

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et
de l'Univers



Département d'Agroforesterie

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

En vue de l'obtention du
DIPLOME DE MASTER



Option : Amélioration de la Production Végétale

Thème

*ETUDE DE L'EFFICACITE DES HUILES
ESSENTIELLES DE CURCUMA LONGA
COMME UN BIOPESTICIDE CAS
ANTIFONGIQUE*

Présenté par :

LARBI SOUHILA

RABAH SOUHILA

Soutenu le : 03/07/2014 devant les jurys composé de :

Président : Mr. AZZI.N.	M.A.A	Université. Tlemcen
Examineur : Mr. BARKA. M.S.	M.C.A	Université. Tlemcen
Examineur : Mr. BENYOUB. N.	M.A.A	Université. Tlemcen
Promoteur : Mr TEFIANI. C.	M.A.A	Université. Tlemcen

Année Universitaire 2013/ 2014

REMERCIEMENTS

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH qui nous a donné la force afin de l'accomplir.

Nous tiens à exprimer nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à notre promoteur, Monsieur TefianiChoukri, maitre-assistant classe A au niveau de l'université de Tlemcen, qui a su, à sa façon de nous conseiller et nous orienter tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous remercions vivement les membres de ce jury:

Monsieur Azzi. N classes A-maitre-assistant à l'Université de Tlemcen

Nous sommes très honorées que vous avez accepté la présidence du jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements et soyez assuré de nos profondes gratitude.

Monsieur Benyoub. N maitre-assistant classe A à l'Université de Tlemcen trouvent ici l'expression de nos plus hautes considérations et de nos sincères reconnaissances pour avoir accepté de juger ce travail.

Monsieur Barkat. S maitre de conférences classe A merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire, pour l'intérêt que vous portez à notre travail et pour le temps consacré afin de l'évaluer.

A toute l'équipe du laboratoire d'Agronomie, surtout monsieur Sbaa de nous avoir soutenue et encouragé tout au long de notre travail.

Toutes nos salutations à tous nos collègues de la promotion Master II option Amélioration de la Production végétale pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble. Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de nos très vifs remerciements.

L'ARBI & Rabah

Dédicace

Je dédie ce travail à la mémoire de mon père

*A ma mère qu'elle trouve ici toute ma gratitude pour leur soutien
tout le long de mes études*

A mes sœurs : Amina, Khadidja, et Aicha

A mon frère : Zakaria

A mes neveux : Illyés, Riad, et Ayoub

A mes nièces : Manel, Nour el iméne, et Rimass

A ma grande mère

A mes beaux frères

*A mes fidèles amies : Souhila, Soulef, Soumia, Amel,
Nadjwa, Rabia*

A toute ma famille

Rabah Souhila

Dédicace

JE dédie ce modeste travail premièrement à mes parents, Pour votre amour, votre affection Votre soutien constant, Et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici. Recevez ici ma profonde gratitude Pour vos innombrables sacrifices.

A mes chers frères et sœurs, Pour votre amour, votre joie de vivre, Vos conseils si précieux, Votre soutien et votre confiance, Pour les moments de bonheurs passés Ensemble depuis ma plus tendre enfance, Je vous remercie de tout cœur.

A mes nièces Soulef, Wafaa, Ikhllass et mes neveux Issam, Chamss edddin, mohamed elmahdi.

A mes collègues de la promotion Anglais technique : Naima, Mamia , Soulef Pour votre fidèle amitié a ashraf qui me encourage tote le moment

A mes Amis : Souhila, Soulef, Assia, Amel, Soumia, Rabiaa, Najwa, Wissam, Pour votre fidèle amitié et les bons moments passés ensemble Tout au long de mes études et en dehors.

Un très grand merci à ashraf pour votre joie de vivre, Vos conseils si précieux, Votre soutien, votre courage Tout au long de cette année.

A tous qui ont manifesté un intérêt pour mon travail et qui m'ont encouragé à rassembler les informations qui constituent aujourd'hui cette thèse.

SOUHILA

Résumé

Les plantes médicinales constituent une source immense de métabolites secondaires, dont les huiles essentielles, dotées de nombreuses activités biologiques ; Cette étude a pour objectif l'évaluation de l'effet des huiles essentielles de *Curcuma longa* Linn comme un biopesticide Cas antifongique. L'extraction des huiles essentielles de *Curcuma longa* Linn a été réalisée par hydrodistillation.

Le rendement en HE est de 0,96%. L'activité antifongique est mise en évidence par une méthode : de diffusion en puits, Les résultats obtenus montrent une forte activité des huiles essentielles de *Curcuma longa* L vis à vis des champignons testées avec un volume d'huile de 10µl pour *Botrytis cinerea* et 20µl pour *Fusarium oxysporum*.

Mots clés : Plantes médicinales, *Curcuma longa* L, Huiles essentielles, Activité antifongique, biopesticide.

Abstract

Medicinal plants are an immense source of secondary metabolites, including essential oils, with many biological activities; this study aims to evaluate the effect of essential oils of *Curcuma longa* Linn as a biopesticide (antifungal case). Extracting essential oil of *Curcuma longa* Linn was conducted by steam distillation.

The yield is 0.96%. The antifungal activity is highlighted by a method which is a technique of diffusion in holes; the results show a strong activity of essential oils of *Curcuma longa* L against fungi tested with a volume of 10 µl for oil and *Botrytis cinerea* 20 µl for *Fusarium oxysporum*.

Keywords: Medicinal plants, *Curcuma longa* L, Essential Oils, Antifungal Activity, biopesticides sensitivity.

ملخص

النباتات الطبية هي مصدر هائل من المركبات الثانوية، بما في ذلك الزيوت الأساسية، حيث تتميز بالعديد من الأنشطة البيولوجية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير الزيوت الأساسية المستخلصة من نبتة *Curcuma longa* L كمبيد حيوي (مضاد للفطريات). تم استخلاص الزيت العطري لنبتة كركم عن طريق التقطير بالبخار و اعطى العائد %0.96. تظهر تقنية الانتشار عن طريق الحفر وجود نشاط قوي من الزيوت الأساسية من اجل الفطريات *Fusarium oxysporum*. ب 20 ميكرو لتر و *Botrytis cinerea* مع حجم 10 ميكرو لتر.

الكلمات الرئيسية:

Curcuma longa, النباتات الطبية، الزيوت العطرية، مضاد للفطريات، حساسية المبيدات الحيوية.

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I : généralité sur les pesticides

I. 1. Etymologie.....	3
I. 2. Historique.....	3
I. 3. Catégories et mode d'action des pesticides.....	5
I. 4. Modalité de traitement.....	6
I. 5. Toxicité.....	6
I. 6. Pesticides biologiques ou bio - pesticides.....	7
I. 6. 1. Historique.....	7
I. 6. 2. Type des bio - pesticides	8

Chapitre II : *Curcuma longa*

II. Représentation.....	9
II.1. Etymologie	9
II.2. Historique	9
II.3. Utilisation en médecine traditionnelle	10
II.4. Classification systématique	11
II.5. Description de la plante	12
II.6. Culture de <i>Curcuma longa</i>	15
II.6.1. Croissance et développement	15
II.6.2. Ecologie.....	16
II.6.3. Multiplication et plantation	16
II.6.4. Récolte	17
II.6.5. Rendement	17
II.6.6. Traitement après récolte	18
II.7. Composition chimique.....	18

II.7.1. Les huiles essentielles volatiles	18
II.7.2. La fraction non volatile	18

Chapitre III : Les huiles essentielles

III.1. Définition des huiles essentielles	22
III.2. Répartition, localisation et fonction des huiles essentielles	22
III.3. Propriétés physiques des huiles essentielles	23
III.4. Composition chimique	24
III.4.1. Les composés terpéniques.....	24
III.4.1.1. Les monoterpènes.....	26
III.4.1.2. Les sesquiterpènes.....	26
III.4.2. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane	26
III.4.3. Les composés d'origines diverses.....	27
III.5. Facteurs de variabilité des huiles essentielles	27
III.6. Toxicité des huiles essentielles	28
III.7. La filière des huiles essentielles.....	29
III.8. Les modes d'action des huiles essentielles comme biopesticides	30
III.9. Une réglementation complexe.....	32
III.10. La conservation des huiles essentielles.....	33
III.11. Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	33
III.12. Les huiles essentielles de <i>Curcuma longa</i>	39
III.12.1. Composition chimique	39
III.12.2. L'activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Curcuma longa</i>	40
III.12.3. L'activité antioxydante des huiles essentielles de <i>Curcuma longa</i>	40

Chapitre IV: Matériels et méthodes

IV.1. Matériel végétal	41
IV.1.1. Provenance de l'espèce	41

IV.1.2.Extraction des huiles essentielles.....	41
IV.2. Etude de l'activité antifongique	43
IV.2.1. Matériel fongique.....	43
IV.2.2. Milieux de culture.....	43
IV.3. Méthode de diffusion en puits.....	44

Chapitre V : résultats et discussion

V.1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle extraite	45
V.2. Teneur en huiles essentielles	45
V.3. Résultats de l'étude de l'activité antifongique par la méthode de puits.....	47
V.3.1.1. Activité des HE antifongique vis-à-vis <i>Botrytis cinerea</i>	47
V.3.1.2. Activité antifongique des HE vis-à-vis <i>Fusarium oxysporum</i>	48
V.4.Discussion générale de l'activité antifongique.....	49
Conclusion	51
Références bibliographiques	52

Liste des figures

Figure 1 : <i>Curcuma longa</i> : plante (A), fleur (B) et rhizome (C).....	12
Figure 2 : Dessin représentant la plante entière	13
Figure 3 : Porte de <i>Curcuma longa</i> . Souche connue sous le nom de <i>Curcuma long</i> (en haut) et de <i>Curcuma rond</i> (en bas)	14
Figure 4 : l'inflorescence de <i>Curcuma longa</i>	14
Figure 5 : <i>Curcuma longa</i> , Linné	15
Figure 6 : Structure chimique de la molécule de Curcumine	19
Figure 7 : Structures chimiques des principaux composés présents dans la poudre de <i>Curcuma longa</i>	19
Figure 8 : Structures chimiques des quelques curcuminoïdes naturels	20
Figure 9 : Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles	25
Figure 10 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation des huiles essentielles	34
Figure 11 : Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes.....	38
Figure 12 : rendement (%) de l'huile essentielle de <i>Curcuma longa</i> L	46
Figure 13 : Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition de <i>Botrytis cinerea</i>	48
Figure 14: Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition de <i>Fusarium oxysporum</i>	49
Photo 01 : Montage de l'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle ..	42

Liste des tableaux

<u>Tableau 1</u> : caractères organoleptiques de l'HE de <i>Curcuma longa</i> L.	45
<u>Tableau 2</u> : le rendement d'huile essentielle de <i>Curcuma longa</i> L.	45
<u>Tableau 3</u> : Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition de <i>Botrytis cinerea</i>	47
<u>Tableau 4</u> : Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition de <i>Fusarium oxysporum</i>	49

Liste d'abréviation

°C : Degré Celsius

µl : Microlitre

% : Pourcentage

g : Gramme

HE : Huiles essentielles

ml : Millilitre

mm : Millimètre

PDA : Potato Dextrose Agar

R : Rendement

V : Volume

Introduction

Introduction

L'agriculture est un ensemble des activités destinées à tirer de la terre les productions des animaux et des végétaux utiles à l'homme, surtout sur le plan alimentaire. Mais les producteurs sont butés à des problèmes liés à plusieurs facteurs, notamment aux maladies qui diminuent cette production. Ainsi, des luttes ont été initiées et proposées pour palier à ce problème tel que l'utilisation des pesticides (**Impion, 2011**).

Les pesticides sont des produits chimiques ou synthétiques destinés à tuer tout être nuisible à la plante. Mais les plus utilisés sont les pesticides chimiques, lesquels doivent être utilisés avec beaucoup de précautions au risque d'intoxication nuisible à l'homme, à l'animal, à la plante aussi bien qu'à l'environnement et demandent une durée de rémanence relativement longue ; et avec cette durée de rémanence, il est difficile voire même impossible d'utiliser ces pesticides chimiques sur les cultures (**Impion, 2011**).

À cet effet, touché par ces risques d'intoxications, une lutte biologique a été mise en place comme alternative à la lutte chimique ayant comme outils de base les biopesticides à base des micro-organismes, des végétaux et des substances naturelles et enfin la mise en place d'un traitement biopesticide qui se fait en plusieurs étapes : l'identification des plantes à vertus biopesticides, l'extraction du jus ou des huiles essentielles de ces plantes et leur utilisation en protection des plantes contre les principales maladies des cultures (**Impion, 2011**).

Les mécanismes d'action des propriétés biopesticides des huiles essentielles sont méconnus et relativement peu d'études ont été réalisées à ce sujet (**Isman, 2000**).

On considère que ces mécanismes sont uniques et que les biopesticides à base d'huiles essentielles peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de la résistance des ravageurs aux pesticides. Avec ces mécanismes d'action particuliers, ces biopesticides peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement inciter le développement de la résistance chez les ravageurs (**Isman, 2000**).

Les plantes aromatiques sources de ces substances sont largement répandues dans la nature, parmi lesquelles nous avons choisis d'étudier l'efficacité des huiles essentielles comme un biopesticide à base de *Curcuma*, *Curcuma longa* L., qui est une plante vivace appartenant à la même famille que le gingembre, les *Zingiberaceae*. Il est cultivé sous les tropiques, mais l'essentiel de la production se fait en Inde et en Asie du Sud-est. Le rhizome est la partie utilisée de la plante réduit en poudre est utilisé en tant qu'épice alimentaire pour renforcer la saveur des aliments et les conserver, et comme colorant des aliments et des textiles.

Cependant, on l'utilise aussi depuis des siècles en médecine traditionnelle indienne et chinoise. La poudre a une saveur poivrée et amère. La couleur jaune caractéristique de la poudre de rhizome est donnée par les curcuminoïdes. (Hombourger, 2010).

Les expériences sur ces bio - pesticides auront pour finalité une mise en place d'une lutte efficace et convenable aux conditions des producteurs, mais aussi de déterminer une dose exacte pour inhiber la croissance et le développement des micro - organismes de l'air.

Ce travail porte sur l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Curcuma longa* vis-à-vis de deux champignons parasites de plantes, dans le but de rechercher de nouveaux produits bioactifs naturels.

A travers ce protocole notre objectif est de déterminer :

- L'efficacité des bio - pesticides à base des huiles essentielles de *Curcuma longa* ;
- Les doses précises pouvant jouer le rôle d'inhibiteur sur la croissance des champignons parasites de plantes

Ce travail est subdivisé en cinq chapitres. Le premier chapitre parle des généralités sur les pesticides, le deuxième chapitre présentant notre plante, à savoir son histoire, sa description, son commerce, sa production, sa culture, sa composition chimique et ainsi que son utilisation en médecine traditionnelle, un troisième chapitre élucide les huiles essentielles de notre plante et sa composition chimique et ses propriétés biologiques. Et puis, nous incitons dans le quatrième chapitre le matériel et les méthodes utilisés pour l'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle. La partie expérimentale de ce chapitre a suivi l'ordre chronologique suivant :

- Extraction des huiles essentielles ;
- Etude de leur pouvoir antifongique qui a été effectuée par la méthode de puits.

Et dans le cinquième chapitre nous avons décrit en détail les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés.

Chapitre I

Les pesticides

Chapitre I : généralité sur les pesticides

I. 1. Etymologie

Le mot *pesticide* a été créé en anglais, sur le modèle des nombreux mots se terminant par le suffixe *-cide* du latin « *-cida* », du verbe latin « *caedo* », « *caedere* » qui veut dire « tuer », et sur la base du mot anglais « *pest* » signifiant animal, insecte ou plante nuisible, lequel provient (comme le français *peste*) du latin « *pes* » qui désignait notamment un animal nuisible (**Lepoivre, 2003**).

Un pesticide ou produit phytosanitaire est une substance mise dans une culture pour lutter contre des organismes nuisibles. C'est un terme générique qui rassemble les insecticides, les fongicides, les herbicides, les parasitocides. Ils s'attaquent respectivement aux insectes ravageurs, aux champignons, aux mauvaises herbes et aux vers parasites (**Lepoivre, 2003**).

Le terme pesticide englobe donc les substances « phytosanitaires » ou « phytopharmaceutiques » (**Lepoivre, 2003**).

I. 2. Historique

La lutte chimique existe depuis des millénaires : l'usage du soufre remonte à la Grèce Antique (1000 ans avant J - C) et l'arsenic est recommandé par Pline, naturaliste romain, en tant qu'insecticide. Des plantes connues pour leurs propriétés toxiques ont été utilisées comme pesticides (par exemple les aconits, au moyen âge, contre les rongeurs) (**Jouve et Cirad, 2006**).

Des traités sur ces plantes ont été rédigés (Ex : traité des poisons de Maïmonide en 1135). Les produits arsenicaux ou à base de plomb (Arséniate de plomb) étaient utilisés au XVI^e siècle en Chine et en Europe (**Jouve et Cirad, 2006**).

