

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



Université ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMCCEN

Faculté des Sciences

Département de Chimie

Laboratoire des substances naturelles et bioactives

MEMOIRE

Présenté pour obtenir le diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Option : **Molécules Bioactives : Synthèses et Applications**

Présenté Par : **Mme TERKI HASSAINE Nesrine**

**Contribution à l'étude de la composition chimique par CPG et CPG-SM de l'huile essentielle de
Scolymus grandiflorus (Desf) et évaluation de son activité biologique**

Présidents	Chaouki SELLES	Professeur	Université de Tlemcen
Examineurs :	Boufelja TABTI	Professeur	Université de Tlemcen
	Nassim DJABOU	MCA	Université de Tlemcen
Directeur de mémoire	Mohammed El Amine Dib	Professeur	Université de Tlemcen

Le 05 Juin 2016

REMERCIEMENTS

Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.

La première personne que nous tenons à remercier est Mr **DIB Mohammed el Amine**, d'avoir accepté de nous encadrer et qui a su nous laisser la liberté nécessaire à l'accomplissement de notre recherche, tout en y gardant un œil critique et avisé. Merci pour votre rigueur scientifique et vos conseils toujours judicieux et aussi d'avoir eu la patience de corriger notre mémoire et de nous avoir responsabilisées du début jusqu'à la fin de notre travail.

J'exprime ma gratitude à Monsieur le Professeur **GHALEM Saïd**, directeur du laboratoire de Substances Naturelles et Bioactives-*LASNABIO*- de la faculté des sciences et Mr **SELLES Chaouki**, le chef de département de chimie pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury.

Ma reconnaissance va également à Monsieur le Professeur **Tabti Boufeldja** et Dr **Djabou Nassim** de l'Université de Tlemcen, qui ont bien voulu examiner ce mémoire et participer à mon jury de soutenance.

J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur le Professeur **Jean Costa**, Directeur du laboratoire de chimie des produits naturels de l'Université de Corse pour sa contribution et son aide dans la réalisation des analyses

CG et CG/MS. Sans cette aide, une grande partie de ce mémoire n'aurait jamais pu être réalisé.

Nous exprimons aussi notre reconnaissance à nos enseignants : pour leur gentillesse, leur aide et précieux conseils durant notre travail au laboratoire.

Nous remercions le professeur **Benabadji Noury** de l'Université de Tlemcen pour sa contribution à l'identification des espèces

Un merci spécial pour nos camarades et amis (es) qui ont participé de près ou de loin pour accomplir notre recherche.

Dédicaces

*A mes chers parents
De m'avoir encouragé et soutenu tout au
Long de mon parcours, d'avoir
prié pour moi*

*A mon très cher époux
Nassim
qui m'a toujours
aidé et qui m'a soutenu*

A ma fille

Ines

A mes sœurs

chahinez

Hadjer

A mon frère

redouane

Liste des abréviations

S. grandiflorus : *Scolymus grandiflorus*

S. hispanicus : *Scolymus hispanicus*

S. maculatus : *Scolymus maculatus*

FID: Flame Ionisation Detector

CPG (CG): Chromatographie en Phase Gazeuse

CPG/SM: Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

SM : Spectroscopie de Masse

Ir : Indice de rétention

DPPH: 2, 2-Diphényl-1-Picrylhydrazyle

FRAP: Feric Reducing Ability of Plasma

IC₅₀ : Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres

EC₅₀ : Efficient concentration 50

NI : Non-identifié

BHT: Hydroxytoluène butylé

BHA (hydroxyanisol butylé)

AAR : Activité antiradicalaire

Pi : pourcentage d'inhibition

DO: Densité Optique

ERO : les espèces réactives de l'oxygène

ERN : les espèces réactives de l'azote

ABS : Absorbance

O₂ : Oxygène

PDA : potatoes dextrose agar

Liste des figures

Figure 1 : les Larves de *Ceratitis capitata*

Figure 2 : Les pupes *Ceratitis capitata*

Figure 3 : Les adultes de *Ceratitis capitata*

Figure 4 : *Les Astéracées*

Figure 5 : *Scolymus hispanicus*

Figure 6 : *Scolymus maculatus*

Figure 7 : *Scolymus grandiflorus*

Figure 8 : Racines et fleurs de la plante *S. grandiflorus*

Figure 9 : Distribution géographique du *S. grandiflorus*

Figure 10: Montage d'hydrodistillation de type Clevenger

Figure 11: Schéma de dilution de l'HE.

Figure 12 : (a) Cis Davanone ; (b) : Davanone C, B et D

Figure 13 : Spectre de masse de la cis Davanone

Figure 14 : Réduction du radical du violet au jaune par l'huile essentielle de *S. grandiflorus*

Figure 15: Réduction de l'ion ferrique du jaune au vert par l'huile essentielle de *S. grandiflorus*

Figure 16: Pouvoir réducteur de l'huile essentielle de *S. grandiflorus* et de l'acide ascorbique

Figure 17 : Résultat de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *S. grandiflorus*

Figure 18 : Activité larvicide sur les différents stades de vie de *Ceratitis capitata* par l'huile essentielle de *S. grandiflorus*

Liste des tableaux

Tableau 1: Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *S. grandiflorus*

Tableau 2 : % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'huile essentielle de *S. grandiflorus* et de l'acide ascorbique à différentes concentrations.

Tableau 3: Effets de l'huile essentielle sur la germination des spores de microorganismes testés.

Tableau 4: Efficacité larvicide de l'huile essentielle de *S. grandiflorus* contre la cératite.

Sommaire

1-Introduction générale	01
-------------------------------	----

Chapitre 1 : Activités biologiques des huiles essentielles

1-Les huiles essentielles.....	04
1-1-Introduction.....	04
1-2-Propriétés biologique.....	05
1-3-Méthodes d'extractions et d'analyses des Huiles essentielles.....	06
2-Activité antioxydante	07
2-1-Definition d'un antioxydant	07
2-2-Role des radicaux libres	07
3- Activité antifongique	08
4- Activité larvicide	09
4-1 Les larves	09
4-2 Les pupes.....	10
4-3 Les adultes	10

Chapitre 2 : Etude botanique

1-Présentation de la plante.....	14
1-1-Les astéracées	14
1-2-Le genre <i>Scolymus</i>	15
1-3- <i>Scolymus hispanicus</i>	15
1-4- <i>Scolymus maculatus</i>	16
1-5- <i>Scolymus grandiflorus</i>	16
2-Distribution géographique de la plante.....	18
3-Domaines d'applications traditionnelle du genre <i>Scolymus</i>	18
3-1 <i>Scolymus hispanicus</i>	18
3-2- <i>Scolymus grandiflorus</i>	18
3-3- <i>Scolymus maculatus</i>	19
4-Travaux Scientifiques réalisés sur le genre <i>Scolymus</i>	19

Sommaire

Chapitre 3 : Matériels et méthodes

1-Méthodes utilisés pour l'extraction des huiles essentielles	21
1-1-Calcul du rendement	21
2- Méthode d'identification chimique des huiles essentielles.....	21
2-1-Analyse par CPG /FID.....	21
2-2-Couplage CPG/ spectroscopie de masse.....	22
3-Activité antioxydante.....	22
3-1-Piégeage du radical libre DPPH.....	22
3-2-Réduction du fer : FRAP.....	23
4-Activité anti fongique.....	23
4-1- Les souches.....	23
4-2- Le milieu de culture.....	23
4-3-Méthode.....	24
5-Activité larvicide	24
5-1- Evaluation de l'efficacité de l'HE sur <i>Ceratitis capitata</i>	24
5-2-Correction de la mortalité.....	25

Chapitre 4 : Résultats et discussions

1-Composition chimique de l'HE des racines de <i>S. grandiflorus</i>	26
1-1-Caractéristique organoleptique de l'huile essentielle extraite.....	27
2-Activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>S. grandiflorus</i>	27
2-1- Introduction.....	27
2-2- Teste de piégeage du radicale libre DPPH.....	28
2-3-Teste de réduction de fer FRAP	29
3-Activité antifongique	30
4-Etude de l'activité larvicide de l'huile essentielle.....	32
Conclusion générale.....	35

Introduction générale

Les plantes ont été utilisées par nos ancêtres comme nutrition et comme remède contre toutes les maladies ; ils les ont utilisées sans connaître ce qui permet à telle plante de guérir telle maladie et pas d'autres. C'est peut-être le hasard?, La religion?, c'est l'expérience certainement. De nos jours les chercheurs essaient toujours de justifier l'activité des plantes pour cibler le domaine de leurs utilisations.

