

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane MIRA –BEJAIA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biotechnologie Microbienne



**Mémoire de fin de cycle en
Vue de l'obtention du diplôme de
MASTER**

Thème

Utilisation des extraits de composés bioactives comme
agent antifongique *vis-à-vis* des moisissures isolées de la
figue sèche

Présenté par :

Ait idir Tinhinane Sofia & Ayouaz Ryma

Soutenu le : 15 Septembre 2022

Jury

Président :	M^r TOUATI A.	Professeur
Promoteur :	M^r BOUKHALFA F.	Maitre de Conférences A
Examineur :	M^{me} TAFOUKT R.	Maitre de Conférences B
Invité :	M^r ARROUL Y.	Doctorant

Année universitaire : 2021 / 2022

Remercîment

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant, omnipotent et miséricordieux, de nous avoir accordé des connaissances de la science et de nous avoir aidé à réaliser ce travail.

C'est avec un réel plaisir que nous réservons ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail.

*On tient à remercier tout d'abord notre encadrant, Professeur Mr **Boukhalfa Farid**, pour sa patience, et surtout pour sa confiance, ses remarques et ses conseils, ainsi qu'à Monsieur **Arroul Younes** pour son aide précieuse, sa disponibilité et sa bienveillance. Qu'ils trouvent ici le témoignage de notre profonde gratitude.*

*On voudrait également remercier les membres du jury Mr **touati** et Mme **Tafoukt** pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour toutes leurs remarques et critiques.*

*On tient aussi à remercier monsieur le chef du département microbiologie, Mr **Djouidi** ainsi que tout le personnel et les enseignants du département pour leur soutien inestimable.*

A tous nos enseignants qui nous ont initié aux valeurs authentiques, en signe d'un profond respect et d'un profond amour.

Dédicace

C'est avec une profonde gratitude et des mots sincères, que je dédie ce modeste travail

A mes très chers et précieux parents, nulle dédicace n'est susceptible de vous exprimer tout l'amour que je vous porte et ma profonde affection, sans oublier l'immense gratitude pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et mes études. Puisse dieu tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie à fin que je puisse à mon tour vous combler.

*A ma chère petite sœur **Céline** et mon cher petit frère **Adem**, je ne saurai imaginer une vie sans vous, que le bon dieu puisse vous guider vers la réussite et le succès.*

A la mémoire de mes grands-parents maternels, Puisse Dieu vous avoir en sa sainte miséricorde et que ce travail soit une prière pour votre âme.

A mes grands-parents paternels que j'aime par-dessus tout, Je vous dédie ce mémoire pour vos attentions particulières, vos prières et votre amour inconditionnel. Merci pour tout et que Dieu vous donne bonne santé et longue vie parmi nous.

*A ma très chère grande sœur **Nina** et son cher mari **Younes** qui est un grand frère pour moi, Je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection et de mon attachement indéfectible. Que Dieu vous accorde santé, succès et félicité pour faire de vous un couple uni et heureux à jamais. Sans oublier, son beau-père et sa belle-mère qui m'ont été d'une aide précieuse, que dieu leur accorde santé et bonheur tout au long de leur vie.*

*A ma tante bien aimée **Dina** et son cher mari **Mounir**, pour leur soutien physique et moral, en signe d'affection et du grand amour que je vous porte, les mots sont insuffisants pour exprimer ma profonde estime. Sans oublier mon petit **Younes**, que Dieu le protège et le bénisse. Tes petites mains, ton envie de parcourir le monde, ton enthousiasme, tes sourires, tes yeux brillants sont incomparables. Tu as apporté beaucoup de bonheur à notre famille. Je t'aime.*

*A ma tendre et précieuse tante **Lynda** et mes chers cousins **Marek** et **Adam**.*

*A mes tantes adorées, **Houria**, **Faiza** et **Zahia** et leurs époux, ainsi qu'à mon cher oncle **Mouhamad** et son épouse.*

A la mémoire de mon défunt oncle Sidali, j'aurai tellement aimé te connaître, je sais que si t'étais là parmi nous tu serais tellement fier de ta petite nièce, que ton âme repose en paix et que Dieu t'accueille dans son vaste paradis.

A mon oncle Madjid et sa chère épouse Zehra, ainsi que leurs chers enfants tata Assia, Naima et tonton Ghilas que je considère comme mes grands frères et sœurs et que j'aime inconditionnellement.

A mes chers cousins et cousines, Ismahane, Nawel, Sarah, Silia, Kamel, Sidali, Sofiane et Zakaria, je vous aime tellement.

A toute la famille AIT IDIR et BOUZIDI, aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

A mes précieuses amies Katia, Dalida et Dibia Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A mes chers amis, Wafa, Lynda, Nawel, Moussa et Yanis, En souvenir des moments heureux passés ensemble, avec mes vœux sincères de réussite, bonheur, santé et de prospérité. Sans oublier toi Amazigh, tu as toujours été là pour moi à chaque instant, tu m'as toujours offert soutien, courage et réconfort, Que ce travail soit l'expression de mon estime pour toi. Ainsi qu'à mes camarades du laboratoire Technologie Alimentaire, Kaci, Merzouk, Lynda, Faïda, Kamir, Yasmina, Naziha, Ibtissam, Kenza, Fairouz.

A ma chère binôme RYMA et toute sa famille, pour tout son soutien, sa gentillesse et son sérieux qui nous ont permis d'accomplir ce travail, je lui souhaite toute la réussite et le bonheur du monde et que Dieu exauce tous ces vœux.

A tous ceux qui j'ai omis involontairement de citer.

Sofia

Dédicace

A l'aide de DIEU tout puissant qui a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie

A ma famille, spécialement aux personnes les plus chers à mon cœur.

A la mémoire de mon cher père qui est parti trop tôt. Tu as toujours été mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils. J'aurais tellement aimé que tu sois parmi nous pour partager ce moment de bonheur, qu'Allah t'accorde sa miséricorde et t'accueille dans son vaste paradis.

A ma chère mère, aucun mot aussi expressif soit-il, ne saurait exprimer ma gratitude, Pour tous les sacrifices qu'elle a pu faire, son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie. Tes prières ont été pour moi d'un grand soutien moral au long de mes études. Puisse dieu m'aider pour rendre peu soit-il ce que tu m'as donné.

A mon cher grand frère, pour tout l'intérêt que tu portes à ma vie, pour ton soutien, ton encouragement et surtout pour tout l'amour que tu me portes.

A mes chers petits frères et sœurs, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et j'espère toujours être la grande sœur qui fera votre fierté. Que DIEU vous protège et consolide les liens sacrés qui nous unis.

A tous mes amis, particulièrement Yasmine et Djida avec qui j'ai vécu des moments magnifiques et inoubliable au cours de mon parcours universitaire.

A tous mes collègues du laboratoire Technologie Alimentaire, Kaci, Merzouk, Lynda, Faïda, Kamir, Yasmîna, Nazîha, Ibtissam, Kenza, Fairouz.

Sans oublier ma binôme Sofia, pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail.

A tous mes enseignants de l'université de Bejaïa.

RYMA

Sommaire

Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction 1

1^{ère}Partie : Etude Bibliographique

I. Généralités sur le figuier et la figue.....3

I.1 Définition.....3

I.2 Production des figues sèches.....4

I.3.3. Usage thérapeutique des figues sèches.....4

II. Altération de la figue sèche.....5

II.1 Organismes fongiques potentiellement toxigènes dans les figues sèches.....6

II.1.1 Aspergillus section Flavii.....6

II.1.2 Aspergillus section Nigrii (Aspergillus noires).....6

II.1.3 Aspergillus section Circumdatii.....7

II.2 Les mycotoxines.....8

II.2.1 Les principales mycotoxines.....8

II.2.1.1. Les aflatoxines.....8

II.2.1.2. Les ochratoxines.....9

II.3 Prévention et lutte contre le genre Aspergillus et leur toxine.....9

II.3.1 Les méthodes chimiques.....9

II.3.1.1 Les fongicides.....9

II.3.2 Les méthodes physiques.....10

II.3.3 Les bactéries lactiques en lutte biologique.....10

II.3.4. La stratégie de bio-contrôle.....10

III. Molécules bioactives et leurs activités biologiques.....10

III.1 Polyphénols.....10

III.2 Flavonoïdes.....11

III.3 Caroténoïdes.....12

III.4 Huiles essentielles.....12

Sommaire

2^{ème} Partie : Partie expérimentale

Matériels et Méthodes

I. Matériel végétal.....	14
I.1. Echantillonnage.....	14
I.2. Séchage des feuilles.....	15
II. Analyses phytochimiques.....	15
II.1. Extraction des polyphénols.....	15
II.2. Dosage des polyphénols totaux.....	16
II.3. Dosage des flavonoïdes.....	16
II.4. Dosages des caroténoïdes.....	16
II.5. Détermination de l'activité antioxydante et anti-radicalaire des extraits étudiés.....	17
II.6. Activité antioxydante des huiles essentielles.....	18
III. Analyses mycologiques.....	18
III.1. Isolement de la mycoflore présente dans des échantillons de figes sèches collectées à travers différentes régions de la wilaya de Bejaia.....	19
III.2. Repiquage et purification.....	19
III.3. Etude du pouvoir ochratoxinogène et aflatoxinogène des isolats appartenant au genre <i>Aspergillus</i>	20
III.4. Activité antifongique et test d'antagonisme.....	21
III.4.1. Préparation de l'inoculum.....	21
III.4.2. Dépôt des disques.....	21
Résultats et discussion	
I. Analyses phytochimiques.....	23
I.1 Dosage des antioxydants.....	23
I.1.1 la teneur en polyphénols totaux.....	23
I.1.2 la teneur en flavonoïdes.....	25
I.1.3 la teneur en caroténoïdes	26
I.2. Détermination de l'activité antioxydante et anti-radicalaire des extraits étudiés.....	27
I.2.1. Neutralisation du radical DPPH.....	27