Les propriétés insecticides du tabac étaient connues dès 1690. En Inde, les jardiniers utilisaient les racines de *Derris* et *Lonchocarpus* (roténone) comme insecticide. Leur usage s'est répandu en Europe vers 1900 (**Latham et Konde, 2006**).

La chimie minérale s'est développée au XIX^e siècle, fournissant de nombreux pesticides minéraux à base de sels de cuivre. Les fongicides à base de sulfate de cuivre se répandirent, en particulier la fameuse bouillie bordelaise (mélange de sulfate de cuivre et de chaux) pour lutter contre les invasions fongiques de la vigne et de la pomme de terre, non sans séquelles

de pollution sur les sols (cuivre non dégradable). Des sels mercuriels sont employés au début du XXe siècle pour le traitement des semences (**Stoll, 2002**).

Les pesticides font l'objet d'usage géographiquement et temporellement ciblés, ce qui explique de fortes variations régionales et saisonnières dans la pollution de l'eau et de l'air par ces produits (**Stoll, 2002**).

L'ère des pesticides de synthèse débute vraiment dans les années 1930, profitant du développement de la chimie organique de synthèse et de la recherche sur les armes chimiques durant la première guerre mondiale (**Regnault, 2005**).

En 1874, Zeidler synthétise le DDT (dichloro - diphenyl - trichloroéthane), dont Muller en 1939 établit les propriétés insecticides. Le DDT est commercialisé dès 1943 et ouvre la voie à la famille des organochlorés. Le DDT a dominé le marché des insecticides jusqu'au début des années 1970 (**Regnault, 2005**).

En 1944, l'herbicide 2,4-D, copié sur une hormone de croissance des plantes et encore fortement employé de nos jours, est synthétisé (**Impion, 2011**).

La seconde guerre mondiale a généré, à travers les recherches engagées pour la mise au point de gaz de combat, la famille des organophosphorés qui, depuis 1945, a vu un développement considérable encore de mise aujourd'hui pour certains de ces produits, tel que le malathion (**Impion, 2011**).

En 1950 - 1955 se développe aux États-Unis les herbicides de la famille des urées substituées (linuron, diuron), suivis peu après par les herbicides du groupe ammonium quaternaire et triazines (**Impion, 2011**).

Dans les années 1970 - 1980 apparaît une nouvelle classe d'insecticides, les pyréthrinoïdes qui dominent pour leur part le marché des insecticides (**Impion, 2011**).

Désormais, l'accent est mis sur la compréhension des modes d'action et la recherche de cibles nouvelles. Connaissant les cibles, on peut alors établir des relations structure-activité pour aboutir à l'obtention de matières actives. Ceci est possible grâce au développement de la recherche fondamentale dans les domaines de la biologie et de la chimie et aux nouveaux outils fournis par la chimie quantique, les mathématiques et l'informatique qui permettent la modélisation de ces futures molécules (**Impion, 2011**).

Actuellement, on assiste à une consolidation du marché au niveau des familles les plus récemment découvertes avec la recherche de nouvelles propriétés. En même temps, de nouvelles cibles physiologiques de l'animal ou du végétal sont explorées dans le but de développer des produits à modes d'action originaux, des produits issus de la biotechnologie ou des médiateurs chimiques (**Impion, 2011**).

I. 3. Catégories et mode d'action des pesticides

Les catégories de produits suivants, désignés commercialement comme « produits phytosanitaires », sont utilisées pour soigner ou prévenir les maladies des végétaux. Il s'agit :

- Les acaricides pour tuer les acariens ;
- Les bactéricides pour tuer les bactéries ;
- Les corvicides ou corvifuges pour tuer les corbeaux ;
- Les fongicides pour l'inhibition ou la prévention du développement des champignons,
- Les herbicides, désherbants, phytocides ou débroussaillants pour détruire les adventices (mauvaises herbes) ;
- Les insecticides pour détruire ou prévenir le développement des insectes ;
- Les molluscicides pour tuer les limaces et les escargots ;
- Les nématocides pour tuer les nématodes ;
- Les parasiticides pour tuer les parasites ;
- Les rodenticides pour tuer les rongeurs ;
- Les taupicides pour tuer les taupins ;
- Les virucides. Il s'agit d'un terme commercial désignant un produit, une solution ou un traitement censé tuer les virus (**Impion, 2011**).

Selon l'action exercée au niveau du cycle parasitaire de base, un pesticide exerce une activité :

- 1- préventive ou anti - pénétrante, s'il agit avant l'infection ;
- 2- curative, s'il intervient pendant la phase d'incubation ;
- 3- anti – sporulant s'il empêche la sporulation du parasite ;
- 4- éradicante ; s'il élimine les parasites déjà visibles (**Lepoivre, 2003**).

Par ailleurs, en fonction de son comportement dans les plantes, le pesticide sera qualifié de produit de :

- Surface ou de contact, si seule la fraction présente sur la surface traitée entraîne un effet anti - fongique qui sera donc de type préventif ;
- Pénétrant, s'il se présente en quantité suffisante dans les assises cellulaires sous-jacentes aux surfaces traitées pour entraîner un effet curatif ;

- Translaminaire, si après son application sur une face foliaire, il inhibe le développement d'un champignon inoculé sur l'autre face ;
- Systémique, si après une migration interne via le xylème ou le phloème, il exerce une activité fongique (préventive ou curative) hors de la zone traitée (**Lepoivre, 2003**).

I. 4. Modalité de traitement

Les manières d'appliquer les traitements phytosanitaires varient avec les cultures et les ravageurs. D'une manière générale, un traitement rationnel est préparé par la détermination des causes des dommages et du cycle de développement du ravageur mettant en évidence les époques les plus favorables au traitement.

L'expérimentation permet de choisir la (ou les) matière active efficace contre le (ou les) ravageur(s) à contrôler, les conditions matérielles optimales et la fréquence des répétitions de traitement nécessaire ainsi que les doses d'emploi (**Impion, 2011**).

Toutefois, la désinfection peut se faire de différentes manières, à savoir :

Par enrobage ou immersion : consiste à plonger ou à recouvrir les semences, les bulbes ou les racines d'une solution contenant des produits phytopharmaceutiques ;

- Par arrosage : les produits phytosanitaires sont dissouts dans l'eau et ensuite appliqués par arrosage pour tuer les ennemis et parasites du sol ;

- Par injection : elle consiste à injecter dans le sol une substance active qui va produire de la vapeur tuant les ennemis et parasites du sol. Ces produits sont appelés des fumugants ;

- Par pulvérisation : consiste à projeter le produit phytosanitaire sous pression en fines gouttelettes ;

- Par atomisation : consiste à vaporiser le produit phytosanitaire pour désinfecter les parties aériennes de la plante (**Impion, 2011**).

I. 5. Toxicité

Il existe deux types de toxicité :

1. Toxicité aiguë : par absorption massive de pesticides. Les effets sont ceux d'un empoisonnement par substance chimique pouvant entraîner des troubles graves du métabolisme et de la fécondation, voire la mort de l'individu, homme ou animal (**Impion, 2011**);

2. Toxicité chronique : ou indirecte par exposition à des doses faibles mais répétées. On a observé depuis les années 1970 des effets cancérigènes, mutagènes et tératogènes sur les êtres vivants exposés à des faibles doses de pesticides (**Impion, 2011**).

I. 6. Pesticides biologiques ou bio - pesticides

Schématiquement, le biopesticide est formé de « pesticides » qui veut dire « tuer les pestes » et du préfixe « bios » qui signifie « vie » en grec. L'antinomie de ces deux termes souligne que les bio - pesticides s'inscrivent dans la lutte contre les organismes fléaux et sont basés sur l'utilisation d'agents ou facteurs liés à la vie (**Impion, 2011**).

On a longtemps débattu pour savoir s'il fallait prendre en considération comme bio - pesticides les seuls organismes vivants antagonistes aux fléaux ou si des molécules bio - synthétisées et des composés extraits d'un organisme vivant pouvait être considérés comme bio - pesticide. Aujourd'hui, la définition retenue est la plus large (**Impion, 2011**).

Un biopesticide se définit comme tout produit de protection des plantes à base d'organismes vivants ou substances (**Impion, 2011**).

I. 6. 1. Historique

Dans le contexte de développement des pesticides chimiques, dont la production était aisée et les coûts peu élevés, a constitué à la charnière de la moitié du 20^e siècle, une révolution technologique dans le domaine de la protection des cultures. Mais les succès qu'ils rencontrèrent immédiatement dans le contrôle des espèces nuisibles aux cultures ainsi qu'à la santé humaine et animale, ont conduit à leur utilisation intensive et souvent sans discernement. On connaît la suite : des désordres écologiques à de multiples niveaux (**Regnault, 2005**)

Aussi de nombreuses initiatives sont déployées depuis plusieurs années pour développer des méthodes alternatives à l'utilisation de ces pesticides chimiques. Nous vous proposons d'examiner les méthodes qui ont trait à l'emploi de, ce que l'on appelle communément les bio - pesticides et de voir dans quelle mesure ils sont prêts à prendre la relève du «tout chimique» (**Regnault, 2005**).

I. 6. 2. Type des bio - pesticides

Selon l'agence de protection environnementale des Etats - Unis (EPA), les bio - pesticides ou les pesticides biologiques sont des dérivés de matériels naturels tels que les animaux, les plantes, les bactéries et certains animaux. L'EPA répartit ces bio - pesticides en trois types :

1. Les pesticides microbiens dont l'ingrédient actif est un micro - organisme (bactérie, champignon, protozoaire, algue) ou un virus (**Lepoivre, 2003**) ;
2. Les pesticides d'origine végétale y compris les molécules que les plantes transgéniques produisent après l'incorporation d'un transgène comme la protéine Bt de *Bacillus thuriangiensis* d'origine végétale (**Lepoivre, 2003**) ;
3. Les pesticides biochimiques sont des substances naturelles ne présentant pas de toxicité directe vis - à - vis des ravageurs et agents phytopathogènes, mais qui interfèrent avec leur croissance ou leur reproduction ainsi qu'à la physiologie de plante (**Lepoivre, 2003**).

Chapitre II

Curcuma longa

Chapitre II : *Curcuma longa*

II. Représentation

II.1. Etymologie

Le terme *Curcuma* est d'origine irano-indienne; il dérive du sanscrit *kartouma* qui a donné *kurkum* en persan ancien, *kourkoum* en arabe et *Curcuma* en latin (**Delaveau, 1987**).

C'est sous cette dernière forme qu'il est passé dans les langues européennes, le «c» se transformant parfois en «k» dans les langues germaniques, à l'exception de l'anglais qui le désigne sous le nom de *turmeric*. C'est d'ailleurs la langue anglaise qui a conservé l'origine de son appellation en latin médiéval, *terra merita* (terre mérite) par le mot «*turmeric*». Notons que sa couleur jaune intense le fait parfois nommer. Bien à tort, *safran cooli* et *safran des Indes* (**Delaveau, 1987**).

De même, son nom chinois *jianghuang*, signifie gingembre jaune, une allusion au fait qu'il est de la même famille botanique que le gingembre et à la remarquable couleur de son rhizome (**Hombourger, 2010**).

II.2. Historique

Le *Curcuma* est une épice qui fait l'objet d'échanges commerciaux depuis tellement longtemps qu'on ne peut déterminer avec certitude son origine. On pense cependant qu'il vient du Sud ou du Sud-est de l'Asie, peut-être plus spécifiquement de l'Inde, d'où il se serait répandu dans toute l'Asie, de même qu'au Proche et au Moyen-Orient, il y a des milliers d'années (**Penso, 1986**).

Son emploi, en Asie, en Afrique et au Proche et Moyen-Orient, remonte à plus de 4000 ans. Dès cette époque, le *Curcuma* est utilisé en tant qu'épice, mais aussi comme agent de coloration de plusieurs aliments, tels que le cari et la moutarde, de même que dans la production de cosmétiques, de teintures et de médicaments (**Perry, 2008**).

Le *Curcuma* serait connu en Chine depuis très longtemps puisque le plus vieux traité de médecine chinoise, le PEN-TSAO de Sheng Nung écrit vers 2600 avant J-C, le mentionne dans le traitement des douleurs rhumatoïdes (**Penso, 1986**).

L'usage du *Curcuma* en Inde serait apparu en tant que substitut du safran et d'autres poudres jaunes apportées par les anciens aryens lorsqu'ils envahirent cette partie du continent asiatique vers 2000 avant J-C (**Dymock, 1890**).

Du monde asiatique, il passe par la voie commerciale en Grèce. Dioscorides, médecin hellène devenu militaire romain et praticien réputé à Rome, décrit la curieuse drogue comme *Kupeiros ex India* : cyperus (ou souchet) des Indes ; l'intense couleur jaune lui fait croire à tort à des propriétés identiques à celles du safran. Une grande confusion de termes s'installera, au cours du Moyen Age, tandis que les marchands arabes introduisent largement ce curieux produit. Ainsi au *XVIII^e* siècle Pomet a écrit : «la terra merita que quelques-uns appellent *Curcuma* et d'autre *Safran* ou *Souchet des Indes*, ou de *Malabar* ou de *Babylone*, est une racine presque semblable au gingembre» (Delaveau, 1987).

Vers 1450, il figure sur la liste des produits exotiques transitant par Francfort, à côté de la zédoaire et du gingembre (Girre, 1981).

Une indication du prix est trouvée dans le Tarif du 18 septembre 1664 : «*Terra merita* ou *culcuma* le cent payera 40 sous» (Delaveau, 1987). Le tarif douanier de 1664 établit une protection des productions nationales, l'utilité économique des droits de douane étant perçue à cette époque comme un moyen d'encourager le commerce et de protéger les manufactures nationales (Delaveau, 1987).

Nicolas Lémeury, médecin et chimiste français, estime cette *terra merita* « apéritive, détersive, propre pour lever les obstructions du foye, de la ratte, pour exciter l'urine et les mois aux femmes, pour la jaunisse, pour la pierre, pour la néphrétique» dans le dictionnaire ou traité universel des drogues simples de 1716 (Delaveau, 1987).

II.3. Utilisation en médecine traditionnelle

Le *Curcuma* était très estimé des anciens indo-européens pour la teinture d'un beau jaune doré qu'on en tirait. Toutefois, son importance pour l'être humain s'est vraiment révélée lorsqu'on a découvert, il ya longtemps, qu'ajouté aux aliments le rhizome réduit en poudre permettait d'en conserver la fraîcheur, la sapidité et la valeur nutritive et comme un bon additif alimentaire. C'est précisément ce pouvoir, qu'on lui attribuait jadis de préserver la fraîcheur des aliments, qui sert aujourd'hui de modèle pour l'étude de ses applications possibles dans le domaine des soins de santé (Loap, 2008).

La médecine traditionnelle représente un terrain fertile et une source d'exploration de nouveaux médicaments. La curcumine est, de cette catégorie, un colorant naturel jaune obtenu du rhizome du safran des Indes «*Curcuma longa* Linn» (Bharat et al., 2008 ; Song et al., 2009). Elle a été longtemps considérée, dans le monde entier, comme une substance alimentaire fonctionnelle en raison de ses propriétés sanitaires (Almedia et al., 2005).

Outre son utilisation dans la cuisine Indienne en tant qu'un colorant alimentaire et conservateur, le *Curcuma* est utilisé en médecine ayurvédique pour traiter de nombreuses affections (**Bharat et al., 2008**), vu sa richesse en composés phénoliques à savoir les monoterpénoïdes, sesquiterpénoïdes et les curcuminoïdes (**Tang et Eisenbrand, 1992**), le *Curcuma* peut être utilisé aussi pour :

- Le traitement des otites chroniques, contre les manifestations allergiques et contre les manifestations inflammatoires (**Portes, 2008**) ;
- Les troubles digestifs et les flatulences (**Singh, 2007**): antiémétiques, antiulcéreux, antispasmodiques et antidispeptiques (**Hurtel, 2007**);
- Les affections broncho-pulmonaires : antiasthmatiques, antitussifs et expectorants (**Hurtel, 2007**) ;
- Les troubles génitaux féminins, comme «régulateur» : antiabortif, emménagogue et régulateur de la menstruation (**Hurtel, 2007**) ;
- Les maux de tête et rhumes (**Wichtl et Anton, 2003**) ;
- Les infections des yeux, de la peau, l'arthrite, acnés, entorses, blessures, jaunisse et autres (**Singh, 2007**) ;
- En tant que cicatrisant dont il accélère significativement la guérison des blessures et renforce la cicatrisation des plaies chez les diabétiques (**Ghanbari et al., 2008**).

De plus, il a été démontré que les composants de *Curcuma longa* Linn ont des activités fongicides (**Kim et al., 2003**), insecticides (**chander et al., 1991; 1992**), répulsives et antiseptiques (**jilani et saxena, 1990**) ainsi qu'un insecticide (**chowdhury et al., 2000**).

II.4. Classification systématique

Le genre *Curcuma*, selon la classification APG III (Angiosperms phylogeny Group) appartient à :

- La classe des monocotylédones
- L'ordre des scitaminales ou zingibérales
- la famille des Zingiberaceae

On dénombre près de 80 espèces dans ce genre (**Guldner, 1986**).

