecules **2015**; 20:7034-47.
- [23] Scherer R, Wagner R, Meireles MAA, Godoy HT, Duarte MCT, Filho JT. Biological activity and chemical composition of hydrodistilled and supercritical extracts of *Xanthium strumarium*L. leaves. J Essent Oil Res **2010** ;22:424-9.
- [24] Esmaeili A, Rustaiyan A, Akbari MT, Moazami N, Masoudi S, Amiri H. Composition of the essential oils of *Xanthium strumarium*L. and *Cetaureasolstitialis*L. from Iran. J Essent Oil Res **2006** ;18:427-9.
- [25] Cole RJ, Stuart BP, Lansden JA, Cox RH. Isolation and redefinition of the toxic agent from cocklebur *Xanthium strumarium*. J Agric Food Chem **1980**;28:1330-2.
- [26] Esmaeili *et al.*, **2006** ; Esmaeili, A., Rustaiyan, A., Akbari, M. T., Moazami, N., Masoudi, S., Amiri, H. (2006). Composition of the essential oils of *Xanthium strumarium* L. and *Cetaurea solstitialis* L. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 18(4), 427-429.
- [27] Ahuja & Nigam, **1970** Ahuja, M. M., Nigam, S. S. (1970). Chemical examination of the essential oil from the leaves of *Xanthium strumarium*. *Flavour Industry*, 1, 627-630.
- [28] Imene, F., Les huiles essentielles et l'aromathérapie. **2016**, université des frèr Mentouri Constantine
- [29] Mnayer, D., Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. **2014**, Université d'Avignon.
- [30] Porter N., **2001**: Essential oil and their production. Corps and Food Research. Number 32
- [31] Smallfield B., **2001**: introduction to growing herbs for essential oil, medicinal and culinary purposes. Corps and Food Research Number 45, p

## Références

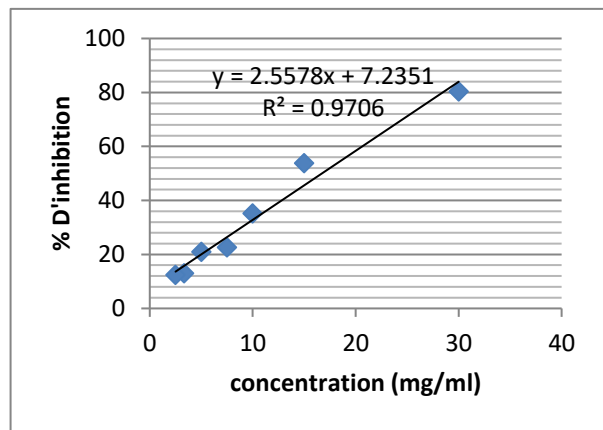
---

- [32] ]. Amjad houssain M., **2005**: Neem seed oil: Bangladesh: Examples of the development pharmaceutical product from medicinal plants. Bangladesh Council of Sceintific and Industrial Resarch (BCSIR), 10, pp 56-63.
- [33] Yeung, A., Encyclopedia of common natural ingredients. John Willey & Sons, New York, USA, **1980**: p. 166-167.
- [34] Sandra, P. and C. Bicchi, Capillary gas chromatography in essential oil analysis. **1987**: Huethig
- [35] Bruneton J., Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales –, 3ème Ed. Techniques et documentations, Paris, **1999**, p. 227-310-312-313-314, 494.
- [36] Lugasi A., Hovari J., Sagi K., Biro L., The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases.J.Acta.biologica, Szegediensis, **2003**, 47(1-4): 119-125.
- [37] King A., Young G., characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals, Jof the American dietetic association, **1999**, 99: 213-218.
- [38] Tapiero H., Tew K. D., Nguyen B. G., Mathé G., Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies?, Biomed pharmac other, **2002**, 56: 200-207.
- [39] Boizot N., Charpentier J.P., Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier, Le cahier des techniques de l'Inra, 2006, p. 79-82.
- [40] Handa S. S., Khanuja S. P. S., Longo G., Rakesh D. D., Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plant, Ed. ICS-UNIDO, **2008**, p.23-24, 40-41
- [41] Sarker D. S., Latif Z., Gray I. A., Natural Products Isolation, Ed. Humana Press, **2006**, p.33-34, 251
- [42] Hertog M. G. L., Feskens E. J. M., Hollman P. C. H., Dietaryantioxidantflavonoids and risk of coronaryheartdisease, THE LANCET, **1993**, 42(8878): 1007-101.
- [43] Singleton V. L. et al., *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*, **1965**, *American Journal of Technology and Viticulture*, 144-153P.
- [44] J. Tian, X. Zeng, A. Lü, A. Zhu, X. Peng, Y. Wang.. Perillaldehyde, a potential preservative agent in foods: Assessment of antifungal activity against microbial spoilage of cherry tomatoes. **2015**, *LWT-Food Sci Technol.* (60): 63-70.