Sommaire

I.2.2. Neutralisation du radical ABTS.....	30
II. Analyse mycologique.....	32
II.1. Identification macroscopique de la mycoflore présente dans les échantillons de figes sèches collectées.....	32
II.2. Identification microscopique des isolats fongiques obtenus.....	33
II.3. L'étude du pouvoir ochratoxinogène et aflatoxinogène des isolats appartenant au genre <i>Aspergillus</i> section <i>Nigrii</i>	34
II.4. Activité antifongique et test d'antagonisme.....	35
Conclusion.....	40
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	
Abstract	

Liste des abréviations

FAOSTAT : Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database

PP : Polyphénols

AF : Aflatoxine

AFB1 : Aflatoxine B1

OTA : Ochratoxine A

EAU : extraction assistée par ultrasons

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

ABTS : acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzthialozine-6-sulfonique)

BHA :buthyl hydroxy anisol

BHT :buthyl hydroxy toluène

AFNOR : Association Française de Normalisation

OMS : organisation mondiale de la santé

FAO : organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

HE : huile essentielle

JECFA : The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

EC : commission européenne

EGA : équivalent d'Acide gallique

EQ : équivalent de Quercétine

E β -carotène : Equivalent de β -carotène

IC50 : concentration Inhibitrice médiane

DG18 : milieu Dichloran-Glycérol

TDR : technique de détection rapide

CAM : Coconut medium agar

CYA : Czape k yeast extract agar

Liste des figures

Figure 01 : photographie du figuier <i>Ficus carica</i>	3
Figure 02 : schéma représentatif d'une coupe longitudinale de la figue.....	3
Figure 03 : micrographie de l'aspect micro-morphologique des souches d' <i>Aspergillus flavus</i> après 72h d'incubation observé grâce à un LPCB X 400-Nikon.....	6
Figure 04 : photographie de l'aspect macromorphologique des souches d' <i>Aspergillus flavus</i> après incubation 70h à 30°C sur le milieu Sabouraud dextrose.....	6
Figure 05 : micrographie d'aspect micro-morphologique des souches d' <i>Aspergillus niger</i> obtenue suite à une observation au microscope optique (G×100).....	7
Figure 06 : photographie de l'aspect macromorphologique des souches d' <i>Aspergillus niger</i> après 72h d'incubation à 30°C sur milieu Meaox.....	7
Figure 07 : micrographie d'aspect micro-morphologique des souches d' <i>Aspergillus ochraceus</i>	8
Figure 08 : photographie de l'aspect macromorphologique des souches d' <i>Aspergillus ochraceus</i> après 72h d'incubation.....	8
Figure 09 : photographie de plantes étudiées.....	14
Figure 10 : photographie de deux l'huiles essentielles étudiées.....	15
Figure 11 : photographie des échantillons de plantes étudiées, après séchage et broyage.....	15
Figure 12 : isolement de la mycoflore présente dans la figue sèche avec la méthode du contact direct.....	19
Figure13 : Représentation graphique de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits de feuilles de plantes étudiés.....	23
Figure14 : Représentation graphique la teneur en flavonoïdes des différents extraits de feuilles de plantes étudiés.....	25
Figure 15 : Représentation graphique la teneur en caroténoïdes des extraits de feuilles de plantes étudiés.....	27
Figure 16 : Photographie représentant l'Activité antioxydante des extraits méthanoliques	28

Figure 17 : Représentation graphique de l'activité antioxydante du DPPH*des différents extraits de plantes étudiés.....	28
Figure 18 : Pouvoir antiradicalaire de l'huile essentielle de la Menthe.....	29
Figure 19 : Pouvoir antiradicalaire de l'huile essentielle du Pistachier lentisque.....	29
Figure 20 : photographie représentant l'activité antiradicalaire des extraits de plantes et d'HE analysés.....	31
Figure 21 : Représentation graphique de l'activité antiradicalaire de l'ABTS des différents extraits des feuilles de plantes et des Huiles essentielles analysés.....	31
Figure 22 : Aspect macroscopique dessouches fongiques isolées des différents échantillons de figes sèches collectées après 9 jours d'incubation à 28°C sur milieu DG18.....	33
Figure 23 : Aspect macroscopique des souches isolées après purification et repiquage successif sur milieu DG18 après 8jours d'incubation à 28 °C.....	33
Figure 24 : Aspect microscopique du genre identifié observer sous microscope optique au grossissement G*10.....	34
Figure 25 : Etude du pouvoir ochratoxinogène des isolats du genre <i>Aspergillus</i> section <i>Nigrii</i> sur le milieu CYA après huit jours d'incubation à 28°C sous une lampe UV à 365 nm.....	34

Liste des tableaux

Tableau I : composition biochimiques (/100g) de la figue fraiche et la figue sèche	4
Tableau II : principaux pays producteurs de la figue dans le monde	5
Tableau III : Résultats de l'activité antifongique des extraits de plantes et des huiles essentielles étudiés après 72h d'incubation	36

*« Certes, il y'a des travaux pénibles ;
mais la joie de la réussite n'a-t-elle pas à
compenser nos douleurs ? »*

Jean de la bruyère

Introduction

Introduction

Les figes sèches sont habituellement attaquées par plusieurs organismes nuisibles, notamment les insectes et les micromycètes. Les dommages causés par les insectes sont loin d'être sous-estimés, mais ceux causés par les champignons mycéliens ne devraient pas être négligeables (**Pitt et Hocking, 1997**).

La contamination fongique des aliments provoque des altérations physiques et d'autres dites biochimiques. Un grand nombre d'espèces fongiques appartenant principalement au taxon *Aspergillus* notamment les *Aspergillus* du groupe des *Nigrii* présentes dans l'air ambiante, le sol et sur les cultures...etc. Elles sont capables d'altérer plusieurs denrées alimentaires en se proliférant sur certains substrats tels que les figes sèches et bien sûr provoquer des intoxications en produisant des molécules à pouvoir toxique à savoir l'ochratoxine A, qui est potentiellement néphrotoxique et cette mycotoxine peut au fil du temps nuire à la santé du consommateur et ceci sans parler des grandes pertes économiques dans le monde entier. Parmi les mycotoxines produites, l'Ochratoxine A qui considérait comme l'une des mycotoxines les plus abondantes et les plus toxiques. Toutefois, la présence de champignon microscopique dans un produit alimentaire ne signifie pas nécessairement la production des mycotoxines (**wu et al., 2006**).

L'être humain a cherché pendant des années un moyen de lutte contre ce fléau et de pouvoir réduire les niveaux de contamination des différents produits alimentaires. De nombreux travaux de recherche ont rapportée l'efficacité des substances bioactives comme agent anti microbiennes vis-à-vis plusieurs souches (**Tan et al., 2015 ; Mnayer et al., 2014 ; Klančnik, 2010 ; Ghosh, 2008**).

L'exploitation des ressources naturelles notamment les espèces végétales à effets thérapeutiques, apparaît comme une piste prometteuse car elles constituent une biodiversité et une grande réserve de substances actives. Elles sont facilement accessibles et largement appliquées dans la phytothérapie contre différentes pathologies. Les plantes médicinales constituent ainsi une source intarissable de substances qui peuvent être exploitées dans la production de nouveaux agents antifongiques (**Hajjih et al., 2016**).

L'objectif de cette étude est d'explorer l'efficacité des substances bioactives de quelques plantes de la région de Bejaia comme agent antifongiques vis-à-vis la mycoflore contaminant les figues sèches.

Afin d'atteindre le but envisagé, le document est divisé en deux parties, la première partie est consacrée à une recherche et étude bibliographique sur le figuier et la figue, la flore fongique d'altération potentiellement toxigènes et substances bioactives utilisées comme un moyen de lutte biologique et de réduction des niveaux de contamination par les mycotoxines. La deuxième partie est réservée aux matériels et protocoles expérimentales utilisés dans cette étude, la troisième partie du travail concerne les principaux résultats et leur discussion. Cette étude est finalisée par une conclusion et des perspectives.