Curcuma longa Linn est une plante herbacée vivace, rhizomateuse, monocotylédone de la famille des Zingiberaceae (famille du Gingembre) originaire de l'Inde et du Sud-est de l'Asie. Elle est cultivée extensivement en Inde, en Chine, en Malaisie (et de nombreux pays asiatiques) mais aussi en Amérique centrale et Latine, aux Antilles, en Australie et en Afrique,

partout où le climat est tropical ou sub-tropical ; elle pousse sur les alluvions, les sols bien drainés et en plein soleil.

Elle mesure jusqu'à 1 mètre de haut. Elle possède de grandes feuilles lancéolées, vert uniforme, faisant jusqu'à 50 cm de long et 7 à 25 cm de large, et porte des fleurs jaunes pâles à blanc de 5 cm de long environ en forme d'entonnoir (**Figure 1**) (**Lucie, 2010**).



Figure 1 : *Curcuma longa* : plante (A), fleur (B) et rhizome(C) (**Lucie, 2010**)

Le *Curcuma* est vivace par son rhizome. Le rhizome principale ou primaire est ovoïde, oblong, piriforme (environ 3 cm de diamètre et 4 cm de long), les rhizomes latéraux ou secondaires sont courts, légèrement coudés, souvent ramifiés. L'extérieur des rhizomes est de couleur jaunâtre à brun-jaune, avec des cicatrices profondes et des annulations (vestiges des cicatrices des feuilles). La chair interne est jaune orangée (**Lucie, 2010**).

II.5. Description de la plante

Curcuma longa est une plante vivace atteignant un mètre, pérenne par son rhizome (**figure 2**). Les rhizomes principaux de forme ovoïde fournissent le *Curcuma* rond et les

secondaires le *Curcuma long*. Épais, écailleux, se ridant par dessiccation, ces rhizomes sont d'une couleur jaune orangé en section, gris brunâtre en surface. Une odeur aromatique se dégage après section du rhizome (**Delaveau, 1987**).



Figure 2 : Dessin représentant la plante entière (**Hombourger, 2010**)

Ses feuilles, très longues, oblongues à elliptique, engainantes, possèdent une puissante nervure axiale et des nervures secondaires parallèles (**Boullard, 2001**). Les gaines des feuilles forment une pseudotige courte, les limbes sont vert foncé au-dessus, vert très clair en dessous, criblés de points translucides (**figure 3**).

Au sein des feuilles s'élève l'inflorescence constituée d'un épi cylindrique atteignant 20 cm de long. Celui-ci est formé de bractées imbriquées vert foncé et stériles, à l'aisselle desquelles naissent les fleurs blanches ou jaunâtre, une pour chaque bractée. Seules les bractées sommitales, roses, sont de plus bel effet (**figure 4**) (**Boullard, 2001**).

Les fleurs possèdent :

- un calice tubulaire, court, présentant 3 dents inégales.
- une corolle tubulaire à sa base, puis divisée en 3 lobes jaunes inégaux.
- des étamines dont une seule fertile, bifide, l'anthere présentant un large éperon courbé à la base
- un ovaire infère, triloculaire, surmonté d'un style terminé par un stigmate simple et en crochet.

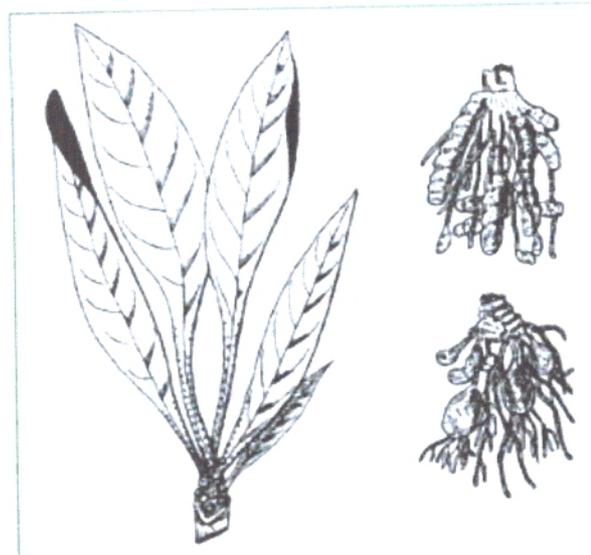


Figure 3 : Porte de *Curcuma longa*. Souche connue sous le nom de *Curcuma long* (en haut) et de *Curcuma rond* (en bas) (Boullard, 2001).



Figure 4 : L'inflorescence de *Curcuma longa* (Hombourger, 2010).

Le fruit, rarement produit, est une capsule à trois loges, contenant de nombreuses graines arillées (**figure 5**) (**Jansen et al., 2005**)



Figure 5 : *Curcuma longa*, Linné (**Hombourger, 2010**)

II.6. Culture de *Curcuma longa*

II.6.1. Croissance et développement

A la mise en place de la culture, la germination des plants de *Curcuma* est achevée en deux à quatre semaines ; après quoi intervient une période de croissance végétative active. La floraison et le développement des rhizomes débutent environ cinq mois après la plantation (**Jansen et al., 2005**).

Les rhizomes continuent de se développer activement pendant à peu près sept à dix mois en fonction du cultivar et des conditions climatiques; puis les feuilles inférieures jaunissent et la récolte est prête à être arrachée (**Jansen et al., 2005**).

II.6.2. Ecologie

Le *Curcuma* demande un climat humide et chaud. Il peut être cultivé dans la plupart des régions tropicales et subtropicales pourvu que les précipitations soient suffisantes (1000-2000 mm) ou que l'on puisse irriguer. Des précipitations de 1200 à 1400 mm bien réparties sur cent à cent-vingt jours sont idéales (**Jansen et al., 2005**).

La culture a été étendue à des régions où les précipitations dépassent 2000 mm. Le *Curcuma* est cultivé jusqu'à 1200 m d'altitude sur les contreforts de l'Himalaya mais il pousse mieux à des altitudes comprises entre 450 et 900 m (**Jansen et al., 2005**).

Les températures optimales sont de 30 à 35°C pendant le démarrage. De 25 à 30°C pendant le tallage, de 20 à 25°C pendant l'initiation des rhizomes et de 18 à 20°C pendant leur développement (**Jansen et al., 2005**).

Le *Curcuma* pousse sur divers types de sol, mais préfère des limons fertiles ou argileux, bien drainés, meubles et friables, riche en matières organiques, et de pH 5 à 7,5, il ne supporte pas l'asphyxie racinaire ou les sols alcalins, des sols graveleux, pierreux et lourds ne conviennent pas au développement des rhizomes (**Jansen et al., 2005**).

Affectionnant l'ombre, il vient bien à mi-ombre et peut être cultivé sous des arbres fruitiers (**Jansen et al., 2005**).

II.6.3. Multiplication et plantation

La multiplication du *Curcuma* se fait de façon végétative par rhizomes. On utilise généralement des rhizomes mère, entiers ou coupés en morceaux, et des rhizomes filles (les doigts). En tant que matériel de reproduction, les rhizomes mères sont meilleurs que les filles. Néanmoins, il a aussi été établi que des rhizomes filles de grande taille germaient mieux et avaient des rendements supérieurs à ceux des mères. Les doigts se stockent plus facilement, tolèrent mieux les sols humides et peuvent être plantés à une densité inférieure (**Jansen et al., 2005**).

Il faut entreposer les rhizomes deux à trois mois entre la récolte et la plantation. Pour cela, on les étale on couche fine sous une couverture de feuilles de *Curcuma* ou bien on les entrepose en tas sous une couche de paille et de terre (**Jansen et al., 2005**).

Le champ doit être bien préparé par labour ou bêchage, en retournant la terre jusqu'à environ 30 cm de profondeur, afin d'obtenir une bonne couche arable. D'importantes quantités d'engrais organique (fumier de ferme, tourteau d'oléagineux, feuilles vertes) sont

généralement appliquées. L'optimum serait d'environ 25 tonnes /hectare de fumier ou de compost et 65 kg/hectare d'azote venant du tourteau (**Jansen et al., 2005**).

Il ya en général deux façons de planter le *Curcuma* : à plat ou sur billons. La culture à plat est normalement meilleure, mais aux endroits trop ou pas assez humides, la culture sur billons s'avère supérieure, car elle facilite le drainage et l'irrigation. Les billons doivent avoir 20 à 25 cm de haut et 45 à 50 cm de large et les rhizomes doivent être plantés a une distance de 30 à 40 cm et à une profondeur de 7,5 cm. Le meilleur espacement en culture à plat est de 25 cm x 25 cm. Toutefois, de bons résultats ont été obtenus avec des espacements de 30 cm x 15 cm ou 15cm x 15 cm. Si le *Curcuma* est en culture associée, l'espacement est ajusté en conséquence (**Jansen et al., 2005**).

Le moment de la plantation dépend de cultivar, du matériel de reproduction ainsi que des conditions agroclimaiques. Une méthode de multiplication accélérée du *Curcuma* à été signalée, utilisant la culture *in vitro* de jeunes bourgeons végétatifs prélevés sur des rhizomes en cour de germination. La formation des jeunes plantes s'est fait tout au long de l'année sans que se manifeste la période de dormance habituelle chez les plantes au champ (**Jansen et al., 2005**).

II.6.4. Récolte

Le *Curcuma* est prêt à être récolté sept à dix mois voire douze mois après la plantation lorsque les feuilles inférieures jaunissent. La récolte se fait en retournant la terre. Il faut faire attention à ne pas abimer les rhizomes et s'assurer que l'on arrache toute la touffe en même temps que la plante sèche. On coupe alors les sommités feuillées, on retire les racines et la terre qui y est attachée, puis on lave soigneusement les rhizomes. Les doigts sont séparés du rhizome mère. Quelques rhizomes peuvent être utilisés frais et, à l'exception de ceux qui sont nécessaires à la replantation, le reste est séché (**Jansen et al., 2005**).

II.6.5. Rendement

Le rendement moyen en rhizomes frais de *Curcuma* est de 17 à 23 tonnes/hectare si la culture est irrigué, et de 6,5 à 9 tonnes/hectare en culture pluviale. Toutefois, les rendements dépendent en grande partie du cultivar. Certains d'entre eux peuvent produire 30 à 35 tonnes/hectare de rhizomes frais (**Jansen et al., 2005**).

II.6.6. Traitement après récolte

Afin de renforcer la belle couleur jaune et l'arôme si caractéristique, les rhizomes nettoyés sont mis à cuire dans de l'eau bouillante pendant 1 heure dans un bain légèrement alcalin, puis séchés au soleil pendant six à huit jours. On utilise également des séchoirs à air chaud. Les rhizomes séchés sont polis pour en lisser la surface et aussi pour en rehausser légèrement la couleur. Le polissage peut se faire dans un simple tambour en fer, rotatif, cylindrique et galvanisé, actionné à la main, ou dans d'autres types d'appareils. Une petite quantité de poudre de *Curcuma* versée à l'intérieur du tambour durant le polissage confère un bel aspect au produit (Jansen et al. 2005).

II.7. Composition chimique

La poudre de *Curcuma* issue du rhizome séché est constituée chimiquement de plusieurs fractions, une fraction volatile et une autre non volatile (Lucie, 2010).

II.7.1. Les huiles essentielles volatiles

La fraction volatile représente environ 6 à 7% de l'ensemble. Elle est obtenue par distillation. De couleur jaune, elle est composée d'huiles essentielles volatiles, dont les principaux composés chimiques sont essentiellement des monoterpènes et des sesquiterpènes dont les α - et β -turmerones et α -turmerone pour environ 60% des huiles essentielles, le zingiberène pour 25%, ainsi que d'autres éléments présents en faibles concentrations (atlantone, cinéole, d-phallandrène...) (Sharma et al., 2007).

Les concentrations varient en fonction des régions d'origine des plantes et du moment de la récolte par rapport au cycle végétal (Jayaprakasha et al., 2005; Taikert et Paisooksantivatana, 2009).

II.7.2. La fraction non volatile

La fraction non volatile comprend les curcuminoïdes et d'autres composants.

a. Les curcuminoïdes

La fraction non volatile est constituée de principes pigmentaires, les curcuminoïdes (environ 5 à 8%) riches en molécules phénoliques dont 50 à 60% sont représentés par le mélange de curcumine (diféruoylméthane) à hauteur de 70-76%, de

monodéméthoxycurcumine (16%) et de bisdéméthoxycurcumine (8%) (Figures 6, 7 et 8) (Chattopadhyay et al., 2004 ; Kholi et al., 2005).

Historiquement c'est au début du 19^{ème} siècle que le principe responsable de la coloration du *Curcuma longa* a été isolé et nommé "curcumine" par Vogel et Pelletier en 1815, puis caractérisé chimiquement pour la première fois en 1910 et identifié comme responsable de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait (Chattopadhyay et al., 2004 ; Sharma et al., 2007).

En 1973 Roughley et Whiting ont déterminé sa structure chimique.

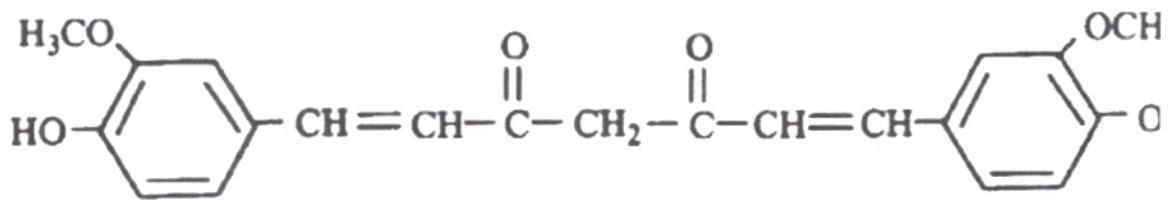


Figure 6 : Structure chimique de la molécule de Curcumine (Vaquier, 2010).

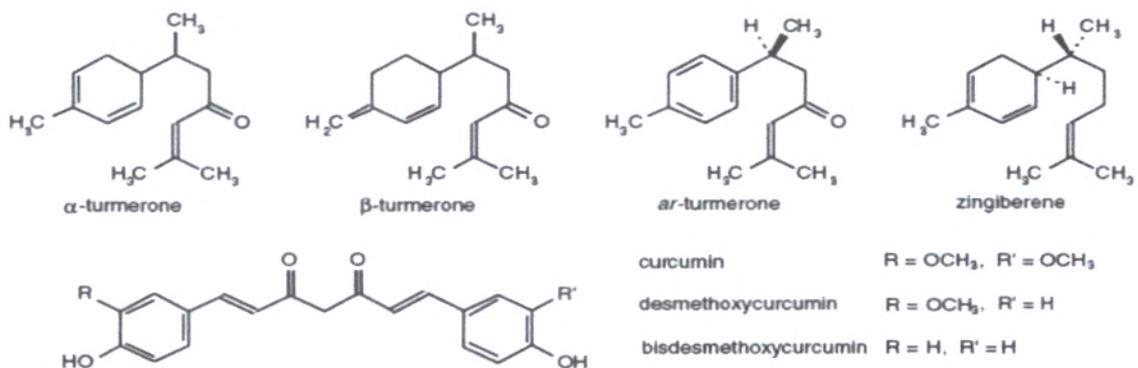


Figure 7 : Structures chimiques des principaux composés présents dans la poudre de *Curcuma longa* (Vaquier, 2010).

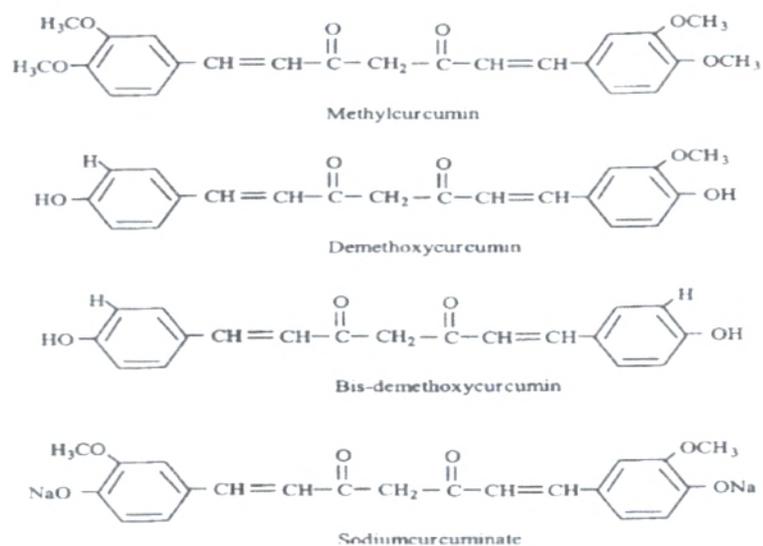
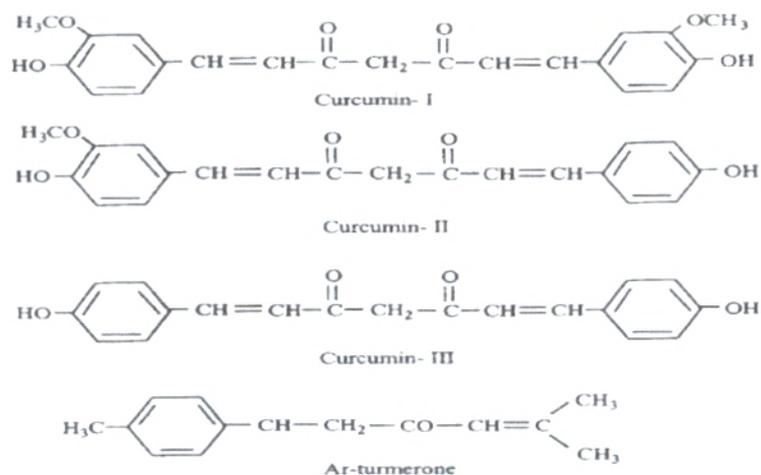


Figure 8 : Structures chimiques des quelques curcuminoïdes naturels (Chattopadhyay et al., 2004).

