

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de biochimie et microbiologie



Mémoire de fin d'études



En vue de l'obtention du diplôme de Master
Option : Alimentation Humaine et Qualité des Produits

Thème :

**Contribution à l'étude, phytochimique,
pharmacologique et rhéologique de *Pulicaria odora***

Travail réalisé par:

M^{elle} MESSAOUDENE Hakima

M^{elle} SBARGOUD Yamina

Soutenu devant le Jury composé de:

Président : M^r AMROUCHE T. : Maitre de conférence à l'UMMTO

Promotrice : M^{elle} BENAHMED DJILALI. A. : Maitre de conférence à l'UMMTO

Examineurs :

M^r SADOUDI R. : Maitre de conférence à l'UMMTO

M^r YESLI Y : Maitre assistant à l'UMMTO

Année universitaire : 2014 – 2015

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience.

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au laboratoire de :
Biochimie et Microbiologie de l'Université MUOLOUD MAMMERI de TIZI-OUZOU.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre promotrice M^{elle} **BENAHMED-DJILALI Adiba** qui nous a proposé et dirigé ce travail avec volonté et patience. Veuillez accepter chère promotrice nos sincères sentiments de reconnaissance.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à notre président du jury M^r **AMROUCHE TAHAR** Maître de conférence à la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, de l'Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou. Honorable maître, c'est un réel plaisir pour nous que vous ayez accepté de présider notre jury de Mémoire. Votre rigueur scientifique, votre humilité et vos qualités humaines ne font l'ombre d'aucun doute. Veuillez accepter cher maître, nos sentiments de sincère reconnaissance.

On remercie M^r **YESLI** Maître d'assistant à la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, de l'UMMTO, pour l'honneur qu'il nous a fait de participer au jury de ce mémoire.

On est sensible à l'honneur que nous fait M^r **SADOUDI** Maître de conférence à la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, de l'UMMTO de participer au jury de ce mémoire.

On remercie le laboratoire de M^r **BEZAZI** Directeur de l'Unité de Recherche de Boumerdes pour l'analyse rhéologiques comprimés et M^r **AMIROUCHE** responsable de l'analyse MEB à l'UMMTO

Que tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail, trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie.

Dédicaces

JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL

À mes très chers parents pour leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements qui m'ont suivi avec attention et un grand intérêt lors de mes études.

A ma chère sœur Kahina

A mes chers frères Youcef et Abd El Krim

A mes oncles pour ses conseils précieux

A tout ma grande famille

A mes amis

A toutes les personnes que j'aime

Yamina

Dédicaces

JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL

*A mes très chers parents qui m'ont suivi avec
attention et un grand intérêt*

*A mes frères : Ali et sa petite Thilelli, djamal, seddik
A mes sœurs : Hedjila et sa petite Hhiziri, Nora
A la mémoire de ma tante : Nana Sadia*

*A toute ma famille
A Tous mes amis*

*Pour leur présence dans tous les instants,
Pour le soutien qu'ils m'ont apporté,
avec toute mon affection et ma reconnaissance*

Merci à tous

Hakima

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction générale	

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur *Pulicaria odora*

1-1 La famille des Astéracées.....	3
1-2 Description botanique.....	3
1-3 Le genre inula (<i>Pulicaria</i>).....	4
1-3-1Généralités.....	4
1-3-2Usages traditionnels.....	4
1-4 L'espèce <i>Pulicaria Odora (Inula odora)</i>	5
1-4-1Description botanique.....	5
1-4-1-1Caractère morphologique.....	5
1-5-1-2Taxonomie.....	5
1-5-1-3Répartition géographique.....	6
1-5-1-4Quelques caractères de la plante.....	6
1-5-1-5Propriétés et usage thérapeutique.....	7

Chapitre II : Les substances identifiées de *Pulicaria odora*

2-1 Les huiles essentielles.....	8
2-2 Les substances phénoliques.....	9
2-2-1Les flavonoïdes.....	9
2-2-2Les tanins.....	9
2-2-3Les coumarines.....	10

2-3 Autres substances.....	10
2-3-1 Les quinones.....	10
2-3-2 Les saponosides.....	10
2-3-3 Les lactones sesquiterpènes.....	11
2-3-4 Les terpènes.....	11
2-3-5 Les alcaloïdes.....	11
2-3-6 La Chlorophylle.....	12
2-3-7 Les lipides.....	12

Partie expérimentale

Chapitre III Matériels et méthodes

3 -1 Matériel végétal.....	15
3-1-Echantillonnage.....	15
3-1-2 Choix de la plante.....	15
3.2 Matériel biologique.....	17
3-3 Matériels utilisés.....	17
3-3-1 Milieux de culture.....	17
3-3-2 Les appareils.....	17
3-3-3 La verrerie.....	18
3-3-4 Autres matériaux.....	18
3-3-5 Produits utilisés.....	18
3-4 Méthodes.....	18
3-4-1 Etude ethnobotanique.....	18
3-4-1-1 Zone d'étude.....	19
3-4-1-2 Population enquêtée.....	19
3-4-2 Screening phytochimique.....	20
3-4-3 Analyses physicochimiques de la plante.....	23
3-4-3-1 Détermination de pH.....	23
3-4-3-2 Détermination de la teneur en eau (humidité).....	23
3-4-3-3 Détermination de la teneur en cendres.....	24
3-4-3-4 Détermination de l'acidité titrable.....	25
3-4-3-5 Détermination de la teneur en polyphénols.....	25
3-4-3-6 Dosage des Chlorophylles.....	27
3-4-3-7 La composition chimique en acide gras de <i>Pulicaria odora</i>	28
3-4-4 Activité microbiologique.....	28

3-4-5Essai sur la rhéologie des comprimés.....	30
3-4-5-1Obtention des comprimés.....	30
3-4-5-2Le gonflement.....	30
3-4-5-3L'érosion.....	31

Chapitre IV Résultats et discussion

4-1 Etude ethnobotanique.....	32
4-2 Screening phytochimique.....	35
4-3 Analyse physicochimique.....	37
4-4 Analyse microbiologique.....	41
4-5 La rhéologie des comprimés.....	43
4-5-1Microstructure des poudres.....	43
4-5-2Certains caractères physicochimiques des comprimés.....	44
4-5-2-1Le gonflement.....	45
4-5-2-2L'érosion.....	46

Conclusion générale

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

CPG: Chromatographie en phase gazeuse

HIV : Virus de l'Immunodéficience Humaine

MEB : Microscope Electronique à balayage

N: Normal

nm: Nanomètre

OMS : Organisme Mondiale de la Santé

V/V : Volume à Volume

Liste des tableaux

Tableau I : Propriétés thérapeutiques de quelques espèces du genre <i>Inula</i>	4
Tableau II : Présentation de la fiche d'enquête ethnobotanique.....	20
Tableau III : Préparation des dilutions de l'acide gallique pour la réalisation de la courbe standard des polyphénols totaux.....	26
Tableau IV : Les résultats du screening phytochimique.....	35
Tableau V : Les résultats des analyses physicochimique.....	37
Tableau VI : La comparaison de la composition minérale entre <i>Pulicaria odora</i> et le Pissenlit.....	39
Tableau VII : Composition des acides gras de <i>Pulicaria odora</i>	40
Tableau VIII : Comparaison des acides gras entre huile d'olive et Huile de <i>Pulicaria odora</i> .	40
Tableau IX : Mesure du diamètre moyen d'inhibition (mm).....	41
Tableau X : La variation de poids des comprimés en fonction de temps.....	45

Liste des figures

Figure 1 : Aspect général de différentes parties de <i>Pulicaria odora</i> échantillonnée de la région de Tizi-Ouzou (Avril, Mai, Juin 2015).....	5
Figure 2 : Caractéristiques du climat et de sol de <i>Pulicaria odora</i>	6
Figure 3 : Classification des lipides.....	13
Figure 4 : Aspect des feuilles sèches de <i>Pulicaria odora</i>	15
Figure 5 : Aspect des différentes sortes de poudres obtenues.....	15
Figure 6 : Diagramme d'obtention des poudres.....	16
Figure 7 : Situation géographique de la Wilaya de Tizi Ouzou.....	19
Figure 8 : Organigramme de dosage des polyphénols totaux.....	27
Figure 9 : Schéma montrant la position des disques dans la boîte de Pétri.....	29
Figure 10 : Aspect d'un comprimé.....	30
Figure 11 : Utilisation de <i>Pulicaria odora</i> chez les femmes et les hommes.....	32
Figure 12 : Utilisations de <i>Pulicaria odora</i>	32
Figure 13 : Parties utilisées de <i>Pulicaria odora</i>	33
Figure 14 : Mode d'utilisation de <i>Pulicaria odora</i>	33
Figure 15 : Voie d'application de <i>Pulicaria odora</i>	34
Figure 16 : Les maladies traitées par <i>Pulicaria odora</i>	34
Figure 17 : Teneur en chlorophylles totale, a et b.....	38
Figure 18 : Teneur en polyphénols dans la poudre et les feuilles fraîches de <i>Pulicaria odora</i> ...38	
Figure 19 : Les zones d'inhibition des microorganismes testés.....	41
Figure 20 : Photos correspondant à l'activité anti bactérienne des différents extraits.....	42
Figure 21 : Micro structure de la poudre de <i>Pulicaria odora</i> non tamisée.....	43
Figure 22 : Poudre de <i>Pulicaria odora</i> non tamisée.....	44
Figure 23 : Poudre de <i>Pulicaria odora</i> non retenue par le tamis	44
Figure 24 : Poudre de <i>Pulicaria odora</i> retenue par le tamis.....	44
Figure 25 : Masse des comprimés en fonction de temps.....	45
Figure 26 : Aspect des comprimés observé lors de gonflement pour la solution HCl.....	47

Introduction

Les plantes, éléments vitaux de la diversité biologique, occupent une place prépondérante dans la vie de l'Homme. Toutes les civilisations connues ont utilisés les plantes sauvages ou cultivées pour se nourrir, se vêtir ou se soigner. Ces utilisations se sont diversifiées au fil des temps pour s'adapter aux besoins (BENKINOIR, 2007).

Depuis 150ans, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Afin d'isoler des substances nouvelles des plantes et de trouver de ce fait de nouvelles voies d'application, dans le domaine de la pharmacie, dans l'alimentation et la cosmétologie, il convient de sélectionner avec soins ces plantes. Une telle plante, peut être une source inestimable de nouveaux produits ayant des activités biologiques intéressantes (antifongiques, antibactériennes, antiparasitaires, ou anti oxydantes).

L'ethnopharmacologie et l'ethnobotanique s'avèrent indispensables pour la description et l'évaluation thérapeutique de plantes utilisées dans la pharmacie traditionnelle.

En Afrique, les plantes médicinales jouent un rôle essentiel pour la santé des populations dont environ 80% se soignent grâce à ces plantes. La plupart de la population centrafricaine utilise pour diverses raisons différentes parties des végétaux (feuilles, écorces, racines, etc.) dans les traitements de diverses maladies.

L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique subsaharienne. La flore algérienne est potentiellement riche, beaucoup d'espèces endémiques peuvent y être.

Nous partageons avec les méditerranéens et les pays du Sahel un large éventail de composés et d'éléments phytochimiques (PEREIRA, 2003).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'une plante médicinale comestible. Il s'agit de l'étude phytochimique et de la détermination de quelques propriétés biologiques et rhéologiques de *Pulicaria odora*, de la famille des *Astéracées*. C'est une plante qui pousse spontanément dans la région de Tizi-Ouzou et qui possède un intérêt nutritif et pharmacologique.

La présente étude porte sur un rappel bibliographique avec les travaux antérieurs consacrés à la description botanique de la plante, les propriétés biologiques du genre et de l'espèce étudiée.

La partie expérimentale réalisée, porte sur l'enquête ethnobotanique, le Screening phytochimique, l'analyse physicochimique, l'activité antimicrobienne et l'étude de quelques propriétés rhéologique de la poudre de la plante étudiée.

Introduction

La dernière partie présentera les résultats obtenus qui seront suivis d'une discussion et en terminera avec une conclusion générale

1-1 La famille des astéracées

La famille des Astéracées (asteraceae) ou Composées (Compositae) est la famille la plus large des plantes à fleurs qui comprend près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres formant approximativement 10% de la flore du monde (POTTIER, 1981).

En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces (QUEZEL, 1962), 111 genres et 638 espèces (GAUSSEN, 1982). Cette vaste famille est économiquement importante, elle fournit des plantes alimentaires: Laitues (*Lactuca*), artichauts (*Cynara*), tournesol (*Helianthus annuus*).

Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacie : Le Semen-contre (*Artemisia cina* Berge), l'Arnica (*Arnica montana* L.), la Chamomille (*matricaria chamomilla*), (GUIGNARD, 1994). Une des propriétés typiques de la famille des Composés est la richesse en composés naturels divers. On y trouve des terpenoïdes, des flavonoïdes et des alcaloïdes. C'est une famille très riche en lactones sesquiterpéniques qui représente des principes amers typiques de cette famille (HARBORNE et SWAIN, 1969).

1-2 Description botanique

Les Compositae, représentées principalement dans les régions tempérées et froides du globe (PARIS et MOYSE, 1971), sont principalement des herbes vivaces ou non, mais aussi des arbustes ou sous-arbrisseaux, parfois des herbes, rarement des plantes aquatiques ou des plantes grimpantes ou encore des épiphytes. Les feuilles sont le plus souvent alternes, mais aussi opposées ou radiales, simples (PAULIAN, 1967).

Les Astéracées ont une 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, n'est en réalité pas « une » fleur mais un capitule de fleurs.

Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée Pappus qui, favorise la dispersion des graines par le vent (MESSAI, 2011).

1-3 Le genre *Pulicaria*

1-3-1 Généralités

D'après (FLANN, 2009 et GAERTNER, 1791), les pulicaires appartiennent à l'attribut des inules. Le nom *Inula* est très ancien et vient du nom de l'espèce *Inula helenium* et généralisé pour tout le genre. Le genre *Inula* comprend une variété d'environ 90 espèces, largement distribué dans le bassin méditerranéen, en Europe (Espagne, France...), Asie (Chine, Turquie, Japon, Korea...) et en Afrique (Égypte, Algérie, Maroc...) (QUAZEL et SANTA 1963).

1-3-2 Usages traditionnels

La médecine traditionnelle a attribué de nombreuses propriétés thérapeutiques aux espèces du genre *Inula*, on va présenter quelques-unes dans le tableau ci-dessous.

Tableau I : propriétés thérapeutiques de quelques espèces du genre *Inula*.

Espèces	Usages traditionnels
<i>Inula helenium</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> · comme un remède familial en Japon (OKUDA, 1986) · comme un agent thérapeutique pour la tuberculose en Taïwan et Chine. · elle a aussi des propriétés antiseptiques, antibiotiques, antispasmodiques, toniques et aromatiques (JIANGSU, 1986)
<i>Inula britannica</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> · Les fleurs de ces plantes ont été utilisées pour le traitement des troubles digestifs, la bronchite, et l'inflammation. <i>I. britannica</i> a aussi une activité anti-inflammatoire, antibactérienne, antiseptique, anti tumorale (JIANGSU,(a) 1977)
<i>Inula royleana</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> · Ces racines possèdent une activité anti-inflammatoire, antibiotique, et une activité vermifuge (BLASCHEK et al., 1998).
<i>Inula racemosa</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> · En médecine traditionnelle Chinoise, les racines d'herbe d'<i>Inula racemosa</i> ont été habituellement employées pour fortifier la rate, réguler la fonction de l'estomac, alléger la douleur rhumatismale particulièrement entre le cou et les épaules et pour empêcher l'avortement (JIANGSU,(b) 1977).
<i>Inula montana</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> · Possède une activité sur le système Digestif (TARDIO et al., 2002)
<i>Inula salicina</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> · Digestif, anti diarrhéique (TARDIO et al., 2002)
<i>Inula conyza</i> DC.	<ul style="list-style-type: none"> · Laxative, vulnérable (VILLAR et al., 1987).
<i>Inula viscosa</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> · Possède une activité curative de blessure a été observé avec l'extrait du d'<i>Inula viscosa</i> (ENAM et al., 2007)

Un grand nombre d'espèces *Inula* à ce jour, ont fait l'objet d'études chimiques et de très nombreux métabolites secondaires ont été isolés. Les recherches phytochimiques ont permis de mettre en évidence, dans le genre *Inula* tous les composés caractéristiques des Compositae. Flavonoïdes, Terpènes et Lactones Sesquiterpéniques.

1-4 L'espèce *Pulicaria Odora* (*Inula odora*)

1-4-1 Description botanique

1-4-1-1 Caractère morphologique

Plante vivace à tige de 3-6 dm dressée, simple ou rameuse au sommet, velue – feuilles pubescentes, laineuses en dessous, entières ou obscurément denticulées, les radicales grandes, elliptiques-oblongues, pétiolées, les caulinaires oblongues-lancéolées, sessiles, demi embrassantes, cordées à la base, dépourvues d'oreilles saillantes - involucre à folioles hispides, les intérieures scarieuses, linéaires, très étroites, longuement acuminées - akènes velus, aigrette rousse - capitules en corymbe portés par des pédoncules épaissis au sommet Fleurs jaunes à ligules, dépassant longuement l'involucre.

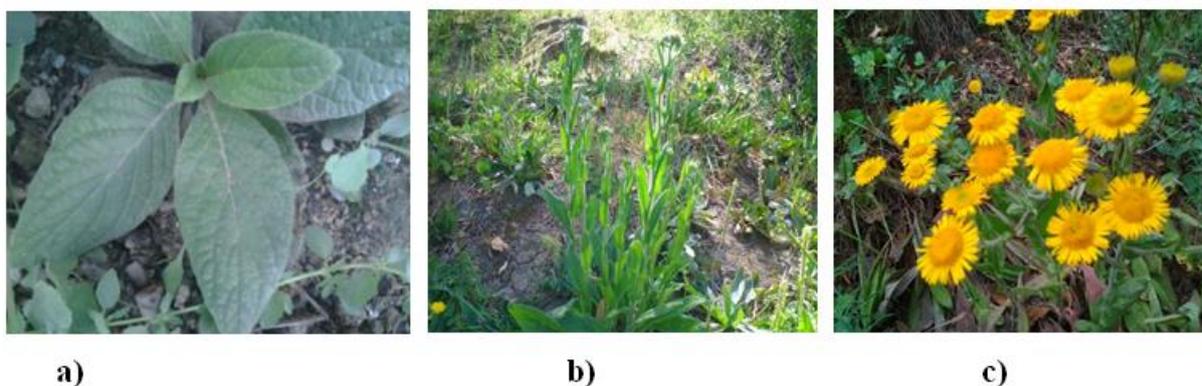


Fig 1 : Aspect général de différentes parties de *Pulicaria odora* échantillonnée de la région de Tizi-Ouzou (Avril, Mai, Juin 2015).

a) Feuilles, b) Tiges, c) Fleurs

1-5-1-2 Taxonomie

Selon LAVAGNE, (2006), la systématique de cette espèce est donnée comme suit :

Règne : végétale

Division: Spermatophyta

Sous-division: Angiospermes

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe: Asteridae

Ordre: Asterales

Famille: Asteraceae

Genre: *Pulicaria*

Espèce: *Pulicaria odora*

1-5-1-3 Répartition géographique

Pulicaria odora est répartie dans l’Espagne, Portugal, Italie, Afrique septentrionale. Plusieurs nominations sont nommées à cette espèce qui est différenciées d’une région à l’autre : *Inula odora*, Herbe vergerette, *Montana* (GONZALEZ-ROMERO *et al.*, 2000) Amezough eggillef par la population local.

