



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMCEN

MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie des Produits Naturels

Par :

SALAH Imane

Sur le thème

Contribution à la recherche de nouvelles substances à effets biocide :
étude chimique et activités biologiques.

Soutenu le 28 Septembre 2020 à Tlemcen devant le jury composé de :

MELIANI Nawel	M.C. B	Université de Tlemcen	Présidente
ABBAD Sarra	M.C. B	Université de Tlemcen	Examinatrice
DIB Mohammed El Amine	Professeur	Université de Tlemcen	Encadreur

*Laboratoire LASNABIO
BP 119, 13000 Tlemcen - Algérie*

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu le tout puissant et miséricordieux de m'avoir donné courage, force et volonté pour réaliser ce travail.

Tout d'abord, J'exprime ma profonde reconnaissance et toute ma gratitude à mon encadreur Pr.DIB Mohammed El Amine, qui m'a honoré en acceptant de diriger ce travail, pour l'aide et le suivi qu'il m'a fournis tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Mes sincères remerciements vont également à Melle BENHAMIDET Lyna, elle n'a jamais hésité à me proposer son aide précieuse tout le long de mon travail, sa disponibilité, sa gentillesse à mon égard ont contribué au bon déroulement de ce travail.

Je remercie particulièrement Dr MELIANI Nawel, qui me fait l'honneur de présider ce jury.

Mes vifs remerciements vont également à Dr ABBAD Sarra, pour l'intérêt qu'elle porte à mon travail et pour le temps consacré afin de l'évaluer.

Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur GHALEM Saïd, directeur du laboratoire de Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO).

Enfin, Merci à tous ceux et celles qui m'ont soutenu d'une manière ou d'une autre, de près ou de loin.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

Je ne pourrais jamais vous rendre ce que vous avez fait pour moi, mais j'espère seulement que vous trouverez dans ce modeste travail, un réel motif de satisfaction. *Que Dieu, le Très Haut, leurs procure santé, bonheur et longue vie.*

À ma sœur Ikram, pour son soutien moral. Merci d'être toujours là pour moi.

À mes chers frères, Mourad et Issam.

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

*À mes très chers petit neveu et nièces
Louay, Nourhane et Ryhem.*

À mes très chères amies Toumia et Yousra, pour leur présence, leur amour et leur soutien.

À mon beau-frère Mokhtar et ma belle-sœur Wafaa

À toutes les personnes que j'aime.

Table des matières

Introduction générale.....	1
Partie A : Revue bibliographique	3
Chapitre I : Les produits phytosanitaires et leurs utilisations dans le domaine de l'agriculture.	2
I.1 <i>Définition des pesticides.....</i>	3
I.2 <i>Classification des pesticides agrochimiques.....</i>	3
I .2.1 Pesticides synthétiques.....	3
I.2.1.1 Le mode d'action :.....	3
I.2.1.2 La nature de cible à viser :.....	3
I.2.1.3 La structure chimique :	3
I.3 <i>Les pesticides dans l'agriculture.....</i>	6
I.4 <i>Toxicologie des pesticides.....</i>	7
Chapitre II: Les Huiles essentielles et leurs utilisations comme biopesticides.	7
II.1 <i>Introduction.....</i>	8
II.2 <i>Les huiles essentielles.....</i>	8
II.2.1 Définition.....	8
II.2.2 Méthodes d'extraction des HEs.....	9
II.2.1.1 Hydrodistillation.....	9
II.2.1.2 Entraînement à la vapeur d'eau.....	10
II.3 <i>La composition chimique des HEs.....</i>	10
II.4 <i>Analyse des huiles essentielles.....</i>	11
II.4.1 Chromatographie en phase gazeuse CPG et CPG-SM.....	11
II.4.2 Identifications des constituants des huiles essentielles.....	12
II.5 <i>L'utilisation des HEs comme biopesticides.....</i>	12
II .5.1 Définition des biopesticides :	12
II .5.2 Les biopesticides en agriculture.....	13
II .5.3 Activité fongicide des HEs :.....	13
II .5.4 Activité antibactérienne des HEs :	13
Chapitre III : Description botanique et chimique des espèces étudiées.....	14
III.1 <i>Centaurea Pullata L.....</i>	15
III .1.1 Description botanique :	15
III .1.2 Usage traditionnel :	15
III .1.3 Travaux antérieurs :	15
III.2 <i>Centaurea sulphurea.....</i>	16
III .2.1 Description botanique :	16
III .2.2 Travaux antérieurs.....	17

Partie B : Partie expérimentale..... 18

Chapitre IV : Matériels et méthodes. 17

IV.1 Echantillonnage du matériel végétal :..... 18

IV .1.2 Choix des plantes :..... 18

IV .1.3 Provenance du matériel végétale et identification : 18

IV.1.4 Facteurs géographiques influençant : 18

IV.2 Extraction des huiles essentielles. 18

IV.2.1 La technique Hydrodistillation : 18

IV.2.2 Conservation des HEs 19

IV.2.3 Calcul du rendement 19

IV.3 Analyse chimique des huiles essentielles. 20

IV.3.1 Conditions CPG (LASNABIO) 20

IV.3.2 Conditions (CPG/SM) de Corse 21

IV.4 Tests biologiques 22

IV.4.1 Activité antibactérienne 23

IV.4.2 Activité antifongique 23

Chapitre V : Résultats et discussions..... 24

V.1 Caractéristiques organoleptiques..... 25

V.2 Rendement des huiles essentielles..... 25

V.3 La composition chimique des huiles essentielles 27

V .3.1 Composition chimique de *Centaurea Sulphurea* : 27

V .3.2 Composition chimique de *Centaurea Pullata* : 28

V.4 Travaux antérieurs : 30

V.5 Evaluation de l'activité antifongique et antibactérienne..... 31

Conclusion générale. 34

Résumés.

Bibliographie.

Introduction générale

Les pesticides demeurent une préoccupation au sein des populations et des autorités de santé publique, ces substances chimiques souvent incolores, inodores et insipides sont omniprésentes dans notre environnement, véhiculées par l'air, l'eau, le sol et l'alimentation.

Depuis l'antiquité, on sait que ce qu'on mange est directement lié à notre santé, malheureusement, chaque jour nos assiettes contiennent plusieurs résidus de pesticides qui sont suspectés d'être nuisibles à la santé humaine à cause de l'utilisation inadaptée de ces produits phytosanitaires ; non seulement la santé humaine mais aussi ils présentent plusieurs dangers sur notre environnement.

En Algérie comme dans le monde entier, la lutte chimique au moyen de pesticides reste le moyen le plus utilisé pour protéger les cultures contre leurs ennemis, une importation en moyenne de 8827 tonnes de pesticides pour un cout estimé à près de 4 milliards et demi de dinars par an (Anonyme, 2006).

Pour les agriculteurs, le bénéfice de l'utilisation des pesticides est le gain très important dans les rendements des exploitations agricoles, un gain d'argent non négligeable, ainsi des avantages esthétiques (fruits et légumes sans défauts) ; mais on ne peut pas négliger que ces produits phytosanitaires sont extrêmement dangereux et peuvent avoir des effets toxiques aiguës et/ou chroniques sur la santé humaine et laissent des effets désastreux et indésirables sur l'écosystème en tant que molécules non dégradables

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Actuellement les plantes aromatiques et les huiles essentielles possèdent un atout considérable, et sont largement utilisées dans différents domaines d'intérêt économique tels que la cosmétique et l'agroalimentaire.

L'étude des huiles essentielles est toujours une brûlante actualité et leur efficacité a été scientifiquement démontrée. Ces dernières semblent être une alternative fiable face aux pesticides chimiques qui constituent un problème majeur de la santé humaine.

Les huiles essentielles à base de plantes peuvent être davantage analysés et appliqués en tant que substitut puissant, écologique et économique aux produits chimiques. En effet, la richesse de la flore algérienne en plantes aromatiques, nous a permis de penser à cette alternative pour protéger notre santé et celles de nouvelles générations des dangers dues aux produits chimiques.

Un trésor est devant nos yeux c'est « la nature ».

Dans le but de la recherche des substances d'origine naturelle ayant des pouvoirs insecticides et fongicides pour nettoyer les surfaces en respectant la santé humaine et l'environnement, les plantes aromatiques sources de ces substances sont largement répandues dans la nature, notre étude phytochimique et pharmacologique est basée sur deux espèces de l'une des plus grande famille botanique « Astéracées » et de genre *Centaurea* d'Algérie : " *Centaurea Pullata L*" et "*Centaurea sulphurea* ".

Ce mémoire est constitué en deux parties :

- La première partie est consacré à une revue bibliographique qui est subdivisée en trois chapitres :

Le premier chapitre : est consacré aux produits phytosanitaires et leurs utilisations dans le domaine de l'agriculture.

Le deuxième chapitre : Les huiles essentielles et leurs utilisations comme biopesticides.

Le troisième chapitre : Description botanique et chimique des deux espèces de genre *Centaurea* : " *Centaurea Pullata L*" et "*Centaurea sulphurea* ".

La seconde partie est consacrée à la partie expérimentale relative à nos travaux et qui visent trois principaux objectifs :

1- Extraction des huiles essentielles des deux espèces et une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse pour identifier la composition chimique.

2- Une contribution à l'étude de l'activité biocide des huiles essentielles obtenues sur un panel de tests fongicides et microbienne.

3- Une discussion concernant la composition chimique et les tests biologiques des huiles essentielles de "*Centaurea Pullata L*" et "*Centaurea sulphurea* ".

- Enfin, nous terminerons par une conclusion générale résumant les résultats obtenus et dégageant les principales respectives.