Les curcuminoïdes constituent la fraction active de l'extrait de *Curcuma*. Ils sont insolubles dans l'eau et doivent être extraits à l'aide de solvants (Jayaprakasha et al., 2005).

Parmi eux, la curcumine est effectivement l'élément majeur du large spectre d'activités attribuées à cette épice. Ses deux dérivés les plus proches (deméthoxycurcumine aussi dénommée curcumine II et bisdeméthoxycurcumine, curcumine III) présentent également une certaine activité biologique; parfois, en fonction des essais menés, le cocktail des 3 dérivés

présente une meilleure activité que celle des dérivés étudiés individuellement (**Jayaprakasha et al., 2005**).

La curcumine est une 1,7-bis-(4-hydroxy-3-méthoxyphenyl)-1,6-heptadiène-3,5-dione, de formule chimique C₂₁H₂₀O₆ (**Cikriçi et al., 2008**). La chaîne principale est aliphatique insaturée (composé carboné acyclique ou cyclique, ici insaturé, à l'exclusion des composés aromatiques) et le groupe aryle (groupement fonctionnel qui dérive d'un noyau aromatique, exemple le benzène) peut être substitué ou non (**Cikriçi et al., 2008**).

Son point de fusion se situe généralement à 176-177°C, mais Cikriçi et son équipe l'ont évalué à 184°C (**Cikriçi et al., 2008**). La curcumine est un polyphénol lipophile, soluble dans l'éthanol, les milieux alcalins, les cétones, l'acide acétique et le chloroforme, quasiment insoluble dans l'eau et assez stable à pH acide comme celui de l'estomac (**Jurenka , 2009 ; Araujo et Leon, 2001**). Ces propriétés physicochimiques sont en cause dans la faible biodisponibilité présentée par la curcumine et que nous évoquerons dans la partie consacrée à l'étude pharmacocinétique.

Elle est le composant majeur des activités biologiques relevées chez *Curcuma longa*. La plupart des préparations de *Curcuma* contiennent entre 2 et 8% de curcumine.

b. Les autres composants

Le rhizome de *Curcuma* est riche en amidon (45 à 55%) et autres glucides (presque 70% en tout). Il contient aussi des protéines, 6,3% dont la turmerine, peptide hydrosoluble (**Sharma et al., 2007**), des lipides à hauteur de 5% environ et 3,5% de minéraux (**Chattopadhyay et al., 2004**).

Chapitre III

Les huiles essentielles

Chapitre III : Les huiles essentielles

III.1. Définition des huiles essentielles

Ce sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveur généralement fortes, extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques, par les méthodes de distillation, par enfleurage, par expression, par solvant ou par d'autres méthodes (**Belaiche, 1979; Valnet, 1984; Wichtel et Anthon, 1999**).

Pour **Bruneton (1999)**, les huiles essentielles (= essences = huiles volatiles) sont « des produits de compositions généralement assez complexes renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation ». La norme française AFNOR NF T75-006 définit les huiles essentielles comme: «un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques » (**Garnero, 1996**).

III.2. Répartition, localisation et fonction des huiles essentielles

Selon **Bruneton (1999)**, les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, les plantes capables d'élaborer les constituants qui composent ces huiles essentielles sont connues sous le nom de plantes aromatiques, réparties dans un nombre limité de familles, exemple : Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées, Apiacées, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées, Pipéracées, etc.

Tous les organes végétaux peuvent renfermer des huiles essentielles en particulier les sommités fleuries (Lavande, Menthe). On les trouve aussi dans les écorces (Cannelier), les racines (Vétiver), les rhizomes (Gingembre, Curcuma), les fruits (Anis, Fenouil, Badiane), le bois (Camphrier), les feuilles (Citronnelle, Eucalyptus), les graines (Muscade) et les boutons floraux (clou de Girofle) (**Belaiche, 1979; Paris et Hurabielle, 1981; Bruneton, 1999; Ghestem et al., 2001**).

Il n'existe pas de règle générale concernant les lieux d'accumulation des métabolites secondaires telles que les huiles essentielles dans l'organisme végétal (**Guignard et al., 1985**). Par contre, la plupart des huiles essentielles se retrouvent dans des glandes. Les structures glandulaires et les cellules sécrétrices isolées peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux, végétatifs et reproducteurs. Plusieurs catégories de tissus sécréteurs

peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe (**Garneau, 2004**).

Les structures anatomiques spécifiques spécialisées dans la sécrétion des huiles essentielles sont très diverses: poches sécrétrices schizogènes (Myrtacées) ou poches sécrétrices schizolyziques (Aurantiacées), des canaux sécréteurs (Conifères et Apiacées), poils sécréteurs (Lamiacées et Astéracées), et cellules sécrétrices isolées (Lauracées, Magnoliacées et Pipéracées) (**Belaiche, 1979; Paris et Hurabielle, 1981; Bruneton, 1999; Ghestem et al., 2001**).

Certains auteurs pensent que les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et favoriseraient ainsi la pollinisation. Ils affirment aussi que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement (**Bruneton, 1999; Abou Zeid, 2000; Guignard, 2000**).

Belaiche (1979) signale que l'utilité des huiles essentielles pour les plantes désertiques est liée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes. Les vapeurs aromatiques permettent de saturer l'air autour de la plante empêchant, le jour, la température de l'air de monter jusqu'à un degré insupportable pour la vie végétale et la nuit de baisser de façon excessive.

D'un autre côté, les essences pourraient constituer des supports à une communication et ce d'autant mieux que leur variété structurale autorise le transfert de messages biologiques sélectifs (**Bruneton, 1999**).

Tandis que **Guignard et al. (1985)** considèrent les huiles essentielles comme une source énergétique par une mise en réserve durant le jour pour être dégradés durant la nuit en acétyl CoA.

III.3. Propriétés physiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des liquides à température ordinaire, d'odeur aromatique très prononcée, généralement incolores ou jaune pâle à l'exception de quelques huiles essentielles telles que les huiles de l'Achillée et les huiles de la Matricaire qui se caractérisent par une coloration bleu à bleu verdâtre, due à la présence de l'azulène et du chamazulène (**Abou Zeid, 2000**).

La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraînable à la vapeur d'eau ; il existe, cependant, des exceptions telles que les huiles

essentiels de Sassafras, de Girofle et de Cannelle dont la densité est supérieure à celle de l'eau. Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire (**Paris et Hurabeille, 1981; Duraffourd et al., 1990; Salle et Pelletier, 1991**).

Une densité inférieure à 0,9 indique la présence, dans ces huiles essentielles, de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques (**Garnero, 1996**).

Les huiles essentielles s'évaporent et se volatilisent à température ambiante. Très peu solubles dans l'eau à laquelle elles communiquent leurs odeurs, cette eau est dite «eau distillée florale». Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques (**Paris et Hurabielle, 1981; Bruneton, 1999; Abou Zeid, 2000; Ghestem et al., 2001**). Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires par exemple les points d'ébullition du caryophyllène, du géraniol, du citral et du α -pinène sont respectivement 260°, 230°, 228° et 156°C (**Abou Zeid, 2000**), mais d'après **Valnet (1984)**, ce point varie de 160°C à 240°C.

Les huiles essentielles s'oxydent facilement à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène, en même temps, leurs odeurs se modifient, leurs points d'ébullition augmentent et leurs solubilités diminuent. Elles absorbent le chlore, le brome et l'iode en dégageant de la chaleur (**Duraffourd et al., 1990**).

III.4. Composition chimique

Comme toutes substances, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers et il en reste beaucoup à découvrir. Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane (**Figure 9**), beaucoup moins fréquents. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (**Bruneton, 1999**).

III.4.1. Les composés terpéniques

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8). Cet isoprène est à la base du concept de

la «règle isoprénique» énoncée par **Ruzicka** en **1953**. Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle (IPP), désigné sous le nom d'isoprène actif comme le véritable précurseur de la molécule terpénique. Les systèmes enzymatiques responsables de cette conversion (IPP en composés terpéniques dans les trois compartiments: cytoplasmes, mitochondries et plastes) sont hydrosolubles ou membranaires. Ces derniers permettent l'élongation de la chaîne isoprénique conduisant à tout l'éventail des composés terpéniques à 10, 15, 20 et 30 atomes de carbones (**Lamarti et al., 1994**). Seuls les terpènes dont la masse moléculaire est relativement faible (mono – et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles (**Bruneton, 1999**) et leur confère un caractère volatil et est à la base de leurs propriétés olfactives (**Pibiri, 2006**).

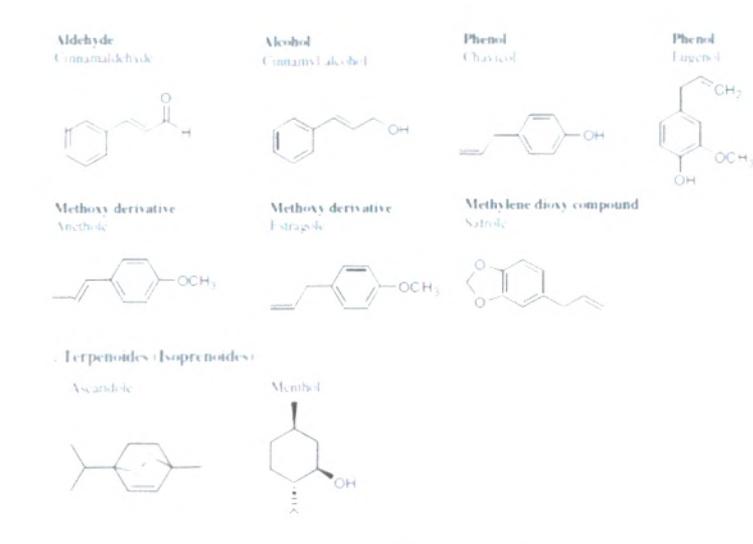


Figure 9 : Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles
(**Bakkali et al., 2008**)

Il convient de souligner que la synthèse des terpènes n'est pas propre aux végétaux. Le squalène, ainsi que son nom l'indique est un terpène abondant chez les requins. Des sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent également chez les spongiaires et les coelentérés (**Guignard, 2000**).

Les terpènes sont constitués d'un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Dans certaines huiles essentielles, les hydrocarbures prédominent (ex. l'essence de Térébenthine) dans d'autres, la majeure partie de l'essence est constituée de composés oxygénés. Il est à noter que l'odeur et le goût des huiles essentielles

sont donnés par ces composés oxygénés. Parmi ces composés oxygénés, on note d'alcools (géraniol, linalol), d'esters (acétate de linalyle), d'aldéhydes (menthone, camphre, thuyone), les cétones, les éthers, les phénols et les peroxydes (**Paris et Hurabielle, 1981; Svoboda et Hampson, 1999**).

III.4.1.1. Les monoterpènes

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est $C_{10}H_{16}$ (**Rahal, 2004**). Ces composés peuvent être: monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques (α - et γ -terpinène, p-cymène) et aux monoterpènes bicycliques (pinènes, camphène, sabinène). Selon **Bruneton (1999)**, la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions: alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols (**Rahal, 2004**).

III.4.1.2. Les sesquiterpènes

Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est $C_{15}H_{24}$ soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes (**Belaiche, 1979**). Ils présentent une grande variété dans les structures conduisant à un nombre élevé de possibilités, ce qui a retardé l'élucidation de leurs structures (**Rahal, 2004**). Les sesquiterpènes peuvent être également, comme les monoterpènes, acycliques (farnésol), monocycliques (humulène, α -zingibèrene) ou polycycliques (matricine, artéannuine, β -artémisinine). Ils renferment aussi des fonctions comme alcools (farnésol, carotol, β -santalol, patchoulol), cétones (nootkatone, cis-longipinane-2.7-dione, β -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) (**Bruneton, 1999 ; Laouer, 2004**).

III.4.2. Les composés aromatiques dérivés du phenylpropane

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phenylpropane (C_6-C_3), mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogenèse est totalement différente (**Paris et Hurabielle, 1981**). Ces composés sont très souvent des allyl- et propenyl phénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiacées (Anis, Fenouil: anéthole, anisaldehyde, méthylchavicol=estragole. Persil : apiole) mais aussi de celles du Girofle (eugénol), de la Muscade (safrol, eugénol), de l'Estragon (eugénol), du Basilic (eugénol), de l'Acore (asarones) ou des

Cannelles (cinnamaldéhyde eugénol safrol). On peut également selon le même auteur, rencontrer dans les huiles essentielles des composés en C₆-C₁ comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'antranilate de méthyle. Les lactones dérivées des cinnamiques (par exemple les coumarines) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaibles par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles (**Bruneton, 1999**).

III.4.3. Les composés d'origines diverses

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares. Enfin, il n'est pas rare de trouver dans les concrètes des produits de masses moléculaires plus importantes non entraînaibles à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants : homologues des phénylpropanes, diterpènes, etc.... (**Bruneton, 1999**). Le composé soufré le plus rencontré est l'allyl-isothiocyanate issu de la dégradation d'un glucoside sinigroside qui se trouve dans les graines de moutarde noire. Ce composé est incolore, fluide et de saveur piquante. Certaines plantes aromatiques produisent des huiles essentielles dont les composés terpéniques renfermant l'élément nitrogène. Parmi ces composés on cite l'indole, qui se trouve dans l'huile essentielle de citron et des fleurs de jasmin (**Abou Zeid, 1988**).

III.5. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

Selon **Djibo et al. (2004)** la présence ou l'absence de certains constituants dans la plante dépend de l'un ou de la combinaison de trois facteurs (le patrimoine génétique, l'âge et l'environnement de la plante). En effet, l'influence des facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité (**Boira et Blanquer, 1998; Palà-paul et al., 2001**), l'altitude, latitude (**Azevedo et al., 2001; Oliveira et al., 2005**) et la nature du sol (**Oliveira et al., 2005; Peng et Yang, 2005; Zheljzkov et al., 2005**) sur la composition chimique et le rendement des huiles essentielles a été décrite. Certains auteurs se sont préoccupés d'autres facteurs tels que le cycle végétatif (**Juteau et al., 2002; Schwob et al., 2004; Yayi et al., 2004; Jordan et al., 2006; Sefidkon et al., 2007**), l'âge et l'organe végétal (**Skoula et al., 1996; Silvestre et al., 1997; Mockute et Judzentiene, 2003; Laouer, 2004**), la période de récolte (**Angelopoulou et al., 2002; Cavaleiro et al., 2003; Madeira et al., 2005; Randrianalijaona et al., 2005**)

les parasites, les virus et les mauvaises herbes (Svoboda et Hampson, 1999; Smallfield, 2001) qui influent sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles.

C'est ainsi que l'action des huiles essentielles est le résultat de l'effet combiné de leurs composés actifs et inactifs, ces composés inactifs pourraient influencer la disponibilité biologique des composés actifs et plusieurs composants actifs pourraient avoir un effet synergique (Svoboda et Hampson, 1999).

Le rendement et la composition chimique des huiles essentielles varient également en fonction de la méthode d'extraction (khajeh et al., 2004 et 2005; Viljoen et al., 2006; Sefidkon et al., 2007). D'un autre côté, la durée de séchage affecte aussi bien le rendement que la composition (Yayi et al., 2004).

Les conditions principales requises pour une production rentable en huile essentielle sont : un bon matériel végétal, la variété de la plante, le sol, l'équipement de distillation et le climat (Smallfield, 2001).

➤ Chémotype

La composition chimique des huiles essentielles de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce. En effet une même plante aromatique, botaniquement définie, synthétise une essence qui sera biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développera ; ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes, types biogénétiques, races chimiques ou races biologiques. Biochimiquement différent, deux chémotypes présenteront non seulement des activités thérapeutiques différentes mais aussi des toxicités très variables (Baudoux, 1997). La non-connaissance de cette notion capitale et le manque de précision laissent la porte ouverte aux échecs thérapeutiques et à la toxicité de certaines d'entre elles (Laouer, 2004).

On voit, selon Bruneton (1999), l'importance qu'il y a pour assurer la qualité du produit et sa constance, à étudier, définir, et contrôler l'ensemble des paramètres, de la culture à l'élaboration du produit final. Donc, toute généralisation s'avère hasardeuse.