Les HEs (huiles essentielles) représentent un groupe très intéressant de ces métabolites qui sont dotés de propriétés antimicrobiennes qui peuvent remplacer les antibiotiques. Ce sont des composés volatils qui confèrent aux plantes et aux épices leurs essences [1].

L'aromathérapie et la phytothérapie sont des médecines alternatives et/ou complémentaires naturelles. L'aromathérapie est l'art de se soigner par les HEs, qui mettent les arômes et les bienfaits des plantes au service de la santé et de la beauté. Une goutte d'HE contient en moyenne 150 molécules différentes. On comprend alors aisément qu'une seule HE puisse avoir plusieurs vertus thérapeutiques donc plusieurs indications. Et inversement que plusieurs HEs peuvent traiter les mêmes maux [2].

La phytothérapie est une science récente qui est basée sur l'utilisation des plantes pour une solution à la fois alternative et complémentaire aux traitements de la médecine classique, de plus en plus en vogue et dont l'efficacité est de plus en plus reconnue. Ces dernières années, un nombre de pays développés ont manifesté un intérêt croissant dans les systèmes de cette médecine, ce qui a abouti à une intensification du commerce international des préparations à base de plantes. Sachant bien que les deux rives du bassin méditerranéen sont riches en plantes médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes.

L'Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques [3].

La problématique générale de notre thème de recherche concerne la caractérisation et la valorisation des substances naturelles d'origine végétale et plus particulièrement celles d'une plante endémique algérienne appartenant à la famille des chardons qui n'ont pas la valeur qui la mérite pour cela la répartition de nos travaux est comme suit :

La première partie : on commencera par la présentation théorique des HEs et les activités qu'on a réalisées sur notre espèce qui est le *S. grandiflorus* (*Scolymus grandiflorus*).

Introduction générale

La deuxième partie : se portera sur l'étude bibliographique et la présentation botanique du genre *Scolymus* et particulièrement de notre plante le *S. grandiflorus* ainsi les travaux antérieurs réalisés sur le genre *Scolymus*.

La troisième partie : présentera les modes opératoires que nous avons utilisés pour réaliser tout notre travail.

La quatrième partie : concerne l'extraction et la caractérisation des huiles essentielles et nous discuterons les résultats des activités biologiques que nous avons réalisés

Enfin, nous terminerons par une conclusion et des perspectives.

Références

- [1] El-Lkaany A., Abdal-kader M.S., Hammouda H.M., Ghazy N.M., Mahmoud Z.F. 1997. A new Flavones glucide with antimieronial activity from *carduus pycnocephalus L.* pharmazie. 52, 76-79.
- [2] Cazau-Beyret N. 2013. Prise en charge des douleurs articulaire par aromathérapie et phytothérapie, université de Toulouse Paul Sabatient faculté des sciences pharmaceutique. THESE, 2013/TOU3/2076.
- [3] Savona G., Piozzi F., Rodriguez B., Servettaz O. 1982. Galangustin, a new flavone from *Galeopsis angustifolia*. Heterocycles. 19(9), 1581-1584.

I-1 Les Huiles essentielles :

I-1-1- Introduction :

Ce sont des substances naturelles volatiles et odorantes obtenues des végétaux par entraînement à la vapeur d'eau. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme produits du métabolisme secondaire [1].

Elles sont liquides à température ambiante, d'un poids moléculaire faible et volatiles ce qui les différencie des huiles fixes, incolores et rarement colorées et sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques, leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau [2].

Les huiles volatiles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux, les fleurs, les feuilles, les écorces, les bois, les racines, les rhizomes, les fruits, et les graines [2,3].

Les HEs doivent leur nom à ce qu'elles sont très réfringentes, hydrophobes et lipophiles. Elles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau et on les retrouve dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille. Par contre, elles sont solubles dans les solvants (acétone, sulfure de carbone, chloroforme, etc.) des lipides et, à l'inverse des glycérides, dans l'alcool [4].

Mais à ces caractères de solubilité se limite la ressemblance avec les huiles grasses. Si les HEs forment une tache transparente sur le papier, celle-ci disparaît rapidement car les essences végétales sont très volatiles (contrairement aux résines qui, habituellement dissoutes dans les essences, laissent un résidu visqueux ou solide après évaporation des essences).

Grâce à cette propriété, les essences végétales diffusent rapidement à travers des épidermes, même à travers des cuticules épaisses et se répandent dans l'atmosphère. Ce caractère, associé à la propriété qu'ont la plupart des essences végétales de posséder une odeur très prononcée, et souvent agréable, les rend responsables de l'odeur caractéristique de nombreux végétaux odoriférants [4].

Ces HEs ont à toutes époques occupé une place très importante dans la vie quotidienne, elles sont utilisées autant pour se parfumer, conserver la nourriture, en cosmétique, comme insecticides, produits chimiques et aussi pour se soigner.

D'après William Naves [1874-1936], aucune des définitions des HEs n'a le mérite de la clarté, ni celui de la précision. Cet auteur définit les HEs comme «des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passent avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau » [5].

Chapitre I. : Etude théorique des HEs et des Activités biologiques

Cette définition a été reprise à peu de chose près par AFNOR et ISO : « HE est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation. L'HE est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » [6, 7].

Pour la composition de ces HEs elle peut contenir des centaines de composés différents qui appartiennent à la famille des terpènes, Cette famille confère aux huiles essentielles de nombreuses activités biologiques. Les terpènes sont des hydrocarbures naturels de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprène en monoterpène formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$), en sesquiterpènes, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$), en diterpènes, formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$), en tétraterpènes, huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes, en polyterpènes (C_5H_8)_n ou n peut-être de 9 à 30 [8].

Les terpénoides sont des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, etc.). Les monoterpènes sont des volatils entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des HEs.

I -1-2- Propriétés biologique :

Les HEs possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne et d'origine fongique [9].

Cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques [10] qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans les domaines phytosanitaires et agroalimentaires, les HEs ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons [11] et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires [12].

Sans oublier de prévenir que les HEs ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible la majorité de celles qui sont couramment utilisées a une DL50 comprise entre 2 et 5g/kg (Anis, eucalyptus, girofle...etc), ou ce qui est le plus fréquent supérieur à 5g/kg (camomille, citronnelle, lavande, vétiver...etc) [3].

Chapitre I. : Etude théorique des HEs et des Activités biologiques

Les HEs qui sont utilisés en parfumerie peuvent se comporter en irritant des muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement des crises d'asthme pour les asthmatiques [3].

Certaines HEs peuvent provoquer des réactions allergiques sur la peau comme celles de la menthe, la listée, la mélisse, et le pin [3]. D'autres par l'exposition de certaines huiles comme de *Citrus bergamia* aux rayons ultraviolets ou aux rayons du soleil peut induire le cancer de la peau [2].

I-1-3 Méthodes d'extractions et d'analyses des HEs :

L'extraction des HEs est la partie la plus délicate son but est de capter les produits les plus légers et les plus volatils qui existent dans la matière végétale. La quantité d'HE contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible, voire infime. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'HE.

Il existe différents procédés d'extraction, mais le choix de la méthode utilisée définit obligatoirement la nature de l'essence ainsi que son éventuelle utilisation, L'entraînement à la vapeur ou l'hydrodistillation de la plante fraîche ou sèche reste la technique la plus utilisée.

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau, L'ensemble est porté à ébullition. Lors de la distillation des HEs plusieurs phénomènes sont à la base d'échanges de matière entre les phases solides, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de la production [13].

Après extraction on a toujours à s'assurer ou même de dévoiler la composition chimique de cette huile, pour orienter le domaine des activités possibles ; pour cela on passe par la CPG.

La CPG est une technique qui permet de séparer les molécules d'un mélange éventuellement très complexe de nature très diverse. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptible d'être vaporisés par chauffage sans décomposition.