Partie A : Revue bibliographique

***Chapitre I : Les produits phytosanitaires
et leurs utilisations dans le domaine de
l'agriculture.***

I.1 Définition des pesticides.

Le terme pesticide désigne toute substance chimique ou association des substances utilisées pour détruire, repousser ou contrôler un ravageur, y compris les espèces indésirables d'animaux, les maladies fongiques et les mauvaises herbes [1].

I.2 Classification des pesticides agrochimiques.

I .2.1 Pesticides synthétiques.

Actuellement, il y a une grande disponibilité et variété de pesticides, ces produits phytosanitaires sont principalement classés selon : le mode d'action, les espèces nuisibles ciblées et la composition chimique de la principale substance active [2].

I.2.1.1 Le mode d'action :

Les pesticides peuvent être classés comme pesticides de contact (non systémiques) et systémiques.

I.2.1.2 La nature de cible à viser :

C'est à dire en fonction de type de parasite à combattre. Les agriculteurs utilisent souvent trois principales familles qui sont :

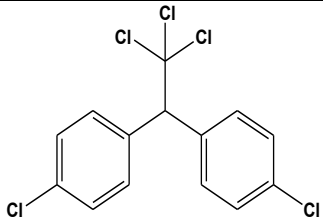
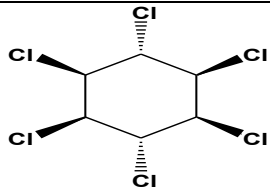
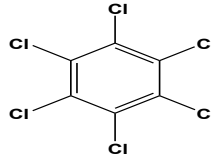
- Les herbicides : Représentent les pesticides les plus utilisés dans le monde, ils sont destinés à détruire les mauvaises herbes qui entrent en concurrence avec les plantes cultivées ou en ralentissant leur croissance.
- Les fongicides : ils sont utilisés pour traiter les maladies fongiques telle que les champignons phytopathogènes.
- Les insecticides : ils sont souvent les plus toxiques, utilisés contre les insectes nuisibles en les tuant ou en empêchant leur reproduction.

Il y'a d'autres pesticides qui sont : acaricides, nématicides, molluscicides et rodenticides.

I.2.1.3 La structure chimique :

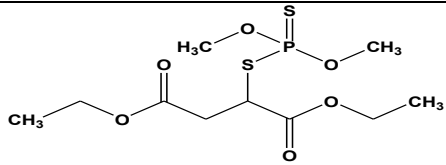
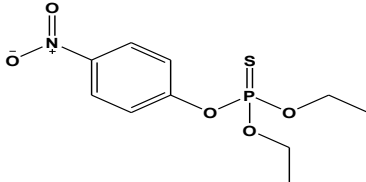
- Les organochlorés (OC) : Ce sont des composés chimiques dont leurs structures contiennent cinq atomes de chlore ou plus ; souvent utilisées comme des pesticides organiques synthétiques insecticides. La plupart des OC sont interdits vu leur persistance et leurs risques d'accumulation comme le DDT [3].

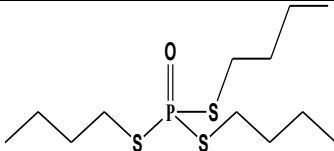
Tableau I-1 : Quelques exemples des organochlorés [3].

Nom de pesticide.	Structure chimique.
Le dichlodiphényl trichloro éthane (DDT).	
L'hexachlorocyclohexane (HCH).	
L'hexachlorobenzène (HCB).	

- Organophosphorées : Ce sont des dérivés organiques du phosphore, ces insecticides sont les plus utilisés dans le monde car ils possèdent des structures chimiques instables qui conduisent à une hydrolyse rapide, ce sont des esters d'acide phosphate ou des esters d'acide thiophosphorique [4].

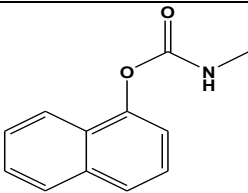
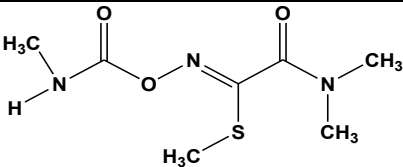
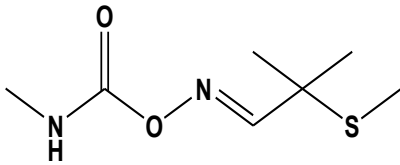
Tableau I-2 : Quelques exemples des Organophosphorées [4].

Nom de pesticide.	Structure chimique.
Le malathion.	
Le parathion.	

Le tribufos (DEF).	
--------------------	--

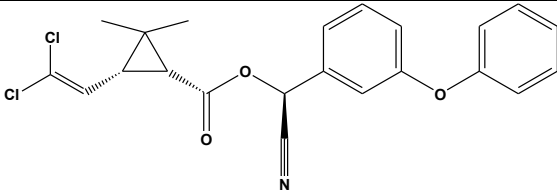
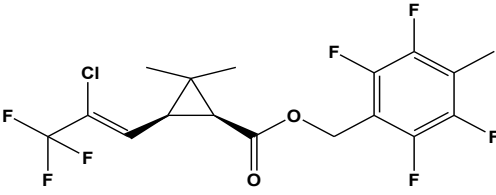
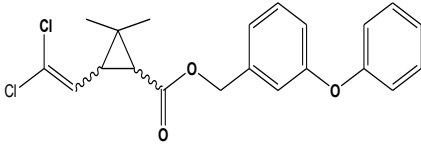
- Carbamates : Ce sont une classe d'insecticides dérivés d'un acide carbamique, ils sont structurellement et mécaniquement similaires aux insecticides organophosphorés (OP) [5].

Tableau 1-3 : Quelques exemples des carbamates [5].

Nom de pesticide.	Structure chimique.
Le carbaryl.	
L'oxamyl.	
L'aldicarbe.	

- Pyréthroïdes : Ce sont des composés chimiques dérivés des pyréthrines naturelles produites par les fleurs de chrysanthème, *Chrysanthemum cinerariaefolium* et *Chrysanthemum coccineum* et synthétisés pour devenir plus résistants dans l'environnement, Ils peuvent tuer rapidement les insectes ravageurs [6].

Tableau I-4 : Quelques exemples des Pyréthroïdes [6].

Nom de pesticide.	Structure chimique.
La cyperméthrine.	
La téfluthrine.	
Permethrine.	

I.3 Les pesticides dans l'agriculture.

Au cours de la dernière décennie, les ventes de pesticides ont été à peu près stables dans le monde, avec un budget global de 40 milliards de dollars dont le marché américain représentant 31,6% de la totalité [7].

L'augmentation la plus importante de la consommation des pesticides s'est produite en Amérique centrale et également en Amérique du Sud (augmentation annuelle de 6,7% de 2004 à 2014). Suivie par le marché asiatique (augmentation annuelle de 4% de 2004 à 2014).

Même le petit marché africain, qui représentait 3,5% des dépenses mondiales de pesticides en 2004, a enregistré une forte augmentation annuelle de 6,4% au cours de la même période. En Algérie, Bouziani (2007), a indiqué qu'au cours de la campagne de la lutte antiacridienne de «2004-2005 », plusieurs tonnes de pesticides « des organophosphorés, des carbamates et la deltaméthrine » ont été utilisés dans les régions infectées par le criquet pèlerin, dans la région du Sud et dans le Tell. Une augmentation annuelle a également été observée en Europe [8].

Ainsi, Les herbicides sont les pesticides les plus utilisés dans le monde (47% du marché), suivie par des fongicides représentent près de 26%, et enfin les insecticides 24% (UIPP 2011).

I.4 Toxicologie des pesticides.

Les pesticides bien qu'ils aient une activité bien précise pour lutter contre les parasites (plantes, animaux et champignons), néanmoins on ne peut pas négliger leurs effets nocifs sur toutes les parties de notre environnement : la contamination des sols, des eaux et de l'air ; la faune et la flore et une toxicité sur l'Homme [9].

La contamination par les pesticides peut se produire de plusieurs manières lors de la fabrication, du stockage, de l'expédition, de l'application dans les champs, et aussi d'une mauvaise utilisation par les populations. Plusieurs accidents se sont produits dans différentes parties du monde : l'Inde (1986), l'Italie (1976), l'Allemagne (1953) et l'Ethiopie (2017) [10].

L'OMS [11] a regroupé les pesticides en fonction des risques potentiels pour l'Homme à cinq classes :

- Classe Ia. Parathion extrêmement dangereux, dieldrine.
- Classe Ib. Aldrin très dangereux, dichlorvos.
- Classe II. DDT modérément dangereux, chlordane.
- Classe III. Malathion légèrement dangereux.
- Classe IV. Produits peu susceptibles de présenter un danger aigu en utilisation normale.

***Chapitre II: Les Huiles essentielles et
leurs utilisations comme biopesticide.***

II.1 Introduction.

La santé humaine et l'environnement sont grandement affectés par l'usage intensive des pesticides chimiques, c'est pourquoi on exploite les méthodes alternatives des pesticides botaniques qui augmentent avec le temps, pour lutter contre les mauvais insectes, les mauvaises herbes et les maladies fongiques [12].

Les extraits de plantes sont un groupe de composés qui peuvent être obtenus à partir des différentes parties de plantes comme les racines, les écorces, les graines, les feuilles et les fruits, ils contiennent plusieurs types de métabolites, y compris des alcaloïdes, des phénoliques, des terpénoïdes, de plus des produits chimiques secondaires que l'espèce végétale a développé pour se protéger contre les ravageurs, de même chaque espèce végétale a sa structure complexe chimique unique, parmi les extraits des plantes utilisés « les huiles essentielles » [13].