1-5-1-4 Quelques caractères de la plante

Pulicaria odora pousse dans un climat chaud proche de la mer plus ou moins sec exigeant la lumière, dans un sol plus ou moins sec avec une texture proche de celle de l’argile, moyennement riche en nutriments, pauvre en matières organiques et une intolérance à la salinité avec pH proche de la basicité.

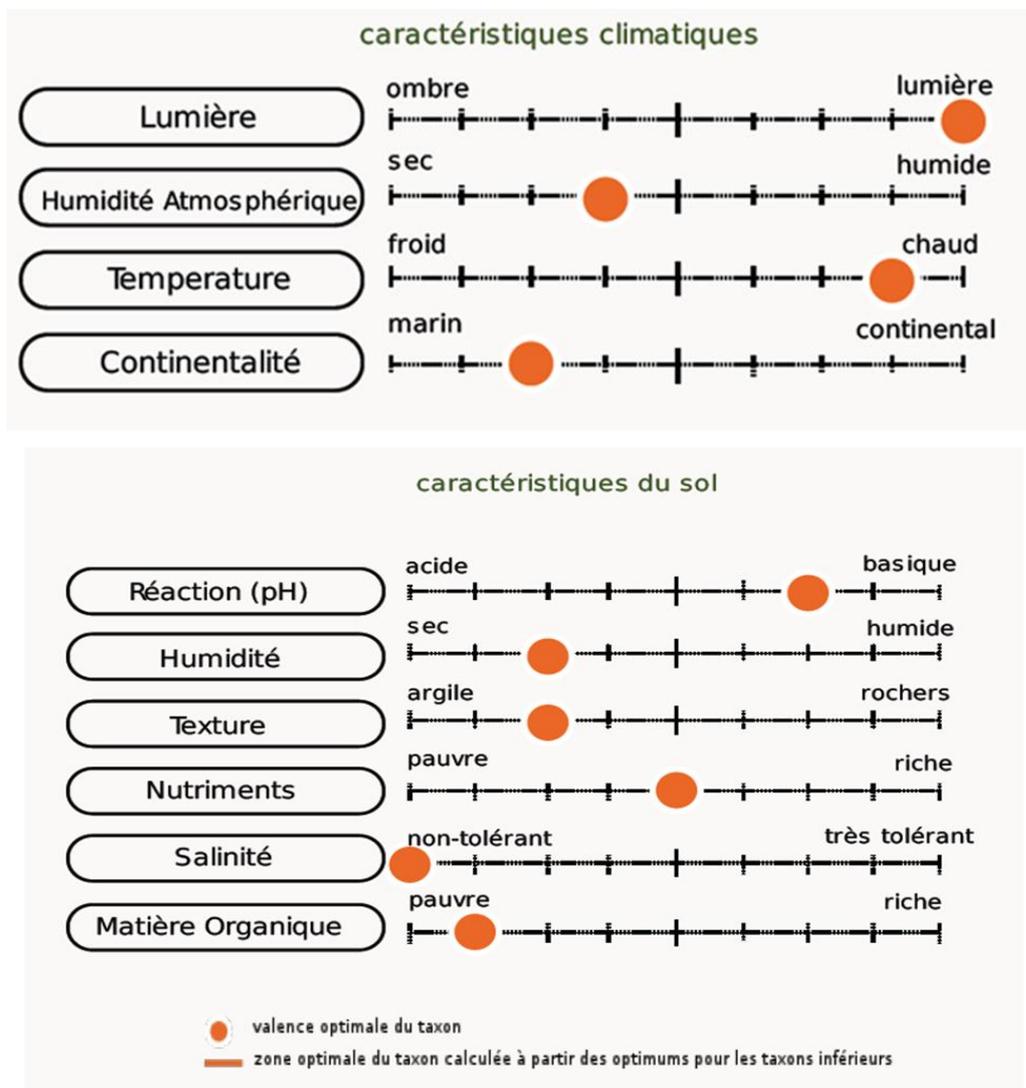


Fig 2 : Caractéristiques du climat et du sol de *Pulicaria odora* (LAVAGNE, 2006)

1-5-1-5 Propriétés et usage thérapeutique

Selon GONZALEZ-ROMERO *et al.*, (2001) La majorité des espèces du genre *Inula* sont employées en médecine traditionnelle pour ses propriétés antipyrétique, anti-inflammatoire et hépatoprotective.

L'espèce *Pulicaria odora* a des propriétés médicinales contre l'otite, la dermatite, la pharyngite, l'ostéosclérose, la salmonellose et la rougeole.

Comme toutes les espèces appartenant à la famille des Astéracées, les composés terpéniques sont doués de plusieurs propriétés biologiques et pharmacologiques telles que les activités cytotoxique, anti-tumorale, antimicrobienne et phytotoxique (RODRIGUEZ *et al.*, 1976). Parmi ces substances, les cinq lactones sesquiterpéniques (isoinuviscolide, gaillardine, 1 beta-hydroxy-3beta-acetoxy-eudesme-4(15), 11(13)-dien-12-8beta-olide, pulchelline-C et pulchelline-E) ont été identifiés dans la partie aérienne d'*I. Montana* (GONZALEZ-ROMERO *et al.*, 2000). Une autre étude a montré la présence des 4 flavonoïdes aglycones : luteoline (5, 7,3',4'-hydroxyflavone), hispiduline (5, 7,4'-hydroxy-6-méthoxyflavone), nepetine (5, 7,3'-hydroxy-6-méthoxyflavone) et cirsimaritrine (5,4'-hydroxy-6,7-diméthoxyflavone) (REYNAUD et LUSSIGNOL, 1999).

En se basant sur notre étude phytochimique et d'autres études réalisées sur l'espèce *Pulicaria odora*, il est intéressant de signaler que notre plante possède plusieurs substances à intérêts thérapeutiques et/ou nutritionnels à savoir :

2-1 Les huiles essentielles

D'après BELAÏCHE, (1979), les constituants majeurs des huiles essentielles sont des mono terpènes et des sesquiterpènes de formule générale $(C_5H_8)_n$. Les composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures incluent des alcools, des aldéhydes, des esters, des éthers, des cétones, des phénols et des oxydes. On estime qu'il y a plus de 1000 mono terpènes et 3000 de structures sesquiterpènes.

Les huiles essentielles sont employées pour leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums (SMALLFIELD, 2001).

Les terpénoïdes ont des effets contre les bactéries, les mycètes, les virus et les protozoaires. IL a été signalé que 60% des dérivés des huiles essentielles examinées jusqu'au 1999 sont inhibiteurs de mycètes tandis que 30% inhibent les bactéries. Le triterpénoïde, l'acide betulinique est l'un des terpénoïdes qui a montré une action inhibitrice envers le virus HIV (Virus Immunodéficience Humain). Le mécanisme d'action des terpènes n'est pas entièrement compris mais on pense qu'il s'agit de la rupture de la membrane par les composés lipophiles (COWAN, a, 1999).

L'étude de FADWA et *al.*, (2005) a montré que l'huile essentielle de *Pulicaria odora* est très riche en thymol (47,83%) et tymolisobutyrate (30%), riche en Acide methylpropanoïque (4,46%) et en carvacrol (2,78%).

D'après (COWAN, b, 1999); le carvacrol et le thymol possèdent une activité antibactérienne, et une activité antifongique contre les mycètes phytopathogènes.

La capacité antioxydante de l'huile volatile est étroitement liée à tout le contenu phénol (STEFANOVITS-BANYAI, et *al.* 2003). L'activité antioxydante de cette plante est due au carvacrol, thymol et autres phénols, ceci a été confirmé par un certain nombre de travaux, qu'ont montré dans une étude portant sur l'huile essentielle de *Thymus (Thymus vulgarae L.)*, que les chemotypes phénoliques (thymol et carvacrol) et non phénoliques (linalool) sont capables de réduire le radical 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl, avec un effet plus élevé enregistré pour les chemotypes phénoliques. Ces observations, l'on a expliquées par la concentration élevée de thymol et carvacrol dans ces derniers.

2-2 Les substances phénoliques

D'après les études multiples attestant l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires.

De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes sur la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (HENNEBELLE et *al.*, 2004).

2-2-1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un des plus vastes groupes de polyphénols naturels et présentent un large champ d'activité biologique, aussi bien chez les animaux que chez les végétaux (RICHTER, 1993). Ce sont des substances colorées (GUINARD, 1979) responsables de la coloration de nombreux fruits, légumes et fleurs.

La plupart de ces flavonoïdes sont de puissants antioxydants offrant toute une batterie de fonctions biochimiques particulièrement intéressantes pour notre santé. Ils jouent un rôle important dans la fonction immunitaire, l'expression génétique, la circulation sanguine dans les capillaires et le cerveau, la fonction hépatique, l'activité enzymatique, l'agrégation des plaquettes et le métabolisme du collagène, des phospholipides, du cholestérol et de l'histamine. Il n'est pas étonnant que les scientifiques leur consacrent de nombreux travaux.

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités : antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, anti-cancéreuses, antiulcéreuses, anti-carcinogènes et antimicrobiennes, (BAHORUN, 1997 ; HENNEBELLE et *al.*, 2004 ; MARFAK; 2003 et RIVARD-GERVAIS, 2001)

2-2-2 Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux et surtout les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Ces premiers sont caractérisés par leur astringence, ils ont la propriété de précipiter les protéines (fongiques ou virales) et les métaux lourds. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides. Ils sont abondants dans les organes végétaux

jeunes. Certains tanins auraient des propriétés anti-oxydantes et bactériostatiques (LUCCHESI, 2005).

2-2-3 Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la *fève tonka* d'où fut isolées pour la première fois en 1820 (RAFFAELLI, 2002). Elles sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique, l'acide p coumarique (LESLEY ; 1996)

Les coumarines manifestent diverses activités biologiques, qui varient selon la substitution sur le cycle benzopyrane, telles que l'activité antifongique, anti-tumorale, anti agrégation plaquettaire, inhibitrice de plusieurs enzymes, antivirale, anti-inflammatoire anticoagulante, diurétique et analgésique (MAGED et BRAZ, 2002).

La coumarine elle-même a fait l'objet de plusieurs études cliniques chez les patients atteints de cancers avancés : elle est immunostimulante et développerait une activité cytotoxique (BRUNETON, 1998). Elle a aussi un rôle capable de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, super oxydes et pyroxyles. (MADHAVI, 1996).

2-3 Autres substances

2-3-1 Les quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques (BRUNETON, 1993). Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs (COWAN, 1999).

Certaines quinones, dérivant de l'antraquinone, sont des laxatifs stimulants. D'autres activités antidépressives, anti-protozoaires, antivirales, antibactériennes, fongicides et antiallergiques ont été décrites et plusieurs molécules du groupe ont une toxicité non négligeable (BRUNETON, 1993 ; HENNEBELLE et *al.*, 2004).

2-3-2 Les saponosides

Le nom saponine dérive du mot latin «sapo», qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse (MANACH et *al.*, 2004).

Ils possèdent une grande variété d'activités biologiques telles que : antipyrétique, antalgique immunomodulatrice, anti-inflammatoire, anticoagulante et anti-artériosclérotique (NAMSOO, 2001)

2-3-3 Les lactones sesquiterpènes

Les lactones sesquiterpéniques, molécules naturelles également appelées substances amères sont très intéressantes dans le domaine biologique et pharmacologique (QUINTERO, 1999). Les lactones sesquiterpéniques ont une distribution botanique assez sporadique présente chez les angiospermes, et très majoritairement chez les Compositeae (BRUNETON, 1993).

Certaines sesquiterpènes lactones sont biologiquement actives et possèdent des propriétés cytotoxiques (KOCHS et GRISEBACH, 1986), antimicrobiennes (STOTZ, et *al.*, 1984), antifongiques (FORKMANN, 1992), anti-inflammatoires (BRUNETON, 1999).

2-3-4 Les terpènes

Les terpènes (= Terpénoïdes) sont des constituants habituels des cellules végétales impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles. Ce sont des métabolites secondaires résultant de la condensation d'unités isoprénique à 5 atomes de carbone (PARIS et MOYSE, 1965).

Les terpènes sont présents chez tous les êtres vivants et possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques, et des activités biologiques très diverses. Plusieurs d'entre eux sont exploités à l'échelle industrielle (industrie des cosmétiques et des parfums, industrie agroalimentaire pour les arômes et les colorants alimentaires, etc...) (MINKUE, 2000). Parmi eux, certains sont des substances odorantes, comme par exemple le menthol et le thymol, provenant d'huiles essentielles.

D'après (ODILE-MEYER, 2004) les terpènes ont le rôle antioxydant, stabilisent *in vitro* les acides gras insaturés et les protègent en empêchant leur peroxydation par piégeage des radicaux libres. Ils peuvent aussi jouer un rôle comme agent régulateur de la stabilité, la fluidité et la perméabilité des membranes cellulaires.

2-3-5 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés cycliques contenant un ou plusieurs atomes d'azote (ROBERTS et WINK, 1998).

Les alcaloïdes exercent généralement des activités pharmacologiques sur les mammifères comme l'Homme. Jusqu'à aujourd'hui, plusieurs médicaments utilisés sont des alcaloïdes naturels, ils affectent chez l'être humain le système nerveux, particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétylcholine, dopamine...

Les alcaloïdes jouent plusieurs activités pharmacologiques :

Analgésique (cocaine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (réserpine), antitussive (codéine), détressant cardiaque, stimulant centrale (caféine), diurétique, anesthésiant local (cocaine), narcotique (morphine), anti-tumeur, etc.... (BHAT *et al.*, 2005).

2-3-6La Chlorophylle

La chlorophylle est le pigment vert des plantes qui capte l'énergie fournie par le soleil grâce au processus de la photosynthèse. Elle est riche en sels minéraux (calcium, fer, zinc, sélénium, chrome, phosphore, potassium, magnésium) en vitamines (E-C-A-K, B8, B9, B5) et en protéines. Elle possède divers rôles biologiques :

- neutralise l'acidité et l'alcalinité de l'organisme ;
- Renforce la circulation sanguine et favorise la production des globules rouges (anti- anémie) fortifie les muscles (excellent pour le système intestinal) ;
- Régularise la glycémie ;
- Désintoxique l'organisme, le foie, les reins ;
- Anti-inflammatoire, antiseptique et Antioxydante et antifongique;
- Favorise la guérison de la peau et des muqueuses (accélère la cicatrisation) ;
- Reminéralise le corps ;
- Fait baisser le taux de cholestérol en excès et rétablit la pression sanguine normale ;
- Stimule la santé du système immunitaire et joue un rôle dans la défense contre les radicaux libres ;
- Soulage la douleur causée par une inflammation, calme les tissus ulcéreux;
- Stimuler de la production d'hémoglobine ;

2-3-7Les lipides

Les lipides (du grec lipos, graisse) sont caractérisés par une propriété physique : la solubilité. Les lipides sont des composés à solubilité nulle ou faible dans l'eau mais par contre élevée dans les solvants organique (méthanol, chloroforme, cyclohexane, étherdiéthylique, acétone,...).

Les lipides jouent un rôle très important dans l'organisme à savoir :

- Ils entrent dans la composition des membranes cellulaires (les membranes qui entourent les cellules). Les acides gras essentiels sont des constituants des membranes cellulaires notamment au niveau des neurones.
- Ils sont stockés dans les cellules graisseuses (adipocytes) où ils forment une réserve d'énergie.

- Ils servent à transporter des vitamines (liposolubles) et jouent un rôle essentiel dans plusieurs fonctions vitales (reproduction, immunité, coagulation, inflammation, vision...) (KESSOUS, 1987).
- Les acides gras servent à la synthèse d'autres lipides, notamment les phospholipides qui forment les membranes autour des cellules et des organelles. La composition en acides gras de ces phospholipides donne aux membranes des propriétés physiques particulières (élasticité, viscosité).
- Les acides gras sont les précurseurs de plusieurs messagers intra et extracellulaires. Par exemple, l'acide arachidonique est le précurseur des oicosanoïdes, hormones intervenant dans l'inflammation, la coagulation sanguine, etc. (FAHY *al.*, 2005).

2-3-7-1 Classification des lipides

On classe les lipides en deux grandes catégories : les lipides à base d'acides gras et les lipides à base d'isoprène (lipides polyisopréniques) (figure3).