III.6. Toxicité des huiles essentielles

Les HE sont des molécules actives. Elles peuvent avoir de graves effets secondaires. Il est important de respecter la posologie et la durée de la prise. Parmi ces effets, citons : des allergisants ou hypersensibilisants, photosensibilisants dus aux furocoumarines, neurotoxiques dus aux cétones, néphrotoxiques dus aux terpènes majoritaires dans l'huile essentielle de

Térébenthine et des rameaux de Genévrier, hépatotoxiques dus aux phénols pris pendant des laps de temps trop importants ou à doses massives L'eugénol, qui est l'un des constituants du Thym, est hépatotoxique. Chez l'enfant, 10 ml eugénol peut conduire à une insuffisance rénale. Il a été démontré que le linalol, l'un des constituants d'une autre espèce de thym, est cytotoxique pour les cellules de la peau humaine (Elkolli, 2008).

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aigüe par voie orale faible ou très faible : la majorité des huiles qui sont couramment utilisées ont une dose létale (DL50) comprise entre 2 et 5 g/kg (Anis, Eucalyptus, Girofle...etc.) ou, ce qui est le plus fréquent, supérieure à 5 g/kg (Camomille, Lavande...etc.). D'autres, une quinzaine, ont une DL50 comprise entre 1 et 2 g /kg : Basilic, Estragon, Hysope (1,5ml/kg). Les plus toxiques sont les huiles essentielles de Boldo (0,13 g/kg ; convulsions apparaissant dès 0,07 g/kg), de Chénopode (0,25 g/kg), de Thuya (0,83 g/kg), ainsi que l'essence de moutarde (0,34 g/kg) (Bruneton, 1999).

III.7. La filière des huiles essentielles

Les plantes aromatiques donnent les huiles essentielles (HE), essences destinées à l'utilisation industrielle. Ces HE ne sont pas forcément des produits finaux dans la mesure où, une fois produites, elles peuvent servir d'intrants à la fabrication de plusieurs produits.

Selon **Grysole (2004)** les huiles essentielles sont destinées à quatre grands secteurs industriels :

➤ Secteur parfumerie et cosmétique

L'utilisation des huiles essentielles comme base dans la fabrication de parfums constitue une pratique courante depuis des siècles dans la plupart des civilisations. L'Europe et les Etats-Unis ont développé des industries importantes qui démarquent par leur haut niveau d'exportation dans ce domaine. La consommation d'huiles dans ce secteur se caractérise par le besoin d'une très grande variété de produits, de quantités relativement faibles et de prix souvent élevés.

➤ Secteur parfumerie technique

La parfumerie technique (qui comprend les produits d'entretien ménager domestiques ou industriels) a également recours aux huiles essentielles pour l'image de propreté à laquelle elles sont associées, mais aussi parfois pour leurs propriétés antiseptiques. Par exemple, la citronnelle dégage un parfum qui indique au visiteur que l'endroit a été fraîchement lavé.

Dans ce secteur, l'industrie consomme de grandes quantités d'huiles, au meilleur prix possible, car l'industrie désire garder le prix de revient de son produit au minimum.

➤ **Secteur alimentaire**

L'industrie alimentaire utilise les huiles essentielles pour rehausser le goût des aliments, pour parfumer et colorer. Le secteur des boissons gazeuses s'avère un gros consommateur d'huiles. Aussi, les fabricants d'aliments préparés les utilisent de plus en plus parce que le nombre de produits augmente et le consommateur recherche d'avantage les produits avec des ingrédients naturels. Dans ce secteur, les volumes d'huiles essentielles peuvent être très importants. L'huile la plus utilisée dans le monde est l'huile essentielle d'orange.

➤ **Secteur médicinal**

Dans le domaine de la santé, il faut distinguer le secteur pharmaceutique de celui des médecines douces. Dans ce deuxième secteur, les vertus thérapeutiques des huiles sont reconnues et utilisées depuis des siècles dans beaucoup de pays. En effet, ce marché a donné naissance à une industrie des produits naturels comme les produits homéopathiques. Cette industrie, très développée en Europe, bénéficie d'un attrait croissant de la part des consommateurs non seulement en Europe mais aussi en Amérique du Nord. De plus, les produits naturels avec effets thérapeutiques ont attiré l'attention des divers groupes pharmaceutiques.

Les huiles à utilisation médicinale peuvent être vendues pures en petits flacons ou sous forme de vaporisateurs, de pastilles, de bonbons... ces huiles peuvent également être utilisées comme inhalant pour soulager les difficultés respiratoires, comme dentifrice (dans l'eau), ainsi que pour rafraîchir ou soulager la gorge (**Grysole, 2004**). Par conséquent, les huiles essentielles ont une variété d'applications et, dans bien des cas, la même huile peut être recherchée pour des propriétés différentes selon les secteurs industriels. Les propriétés médicinales des HE sont nombreuses, mais chacune possède ses vertus particulières (**Nicole, 1996**).

III.8. Les modes d'action des huiles essentielles comme biopesticides

Les huiles essentielles ont été testées sur différentes cibles en protection des cultures : les insectes, les micro-organismes (champignons et bactéries), les adventices et aussi en protection des semences (**Furet et Bellenot, 2013**).

➤ Les insectes

Les activités des huiles essentielles décrites sur les insectes sont variées : larvicides, adulticides, répulsifs ou inhibiteurs de croissance. La plupart des huiles essentielles agissent en perturbant la structure de la membrane cellulaire mais, pour certaines, des effets neurotoxiques ont pu être mis en évidence, dus à des interactions avec des neurotransmetteurs tels que le GABA (acide gamma-aminobutyrique) et l'octopamine, ou par inhibition de l'acétyl cholinestérase. Enfin, certaines huiles essentielles peuvent potentialiser l'action d'autres molécules en inhibant les cytochromes P450 qui, normalement les détoxifient.

Par leur volatilité et leur petite taille, beaucoup des constituants des huiles essentielles interagissent avec les récepteurs d'odeur des insectes, déclenchant des comportements variés : fuite, attraction, oviposition, etc (**Regnault-roger, 2012**).

➤ Les micro-organismes

La grande majorité des études sur l'activité antibiotique des huiles essentielles porte sur les micro-organismes pathogènes pour l'homme ou qui altèrent sa nourriture. Les huiles essentielles les plus efficaces sont riches en phénols (thymol, carvacrol, eugénol) ou en aldéhyde cinnamique, bien que quelques alcools (linalol, terpinène-4-ol...) montrent dans certains cas une activité intéressante (**Lang et Buchbauer, 2012**).

Un article récent (**Vidyasagar et al., 2013**), fait le point sur les huiles essentielles ayant démontré, au laboratoire, des activités intéressantes contre des champignons pathogènes des cultures. Les champignons étudiés appartiennent aux genres suivants : *Botrytis*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Pythium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Pyricularia*, *Rhizoctonia*, *Cladosporium*, *Lasiodiplodia*, *Phomopsis*, *Rhizopus*...

➤ Les adventices

Les études publiées sur l'activité des huiles essentielles comme herbicides sont nombreuses et recouvrent généralement des tests d'inhibition de germination de graines. Celles qui paraissent les plus actives sont des huiles essentielles à phénols (thymol, carvacrol), à cétones (carvone, pulégone) ou à étheroxydes (eucalyptol ou 18-cinéol) (**Soltys et al., 2013**).

Les produits commercialisés aux USA sont majoritairement des herbicides de contact qui agissent en dissolvant la cuticule recouvrant les feuilles, ce qui entraîne la mort des cellules.

Cet effet ne dure pas longtemps, ce qui nécessite des applications fréquentes, à doses assez élevées (50 à 500 l/ha d'huile essentielle) (Soltys et al., 2013).

Certains composés issus d'huile essentielle agissent différemment. Par exemple, la leptospermone de l'huile essentielle de *Leptospermum scoparium* s'est révélée être un puissant inhibiteur de la HPPD (ou phydroxyphenylpyruvate dioxygenase), qui entraîne une décoloration et un flétrissement des adventices. Elle est efficace en pré et post levée des adventices (sétaire, avoine, moutarde brune, rumex crépu, panic pied-de-coq, digitale sanguine, amarante réfléchie) mais il en faut 9 kg/ha pour un contrôle satisfaisant (Dayan et al., 2011). L'huile essentielle de *Leptospermum* est plus active que la leptospermone pure et des études récentes (2013) ont mis en évidence la circulation de cette molécule dans la digitale sanguine (Owens et al., 2013). Des molécules de synthèse de structure proche (sulcotrione et mésotrione par exemple) ont été développées avec des efficacités 100 fois supérieures (Soltys et al., 2013).

III.9. Une réglementation complexe

Malgré leur image de produits naturels, les huiles essentielles ne sont pas dépourvues de toxicité. Elles font donc l'objet de nombreuses réglementations, variables selon le secteur d'utilisation. La partie « contexte réglementaire » des recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament fait le point à ce sujet pour les secteurs cosmétique, alimentaire et pharmaceutique (Desmares et al., 2008).

Pour être utilisées en protection des cultures, les huiles essentielles doivent suivre la réglementation des produits phytopharmaceutiques, à savoir le règlement 1107/2009 (Anonyme, 2009). Ce règlement fixe les exigences à respecter pour faire homologuer un produit phytosanitaire en Europe : il faut d'abord que l'huile essentielle soit autorisée en tant que substance active au niveau européen.

Pour inscrire une huile essentielle en Europe, 3 solutions existent avec chacune des exigences bien spécifiques :

- l'inscription en tant que **substance active classique**. C'est la démarche qui s'applique à tout produit phytosanitaire ; elle nécessite un dossier dont le coût est très élevé (Anonyme, 2009).

- l'inscription en tant que **substance à faible risque**. Une substance est dite « à faible risque » lorsqu'elle n'est ni un CMR (cancérogène, mutagène, reprotoxique), ni un produit

chimique sensibilisant, ni une substance toxique ou très toxique, ni explosive, ni corrosive, ni persistante (demi-vie dans le sol < 60 jours), n'ayant pas un facteur de bioconcentration > 100, ni perturbateur endocrinien, sans effets neurotoxiques ou immunotoxiques (**Anonyme, 2009**).

• l'inscription en tant que **substance de base**. Est considérée comme substance de base une substance qui n'est pas préoccupante, et qui n'a pas d'effet perturbateur endocrinien, neurotoxique ou immunotoxique. Une substance de base est considérée comme étant utile dans la protection des cultures. Elle doit en outre être utilisable soit telle quelle, soit suite à un procédé simple de traitement (**Anonyme, 2009**).

Aujourd'hui, les denrées alimentaires peuvent être considérées comme des substances de base. La substance de base est autorisée en Europe pour une durée illimitée (**Anonyme, 2009**).

III.10. La conservation des huiles essentielles

A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière, les huiles essentielles doivent être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement (**Valnet, 1984; Salle et Pelletier, 1991**).

III.11. Procédés d'extraction des huiles essentielles

De tous temps, on connaît les vertus des «essences de plante» et on s'efforça de les extraire depuis la plus haute antiquité. C'est vers le 13^{ème} siècle, en Europe, plus précisément dans le Sud de la France, au royaume des parfums, que l'on a commencé à explorer diverses méthodes d'extraction de ces huiles volatiles (**France-Ida, 1996**). Connaissant mieux les constituants des huiles, des techniques se sont développées visant à optimiser la qualité de l'huile tout en maintenant un rendement intéressant. La distillation est de loin, le procédé le plus utilisé pour l'extraction des huiles essentielles.

➤ **La distillation**

La distillation peut être définie comme étant la séparation des constituants d'un mélange de deux ou plusieurs composants en fonction de leur température de passage à l'état gazeux (ébullition ou sublimation). La distillation peut s'effectuer avec recyclage de l'eau de distillation (cohobation), ou sans recyclage. La production des huiles essentielles se ferait donc en deux étapes : la diffusion de l'huile essentielle de l'intérieur des tissus vers la surface du matériel végétal, et l'évaporation et entraînement à la vapeur d'eau (**Benjilali, 2004**).

Le principe de la distillation repose sur la propriété qu'ont les huiles essentielles d'être volatiles sous l'effet de la chaleur, l'huile est alors entraînée par la vapeur d'eau. Après condensation, l'huile essentielle se sépare du distillat par décantation (**Bruneton, 1999**).

Il existe deux méthodes de base de distillation pour l'obtention des huiles essentielles qui reposent sur le même principe : entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau. La différence entre eux réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal (**Benjilali, 2004**) :

➤ L'hydrodistillation

Le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. Lorsque le végétal est broyé on parle de turbo distillation. Selon **Bruneton (1999)**, l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**Figure 10**). Les inconvénients de cette méthode sont : la calcination du matériel végétal, ce qui entraîne une modification de la composition et des caractéristiques chimiques de l'huile essentielle (**Abou Zeid, 2000**), La non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation (**Chalchat et al., 1997**).

Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées. Parmi les huiles extraites par cette méthode, on cite l'huile de menthe, de myrte et de l'herbe à citron (**Haekel et Omar, 1993**).

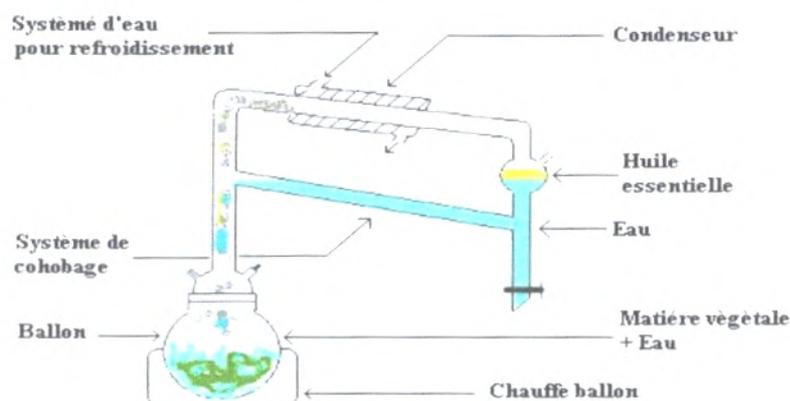


Figure 10 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation des huiles essentielles
(**Hernandez Ochoa, 2005**)

➤ La distillation à la vapeur

Distillation à la vapeur saturée : «vapo-hydrodistillation» : c'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences, surtout si elles sont destinées à des fins thérapeutiques (**Bego, 2001**). Le matériel végétal, dans ce cas, n'est en contact avec l'eau, se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (**Benjilali, 2004; Belaiche, 1979**).

Cette méthode est utilisée dans la distillation à partir de plantes fraîches telles que la menthe et le myrte et les plantes qui portent leurs huiles essentielles dans les feuilles qui sont cueillies puis partiellement coupées ensuite portées au dispositif de distillation. Puisque la plante fraîche est riche en eau, donc il n'est pas nécessaire de l'immerger (**Haeckel et Omar, 1993**).

Distillation à la vapeur directe : c'est une variante de l'entraînement à la vapeur qui consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0.02-0.15 bar) à travers la masse végétale du haut vers le bas, en utilisant la pesanteur comme force de déplacement de la vapeur, la composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie ; ce procédé est appelé distillation par hydrodiffusion (**Benjilali, 2004; Bruneton, 1999**). Il découle des recherches de **Fathy et al. (1965)**, **Rudolf (1968)**, de **Vernon et Richard (1976)** que l'entraînement à la vapeur d'eau est préférable à l'hydrodistillation du fait qu'elle permet une extraction totale des huiles essentielles en améliorant le rendement de 33% par rapport à l'hydrodistillation.

➤ L'extraction par enfleurage

Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Il consiste à déposer des pétales de fleurs fraîches sur des plaques de verre recouvertes de minces couches de graisse (graisse animale type saindoux). Selon les espèces, l'absorption des huiles essentielles des pétales par le gras peut prendre de 24 heures (Jasmin) à 72 heures (Tubéreuse). Les pétales sont éliminées et remplacées par des pétales fraîches jusqu'à saturation du corps gras. On épuise ce corps gras par un solvant que l'on évapore ensuite sous vide (**Belaiche, 1979; France Ida, 1996**). Pour certaines plantes, on procède à

une immersion des fleurs dans de la graisse chauffée, c'est ce que l'on appelle enflourage à chaud ou «digestion» (**Bruneton, 1999**).

Cette méthode appelée également macération à chaud par d'autres auteurs est surtout utilisée pour les fleurs délicates qui perdent leurs arômes très rapidement après la cueillette, comme les violettes et certains lys (**France-Ida, 1996**). Cette technique laborieuse, qui demande une grande habileté, est de moins en moins employée au profit de l'extraction par les solvants, en raison de son faible rendement et de l'importante main d'œuvre qu'elle nécessite (**Abou Zeid, 1988**).

➤ L'extraction par les solvants volatiles

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles. Dans ce procédé, un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé «concrète». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à «l'absolue» (**Belaiche, 1979; Duraffourd et al., 1990**). Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité (pouvoir du solvant à l'égard des constituants odorants), stabilité, inertie chimique, température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale, pas trop faible pour éviter les pertes et donc une élévation des coûts, sécurité de manipulation c'est à dire non toxique ou inflammable. Les solvants les plus utilisés sont les hydrocarbures aliphatiques : l'éther de pétrole et l'hexane, mais aussi le propane ou le butane liquide (sous pression). Si le benzène est un bon solvant, sa toxicité limite de plus en plus son utilisation. On a également recours aux solvants halogénés (dérivés chlorés et fluorés du méthane et de l'éthane) ainsi qu'à l'éthanol. Après l'extraction, le solvant est distillé et en fin de l'opération, le solvant qui imbibe la masse végétale est récupéré par injection de vapeur d'eau dans celle-ci (**Bruneton, 1999**).