Généralement la CPG, est couplé avec une technique d'identification spectrale, la spectrométrie de masse (SM). L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention I_r et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques des produits de références contenus dans des bibliothèques de spectres. Cette étape est habituellement suffisante dans les cas d'analyses de routine des HEs.

I-2-Activité antioxydante :

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées depuis longtemps dans le processus de stress oxydatif et la lutte contre les maladies infectieuses. Mais la découverte des antioxydants synthétiques et des antibiotiques a provoqué le déclin de la médecine à base de plantes et l'a reléguée à un rang secondaire.

I-2-1 Définition d'un antioxydant :

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leurs couches externes. Ils apparaissent soit au cours de la rupture d'une liaison covalente pendant laquelle chaque atome conserve son électron, soit au cours d'une réaction redox avec une perte ou un gain d'électron à partir d'un composé non radical.

Du fait de leurs instabilités énergétiques, les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à l'état stable en donnant un électron ou en prenant un à une autre molécule, ils peuvent donc être réducteurs ou oxydants, c'est-à-dire ils ont la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des molécules environnantes, et ils possèdent un temps de demi-vie extrêmement court [14].

Les radicaux libres qui proviennent de l'O₂ sont appelés « les espèces réactives de l'oxygène » (ERO) alors que les radicaux libres qui sont générés de la réaction de l'oxygène avec l'azote sont considérés comme une sous-classe des radicaux libres appelée « les espèces réactives de l'azote » (ERN) [15].

I-2-2 Rôle des radicaux libres :

Le rôle des radicaux libres et de l'O₂ actif dans le vieillissement et dans certains processus pathologiques comme l'arthrite inflammatoire, les cardiopathies, l'altération du système immunitaire et les cancers, a fait l'objet d'une attention particulière au cours des dernières années. Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre un niveau accru de dérivés réactifs de l'O₂ et une activité antioxydante réduite. Une augmentation du stress oxydant peut entraîner des destructions tissulaires et provoquer des lésions au niveau des structures cellulaires.

La vitamine C ou acide ascorbique est le plus important antioxydant hydrosoluble, son rôle est essentiel dans les compartiments intra et extracellulaire. Son mécanisme d'action est

mal connu. Il fait intervenir des réactions d'oxydoréduction entre la forme réduite de la vitamine C (l'acide ascorbique) et sa forme oxydée (dehydroascorbate).

I-3- Activité antifongique :

Les mycoses sont d'une actualité criante, pour les huiles essentielles les groupes responsables de l'activité antifongique sont les phénols, les monoterphénols, les aldéhydes, les sesquiterpéniques et les lactones sesquiterpenique sachant que les mycoses ne se développent pas dans les milieux acides donc il faut penser à alcaliniser le milieu [16].

Les moisissures sont des champignons microscopiques. Ce sont des organismes pluricellulaires dont l'appareil végétatif est formé de longs filaments ramifiés et souvent cloisonnés que l'on appelle des hyphes. Lorsque la croissance est suffisamment avancée, l'ensemble des hyphes constitue un mycélium visible à l'œil nu qui se présente comme une sorte de feutrage à la surface colonisée.

L'utilisation des produits chimiques pour lutter contre ces champignons constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée [17]. Cependant, l'emploi intensif et inconsidéré de ces produits a provoqué une contamination de la biosphère et de la chaîne alimentaire, une éradication des espèces non cibles telles que la faune auxiliaire et l'apparition des microorganismes résistants.

Ces dangers ont conduit l'OMS à interdire l'usage de certains fongicides chimiques, d'autres vont être prohibés dans un futur proche [18].

La recherche de molécules nouvelles en prenant en compte d'autres critères que l'efficacité, est devenue indispensable. La lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antioxydantes et antifongiques pouvant constituer une, alternative aux produits chimiques. Parmi ces substances naturelles figurent les HEs extraites des plantes aromatiques [2].

I-4- Activité larvicide :

L'arboriculture fruitière fait partie de la vie économique et sociale à travers le monde entier. Les agrumes, en particulier, ont une grande importance dans le développement économique et social des pays producteurs. Ils constituent les produits d'exportation et de transformation en diverses dérivés telles que les jus, confitures, essences, comme ils peuvent être une source d'emplois [19].

Chapitre I. : Etude théorique des HEs et des Activités biologiques

En Algérie, malgré les bonnes conditions pédoclimatiques pour le développement de l'arboriculture fruitière, la production a connu une faible croissance au cours de ces dernières années ; suite au vieillissement des vergers et aux agressions dues aux ravageurs et maladies.

En effet, l'extension des zones cultivées a enregistré des phénomènes de pullulation de certains déprédateurs, parmi lesquels, on retient la classe des insectes qui est la plus importante [20].

Parmi ces insectes *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824, cette mouche est liée à plusieurs facteurs, elle s'attaque aux cultures à haute valeur ajoutée et aux fruits sur le point de mûrir [21].

Les mâles de cette espèce se rassemblent en groupes sur les plantes, ou ils émettent, ensemble, une phéromone attirant les femelles. Après l'accouplement débute la ponte qui est fortement influencée par l'intensité lumineuse [22].

Après l'éclosion des œufs, les larves s'alimentent de la pulpe du fruit et juste après l'aube les larves du troisième stade quittent le fruit et se nymphosent dans le sol [23].

C'est l'espèce la plus répandue et celle dont la nocivité est la plus conséquente, en raison de sa grande répartition dans le bassin méditerranéen [24].

Voici les trois stades de vie qu'on a utilisés dans la valorisation de cette activité :

I-4-1 Les larves :

Elles sont blanches d'une forme cylindrique, allongées, effilées à la partie antérieure et tronquée à la partie postérieure. Leurs caractéristiques morphologiques permettent la distinction immédiate des trois stades larvaires chez cette mouche. Leur taille est variable, elle dépend de la qualité et de la quantité de la nourriture ingérée. Celle du premier stade est de 1 mm et celle du troisième stade ou « asticot » oscille entre 6,8 et 8,2 mm [25].



Figure 1 : Larves de *Ceratitis capitata*

I-4-2 Les pupes :

Elles ont la forme d'un petit tonnelet arrondi. Elles mesurent environ 5mm de longueur et 2mm de diamètre, d'une couleur brun clair pour les jeunes pupes et brun foncé pour les pupes âgées [25].



Figure 2 : Pupes de *Ceratitit capitata*

I-4-3 Les adultes :

C'est est une mouche de 4,5 à 6mm de long. Il est caractérisé par un mésothorax noir luisant, avec quatre bandes grises, une tête d'un blanc jaunâtre avec une bande brune claire entre les deux yeux qui sont pourpres à reflets dorés [25].

L'abdomen est brun jaunâtre avec des bandes transversales grises. Les ailes sont larges et présentent trois bandes orangées.



Figure 3 : Adultes de *Ceratitit capitata*

Références

- [1] Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils –A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46, 446–475.
- [2] Maihebiau P. 1994. La nouvelle aromathérapie: biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne. P 635.
- [3] Bruneton J., 1999. Pharmognosie : phytochimie, plantes médicinales (3 ème Ed), Technique et Documentation (Paris); p 484.
- [4] Benayed N., 2008. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Université Mohammed V- Agdal. Laboratoire de Substances Naturelles et Thermolyse éclairée. Département de Chimie. Faculté des Sciences de Rabat. p61.
- [5] Garnéro J. 1996. Huiles essentielles. Techniques de l'Ingénieur, traité Constantes physicochimiques. 39, 345-351.
- [6] Iso N. 1997. Matières premières d'origine naturelle -Vocabulaire, 2, p. 9235
- [7] AFNOR, 2000. Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome , AFNOR, Paris , 6^{ième} édition.
- [8] Hernandez Ochoa L.R. 2005. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine “solvant/actif” d'origine végétale, Thèse /2264.
- [9] Chaumont J.P., Leger D. 1989. Propriétés antifongique de quelques phénols et composés chimiquement très voisins. Relation Structure-Activité. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*. 2,123-124.
- [10] Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M., *Agric J.* 1996. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Origanum* Essential Oils. *Food Chemistry*. 44, 1202-1205.
- [11] Zambonelli A., D'Aurelio A.Z., Severi A. Benvenuti E., Maggi L., Bianchi A. 2004. Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of thymus vulgaris L. *Essential Oil Research*. 16(1), 69-74.
- [12] Mangena T., Muyima N.Y.O., 1999. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Peteronia incana* *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Letters in Applied Microbiology*. 28, 291-296.