Les huiles essentielles peuvent être directement utilisées comme fongicides, insecticides et herbicides naturels, ou seulement une molécule responsable de ces propriétés peut être isolée à partir de cette huile et utilisée. Les plantes aromatiques sont particulièrement riches en ces substances [14].

La plupart de ces substances sont des terpènes, plus précisément les monoterpènes présents dans les huiles essentielles sont des inhibiteurs de germination très puissants, Ils ont des propriétés fongicides [15].

II.2 Les huiles essentielles.

II.2.1 Définition.

Les huiles essentielles sont des substances volatiles, odorantes et limpides extraite de différents organes de plantes : fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graines par une des méthodes d'extraction. Ce sont des mélanges très complexes qui contiennent entre 20 et 60 composés avec différentes concentrations ; chaque HE est caractérisé par deux ou trois composés majoritaires « chémotype » et d'autres composés minoritaires. Par exemple, le Carvacol et le Thymol sont les principaux constituants de l'HE d'*Origanum compactum*, le linalol est le chémotype de l'HE de *Coriandrum Sativum*. En générale c'est le composé majoritaire qui détermine les activités biologiques de l'HE [16].

II.2.2 Méthodes d'extraction des HEs.

Il y'a plusieurs méthodes d'extraction des HEs, les anciennes sont : distillation, expression à froid, enfleurage ou incision, et les techniques plus récentes sont : extraction sous irradiation micro-ondes ou par Ultra-sons. Le rendement des HEs est très faible, ce qui en fait des substances fragiles, rares et précieuses [17].

La distillation reste la méthode la plus simple et la plus ancienne utilisée.

II.2.2.1 Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la technique la plus simple et la plus répandue, son principe consiste à immerger la matière première végétale, fraîche ou sèche, dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition, la chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par la différence de densité [18].

Au laboratoire, le système généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est « le Clevenger ».



Figure II -1 : montage d'hydrodistillation de type Clevenger.

II.2.2.2 Entraînement à la vapeur d'eau.

L'entraînement à la vapeur d'eau se diffère de l'hydrodistillation par le contact d'eau, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter, ce qui évite certain phénomène d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. La vapeur chargée de l'essence de la matière première se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier sous forme de deux phases : une phase aqueuse contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation ou hydrolat et une phase organique se place au-dessus de la phase aqueuse : l'huile essentielle [19].

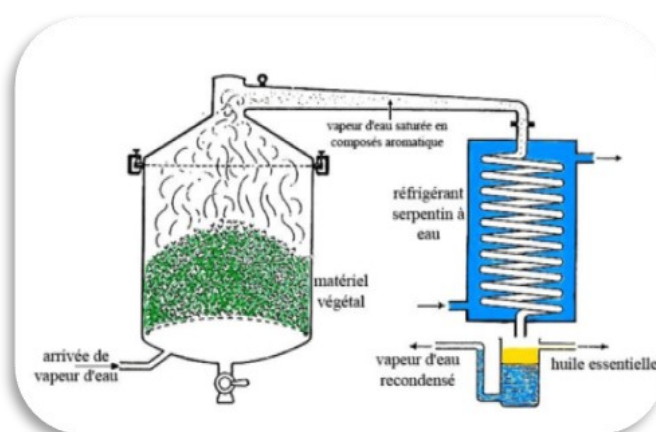


Figure II -2 : Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau [19].

II.3 La composition chimique des HEs.

Les huiles essentielles se composent principalement des terpènes (monoterpènes et sesquiterpènes) et d'autres composés aromatiques, qui sont tous caractérisées par un faible poids moléculaire [20].

➤ Les monoterpènes.

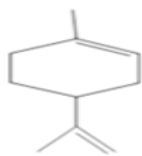
Les monoterpènes présentent 90% des constituants les plus simples des terpènes, ils sont constitués de deux unités isopréniques (C_5H_8) et ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques.

➤ Les sesquiterpènes.

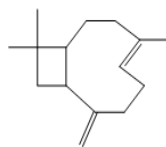
Ce sont des dérivés d'hydrocarbures aromatiques, composés de trois unités isoprènes ($C_{15}H_{22}$), ils peuvent être des monocycliques, bicycliques, tricycliques et même acycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés.

➤ Les composés aromatiques.

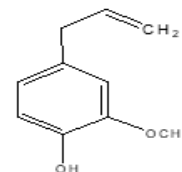
Des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragol et bien d'autres.



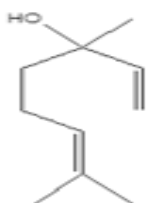
Limonène.



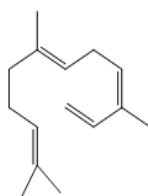
Caryophyllène.



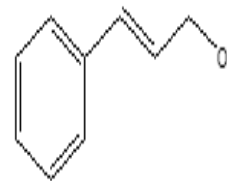
Eugénol.



Linalol.



Alpha Farnèsène.



Cinnamyl alcohol.

Figure II -3 : Structures chimiques de quelques composés des HEs [20].

II.4 Analyse des huiles essentielles.

II.4.1 Chromatographie en phase gazeuse CPG et CPG-SM.

L'analyse quantitative et qualitative des huiles essentielles fait appel à plusieurs techniques et méthodes, l'une des méthodes analytiques efficace est « La chromatographie en phase gazeuse », cette technique a été perfectionnée et permet maintenant de séparer les constituants des mélanges très complexes contenant jusqu'à 200 composés avec une très grande rapidité. Son principal inconvénient c'est qu'elle ne convient pas à tous les mélanges, car l'analyse dépend toujours de la volatilité et de la stabilité thermique des molécules étudiées. Cependant, la CPG permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. C'est une technique d'analyse quantitative qui fournit d'une part, le pourcentage relatif de chaque signal par rapport à l'ensemble des signaux du mélange analysé et d'autre part, qualitative sur la base des temps de rétention .

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par le biais de la SM en fonction de leur rapport masse sur charge des différents constituants d'un mélange complexe [21].

II.4.2 Identifications des constituants des huiles essentielles.

La CPG et CPG/SM sont les deux méthodes qui sont souvent utilisées pour l'analyse des huiles essentielles pour obtenir, respectivement des indices de rétention et des spectres de masse de chaque constituant et qui à l'aide d'un logiciel sont comparés à ceux répertoriés dans des bibliothèques [22].

Lorsqu'un ou plusieurs constituants des huiles essentielles sont inconnus dans les bibliothèques de comparaison et ne sont pas décrits dans la littérature. Il est alors nécessaire de les purifier par distillation fractionnée ou par des techniques chromatographiques préparatoires telles que la Chromatographie sur Couche Mince (CCM), la Chromatographie liquide sur Colonne ouverte (CC), la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) ou encore la Chromatographie en Phase Gazeuse Préparatoire (CGP). L'objectif est d'aboutir à leurs identifications structurales par des techniques spectroscopiques usuelles : Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN- ^1H) et du carbone-13 (RMN- ^{13}C) [23].

II.5 L'utilisation des HEs comme biopesticides.

II .5.1 Définition des biopesticides :

Les biopesticides botaniques, c'est-à-dire les produits antiparasitaires à base de matière végétale, d'extraits de plantes ou de produits naturels dérivés de plantes, ont été représentés comme des alternatives potentielles aux pesticides chimiques, probablement parce que les produits naturels auraient moins d'impacts sur l'environnement et la santé humaine que les pesticides conventionnels anciens qui ont eu des effets néfastes sur les organismes et les écosystèmes [24]. De plus, la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis ont reconnu que les pesticides botaniques (huiles essentielles) sont sûrs que les pesticides de synthèse.

II .5.2 Les biopesticides en agriculture.

Les biopesticides sont utilisés comme des substituts de produits chimiques synthétiques, ils représentent seulement 5% du marché de la protection des cultures dans le monde avec une valeur d'environ 3 milliards de dollars [25].

II .5.3 Activité fongicide des HEs :

L'huile essentielle de *Mentha piperita L* présente une forte activité antifongique contre les souches de levures et de champignons de : *Alternaria alternaria*, *Fusarium tabacinum*, *Penicillium spp.*, *Fusarium oxysporum*, et les fumigates d'*Aspergillus*, principalement parce que le menthol et menthone sont les principaux constituants de cette HE. Selon la littérature, le pourcentage de composés chimiques et les principaux constituants de l'huile essentielle déterminaient l'activité antimicrobienne. Les chercheurs expliquent ensuite que cette activité est due principalement aux constituants chimiques contenant des hétéroatomes tels que l'oxygène [26].

II .5.4 Activité antibactérienne des HEs :

Les terpènes présents dans les huiles essentielles sont les principaux antimicrobiens. L'activité antibactérienne des huiles essentielles est bien enregistrée, les huiles essentielles de thym, cannelle laurier et clou de girofle se sont révélées être fortement antibactérienne parmi les nombreux testés. Parmi plusieurs composants testés pour l'activité antibactérienne, le di-acétyl suivi de l'eugénol étaient les plus actifs. En outre, l'eugénol, menthol et anéthol ont été testés pour leur activité inhibitrice vis-à-vis des bactéries pathogènes d'origine alimentaire, l'eugénol était le plus actif [27].

***Chapitre III : Description botanique et
chimique des espèces étudiées.***

III.1 Centaurea Pullata L.

III .1.1 Description botanique :

En latin, *Pullata* vient de « Pullatus » ce qui signifie la couleur noire, cette attribution de nom est dû aux bordures noires bractées ; Elle est aussi appelée *Melanoloma Pullatum L.*, Centaurée en deuil, et bordée noire [28].

Ses noms arabes sont : Achbet ennegar, Seguia, Achbet el Ganfoud, Djouz, Achbet Ennça et chham El Aoud [28]. *C. Pullata* est une plante bisannuelle appartenant à la famille des Astéracée et de genre *Centaurea*, elle pousse en Europe occidentale, en Afrique du Nord, en France et en Espagne [29].