Partie Bibliographique

I. Généralités sur le figuier et la figue

I.1 Définition

Le figuier (**figure 1**) dont le nom botanique *Ficus carica*, appartient à la famille des *Moraceae*. Cet arbre fruitier est l’emblème du bassin méditerrané (**Ouaouich et Chimi, 2005**). En Algérie, sa culture occupe 39 830 hectares, environ 10% du patrimoine arboricole nationale (**Ferradji et al., 2011**).



Figure 01 : photographie du figuier *Ficus carica* (**Haumont, 2022**)

Le fruit du figuier est appelé la figue, est considérée comme un fruit sacré et cité dans les livres saint et dans le Coran « sourate Attins ». Elle est composée d’une pellicule (peau ou épiderme), une pulpe composée d’un réceptacle contenant les graines (akènes), un ostiole (œil ou opercule) et un pédoncule (**figure 2**) (**Haesslein et Oreiller, 2008**).

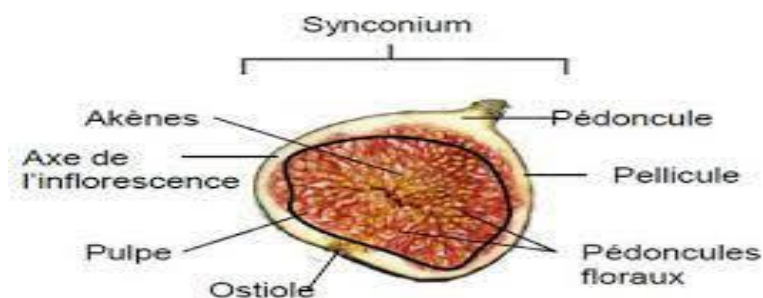


Figure 02 : schéma représentatif d’une coupe longitudinale de la figue
(**Haesslein et Oreiller, 2008**)

I.2 Production des figes sèches

La figue est un aliment de bonne valeur nutritive et excellente source d'énergie, minéraux, vitamines, acides aminés et fibres diététiques, ce qui contribue positivement à la santé humaine (Vinson *et al.*, 2005 ; Oliveira *et al.*, 2010). Elle est commercialisée sous forme de figes fraîches ou de figes sèches (Rachid, 2012). Le séchage des figes se réalise industriellement dans des séchoirs ou traditionnellement par exposition au soleil (Karathanos *et al.*, 1997).

En Algérie, le séchage artisanal se fait généralement en plein air par exposition au soleil, l'inconvénient majeur de ce mode de séchage est son exposition aux contaminations par la mycoflore potentiellement toxigènes (Doymaz, 2004).

I.3. Usage thérapeutique des figes sèches

La composition moyenne des figes fraîches et sèches est représentée dans le tableau. Les figes sèches sont utilisées pour guérir les maladies de la gorge, comme stimulant, laxatif, antitussif émolliente, résolutif, emménagogue, pour la constipation, les hémorroïdes et l'hypercholestérolémie. Cela est dû à leur forte teneur en composés phénoliques à haut potentiel antioxydant dont les flavonoïdes et les anthocyanes (Slatnar *et al.*, 2011).

Tableau I : composition biochimiques (/100g) de la figue fraîche et la figue sèche (Chellah et Djedi, 2016)

Constituants	Figue fraîche	Figue sèche
Valeur énergétique (Kcal)	54	224
La teneur en eau	79.5	25
Glucides (g)	13	53
Protéines (g)	0.9	3.2
Lipides (g)	0.2	1.2
Fibres alimentaires (g)	2.3	8
Vitamine C : acide ascorbique (mg)	5.0	1.0
Provitamine A : carotène (mg)	0.046	0.08
Vitamine B1 : thiamine (mg)	0.05	0.08
Vitamine B2 : riboflavine (mg)	0.05	0.09
Vitamine Pp : niacine (mg)	0.46	0.80
Vitamine B5 : acides pantothénique (mg)	0.30	0.44
Vitamine B6 : pyridoxine (mg)	0.11	0.22
Calcium (mg)	60.0	160.0
Potassium (mg)	232	770.0
Sodium (mg)	3.0	14.0
Phosphore (mg)	23	71.0
Magnésium (mg) 0	18	62.0
Fer (mg)	0.78	2.5

Selon l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, plus de 90 % de la production mondiale provienne du bassin méditerranéen (**tableau II**). En effet, la Turquie assure un quart (25%) de la production mondiale, suivi par l'Égypte ; l'Algérie et le Maroc (**Gozlekci, 2011**).

Tableau II : principaux pays producteurs de la figue dans le monde (**Faostat, 2016**).

Pays	Production (Tonnes)
Turquie	305450
Egypte	167622
Algerie	134178
Iran	70178
Maroc	59881
Syrie	43098
Etats unis	31600
Brésil	26910
Espagne	26910
Tunisie	22500

La production nationale est en augmentation continue avec une production de 60000 tonnes en 2003, de 63883 tonnes en 2006, et 134178 tonnes en 2016 (**ONS, 2016**). La production est surtout destinée pour la consommation à l'état fraîche, avec des quantités, en progression chaque année, destinés vers le séchage.

II. Altération de la figue sèche

La figue, constitue un micro-écosystème favorable à la prolifération des champignons filamenteux principalement les espèces du genre *Aspergillus*, à lequel appartiennent plusieurs espèces connues pour leur capacité à produire certaines substances à pouvoir toxique (**Pitt, 2000**), dont l'Ochratoxine A et l'aflatoxine sont les deux mycotoxines les plus détectés (**Heperkan et al., 2012**).

Cette contamination se produit, à la fois pendant les périodes de pré-récolte et de post-récolte, ainsi qu'au cours de séchage, le stockage et le transport.

Bien que, les aflatoxines sont principalement considérées comme des contaminants de terrain tandis que l'Ochratoxine A (OTA) est une mycotoxine liée au séchage et au stockage produite par les champignons *Aspergillus* et *Penicillium* (Bircan, 2009).

II.1 Organismes fongiques potentiellement toxigènes dans les figes sèches

II.1.1 *Aspergillus* section *Flavii*

Aspergillus section *Flavi* comprend 33 espèces, et la plupart d'entre elles sont des producteurs naturels d'aflatoxines. *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* sont les deux espèces fongiques représentative de la section des *Flavii* décrite comme étant les plus productrice d'aflatoxines, *A. flavus* connu pour la production des aflatoxines B1 et B2 tandis que *A. parasiticus* très connu par son pouvoir à élaborer les aflatoxines B1, B2, G1 et G2.

L'identification morphologique (figure 3 et 4) d'*Aspergillus* section *Flavi* est généralement basée sur les structures microscopiques, telles que les têtes conidiennes uni- ou bisériées, la production de sclérotes de couleur foncée par certaines espèces et les conidies de teintes jaune vert à brun (Frisvad et al., 2019).

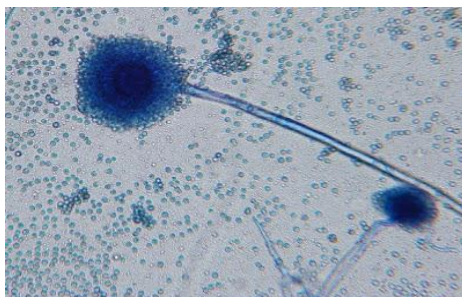


Figure 03 : micrographie de l'aspect micro-morphologique des souches d'*Aspergillus flavus* après 72h d'incubation observé grâce à un LPCB X 400-Nikon (Youri, 2012).



Figure 04 : photographie de l'aspect macromorphologique des souches d'*Aspergillus flavus* après incubation 70h à 30°C sur le milieu Sabouraud dextrose (Youri, 2012)

II.1.2 *Aspergillus* section *Nigrii* (*Aspergillus* noires)

Les *Aspergillus* noirs (figure 5 et 6) font partie d'un groupe d'espèces appelé « section *Nigri*» et autrefois connu sous le nom de « *Aspergillus niger* groupe » : toutes les espèces de la section ont des têtes de conidies noires. Ce groupe inclut 15 espèces à spores noires, y compris celles qui ne sont facilement séparées d'*A. niger*, c'est-à-dire *A. tubingensis*, *A. foetidus*, *A.*

carbonarius et *A. awamori*. Les espèces de la section *Nigris* sont des hyphomycètes anamorphes hyalins : certaines ont des formes téléomorphes comprises dans les genres *Eupenicillium*, *Talaromyces*, *Hamigera* et *Trichocoma*. L'*Aspergillus niger* n'a aucune forme téléomorphe connue (Marie-Alix, 2019).

Cette section regroupe des espèces qui sont majoritairement connues pour la synthèse d'ochratoxine A. L'un des représentants de cette section est l'exemple d'*Aspergillus niger* qui est le principal producteur d'ochratoxine A et qui colonise de très nombreux substrats (Ramos et al., 1998).