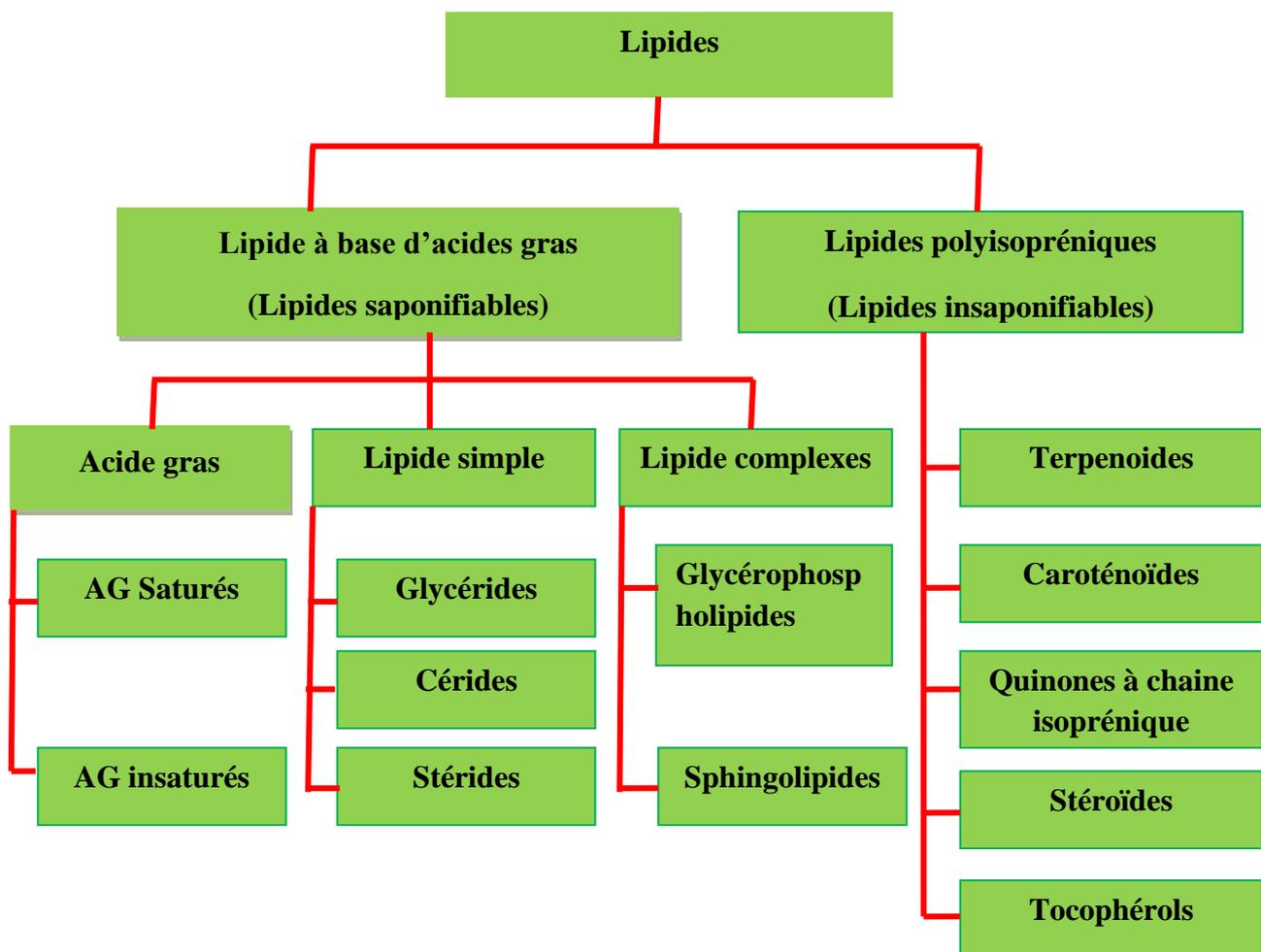


Fig 3 : Classification des lipides (FAHY *al.*, 2005).

Les lipides à base d'acides gras sont également appelés « lipides saponifiables » (lipides, traités avec NaOH ou KOH, donnent du savon). En revanche, les lipides n'aboutissant pas à la formation du savon par traitement alcalin sont appelés « lipides insaponifiables »

❖ **les lipides à base d'acides gras**

➤ **Les acides gras**

Les acides gras sont des acides carboxyliques aliphatiques à chaîne carbonée plus ou moins longue dérivant de/ou contenu dans les graisses animales et végétales. Par extension, le terme est parfois utilisé pour désigner tous les acides carboxyliques à chaîne carbonée non cyclique.

➤ **Les lipides simples**

Les lipides simples ou homolipides sont les lipides qui ne contiennent que le carbone l'hydrogène et l'oxygène. Ils sont souvent des esters d'un alcool et d'acide gras. Les lipides simples sont classés en trois groupes : les glycérides, les Cérides et les stérides (FAHY et *al.*, 2005).

➤ **Les lipides polyisopréniques**

Les lipides polyisopréniques ce sont des lipides à base d'isoprène. Ce groupe est aussi appelé lipides insaponifiables et jouent un rôle biologique fondamentale (hormones et vitamines). Ils sont divisés en quatre catégories : les terpenoïdes, les caroténoïdes, les quinones à chaîne isoprénique et les stéroïdes. Les carotènes (pigments rouges-orangés), les xanthophylles (pigment jaune) et la vitamine A font partie des caroténoïdes. Les tocophérols, la vitamine K, les ubiquinones et les plastoquinones font partie des quinones à chaîne isoprénique. Les stéroïdes regroupent les stérols, les acides biliaires. Les hormones stéroïdes et la vitamine D. Ces trois derniers sont des dérivés des stérols (KARLESIND, 1992).

Les huiles essentielles des végétaux (géraniol, limonène, menthol, pinène, camphre) qui contribuent à l'odeur et à la saveur de certaines espèces sont aussi des lipides polyisopréniques (FAHY et *al.*, 2005).

3-1 Matériel végétal

3-1-1 Echantillonnage

La plante étudiée, *Pulicaria odora* a été récoltée durant les mois d'avril et de mai de l'année 2015 dans deux régions de la wilaya de Tizi-Ouzou, Ouadhia et Draa El Mizan.

L'identification de cette plante a été effectuée au niveau du laboratoire botanique de l'Université MOULOUD MAMMERI de TIZI OUZOU.

Une partie du matériel végétal a été conservée à 4°C après la récolte pour les analyses physicochimiques, l'autre partie a été séchée naturellement à l'abri de la lumière et de l'humidité sur papier durant 15 jours, puis broyée à l'aide d'un moulin électrique pour obtenir une poudre, la figure 6 montre le diagramme d'obtention la poudre.

La poudre obtenue est stockée soigneusement dans des boîtes en verre à l'abri de l'humidité et la lumière à fin de réaliser d'autres analyses.



Fig 4 : Aspect des feuilles sèches de *Pulicaria odora*

La poudre a été tamisée à l'aide d'un tamis de 250µm de diamètre, qui nous a permis d'obtenir 3 sortes de poudres et une partie laineuse (figure 5)

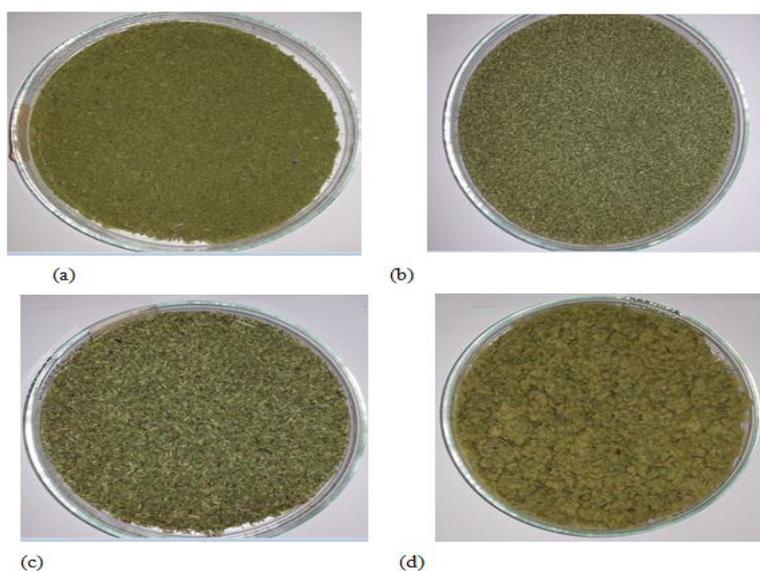


Fig 5 : Aspect des différentes sortes de poudres obtenues

(a) poudre non tamisée.

(b) poudre tamisée de particules de tailles inférieures de égales à 250 μm dépourvue de la partie laineuse.

(c) poudre de particules de tailles supérieures à 250 μm (particules retenues par le tamis)

(d) partie laineuse.

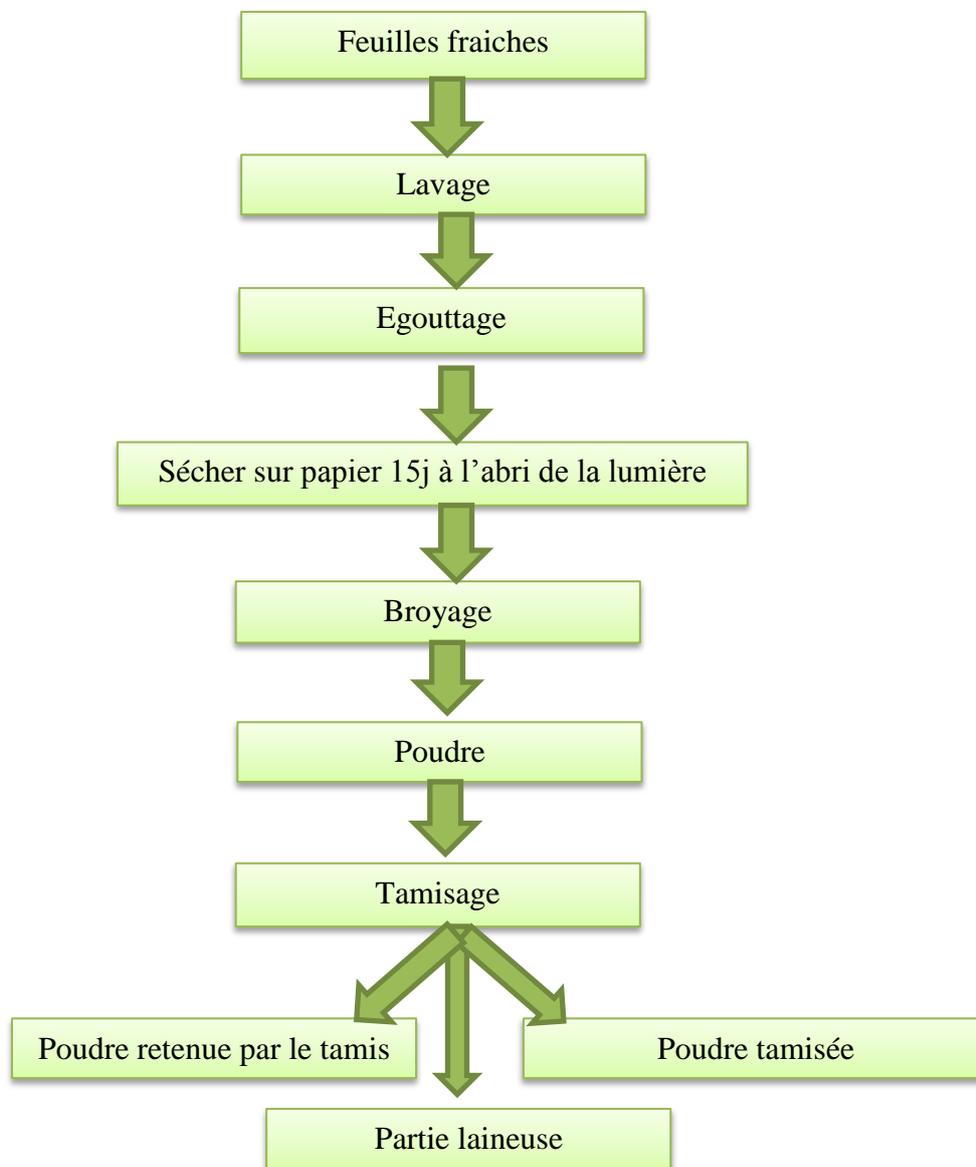


Fig 6 : Diagramme d'obtention des poudres

3-1-2 Choix de la plante

Un certain nombre de critères a été pris en compte pour sélectionner la plante étudiée.

3-1-2-1 Utilisation des plantes en médecine traditionnelle

L'usage traditionnel des plantes est extrêmement important pour une sélection efficace des plantes puisque la plupart des métabolites secondaires employés en médecine moderne

ont été découvertes par l'intermédiaire d'investigation ethnobotanique. (GURIB-FAKIM, 2006).

3-1-2-2 Abondance du matériel végétal

Une plante qui pousse dans un milieu riche en microorganismes et en parasites et qui ne présente aucun signe d'attaque par ces microorganismes, serait susceptible de produire des métabolites secondaires qui lui permettent de résister.

3-1-2-3 Aspects botaniques et chimio-taxonomiques

Les plantes appartenant aux mêmes familles ou à des familles voisines et/ou qui poussent dans les mêmes biotopes sont susceptibles de synthétiser les mêmes molécules chimiques. La chimio taxonomie, complète les classifications botaniques basées sur des critères morphologiques et moléculaires (BOUTAOUI, 2012).

3-1-2-4 Les traditions culinaires

La population de la wilaya de Tizi Ouzou utilise cette plante à des fins alimentaires sous différentes préparations, soit consommée telle qu'elle, soit introduite dans la semoule pour préparer des galettes.

3.2 Matériel biologique

Les microorganismes testés provient du laboratoire de Microbiologie du département Biochimie et de Microbiologie de l'Université MOULOUD MAMMARI de TIZI OUZOU, ils correspondent aux espèces suivantes: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus niger*.

3-3 Matériels utilisés

3-3-1 Milieux de culture

Gélose nutritif pour les deux bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ;

Milieu SABOURAUD pour *Aspergillus niger*;

3-3-2 Les appareils

➤ Les appareils utilisés dans l'étude physico-chimique

-Balance de précision 0.001g (KERN 770)

-Bain-marie, Étuve (MEMMERT)

-Four à moufle (NABERTHERM)

-Microscope électronique à balayage (PHILIPS ESEM XL 30)

-pH- mètre (INOLAB)

-Plaque chauffante (RYPA)

-Spectrophotomètre visible (EV 9200)

Les appareils utilisés dans l'étude biologique

- Autoclave de paillasse (WEBECO)
- Balance de précision 0,001g (KERN 770)
- Bain-marie (MEMMERT)
- Étuve bactériologique (MEMMERT)
- Spectrophotomètre visible (MEDLINE)
- Vortex, réfrigérateur.

3-3-3La verrerie

Béchers, fioles, éprouvettes graduées, entonnoirs, tubes à essais, capsules en porcelaine, boîtes en verre, erlenmeyers, verre à montre.

3-3-4Autres matériaux

Papier filtre, papier aluminium, couteau, mortier, spatules, boîtes de Pétri, anse, pince, bec bunsen, portoirs, disques stériles de papier Wattman de diamètre 6 mm, compresseur, centrifugeuse, laser, micropipette, moulin électrique, agitateur magnétique, dessiccateur.

3-3-5Produits utilisés

Eau distillée, Ethanol, H₂SO₄, HCl et autres réactifs

3-4 Méthodes**3-4-1Etude ethnobotanique**

Les plantes médicinales sont encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement, selon l'OMS, plus de 80% des populations africaines ont recours à la médecine traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé (SALHI et *al.*, 2010) par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne, mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. Aujourd'hui, le savoir des tradipraticiens est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que, l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie s'emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont elles appartiennent à la recherche moderne afin de préciser les propriétés et valider leurs usages. La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethnopharmacologiques. Cette approche permet de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter significativement le nombre de découvertes de nouveaux actifs (BARRERO et *al.*, 1988).

3-4-1-1 Zone d'étude

La Wilaya de Tizi-Ouzou borde la partie centrale du nord algérien, présente un relief montagneux fortement accidenté qui s'étale sur une superficie de 2 994 km². Sur le territoire de la wilaya, il existe une diversité de plantes médicinales aux vertus préventives et curatives à l'exemple de *Pulicaria odora* qui pousse et grandit dans les régions, d'Ouadhia et de Draa El Mizan, avec une quantité dans la dernière région. Sachant qu'elle se trouve respectivement à 550 et 650m d'altitude. Ce qui signifie clairement, que cette plante se raréfie à mesure qu'on se rapproche de la zone montagneuse, et tout à fait inexistence sur les surfaces de Djurdjura par contre à l'abaissement d'une certaine altitude environ 500 elle commence à se raréfie, donc il pousse environ à 500 jusqu'à 700m d'altitude qui est favorable à sa vie, à sa résistance et à sa bonne croissance.

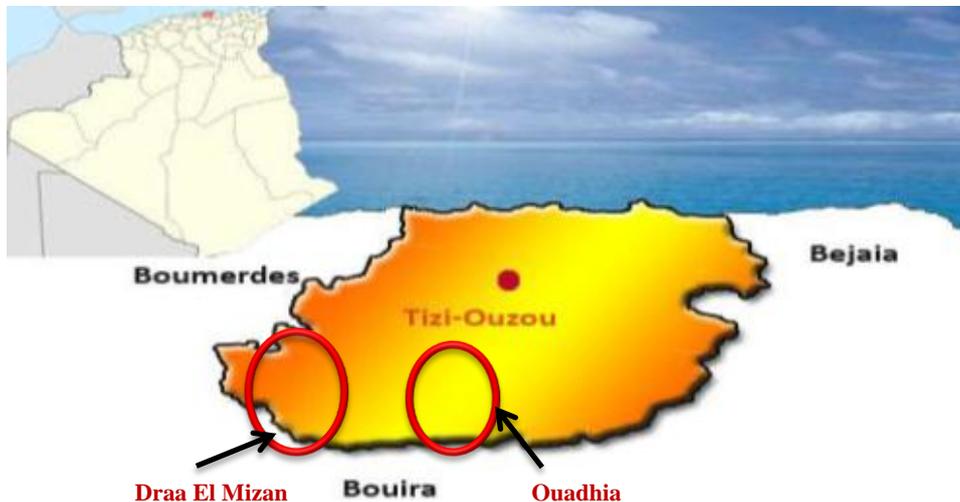


Fig 7 : Situation géographique de la Wilaya de Tizi Ouzou

3-4-1-2 Population enquêtée

Cette enquête a été réalisée durant les mois Avril, Mai et Juin de l'année 2015, a porté sur l'utilisation, le mode d'emploi et les maladies traitées par cette plante. La population enquêtée compte 50 personnes d'âge et de sexe différents, 15 hommes et 35 femmes. L'espèce étudiée est très fréquemment utilisée par les populations de deux régions, tant dans le domaine alimentaire que dans la médecine traditionnelle.

Les paramètres de l'enquête sont portés sur une fiche destinée à rassembler les différents renseignements recherchés auprès de la population (Tableau II).

Tableau II: Présentation de la fiche d'enquête ethnobotanique.

Questionnaire d'enquête ethnobotanique.
<p>Sexe : Femme Homme</p> <p>Age :</p> <p>Utilisation de la plante : Plante médicinal Plante alimentaire</p> <p>Partie utilisé : Feuilles Tige Racines</p> <p>Mode d'utilisation : Cataplasmes Introduite dans les pâtes Décoction</p> <p>Administration : Application locale Voie orale</p> <p>Maladie traitées par la plante : Blessure Ulcère d'estomac Tube digestif Maux de tête Abcès</p>

Les résultats de l'étude ethnobotanique sont résumés dans le tableau (Annexe I)

3-4-2 Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un ensemble de méthodes et techniques de préparation et d'analyses des substances organiques naturelles d'une plante à étudier.

Les techniques générales de screening phytochimique peuvent être d'un grand secours. Ces techniques permettent de détecter, dans la plante, la présence des produits appartenant à des classes de composés physiologiquement actifs. On peut vérifier la présence de chacune. Il faut choisir et retenir les classes reconnues comme les plus actives mais aussi les plus faciles à détecter compte tenu des ressources techniques disponibles.