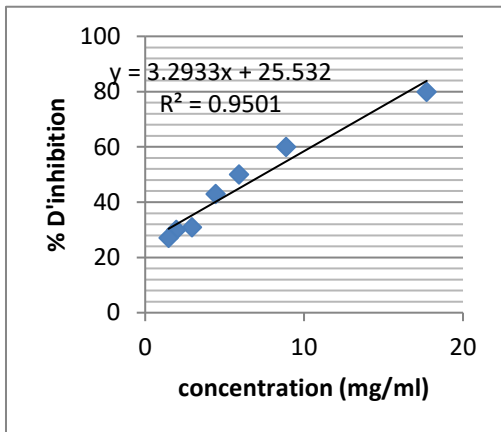
## Annexe



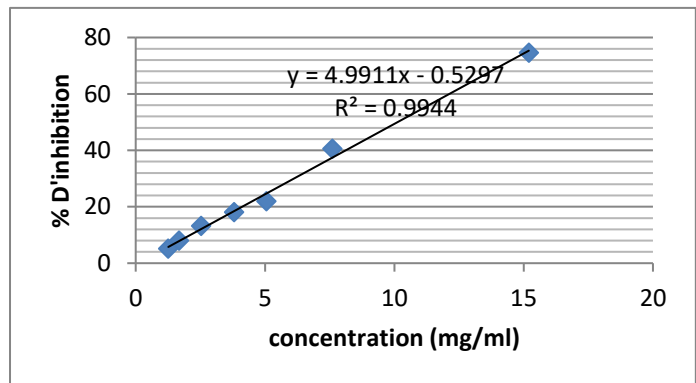
HYDROLAT PARTIE AERIENNE



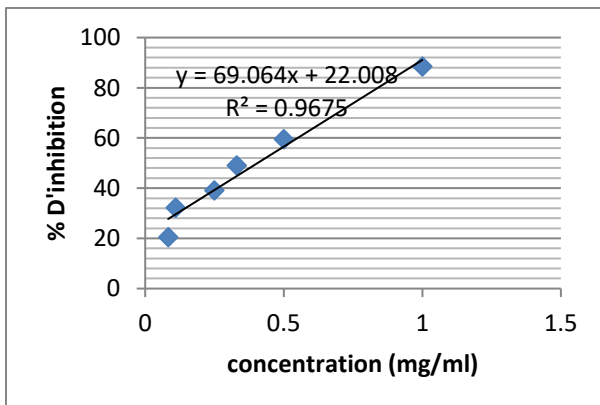
Ether de pétrole a froide



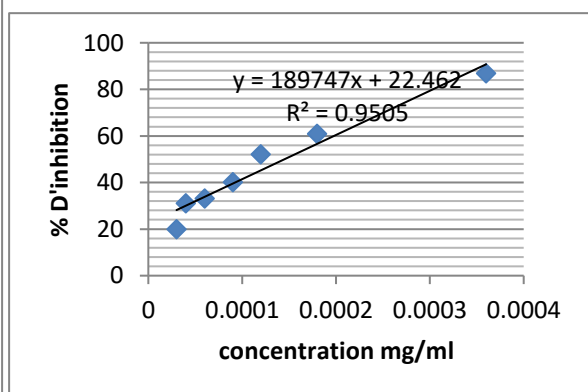
Huile essentielle de fruit



Huile essentielle de racine

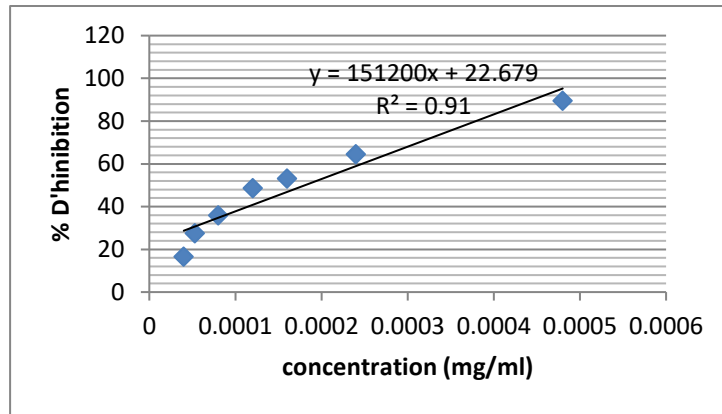


Huile essentielle de feuille

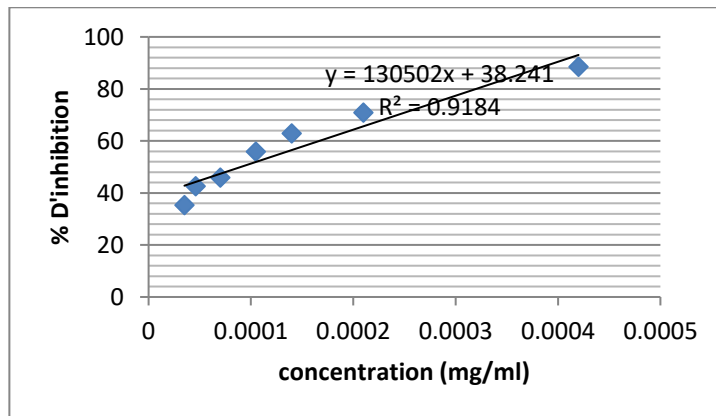


Décoction aqueux fruit

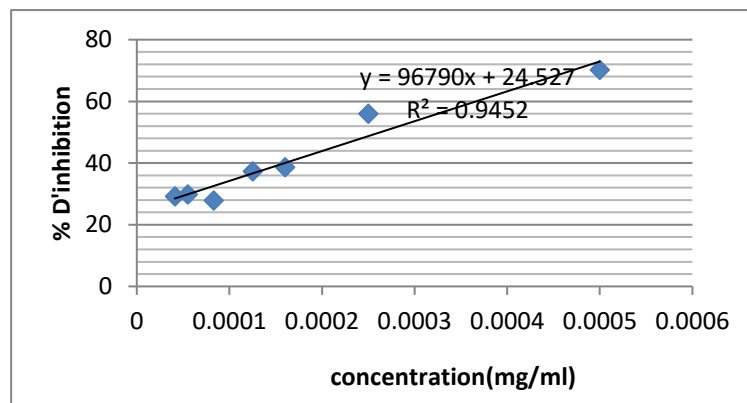




Infusion aqueux fruit



Décoction aqueux feuille



Décoction éthanol feuille

## Résumé :

Depuis quelques années, un intérêt accru s'est porté sur des molécules d'origine naturelle ayant montré des propriétés antibactériennes et antioxydantes sur les extraits aromatiques et les huiles essentielles. Les *Xanthiums* sont des plantes annuelles herbacées, appartenant à la famille des Astéracées, connus pour leurs utilisations en médecine traditionnelle, leurs activités ont été confirmées dans le traitement de plusieurs affections

Les résultats montrent que la plante est d'une grande importance, elle est riche en composés phénoliques. Le test DPPH montre que l'huile essentielle des feuilles de *Xanthium strumarium* ainsi que l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne présentent un pouvoir antioxydant respectivement (IC50 0,405 et 0,668 mg/mL) supérieur à celui du BHT, mais inférieur à celui de l'acide ascorbique. L'extrait éthanolique et aqueux quant à eux présentent une excellente activité antioxydante supérieure à celle de l'acide ascorbique.