Selon Quezel et Santa (1963), cette plante se trouve en Algérie dans les lieux frais, les pâturages, les talus herbeux et au bord des routes du littoral dans la région de Tell.



Figure III -1 : Centaurea Pullata L.

III .1.2 Usage traditionnel :

Dans la médecine traditionnelle turque, des variétés d'espèces du genre *Centaurea* sont utilisées pour soulager la douleur et l'inflammation, les symptômes de la polyarthrite rhumatoïde, la fièvre et les maux de tête ainsi, *Centaurea pullata* a un effet analgésique contre des douleurs abdominales induites par l'acide acétique [30]. Elle est principalement utilisée pour augmenter la pression artérielle. *C. Pullata* couramment utilisée en Algérie comme assaisonnement [31], elle est aussi utilisée dans la préparation avec d'autres plantes d'un plat traditionnel local appelé « El Hammama » [32].

III .1.3 Travaux antérieurs :

La famille des astéracées contient de nombreuses plantes aromatiques et médicinales. Différentes classes des familles ont été isolés des espèces de *Centaurea* dont les sesquiterpènes

lactones sont largement présent dans ce genre, de plus il y a la présence des flavonoïdes, les triterpénoïdes, les alcaloïdes et les lignanes [33].

La recherche bibliographique exhaustive sur la composition chimique de l'huile essentielle de *C. Pullata* a montré que cette espèce a fait l'objet de très peu d'études.

Les résultats détaillés d'une analyse par CPG et CPG-SM ont indiqué que l'HE de *C. Pullata* (chrea Blida) contenait 75 composés dont 7 composants inconnus et 15 composants sous forme de trace < 0,1% comme l'alpha pinène, le cyclosativene et la pipéritone.

L'oxyde de caryophyllène (27%), un isomère de phytol (16,5%) et 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone (14,9%) ont représenté les principaux constituants, l'auteur a confirmé qu'il y a une différence des résultats dans la composition chimique de l'HE de *C. Pullata* et d'autres études sur la composition chimiques des HES d'autres genres différents de *Centaurea* [34].

Une autre étude qui a été faite aussi à blida Chrea, a montré qu'au total, 53 composés représentant 93,6% de l'huile essentielle de *C. pullata* ont été identifiés dont l'oxyde de caryophyllène (38,5%) a été le principal composé, les monoterpènes oxygénés (45,2%) ont été les constituants dominants ; les hydrocarbures (36,5%) étaient également les principaux constituants de l'huile avec des aldéhydes (16,3%) comme principaux constituants, suivis des alcanes et des alcènes (16,1%); parmi eux l'hénéicosane (8,6%) a été le principal composé [35].

III.2 *Centaurea sulphurea*.

III .2.1 Description botanique :

Centaurea sulphurea est une espèce herbacée annuelle de la famille des Astéracée et de genre *Centaurea*, ses fleurs sont jaune soufre épineuses ressemblant beaucoup à l'espèce *Centaurea solstitialis*. Elle est originaire du sud-ouest de l'Europe, ce chardon extrêmement invasif en Californie [36,37]. Elle est aussi appelée l'étoile de silice, chardon étoilé sicilien ou centaurée étoilée.



Figure III-2 : *Centaurea sulphurea*.

III .2.2 Travaux antérieurs.

La recherche bibliographique sur la composition chimique de l'huile essentielle de *C. sulphurea* a montré que cette espèce n'a fait aucun objet d'études.

Une étude a été faite en Algérie, sur la composition chimique de l'extrait des parties aériennes séchées de *C.Sulphurea*. Les résultats de cette étude sont :

- Cinq flavonoïdes connus qui sont : Cirsilineol, Jaceosidine, 3'-O-methyleupatorine, La népétine et l'eupatilin.
- Des sesquiterpènes lactones :

L'isolement d'une nouvelle lactone sesquiterpénique qui est un nouvel héliangolide (6R, 7R, 8S, 3'R) -8 α -(3', 4'-dihydroxyméthylène-2'-butanoyloxy) -15-oxo-hélianga-1 (10), 4 (5), 11 (13) -trien-6,12-olide, dénommé « **Sulphurein** ». Les auteurs indiquent que selon leurs connaissances, c'est la première fois que ce composé est signalé à partir d'une source naturelle, mais il est semi-synthétisé à partir de la cnicine.

Les données spectrales d'une autre lactone sesquiterpénique étaient similaires à celles du Sulphurein, mais portant un groupe acétoxy au lieu du groupe formyle en C-4. Ce composé a ainsi été identifié comme (6R, 7R, 8S, 3'R) -8 α -(3', 4'-dihydroxyméthylène-2'-butanoyloxy) -15-acétoxy-hélianga-1 (10), 4 (5), 11 (13) -trien-6,12-olide [38].

Partie B : Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériels et méthodes.

La partie expérimentale de notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire « LASNABIO », Université de Tlemcen « ABOU BEKR Belkaid » durant la période de février 2020.

IV.1 Echantillonnage du matériel végétal :

IV.1.2 Choix des plantes :

Notre étude reporte sur deux espèces du genre *Centaurea* appartenant à la famille des Astéracées, du point de vue de leurs richesses en métabolites secondaires de type flavonoïde, lactones sesquiterpéniques et stéroïdes, de même la variété de leurs compositions chimiques et activités biologiques. Par conséquent notre objectif vise à la recherche de nouvelles substances à effet biocides et à valoriser ces derniers.

IV.1.3 Provenance du matériel végétale et identification :

C. Pullata et *C. Sulphurea* ont été récoltées durant la période de mois de février 2020 dans différentes régions de la wilaya de Tlemcen. L'identification botanique de ces espèces a été faite par BABA Ali du département d'agronomie Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.

IV.1.4 Facteurs géographiques influençant :

Les principaux facteurs géographiques qui influent de façon significative sur la végétation en Algérie, comme partout ailleurs, sont le climat (précipitations, température, vent, radiation solaire) le sol et l'altitude. En outre, c'est surtout l'équilibre délicat de ces facteurs qui joue un rôle primordial à la fois dans le développement individuel des plantes et dans leur environnement [39].

IV.2 Extraction des huiles essentielles.

Il existe différentes méthodes d'extractions des huiles essentielles, de notre part nous avons adopté l'une des méthodes la plus utilisée en utilisant le montage de **l'hydrodistillation de type Clevenger**.

IV.2.1 La technique Hydrodistillation :

Cette méthode consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, l'ensemble (matière végétale +eau) est porté à ébullition pendant 5 heures, généralement elle est conduite à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules

volatiles contenues dans les cellules végétales qui sont alors condensées et liquéfiées dans un réfrigérant. Le mélange volatile qui est refroidi et condensé est ensuite séparé en une phase aqueuse qui constitue l'hydrolat et une phase organique qui constitue l'huile essentielle. L'huile essentielle se distingue de l'hydrolat (eau aromatique) par sa différence de densité et de couleur. Le mélange est introduit dans un tube à essai et congelée durant 24 heures pour faciliter la récupération de l'HE, le solvant utilisé est l'éther d'éthylique dans lequel l'HE est soluble.

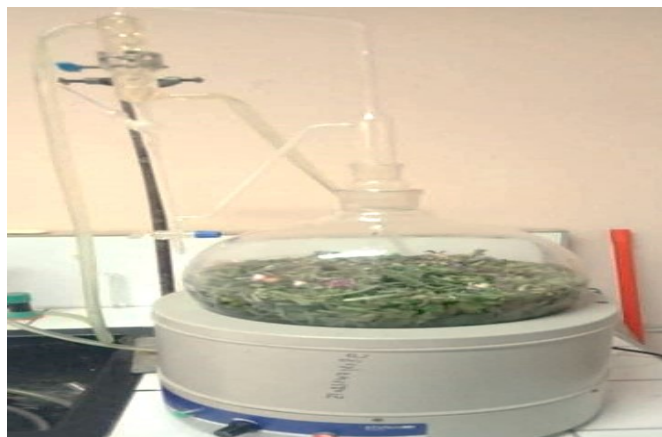


Figure IV-1 : *Appareil de type Clevenger.*

IV.2.2 Conservation des HEs

Les HEs sont récupérées dans des piluliers en verre stériles, opaques, étiquetés et bien fermé. La conservation de ces derniers se fait dans un endroit frais de préférence à une température de 4°C, à l'abri de la lumière, l'air, chaleur, et humidité afin d'éviter toute réaction de dégradation.

IV.2.3 Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids d'HE extraite et le poids de la matière végétale à traiter sèche ou fraîche. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante [40].

$$R = \frac{m_{HE}}{m_{Mv}} \times 100 \%$$

R : rendement en huile essentielle en pourcentage.

m_{HE} : la masse de l'huile essentielle en grammes.

m_{Mv} : la masse de la matière végétale fraîche ou sèche en grammes.

IV.3 Analyse chimique des huiles essentielles.

IV.3.1 Conditions CPG (LASNABIO)

Les conditions de la chromatographie en phase gazeuse du Laboratoire « LASNABIO » sont caractérisées par :

- Un chromatogramme de marque 6500 Autosystem GC équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) avec une température de 280°C.
- Un injecteur diviseur avec une température de 300°C.
- Une colonne capillaire en silice fondu apolaire de type TRB-5 qui dispose des caractéristiques suivantes (longueur : 30 m, diamètre interne : 0.32mm, épaisseur du film : 0.1µm).
- Les gaz vecteurs sont : l'hydrogène l'azote et l'aire, le débit est de 1 ml/mn avec une pression de colonne de 7psi.
- La température du four est programmée de 60°C à 280°C a raison d'une montée de 10.0 C/min et ensuite maintenue à 250°C pendant 64 mn.
- Les échantillons ont été injectés via le mode split , le volume d'injection est de 0.2µl.
- Pour chacun des composants, les indices de rétention apolaires et polaires sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalons d'alcanes.