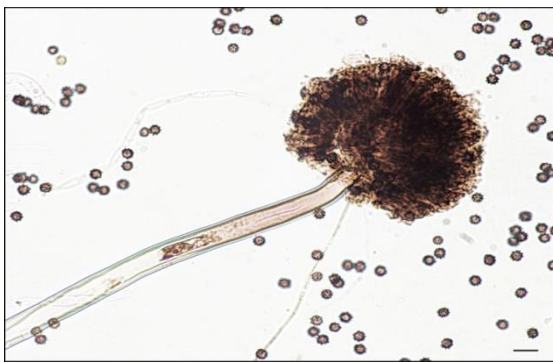


Figure 05 : micrographie d'aspect micromorphologique des souches d'*Aspergillus niger* obtenue suite à une observation au microscope optique (G×100) (Marie-alix, 2019)



Figure 06 : photographie de l'aspect macromorphologique des souches d'*Aspergillus niger* après 72h d'incubation à 30°C sur milieu Meaox (Andersen et al., 2018)

II.1.3 *Aspergillus* section *Circumdati*

La section *Circumdati* (figure 7 et 8) ou le groupe *Aspergillus ochraceus* comprend des espèces à stipes à parois rugueuses, à têtes conidiennes bisériées, à conidies jaunes à ocre et à sclérotés qui ne noircissent pas cette section est révisée et 27 espèces sont acceptées, introduisant sept nouvelles espèces. Environ treize espèces de la section *Circumdati* produisent de grandes quantités d'ochratoxine A, tandis que sept espèces supplémentaires en produisent de manière incohérente et/ou en quantités infimes (Alastruey, 2013).

Les espèces les plus importantes concernant la contamination potentielle par l'ochratoxine A dans les produits agricoles sont *A. ochraceus*, *A. steynii* et *A. westerdijkiae*.

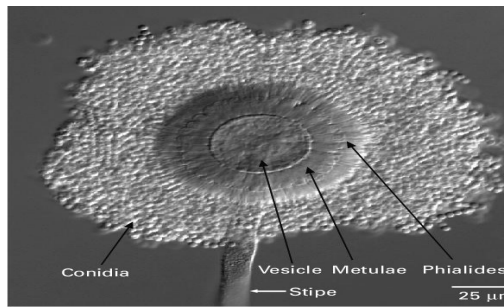


Figure 07 : micrographie d'aspect micro-morphologique des souches d'*Aspergillus ochraceus* (John I Pitt, 2009)

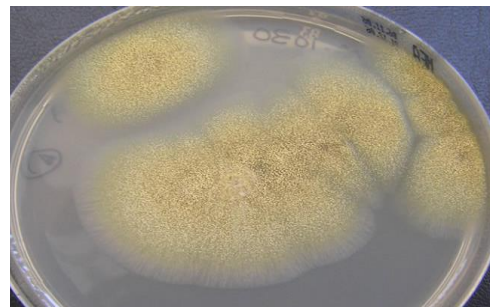


Figure 08 : photographie de l'aspect macromorphologique des souches d'*Aspergillus ochraceus* après 72h d'incubation (Alastruey, 2013)

II.2 Les mycotoxines

Le terme mycotoxine dérivé du grec « mycos », signifiant champignon et du latin toxicum signifiant « poison ». Les mycotoxines sont des molécules capables à de faibles concentrations, d'induire un effet toxique (Reboux *et al.*, 2006).

Les mycotoxines représentent potentiellement de graves risques pour la santé humaine et animale, certaines d'entre eux sont cancérigènes ou mutagène. Tandis que sont toxique pour les reins, le système nerveux ou la fois. Cependant, dans les conditions de culture standard, le métabolisme secondaire fongique reste largement inactif. Par ailleurs, il convient de noter la toxicité ne provient pas forcément de la mycotoxine elle-même, mais peut être due à l'un de ses métabolites issus de sa dégradation (Gauthier, 2016).

II.2.1 Les principales mycotoxines

Les principales mycotoxines sont produites par cinq genres fongiques notamment *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* et *Alternaria*. Leurs propriétés toxiques chez l'homme et l'animal, est dues à leur fréquence de contamination des matières premières et des aliments, parmi ces substances toxiques on distingue les aflatoxines, l'ochratoxines A, les Fusariotoxines (Behnas et Benayache, 2015).

II.2.1.1. Les aflatoxines

Les plus répandues des mycotoxines sont les Aflatoxines produites par certaines espèces du taxon *Aspergillus* à savoir *A.flavus*, *A.parasiticus* et *A.nomius* (Pfohl Leszkowicz, 2013).

Ces aflatoxines sont produites lorsque les conditions de stockage sont défectueuses. Il existe six types d'aflatoxines : B1, B2, G1, G2, M1 et M2 qui sont connues pour leurs pouvoir cancérigène, mutagène. L'intoxication aigue par les aflatoxines se traduit par des symptômes de dépression, anorexie, diarrhée ou d'anémie, pouvant aller jusqu'à la mort (**Quilien ,2002**).

II.2.1.2. Les ochratoxines

La famille des ochratoxines comprend une dizaine de molécules toxiques sachant que l'ochratoxine A est le représentant le plus néphrotoxique. Cette mycotoxine est produite par différentes espèce de *Penicillium* et d'*Aspergillus (A.ochraceus)*.

L'ochratoxine est considérée par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) comme un agent potentiellement cancérigène pour les humains d'après ses effets néphrotoxiques, hépatotoxiques, immunotoxiques, tératogènes et cancérigènes (**Storari et al., 2010**).

La température optimale de sécrétion de l'OTA par *Aspergillus ochraceus* est 28°C, cette production étant fortement réduite à 15 °C ou 34°C. Au contraire, *penicillium viridicatum* se prolifère et peut produire de l'OTA dans une gamme de température qui varie de 4à30°C. Dans les régions froides l'OTA est donc plutôt produite par *Penicillium*, alors que dans les régions chaudes, ce sont plutôt les *Aspergillus* qui la synthétisent (**Pohland et al. ,1992 ; Varga et al. ,1996**).

II.3 Prévention et lutte contre le genre *Aspergillus* et leur toxine

En raison des risques potentiels sur la santé humaine et animale liés à la production d'OTA et d'énormes pertes économiques causées par l'accumulation de cette mycotoxine sur les céréales, fruits secs et figes ...etc., la prévention contre la formation de cette dernière est l'une des préoccupations majeures des scientifiques. En effet, cette prévention dépend essentiellement de la méthode utilisée, le moment d'emploi (avant ou après la récolte) et surtout du type de champignons responsables de sa production (**Kabak et al., 2006**).

II.3.1 Les méthodes chimiques

II.3.1.1 Les fongicides

Les fongicides, substances chimiques, ont prouvé leur performance contre la production de l'OTA sur les vignes et plusieurs cultures agricoles mais présente certains inconvénients écologiques (**Tjamos et al., 2004**).

II.3.2 Les méthodes physiques

Les méthodes physiques de décontamination reposent sur le nettoyage, tri ainsi qu'à l'irradiation éliminant les fractions contaminées de l'aliment (**Aziz et al., 2004, Refai et al., 1996, Kanapitsas et al., 2016**).

II.3.3 Les bactéries lactiques en lutte biologique

Les bactéries lactiques sont l'une des sources puissantes de substances antifongiques et antibactériennes. Leur application à la conservation des denrées alimentaires et des aliments pour animaux a été documentée par de nombreux chercheurs.

Les bactéries lactiques sont sans danger tant du point de vue humain qu'environnemental (**O'Sullivan et al., 2002**).

Les bactéries lactiques sont utilisées dans la bio-conservation de plusieurs aliments en raison de leur capacité de production de composés antibactériens et composés d'antifongiques (**Magnusson et Schnurer, 2001**).

II.3.4. La stratégie de bio-contrôle

Elle repose sur l'utilisation des substances bioactives (composés naturels) issus des plantes (composés phénoliques, huiles essentielles) (**Khoury, 2017**).

III. Molécules bioactives et leurs activités biologiques

Les antioxydants naturels peuvent être des composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes), des caroténoïdes ou des vitamines (acide ascorbique, tocophérols) apportés par l'alimentation.

III.1 Polyphénols

Les polyphénols, métabolites secondaires des végétaux, regroupent approximativement 8.000 composés naturels caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec les glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (**Anastasopoulos et al., 2011**). Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient par la complexité et le degré de modifications de squelette de base et par les liaisons de ces molécules avec d'autres molécules (glucides, lipides, etc.) (**Ribereau Gayon, 1968**).

Les composés phénoliques diététiques incluent les acides phénoliques, les polymères phénoliques, et les flavonoïdes. Les acides phénoliques sont représentés par divers groupe incluant les acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques. Les polymères phénoliques sont

des composés à poids moléculaire élevé, tels que les tannins condensés **Curtay et Robin, 2000 ; Siricha et al., 2010**).