L'extraction par les solvants présente toutefois des contraintes diverses liées en premier lieu au manque de sélectivité de ces produits : de nombreuses substances peuvent de ce fait se retrouver dans les concrètes (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, certaines coumarines) et imposer une purification ultérieure, et en second lieu, à la toxicité des solvants et leur présence sous forme de traces résiduelles dans l'extrait final (**Bruneton, 1999**). En effet, **Viaud (1993)** affirme que des analyses sérieuses, par les méthodes les plus modernes, montrent que les proportions de solvants résiduels dans les concrètes se situent entre 2 et

4% atteignant souvent 6% et même parfois 25%. Les absolues obtenues par lavage à l'alcool des concrètes contiennent encore des ppm importantes de ces solvants. De telles huiles ne sont donc pas admissibles à l'usage médical par contre, elles sont admissibles en parfumerie.

➤ **L'extraction par expression manuelle**

L'essence, altérable par entraînement à la vapeur d'eau, est ici extraite du péricarpe frais d'agrumes par différents modes d'extractions : dans l'industrie, les zestes sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices est récupéré par expression manuelle ou à l'aide de machines qui rompent les poches par expression et recueillent directement l'huile essentielle (**Bruneton, 1999**); ou encore après scarifications mécaniques, un entraînement de l'huile essentielle par un courant d'eau. L'essence est séparée par décantation comme précédemment décrit (**Paris et Hurabielle, 1981**). Cette méthode artisanale est totalement abandonnée au bénéfice des machines utilisées pour permettre l'extraction des jus des fruits d'une part, et d'essence d'autre part (**Belaiche, 1979**).

➤ **L'extraction par micro-ondes**

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances (**Paré, 1997**). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait (**Figure 11**). L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes (**France Ida, 1996**). Ce procédé, très rapide et peu consommateur d'énergie, livre un produit qui, est le plus souvent, de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (**Bruneton, 1999**). Par ailleurs, l'analyse des huiles essentielles obtenues par cette méthode a montré selon **Scheffer (1996)** que la composition qualitative des huiles essentielles était la même que celle des huiles obtenues par distillation mais le pourcentage des constituants variait de manière significative.

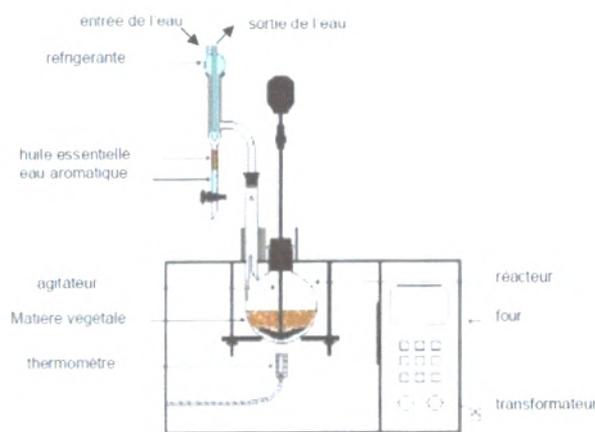


Figure 11 : Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes (**Lagunez-Rivera, 2006**)

➤ Extraction par ultrasons

Les micro-cavitations, générées par ultrasons, désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines celluloses. Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation, des constituants des huiles essentielles. L'extraction par les ultrasons est une technique de choix, pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction inférieures au point d'ébullition. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée d'extraction, d'augmenter le rendement en extrait et de faciliter l'extraction de molécules thermosensibles (**Lagunez-Rivera, 2006**).

➤ Extraction au fluide supercritique

Procédé relativement nouveau semblait à priori intéressant pour augmenter le rendement dans le cas de plantes peu riches en huiles essentielles. Il utilise les fluides à l'état supercritique pour extraire les composants contenus dans les végétaux. En effet, dans des conditions particulières de température et de pression situées au-delà du point critique, les fluides à l'état supercritique acquièrent des propriétés importantes qui se caractérisent par une bonne diffusibilité dans les matières solides et un bon pouvoir solvant. C'est ainsi que plusieurs gaz sont actuellement utilisés industriellement, mais l'intérêt s'est porté tout particulièrement sur le dioxyde de carbone CO₂ car, celui-ci présente d'incontestables atouts : produit naturel, inerte chimiquement, ininflammable, non toxique, facile à éliminer totalement, sélectif, aisément disponible et peu coûteux (**Bruneton, 1999; Wichtl et Anton, 1999**).

L'extraction au fluide supercritique consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au-delà de son point critique ($P=72.8$ bars et $T= 31.1^{\circ}\text{C}$). Le fluide ainsi obtenu traverse le produit à traiter et le charge en composé à extraire ensuite, il est détendu et passe en phase gazeuse et finalement se sépare du composé extrait. L'extraction des huiles essentielles par le CO_2 supercritique fournit selon **Scheffer (1996)** des huiles de très bonne qualité et en temps d'extraction relativement court par rapport aux méthodes classiques. **Bruneton (1999)** précise aussi que cette méthode est utilisée maintenant pour préparer des extraits d'épices (gingembre, paprika, céleri), des arômes (thé noir, bois de chêne fumé) et des essences végétales pures (débarrassées des terpènes, dépourvues d'intérêts olfactifs et oxydables, ou privées de certains constituants) et que les produits obtenus par cette technique ont une composition proche de celle des produits naturels et ne comportent aucune trace résiduelle de solvant, contrairement à ce que l'on peut obtenir avec des solvants ordinaires.

En conclusion, il n'existe pas de procédé meilleur que d'autres. Chaque végétal, chaque partie du végétal, et l'utilisation du produit obtenu commandent la technologie à employer. Bien entendu, les aspects de rentabilité économique sont tout aussi importants (**Collin, 2000**).

III.12. Les huiles essentielles de *Curcuma longa*

III.12.1. Composition chimique

Les huiles essentielles de *Curcuma* fraîche est caractérisée par la présence majoritaire de cétones sesquiterpéniques avec ar-turmérone et des isomères représentant plus de 70% de la composition totale. On note ensuite la présence de quelques monoterpènes (alpha-phellandréne, limonène), de monoterpènes (1,8 cineole) (**Iemesle, 2007**). Ils sont responsables du goût et de l'activité antibactérienne de la substance (**Faivre, 2007**).

Elle contient aussi des polyphénols dont la teneur dans la poudre est de 3 à 6% (**Wolf, 2007**). Ces molécules se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (**Nguyen et al., 2007**).

La curcumine [1,7-bis (4-hydroxy-3-méthoxyphenyl)- 1,6-heptadiène-3,5-dione] diferuloylméthane ($\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_6$) est une molécule dérivée. C'est un composé phénolique naturel extrait du rhizome de *Curcuma*, couramment utilisé depuis des siècles comme épice jaune dans les produits cosmétiques dans la médecine chinoise (**Faivre, 2007; Bharat et al., 2008; Debye et al., 2008; Hung et al., 2008; Song et al., 2009**).

Chimiquement, bien qu'elle contient 70 à 75% de diféruloylméthane, la curcumine est composée d'environ 17% et 3% de déméthoxycurcumine (DMC) et de bisdéméthoxycurcumine (BDMC) respectivement, connus sous le nom de curcuminoïdes. Ces derniers, ayant une structure voisine (**figure 06, Page 19**), appartiennent à la famille des diarylheptanoïdes (**Portes, 2008**).

Outre ces constituants, le curcuma est composé de près de 6% de protéines, 5 à 10% de lipides (**Divakaruni, 2006**) et des polysaccharides dérivés de l'arabinolactane facilitant l'absorption intestinale et jouant le rôle de «prébiotique» (**Faivre, 2007**).

III.12.2. L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Curcuma longa*

La fraction huileuse de *Curcuma longa* et la curcumine suppriment la croissance de plusieurs bactéries comme *Streptococcus*, *Staphilococcus*, *Lactobacillus*... (**Chattopadhyay et al., 2004; Araujo et Leon, 2001**).

L'extrait aqueux aurait des effets antibactériens, et la curcumine pourrait prévenir la croissance d'*Helicobacter pylori*, *in vitro* (**Chattopadhyay et al., 2004**).

L'activité antibactérienne a été déterminée pour l'extrait de *curcuma* et la curcumine pure. Aucun des échantillons n'a eu d'activité contre les bactéries gram négatives *E. Coli* et *Pseudomonas aeuroginosa* (**Cikrici et al., 2008**). Wessler a conclu au très fort pouvoir antibactérien de la curcumine face au germe gram négatif *Neisseria gognorrhoeae* (**Wessler et al., 2005**).

Une modeste activité a été mesurée pour *S. aureus* et *E. feacalis*. Quelques signes positifs face à des mycobactéries non tuberculeuses, telles que *M. smegmatis*, *M. terrae*, *M. simiae*, *M. kansasii*, *M. szulgai* (**Cikrici et al., 2008**).

III.12.3. L'activité antioxydante des huiles essentielles de *Curcuma longa*

Cikrikci et al., 2008 ont mesuré par la méthode CUPRAC (cupric reducing antioxidant capacity) l'activité d'échantillons d'extraits de curcuma ou de curcumine pure. Ils concluent que tous les extraits ainsi que la curcumine pure ont une très bonne activité antioxydante.

La curcumine est un des antioxydants les plus puissants; certains la disent 10 fois plus forte que la vitamine E (**Lucie, 2010**).

Chapitre IV

Matériels et méthodes

Chapitre IV: Matériels et méthodes

IV.1. Matériel végétal

IV.1.1. Provenance de l'espèce

Les rhizomes séchés de *Curcuma longa* Linn proviennent d'un seul épicier de la région de Tlemcen (un seul échantillon).

IV.1.2.Extraction des huiles essentielles

La distillation reste la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composées d'arômes du fait qu'elle produit des substances volatiles et exigeant une technologie relativement simple, donc un cout plus bas ainsi qu'une reproductibilité facilement contrôlable (**Bendjilali, 2004**).

L'extraction a été effectuée au niveau du laboratoire pédagogique du département d'Agronomie, Université de Tlemcen par hydrodistillation sur un appareil de type Clevenger (**Clevenger, 1928**).

➤ Mise en œuvre pratique

Le matériel végétal séché est soumis à une hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type Clevenger (**photo 01**). Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale séchée (rhizome de *curcuma* découpé en petits morceaux puis moulu) dans un grand ballon en verre, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon et éviter les débordements de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupérée puis conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4-5 C°). L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition

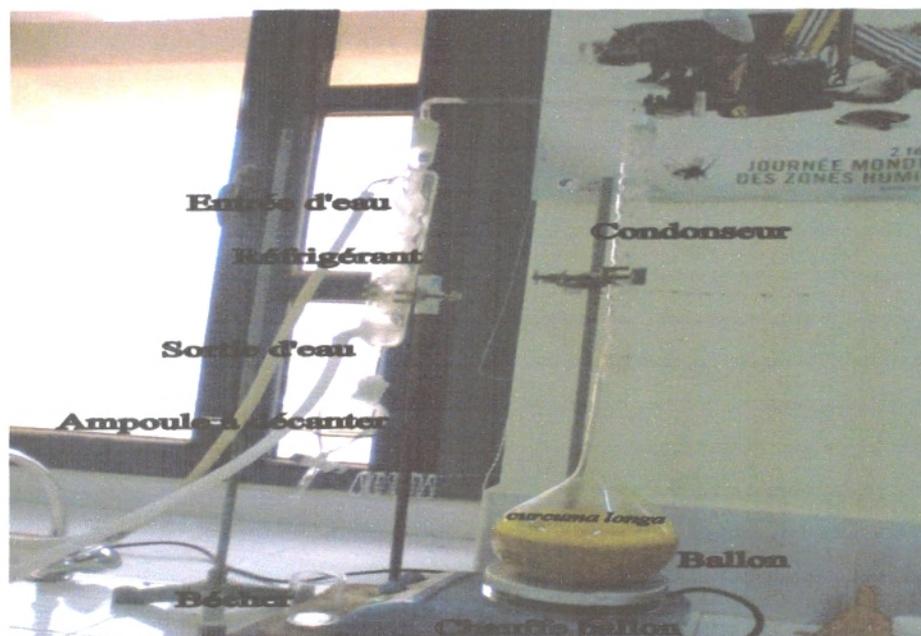


Photo 01 : Montage de l'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle

➤ Expression des résultats

Calcul du rendement

Le rendement en HE est le rapport entre le poids d'HE extraite et le poids de la biomasse végétale à traiter. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R = (P_h / P_v) \times 100$$

R = rendement en huile essentielle en % ;

P_h = poids de l'huile essentielle en gramme ;

P_v = poids de la biomasse végétale en gramme.

IV.2. Etude de l'activité antifongique

L'activité antifongique d'huile essentielle de *Curcuma longa* est réalisée par technique de diffusion en puits au niveau du laboratoire pédagogique du département des sciences Agronomique et des forêts de l'université de TLEMCEM.

IV.2.1. Matériel fongique

Les deux champignons utilisés dans ce travail sont des espèces parasite de plantes responsable de la **pourriture grise**, une maladie cryptogamique qui sévit sur plusieurs cultures d'intérêt agronomique majeur comme la vigne, le tournesol, la tomate, la fraise ont été choisis pour les dégâts considérables qu'ils causent aux produits dérivés :

- *Botrytis cinerea*
- *Fusarium oxysporum*

Ces deux souches fongiques appartiennent du Laboratoire de Microbiologie du de l'université de MOSTAGANEM. Elles sont régulièrement entretenues par repiquage sur le milieu nutritif PDA (Potato Dextrose Agar).

IV.2.2. Milieux de culture

Suivant la méthode employée et selon les souches fongiques étudiées, nous avons utilisé les milieux de culture suivants :

- PDA (Potato Dextrose Agar) : qui est un milieu de culture propice pour la croissance d'une large gamme des champignons phytopathogènes à étudier et qui se prépare selon la méthode suivant :

1. Prendre 39 gr de PDA de synthèse ;
2. Le mélanger à 1 l d'eau distillée ;
3. Secouer doucement jusqu'à obtenir un mélange homogène ;
4. Auto - clavé sous une pression de 1,4 bar à la température de 125°C durant 15 minutes ;
5. Laisser refroidir un peu sous le hotte, puis couler la solution sur les boîtes de Pétri ;
6. Laisser sécher pendant 24 à 48 heures (**impion, 2011**).

- Bouillon cœur-cerveille (BHIB) : pour la revivification des souches avant chaque essai avec l'incubation dans l'étuve pendant 18 heures à 37°C.

IV.3. Méthode de diffusion en puits

Couler aseptiquement le milieu de culture PDA en surfusion dans les boites de pétri subdiviser en trois zones avec le marqueur, à raison de 15 ml par boite. On laisse refroidir et solidifier sur la pailasse, puis ajouter 100 µl de germe pathogène, et ensuite étalé à la surface du milieu PDA à l'aide d'un râteau (**Lamamra, 2010**).

Creuser des puits de 6 mm de diamètre à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Dans le but d'éviter la diffusion des extraits sous la gélose et en remplit chaque puits comme suit :

1^{er} puits : 5 µl d'HE de *Curcuma longa* ;

2^{ème} puits : 10 µl d'HE de *Curcuma longa* ;

3^{ème} zone : 20 µl d'HE de *Curcuma longa*.

L'expérience est répétée trois fois pour chaque champignon afin de minimiser l'erreur expérimentale et garantir un bon déroulement de la méthode.

L'incubation des boites est faite à 37 °C pendant 24h.

➤ Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des huiles essentielles (**Lamamra, 2010**).

Chapitre V

Résultats et discussion

Chapitre V : résultats et discussion

V.1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle extraite

L'huile essentielle de *Curcuma longa* L est très aromatique. Elle est liquide et de couleur jaune. Les caractères organoleptiques de cette espèce végétale sont reportés dans le (tableau 1).

Tableau 1 : caractères organoleptiques de l'HE de *Curcuma longa* L.

H.E de	Couleur	Aspect	Odeur	Saveur
<i>Curcuma longa</i> <i>Linn</i>	Jaune vif	liquide	Aromatique âcre	Fortement piquante, caractéristique de la plante

V.2. Teneur en huiles essentielles

Les rendements en huiles essentielles sont représenté sur (tableau 2) et (figure 12) ils ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche des rhizomes.

Tableau 2: le rendement d'huile essentielle de *Curcuma longa* L.