La colorimétrie et la gravimétrie ont été les deux principales voies d'identification de ces groupes de substances en solution ou en poudre. Il s'agit principalement, des flavonoïdes, des quinones, des saponines, des tanins et des alcaloïdes.

Pour notre travail, le screening a été effectué sur la poudre des feuilles de *Pulicaria odora* ou sur son extrait (infusé).

3-4-2-1 Préparation de l'infusé

- Introduire 5 g de poudre végétale dans 100ml d'eau distillée bouillante dans un erlenmeyer de 250 ml ;
- Fermer avec verre de montre et laisser infuser pendant 15min puis filtrer sur papier filtre ;
- Le filtrat est ajusté à 100ml avec l'eau distillée chaude (MOUELLET, 2005).

3-4-2-2 Les phénols**➤ Les flavonoïdes**

Dans un tube à essai ajouter 5ml d'HCl à 5ml de l'infusé et introduire un copeau de Mg puis 1ml d'alcool isobutanol, l'apparition de la couleur rouge orangée indique la présence des flavonoïdes.

➤ Les anthocyanes

Dans un tube à essai ajouter 2ml d'HCl 2N à 5ml de l'infusé, l'apparition de la coloration rose-rouge qui vire au bleu-violacé par addition d'ammoniac indique la présence de l'anthocyane (SENHAJI, 2005).

➤ Les leucoanthocyanes

- Dans un tube à essai, 2 g de poudre sont mises dans 20ml de (propanol /HCl) (V/V) ;
- Porter le mélange au bain marie bouillant pendant 15 min ;
- L'apparition de la couleur rouge indique la présence de leucoanthocyanes (AMADOU, 2005).

➤ Les tanins

Quelques gouttes de la solution FeCl₃ (5%) sont ajoutés à 5ml d'infusé dans un tube à essai, l'apparition de la couleur bleu noirâtre indique la présence des tanins (MOUELLET, 2005).

➤ Les tanins galliques

- Ajouter 15ml de réactif de Stiasny (10ml de formol + 5ml d'acide chlorhydrique) à 30ml d'infusé,
- Chauffer au bain-marie à 90°C pendant 15 à 30 minutes dans un ballon ;
- Filtrer et saturer le filtrat avec 10ml d'une solution d'acétate de sodium (CH₃COONa) puis ajouter quelques gouttes de solution de FeCl₃ à (5%) ;
- Le développement d'une teinte bleu foncée indique la présence des tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny (MOUELLET, 2005).

➤ Les coumarines

- Faire bouillir à reflux l'extrait de 2 g de poudre dans 20 ml d'alcool éthylique 15 mn puis filtrer après refroidissement.

-Rajouter 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% à 5 ml du filtrat et quelques gouttes d'HCl à 10 %. Jusqu'à l'obtention d'un milieu faiblement acide.

-L'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines (PARIS, 1976).

3-2-4-3 Les dérivés quinoniques

➤ Les quinones libres

-Ajouter 2ml d'HCl (1N) à 2g de poudre végétal puis 20ml de chloroforme dans un bicher et -
-laisser réagir le mélange pendant 3 heures ;

-Filtrer le mélange puis ajouter 5ml (1/2) d'ammoniaque au filtrat, l'apparition de la couleur rouge indique la présence des quinones libres.

➤ Les quinones combinées

-Ajouter 5ml d'H₂SO₄ (2N) à 2g de poudre puis porter le mélange à reflux pendant 2h puis filtrer ;

-Ajouter au filtrat 20ml de chloroforme et laisser s'évaporer à sec, ensuite une reprise avec l'ammoniaque l'apparition d'une couleur rouge indique la présence des quinones combinées (MAMADOU, 2005).

➤ Les saponosides

Dans un tube à essai un ml d'infusé est agité vigoureusement pendant 2mn ;

L'observation de mousse indique la présence de saponosides.

➤ Les alcaloïdes

-Introduire 10g de poudre végétale à analyser dans un erlenmeyer de 250ml ;

-Ajouter 100ml d'acide sulfurique à 10%, puis boucher l'erlenmeyer ;

-Agiter et laisser macérer pendant 24 heures à la température du laboratoire ;

-Filtrer et ajouter l'eau distillé jusqu'à obtenir 50ml de filtrat ;

-Ajouter cinq gouttes de réactif de Dragen droff constitué de (Bi (NO₃)₃ + eau + KI) et qui donne une couleur rouge en cas de présence des alcaloïdes), (MAMADOU, 2005 ; AMADOU, 2005 et NIARE, 2006).

➤ Les sennosides

-Dans une fiole conique introduire 2,5 g de poudre ; puis ajouter 50 ml d'eau distillée et 2 ml d'acide chlorhydrique concentré, chauffer dans un bain-marie pendant 15 mn ;

-Laisser refroidir et agiter avec 40ml d'éther, séparer la couche étherée puis sécher la phase étherée sur sulfate de sodium anhydre et laisser évaporer ;

-Lorsque le résidu est refroidi, ajouter 5 ml d'ammoniaque diluée (1/2). Il se développe une coloration jaune ou orange en présence de sennosides ;

-Chauffer au bain-marie pendant 2 mn, il se développe une coloration violette rouge en présence de sennosides (MAMADOU, 2005).

➤ **Les glucosides**

Mettre deux gouttes de H₂SO₄ concentré sur une masse de la poudre végétale dans un verre à monte, l'apparition d'une couleur rouge brique, ensuite violette, indiquant la présence des glucosides (PARIS, 1976)

3-4-3 Analyses physicochimiques de la plante

3-4-3-1 Détermination de pH : (NF V 05-108, 1970)

Le potentiel d'hydrogène (pH) une des variables utilisée pour caractériser les propriétés des milieux.

➤ **Principe**

Le pH détermine la différence de potentiel existant entre deux électrodes en verre plongées dans une solution aqueuse.

➤ **Mode opératoire**

- Couper infiniment les feuilles fraîches de la plante, les écraser à l'aide d'un mortier ;
- Ajouter l'eau distillée de façon à avoir une solution qui nous permet de rentrer la sonde de pH mètre dedans.
- Laisser préposer dans un bécher couvert pendant 20 min puis filtrer ;
- Le pH a été déterminé par la lecture directe sur un pH mètre préalablement étalonné (pH mètre CG825), d'une suspension à 4% de la matière fraîche broyée.

3-4-3-2 Détermination de la teneur en eau (humidité)

➤ **Principe**

La teneur en eau a été déterminée pour 1g d'échantillon broyé, puis étalé dans une capsule en porcelaine, ensuite séché dans une étuve réglée à une température de 103± 2 °C, jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

➤ **Mode opératoire**

- Sécher des capsules vides à l'étuve durant 15 min à 103±2°C ;
- Refroidir les capsules dans un dessiccateur ;
- Peser les capsules ;
- Peser dans chaque capsule 1g d'échantillon préalablement broyé, puis les mettre dans une étuve réglée à 103°C pendant 3heures ;

-Retirer les capsules de l'étuve, les placer dans un dessiccateur, les peser après refroidissement, l'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (on réduit la durée de séchage à 30 min pour éviter la caramélisation).

➤ **Expression des résultats**

$$H\% = \frac{M_2 - M_1}{P} \times 100 \quad (1)$$

Soit :

H% : Humidité ;

M₁ : Masse de la capsule ;

M₂ : Masse de l'ensemble ;

P : Masse de la prise d'essai ;

➤ **Détermination de la matière sèche**

$$\text{Matière sèche \%} = 100 - H\% \quad (2)$$

3-4-3-3 Détermination de la teneur en cendres (NF V 05 -113, 1972)

➤ **Principe**

L'échantillon est calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtres de poids constant.

➤ **Mode opératoire**

-Dans une capsule en porcelaine, peser 2g d'échantillon ;

-Placer les capsules dans un four à moufle réglé à 550 ± 15°C pendant 5 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur claire ou blanchâtre ;

-Retirer les capsules de four et les mettre à refroidir dans un dessiccateur, puis les peser.

➤ **Expression des résultats**

$$MO\% = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100 \quad (3)$$

Soit :

MO : Matière organique (%) ;

M₁ : Masse des capsules + prise d'essai ;

M₂ : Masse des capsules + cendres ;

P : Masse de la prise d'essai ;

La teneur en cendre (Cd) est calculée comme suit :

$$Cd = 100 - MO\% \quad (4)$$

3-4-3-4 Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101, 1974)**➤ Principe**

Titration de l'acidité d'une solution aqueuse de l'échantillon avec une solution d'hydroxyde de sodium en présence de la phénolphthaléine comme indicateur de couleur.

➤ Mode opératoire

- Peser 25g de l'échantillon broyé (précision 0,01g) ;
- Mettre l'échantillon dans une fiole conique avec 50 ml d'eau distillée chaude, récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène ;
- Adapter un réfrigérant à reflux à la fiole conique puis chauffer le contenu au bain-marie pendant 30 min ;
- Refroidir, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 250ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec l'eau distillée, récemment bouillie et refroidie, bien mélanger puis filtrer ;
- Prélever à la pipette 25 ml du filtrat et les verser dans un bêcher ;
- Ajouter 0,25 à 0,5 ml de la phénolphthaléine et en agitant le tout ;
- Titrer avec de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

➤ Expression des résultats

L'acidité titrable est exprimée en gramme d'acide citrique pour 100g de produit :

$$A\% = \frac{250 \times V_1 \times 100}{M \times V \times 10} \times 0,07 \quad (5)$$

Soit :

M : Masse en gramme de produits prélevés ;

V : Volume en millilitre de la prise d'essai ;

V₁ : Volume en millilitre de solution d'hydroxyde de sodium à 0,1N utilisé ;

0,07 : Facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent d'acide citrique

3-4-3-5 Détermination de la teneur en polyphénols**➤ Principe**

Il s'agit d'une extraction solide-liquide. Le principe consiste en ce que le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide liquide, dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur. La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée des solvants se fait par un mécanisme osmotique et la sortie des solutés par dialyse ou par diffusion. Les solvants utilisés dans la présente étude sont l'eau distillée ou éthanol pur. Ce dernier possède l'avantage d'être plus facilement éliminé sous vide. Il donne en plus un meilleur rendement

d'extraction (RIBEREAU-GAYON, 1968 ; VERCAUTERN ET al, 1996 ; OWEN et al, 2004). Le rendement d'extraction en polyphénols augmente aussi avec le temps de contact (LAPORKINE et al, 2004).

❖ **Procédé d'extraction des composés phénoliques**

➤ **Préparation des échantillons**

- Macérer 2g de poudre dans 40ml d'éthanol ;
- Macérer 2g de poudre dans 40ml d'eau distillée ;
- Macérer 2g de la matière fraîche dans 40ml d'éthanol ;
- Macérer 2g de la matière fraîche dans 40ml d'eau distillée ;
- Mettre les échantillons dans un réfrigérateur pendant 5 jours avec agitation manuelle chaque jour ;
- Filtrer le mélange.

➤ **Mode opératoire**

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode de JUNTACHOTE et al (2006).

A) L'essai à blanc

L'essai à blanc est préparé par 5ml (eau distillée ou éthanol) additionné de 0,5ml de Folin-Ciocalteu's et 0,5ml de carbonate de sodium à 20%.

La lecture des absorbances est faite à 760nm, après agitation et repos pendant une heure, la concentration en composés phénoliques totaux est déterminé en se référant à la courbe étalant, obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage (voir Annexe 2)

B) Préparation de la gamme d'étalonnage

- Peser 200mg d'acide gallique ;
- Les dissoudre dans 100ml d'éthanol, soit une solution (S1) avec une concentration de 2g/ml ;
- Diluer la solution mère comme suit :
- Prélever 5ml de la solution mère puis ajouter 5ml d'eau distillée pour obtenir la S/2 ;
- Prélever 5ml de la solution S/2 puis rajouter 5ml d'eau distillée pour obtenir la S/4 ;
- Refaire la même procédure pour les autres dilutions (Tableau III).

Tableau III : Préparation des dilutions de l'acide gallique pour la réalisation de la courbe standard des polyphénols totaux.

Dilutions	S	S/2	S/4	S/8	S/16	S/32	S/64	S/128	S/256	S/512
Concentration (mg/ml)	200	100	50	25	12,5	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39

C) Détermination de la teneur proprement dite

- Prélever 0,5 ml de chaque échantillon puis les introduire dans les tubes à essais ;
- Ajouter 5ml d'eau distillée dans chaque tube ;
- Ajouter 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu's ;
- Après 3min, ajouter 0,5ml de carbonate de sodium à 20% dans chaque tube ;
- Laisser à température ambiante à l'abri de la lumière pendant une heure.
- lire la DO à 760nm sur un spectrophotomètre ;

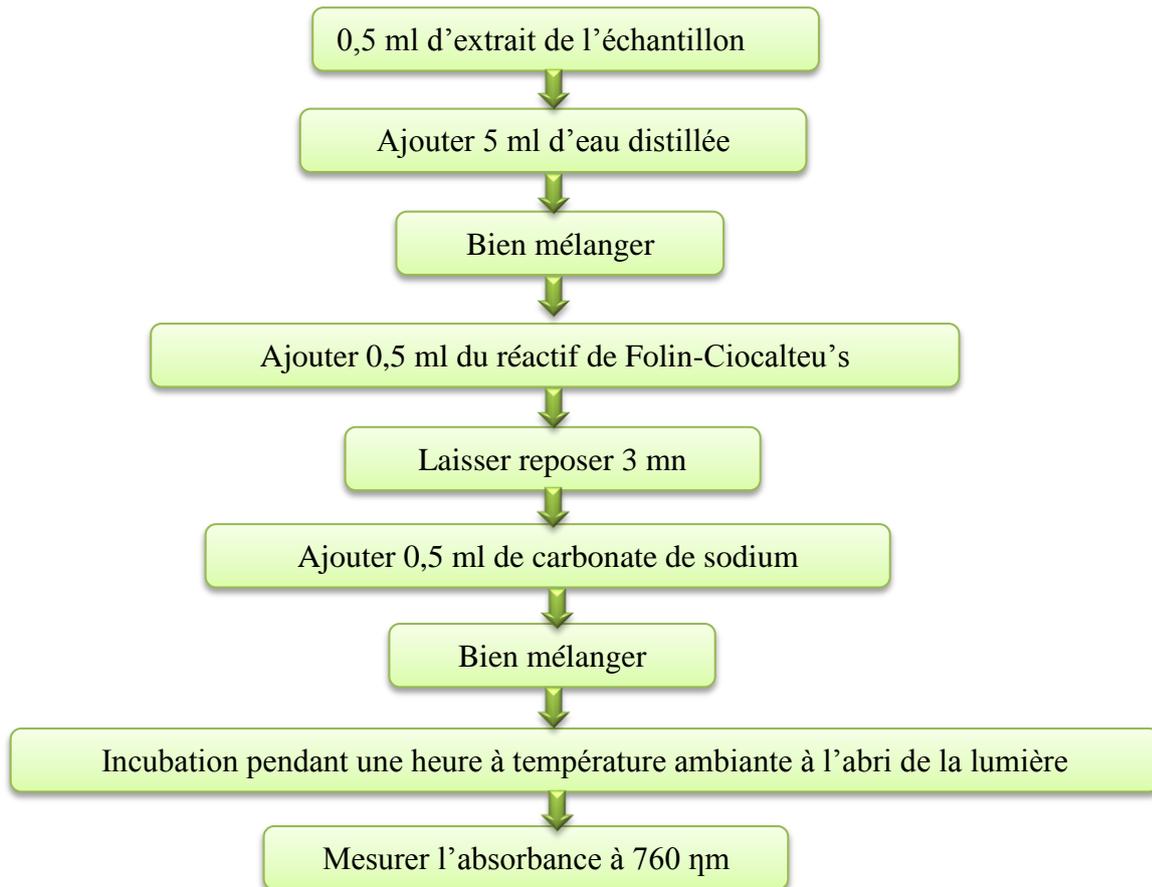


Fig 8 : Organigramme de dosage des polyphénols totaux (JUNTACHOTE et *al.*, 2006) .

3-4-3-6 Dosage des Chlorophylles

- Dans un bécher jouter 20ml de la solution (85% d'acétone, 15% d'eau distillée et un gramme de CaCO₃) à 3g de poudre ;
- Laisser macérés deux minutes puis filtrer ;
- Ajuster le volume à 100ml avec l'acétone à (85%) ;
- On répartie le volume pour deux essais en raison de 50ml pour chaque essai ;

-On ajoute 50ml d'éther de pétrole à 50ml de l'extrait puis lavage 3 fois à l'eau distillée pour éliminer les traces d'acétone ;

-Déshydrater avec Na₂SO₄ anhydre ;

-La solution est filtrée et amenée à 50ml avec l'éther de pétrole.

-Lire la DO à 660nm et à 642,5 nm.

Chlorophylle totale = 17,12 A660 – 6,8 A642, 5

Chlorophylle (a) = 9,93 A660 – 0,777 A642, 5.

Chlorophylle (b) = 7,6 A660 – 12,81 A642, 5 (RAMISH, 2000)

3-4-3-7Composition chimique en acide gras de *Pulicaria odora*

Le profil d'acide gras de la poudre de la plante a été déterminé par la chromatographie phase gazeuse (CPG) au niveau de l'ENA El Harrach (Alger).

➤ Mode opératoire

-Ajouter 100ml de l'eau bouillante à 5g de poudre de plante puis 20ml de méthanol ;

-Ajouter 10ml de chloroforme ensuite 10 ml d'eau distillée et refaire cette opération ;

-Centrifuger pendant 30 minutes à 80 rotations par seconde ;

-Récupérer la phase supérieure de mélange (phase de matière grasse) à l'aide d'une micropipette dans un tube à essai ;

-Mettre la phase récupérée dans une étuve réglée à 45°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant ;

-Réaliser la CPG pour la matière récupérée(AOAC) 1990.

3-4-4Analyse microbiologique

3-4-4-1Préparation des extraits de la plante

➤ L'extrait aqueux

2g de poudre de la plante étudiée sont macérés dans 40ml d'eau distillée et conservés dans le réfrigérateur pendant 5 jours avec une agitation manuelle chaque jour, puis filtrer avec papier filtre pour obtenir l'extrait aqueux.

➤ L'extrait éthanolique

2g de poudre de plante sont macérés dans 40ml d'éthanol 90% puis conserver dans le réfrigérateur pendant 5 jours avec une agitation manuelle chaque jour, enfin filtrer avec le papier filtre pour obtenir l'extrait éthanolique.

3-4-4-2Préparation des souches microbiennes

E. coli et *S. aureus* sont repiquées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24 heures pour l'obtention des souches jeunes.