Figure IV-2 : Appareillage de CPG.

IV.3.2 Conditions (CPG/SM) de Corse

- Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem XL (Walton, MA, Etats Unis), doté d'un injecteur automatique avec une quantité de 0,2 μL et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i. ; épaisseur du film de phase stationnaire : 0,25 μm) polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), couplées à un détecteur de masse Perkin Elmer TurboMass.
- Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70eV. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80.
- Les spectres de masse obtenus par impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse 35-350 Da.
- La température de la source est de 150°C.
- Le gaz vecteur utilisé est le dihydrogène, la pression en tête de colonne est de 25 psi avec un débit de 1 ml/mn, la température de l'injecteur et des détecteurs est de 280°C.
- La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C à 2°C/mn puis en un palier de 35 mn à 230°C.
- Pour chacun des composés, les indices de rétention polaire et apolaire sont calculés par extrapolation linéaire à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane.



Figure IV-3 : Appareillage de CPG/SM

IV.4 Tests biologiques

Le pouvoir antimicrobien des HEs des deux espèces *C. Pullata* et *C. Sulphurea* a été évalué par la technique des ‘disques en papier’. Le protocole est presque similaire pour les deux activités seulement avec des conditions différentes, que sont : les germes, deux bactéries pour l’activité antibactérienne et deux levures pour l’activité antifongique et les différents milieux : un milieu Muller-Hinton pour les bactéries et un milieu Sabouraud pour les levures.

En appliquant la technique d’écouvillonnage selon les recommandations de CLSI (2009, 2015), un écouvillon en coton stérile a été plongé dans une suspension en bouillon nutritif stérile préparée à partir des cultures de 24 heures de microorganismes test (bactéries et levures) sur leurs milieux appropriés. A l’aide de ce dernier, on tape toute la surface des boîtes de pétrie, contenant des milieux gélosés, pour avoir un tapis homogène.

Des disques stériles de papier Wattman N° 3 de 7 mm de diamètre imprégné de 20 µl de l’huile essentielle, ont été déposés au centre des boîtes de pétriensemencée, à l’aide d’une pince, et des disques témoins reçoivent 20 µl des différents solvants purs avec des dépôts successifs de 5 µl tout en évitant des débordements. Les boîtes sont par la suite bien fermées et conservées à une température de 4°C durant 2 heures, puis incubées pendant 24 heures à des différentes températures selon le germe. Les diamètres des zones d’inhibitions sont ensuite mesurés.

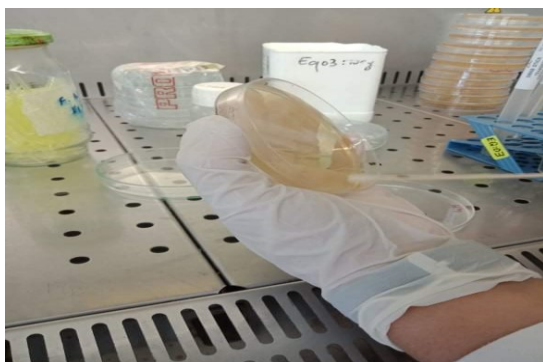


Figure IV-4 : la technique des disques en papier.

IV.4.1 Activité antibactérienne

Les germes de référence utilisés pour cette activité sont : des bactéries à Gram positif et négatif. Les noms, les références et les conditions utilisées sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau IV-1 : Les conditions utilisées pour l'activité antibactérienne.

Bactéries	Références	DO de suspension	λ (nm)	T d'incubation(°C)
Bactérie à Gram positif	ATCC11778	0.08-0.1	620nm	37°C
<i>Bacillus cereus</i>				
Bactérie à Gram négatif	ATCC 27853			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				

IV.4.2 Activité antifongique

Tableau IV-2 : Références et conditions des levures de l'activité antifongique.

Levures	Références	DO de suspension	λ (nm)	T d'incubation (°C)
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	0,12 -0,15	530 nm	35°C
<i>Candida albicans</i>	IP444			

Chapitre V : Résultats et discussions.

V.1 Caractéristiques organoleptiques

Chaque huile est caractérisée par des propriétés organoleptiques telles que l'odeur, l'aspect et la couleur. Ces derniers dépendent des produits qui la constituent, lesquels peuvent se présenter sous forme solide, liquide ou bien solide-liquide [41].

Tableau V-1 : Caractéristiques organoleptiques des deux espèces étudiées.

Huiles essentielles	Couleur	Aspect	Odeur
<i>C. Pullata</i>	Jaune	Liquide huileux	Aromatique et épicée
<i>C. Sulphurea</i>	Jaune pale	Liquide limpide	Aromatique et épicée

V.2 Rendement des huiles essentielles

Les parties aériennes de *C. Pullata* et *C. Sulphurea* ont été recueillies dans la wilaya de Tlemcen durant le mois de février 2020. Les parties aériennes de *C. Pullata* ont été recueillies dans les régions de Ghazaouet, Nedroma et Msirda. Les parties aériennes de *C. Sulphurea* ont été recueillies dans la région de Ghazaouet, Ain douz et Benisnous (**Figure V-1**).



Figure V- 1 : Zones de récoltes des plantes.

Les deux espèces de plantes ont été stockées à une température ambiante après la récolte. Une portion (500 à 600 g) de matière fraîche de chaque espèce de plante a été soumise à une hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger selon la Pharmacopée européenne (*European Pharmacopoeia, 2004*).

Les huiles ont été stockées dans des flacons ambrés stérilisés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

Tableau V-2 : Différents rendements en huiles essentielles .

Parties aériennes	Stations	Rendements (%)
<i>C. Pullata</i>	GHAZAOUET	1.8
	NEDROMA	0.7
	MSIRDA	0.6
<i>C. Sulphurea</i>	GHAZAOUET	0.9
	AIN DOUZ	0.5
	BENI SNOUS	0.4

Les rendements en huiles essentielles des populations, collectés dans les zones d'étude (Figure V-1), sont présentés dans le tableau (V-2). Les rendements en huiles essentielles de *C. Pullata* variaient de 0,6 à 1.8% (p / p), parmi les populations, sur la base du poids frais.

De même, la partie aérienne de *C. Sulphurea* de GHAZAOUET a donné un rendement en HE de 0.9 % (m/m). Ce rendement est considéré le meilleur par rapport à ceux de AIN DOUZ 0.5% (m/m). Le rendement le plus faible a été observé pour la station de Beni snous avec un rendement de 0.4%.

Ces différences des rendements sont dues à plusieurs facteurs parmi eux : l'origine géographique, les facteurs écologiques et climatiques (la température et l'humidité), la méthode d'extraction, la partie utilisée pour l'extraction (parties aériennes, racines ...), et la période de cueillette.

V.3 La composition chimique des huiles essentielles

V .3.1 Composition chimique de *Centaurea Sulphurea* :

D'après la recherche exhaustive effectuée le long de ce travail, À notre connaissance, aucune étude n'a été faite pour déterminer la composition chimique de l'espèce *Centaurea Sulphurea*.

L'huile essentielle des parties aériennes de *Centaurea Sulphurea* a été extraite durant 5 heures avec un appareil de type Clevenger et analysée par CPG/CPG-SM. La composition chimique a été identifiée à l'aide de la bibliothèque « Arômes » propres au laboratoire de CORSE, par comparaison des indices de rétentions et spectres de masses avec ceux de la littérature. Les résultats sont représentés dans le tableau V-3 :

Tableau V-3: Composition chimique de la partie aérienne de l'huile essentielle de
C. Sulphurea de l'ouest Algérien.

No. ^a	Composés	/RI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	<i>C sulphu</i>	Identification ^e
1	α - Pinène	930	931	1022	1,7	RI, MS
2	p-Cymene	1014	1011	1268	2,7	RI, MS
3	Nonanal	1083	1082	1394	0,7	RI, MS
4	Cis Verbeneol	1132	1127	1655	0,1	RI, MS
5	Pinocarvone	1136	1136	1558	0,3	RI, MS
6	Terpinen-4-ol	1164	1161	1600	0,2	RI, MS
7	Methyl salicylate	1170	1173	1731	0,1	RI, MS
8	Myrtenol	1182	1183	1789	0,2	RI, MS
9	Piperitone	1230	1232	1730	0,4	RI, MS
10	Geranyl acetate	1367	1361	1752	0,6	RI, MS
11	α -copaene	1373	1379		0,5	RI, MS
12	α -humulene	1449	1456	1635	0,3	RI, MS
13	γ -Murolene	1471	1471	1681	0,1	RI, MS
14	germacrene D	1477	1480	1704	0,8	RI, MS
15	β -Selinene	1481	1483	1712	0,6	RI, MS
16	α -Calacorene	1528	1531	1895	0,4	RI, MS
17	β -Calacorene	1541	1548	1939	0,4	RI, MS
18	3(Z)-hexanyl benzoate	1554	1552	2088	0,6	RI, MS

19	E- β -Caryophyllene	1574			27,6	RI, MS
20	Cedral	1589	1593	2023	0,7	RI, MS
21	Tau muurolol	1636	1634	2143	2,0	RI, MS
22	β -Eudesmol	1639	1644	2232	7,1	RI, MS
23	α -Cadinol	1642	1645	2231	1,0	RI, MS
24	α -Eudesmol	1654	1653	2220	2,6	RI, MS
25	Eudesma-4(15)-7-dien-1- β -ol	1669	1672	2347	3,0	RI, MS
26	E-phytol	2100	2107	2617	3,2	RI, MS
Identification %					56.8	
Sesquiterpènes hydrocarbonés					30.7	
Sesquiterpènes oxygénés					17	
Monoterpènes oxygénés					0.7	
Monoterpènes hydrocarbonés					4.4	
Non-terpénique oxygéné					0.8	
Diterpène oxygéné					3.2	

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *C. Sulphurea* a révélé la présence de 26 composants représentant **56.8 %** de la totalité de l'huile. L'huile essentielle des parties aériennes est caractérisée par la prédominance des sesquiterpènes hydrocarbonés avec un taux de **(30.7%)** dont le composant majoritaire est un sesquiterpène hydrocarboné le **(E)- β -Caryophyllène** avec un pourcentage de **(27.6%)**, suivie, des sesquiterpènes oxygénés avec un taux de **(17 %)** dont le constituant prédominant est le **β -Eudesmol (7.1 %)**.