Date d'essai	Poids de la matière sèche	La durée (heure)	Poids de l'huile essentielle (g)	Le rendement
06-03-2013	100g	3	1.1g	1.1%
07-03-2013	100g	3	0.8g	0.8%
20-03-2013	100g	3	0.7g	0.7%
20-03-2013	100g	3	1.2g	1.2%
21-03-2013	100g	3	1g	1%
La moyenne				0.96
L'écart type				0.18

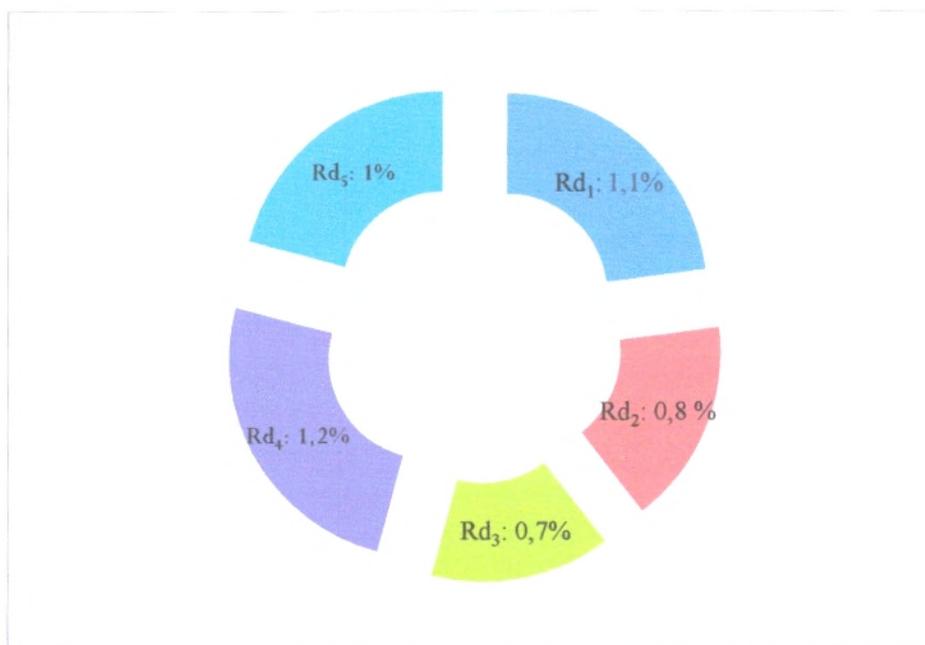


Figure 12 : rendement (%) de l'huile essentielle de *Curcuma longa* L.

Notre rendement en huiles essentielles de *Curcuma longa* L est de l'ordre de 0.96 ± 0.18 (tableau 2).

La teneur en huiles essentielles de *curcuma longa*, obtenue par **Loc et al. (2008)** est nettement supérieur au nôtre (1.51%), or les travaux réalisés par **Eigner et Scholz (1999)** sur cette même espèce leurs ont permis d'obtenir un rendement en huile essentielle largement supérieur au nôtre (5.8%).

Par ailleurs, l'extraction par des solvants volatils de l'huile essentielle de *Curcuma* effectuée par **Manzan et al. (2003)** leur ont permis d'obtenir (5.49%) et (0.46%) par hydrodistillation.

Ces observations nous permettent de supposer que les différences de teneurs en huile essentielle de *Curcuma* sont dues à plusieurs facteurs : l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), l'espèce végétal elle-même, l'organe végétal, le stade de la croissance, la période de cueillette, la conservation du matériel végétal et la méthode d'extraction. (**Granger et al., 1973; Rosua et Granados, 1987; Fournier et al., 1989; Haeckel et Omar, 1993; khajeh et al., 2004 et 2005; Viljoen et al., 2006; Sefidkon et al., 2007**).

V.3. Résultats de l'étude de l'activité antifongique par la méthode de puits

V.3.1.1. Activité des HE antifongique vis-à-vis *Botrytis cinerea*

Botrytis cinerea est un champignon phytopathogène haploïde de la famille des Sclerotiniaceae, de la division des Ascomycota. Il est responsable de la **pourriture grise**, une maladie cryptogamique qui sévit sur plusieurs cultures d'intérêt agronomique majeur comme la vigne, le tournesol, la tomate, la fraise. C'est un champignon également responsable de la **pourriture noble** qui permet d'obtenir certains vins liquoreux, comme le sauternes ou le tokaj (Walker, 2013).

Le nom *Botrytis cinerea* désigne la forme asexuée (deutéromycète) du champignon. La forme sexuée (Ascomycète) peut être obtenue en conditions contrôlées en laboratoire mais n'a été que très rarement observée dans la nature ; elle s'appelle *Botryotinia fuckeliana*. Il est d'usage d'employer le nom de l'anamorphe *Botrytis cinerea* plutôt que celui du téléomorphe *Botryotinia fuckeliana*. Le nom définitif n'a pas encore été choisi par la communauté scientifique (Walker, 2013).

Les résultats de l'action inhibitrice de l'HE de *Curcuma longa* Linn vis-à-vis *Botrytis cinerea* a été évalué après 24 heures de coculture sur milieu solide à 37 °C sont illustrés par le (tableau 3 et figure 13); ou l'on constate que les diamètres des zone d'inhibition atteints sont de 12.83 ± 1.60 ; 20 ± 2.29 ; 21.83 ± 2.25 , respectivement pour les doses 5,10 et 20 μ l.

Tableau 3: Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition de *Botrytis cinerea*

Les différents dose des HS	5 μ l	10 μ l	20 μ l
moyennes	12.83	20	21.83
Ecart type	1.60	2.29	2.25

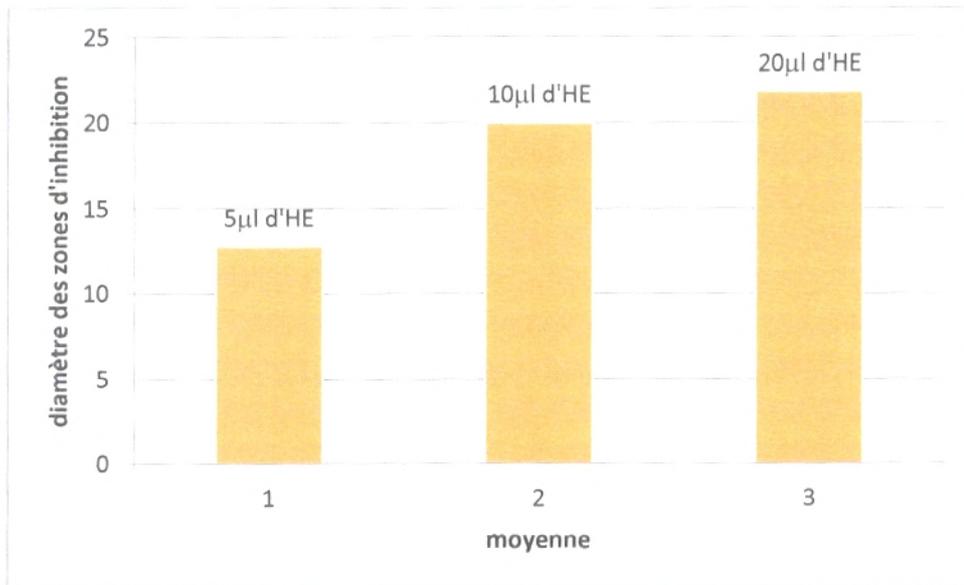


Figure 13 : Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition de *Botrytis cinerea*

V.3.1.2. Activité antifongique des HE vis-à-vis *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum est une espèce de champignon parasite de plantes. Comme tous les *Fusarium* il s'agit de la forme de reproduction asexuée d'un ascomycète, mais son téléomorphe est inconnu.

Fusarium oxysporum est retrouvé sur de nombreuses plantes et il en existe de très nombreuses formes spécialisées.

Les résultats de l'action inhibitrice de l'HE de *Curcuma longa* Linn vis-à-vis *Fusarium oxysporum* a été évalué après 24 heures de coculture sur milieu solide à 37 °C sont illustrés par le (tableau 4 et figure 14); ou l'on constate que les diamètres des zone d'inhibition atteints sont de 12.66 ± 2.25 ; 21.83 ± 2.51 ; 31.5 ± 6.53 , respectivement pour les doses 5,10 et 20 µl.

Tableau 4: Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition de *Fusarium oxysporum*

les différentes doses des HE	5 μ l	10 μ l	20 μ l
moyennes	12.66	21.83	31.5
écart type	2.25	2.51	6.53

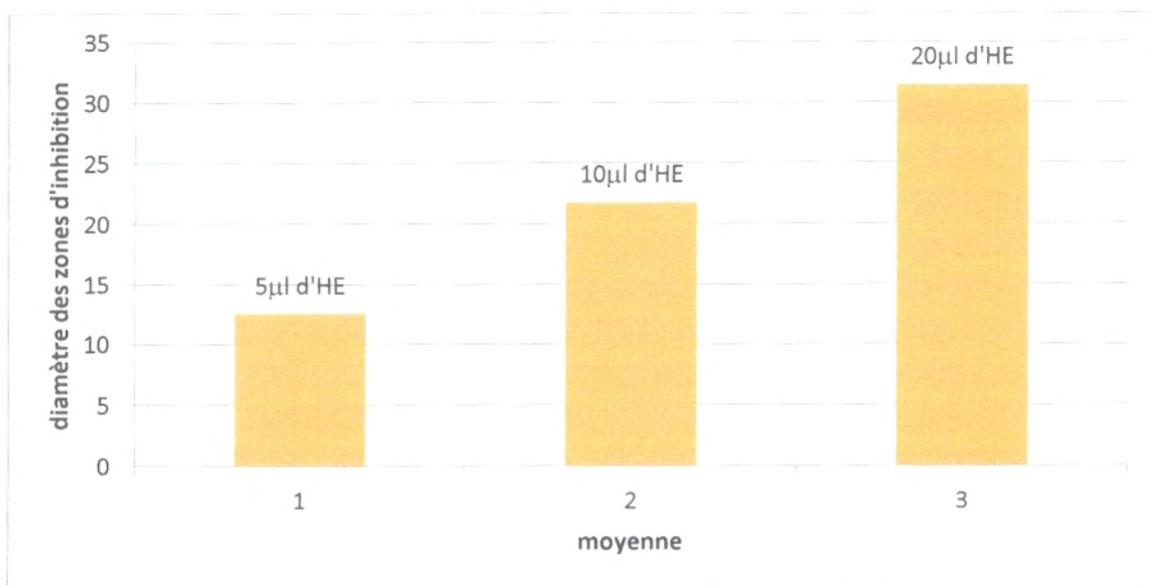


Figure 14: Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition de *Fusarium oxysporum*

V.4. Discussion générale de l'activité antifongique

Pour la méthode d'antibiogramme et selon **Duraffourd et al. (1990)** la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égale à 8 mm. La sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm le germe est très sensible.

D'après ce constat, on peut conclure que l'activité antifongique des huiles essentielles de *Curcuma longa* Linn, évaluée par la méthode de diffusion par puits, a permis de révéler une activité moyenne sur la croissance de *Botrytis cinerea* (diamètre d'inhibition 12.83-20 mm)

avec les doses de 5 et 10 μ l d'HE et une très sensibilité de germe avec un diamètre d'inhibition de 21.83 a la dose de 20 μ l.

Et avec *Fusarium oxysporum* La sensibilité est moyenne (diamètre d'inhibition 12mm) et une très sensibilité de germe (diamètre d'inhibition 20 mm pour 10 μ l) et surtout pour dose de 20 μ l ou on a constaté 31.5 mm. Donc on peut conclure que l'HE de *Curcuma longa* a eu un effet inhibiteur avec très sensibilité de *Botrytis cinerea* la dose de 20 μ l et une dose de 10 μ l pour *Fusarium oxysporum*.

Amphawan et al. (1995), en étudiant l'effet antifongique des huiles des rhizomes de *Curcuma* sur les germes *microsporium gypseum*, *epidermophyton floccosum* et *trichophyton rubrum* qui parlent d'une très sensibilité des germe avec les dilutions comme suit 1/80, 1/60 et 1/40 cela justifie notre résultats qui présent que de l'HE de *Curcuma longa* a une fort activité antifongique.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Des expériences ont été menées pour trouver des alternatives à la lutte chimique, qui présente beaucoup d'inconvénients et des dommages sur plusieurs domaines : agricole, sanitaire, environnemental, etc.

Ce, en vue de mettre au point une méthode de lutte biologique moins coûteuse pour les producteurs, pour l'environnement et adaptée aux conditions de cultures.

Cette étude se voulait une contribution à la connaissance de l'efficacité d'HE de la plante aromatique *Curcuma longa* L. cas antifongique.

L'extraction des huiles essentielles est réalisée par hydrodistillation en utilisant un dispositif d'extraction type Clevenger. Nous avons ensuite testé l'activité antifongique à l'aide de techniques de diffusion par puits.

La valeur du rendement en huile essentielle des rhizomes séchés de *Curcuma longa* L. était de 0.96%. Cette valeur est inférieure aux rendements obtenus chez d'autres espèces du même genre.

Les résultats obtenus après préparation, exposition, incubation et observation, laissent croire que la croissance des champignons parasites des plantes, cas *Botrytis cinerea* et *Fusarium oxysporum* peut être freinée par l'HE de *curcuma longa*.

Il est à préciser que ces résultats ne sont valides qu'en milieu artificiel. Nous suggérons que d'autres études de ce genre puissent continuer mais en milieu naturel.

Références bibliographiques

A

- Almedia L. P., Cherubino A. P. F., Dufosse L., Gloria M. B. A. (2005):** Food Res. Int. 38. P1039-1044.
- Angelopoulou D., Denetzos C., Perdetzoglou D. (2002):** Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistusmonspeliensis L.* leaves. Biochemical Systematic and Ecology, 30: P 189-203.
- Anonyme. (2009) :** Règlement (ce) n° 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives 79/117/CEE et 91/414/CEE du conseil. Journal Officiel De L'union Européenne, vol. L 309. P 1-50.
- Araujo C.A.C., Leon L.L. (2001):** Biological activities of *Curcuma longa L.* *Mem. I.OswaldoCruz.* 96 (5): P723-728.
- Azevedo N.R., Campos I.F.P., Ferreira H.D., Portes T.A., Santos S.C., Seraphin J.C. Paula J.R., Ferri P.H. (2001):** Chemical variability in the essential oil of *Hyptissuaveolens*. Phytochemistry, 57: P 733-736.

B

- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008):** Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology, 46: P 446-475.
- Baudoux D. (1997):** Un procédé, une analyse, une définition. Aroma News. Lettre d'information de N.A.R.D: Natural Aromatherapy Research and Development.
- Bego Ph. (2001) :** Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles. Collection aromathérapie pratique et familiale, Ed. MDB Paris. P 2-3.
- Belaiche P. (1979):** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme. éd. Maloine. Paris.
- Benjilali B. (2004) :** Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. P 17-59.
- Bharat B., Aggarwal B., Bokyoung S. (2008):** Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets. Revue: article in press (Cell). P1-10.
- Boira H. et Blanquer A. (1998):** Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella L.* Biochemical Systematic and Ecology, 26: P 811-822.
- Boullard B. (2001) :** Dictionnaire des plantes médicinales du monde. Paris : Estem. P174.
- Bruneton J. (1999) :** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris.

C

- Cavaleiro C., Salgueiro L.R., Dacunha A.P., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Casanova J. (2003):** Composition and variability of the essential oils of the leaves and berries from *Juniperusnavicularis*. *Biochemical Systematic and Ecology*, 31: P 193-201.
- Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R.,Chopineau J. (1997):** Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 9: P 67-75.
- Chander H., Kulkarni S.G., Berry S.K. (1991):** Effectiveness of turmeric powder and mustard oil as protectants in stored milled rice against the rice weevil *Sitophilusoryzae*. *Int. Pest control* 33.P94-97.
- Chander H., Kulkarni S.G., Berry S.K. (1992):** Studies on turmeric and mustard oil as protectants against infestation of red Xour beetle, *Triboliumcastaneum*(Herbst) in stored rice. *J. Insect Sci.*5. P220-222.
- Chattopadhyay I., Biswas K., Bandyopadhyay U., Banerjee R. K. (2004):** Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Curr.Sci. India.*87(1): P44-53.
- Chowdhury H., Walia S., Saxena B.S. (2000):** Isolation, characterization and insect growth inhibitory activity of major turmeric constituents and their derivatives against *Schistocercagregaria* (Forsk) and *Dysdercuskoenigii*(Walk). *Pest Manag.Sci.* 56.P1086-1092.
- Cikrici S., Mozioglu E., Yilmaz H. (2008):** Biological activity of curcuminoids isolated from *Curcuma longa*. *Rec. Nat. Prod.*2(1): P19 – 24.
- Clevenger J. F. (1928):** Apparatus for the determination of volatile oil. *J. AM. Pharm. Assoc.* 17(4). P 346-351.
- Collin G. (2000):**Quelques techniques d'extraction de produits naturels. *Info-essences.*13: P 4-5.

D

- Dayan F.E., Howell J.L., Marais J.P., Ferreira D., Koivunen M. (2011):** Manuka Oil, A Natural Herbicide with Preemergence Activity. *Weed Science: October-December 2011, Vol. 59, No. 4, P 464-469.*
- Debey S.K., Sharma A.K., Narain U., Misra K., Pati U. (2008):** Design, synthesis and characterization of some bioactive conjugates ofcurcumin with glycine, glutamic acid, valineanddemethylenatedpiperic acid and study of their antimicrobial and antiproliferative properties. *European Journal of MedicinalChemistry* 43. P1837-1846.
- Delaveau P. (1987) :** Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Paris: Albin Michel. P130 -136.
- Desmares C., Laurent A., Delerme A., (2008) :** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles, AFSSAPS : P 17.
- Divakaruni C.B. (2006) :** La maitresse des épices (trad. MO Probst). Toil d'épices.