A. niger est repiquée dans le milieu de culture SABOURAUD et incubé pendant à 25°C pendant 5 jours.

3-4-4-3 Préparation des suspensions microbiennes

-Prélever avec l'anse quelques colonies de chaque souche microbienne repiquées, les introduire dans 5ml d'eau physiologique, puis standardiser les suspensions microbiennes à 10^6 - 10^7 à UFC/ ml.

➤ Mode opératoire pour chaque suspension microbienne

-Liquéfier les géloses dans un bain marie à 90°C ;

-Verser la gélose dans 4 boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm puis laisser refroidir, 2 boîtes pour chaque extrait ;

-Ensemencer les boîtes de Pétri avec les suspensions microbiennes préparées, par écouvillonnage à l'aide d'un coton-tige stérile en tournant la boîte d'environ 60°.

-Déposer à l'aide d'une pince stérile des disques à la surface de la gélose ensemencée et répartir comme suit :

-Mettre dans chaque boîte de Pétri 4 disques, 2 imbibés par 20µl de l'extrait aqueux, un autre imbibé par 20µl de la solution de Référence (eau distillée ou éthanol), le dernier est l'antibiotique (Ampicilline pour *S. aureus*) ;

-Laisser s'évaporer (l'eau distillée et l'éthanol) pendant 15 mn près de bec bunsen ;

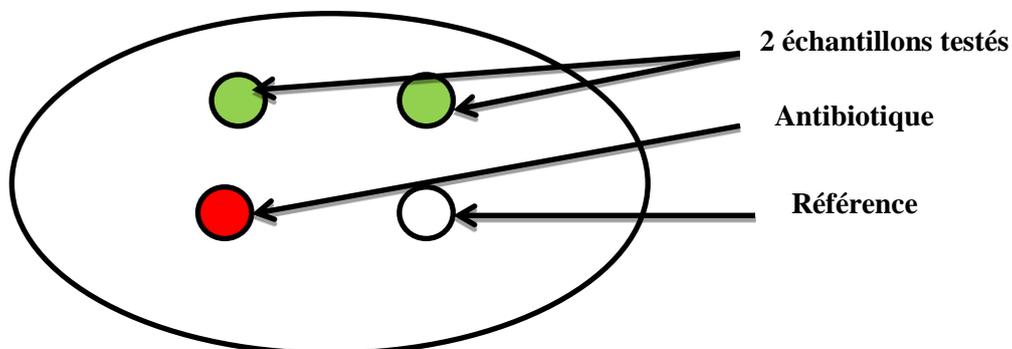


Fig 9 : Schéma montrant la position des disques dans la boîte de Pétri

L'incubation dure de 18 à 24h pour les deux souches bactériennes et 5 jours pour le champignon, durant cette période, les substances diffusent dans la gélose à partir des disques selon un gradient de concentration jusqu'à une limite où sa concentration est la plus faible, déterminant ainsi des zones d'inhibition.

Après incubation, le diamètre d'inhibition autour des disques est mesuré et les valeurs sont exprimées en mm.

L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, de très sensible, d'extrêmement sensible ou de résistante.

➤ **Lecture**

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition

Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.

Sensible (+) : diamètre compris entre 9 et 14 mm.

Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm.

Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

3-4-5 Essai sur la rhéologie des comprimés

3-4-5-1 Obtention des comprimés

Après un test préliminaire de 3 types des poudres (poudre non tamisée, la poudre retenue par le tamis et la poudre non retenue par le tamis) on a choisi la poudre non tamisée pour ces propriétés de résistance lors des tests de gonflement.

Réaliser plusieurs pesées de 6g de cette poudre puis les compressées à l'aide d'un compresseur manuelle et appliquer une force de 70N.



Fig 10 : Aspect d'un comprimé

3-4-5-2 Le gonflement

Sachant que les comprimés une fois consommés traverse le tube digestif pour arriver à l'estomac, ils vont subir un processus spontané d'absorption par les macromolécules telles que (les fibres, lipides...) s'accompagnant d'une importante augmentation du volume.

Dans le but de montrer le comportement rhéologique des constituants de poudre de la plante au niveau de l'estomac trois milieux similaires au liquide gastrique : l'eau distillée, solution HCL (0,1N) et la solution phosphatée saline pH 6,8 ont été proposés.

Après 5, 10 et 15 minutes d'incubation, chaque comprimé a été retiré du milieu et légèrement épongé avec le papier absorbant pour enlever l'excès du liquide puis repesé (W_1). On répète l'essai à 3 fois pour chaque temps et on calcule la moyenne des trois résultats. La prise d'eau par les comprimés a été déterminée par la méthode de gain de poids à l'équilibre en utilisant l'expression suivant :

$$\text{Changement de poids (\%)} = (W_1 - W_0) / W_0 \times 100 \quad (6)$$

W_0 : poids initial du comprimé (g).

W_1 : poids finale de comprimé (g).

3-4-5-3L'érosion

L'essai d'érosion suit immédiatement le test de gonflement. Ce test consiste à déterminer le poids sec d'un comprimé humide, en séchant à 80°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. L'érosion des comprimés a été déterminée par l'expression suivante :

$$\text{ER(\%)} = (W_0 - W_2) / W_0 \times 100 \quad (7)$$

W_0 : Poids du comprimé humide (g)

W_2 : Poids du comprimés après dessiccation (g).

4-1 Etude ethnobotanique

L'utilisation de la plante chez les femmes et les hommes est représentée dans la figure ci-dessous

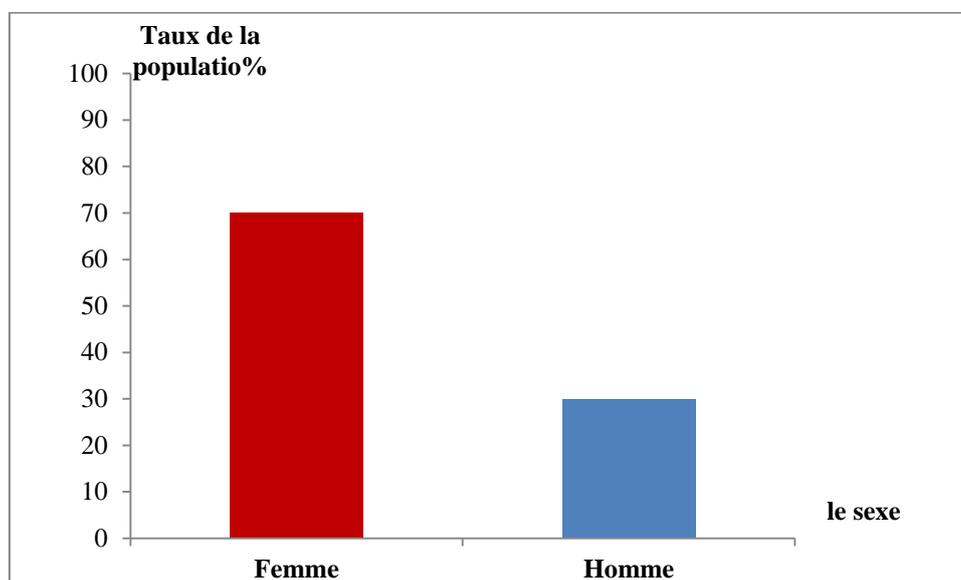


Fig 11 : Utilisation de *Pulicaria odora* chez les femmes et les hommes

On remarque que les femmes utilisent beaucoup plus cette plante avec un pourcentage de 70% que les hommes (30%). En effet, elle est reconnue en majorité par les personnes âgées.

L'utilisation de cette plante dans des différents domaines est présentée dans la figure 12.

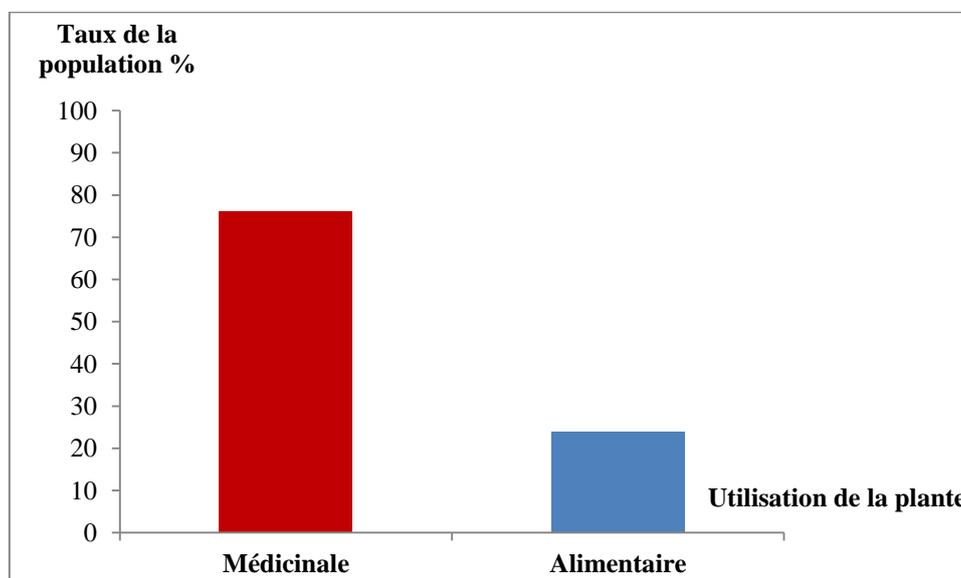


Fig 12 : Utilisations de *Pulicaria odora*

D'après le graphe on remarque que, *Pulicaria odora* est plus utilisée en médecine traditionnelle (76%) qu'en alimentation (24%).

Les différentes parties de la plante utilisées sont représentées dans la figure 13.

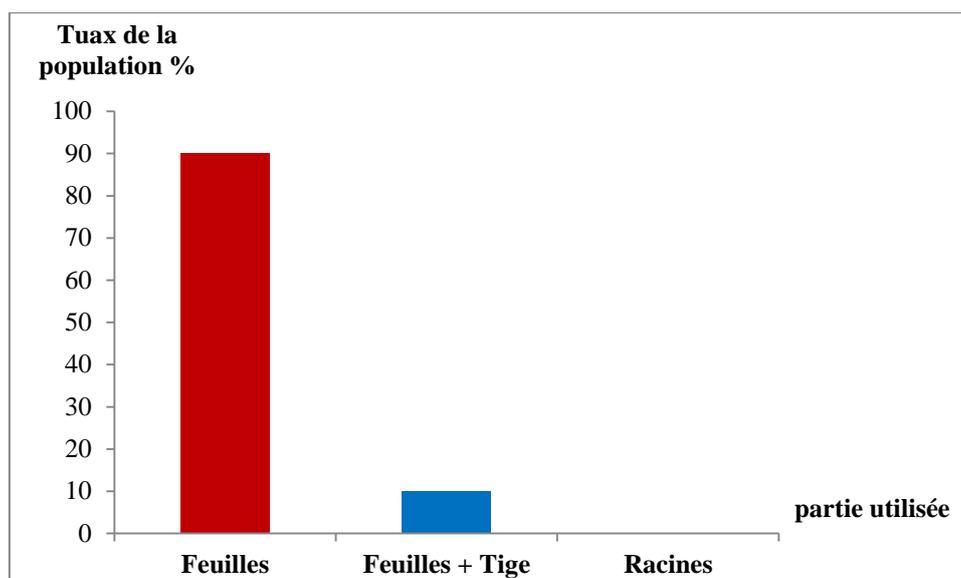


Fig 13 : Parties utilisées de *Pulicaria odora*

On remarque que, la partie utilisée en majorité représente les feuilles avec un pourcentage de 90% selon la population enquêtée. Le reste de la population utilise le mélange (feuilles et tiges). Par contre, les racines ne sont pas utilisées en aucun cas selon la totalité de la population enquêtée.

Les modes d'utilisation de la plante sont représentés dans la figure 14.

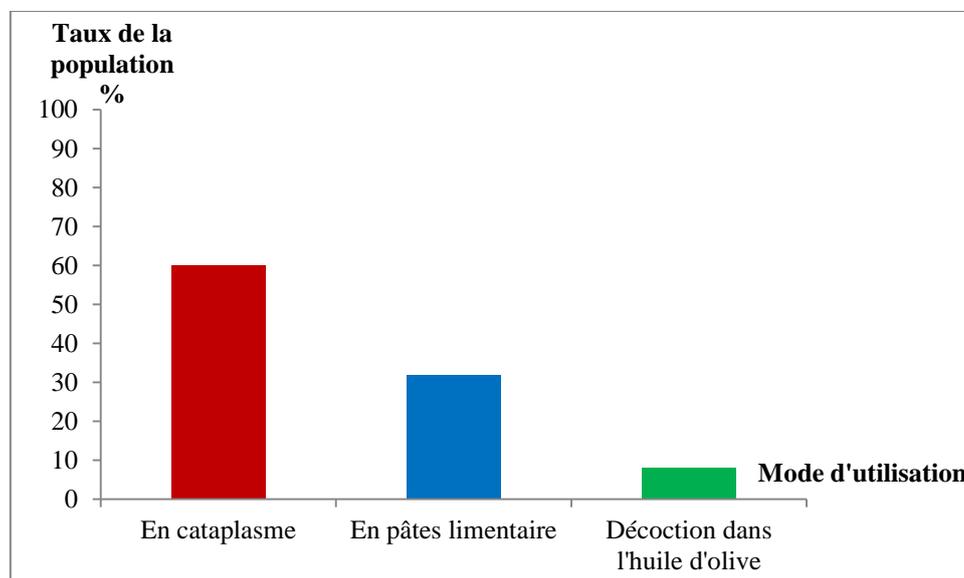


Fig 14 : Mode d'utilisation de *Pulicaria odora*

L'enquête indique que les feuilles de *Pulicaria odora* sont employées sous plusieurs formes : préparation pâteuse (cataplasme pour les blessures et abcès) selon 60% de la population enquêtée , décoction dans l'huile d'olive pour soulager les maux de tête (déposées sur la tête) avec un pourcentage de 8%, ingestion par la voie orale, soit elle est introduite dans

des pâtes alimentaires à des fins de soins du tube digestif et l’ulcère d’estomac à raison de 12%.

Les différentes voies d’application de la plante sont présentées dans la figure 15.

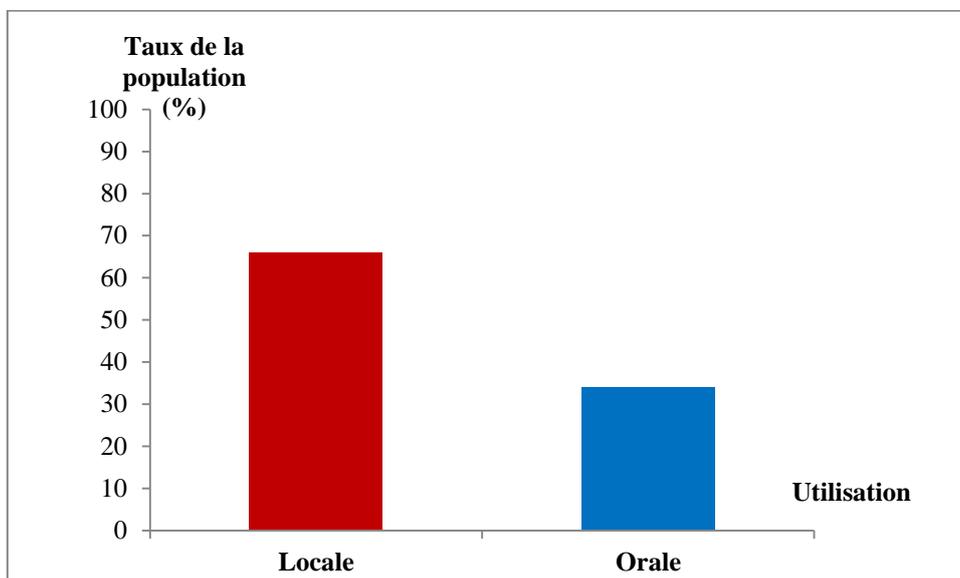


Fig 15 : Voie d’application de *Pulicaria odora*

On remarque que, la plante est beaucoup plus utilisée et appliquée par la voie locale selon la population (66%) alors que 34% de la population adopte l’administration par voie orale.

Les maladies traitées par la plante sont présentées dans la figure 16.

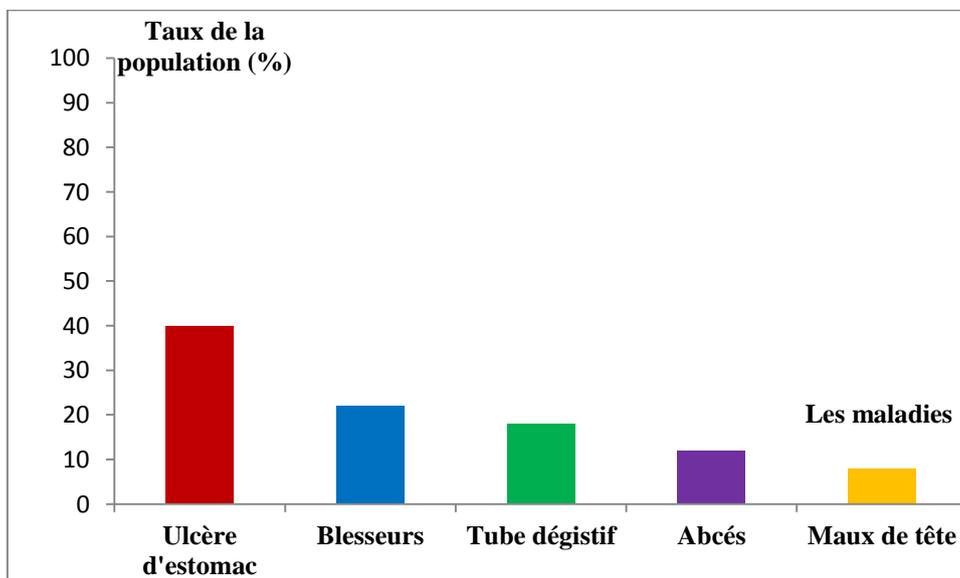


Fig 16 : Les maladies traitées par *Pulicaria odora*

Cette enquête a permis d’identifier cinq pathologies (ulcère d’estomac et maladies du tube digestif, les blessures, abcès, les maux de tête) traitées par des préparations de feuilles de cette plante.

On remarque que la plante est beaucoup plus utilisée pour soigner l'ulcère d'estomac en raison de (40%) de la population enquêtée, ensuite (22%) de la population opte pour traiter les blessures, (18%) pour le tube digestif, (12%) pour les soins d'abcès, et un très faible pourcentage (8%) pour soulager les maux de tête.