Chapitre I. : Etude théorique des HEs et des Activités biologiques

- [13] Hajji S., Beliveau J., Simon D. 1985. "Comparative study of an essential oil obtained according to two different extraction procedures: steam distillation and hydrodiffusion." Actes du colloque international. Plantes Aromatique Médicinales, Maroc. 229-230.
- [14] Koechlin-Ramonatxo C. 2006. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme. 20, 165–177.
- [15] Penna C., Mancardi D., Rastaldo R., Pagliaro P. 2009. Cardio protection: A radical view Free radicals in pre and post conditioning. Biochimica et Biophysica Acta. 1787, 781–793.
- [16] Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutter contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche ; université Mohammed V-Agdal. Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Eclair. Département de chimie. Faculté des Sciences de Rabat. P61.
- [17] Magan N., Olsen M. 2004. Mycotoxines in food: Detection and control, Woodhead Publishing in Food Science and Technology, 190-203.
- [18] Khelil M.A. 1977. Influence de la chaleur utilisée comme moyen de lutte contre le bruché du haricot *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleopterae: Bruchidae) sur les différents états et stades de développement. Mémoire d'Ingénieur en Agronomie, INA El Harrach, 77p
- [19] Loussert R. 1989. Les agrumes production. Education science université. Vol. 2, Liban, 280p.
- [20] Anonyme, Series A.B. 2008. Statistiques agricoles. Ministère de l'agriculture et de la pêche.
- [21] Sadoudi A.A.D. 2014. Metna F., Kherroubi S. Dynamique des populations de *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera, Trypetidae) sur la variété d'orange Thomson dans différents vergers d'agrumes de la Kabylie.
- [22] Quilici S. 1999. La mouche méditerranéenne des fruits ou ceratite *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera : Tephritidae), CIRAD
- [23] Chrystenson L.D., Foote R.D. 1960. Biologie des mouches a fruits. Annual Review of Entomology. 171- 491.
- [24] Nunez, B.L. 1987. La mosca del mediterreo. CA: Informa (Enera. Febrero-maio). 9-17.
- [25] Khimoud D., Louni A.2008. Estimation de l'infestation des différentes variétés d'agrumes par *Ceratitis capitata* Wiedemann1824 (Diptera ; Trypetidae) en fonction de l'exposition dans différents vergers de la région de Tizi-Ouzou.

II-1 Présentation de la plante :

II-1-1- Les Astéracées :

Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelé un involucre.

Ainsi, contrairement à l'opinion populaire, ce qu'on appelle une « fleur » de tournesol, de chardon, ou de pissenlit... n'est en réalité pas « une » fleur mais un capitule de fleurs. Les fleurs des Astéracées, appelées aussi fleurons, se présentent sous deux formes :

- des languettes, ou ligules, dans lesquelles les équivalents des pétales sont soudés, généralement par cinq, parfois par trois, reconnaissables seulement aux dents de la languette.
- des tubes terminés par des lèvres imperceptibles ou s'ouvrant plus ou moins largement en cinq lobes. Pour déterminer la plupart des plantes de cette famille, il est nécessaire de récolter des capitules défloris, portant des fruits mûrs ou au moins déjà bien formés. L'observation des bractées de l'involucre est également très importante [1].



Figure 4 : *Les Astéracées*

Chapitre II : Etude Botanique

Les astéracées sont pourvues d'un appareil sécréteur bien développé. Les espèces aromatiques comme la camomille et l'armoise ont des cellules, des canaux et des poiles sécréteurs d'essences.

Les espèces à lactifère comme les chicorées exsudent un latex blanchâtre lorsqu'on brise leur tige. Toutes sont caractérisées biochimiquement par l'inuline qui représente leur principal glucide de réserve. Enfin elles sont riches en dérivés polyacétilénique et en lactones sésquiterpéniques. On peut classer les astéracées en deux grandes classes :

1. Les Astéracées a latex : chichorées et plantes affines (Pissenlit, Salsifis Laitue.....).
2. Les Astéracées à résine et à essence, généralement sans latex : chardons, Bleuet, Bardane, Armoise, Camomille..... [2].

II-1-2- Le genre *Scolymus* :

Le genre *Scolymus* appartient à la famille des Astéracées qui sont une famille appartenant aux Dicotylédones comprenant plus de 1500 genres et plus de 25000 espèces décrites dont 750 endémiques, C'est une des familles la plus importante des Angiospermes.

Ce sont presque toujours des plantes herbacées avec souvent des racines charnues : rhizomateuses, tubéreuses ou pivotantes [3].

Cette famille présente des caractères morphologiques divers : herbes annuelles ou vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues [4].

Le genre *Scolymus* comprend 3 espèces le *S. hispanicus* le *S. maculatus* et le *S. grandiflorus*. Ce sont des chardons qui se caractérisent par des capitules homogames, multiflores avec des fleurs ligulées, tous hermaphrodites involucre à bractées imbriquées sur plusieurs rangs; portant par ailleurs un involucre supplémentaire constitué par des bractées pectinées épineuses [5].

II-1-3-*S. hispanicus* :

C'est une plante bisannuelle qui atteint jusqu'à 1,20 m et même plus, elle est caractérisée par des tiges a ailles interrompues, très rameuse. Bractées externes de l'involucre non cupidée, ses capitules sont plus petits que les deux autres espèces à involucre non supplémentaire de 3 bactées, Feuille caulinaire, largement amplexicaules [5].



Figure 5 : *S. hispanicus*

II-1-4- *S. maculatus* :

C'est une plante annuelle. Qui atteint 1m et peut même le dépasser elle est caractérisée par Tiges blanches, glabres, à 2-4 ailes très larges, épineuses et pourvues d'une très large marge cartilagineuse et blanche.

Capitules involuqués par 3-5 bractées supplémentaires à très longues épines rigides des capitules tous terminaux, disposés en inflorescences avec des Akènes surmontés d'une couronne courte, denticulée et inerme [3].



Figure 6 : *S. maculatus*

II-1.5 *S. grandiflorus*:

Nom scientifique *S. grandiflorus*

Nom vulgaire zernije

Classification

Règne : plante

Embranchement : spermatophytes (angiosperme)

Classe : dicotylédones

Famille : Astéracées.

Genre : *Scolymus*.

Chapitre II : Etude Botanique

Plante : vivace de 15 à 50 cm dressée



Figure 7 : *S. grandiflorus*

Pilosité : pubescente

Tiges : à fortes ailes ininterrompues (sauf à la base), épineuse, simple, terminée par 1 à 5 capitules sensilles enveloppés de 3 bractées (6 au capitule terminal)

Bractées : rigide, coriaces longuement acuminées, armées à la base de fortes épines raides.

Feuilles : oblongue ou linéaire profondément découpée a segment étroits, les caulinares décurrentes.

Involucre : à folioles macaronées, les extérieurs ovales, les moyennes oblongues.

Fleurs : jaunes deux fois plus grandes, soit environ 3cm de diamètre

Fruit : akènes surmontés de 2 ou 3 soies.



Fleurs



Racines



plante

Figure 8 : Racines et fleurs de *S. grandiflorus*

II-2- Distribution géographique de la plante :

Cette espèce est beaucoup trouvée dans le nord-ouest de l'Afrique Algérie, Maroc, Tunisie, Libye, on peut aussi la trouver en France, Italie, Turquie, Liban [6].



Figure 9 : Distribution géographique du *S. grandiflorus*

II-3. Domaine d'application traditionnelle du genre *Scolymus* :

II-3-1- *S. hispanicus* :

Une enquête menée auprès des herboristes a montré que le *S. hispanicus* s'emploie traditionnellement pour faire passer les calculs rénaux [7], en outre pour se débarrasser des vers intestinaux, dans le domaine culinaire, cette plante est très utilisée dans la région de la méditerranée comme salade, les gens coupent l'écorce et les racines et ils lui ajoutent de l'huile d'olive, aussi elle est ajoutée à la préparation des soupes.