L'huile essentielle de *C. Sulphurea* a été accompagnée relativement de plus petites quantités de monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés dont le pourcentage été respectivement de **4.4%** et **0.7 %**. De même, que la présence des composés oxygénés non-terpéniques avec un faible pourcentage **(0.8%)** à savoir le E-phytol **(3.2%)**.

V .3.2 Composition chimique de *Centaurea Pullata* :

Les parties aériennes de *C. Pullata* (610 g) ont été recueillis et soumises à une hydrodistillation pendant 5 heures. Une injection de cet échantillon en CPG/CPG-SM a permis d'identifier 23 composés représentant **(66.1%)** de la totalité de la composition chimique en comparant leurs EI-MS et indices de rétention avec ceux de la bibliothèque "Arômes" de Corse.

L'huile essentielle a été dominée par des composés oxygénés (57,8 %) avec une quantité appréciable de composants sesquiterpènes oxygénés (23.5 %), suivi de non-terpéniques oxygénés (18.8%) (Figure V-2). Toutefois, les diterpènes oxygénés ont été apparues aussi en proportion appréciable (13.9 %).

Tableau V-4 : Composition chimique de la partie aérienne de l'huile essentielle de *C. Pullata* de l'ouest Algérien.

No. ^a	Composés	<i>RI</i> _a ^b	<i>RI</i> _a ^c	<i>RI</i> _p ^d	<i>C.Pullata</i>	Identification ^e
1	Octane		798	800	1,2	RI, MS
2	Hexanol		867	1414	0,4	RI, MS
3	Benzaldehyde		968	1190	0,3	RI, MS
4	Limonene		1030	1195	0,6	RI, MS
5	2-phenylethanol		1121		0,6	RI, MS
6	Nonanol		1171	1394	0,7	RI, MS
7	Decanal		1207	1498	0,3	RI, MS
8	2-ethylmenthone		1286		0,9	RI, MS
9	Indole		1306		0,5	RI, MS
10	Eugenol		1359	2171	0,1	RI, MS
11	(Z)-β-farnesene		1449	1659	1,2	RI, MS
12	Pentadecane		1494	1817	2,6	RI, MS
13	α-cadinene		1544	1377	1,4	RI, MS
14	Dodecanoic acid		1565	-	1,7	RI, MS
15	Caryophyllene oxide		1593	1980	20,9	RI, MS
16	β-eudesmol 6,10,14-trimethyl-2-		1668	2232	2,6	RI, MS
17	Pentadecanone		1848	-	1,5	RI, MS
18	Pentadecanone		1871		10,8	RI, MS
19	Hexadecanoic acid		1974	2173	1,9	RI, MS
20	Phytol		2117	2620	13,9	RI, MS
21	Docosane		2199	2200	0,6	RI, MS
22	Tetracosane		2400	-	0,5	RI, MS
23	Hexadocosane		2596	-	0,9	RI, MS
Identification %					66.1	

Sesquiterpènes oxygénés	23.5
Non-terpéniques oxygénés	18.8
Non-terpéniques hydrocarbonés	4.6
Diterpène oxygéné	13.9
Monoterpènes oxygénés	1.6
Monoterpènes hydrocarbonés	1.1

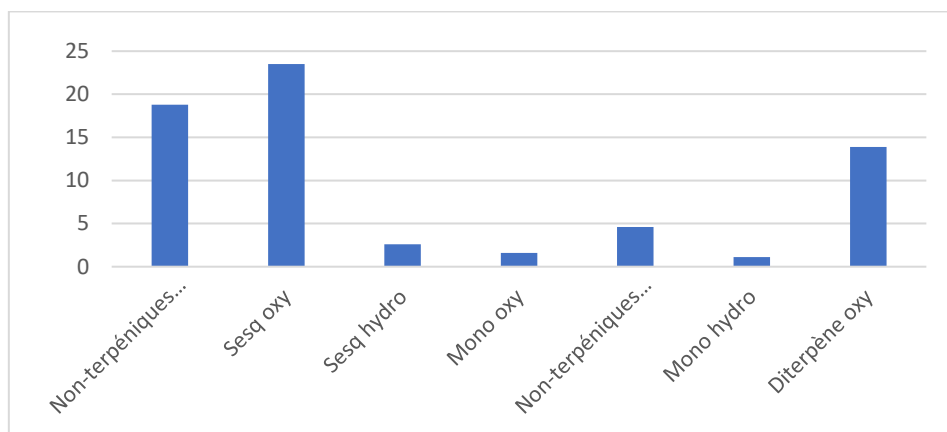


Figure V-2 : Principales familles de composés de *C. Pullata*.

Trois principaux composants représentant plus de 40% de la totalité de l'huile essentielle ont été identifiés. En effet, Le constituant majoritaire de l'HE est un sesquiterpène oxygéné « Oxyde de Caryophyllène » (20.9 %) suivie par un diterpène oxygéné « Phytol » (13.9%) et enfin un non-terpénique oxygéné « Pentadecanone » (10.8%).

D'autres familles de composés ont été identifiées qui sont : 4 composés non-terpéniques hydrocarbonés (0.5% - 2.6%)) , 2 composés monoterpéniques hydrocarbonés (0.5%-0.6%) et 2 sesquiterpènes hydrocarbonés (1.2%-1.4%)

V.4 Travaux antérieurs :

D'après les résultats, On constate que l'analyse de la composition chimique de la partie aérienne de notre huile est en accord à celle mentionnée précédemment dans la littérature (*Dob Tahar et al.*). Les études antérieures montrent que l'oxyde de caryophyllène était le principal constituant, (27 % ; *Dob Tahar et al.*) et (38.5 % ; *S. Djeddi et al.*), pareillement pour notre étude ce sesquiterpène oxygéné s'est révélée comme principal constituant avec un taux de (20.9%).

L'analyse chimique de l'HE de CHREA a montré un isomère de Phytol comme l'un des principaux composants (**16.5 %**), pareillement pour notre huile (**13.9%**). Le 6,10,14-triméthyl-2-pentadecanone (non-terpénique oxygéné) est reporté comme étant un composant majoritaire de l'huile de CHREA (*Dob Tahar et al.*) avec un taux de (**14.9 %**), alors que ce dernier était présent avec une faible teneur dans notre huile (**1.2 %**).

Le Pentadecanone (non terpénique oxygéné), un composé totalement absent dans l'analyse chimique de CHREA, par contre ce dernier était présent dans l'huile de *C. Pullata* avec une teneur importante de (**10.8 %**).

En conclusion, Cette étude comparative affirme qu'il y a beaucoup de similitudes dans les analyses de la composition chimique de HE de cette espèce. Toutefois, il y a quelques différences dans les composés minoritaires présentant des faibles teneurs, ce qui est relative à la nature. Cette différence est dû aux différents facteurs parmi eux : le climat, la nature de sol et son PH, L'altitude et les périodes de la cueillette de la plante [42].

V.5 Evaluation de l'activité antifongique et antibactérienne

Les essais biologiques ont été effectués au Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (**LAMAABE**) Tlemcen, en utilisant la méthode de diffusion sur disque.

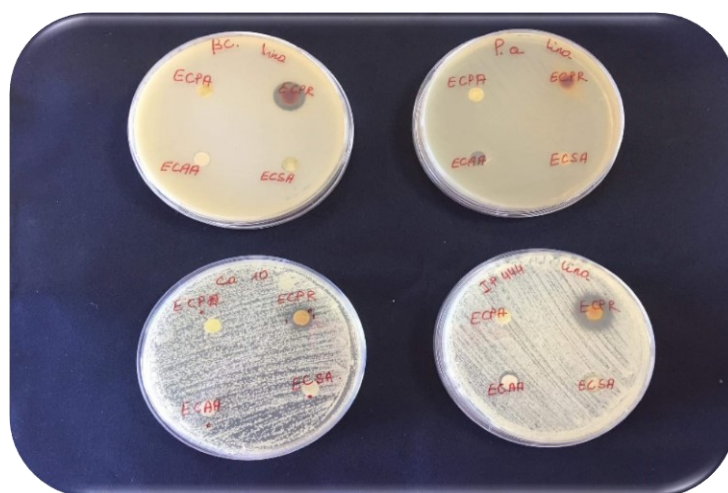
Les activités biologiques, antibactérienne et antifongique, des huiles des parties aériennes de *C. Pullata* et *C. Sulphurea* ont été évaluées contre deux souches de bactéries, une bactérie à Gram positif et l'autre à Gram négatif, et deux levures.