Djibo A.K., Samaté A.D., Nacro M. (2004) : Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. *O. canum* s. insdu Burkina Faso. Comptes Rendus Chimie, 7: P 1033-1037.

Duraffourd C., D'Hervicourt L., Lapraz J. C. (1990) : Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galéniques. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.

Dymock W. (1890): Pharmacographia indica, a history of the principal drugs of vegetable origin. Vol.1. Londres: Kegan Paul, Trench, Trüber & Co. P 624.

E

Eigner D., Scholz D. (1999): *Ferula asa-foetida* and *Curcuma longa* in traditional medical treatment and diet in Nepal. Review article. Journal of Ethnopharmacology 67: P 1-6.

El Kolti M. (2008) : Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Athemis pedunculata* Desf., d'*Athemis punctata* Vahl. et de *Daucus crinitus* Desf. Mémoire de Magistère, Département de biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.

F

Faivre C. (2007) : LE CURCUMA: une racine à toutes les sauces. Art. Pratique Vét. AnimComp. N°34.

Fathy A.F.A., Abdelbaki M.M., El Warraki A.G., Abbas S. (1965): Studies on the essential oil of Rosemary, 1- isolation of Rosemary oil. Annals of Agri. Sciences, Faculty of Agri., University of Cairo. P137-153.

Fournier G., Habib J., Reguigui A., Safta F., Guetari S., Chemli R. (1989) : étude de divers échantillons d'huile essentielle de *Rosmarinus* de Tunisie. Plantes médicinales et phytothérapies, XXIII (3): P 180-185.

France-Ida J. (1996) : Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. Info-essence.3: P 5-6.

Furet A., Bellenot D. (2008) : Les huiles essentielles dans la protection des cultures : une voie en cours d'exploration. Iteipmai. P 8.

G

Garneau F.X. (2004) : Le matériel végétal et les huiles essentielles. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. P 1-16.

Garnero J. (1996) : Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire: Constantes physico-chimiques. Vol. Papier n°: K2.

Ghanbari H., Saghravanian N., Zakery M., Mahdavi S. N., Baradaran N. E., Zareian J. M., Parsaei H. (2008): Histological evaluation of *Curcuma longa-ghee* formulation and hyaluronic acid on gingival healing in dog. Journal of Ethno pharmacology 120. P335-341.

- Ghestem A., Seguin E., Paris M. et Orecchioni A.M. (2001)** : Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. TEC et DOC, Paris.
- Girre L. (1981)** : La médecine par les plantes à travers les âges. Rennes : Ouest France. P187.
- Granger M. M. R., Passet J., Arbousset G. (1973)** : L'essence de *Rosmarinus officinalis*, influence du mode de traitement du matériel végétal. Parf. Cosm. Sav. France 3(3):P 133-137.
- Grysole J. (2004)** : La commercialisation des huiles essentielles. Manuel pratique des huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. P 139-141.
- Guignard J.L. (2000)** : Biochimie végétale. 2ème Ed. De l'abrégé Dunod, Paris. P 177-185.
- Guignard J.L., Cosson L. et Henry M. (1985)** : Abrégé de phytochimie. Ed. Masson Paris. P 155-174.
- Guldner S. (1986)** : Les Zingibéracées, une famille à épices.-116f. Th: Pharm: Nancy I.P86-102.

H

- Hernandez Ochoa L.R. (2005)** : Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.
- Hombourger C. (2010)** : Le Curcuma, de l'épice au médicament. Thèse Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université henripoincaré, nancy 1. Faculté de pharmacie. P 222.
- Hung W.C., Chen F.Y., Lee C.C.Y., Sun Y., Lee M.T., Huang H.W. (2008)**: Membrane Thinning Effect of Curcumin. Biophysical Journal. Volume 94. P 4331-4338.
- Hurtel J. M. (2007)**: Phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles. Art. Revue NAFAS. Edition de santé. 5(1). P3-26.

I

- Impion M. (2011)**: ETUDE DE L'EFFICACITE DES EXTRAITS DE *Curcuma longa*, *Tithonia diversifolia* et *Zingiber officinale* SUR LES MICRO-ORGANISMES DE L'AIR «cas de l'Aspergillus et Aspergillus niger ». INSTITUT SUPERIEUR AGRO-NETERINAIRE, SAINT PIERRE CANISIMS, KIMWENZE. P 53.
- Isman M.B. (2000)**: Plant essential oils for pest and disease management. Crop Prot. 19 : P 603-608.

J

- Jansen P.C.M., Grubben G.J.H., Cardon D. (2005)** : Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3. Colorants et tanins. Wageningen, Pays-Bas : PROTA. P 238.
- Jayaprakasha G.K., Jagan Mohan Rao L., Sakariah K.K. 2005**: Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends Food Sci. Tech.* 16(12): P533 – 548.

- Jilani G., Saxena R.C. (1990):** Repellent and feeding deterrent effects of turmeric oil, sweetflag oil, neem oil and a neem-based insecticide against lesser grain borer (Coleoptera: Bostrychidae). *J. Econ. Entomol.* 83. P 629-634.
- Jordan M.J., Martinez R.M., Goodner K.L., Baldwin E.A., Sotomayor J.A. (2006):** Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial Crops and Products*.
- Jouve R., Cirad T. (2006) :** « Les plantes à épice, Curcuma et Gingembre », Paris, France, P 1698.
- Jurenka J. S. (2009):** Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Altern. Med. Rev.* 14(2): P141-153.
- Juteau F., Masotte V., Bessiere J.M. and Viano J. (2002):** Compositional characteristics of essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. *Biochemical Systematic and Ecology*, 30: P 1065-1070.

K

- Khajeh M., Yamini Y., Sefidkon F., Bahramifar N. (2004):** Comparison of essential oil composition of *Carumcopticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*. 86: P 587-591.
- Khajeh M., Yamini Y., Bahramifar N., Sefidkon F., Pirmoradei M.R. (2005):** Comparison of essential oil composition of *Ferula assafoetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*. 91: 639-644.
- Kholi K., Ali J., Ansari M.J., Raheman Z. (2005) :** Curcumin: A natural anti-inflammatory agent. *Indian J. Pharmacol.* 37(3): P141 – 147.
- Kim M. K., Choi G.J., Lee H. S. (2003):** Fungicidal property of *Curcuma longa* L. rhizome-derived curcumin against phytopathogenic fungi in greenhouse. *J. Agric. Food chem.* 51. P1578-1581.

L

- Lagunez-Rivera L. (2006) :** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.
- Lamamra M. (2010) :** Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarrasicula* (L.) Parl. et de *Filipendulahexapetala* Gibb. Mémoire de Magister. Département de Biologie. Faculté des Sciences. UFA de Sétif. P 107.
- Lamarti A., Badoc A., Deffileux G., et Carde J.P. (1994) :** Biogénèse des monoterpènes I-localisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133 : P 69-78.
- Lang, G. and Buchbauer, G. (2012):** A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour Fragr. J.*, 27: P13–39.
- Laouer H. (2004) :** Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoidespusilla* et de *Magydarispastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.
- Latham P., Konde M. (2006) :** « Quelques plantes utiles de la province de Bas - Congo », DFID, Royaume unis, P 330.
- Lemsele S. (2007):** L'Homme et les Plantes Médicinales. Tom 3, Ed. Triades.
- Lepoivre P. (2003) :** « Phytopathologie », Edition De boeck Université, Bruxelles Belgique, P 415.

- Loap S. (2008 a) :** Curcuma (Partie I).Art., revue NAFAS. Edition de santé. Phytothérapie 6. P 22-28.
- Loc N.H., Diem D.T.H., Binh D.H.N., Huong D.T., Kim T.G., Yang M.S. (2008) :** Isolation and Characterization of Antioxidation Enzymes from Cells of Zedoary (*Curcuma zedoaria* Roscoe) Cultured in a 5-1 Bioreactor. *Mol Biotechnol* 38: P 81-87.
- Lucie V. (2010) :** Intérêt d'un nouveau nutriment a visée anti-inflammatoire dans la gestion de troubles locomoteurs chez le cheval. Aspects bibliographiques et étude clinique. Doctorat vétérinaire. École nationale vétérinaire d'Alfort. Faculté de médecine de Créteil. P199.

M

- Madeira S.V.F., Rabelo M., Soares P.M.G., Souza E.P., Meineles A.V.P., Montenegro C., Lima R.F., Assreuy A.M.S., Criddle D.N. (2005):** Temporal variation of chemical composition and relaxant action of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. (labiateae) on Guinea-pig ileum. *Phytomedicine*, 12: P 506-509.
- Mockute D., Judzentiene A. (2003):** Variability of the essential oils composition of *Achillea millefolium* ssp. *millefolium* growing wild in Lithuania. *Biochemical Systematic and Ecology*, 31: P 1033-1045.

N

- Nguyen C. (2007) :** Caractères fonctionnels des polyphénols alimentaires. Projet en collaboration avec la société « château KSARA », Liban. Faculté des sciences de Luminey. Université Aix Marseille II. France.
- Nicole M. (1996) :** Aperçu de l'aromathérapie. *Info.essence.2* : P 4-5.

O

- Oliveira M.J., Iani F.P.C., Oliveira C.B.A., Santos M.R., Souza P.S., Santos S.C., Seraphin J.C., Ferri P.H. (2005):** Influence of growth phase on the essential oil composition of *Hyptissuaveolens*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33: P 275-285.
- Owens D.K., Nanayakkara N.P., Dayan F.E. (2013):** In planta mechanism of action of leptospermon: impact of its physico-chemical properties on uptake, translocation, and metabolism. *J Chem Ecol.* Vol 39 (2): P 62-70.

P

- Palà-paul J., Perez-Alonso M.J., Velasco-Negueruel A., Pala-paul R., Sanz J., Conejero F. (2001):** Seasonal variation in chemical constituents of *Santolinaros maritifolia* L. ssp. *sprosmarinifolia*. *Biochemical Systematic and Ecology*, 29: P 663-672.
- Paré J. (1997) :** Procédé assisté par micro-ondes. *Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles*, 4 : P 4.
- Paris M. et Hurabielle M. (1981) :** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson. P 339.
- Peng H.Y., Yang X. E. (2005):** Volatile constituents in the flowers of *Elsholtzia argyi* and their variation: a possible utilization of plant resources after phytoremediation. *Journal of Zhejiang University Science*, 6B (2): P 91-95.
- Penso G. (1986) :** Les plantes médicinales dans l'art et l'histoire. Paris : Roger Da Costa ed.
- Perry M.-C. (2008) :** Evaluation de la curcumine comme agent anti-cancéreux dans le traitement des tumeurs cérébrales. Mémoire : Chimie : Montréal.

- Piribi M.C. (2006)** : Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat n°3311, Ecole polytechnique fédérale de lausanne.
- Portes E. (2008)**: Synthèses et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle. Thèse de Doctorat en Chimie Organique. Université BORDEUX I.

R

- Rahal S. (2004)** : Chimie des produits naturels et des êtres vivants. O.P.U. Edition. P162.
- Randrianalijaona J.A., Ramanoelina P.A.R., Rasoarzhona J.R.E., Gaydou E.M. (2005)**: Seasonal and chemotype influences on the chemical composition of *Lantana camara* L. essential oils from Madagascar. *Analytica Chimica Acta*, 545: P 46-52.
- Regnault, C. (2005)** : << Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement >>, Lavoisier (Cachan), France, P 1013.
- Regnault-roger C., Vincent C., Thor Arnason J. (2012)**: Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *ANNUAL REVIEW OF ENTOMOLOGY*, vol. 57, P 405-424.
- Rosua J. L., Granados A.G. (1987)** : Analyse des huiles essentielles d'espèces du genre *Rosmarinus* L. et leur intérêt en tant que caractère taxonomique. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, XXI(2) : P 138-143.
- Rudolf E. (1968)**: Gas-liquid chromatography of terpenes XVI, the volatile oil of the leaves of *Juniperus Aster. Asheae*. *Can. J. Chem.* 46 (5): P 83-679.
- Ruzicka L. (1953)**: The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds. *Experientia*, 9: (10). P 357-367.

S

- Salle J.L. et Pelletier J. (1991)** : Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche. P 19-45.
- Scheffer J.J.C. (1996)**: Various methods for the isolation of essential oils. *Phytother. Res.*, 10: P 86-87.
- Schwob I., Bessiere J.M., Masotti V., Viano J. (2004)**: Changes in essential oil composition in Saint John's wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32: P 735-745.
- Sefidkon F., Abbasi K., Jamzad Z., Ahmadi S. (2007)**: The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja Rechingeri jamzad*. *Food chemistry*, 100: P 1054-1058.
- Sharma R.A., Steward P., Gescher A.J. (2007)**: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of Curcumin. *Adv. Exp. Med. Biol.*; **595**: P453 – 470.
- Silvestre A.J.D., Cavaleiro J.A.S., Delmond B., Filliatre C., Bourgeois G. (1997)**: Analysis of the variation of the essential oil composition of *Eucalyptus globulus* Labill. from Portugal using multivariate statistical analysis. *Industrial Crops and Products*, 6: P27-33
- Singh S. (2007)**: From exotic spice to modern drug, *Cell*. 130. P765-768.
- Skoula M., Abidi C., Kokkalou E. (1996)**: Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24 (3): P 255-260.
- Smallfield B. (2001)**: Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*. Number 45, P 4.
- Soltys D., Krasuska U., Bogatek R., Gniazdowska A. (2013)**: Allelochemicals as Bioherbicides – Present and Perspectives. P185.

- Song Y. M., Ding L., Hou Q., Liu J.W., Zhu Z. L. (2009):** Syntheses characterization and biological activities of rare earth metal complexe with curcumin and 1,10-phenanthroline-5,6-dione. *Journal of Inorganic Biochemistry*.
- Stoll G. (2002):** << Protection naturelle des végétaux en zones tropicales, Vers une dynamique de l'information », Margraf Verlag, Allemagne, P 386.
- Svoboda K.P., Hampson J.B. (1999):** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. <http://www.csl.gov.uv/ienica/seminars/>

T

- Tang W., Eisenbrand G. (1992):** Chinese Drugs of Plant Origin. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, German. P401- 415.
- Thaikert R., Paisooksantivatana T. (2009):** Variation of total curcuminoides content, antioxidant activity and genetic diversity in turmeric (*Curcuma longa* L.) collections. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*; **43:P507 – 518.**

V

- Valnet J. (1984):** Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris. P544.
- Vaquier L. (2010):** Intérêt d'un nouveau nutriment à visée anti-inflammatoire dans la gestion de troubles locomoteurs chez le cheval. aspects bibliographiques et étude clinique. Doctorat vétérinaire. École nationale vétérinaire d'Alfort. P199.
- Vernon F. et Richard H. (1976):** Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles. *APRIA*, 2 (10) : P 151-166.
- Viaud H. (1993):** Les huiles essentielles, qualité distillation. GNOMA, Revue électronique. www.nature-helps.com/France/viaud2.htm.
- Vidyasagar G.M. (2013):** ANTIFUNGAL INVESTIGATIONS ON PLANT ESSENTIAL OILS. A REVIEW. *Int J Pharm. Sci*, Vol 5, Suppl 2, P 19-28.
- Viljoen A.M., Denirci B., Baser K.H.C., Potgieter C.J., Edwards T.J. (2006):** Micro distillation and essential oil chemistry- a useful tool for detecting hybridisation in *Plectranthus*(lamiaceae). *South African Journal of Botany*. 72: P 99-104.

W

- Walker A.S. (2013):** Diversité et adaptation aux fongicides des populations de *Boutrystis cinerea*, agent de la pourriture grise, Thèse, Université Paris-Sud. P 122.
- Wessler S., Muenzner P., Meyer T.F., Naumann M. (2005):** The anti-inflammatory compound curcumin inhibits *Neisseria gonorrhoeae*-induced NFkappaB signaling, release of pro-inflammatory cytokines / chemokines and attenuates adhesion in late infection. *Biol. Chem.* **386(5)**: P 481-90.
- Wichtl M. et Anton R. (1999):** Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques. Ed. Tec et Doc.
- Wichtl M., Anton R. (2003):** Plantes thérapeutiques-Tradition, Pratique officinale, science et thérapeutique. Ed. Tec et Doc et EMI.
- Wolf P. (2007):** L'alimentation au secours de la vie : la curcumine. Pub., Ed GERESO.

Y

- Yayi E., Gbenou J.D., Ahoussi L.A., Moudachirou M., Chalchat J.C. (2004):** *Ocimum gratissimum* L., Siège de variation chimiques complexes au cours du développement. *Comptes Rendus Chimie*, 7: P 1013-1018.

Z

Zheljazkov V.D., CrakerL.E.and Xing B. (2005): Effects of Cd, Pb and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint and basil. Environmental and experimental botany.

Abou Zeid N. (1988) : النباتات العطرية ومنتجاتها الزراعية و الدوائية. الدار العربية للنشر و التوزيع القاهرة 472 صفحة.

Abou Zeid N. (2000): الزيوت الطيارة الدار العربية للنشر و التوزيع القاهرة 256 صفحة.
هيكل م.ا و عمر ع.ع (1993): النباتات الطبية و العطرية. كميأوها، انتاجها و فوائدها. منشأة المعارف بالإسكندرية