II-3-2- *S. grandiflorus* :

Cependant, les enquêtes menées aux prés des herboristes dans le domaine de la phytothérapie révèlent que le genre *S. grandiflorus* est traditionnellement utilisé comme remède contre les maladies de l'estomac, comme fortifiant, contre les calculs rénaux , pour les infections urinaires , aussi contre les hémorroïdes et pour la maladie céliaque. Dans le domaine culinaire, les racines participent dans la préparation du fameux mélange de plantes ayant un effet bénéfique pour la santé (Berkoukes).

II-3-3- *S. maculatus* :

D'après la recherche qu'on a menée cette espèce n'est pas utilisée traditionnellement elle est juste citée comme une mauvaise herbe [8].

II-4- Travaux scientifique réalisés sur le genre *Scolymus* :

La recherche bibliographique que nous avons réalisée sur le genre *Scolymus* a montré :

- Qu'en 1997 des études ont été menées sur l'extrait éthanolique de l'écorce et de la racine de *S. hispanicus*, son composé principal l'acétate de Taraxasteryl à montrer une activité antispasmodique sur l'iléon des rats isolé [9].

- En 2009 une équipe de chercheurs a testé l'activité antifongique de l'extrait hydroalcoolique de *S. hispanicus* qui a inhibé le développement d'un champignon (*Botrytis cinerea*) à 4% [10].

- En 2013 des scientifiques ont étudié le potentiel thérapeutique des extraits aqueux-méthanol de *S. hispanicus* contre le diabète type 1 qui a été provoqué par une injection de la streptozotocine (65mg/kg de poids corporel) chez des rats après une semaine de l'injection, puis ils ont administré à ces rats des extraits de plantes à des doses de 100 mg/kg de poids corporel par jour pendant 28 jours. Les résultats ont montré que l'extrait du *S. hispanicus* ($p < 0,05$) a modifié à jeun le niveau de glucose dans le sang [11].

- En Turquie les écorces et de racines de *S. hispanicus* est commercialisés pour un médicament prescrit pour faire passer les calculs rénaux et de la vessie [12].

Références

- [1] Bernard B. 1988. Dictionnaire de botanique. Ellipse, International Standard Book Number. 4, 398-171.
- [2] Grimaud F. 2009. Les astéracées du Ladakh dans la médecine tibétaine, Springer. 7, 255-261.
- [3] Brahim H. 2011. Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae: *scorzonera undulata*.
- [4] Junich K., Masanabu A., Yasuka T. 1994. Triterpenoid constituents of *Ficusthunbergii*. Chemical pharmaceutical bulletin. 42(3), 608-610.
- [5] Quezel P., Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2. Ed. C.N.R.S.
- [6] Vazquez F.M. 2000. The Genus *Scolymus* L. (Asteraceae) taxonomy and distribution, Anales jardin botanico Madrid. 58(1), 83-100.
- [7] Tunalier Z., Kirimer N., Husnu Can Bafier K. 2006. Demise of a 60-year old Turkish herbal medicine: *liazolcemil*. 213-216.
- [8] Ladhari A., Omezzine F., Rinez A., Haouala R., Gnidium L. 2011. Phytotoxicity of *Daphne Gnidium* L. Occurring in Tunisia, Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering 5(11). These /8776.
- [9] Kirimer N., Tunalier Z., Can Baser K.H., Cinji I. 1997. Antispasmodic and spasmogenic effects of *Scolymus hispanicus* and Taraxasteryl acetate on isolated ileum preparation, Planta Medica. 63(6), 556-558.
- [10] Ionescu D., Negru G., Oprea M., Llescu H. 2009. Fungicide action of certain biological products, lucrari Stiintifice. 52(1), 749-752.
- [11]. Ozkol H., Tuluce Y., Dilsiz N., Koyuncu S. 2013. Therapeutic potential of some plant extracts used in Turkish traditional medicine on streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus in rats, Membrane Biology. 246 (1), 47-55.
- [12] Vazquez F.M. 2000. The Genus *Scolymus* L. (Asteraceae) taxonomy and distribution, Anales jardin botanico Madrid. 58(1), 83-100.

III-1-Méthodes utilisées pour l'extraction des HEs :

Les hydrodistillations ont été réalisées avec un appareil du type Clevenger. On place 400 g de la matière végétale sèche dans 4 litres d'eau puis on chauffe l'ensemble pendant une durée de 5h. Après on récupère les vapeurs refroidies. Enfin, les HEs sont conservées dans des flacons de verre ambrés à une température de 4°C. Les rendements sont calculés par rapport à la masse de végétal frais.

III-1-1 Calcul du rendement :

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse du matériel végétal à traiter.

$$\text{Rd}\% = (m1/m0) * 100$$

Rd : rendement en HE

m1 : masse en gramme d'HE

m0 : masse en gramme de la matière végétale

III-2- Méthodes d'identification chimiques des HEs :

III-2-1 Analyse par CPG/FID :

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem GC, équipé de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID) permettant la détection des composants, d'un injecteur diviseur et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i; épaisseur du film : 0,25 µm) respectivement polaire (Rtx-Wax, polyéthylène glycol) et apolaire (Rtx-1, polydiméthyl-siloxane).

Le gaz vecteur est l'hélium (1mL/min) avec une pression en tête de colonne de 25 psi. La température de l'injecteur est de 250°C et celle du détecteur de 280°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C, à 2°C/mm, puis en un palier de 45 mm à 230°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/50. La quantité de l'huile injectée est de 0,2 µL. Pour chacun des composants, les indices de rétention polaires et apolaires sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalons d'alcane.

III-2-2 Couplage CPG/Spectrométrie de masse :

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem XL, doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i. épaisseur du film : 0,25 µm) polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), couplé à un détecteur de masse Perkin Elmer Turbo Mass. Le gaz vecteur est l'hélium (1mL/min) avec une pression en tête de colonne de 25psi. La température de l'injecteur est de 250°C. La programmation de la température se fait en une élévation de 60 à 230°C, à 2°C/mm, puis en un palier de 35 mm à 230°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80.

III-3- Activité antioxydante :

III-3-1 Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) :

Pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm.

Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites antioxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire. La forme réduite (diphényl picryl-hydrazine : de couleur jaune) n'absorbe plus à 517 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance [1].

Selon le protocole décrit par Mansouri et al (2005) [2] avec des légères modifications qu'on a apportées, la solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,6 mg de DPPH dans 100 mL de méthanol. Des solutions à différentes concentrations de l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat ou standard (BHT) sont ajoutés à un volume complémentaire de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée à 517 nm. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\text{AAR\%} = [\text{Abs}_{48\text{h}}(\text{échantillon})/\text{Abs}_{48\text{h}}(\text{BHT})] \times 100.$$

Calcul des IC₅₀:

IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC₅₀ (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Chapitre III : Matériels et méthodes

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés.

III-3-2 Réduction du fer FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) :

La méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe³⁺ présents dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe²⁺, la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe³⁺) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe²⁺), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm.

Le protocole expérimental utilisé est celui de Wang et ses collaborateurs [3], où : 2,5mL de l'échantillon à différentes concentrations, est mélangé avec 0,5 mL d'une solution tampon phosphate (pH= 6.6) et 0,5 mL d'une solution de potassium ferrocyanide à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 0,5 mL d'acide trichloracétique à 10% est ajouté pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000g pendant 10 min. 1 mL du surnageant sont ajoutés à 0,5 mL d'eau distillée et 0,3mL d'une solution de chlorure de fer (FeCl₃) à 0.1%.

Après incubation à température ambiante et à l'obscurité, la lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

III-4- Activité antifongique de l'HE :

III-4-1-Les souches :

Les souches utilisées sont : *Aspergillus flavus* ; *Aspergillus niger* ; *Trichoderma sp* ; *Rhizopus oryzae* et *Penicillium sp*. (Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels ; faculté des sciences, Tlemcen - Algérie).

III-4-2-Le milieu de culture:

Milieu PDA "potatoes dextrose agar" (Par Litre: Extrait de pomme de terre 4g ; Dextrose 20g ; Agar 15g).