Une activité moyenne vis-à-vis la souche bactérienne *Bacillus* avec une zone d'inhibition de 13 mm pour L'HE de *C. Pullata* et 12 mm pour l'HE de *C. Sulphurea* a été observée. Les huiles essentielles n'ont montré aucun effet contre *Pseudomonas aeruginosa*, aucune zone inhibition n'a été observée autour des disques. D'autre part, les huiles essentielles des parties aériennes de *C. Pullata* et *C. Sulphurea* ont été testés contre deux levures *Candida albicans* (**IPP444**) et *Candida albicans* (**ATCC10231**). Les HEs des parties aériennes des deux espèces se sont révélées efficaces contre *Candida albicans* (**IPP444**) avec des diamètres d'inhibition de 10 mm et 13 mm respectivement. L'huile essentielle de *C. Sulphurea* possède une activité modérée vis-à-vis *Candida albicans* (**ATCC10231**) avec un diamètre d'inhibition de 8 mm, par contre l'huile essentielle de *C. Pullata* s'est montrée inefficace vis-à-vis des souches étudiées (Tableau V-5).

Tableau V-5 : Les résultats de l'activité antimicrobienne.

Souches	Activité antibactérienne		Activité antifongique.	
	B+	B-	IPP444	ATCC10231
HE de <i>C. Pullata</i>	13 mm	7 mm	10 mm	7 mm
HE de <i>C. Sulphurea</i>	12 mm	7 mm	13 mm	8 mm

A notre connaissance, on sait que la levure *Candida albicans* (**ATCC10231**) est plus résistante que *Candida albicans* (**IPP444**). De même la souche bactérienne à Gram positif *Bacillus* est plus résistante que la souche bactérienne à Gram négatif *Pseudomonas aeruginosa*.

**Figure V-3** : Diamètres des zones d'inhibitions

L'activité antimicrobienne d'une huile essentielle est due principalement à sa composition chimique et en particulier à la nature de ses composés majoritaires, comme elle peut être attribué aux composés minoritaires présents en faibles teneurs ou encore la synergie entre les constituants présent dans les HEs [43]. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la partie aérienne de *C. Sulphurea* peut être expliquer par la richesse de cette huile en composés sesquiterpènes hydrocarbonés qui sont mentionnés dans la littérature par leurs effets larvicides et bactéricide [44], ou encore au composant majoritaire le (E)- β -Caryophyllène.

En effet, une étude indique que la présence de caryophyllène dans l'huile essentielle de *Bidens Pilosa* joue un rôle important dans l'activité antibactérienne. En outre, des essais affirment l'efficacité des monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés sur *E. coli* ; ils sont capables de détruire l'intégrité cellulaire, en inhibant la chaîne respiratoire et le processus de transport d'ions [45]. Le β -caryophyllène est l'un des principaux composants des huiles essentielles extraites d'épices et de plantes alimentaires, telles que poivre noir (*Piper nigrum L.*), romarin (*Rosmarinus officinalis*), cannelle (*Cinnamomum spp.*), origan (*Origanum vulgare L.*), basilic (*Ocimum spp.*), thym (*Thymus vulgaris*), sauge (*Salvia officinalis*), menthe (*Mentha piperita*), gingembre (*Zingiber officinale*), chinotto (*Citrus Myrtfolia Raf*) et clous de girofle (*Syzygium aromaticum*). Il a également été trouvé dans la citronnelle, (*Cymbopogon*), le pin (*Pinus*).

Ce composé végétal a été approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) et l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA), et il est utilisé comme exhausteur de goût et dans les cosmétiques. Dans la nature, ce composé se produit principalement sous forme de (E)- β -Caryophyllène mélangé à une petite quantité d'isomères (Z)- β -caryophyllène Et α -caryophyllène, et son dérivé d'oxydation est le β -caryophyllène oxyde [46].

Plusieurs études précliniques, ont été effectués sur le **β -Caryophyllène**, un sesquiterpène bicyclique naturel. Ces dernières sont très prometteuses et montrent que ce composé sesquiterpénique est très intéressant et connu par ses effets biologiques. Le **β -Caryophyllène** est un modulateur du système nerveux et exerce des effets bénéfiques sur de nombreuses pathologies neurodégénératives et inflammatoires, telles que les maladies du système nerveux comme par exemple la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer. De plus, il est capable d'agir sur le foie et les os, et possède des propriétés antibiotiques et anticancéreuses (côlon, sein, cancer de pancréas ..) [46].

Les données précliniques ont mis en évidence que le **β -Caryophyllène** est un bactéricide contre *Streptococcus mutans* (carie) [46]. En outre, l'huile essentielle de la partie aérienne de *C. Pullata* est chémotypée par l'oxyde de caryophyllène, un sesquiterpène oxygéné semble-t-il être responsable de l'activité antimicrobienne, ou d'autres composés minoritaires à savoir le **β -eudesmol** (sesquiterpène oxygéné), ce qui indique que la présence d'une fonction oxygène dans la structure augmente les propriétés bactériostatique et fongistatique des terpénoïdes [45]. Cette activité peut être due aussi à un effet synergique entre plusieurs composés de cette huile essentielle.

Conclusion générale.

La médecine par les plantes remonte à l'aube de l'humanité. Aux temps préhistoriques, les Hommes ne se limitaient pas à consommer les plantes, ils s'en servaient aussi pour se soigner. Les plantes ont été utilisés pour leurs effets médicinales sous formes des préparations traditionnelles ou sous forme des huiles essentielles.

Les Hommes ont toujours tenté de comprendre les pouvoirs thérapeutiques des plantes médicinales. Il faudra attendre le XIXe siècle pour que les progrès de la chimie mettent en évidence les principes actifs des plantes, ces substances chimiques responsables de leurs vertus.

Actuellement, le secteur des huiles essentielles est en progression, dont la thérapeutique médicale étant un domaine dans lequel ces huiles sont plus prometteuses avec leur activité antimicrobienne.

Cette étude a été consacré pour la contribution à la connaissance phytochimique et à évaluer les potentialités bioactives des huiles essentielles des parties aériennes de deux plantes de la famille des Astéracée et de genre *Centaurea* « *Centaurea Pullata* » et « *Centaurea Sulphurea* ».

L'huile essentielle de *C. Sulphurea* s'est avérée riche en sesquiterpènes hydrocarbonés avec un taux de (30.7%) dont le composant majoritaire est un sesquiterpène hydrocarboné le (*E*)- β -Caryophyllène avec un pourcentage de (27.6%). En effet, l'huile essentielle de *C. Pullata* renferme en majorité des composés oxygénés (57,8 %) avec une quantité appréciable de composants sesquiterpènes oxygénés (23.5%). Cette huile est chémotypée par un sesquiterpène oxygéné « Oxyde de Caryophyllène » (20.9 %).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles a été déterminée par la méthode de diffusion sur disque, D'une part, les huiles essentielles ont des activités assez intéressantes sur la souche bactérienne *Bacillus*. En revanche, ces dernières n'ont montré aucun effet contre la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*. D'autre part, Les HEs des parties aériennes des deux espèces se sont révélées efficaces contre la levure *Candida albicans* (IPP444). Tandis que, L'huile essentielle de *C. Sulphurea* possède une activité modérée vis-à-vis *Candida albicans* (ATCC10231), par contre l'huile essentielle de *C. Pullata* s'est montrée inefficace contre ATCC10231.

Conclusion générale

Ces caractéristiques importantes font de ces deux plantes un patrimoine à préserver et à valoriser, parmi les perspectives immédiates de cette étude :

- ✓ Exploitation de ces huiles dans l'industrie agriculture en substituant les pesticides chimiques par ces biopesticides naturels.
- ✓ Evaluer la cytotoxicité de ces huiles essentielles sur des modèles animaux.
- ✓ L'étude d'autres propriétés biologiques de ces plantes, à savoir les propriétés : anti-inflammatoire et antivirale.

Résumé :

En raison des maladies dangereuses causées par l'utilisation excessive et illégale des pesticides chimiques, nous nous sommes intéressés à trouver des alternatives, plus respectueuses pour l'environnement et la santé humaine. Ces alternatives peuvent être des huiles essentielles. Notre travail a été basé sur une analyse chimique des huiles essentielles des parties aériennes de deux plantes de la famille des Astéracées de genre *Centaurea*, *C. Pullata* et *C. Sulphurea*. Les HEs ont été obtenues par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger et analysées par CPG/CPG-SM. L'activité antimicrobienne des HEs a été réalisée in vitro par la méthode de diffusion sur disque contre deux souches bactériennes : *Bacillus* (Gram positif) et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négatif) et deux levures : *Candida albicans* (IPP444) et *Candida albicans* (ATCC10231).

Mots clés : Pesticides, Huile essentielle, *C. Pullata*, *C. Sulphurea*, activité antimicrobienne.

ملخص:

نظرًا للأمراض الخطيرة الناجمة عن الاستخدام المفرط والغير القانوني للمبيدات الحشرية، فإننا مهتمون بشكل متزايد بإيجاد بدائل أكثر احترامًا للبيئة ولصحة الإنسان. يمكن أن تكون هذه البدائل زيوت متطايرة. يعتمد عملنا على تحليل كيميائي للزيوت المتطايرة للأجزاء الهوائية لنبتين من عائلة *Asteraceae* وجنس *Centaurea*، *C. Pullata* و *C. Sulphurea*. تم الحصول على الزيوت المتطايرة عن طريق التقطير المائي باستخدام جهاز من نوع كليفنجر وتحليلها بواسطة كروماتوغرافيا الطور الغازي المزوج بمطيافية الكتلة، كما تم إجراء النشاط المضاد للميكروبات للزيوت المتطايرة في المختبر بواسطة طريقة الانتشار على القرص ضد سلالتين من البكتيريا: (*Bacillus* إيجابية غرام) و (*Pseudomonas aeruginosa* سلبية غرام) واثنين من الخمائر: (*Candida albicans* (IPP444) و *Candida albicans* (ATCC10231)).