4-2 Screening phytochimique

Les résultats du screening phytochimique sont présentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Les résultats du screening phytochimique

Les composés recherchés	Résultat	L'aspect
Anthocyanes	-	
Leuco anthocyanes	-	
Tanins	+++	
Tanins galliques	++	
Flavonoïdes	+++	

Quinones libres	+	
Quinones combinées	+	
Saponosides	++	
Alcaloïdes	+	
Sennosides	++	
Glucosides	+++	
Coumarines	+++	

N.B. : +++ : très abondant ; + : présent ; - : absent

Ces résultats montrent que *Pulicaria odora* est très riche en tanins, flavonoïdes, glucosides, et coumarines, riche en tannin gallique, saponosides et sennosides qui peuvent être à l'origine du potentiel bioactif élevé de cette plante, présence en faible quantité de quinones libres, quinones combinés et alcaloïdes qui peuvent exercer l'effet biologique en synergie avec les composées précédant et l'absence totale des anthocyanes et leucoanthocyanes.

4-3 Analyse physicochimique

Les analyses physicochimiques sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau V : Les résultats des analyses physicochimiques

Paramètres physicochimiques		Les moyenns
pH		5,75±0,03
Humidité (%)		42,21±0,25%
Taux de cendre (%)		3,34±0,02%
Acidité titrable (%)		0,42±16%
Taux de polyphénols	Macération des feuilles fraiche dans l'eau	60,2±0,01 Eq AG/g Ms
	Macération des feuilles fraiche dans l'éthanol	23,4 ±0,02Eq AG/g Ms
	Macération de poudre dans l'eau	115,4 Eq AG/g Ms
	Macération de Poudre dans l'éthanol	113,6 ±0,01Eq AG/g Ms
Les chlorophylles	Chlorophylle totale	8,24±0,05g /100g MS
	Chlorophylle (a)	5,16±0,11g/100g MS
	Chlorophylle (b)	2,47±0,08g/100g MS

Le résultat obtenu montre que le pH de la plante est de 5,75. Ce pH est défavorable à la prolifération des bactéries, des levures et des moisissures.

Le résultat de l'Humidité est de 42,21% qui révèlent que *Pulicaria odora* contient une faible teneur en eau comparativement à d'autres plantes de la même famille, par exemple le pissenlit renferme 85,3% d'eau et 96% pour la laitue.

La teneur en cendres est très importante dans la plante avec une teneur de 3,34±0,02% ce qui explique la richesse de cette plante en sels minéraux.

L'acidité titrable renseigne sur le degré d'acidité ainsi que le pH. Dans la présente étude la teneur en acidité titrable est de 0,42% montre que notre plante est légèrement acide.

La figure 17 montre la teneur en chlorophylle totale, chlorophylle (a) et (b).

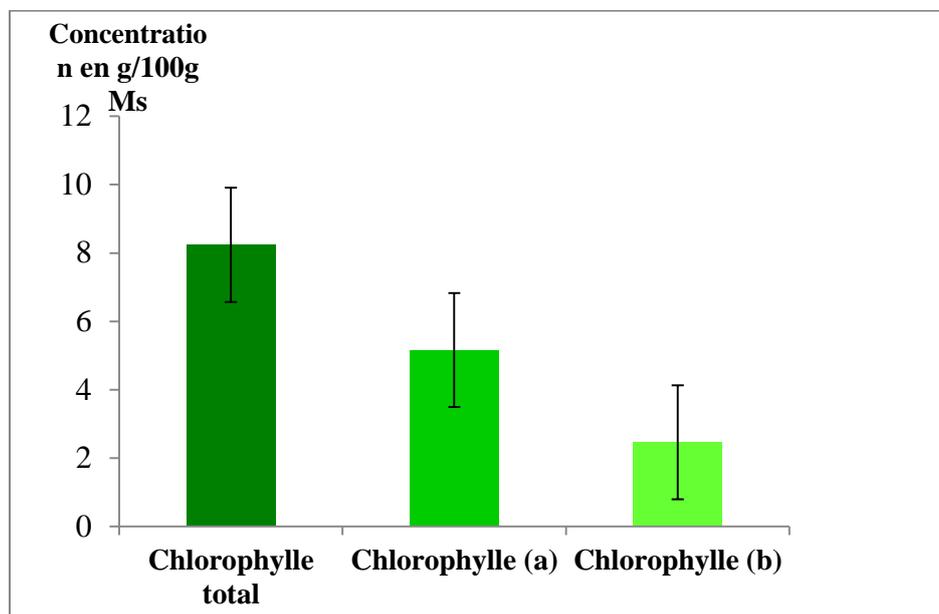


Fig 17 : Teneur en chlorophylles totale, (a) et (b)

La teneur en chlorophylle totale est de 8,24 g /100g MS, la chlorophylle (a) est de 5,16g/100g MS et la chlorophylle (b) est de 2,47g/100g MS.

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (Annexe II) est exprimé en Eq AG/g Ms

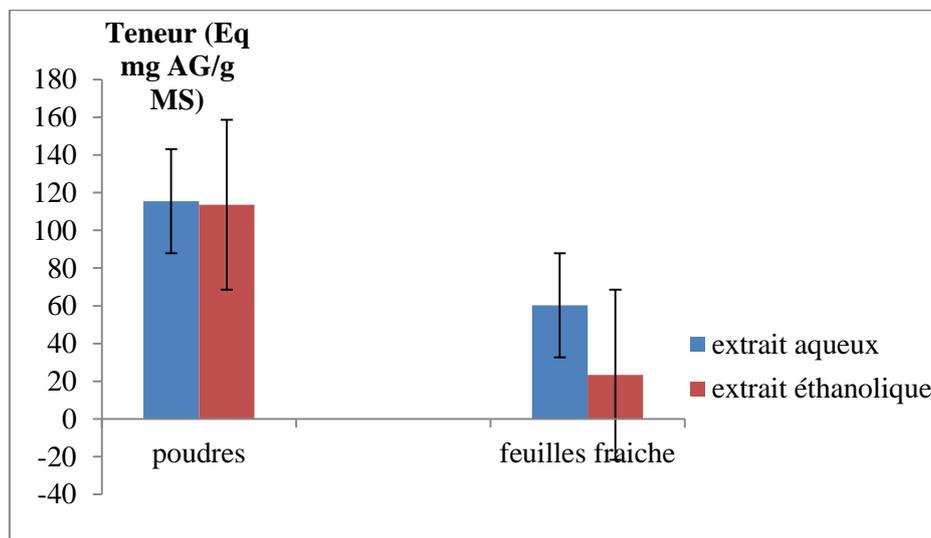


Fig 18 : Teneurs en polyphénols dans la poudre et les feuilles fraîches de *Pulicaria odora*

Les résultats de dosage des polyphénols montre que, la forte teneur en polyphénols a été marquée dans l'extrait aqueux préparé à partir de la poudre et avec 115,4 Eq AG/g Ms,

suivie de l'extrait éthanolique avec 113,6 Eq AG/g Ms. En revanche la faible teneur en polyphénols a été observée dans l'extrait éthanolique des feuilles fraîches avec 23,4 Eq AG/g Ms, suivie de l'extrait aqueux préparé à partir des feuilles fraîches avec 60,2 Eq AG/g Ms.

Selon TOUATI et *al.*, (2012), la teneur en polyphénols de l'extrait aqueux de poudre de la plante *Pulicaria odora* est $142,81 \pm 8,39$ Eq mg AG/g MS dans la Wilaya de TIZI OUZOU et $108,5 \pm 5,72$ Eq mg AG/g MS dans la Wilaya de BIJAIA. Ces résultats sont proches des résultats qu'on a obtenu 115,4 Eq AG/g Ms.

➤ Les éléments minéraux

Les éléments minéraux sont déterminés par le spectrophotomètre d'absorption atomique de type (VARIAN AA 240) lié à l'atomiseur de flamme (GTA 120). En effet, la concentration en ppm des éléments minéraux a été déterminée à l'aide des courbes étalons préalablement préparées (NF V05-113-1972).

La composition minérale présente dans notre plante est résumée dans le tableau VI

Tableau VI : La comparaison de la composition minérale de *Pulicaria odora* et le Pissenlit

Minéraux		K	Fe	Na	Cr	Mg	Mn	Cu	Zn
Valeurs	<i>Pulicaria odora</i>	501,89	43,67	2498,33	2,79	2229,60	55,19	20,66	980,74
mg/100 gMS	Pissenlit (GONZALEZ et <i>al.</i> , 2000)	397	3,1	44,3	-	13,2	0,163	0,067	0,212

On remarque que *Pulicaria odora* est très riche en éléments minéraux particulièrement Sodium 2498,33 mg/100g et en Magnésium 2229,60 mg/100g. Ce dernier entre dans la synthèse des protéines, l'amélioration de l'équilibre nerveux, psychique et émotionnel. Essentiel à la contraction musculaire, il participe à la régulation de rythme cardiaque et prend part à plus de 300 réactions métaboliques.

On remarque aussi que notre plante est plus riche en éléments minéraux que le Pissenlit.

Le profil d'acides gras

Les acides gras de *Pulicaria odora* sont analysés par la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Le profil des acides gras est illustré dans (Annexe II), les pourcentages des composants identifiés sont récapitulés dans le tableau VII.

Tableau VII : Composition des acides gras de *Pulicaria odora*

Nombre de carbone	Acide gras	Nomenclature physiologique	Teneur %
16	Palmitique	C16 :0	9,61
16	Palmitoléique (Oméga 6)	C16 :1	2,30
18	Stéarique	C18 :0	2,37
18	Oléique (Oméga 9)	C18 :1	61,48
18	Linoléique (Oméga 6)	C18 :2	15,79
20	Acide Arachidonique	C20 :0	3,43
20	Acide gondoïque	C20 :1w9	2,35

Huit acides gras sont identifiés chez *Pulicaria odora*, on remarque que l'acide oléique est majoritaire avec (61,48%), suivi de l'acide linoléique avec (15,79%), ce dernier est un acide gras essentiel car l'organisme ne peut pas le synthétiser, alors il doit être apporté par l'alimentation, de plus la composition de cette huile en acide gras : oléique, linoléique, palmitique, stéarique, arachidonique lui permis d'être proche en composition à celle de l'huile d'olive.

Le tableau ci-dessous présente une comparaison entre les acides gras de *Pulicaria odora* et l'huile d'olive.

Tableau XIII : Comparaison des acides gras entre huile d'olive et Huile de *Pulicaria odora*

Les acides gras	Huile d'olive % (OUAOUICHE, 2007)	<i>Pulicaria odora</i> %
oléique	56 à 83	61,48
linoléique	3,5 à 20	15,79
Palmitique	7,5 à 20	9,61
Stéarique	0,5 à 5	2,37
Arachidonique	>0,6	3,43

Ces résultats montrent que l’huile de *Pulicaria* est riche en acides gras essentiels (acide linoléique) ce qui lui rend de haute valeur biologique.

4-4 Analyse microbiologique

L’étude microbiologique a permis d’affirmer que les molécules bioactives de *Pulicaria odora* présente une action antimicrobienne sur les germes testés notable à la fois sur les Gram négatif (*Escherichia coli*), Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et le champignon (*Aspergillus niger*). Les diamètres d’inhibition des souches testées (mesurés en mm) obtenus par la moyenne de 4 répétitions sont représentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Mesure du diamètre moyen d’inhibition (mm)

Les extraits de la plante	Diamètre d’inhibition pour les souches microbiennes		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>A. niger</i>
Extrait aqueux	8,75	9,50	6
Extrait éthanolique	12,25	12,75	16,75

(Extrait aqueux 2mg/40ml, extrait éthanolique 2mg/40ml Ø du disque=6 mm V=20µl)

La figure suivante présente les résultats des diamètres des zones d’inhibition de deux extraits.

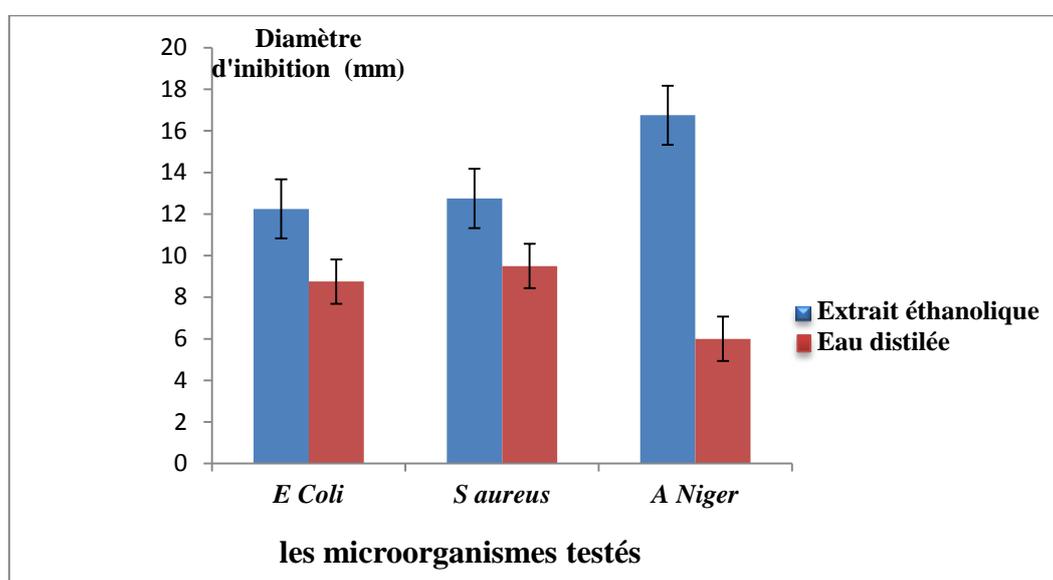


Fig 19 : Les zones d’inhibition des microorganismes testés

Nous constatons à travers les résultats obtenus quelque soit la souche testée, l’extrait éthanolique de la plante a montré une activité plus élevée que l’extrait aqueux.

En effet, *E. coli* et *S. aureus* révèlent une faible sensibilité contre l’extrait aqueux de avec une zone d’inhibitions 8,75 et 9,50 mm de diamètre, cependant *A. niger* s’avère résiste contre le même extrait. En revanche *E. coli* et *S. aureus* sont sensibles à l’extrait éthanolique

avec une zone d'inhibitions 12,25 et 12,75 mm de diamètre, alors que l'*A. niger* est très sensible contre le même extrait avec une zone d'inhibitions 16,75 mm de diamètre.

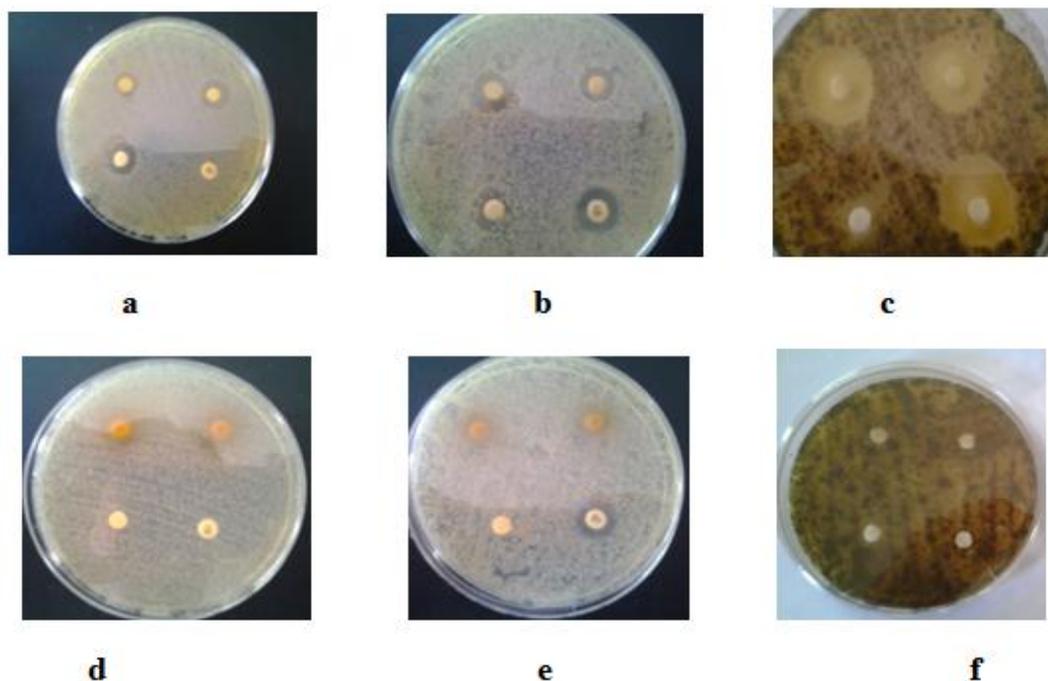


Fig 20 : Photos correspondant à l'activité anti bactérienne des différents extraits

- (a) *E. coli* développée contre l'extrait éthanolique ;
- (b) *S. aureus* développée contre l'extrait éthanolique ;
- (c) *A. niger* développée contre l'extrait éthanolique ;
- (d) *E. coli* développée contre l'extrait aqueux ;
- (e) *S. aureus* développée contre l'extrait aqueux ;
- (f) *A. niger* développée contre l'extrait aqueux.

Ces résultats pourraient être expliqués par l'activité antimicrobienne de deux extraits testés, Selon, SANTOYO et *al.*, (2009), une meilleure activité antimicrobienne est liée à la polarité du solvant utilisé.

Selon FADWA et *al.*, (2005) l'activité antibactérienne des extraits de *Pulicaria odora* est liée aux composés phénoliques présents en majorité dans son huile essentielle (Thymol 47,83%), Thymolisobutyrate (30,05%).