III-4-3-Méthode:

La détermination de l'activité antifongique a été accomplie par la diffusion du disque d'agar selon la méthode de comité national des cliniques de laboratoire standard(1997). Les

Chapitre III : Matériels et méthodes

HEs sont diluées dans le Tween 80 (1 :2 ; 1 :4 ; 1 :8 et 1 :16) (Figure 10) pour avoir une gamme de concentrations. Les essais sont effectués en utilisant la méthode de diffusion en disque rapportée par Murray *et al.*, (1995) et employant 100 μ L de suspension contenant 10^4 spores / mL de champignon sur le milieu PDA. Les disques (de 6 mm de diamètre) imprégnés par 10 μ L de la solution d'extraits et de Tween 80 (comme contrôle négatif) sont placés sur le milieu PDA. L'incubation a été effectuée dans une étuve à la température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 5 à 7 jours. Les diamètres des zones d'inhibition sont considérés comme une mesure de l'activité antifongique et chaque test est répété deux fois [5].

Le pourcentage d'inhibition de la croissance fongique est calculé par la formule suivante:

$$\% \text{ Inhibition} = (D_{\text{test}} / D_{\text{control}}) \times 100$$

D_{test} : diamètre de la zone d'inhibition.

D_{control} : diamètre de la boîte de pétri.

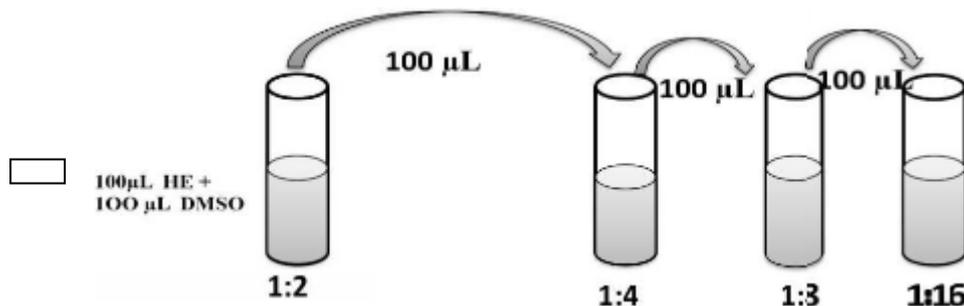


Figure N°10: Schéma de dilution de l'HE.

III-5- Activité larvicide:

III-5-1- Evaluation de l'efficacité de l'HE sur *Ceratitis capitata*:

Dix individus de chacun des stades de *Ceratitis capitata* (adultes, pupes et larves) sont mis dans des bocaux en verre contenant une quantité du milieu de culture, composé de 30% de levure et 70% de sucre, ainsi qu'une éponge mouillée pour assurer l'hygrométrie. Ceux-ci sont traités à différentes doses d'HE. Des lots de témoins sont réalisés en parallèle, sans avoir mis de l'HE. Trois répétitions sont effectuées pour les doses et pour le témoin. Les bocaux sont fermés hermétiquement pour éviter l'évaporation de notre produit et maintenus dans les mêmes conditions de températures et d'humidité.

III-5-2- Correction de la mortalité :

Nous avons estimé les mortalités des populations pour chaque bioessai. Les pourcentages de mortalité sont corrigés par la formule de Schneider-Orelli :

$$MC (\%) = 100x (M-MT) / (100xMT)$$

MC : pourcentage de mortalité corrigée ;

M : pourcentage d'individus morts dans la population traitée ;

MT : pourcentage d'individus morts dans la population témoin.

Références

- [1] Takao T., Kitatani F., Watanabe N., Yagi A., Sakata K. 1994. A Simple Screening Method for Antioxidants and Isolation of Several Antioxidants Produced by Marine Bacteria from Fish and Shellfish. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 58, 1780-1783.
- [2] Ghiaba Z., Boukouada M., Djeridane A., Saidi M., Yousfi M. 2012. Springer-Verlag Screening of antioxidant activity and phenolic compounds of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Algeria. 5, 119–126.
- [3] Oyaizu M. 1986. Antioxidative Activities Of Browning Products Of Glucosamine Fractionated By Organic Solvent And Thin-Layer Chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. 35, 771-775.
- [4] Chaouche T.M. 2014. Contribution à l'étude des activités antimicrobiennes des extraits de de quelques plantes médicinales, Thèse de Doctorat d'état, Université de Tlemcen.
- [5] Murray P.R., Baron E.J., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover R.H. 1995. In *Manual of clinical microbiology*, 7th ed, Washington, DC: ASM; pp. 1773.

IV-1- Composition chimique de l'HE des racines de *S. grandiflorus* :

A notre connaissance, il n'y a aucune donnée disponible sur l'HE de *S. grandiflorus*. Dans cette partie, nous présentons les résultats de notre étude sur les HEs de cette plante préparée à partir de végétal récolté dans l'ouest Algérien. Le matériel végétal a été récolté durant la période de janvier 2016. Il a été hydrodistillé durant 5 heures dans un appareillage du type Clevenger avec un rendement de 0,07% par rapport à la masse de végétal frais.



Figure 11: Montage d'hydrodistillation de type Clevenger

L'huile essentielle des racines est analysée par CPG-Ir et CPG/SM-IE. Un total de sept (07) composés a été identifié. L'HE de *S. grandiflorus* que nous avons étudié, est caractérisé par une prédominance de composés sesquiterpéniques oxygénés qui représentent en effet plus de 67 % de la composition chimique globale (Tableau 1).

Les composés sesquiterpéniques identifiés dans l'HE des racines de *S. grandiflorus* sont la cis Davanone (65.2 %), Davanone D (1.9 %), Davanone B (1.7 %) et la Davanone C (1.3 %).

Chapitre IV : Résultats et discussions

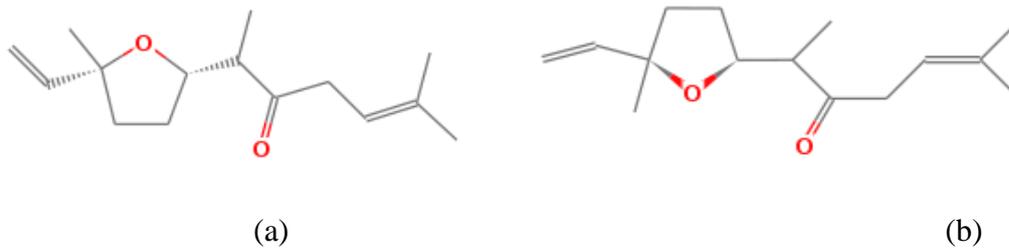


Figure 12 : (a) Cis Davanone ; (b) : Davanone C, B et D

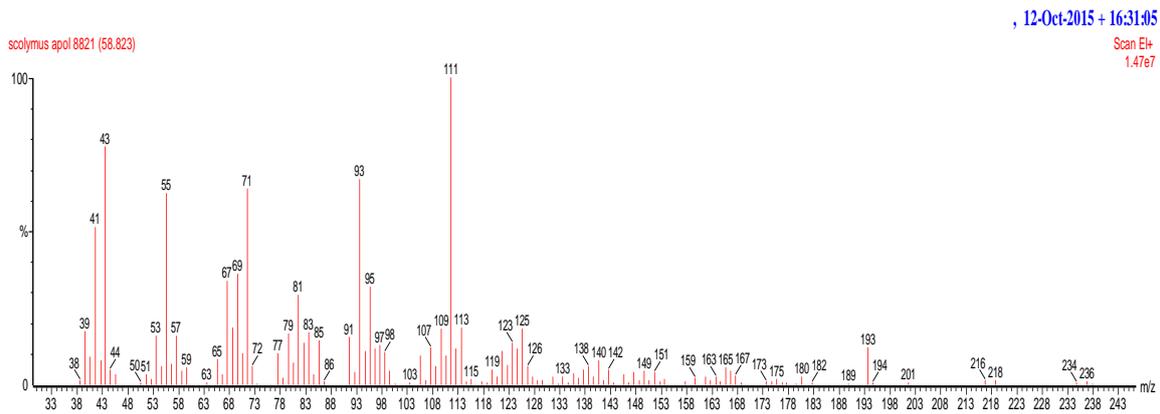


Figure 13 : Spectre de masse de la cis Davanone

IV-1-1 Caractéristiques organoleptiques de l'HE extraite :

Ces caractéristiques sont groupées dans le tableau suivant :

Tableau 1: caractéristiques organoleptiques de l'HE de *S. grandiflorus*

Huile de <i>S. grandiflorus</i>	Caractéristiques organoleptiques		
	Couleur	Odeur	Aspect
	jaune	terre	Gras

IV 2- Activité antioxydante de l'HE de *S. grandiflorus* :

IV-2-1-Introduction :

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de l'HE de *S. grandiflorus* a été réalisée par 2 méthodes (piégeage du radical libre DPPH, la réduction du fer FRAP).