Les polyphénols renforcent nos défenses naturelles contre le stress oxydatif et prévient ainsi de diverses maladies chronique. La biodisponibilité des polyphénols a un effet sur la capacité antioxydante des tissus. *In vitro*, le pouvoir antioxydant de nombreux polyphénols est supérieur à celui de la vitamine C et de la vitamine E (**Christian, 2030**).

L'activité anti-oxydante des composés phénoliques se manifeste par leur grande réactivité en perdant un proton pour donner un radical libre fortement stabilisé inhibant ainsi l'oxydation de façon indirecte en désactivant l'oxygène singulet (1O_2) ou en chélatant les métaux (**Dupas, 2005**).

L'action antimicrobienne est liée à leur capacité de dénaturer les protéines et agissent en provoquant la fuite cytoplasmique des constituants (les protéines, le potassium et le phosphore), qui est peut-être due à la perturbation du peptidoglycane de la cellule (**Sousa et al., 2006**). Les polyphénols s'adhèrent aussi, à la surface de la membrane plasmique et pénètrent à l'intérieur de la cellule bactérienne, inactivant ainsi certaines enzymes telles que les perméases impliquées dans le transport des substrats (aminoacides et des polysaccharides), ce qui peut entraîner une modification de la perméabilité cellulaire, induisant la lyse de la cellule bactérienne

III.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une large gamme de composés phénoliques naturels dont plus de 4000 molécules ont été identifiés (**Yanishlieva, 2001**). Ils sont abondants et omniprésents dans les plantes, produits généralement en tant que dérivé glycosylé (**Hertog, 1993**). Ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (Annexe IV). Selon la structure du cycle intermédiaire (cycle C), les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones et les anthocyanes (**Fuhrman et Aviram, 2002 ; Iwashina, 2000 ; Rice-Evans et al., 1996 ; Xiao et al., 2000**).

Les anthocyanes, se caractérisent par une structure de base du cation flavilium (**Céline-Aubert et Amiot-Carlin, 1999**). La couleur varie selon le pH du milieu et la présence de métaux, rouges en milieu acide et bleus en milieu alcalin (**Berthet et Costesec, 2006 ; Hadi, 2004**). Ils sont très sensibles à la lumière et à la chaleur (**Vierling, 1999**).

L'action antimicrobienne des flavonoïdes est souvent expliquée par l'inhibition de fonctionnement de la membrane cytoplasmique, provoquant par la suite une lésion de la bicouche lipidique par pénétration directe en arrêtant la fonction de la barrière membranaire ou par la fuite de matériel intracellulaire en formant un agrégat par l'union des deux membranes (Cushnie et Lamb, 2005 ; Ikigai *et al.*, 1993).

III.3 Caroténoïdes

Ce sont des pigments liposolubles, de couleur jaune à rouge, synthétisés par les plantes phototrophes, présents dans les chloroplastes et dans certains plastes qui colorent les fleurs, les fruits ou les racines (Rodriguez-Amaya, 2001).

Les caroténoïdes appartiennent à la famille des tétra-terpènes (C₄₀), formés de huit unités à cinq atomes de Carbone, liées par le modèle tête-à-queue. Son squelette est linéaire et symétrique à la base et peut avoir des cycles à ses extrémités. Ils contiennent une chaîne centrale hautement polyinsaturée (Rao *et al.*, 1999). L' α -carotène, le β -carotène, la β -cryptoxanthine, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène sont les caroténoïdes les plus communs dans les fruits et les légumes.

III.4 Huiles essentielles

Selon Association Française de Normalisation (AFNOR), les huiles essentielles sont des produits obtenus à partir de matières premières d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation et qui sont ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (Bruneton, 1999).

Les huiles essentielles sont connues pour leurs propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des caractéristiques antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, antioxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (Valnet, 2005).

Leurs propriétés antimicrobiennes (antibactériennes ou antifongiques) sont généralement efficaces contre une large gamme de microorganismes, ces caractéristiques sont utiles pour les infections chez les humains (Remmal, 1993 ; Chami, 2005 ; Caillet *et al.*, 2007).

Les huiles essentielles de plusieurs espèces végétales sont étudiées pour leurs propriétés antifongiques, à la fois contre les organismes fongiques pathogènes responsable des mycoses,

des maladies infectieuses et ceux causant la détérioration des aliments et la production de mycotoxines (**Pandey *et al.*, 2014**).

La grande diversité des composants des huiles essentielles leur confère l'avantage d'avoir différents modes d'action sur plusieurs genres de champignons et empêche ainsi l'apparition du phénomène de résistance par le pathogène (**Cruz Cabral *et al.*, 2013**).

Parmi les activités antifongiques, les effets anti-aflatoxinogènes de quelques huiles essentielles nécessite une attention particulière. L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* et *Citrus aurantifolia* inhibent la production des aflatoxines et la prolifération d'*Aspergillus parasiticus*, tandis que celle de *Carum carvi* inhibe uniquement la production des aflatoxines de cette moisissures (**Chizzola, 2013 ; Razzaghi-Abyaneh *et al.*, 2009**).

Matériels et Méthodes

I. Matériel végétal

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire mycologie (faculté science de la nature et de la vie) et du laboratoire de recherche (laboratoire 3BS) de l'université de Bejaïa. Ce travail vise à étudier l'activité antifongique et antioxydante de plantes et d'huiles essentielles afin de les proposer comme alternatives naturelles pour lutter contre la prolifération des moisissures contaminants les figes sèches stockées.

I.1. Echantillonnage

Six échantillons (**figure 9 et 10**) d'espèces végétales différentes ont été sélectionnées afin d'adopter une stratégie de bio-contrôle contre des micromycètes potentiellement toxigènes dans des figes sèches Algériennes. Deux échantillons d'huiles essentielles de pistachier lentisque (*Lentiscuspistacia*) et de la menthe verte (*Mentha viridis*), et quatre plantes dont la menthe (*Menthasp*), le laurier (*Laurusnobilis*), le pistachier lentisque (*Lentiscuspistacia*) et l'inule visqueuse (*Dittrichiaviscosa*).

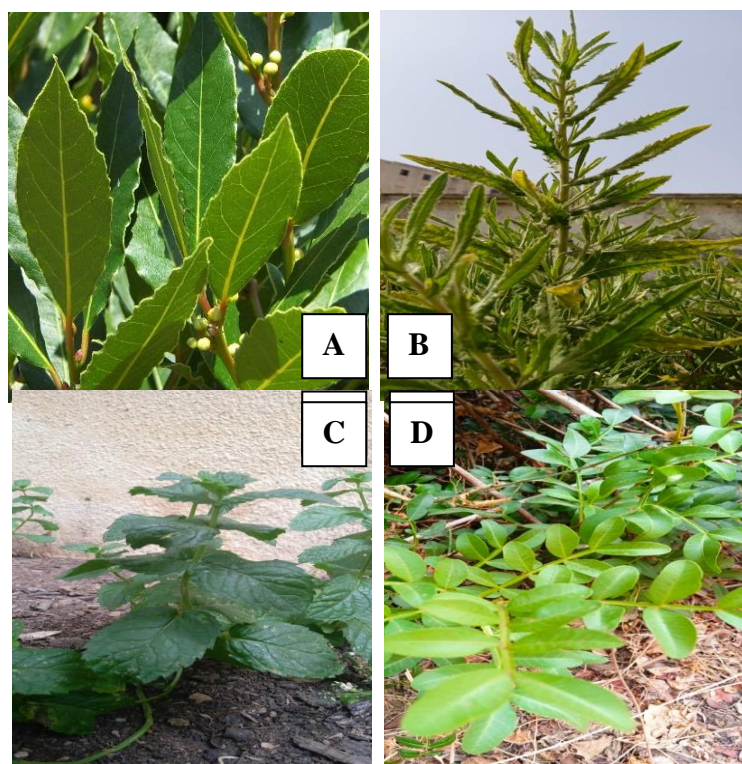


Figure 09 : photographie de plantes étudiées.

A : le laurier **B** : l'inule visqueuse **C** : la menthe **D** : le pistachier lentisque



Figure 10 : photographie de deux l'huiles essentielles étudiées.

Les plantes ont été récoltées à travers les différentes régions de Bejaïa dont deux (la menthe et le laurier) à Sidi-Aiche au mois d'Avril et deux autres (le pistachier lentisque et l'inule visqueuse) à Tala-Hemza pendant le mois de Mai. Les huiles essentielles quant à eux sont achetées chez un herboriste au niveau de la région de Bejaïa.

I.2. Séchage des feuilles

Les feuilles de chaque plante ont été récupérées et mises dans une étuve à 40°C pendant 48h, ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique, tamisées puis conservées dans des bocaux (**figure 11**) en verre à température ambiante dans un endroit sec à l'obscurité jusqu'à utilisation.



Figure 11 : photographie des échantillons de plantes étudiées, après séchage et broyage.