4-5 Rhéologie des comprimés

4-6-1 Microstructure des poudres

La figure ci-dessous montre la microstructure de la poudre non tamisée par le MEB

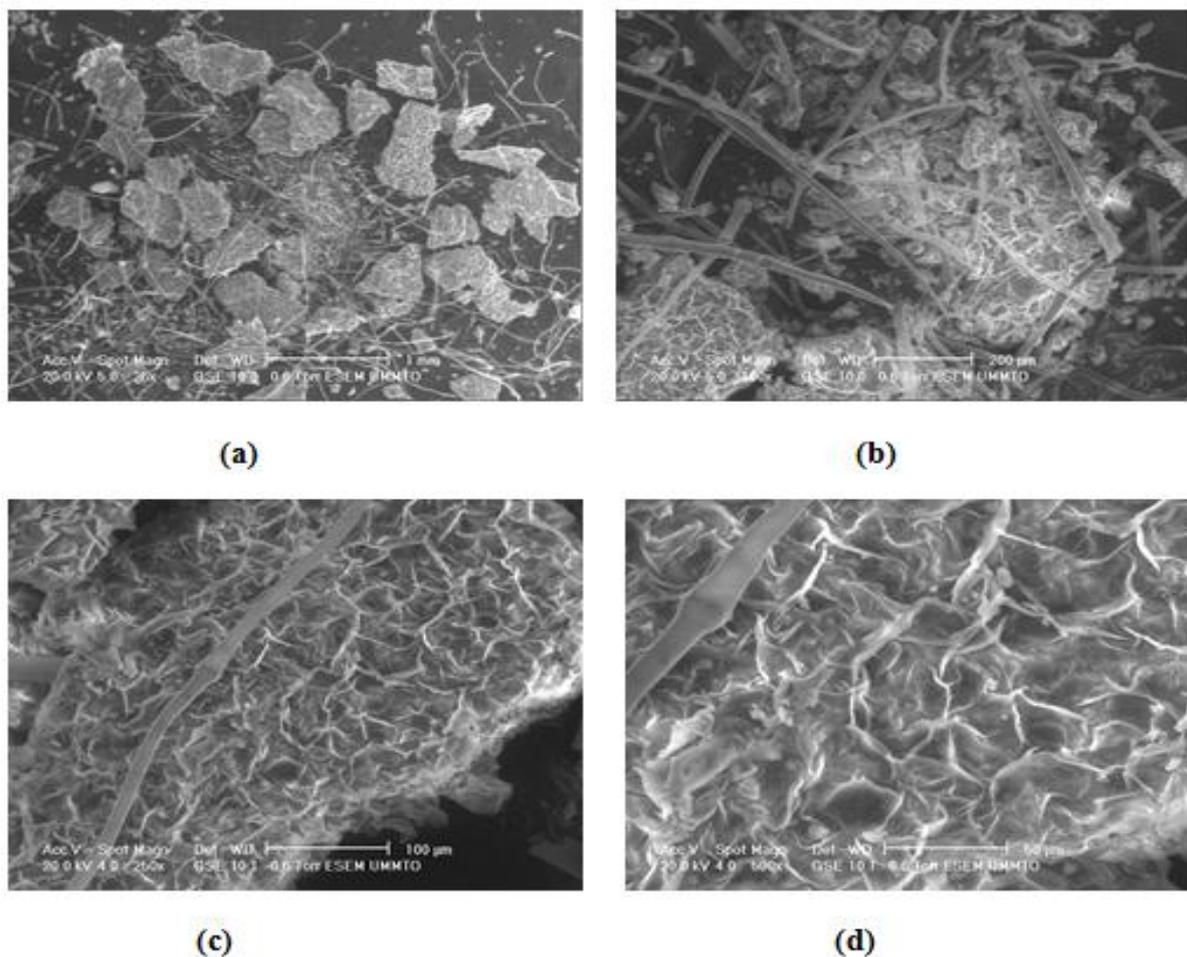


Fig 22 : La Micro structure de la poudre de *Pulicaria odora* non tamisée

(a) La poudre de *Pulicaria odora* sous le MEB (1cm → 1000μm)

(b) La poudre de *Pulicaria odora* sous le MEB (1cm → 200 μm)

(c) La poudre de *Pulicaria odora* sous le MEB (1cm → 100μm)

(d) La poudre de *Pulicaria odora* sous le MEB (1cm → 50μm)

D'après les résultats obtenus par le MEB, on observe que la poudre de la plante étudiée présente une micro structure spongieuse renfermant des pores et des filaments ligneux accrocher l'un à l'autre qui explique la légèreté de la poudre et la forte absorbance de l'eau.

Les figures 22, 23 et 24 illustrent le pourcentage de volume en fonction de tailles des différentes des particules par diffraction au laser.

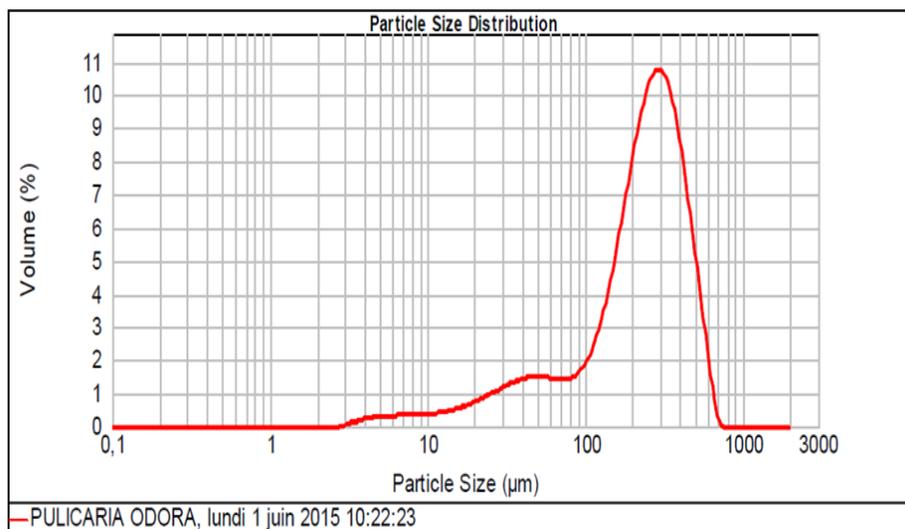


Fig 22 : Poudre de *Pulicaria odora* non tamisée

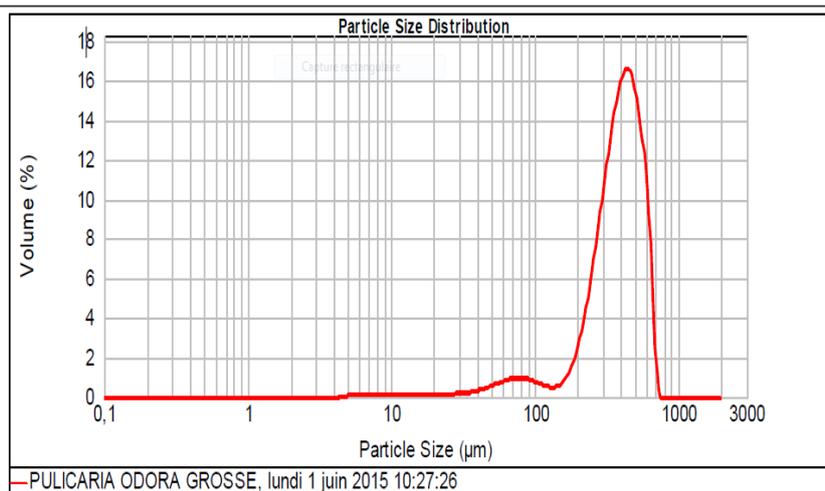


Fig 23 : Poudre de *Pulicaria odora* non retenue par le tamis

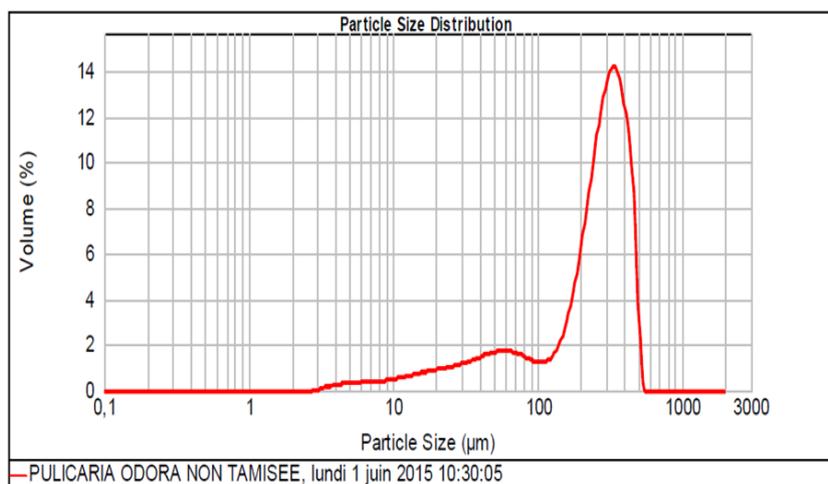


Fig 24 : Poudre de *Pulicaria odora* retenue par le tamis

La taille de différentes particules des poudres est très variable, ainsi dans la poudre non tamisée le diamètre de la majorité des particules est de 275 μm correspond 9,74%, dans la poudre retenue par le tamis de diamètre de la majorité des particules est de 416 μm correspond 15,1% et dans la poudre non retenue par le tamis de diamètre de la majorité des particules est de 316 μm correspond 12,88%.

4-6-2 Certains caractères physicochimiques des comprimés

Selon la caractérisation mécanique préliminaire, la valeur 70 N avérée la force optimale pour obtenir des comprimés avec friabilité acceptable. En fait, il est bien connu que la force de compression, est le facteur principal qui détermine le taux d'érosion.

Les résultats de quelques propriétés physicochimiques des comprimés sont présentés comme suit :

4-6-2-1 Le gonflement

Les résultats de poids des comprimés après récupération sont récapitulés dans le tableau X

Tableau X : La variation de poids des comprimés en fonction de temps

Le temps		t= 0 min	t= 5 min	t= 10 min	t= 15 min
Les poids des comprimés dans les solutions	Eau distillée	6 g	6,6 g	0 g	0 g
	Solution HCL	6g	7,4 g	0 g	0 g

La figure 25 présent la masse des comprimés en fonction de temps

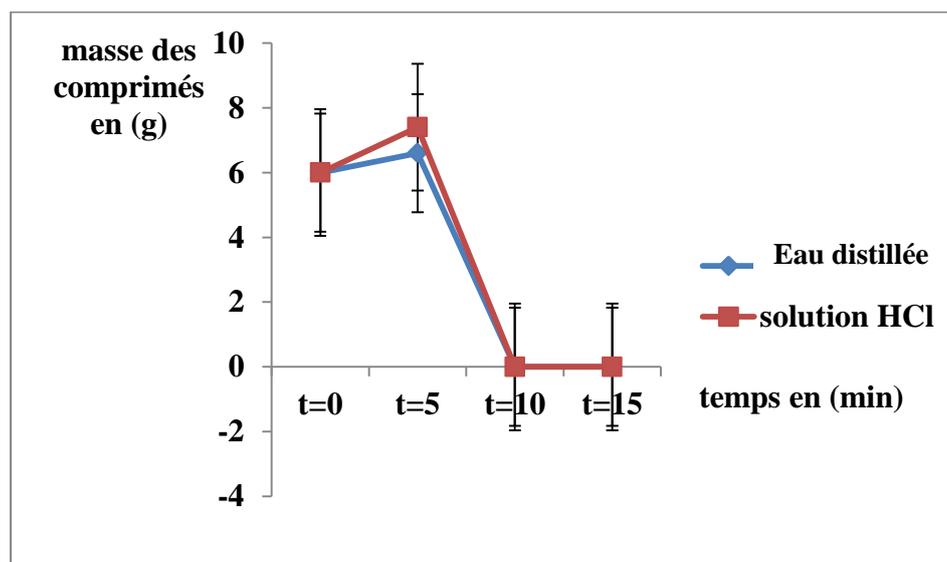


Fig 25 : Masse des comprimés en fonction de temps

D'après la figure en remarque que la masse des comprimés augmente jusqu'à $t=5\text{min}$ où la masse des comprimés atteint les 6,6g dans l'eau distillée et 7,4g dans la solution HCl et la dissolution totale de comprimés après 10 min.

Le pourcentage de changement de poids est de 10% pour les comprimés introduits dans l'eau distillée, et de 23% pour les comprimés introduits dans la solution HCL

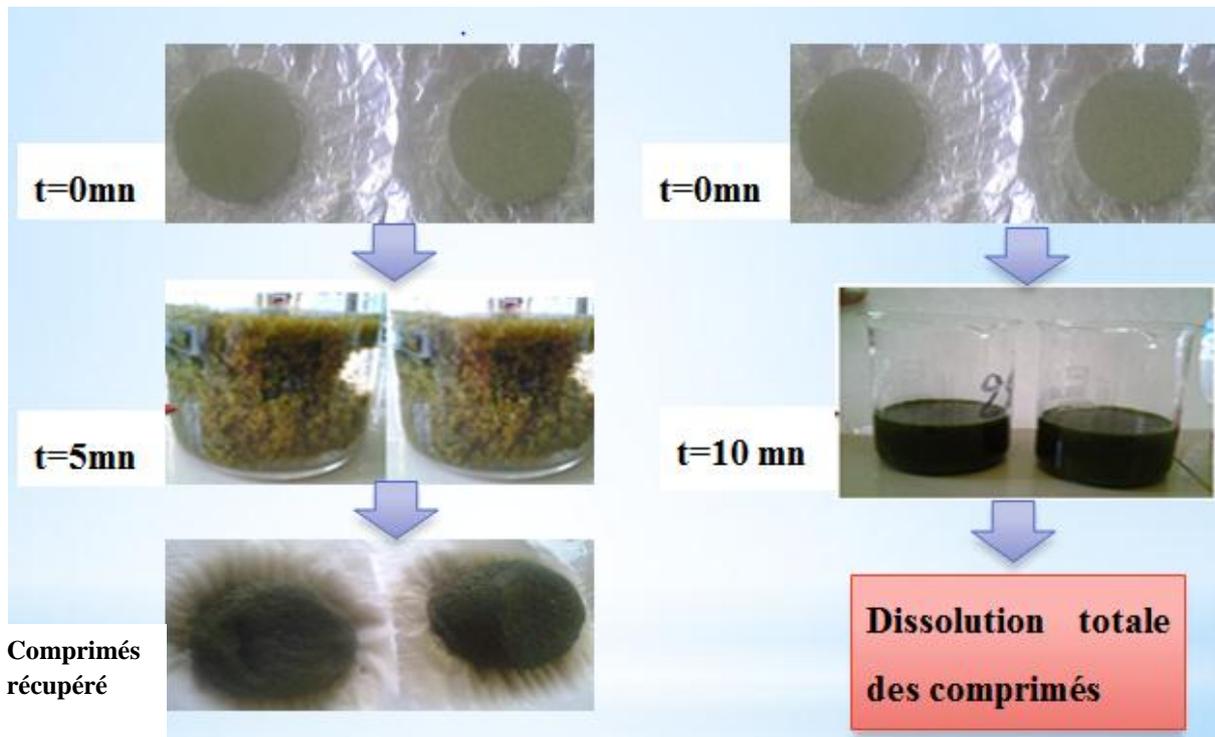


Fig 26 : Aspect des comprimés observé lors de gonflement pour la solution HCl (0,1N)

4-6-2-2L'érosion

Le pourcentage d'érosion est de 63 % pour l'eau distillée et 81 % pour la solution HCl qui présente La forte absorption des comprimés dans ces deux solutions.

D'après les tests rhéologiques réalisés, on constate que la poudre de *Pulicaria odora* caractérisée par diffraction importante dans le laser qui empêche le colmatage des compresseuses lors le processus de fabrication. Les comprimés de cette poudre caractérisés par une bonne dissolution dans l'eau distillée et la solution HCl qui sont similaires au milieu gastrique qui présente un temps réduit pour sa dissolution

Alors on peut consommer ces comprimés avec des quantités modérées sans avoir des problèmes gastriques et boire de l'eau.

I- Conclusion générale

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique, pharmacologique et rhéologique d'une espèce végétale alimentaire et médicinale de la famille des *Astéracées* du Sud de la wilaya de Tizi-Ouzou: *Pulicaria odora*. Cette plante est utilisée dans l'alimentation de la population ainsi que dans la médecine traditionnelle algérienne pour le traitement de l'ulcère d'estomac, des maladies du tube digestif, des blessures, des abcès, et des maux de tête.

L'étude bibliographique préalable réalisée sur la plante a montré que l'on disposait de peu d'informations sur cette espèce concernant sa composition chimique. Pour cette raison, nous avons effectué une étude ethnobotanique comme étude préliminaire dans notre travail, ensuite, nous avons contribué à la valorisation de cette plante par le biais de l'étude phytochimique et biologique et nous avons fini notre travail par une étude général sur la rhéologie de la poudre de cette plante.

La présente étude a démontré la grande richesse de la plante en polyphénols, chlorophylle, acides gras dont l'acide gras essentiel linoléique (ω_6), et minéraux, produits naturels à intérêt considérable dans les domaines pharmacologique et nutritionnel.

Le screening phytochimique a montré la présence des différents composés biologiquement actifs telle que les alcaloïdes, les coumarines, les tanins, les tanins galliques, les saponosides, les glucosides, les sennosides, les quinones libres, les quinones combinés, et les alcaloïdes.

Quant à l'étude biologique concernant l'effet antimicrobien des extraits de feuilles de la plante, elle nous a permis de montrer que l'extrait « aqueux » a un effet antibactérien contre les souches *E. coli* et *S. aureus* et sans effet contre *Aspergillus niger*. Par contre l'extrait « éthanolique » a un effet contre toutes les souches testées avec un effet le plus élevé contre *A.niger* et un effet moindre contre *E. coli* et *S. aureus* mais avec un effet un peu plus contre cette dernière.

Enfin les tests rhéologiques réalisés sur la poudre montre qu'elle est apte à être utilisée dans des appareils industriels, présente un bon écoulement, de plus elle possède des aptitudes au compactage à une force de 70N avec un compresseur manuel, le test de gonflement nous a montré que la poudre se gonfle dans des limites tolérables, dans un milieu similaire à celui de l'estomac.

II- Perspectives

Le présent travail nous a permis de contribuer à la valorisation de *Pulicaria odora* par le biais de l'étude phytochimique et biologique. Cette étude nécessite d'être complétée par un certain nombre de travaux. Ainsi, on se propose de :

- Poursuivre l'étude phytochimique et continuer la recherche sur l'espèce étudiée afin d'isoler, de purifier et d'identifier d'autres substances biologiquement actives contenues dans cette plante.
- Elargir l'étude de l'activité antimicrobienne de la plante (contre d'autres bactéries, champignons, contre les virus, contre les parasites ...)
- Etude de faisabilité de l'industrialisation des produits issus de cette plante, poudre, compléments alimentaires, additifs alimentaire, huile essentiel, fongicide et bactériocine à base des huiles essentielles, des extraits et des produits purs isolés de *Pulicaria odora*
- Culture en masse en utilisant la culture *in vitro* de la plante pour amplifier la quantité des huiles essentielles extraites et qui constitue un réservoir riche en molécules. La recherche d'un milieu et des conditions de culture sont indispensables.
- Etude *in vivo* sur la digestibilité de la poudre au cours du tube digestif et la compréhension de l'effet qu'elle exerce sur ce dernier puisqu'elle est réputée efficace pour les soins du tube digestif.
- Introduction de la plante dans les pâtes alimentaire afin d'améliorer leur valeur nutritionnelle.

Par le biais de ce travail, nous espérons avoir apporté notre modeste contribution à la valorisation de *Pulicaria odora* comme plante alimentaire, médicinale traditionnelle très largement utilisée par la population de la Wilaya de Tizi-Ouzou.