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV-2.2. Test de piégeage du radical libre DPPH :

L'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) *vis-à-vis* du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517 nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires [1].



Figure 14 : Réduction du radical DPPH du violet au jaune par l'H.E de *S. grandiflorus*

Tableau 2 : % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'H.E de *S. grandiflorus* et de l'acide ascorbique à différentes concentrations.

Echantillons	Activité antioxydante	Concentration (µg/mL)				
		5	10	15	20	30
Huile <i>S. grandiflorus</i>	Concentration (µg/mL)					
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	21.35	46.0	65.0	74.47	94.93
	DPPH IC ₅₀ (µg/mL)					11.3
Acide ascorbique	Concentration (µg/mL)					
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	26.32	48.10	66.66	86.35	99.23
	DPPH IC ₅₀ (µg/mL)					43.2

Les résultats du pouvoir antioxydant de l'huile testée montrent que le pourcentage d'inhibition est supérieur à 90% à la concentration de 30 µg/mL (Tableau 3). D'autre part, la valeur de l'IC₅₀ déterminée en µg/mL exprime la concentration efficace de l'extrait antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de moles de DPPH (Tableau 3).

Selon les résultats enregistrés, l'HE est doté d'un très grand pouvoir antioxydant, sa concentration IC₅₀ est de 11.3 µg/mL presque 4 fois inférieure à celle de l'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 43.2 µg/mL. Il a été démontré que les molécules antioxydantes

Chapitre IV : Résultats et discussions

telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène [2]. Les composés sesquiterpéniques oxygénés contenus dans l'huile de *S. grandiflorus* sont probablement responsables de l'activité antioxydante de cette huile.

IV-2.3. Test de réduction du fer FRAP :

L'activité antioxydante de l'huile de *S. grandiflorus* a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible [3]. Il est universel et peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux [4].

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} /complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleue dans le milieu réactionnel à 700 nm [4].

En d'autres termes, le système $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semi-quantitative » des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox [5].

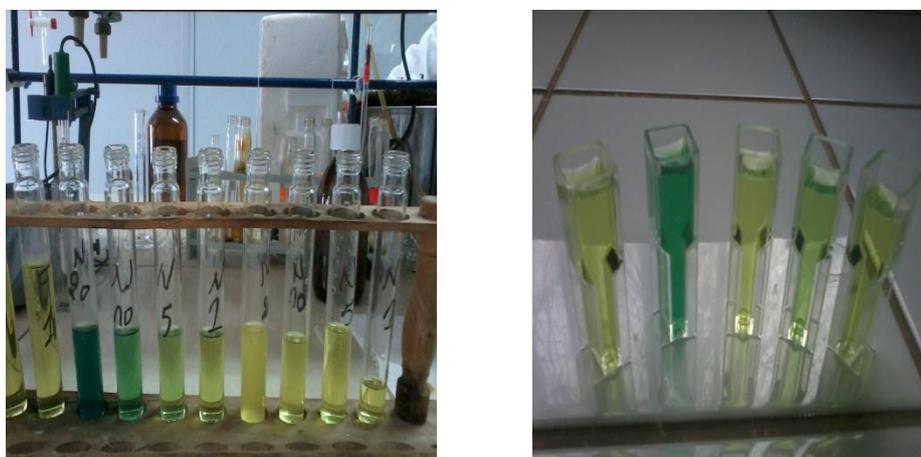


Figure 15 : Réduction de l'ion ferrique du jaune au vert par l'HE de *S. grandiflorus*

Le pouvoir réducteur de l'HE de la plante est dose dépendante (concentration dépendante). A la concentration de 20 $\mu\text{g/mL}$, le pouvoir réducteur de l'HE de *S. grandiflorus* est largement supérieur ($DO=2.13$) et qui est pratiquement égale à celui de l'acide ascorbique ($DO= 2.45$) (Figure 16). Le pouvoir réducteur de cette HE est probablement dû à la présence

Chapitre IV : Résultats et discussions

de composés qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants [6].

Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle [7, 8].

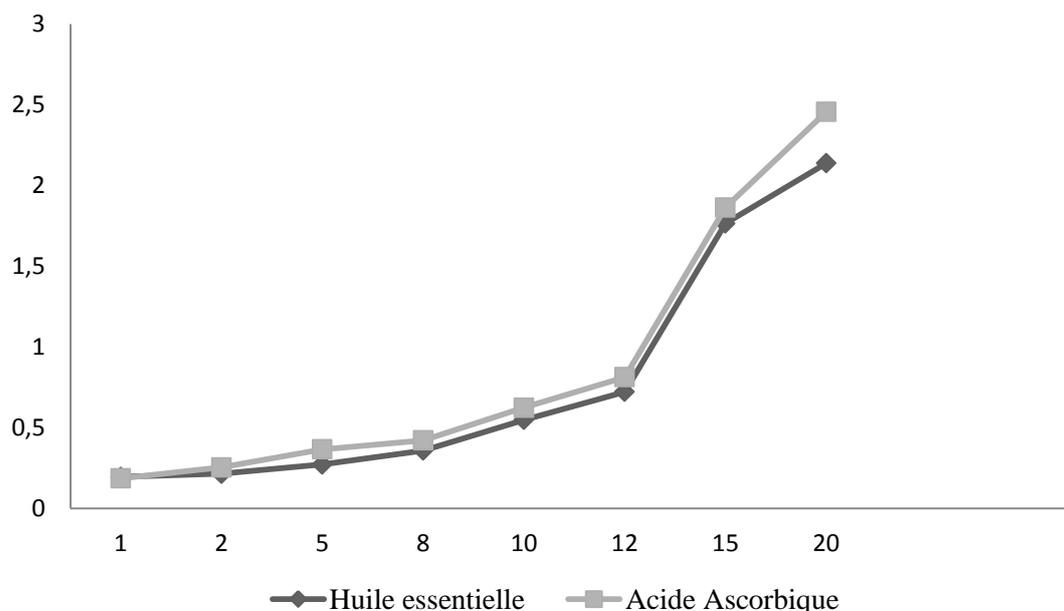


Figure 16: Pouvoir réducteur de l'HE de *S. grandiflorus*. et de l'acide ascorbique

L'étude de l'activité antioxydante de l'HE de l'espèce *S. grandiflorus* selon la méthode de la réduction du fer et celle du piégeage du radical libre DPPH a montré que cette huile possède une très bonne activité antioxydante. Cette huile pourrait donc constituer une alternative à certains additifs synthétiques.

Il est donc très probable que cette HE contient des composés qui peuvent présenter une activité comparable à celle de l'acide ascorbique. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier ces constituants.

IV-3- Activité antifongique in vitro de l'HE :

Les maladies des plantes continuent à jouer un rôle majeur dans la limitation de la production agricole, en particulier dans les cultures gérées de manière intensive. Toutefois, les

Chapitre IV : Résultats et discussions

préoccupations concernant la sécurité alimentaire, la qualité de l'environnement et la résistance aux pesticides ont dicté la nécessité pour les techniques de lutte antiparasitaire [10].

Les effets inhibiteurs de l'HE ont été évalués sur quatre champignons pathogènes responsables de la pourriture des fruits et légumes: *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Fusarium., sp.* et *Trichoderma., sp.* Les résultats in vitro du traitement des champignons par l'huile *S. grandiflorus* sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 3: Effets de l'HE sur la germination des spores de microorganismes testés.