II. Analyses phytochimiques

II.1. Extraction des polyphénols

Afin d'obtenir nos extraits, nous avons utilisé la méthode d'extraction par macération en suivant le protocole décrit par **Romani et al., 2006**, **Mahmoudi et al., 2013** en y apportant quelques modifications : 100mg de la poudre de plante sont macérés à température ambiante pendant 45min avec 20 ml de solution aqueuse d'éthanol à raison de 70 %. Après filtration sur

un tissu mousseline, les filtrats sont centrifugés pendant 20 min à 4000 rpm/min à température ambiante suivie d'une conservation à 4 °C jusqu'à l'usage

II.2. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques totaux des feuilles des plantes étudiées, est déterminée selon la méthode décrite par **Velioglu et al. (1998)**. Les 500 µl d'extrait sont additionnées à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois), auquel un volume de 2 ml de carbonate de sodium (7%) est ajouté après cinq minutes. Après une incubation de 30 min à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 750 nm. La concentration en composés phénoliques des extraits, exprimée en mg équivalent d'acide gallique (E.A.G) /100g, est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique.

II.3. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïde des extraits étudiés, est évaluée selon la méthode décrite par **Ordonez et al. (2006)**. Pour 1,5 ml d'extrait 1,5 ml de chlorure d'aluminium (2%) sont ajoutés. Le mélange est ensuite agité et incubé à température ambiante pendant 15 min, l'absorbance est ensuite mesurée à 430 nm. La teneur en flavonoïdes, exprimée en mg d'équivalent de quercétine (E.Q)/100g, est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions avec de la quercétine

II.4. Dosage des caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes des extraits analysés est déterminée selon la technique décrite par **Zamora et al. (2005)**, qui consiste à extraire les caroténoïdes, à l'abri de la lumière, en homogénéisant 2g d'échantillon broyés avec 15 ml d'un mélange de solvants (hexane, acétone, méthanol, toluène : **5 : 3.5 : 3 : 3.5, v/v/v/v**) pendant 20 à 30 min. Deux millilitres d'une solution de KOH (1M) sont additionnés au mélange qui sera gardé à l'abri de la lumière pendant 17h. Ensuite, sont ajoutés respectivement, 15 ml d'hexane et après une minute, 15 ml d'une solution de sulfate de sodium (1%). Le mélange est laissé à décanter, à l'abri de la lumière, pendant une heure et la phase supérieure qui représente l'extrait caroténoïde est récupérée. L'absorbance des extraits est mesurée à 450 nm et la concentration en caroténoïdes est estimée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la β-carotène.

II.5. Détermination de l'activité antioxydante et anti-radicalaire des extraits étudiés

Dans le but de déterminer les activités antioxydantes et antiradicalaire de nos échantillons, deux méthodes ont été suivies. La première consiste en l'estimation du pouvoir réducteur qui mesure la capacité des extraits à réduire les ions métalliques et la deuxième en l'évaluation du pouvoir antiradicalaire en mesurant le pourcentage de neutralisation d'un radical (DPPH*, ABTS*+) par les antioxydants présents dans les extraits.

➤ Neutralisation du radical DPPH*

Le taux d'inhibition du radical DPPH* des extraits étudiés est évalué selon la méthode décrite par **Brand-Williams *et al.* (1995)**, légèrement modifiée par **Lim *et al.* (2006)**.

Pour cela 2 ml de DPPH (0.06 mg/ml) sont ajoutés à 500µl d'extrait. On incube pendant 30 min à l'abri de la lumière, puis l'absorbance des extraits est mesurée à 517 nm. Le pouvoir anti-radicalaire des extraits est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical DPPH selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition\%} = [\text{AbsT} - \text{Abs Ech} / \text{Abs T}] \times 100$$

➤ Neutralisation du radical libre ABTS

Le pouvoir anti-radicalaire, par la neutralisation du radical cationique ABTS*+ des extraits de plantes étudiés est évalué selon le Protocole décrit par **Re *et al.* (1998)**.

Une solution aqueuse d'ABTS est préparée à une concentration finale de 7mM (36.2g/10ml). Afin d'activer la formation des formes cationique ABTS+, la solution est additionnée de persulfate de potassium à raison de 2,45mM (5.58g/10ml) et l'ensemble est agité et laissé à l'obscurité et à température ambiante pendant 12-16 heures avant son utilisation. Pour mesurer l'activité antioxydante des extraits, la solution ABTS*+ doit être diluée avec de l'éthanol et mesurer une absorbance de 0.7 (± 0.02) à 734nm. Un volume de 990µl de cette solution est ajouté à 10 µl d'extrait (diluée en cas de besoin), puis on mesure l'absorbance chaque minute pendant 6 minutes, à 734nm.

Le pouvoir anti-radicalaire des extraits est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical cationique ABTS*+ et est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pouvoir anti-radicalaire de l'ABTS+} = (\text{AbsEch} - \text{AbsT}/\text{AbsT}) * 100$$

II.6. Activité antioxydante des huiles essentielles**➤ Activité anti radicalaire par la méthode DPPH**

L'activité de piégeage des radicaux DPPH des huiles essentielles a été mesurée comme décrit par (**Velazquez et al., 2003**).

Un volume de 0,5ml de chaque huile essentielle solubilisée dans le méthanol a été ajoutée à 1ml de solution de DPPH (20mg /ml dans du méthanol) fraîchement préparée. Après agitation, le méthanol a été incubé pendant 15min à l'obscurité a été mesurée à 517 nm contre un blanc (mélange sans huile essentielle). La quercitrine a été utilisée comme témoin positif. Le pourcentage d'inhibition des radicaux libre DPPH a été calculé selon la formule :

$$I \% = (1 - \text{Abs échantillon} / \text{Abs blanc}) \times 100.$$

➤ Activité anti-radicalaire par le test ABTS

La solution ABTS est préparée en mélangeant 8mmole de sel ABTS avec 3 mmole de persulfate de potassium dans 25ml d'eau distillée, puis conservée à température ambiante dans l'obscurité pendant 16h avant son utilisation cette solution est ensuite diluée avec de l'éthanol à 95% (environ 600ul d'ABTS et 40 ml d'éthanol 95%), afin d'obtenir une absorbance de 0,8 à 0,9 à 734nm.

Un volume de 20µL de chaque huile essentielle est ajouté à 1 mL de la solution radicalaire d'ABTS. Le mélange est incubé à 37°C à l'abri de la lumière pendant 30min. Un contrôle constitué de 20ul de méthanol et 980ul de la solution ABTS est effectué avec chaque série d'extraits à 734nm. L'éthanol à 95 % est utilisé comme un blanc. Tous les tests sont reproduits au moins trois fois.

La capacité de piégeage des radicaux libres a été exprimée par la concentration effective CE50 de l'antioxydant, elle représente la concentration nécessaire pour récupérer 50% de radicaux d'ABTS (**Hammoudir et al., 2015**).

III. Analyses mycologiques

L'identification de la mycoflore présente dans les échantillons de figes sèches prélevés utilisés pour la recherche des souches de moisissures potentiellement mycotoxinogènes produisant des ochratoxines A et des Aflatoxines a été effectuée.

III.1. Isolement de la mycoflore présente dans des échantillons de figes sèches collectées à travers différentes régions de la wilaya de Bejaia

L'isolement et la détermination de la mycobionte présente dans les échantillons de figes sèches collectées (**figure 12**) dans le but d'identifier des espèces fongiques potentiellement aflatoxinogènes et ou ochratoxinogènes est réalisé comme suit :

Afin de réaliser un isolement de la flore fongique présente dans des échantillons de figes sèches la méthode de contact direct, décrite par **Singh *et al.* (1991)**, **Filtenborg *et al.* (1995)** et **Tabuc (2007)**, sur le milieu de culture Dichloran, Glycerol, Chloramphénicol, Agar est effectuée. Pour cela il faut en premier lieu stériliser la pellicule des figes sèches avec de l'éthanol à raison de 70% à l'aide de coton cardé afin d'éliminer les conidies exogènes. Ensuite les figes sont découpées en 4 à 5 morceaux en utilisant un scalpel stérile et déposées à la surface du milieu de culture (DG18) en exerçant une pression ce qui permettra aux portions de ses fruits secs de s'incruster dans la gélose. Les boîtes sont ensuite incubées à 28°C pendant 5 à 7 jours.

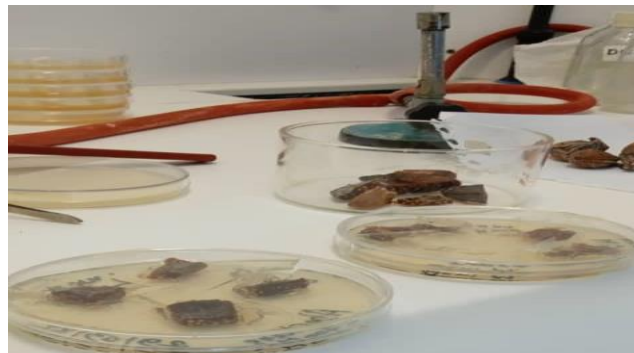


Figure 12 : isolement de la mycoflore présente dans la fige sèche avec la méthode du contact direct.