**Mots clés :** *Xanthium strumarium*, huile essentielle, hydrolat, extrais aqueux et éthanolique, DPPH, acide ascorbique .

### ملخص:

في السنوات الأخيرة، كان هناك اهتمام متزايد بالجزيئات ذات الأصل الطبيعي التي أظهرت خصائص مضادة للجراثيم ومضادات الأكسدة على المستخلصات العطرية والزيوت الأساسية. الزانثيوم هي نباتات عشبية سنوية، تنتمي إلى عائلة أستراسيا، المعروفة باستخدامها في الطب التقليدي، وقد تم تأكيد أنشطتها في علاج العديد من الأمراض. أظهرت النتائج أن النبات ذو أهمية كبيرة، فهو غني بالمركبات الفينولية. يُظهر اختبار DPPH أن الزيت الأساسي لأوراق *Xanthium strumarium* ومستخلص الهيدرات من الجزء الجوي لهما قدرة مضادة للأكسدة على التوالي (IC 50 0.405 و 0.668 ملغ / مل) أعلى من زيت BHT، ولكن أقل من ذلك حمض الأسكوربيك - مستخلص الإيثانول والمائي له نشاط مضاد للأكسدة ممتاز يتفوق على نشاط حمض الأسكوربيك. الكلمات المفتاحية: *Xanthium strumarium*، زيت أساسي، هيدرات، مستخلص مائي وإيثانولي، DPPH، حمض الأسكوربيك.

### Abstract:

In recent years, there has been an increased interest in molecules of natural origin that have shown antibacterial and antioxidant properties on aromatic extracts and essential oils. *Xanthiums* are herbaceous annuals, belonging to the family Asteraceae, known for their use in traditional medicine, their activities have been confirmed in the treatment of several diseases

The results show that the plant is of great importance, it is rich in phenolic compounds. The DPPH test shows that the essential oil of the leaves of *Xanthium strumarium* and the hydrolate extract of the aerial part have an antioxidant capacity respectively (IC 50 0.405 and 0.668 mg / mL) higher than that of the BHT, but lower than that ascorbic acid. ethanolic and aqueous extract have an excellent antioxidant activity superior to that of ascorbic acid.

**Key words:** *Xanthium strumarium*, essential oil, hydrolate, aqueous and ethanolic extract, DPPH, ascorbic acid.