Microorganisms Testés	Huile essentielle		
	5 µL/mL	10 µL/mL	15 µL/mL
<i>Aspergillus sp.</i> ,	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00
<i>Penicillium sp.</i> ,	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00
<i>Fusarium sp.</i> ,	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00
<i>Trichoderma sp.</i> ,	100 ± 00	100 ± 00	100 ± 00

L'HE des racines de *S. grandiflorus* exerce une activité antifongique significative à seulement 5 µL/mL d'essence est inhibé avec un pourcentage de 100 % la souche de *Trichoderma sp.*, cependant, aucune activité vis-à-vis des autres moisissures a été observée. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

Dans ce travail, la réduction de la croissance des colonies du mycélium en présence de l'HE de *S. grandiflorus* montre que l'huile testée contrôle efficacement la souche *Trichoderma., sp.* Cette efficacité s'explique par la présence de molécules actives qui inhibent la croissance des champignons phytopathogènes. Cette activité de l'HE est probablement associée à la grande quantité de composés sesquiterpéniques, en particulier à la composante principale : la Davanone.



Figure 17 : résultat de l'activité antifongique de l'He de *S. grandiflorus*.

IV-4- Etude de l'activité larvicide de l'HE :

L'utilisation des insecticides de synthèse, de plus en plus réglementée pour la protection de l'environnement, est à l'origine de nombreux cas de résistance chez les insectes. Dans ce contexte, le recours à des molécules naturelles (d'intérêt écologique et économique) aux propriétés insecticides ou insectifuges, se révèle être une démarche alternative à l'emploi des insecticides de synthèse.

L'objectif de ce travail, consiste à l'évaluation du potentiel larvicide de l'HE de *S. grandiflorus* sur *Ceratitis capitata*. Les résultats de l'exposition des larves, des pupes et des mouches de la *Ceratitis capitata* à l'HE de *S. grandiflorus* durant 24H sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 4: Efficacité larvicide de l'HEde *S. grandiflorus* contre la *Ceratitis capitata* .

Concentrations ($\mu\text{L/L}$ air)	Pourcentage de mortalité		
	Pupes	Larves	Mouches
2.5	20 ± 1.2	13.33 ± 1.2	10 ± 1.6
10	30 ± 1.6	16.66 ± 2.6	20 ± 3.6
25	45 ± 2.1	20.33 ± 2.3	58.66 ± 2.1

Après avoir exposé des larves du stade 3, des pupes et des mouches de la *Ceratitis capitata* aux différentes concentrations, il ressort que les tests d'activités larvicides réalisés sur l'HE indiquent une relation directe des pourcentages de mortalité des larves, des pupes et des mouches avec la concentration en HE (Tableau 5).



Figure 18 : l'activité larvicide sur les différents stades de vie de *Ceratitis capitata* par l'HE de *S. grandiflorus*

La mortalité des larves, atteint des taux inférieurs à 20.5 % pour les 03 concentrations testées. Cependant, pour une concentration de 25 $\mu\text{L/L}$ air, le test de l'activité larvicide sur les pupes, montre que le pourcentage de mortalité a atteint un taux de 45 %, alors que pour les mouches, il a atteint un pourcentage de 58.66 %. De l'ensemble de ces résultats un premier classement de l'efficacité toxique de l'huile testée sur les différents stades est mis en évidence, ainsi l'huile est plus toxique sur les mouches, les pupes et enfin les larves. Ces résultats, bien qu'ils soient préliminaires, illustrent bien l'intérêt que présente l'huile de *S. grandiflorus* dans la lutte anti-larvaire, avec un effet concentration-dépendant. Cette activité est aussi étroitement liée à la grande quantité de composés sesquiterpéniques et ou des composés minoritaires de cette HE.

Références

- [1] Majhenic L., Kerget M.S., Knez Z. 2007. Antioxidant and antimicrobial activity of *guarana* seed extracts. *Food Chemistry*. 104, 1258-1268.
- [2] De Pooter H.L., Schamp N. 1986. Comparaison of the volatils composition of some *Calamintha satureja* species. In : *Progress in essential oil research*. Ed. E-J. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin. 139-150 p.
- [3] Benzie. I.F.F., Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma as a measure of “antioxidant power” the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70-76.
- [4] Li H.B., Wong C.C., Cheng K.W., Feng C. 2008. Antioxidant properties in vitro and total Phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel- Wissenschaft and Technology*. 41(3), 385-390.
- [5] Chung Y.C., Chang C.T., Chao W.W., Lin C.F., Chou S.T. 2002. Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 2454-2458.
- [6] Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddamc P., Barl B., Weil J.A. 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 84, 551-562.
- [7] Siddhuraju P., Becker K. 2007. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*, 101(1), 10-19.
- [8] Jeong S.M., Kim S.Y., Kim D.R., Jo S.C., Nam K.C., Ahn D.U., Lee S.C. 2004. Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 52, 3389-3393.
- [9] Kumaran A., Karunakaran R.J. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 40, 344-352.
- [10] Zambonelli A., D'aulerio A.Z., Bianchi A., Albasini A. 1996. Effects of Essential Oils on Phytopathogenic Fungi In Vitro. *Journal of Phytopathology*. 144(9-10):491-494.

Conclusion générale

L'Algérie dispose d'une très grande variété végétale et possède de nombreuses plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ne sont pas évaluées scientifiquement. Parmi elles, notre plante *S. grandiflorus* de la famille des Astéracées qui n'a jamais fait l'objet d'aucune étude chimique ni biologique.

Cette étude s'inscrit dans le cadre des travaux de recherche de l'équipe des Huiles essentielles du laboratoire de substances naturelles bioactives de l'université de Tlemcen, Algérie. L'objectif principal de ce travail est de fournir des informations scientifiques objectives sur cette plante utilisées en médecine traditionnelle donc cette plante nous permet d'une part la connaissance de la composition chimique de cette HE et de tester son activité biologique d'autre part.

De ce travail il ressort que l'H.E de *S. grandiflorus* est, décrite pour la première fois. Elle s'est avérée particulièrement intéressante d'un point de vue analytique elle est caractérisée par une prédominance de composés sesquiterpéniques oxygénés qui représentent en effet plus de 67 % de la composition chimique globale de l'H.E de ses racines.

Dans l'H.E de *S. grandiflorus* nous avons aussi trouvé un nouveau composé naturel non identifié avec un pourcentage de 15.5 %

L'activité antioxydante de H.E a été déterminée par deux méthodes, DPPH et FRAP dont les résultats montrent que l'H.E des racines de *S. grandiflorus* possède une activité antioxydante quatre fois supérieure au témoin (BHT), c'est probablement les composés sesquiterpéniques oxygénés contenus dans cette huile qui sont responsables de cette activité antioxydante.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antifongique sur quatre champignons pathogènes responsables de la pourriture des fruits et légumes: *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Fusarium., sp.* et *Trichoderma., sp.* les résultats ont montrer que l'HE des racines de *S. grandiflorus* exerce une activité antifongique significative qui a inhibé avec un pourcentage de 100 % la souche de *Trichoderma sp.*, cependant, aucune activité vis-à-vis des autres moisissures a été observée.

Cette efficacité s'explique par la présence des molécules actives qui inhibent la croissance des champignons phytopathogènes. Cette activité est probablement associée à la grande quantité de composés sesquiterpéniques, en particulier à la composante principale : la Davanone.

Conclusion générale

Nous avons aussi réaliser une activité larvicide de l'HE des racines de *S. grandiflorus* sur les pupes, les larves et les mouches de la *Ceratitis capitata* , il ressort que cette activité indique une relation directe des pourcentages de mortalité des larves, des pupes et des mouches avec la concentration en HE qui a atteint un pourcentage de 58,66% de mortalité des mouches ce qui s'avère très intéressant concernant l'efficacité toxique de l'huile testé sur les différents stades. Ces résultats, bien qu'ils soient préliminaires, illustrent bien l'intérêt que présente l'huile de *S. grandiflorus* dans la lutte anti-larvaire, avec un effet concentration-dépendant.

Cette activité est aussi étroitement liée à la grande quantité de composés sesquiterpéniques et ou des composés minoritaires de cette HE. Sachant que ces résultats sont prometteurs et que cette plante se caractérise par des molécules particulièrement intéressantes et qui demandent d'être exploitées, nous proposons comme perspectives de :

- Identifier, isoler et purifier ces constituants ;
- Tester son pouvoir anticancéreux ;
- Faire une étude toxicologique de cette HE.