III.2. Repiquage et purification

Après incubation 5 à 7 jours, une purification est effectuée des isolats obtenus par des repiquages successifs sur le même milieu de culture DG18 jusqu'à l'obtention de souches pures. Le repiquage est fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une pipette stérilisée tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte sur le milieu. Ce fragment a été déposé au centre d'une nouvelle boîte de Pétri soigneusement étiquetée. Les souches pures obtenus seront par la suite soumises à une identification

morphologique réalisée par observation macroscopique et microscopique au grossissement G*10 (Guiraud, 2003).

III.3. Etude du pouvoir ochratoxinogène et aflatoxinogène des isolats appartenant au genre *Aspergillus*

III.3.1. Détection rapide de la capacité ochratoxinogène des souches fongiques du genre *Aspergillus* section *Nigrii* sur le milieu CYA

Afin de détecter la biosynthèse d'OTA, la technique de Détection Rapide (TDR) est préconisée. Pour ce faire on utilisera le milieu de culture Czapek extrait de levure agar. La méthode utilisée est celle décrite par **Atanda *et al.*, (2011)** comme suit : environ 20 ml de milieu de CYA ont été coulés dans des boîtes de Pétri puis Chaque boîte sera inoculée avec 40 µl de suspension conidiennes issue des souches d'*Aspergillus* isolées des différentes variétés de figes collectées. Chaque suspension sporale a été préparée en ajoutant 10 ml d'eau distillée stérile au milieu de culture contenant la souche fongique préalablement proliférée sur le milieu DG18 et conservée à 4°C. Les boîtes de pétri inoculées seront incubées à 30°C pendant 6 à 7 jours et les caractéristiques du milieu de culture seront examinées comme suit : le verso de chaque boite de Pétri est observé tous les jours pendant 8 jours à 28°C sous une lampe UV à une longueur d'onde de 365 nm pour vérifier la présence d'un anneau de fluorescence (bleu) qui indique l'ochratoxinogénicité des isolats fongiques (**Sultan et Magan 2010 ; Atanda *et al.*, 2011. ,Adjou *et al.* ,2013).**

III.3.2. Détection rapide de la capacité aflatoxinogène des souches fongiques du taxon *Aspergillus* section *Flavii* sur le milieu CAM

Dans le but de détecter les capacités aflatoxinogènes des isolats fongiques l'expérience de Détection Rapide (TDR) est réalisée. Pour cela le milieu de culture préconisé est coconut extract agar. La méthode utilisée est la suivante : environ 20 ml de milieu de CAM ont été coulés dans des boîtes de Pétri qui seront inoculée avec 40 µl de suspension sporale issue des souches d'*Aspergillus* isolées des différentes figes sèches collectées. Chaque suspension conidiennes a été collectée en ajoutant 10 ml d'eau distillée stérile au milieu de culture contenant des souches fongiques préalablement développées sur le milieu DG18 et conservées au réfrigérateur à 4°C. Les boîtes de pétri inoculées seront incubées à 30°C pendant 48h et les caractéristiques du milieu de culture seront examinées comme suit : le verso de chaque boite de Pétri vont être observé tous les jours pendant 8 jours à 28°C sous une lampe UV à une longueur

d'onde de 365 nm pour vérifier la présence d'un anneau de fluorescence (bleu vert) qui indique les pouvoirs aflatoxinogènes des souches fongiques isolées (**Sultan et Magan 2010 ; Atanda et al., 2011 ; Adjou et al. ,2013**).

III.4. Activité antifongique et test d'antagonisme

Afin de tester l'activité antifongique des extraits de plantes et des huiles essentielles étudiés, la méthode de diffusion en milieu solide est choisie (**Belhattab et al., 2004**) en déterminant les diamètres des zones d'inhibition autour des disques. Ce test est réalisé en suivant les étapes décrites ci-dessous :

III.4.1. Préparation de l'inoculum

Une suspension sporale de chaque champignon filamenteux est préparée, et ce en versant au-dessus de la boîte de pétrie 10ml d'eau distillée stérile. Après raclage à l'aide d'une pipete pasteur, la suspension de conidies est récupérée dans un tube à essai, à laquelle on rajoute quelques gouttes de Tween80 pour disperser les spores et on procède au comptage à l'aide d'une cellule de Malassez. Le comptage permet d'avoir la même charge sporale sur l'ensemble des boîtes de Pétri, ainsi la suspension est ajustée à raison de 10^7 spores/ml. 100µl de cette suspension est ensuite ensemencé à la surface d'une boîte de Pétri de 90 mm contenant le milieu DG18.

III.4.2. Dépôt des disques

Des disques de 6 mm de diamètre de papier Wattman stériles, sont imprégnés de deux concentrations de chaque huile essentielle pure (10 et 20 µl) et sont déposés au centre de la boîte de Pétri préalablement ensemencées avec les spores du micromycète. La lecture des résultats se fait après incubation à 28°C pendant 72h.

Un témoin négatif a été réalisé par un dépôt de 10 µl de DMSO sur des disques entreposés sur un milieu préalablement ensemencé. Ce témoin est généralement considéré comme un solvant de solubilisation des huiles essentielles et il n'a aucun effet sur la croissance fongique. Les boîtes de Pétri sont par la suite incubées à 28°C (**Djenane et al., 2011**).

Résultats et Discussion

I. Analyses phytochimiques

Après l'obtention de nos extraits de plantes, choisi pour notre étude, en suivant la méthode décrite par **Romani *et al.* (2006)**, **Mahmoudi *et al.* (2013)**, plusieurs dosages et l'étude des activités antioxydantes ont été réalisés.

I.1 Dosage des antioxydants

I.1.1 la teneur en polyphénols totaux

La concentration des polyphénols totaux est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue, en utilisant l'acide gallique à 10% comme standard et l'équation de la droite de régression est comme suit : $y = 1,3391x$; $R^2 = 0,9993$

La densité optique augmente linéairement avec la concentration du complexe (acide gallique / réactifs) (**Ghedadba *et al.*,2015**). Les résultats sont exprimés en mg EAG/g.

D'après les résultats obtenus tout le contenu phénolique dans les extraits examinés s'est étendu de 3,98 à 7,22 mg EAG/100 g d'extrait. La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait de l'Inule visqueuse avec une valeur de 7.22 ± 0.63 mg EAG/100 g puis en second place vient la menthe échelonnée à $6,09 \pm 0.37$ mg EAG/100 g, puis le Lentisque avec la valeur de $4,01 \pm 2,24$ mg EAG/100 g et le Laurier avec la valeur la plus faible enregistré à $3,98 \pm 0,60$ mg EAG/100 g.

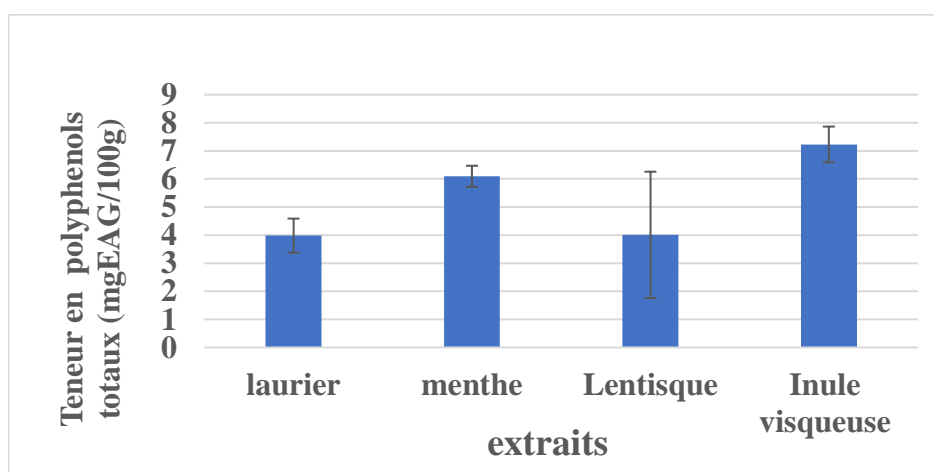


Figure13 : Représentation graphique de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits de feuilles de plantes étudiés.

Dans notre étude la valeur enregistrée pour l'Inule visqueuse est inférieure à celles obtenues par **Rhimi *et al.* (2019)** et **Chahmi *et al.* (2015)**. Ces derniers ont étudié l'espèce

Dittrichia viscosa de différentes régions du Maroc et ont rapporté des taux en polyphénols qui varient de 140 à 274 mg EAG/ g d'extrait en utilisant l'acétate d'éthyle et l'éthanol comme solvants de solubilisation.