الكلمات المفتاحية: المبيدات الحشرية، الزيت المتطاير، النشاطية ضد الميكروبية، *C. Pullata*، *C. Sulphurea*.

Abstract:

Due to the dangerous diseases caused by the excessive and illegal use of chemical pesticides, we were interested in finding alternatives, more respectful for the environment and human health. Essential oils represent one of these alternatives. Our work was based on a chemical analysis of essential oils extracted from the aerial parts of two plants of the Asteraceae family and the *Centaurea* genus, *C. Pullata* and *C. Sulphurea*. HEs have been obtained by hydrodistillation using a Clevenger device and analyzed by CPG/CPG-SM. The antimicrobial activity of HEs was carried out in vitro by the disk diffusion method against two bacterial strains: *Bacillus* (positive Gram) and *Pseudomonas aeruginosa* (Negative Gram)), and two yeasts: *Candida albicans* (IPP444) and *Candida albicans* (ATCC10231).

Key words: Pesticides, essential oils, *C. Pullata*, *C. Sulphurea*, antimicrobial activity.

Bibliographie

1. Bolognesi, C. (2003). Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 543, 251–272.
2. Zacharia (2011). Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides. In *Pesticides in the Modern World*, James Tano ED1 - Margarita Stoytcheva, ed. (Rijeka: IntechOpen), p. Ch. 1.
3. Multigner, L. (2017). PESTICIDES ET SANTÉ. *Environnement, Risques & Santé* 2, 23.
4. Soltaninejad, K., and Shadnia, S. (2014). History of the use and epidemiology of organophosphorus poisoning. In *Basic and Clinical Toxicology of Organophosphorus Compounds*, (Springer), pp. 25–43.
5. Fukuto, T. R. (1990). Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environmental health perspectives* 87, 245-254.
6. Testud, F., and Grillet, J.P. (2007). Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes de synthèse et divers. *Encycl Méd Chir* 16, 059–C.
7. Ait Mohammed, K., and Imadouchene, S. (2017). Contribution à l'étude de l'utilisation des pesticides dans les régions de Fréha et d'Azeffoun (Tizi-Ouzou). PhD Thesis. Université Mouloud Mammeri.
8. Gueddou, A., Nedjaa, K., and Sayeh, M. (2017). Evaluation de la toxicité des pesticides par l'utilisation d'un biotest.
9. Zhang, W., Jiang, F., and Ou, J. (2011). Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences* 1, 125.
10. Bouchon, C., and Lemoine, S. (2003). Niveau de contamination par les pesticides des chaînes trophiques des milieux marins côtiers de la Guadeloupe et recherche de biomarqueurs de génotoxicité. *UAG-DIREN, Pointe-à-Pitre*.
11. Garcia, F.P., Ascencio, S.Y.C., Oyarzun, J.G., Hernandez, A.C., and Alavarado, P.V. (2012). Pesticides: classification, uses and toxicity. Measures of exposure and genotoxic risks. *J. Res. Environ. Sci. Toxicol* 1, 279–293.
12. Das, G. P. (1995). Plants used in controlling the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller). *Crop protection* 14, 631-636.
13. Marrone, P. G. (2014). The market and potential for biopesticides. In *Biopesticides: state of the art and future opportunities* .American Chemical Society, pp.245-258

14. Isman, M. B., Miresmailli, S., and Machial, C. **(2011)**. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews* 10, 197-204.
15. Giordani, R., Hadeif, Y., and Kaloustian, J. **(2008)**. Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* 79, 199-203.
16. Regnier, T., du Plooy, W., Combrinck, S., and Botha, B. **(2008)**. Fungitoxicity of *Lippia scaberrima* essential oil and selected terpenoid components on two mango postharvest spoilage pathogens. *Postharvest Biology and Technology* 48, 254-258.
17. Ouis, N. **(2015)**. *Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, des fenouils et de persil* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger).
18. Lucchesi, M. E. **(2005)**. *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles*. Thèse de doctorat.
19. Guenther, E., and Althausen, D. **(1948)**. *The essential oils I*, p. 774. New York: Van Nostrand
20. Brahim, M., and Maachi, R. **(2018)**. *Valorisation des effets thérapeutiques des huiles essentielles de quelques espèces de menthe cultivées en Algérie" optimisation des paramètres d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau et hydrodistillation"*. Thèse de doctorat.
21. FEKIH, N. **(2015)**. *Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre pinus poussant en algerie*. Thèse de doctorat.
22. Paolini, J. **(2005)**. *Caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM (IE et IC) et RMN du carbone-13 de Cistus albidus et de deux Asteraceae endémiques de Corse: Eupatorium cannabinum subsp. corsicum et Doronicum corsicum*. Thèse de doctorat.
23. Adams, R.P. and R. Adams. **(2007)**. Identification of essential oil components by gaschromatography/mass spectroscopy. Illinois: Allured Publishing Corporation.
24. Joulain, D., and König, W. A. **(1998)**. *The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons*. EB-Verlag.
25. Isman, M. B., Miresmailli, S., and Machial, C. **(2011)**. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews* 10, 197-204 .

26. Desam, N. R., Al-Rajab, A. J., Sharma, M., Mylabathula, M. M., Gowkanapalli, R. R., and Albratty, M. (2019). Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *Mentha × Piperita* L.(peppermint) essential oils. *Journal of King Saud University-Science* 31, 528-533.
27. Moleyar, V., and Narasimham, P. (1992). Antibacterial activity of essential oil components. *International journal of food microbiology* 16, 337-342.
28. DJEDDI, S. (2008). *Etude phytochimique, biologique chimiotrique des substances naturelles isolées de: centaurea pullata Ld'algerie et centaurea grisebachii (Nyman) Helder. ssp. grisebachii de grèce* (Doctoral dissertation, Université de Annaba-Badji Mokhtar).
29. Djeddi, S., Karioti, A., Sokovic, M., Stojkovic, D., Seridi, R., and Skaltsa, H. (2007). Minor sesquiterpene lactones from *Centaurea pullata* and their antimicrobial activity. *Journal of Natural Products* 70, 1796–1799.
30. BENSOUNA, ADEL. *Composition chimique et propriétés biologiques de l'huile essentielle de centaurea acaulis L_Nagour*. Thèse de doctorat.
31. Zater, H., and Benayache, F. *Constituants chimiques, propriétés cytotoxiques, antifongiques et antibactériennes de l'extrait chloroforme de Centaurea diluta Ait. subsp. algeriensis (Coss. & Dur.) Maire* (Doctoral dissertation, جامعة الإخوة منتوري (قسنطينة)).
32. Khammar, A., and Djeddi, S. (2012). Pharmacological and biological properties of some *Centaurea* species. *European Journal of Scientific Research* 84, 398-416.
33. Baatouche, S., Seghiri, R., Benayache, F., and Benayache, S. LES FLAVOIDES ISOLÉS DES PARTIES AÉRIENNES DE L'ESPECE *CENTAUREA NICAENSIS*.
34. Dob, T., Dahmane, D., Gauriat-Desrudy, B., and Daligault, V. (2009). Essential Oil Composition of *Centaurea pullata* L. *Journal of Essential Oil Research* 21, 417–422.
35. Djeddi, S., Sokovic, M., and Skaltsa, H. (2011). Analysis of the essential oils of some *Centaurea* species (Asteraceae) growing wild in Algeria and Greece and investigation of their antimicrobial activities. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 14, 658-666.
36. Clements, D.D., Young, J.A., Harmon, D.N. (2004). Germination ecology of seeds of *centaurea sulphurea* [abstract]. Weed Science Society of America Meeting Abstracts 44,37.
37. Muñoz Secilla, F., García Rojas, J.A., and Devesa, J.A. (2012). *Centaurea sulphurea*

Willd. (Asteraceae), nouve   pour la flore de Andalousie occidentale.

38. Lakhali, H., Boudiar, T., Kabouche, A., Kabouche, Z., Touzani, R., and Bruneau, C. **(2010)**. New sesquiterpene lactone and other constituents from *Centaurea sulphurea* (Asteraceae). *Natural Product Communications* 5, 1934578X1000500603.
39. ABBES, A. **(2014)**. *Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'Ammoides verticillata «noukha» de la Région de Tlemcen*. Thèse de doctorat.
40. Carré, P. **(1953)**. *Précis de technologie et de chimie industrielle : Les industries des produits organiques*. Baillère.
41. BAZIZI, M. **(2017)**. Extraction d'une huile essentielle de l'espèce végétale *Salvia Officinalis* L par hydrodistillation : caractérisation physicochimique et modélisation paramétrique.
42. Sefidkon F., Abbasi K., Jamzad Z. and Ahmadi S. **(2007)** .The effect of distillation methods and stage of plant growth n the essential oil content and composition of Satureja Rechingeri jamzad. *Food chemistry* 100,1054-1058.
43. Yaacoub, R., and Tlidjane, I. **(2018)**. Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle des grains de *Cuminum cyminum* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. extraite par hydrodistillation et CO2. supercritique : Etude comparative.
44. Grace, M. H. **(2002)**. Chemical composition and biological activity of the volatiles of *Anthemis melampodina* and *Pluchea dioscoridis*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 16, 183-185.
45. Bencheqroun, H. K., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., and Chaouch, A. **(2012)**. Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisia mesatlantica, plante end  mique du Maroc Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco Artemisia mesatlantica. *Bulletin de la société Royale des sciences de Li  ge*.
46. Francomano, F., Caruso, A., Barbarossa, A., Fazio, A., La Torre, C., Ceramella, J., and Sinicropi, M.S.**(2019)**. β -Caryophyllene:A Sesquiterpene with Countless Biological Properties. *Applied Sciences* 9, 5420.