Références bibliographiques

- AMADOU B, (2005) ; Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretum glutinosum* Perr. Ex DC (Combretaceae) - thèse de doctorat. Université de BAMAKO. MALI. 2005
- BAHORUN T, (1997), Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle ; Univ. Maurice
- BARRERO, A. F., SANCHEZ, J. F., RODRIQUEZ, I. and SORIA SANZ, C, (1988), Germacranolidas de *Centaurea malacitana*. An. Quim., 84, C 344-347.
- BELAÏCHE P, (1979), Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome I. l'Aromathérapie. Ed. Maloine S.A. Paris.
- BENKINOIR RACHID. Thèse de Doctorat. Constantine 2007
- BHAT S.V., NAGASAMPIGI B.A. et SIVAKUMAR M.; 2005; Chemistry of Natural Products; Ed 1: NAROSA, SPRINGER; p: 115-252.
- BLASCHEK.W, HAINSEL.R, KELLER.K, REICHLING.J, RIMPLER.H, SCHNEIDER.G. H. Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, vol 2: Drogen A-K. New York: Springer Publishing; 1998. p. 526.
- BOUTAOUI NASSIMA (2012), mémoire Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de *Matricaria Chamomilla* (Asteraceae) Etude de la phase acétate d'éthyle, UNIVERSITE CONSTANTINE
- BRUNETON J. (1993), Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. Paris, France:Lavoisier. 278-279.
- BRUNETON, J. (1993). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- BRUNETON, J. (1999), Pharmacognosie, 3e édition, Tec et Doc, Paris, 310, 316, 619, 620., anti- parasitaire
- BRUNETON,J. Pharmacognosie (Phytochimie, Plantes médicinales), 3eme Edition, 1998, Paris, france.
- BRUNETON.J. (1993), pharmacognosie, phytochimie des plants médecinales, techniques et documentation, Lavoisier, Paris 268.
- COWAN M. M. A, (1999) Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical biology Reviews. 12 (4), 564–582.
- COWAN M. M. B (1999) Isolation of Carvacrol Assimilating Microorganisms. Biotechnol. 39 (4), 341- 345.
- COWAN, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin. Microbiol Re, 12 (4): 564- 582.

Références bibliographiques

- ENAM.A.KHALIL, FATMA.U.AFIFI, MAYSA.AL-HUSSAINI. Journal of Ethnopharmacology 2007 109 104–112. Harborne J.B., *biol. Chem. comp.* 1977, 1, 359.
- FADWA E.L. HANBALI A, MOHAMED AKSSIRA A,*, AICHA EZOUBEIRI B, CHEMS EDDOHA A. GADHI B, FOUAD MELLOUKI A, AHMED BENHERRAF C, AMPARO M. BLAZQUEZ D, HERMINIO BOIRA D (2005), Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odora* L. *Journal of Ethnopharmacology* 99 (2005) 399–401
- FAHY E , SUBRAMANIAM, H,A BROWN, C,K. GLASS, A,H. JR. MERRILL, R.C.MURPHY, C.R RAETZ, D.W. RUSSELL, Y SEYAMA, W.SHAW,T.SHIMIZU, F.SPINER, GVAN MEER, MS VANNIEUWENZHE, S.H WHITE, J.L.WITZTUM ET E.A. DENNIS (2005). A comprehensive classification system for lipids, *J Lipids Res*, 46 (5): 839-861.
- FORKMANN, G., (1992). Structure and Biogenesis of Flavonoids , 16ème Assemblée degroupe polyphénols, Lisbon, 16, 19-27.
- GAUSSEN, H.F. Leroy, *Précis de Botanique (végétaux supérieurs)*. 2ème Ed, p 426, (1982).
- GONZALEZ M. J. A; E. M. REQUENA ET M. J. M. CALERO, *Plantes medicinales et phytothérapie*, 1986, 20, p. 255-263.
- GONZALEZ-ROMERO, M.A., VILLAESCUSA-CASTILLO, L., DIAZ-LANZA, A.M. (2000). Sesquiterpene lactones from *Inula montana* L. *Z Naturforsch C*, 55(9-10): 697-700.
- GONZALEZ-ROMERO, M.A., VILLAESCUSA-CASTILLO, L., DIAZ-LANZA, A.M., BARTOLOME-ESTEBAN, C., FERNANDEZ-MATELLANO, L. (2001). Phytochemistry and pharmacological studies of *Inula montana* L. *Recent Research Developments in Phytochemistry*, 5: 255-268.
- GUIGNARD.J.L. 1994, *Abrégé Botanique*, 9ème Ed.204.
- GUINARD, JL., 1979. *Abrégé de biochimie végétale* 2ème Ed; Masson, Paris. 1 (2), 193-197.
- GURIB-FAKIM A. (2006) *Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine* 27, 1-93.
- HARBORNE.J.B, SWAIN.T. 1969, *Perspectives In Phytochemistry*, Academic Press, London, New York.
- HARTMANN T., 2007. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Photochemistry* 68: 2831 - 2846.
- HENNEBELLE, T., SAHPAZ, S., BAILLEUL, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.

Références bibliographiques

- JIANGSU College of New Medicine, 1977. A Comprehensive Dictionary of the Traditional Chinese Medicines. Suzhou Jiangsu, China, pp. 627–629.
- JIANGSU New Medical College (Ed.), Dictionary of Traditional Chinese Medicines, Shanghai Scientific and Technological Publishing House, Shanghai, 1986, p. 80.
- JIANGSU, New Medical College. In Dictionary of Traditional Chinese Material Medica; Shanghai People's Press, 1977; Vol. 2, p 2216.
- JUNTACHOUTE T, BERGHAFER E, SIEBNHANDL S, BAUER F. (2006). The antioxidative properties of holy basil and Galangal in cooked ground park; in «Préparation et incorporation dans la margarine d'un extrait de dates des variétés sèches». Thèse de Magister, Université de Boumerdes.
- KARLESKIND A. (1992). Manuel des corps gras, Edition Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 116-226.
- KESSOUS. C. 1987. Biochimie structurale, édition OPU. P9-42 -KHIATI M (1998) Guide des maladies infectieuses et parasitaires. (OPU, Alger)
- KOCHS G. et GRISEBACH, H. (1986). Eur. J. Biochem., 155, 311.,
- LAPORNIK B, PROSEK M, WONDRA A L. (2004). Comparison of extracts prepared from plant byproducts using different solvents and extraction time; in «Préparation et incorporation dans la margarine d'un extrait de dates des variétés sèches». Thèse de Magister, Université de Boumerdes.
- LAVAGNE A (2006) La végétation des bas-marais du vallon du Lauzanier Larche (Alpes-de-Haute-Provence, France) -.06, p. 41- 57 - Départ./Région : , Le Journal de Botanique, 1, N°34
- LESLEY B., 1996. Plantes médicinales et aromatiques, Ed. Lavoisier. Paris. pp. 58-61
- LUCCHESI M. E., 2005. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de La Réunion, 72p.
- MADHAVI D.L; (1996); Food antioxidants; Ed: CRC PRESS; p: 361- 460.
- MAGED,A.S; J. BRAZ. Chem. Soc, 13, 67-69, 2002.
- MAMADOU A - Etude phytochimique et de l'activité antipaludique in vivo et in vitro de Momordica balsamina Linn. (Cucurbitaceae) - thèse de doctorat. Université de BAMAKO. MALI. 2005.
- MANACH C., SCALBERT A., MORAND C., JIMÉNEZ L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition 79:727 - 747.

Références bibliographiques

- MARFAK ABDELGHAFOR; (2003) ; Biophysique ; Thèse de Doctorat ; Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des Alcools : Formation de Depsides. Univ. Limoges ; Ecole Doctorale Sciences Biologie Santé, Faculté de Pharmacie.
- MESSAI LAID (2011) THESE étude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artemisia herba alba*) UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE
- MINKUE S M'ENY; (2000); étude chimique des substances extractibles d'Okoumé ; thèse M.Sc ; Univ. Laval.
- MOUELLET M - Screening phytochimique de deux espèces de plantes : *crotalia retusa* L (Papilionaceae) et *hallee ciliata* Aubrev & Pellegr. (Rubiaceae) récoltées au Gabon - thèse de doctorat. Université de BAMAKO. MALI. 2005
- NAMSOO,K. ET IN-SEON,P. Biosci.Biotechnol.Biochem.,65,1648-1651,2001.
- NIARE A, Etude de la phytochimie et des activités pharmacologiques de *syzygium guineense* willd.(Myrtaceae)- thèse de doctorat. Université de BAMAKO. MALI. 2006.
- ODILE MEYER ;(2004) ; « Biosynthèse des isoprénoïdes : synthèses d'analogues du 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate, inhibiteurs potentiels de la voie du méthylérythritol phosphate »; Thèse de Doctorat ; Univ .Louis Pasteur ; pp:17-22.
- OKUDA.T. (Ed.), Encyclopedia of Natural Medicine, vol. 1, Hirokawa, Tokyo, 1986, p. 64.
- OUAOUICH. A et HAMMADI. C ; (2007) .Guide du producteur d'huile d'olive ; Organisation des notions unies pour le développement industriel ;Vienne.
- OWEN P L, JOHNS T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern North american plant remedies used for gout; in «Préparation et incorporation dans la margarine d'un extrait de dates des variétés sèches». Thèse de Magister, Université de Boumerdes.
- PARIS R.R ET MOYSE H. (1965) Précis de matière médicale, Tome 1, Masson et Cie, Ed Paris.
- PARIS R.R, Moyes H-Précis de matière médicale-Tome 1, édition MASSON , Paris. 1976.
- PARIS.R.R, MOYSE.H. 1971, Précis de matière Médicale, Tome III. Paris, 397.
- PAULIAN.P. (1967), guide pour l'Etude de quelque plantes Tropicales, Ed. Gauthier-Villards, Paris.
- PEREIRA R. C., P. DA GAMA B. A., TEIXEIRA V. L., YONESHIGUE-VALENTIN Y. Y., BRAZ. J. Bio.(2003), 63, (4), 667-672.
- POTTIER G. *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes–dicotylédones–gamopétales, (1981) p 1012

Références bibliographiques

- QUEZEL.F, SANTA.S. 1962-1963, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1-2. Ed. CNRS, Paris France.
- QUINTERO, A., PLCASTRE, A. And SOLANO, J. D. (1999), Antitumoral Activity of New Pyridine Derivatives of Sesquiterpene lactones, J. Pharm. Pharmaceut. Sci., 2, 108-112
- RAFFAELLI,B. Journal Chromatogr. B, 77, 29-43, 2002.
- RAMISH, M.N (2000). Effet of cooking and drying on the on the thermal conducting of rice Int. Journal of Food Properties. 3 (1), 77-92.
- REYNAUD, J., LUSSIGNOL, M. (1999). Free flavonoid aglycones from *Inula montana*. Pharm Biol, 37 (2) : 163-164.
- RIBEREAU-GAYON P. (1993). Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod Paris.
- RICHTER, G., 1993. Métabolites des végétaux, physiologies et biochimie. Press Polytechnique et Universitaire Romandes. 317-339.
- RIVARD-GERVAIS NATHALIE; (2001) ; Aliments fonctionnels et produits nutraceutiques – Iles fibres, les vitamines et les autres éléments nutritifs ; Le Médecin du Québec, 36(4).
- ROBERTS M. F. et WINK M.; 1998; ALKALOIDS: Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications; Ed: PLENUM PRESS; p: 1- 6.
- RODRIGUEZ, R., TOWERS, G. H. N., MITCHELL, J. C. (1976). Biological activities of sesquiterpene lactones. Phytochemistry, 15: 1573-1580.
- SMALLFIELD, 2001 Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop & Food Research. Number 45, 4p.
- STEFANOVITS-BÁNYAI É., TULOK M. H., HEGEDŐS A., RENNER C. ET VARGA I. S. 2003) Antioxi-dant effect of various rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) clones. Acta Biologica Szegediensis. 47 (1-4), 111-113.
- STOTZ, G., SPRIBILLE, R. and FORKMANN, G.J. (1984). Plant Physiol., 116, 173.
- TARDIO.J, PASCUAL.H, MORALES.R. 2002 Alimentos silvestres de Madrid, La Libreria, Madrid.
- TOUATI.1, HASSAINI Y.1, KASRI A.1, OOMAH D.2, DROVER J.2 HARRISSON J.2, BEDJOU F.1, BEKDOUCHE F. polyphénols et activité antioxydante de *Pulicaria odora* Université Abderrahmane MIRA de Bejaia, Laboratoire de Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique 2Pacific Agri-food 2012.
- VERCAUTEREN J, CHAEZE C, TRIAU J (1996). Polyphénols 96. Edition : INRA, Paris.
- VILLAR.L, PALACIN.J.M, CALVO.C, GOMEZ.D, MONSERRAT.G. 1987. Plantas medicinales del Pirineo aragones y demas tierras oscenses, CSIC, Diputacion de Huesca, Huesca.

Références bibliographiques

Web bibliographie. Consulté du mois de juin au mois de septembre 2015

Flann, C (ed) 2009+ Global Compositae Checklist

Gaertner, Joseph. 1791. De fructibus et seminibus plantarum 2(3): 461–462

Gaertner, Joseph. 1791. De fructibus et seminibus plantarum 2(3): plate CLXXIII

<http://ddata.over-blog.com/xxxxyy/1/98/88/38/Documents-PDF/Les-vertus-de-la-chlorophylle.pdf>

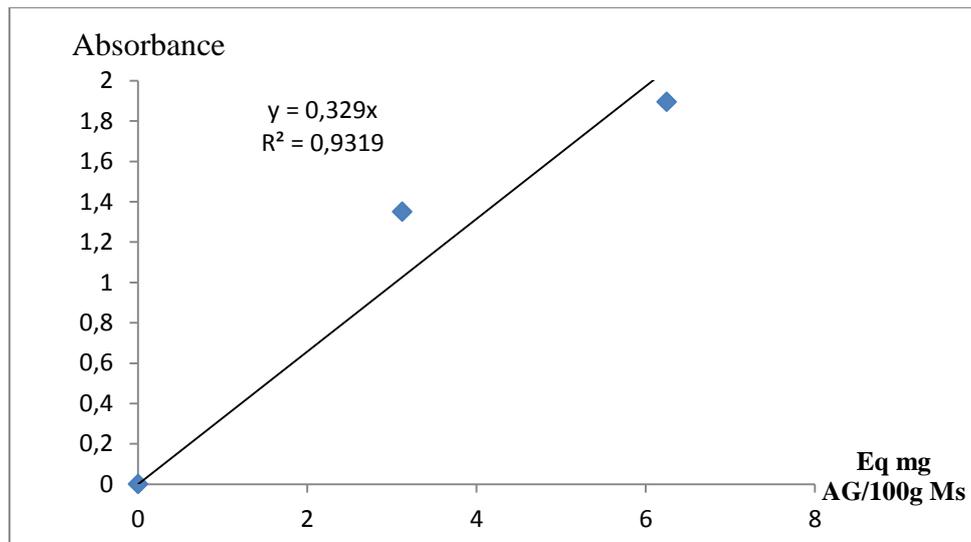
http://www.lessentielle-leblog.be/wp-content/uploads/2014/09/Qu_est-ce-que-la-Chlorophylle.pdf

http://www.santeaction.ca/_dynamique/revuesPresses01/fichiers/chlorophylle.pdf

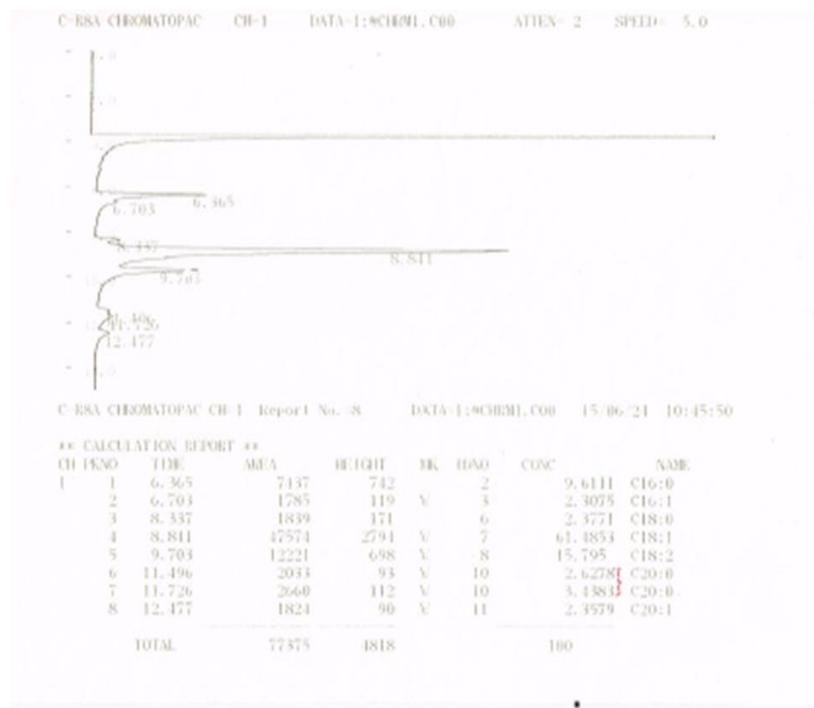
<http://www.valverdedelcamino.es/repositorio/valverdeverde/flora/70Asteraceae.pdf>

	P 26	P 27	P 28	P 29	P 30	P 31	P 32	P 33	P 34	P 35	P 36	P 37	P 38	P 39	P 40	P 41	P 42	P 43	P 44	P 45	P 46	P 47	P 48	P 49	P 50
sexe																									
Femme						x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x					
Homme	x	x	x	x	x																x	x	x	x	x
Age	37	52	48	55	53	62	77	48	57	39	68	64	35	45	27	82	46	65	54	75	72	68	57	67	58
Utilisation																									
Médicinale	x		x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x			x	x		x	x	x	x
Alimentaire		x								x							x	x			x				
Partie utilisée																									
Feuille	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Tige						x	x				x					x						x			
Racine																									
Mode d'utilisation																									
Cataplasme	x		x	x	x			x	x			x							x	x			x	x	x
Introduction dans les pâtes		x								x			x	x	x		x	x			x	x			
Mélange avec l'huile d'olive						x	x				x					x									
administration																									
Application locale	x		x	x	x	x	x	x	x		x	x				x			x	x			x	x	x
Voie orale		x								x			x	x	x		x	x			x	x			
Maladies traité																									
Ulcère d'estomac		x	x		x					x			x	x								x			
Tube digestif	x			x											x		x	x			x				
blessures																			x						x
Soulager les douleurs d tété						x	x				x					x									
abcès								x	x			x								x			x	x	

Annexe II



Courbe d'étalonnage



Profil d'acide gras