La teneur en polyphénols de notre extrait de menthe enregistrée est inférieure comparé aux résultats obtenus par **Aliaghi et al. (2008)** où ils ont enregistré des teneurs estimées à $331 \pm 6,5179$, et $44 \pm 0,76$ mg GAE /g d'extrait après 48h de macération, ce qu'on remarque également dans l'étude obtenue par **Brahmi et al. (2016)** où cette dernière enregistre des teneurs en polyphénol de $23,8 \pm 3$ et $79,44 \pm 0,79$ mg GAE /g et cela après que les extraits méthanoliques soit préparés par macération pendant 24h. Ces résultats nous indiquent donc que le temps d'extraction et de macération peut influencer sur la concentration des polyphénols totaux.

La quantité en polyphénols totaux des feuilles de lentisque est inférieure à celle trouvée par **Atmani et al. (2009)** (136.25 ± 18.9 mg E AG / g). La richesse de l'espèce *Pistacia lentiscus* en polyphénols a été également confirmée par d'autres travaux (**Goli et al., 2005**), où la teneur la plus élevée des polyphénols totaux est marquée chez *Pistacia vera* avec un taux de 34,7 mg Eq d'acide tannique/g de la plante.

A partir de la figure, on remarque que la teneur en polyphénols de l'extrait du laurier est très faible comparé aux résultats trouvés par **Popovici et al. (2009)**, par **Yakhlef et al. (2011)** et **Fernandes et al. (2011)** ayants obtenus respectivement des teneurs en polyphénol égales à 129.09 ± 7.50 mg EAG/g et $14,37 \pm 2,12$ mg EAG /g. Ces différences de résultats peuvent être dues à la faible spécificité du réactif folin-Ciocalteu qui est le principal inconvénient de ce dosage colorimétrique. Il a été montré que le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles (OH) non seulement celles des composés phénoliques mais également de certains glucides et protéines (**Vuorela ,2005 ; Gomez _Caravaca et al. ,2006**)

De plus des études ont montré que les facteurs environnementaux tels que les précipitations et la température, ainsi que la composition du sol, la saison de culture et de récolte, la localisation géographique, la maturité de la plante et la durée de conservation, peuvent modifier les teneurs en composés phénoliques. Ainsi que les méthodes d'extraction et des dosages différents (**Borges et al., 2013**).

I.1.2 la teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes des divers extraits est déterminé en suivant la méthode spectrométrique avec du chlorure d'aluminium. Le contenu des flavonoïdes a été exprimé en termes de mg équivalent de quercétine EQ/100g d'extrait.

Les quantités des flavonoïdes correspondantes de nos extraits ont été déterminées par l'équation : $Y = 1,1241X$; $R^2 = 0,9895$.

À partir de la courbe d'étalonnage de la quercitrine et de la figure 18. Les résultats obtenus indiquent que la teneur en flavonoïdes de nos extraits varie de 0,45 à 1,90 mg EQ/100g d'extrait. L'extrait de l'inule visqueuse contient la concentration de flavonoïde la plus élevée ($1,90 \pm 0,20$ mg EQ/100g). La concentration des flavonoïdes dans l'extrait de menthe était $1,22 \pm 0,27$ mg EQ/100 g d'extrait, suivie par l'extrait du Pistachier lentisque $0,64 \pm 0,02$ mg EQ/100g puis vient l'extrait de laurier avec la concentration la plus faible $0,45 \pm 0,02$ mg EQ/100g.

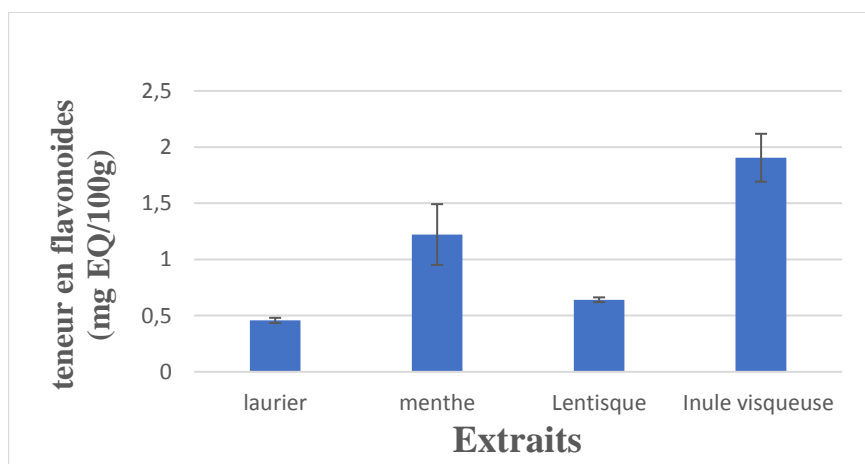


Figure14 : Représentation graphique la teneur en flavonoïdes des différents extraits de feuilles de plantes étudiés.

Nous remarquons que nos extraits phénoliques ont une très faible teneur en flavonoïdes. Nos résultats en termes de flavonoïdes pour l'extrait de l'Inule visqueuse restent inférieurs par rapport à ceux de **Chahmi et al. (2015)** ainsi qu'à ceux de **Ramli. B, (2013)**, le résultat de cette dernière est de $13,25 \pm 0,34$ mg Eq/g.

La teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de la menthe préparée par la technique de macération à froid, est estimée à $(350,10 \pm 0,96$ mg GAE/g) selon le travail de

Benabdallah et al. (2016) et par macération à chaud est estimée de (79.44+ 0.76mg GAE/ g) selon **Kebieche et al. (2017)**. Quant à nos résultats obtenus en suivant la méthode de macération à température ambiante, nous avons enregistré une très faible teneur en flavonoïdes, ce qui nous permet de déduire que la température de macération est un facteur qui influence la teneur en flavonoïdes.

Des analyses photochimiques effectuées par **Benamar et al. (2010)** ; **Djidel et al. (2013)** ; **Barbouchi et al. (2020)** enregistrent des teneurs faibles en composés phénoliques des extraits des feuilles de Pistachier lentisque L. Le taux en flavonoïdes de l'extrait aqueux du lentisque inscrit par **Atmani et al., (2009)** et par **Cherbal et al., (2012)** est respectivement supérieur à celui enregistré dans la présente étude ($12,93 \pm 1,69$; $38,7 \pm 0,02$ $\mu\text{g QE/mg}$ vs. $112,84 \pm 0,88$ $\mu\text{g QE/mg}$) et cela peut s'expliquer également par les différents paramètres environnementaux.

La teneur en flavonoïde du laurier est faible, ce qui correspond à l'étude réalisée par **Yakhlef et al. (2011)** sur les feuilles de la même espèce où ils ont enregistré une faible teneur en flavonoïde avec une quantité de $0,77 \pm 0,07$ mg EQ /g. dans ce cas on peut dire que le Laurier présente une faible teneur en flavonoïdes.

I.1.3 la teneur en caroténoïdes

La concentration des caroténoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue, en utilisant la β -carotène comme standard et l'équation de la droite de régression est comme suit : $y = 0,8124x$; $R^2 = 0,9997$

Le dosage des caroténoïdes des extraits est exprimé en mg E β -carotène/100g. les résultats obtenus ont montré que la teneur de nos extraits de plantes varie de 3.45 à 26.18 mg E β -carotène/100g d'extraits et que la concentration en caroténoïdes la plus élevée est enregistré dans l'extrait du Pistachier lentisque avec une valeur de $26,18 \pm 1,27$ mg E β -carotène/100g suivie par l'Inule visqueuse dont la concentration est de $10,75 \pm 0.30$ mg E β -carotène/100g, puis la Menthe avec $3,96 \pm 0.08$ mg E β -carotène/100g et le Laurier avec 3.45 ± 0.89 mg E β -carotène/100g.

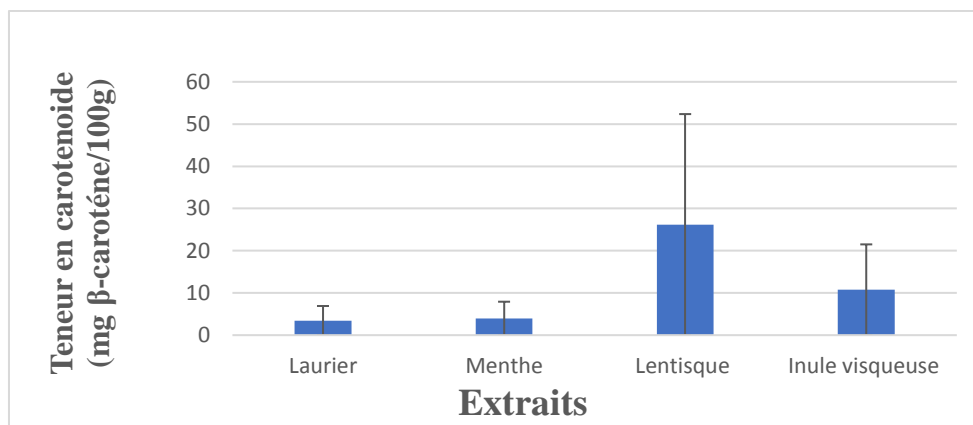


Figure 15 : Représentation graphique la teneur en caroténoïdes des extraits de feuilles de plantes étudiés.

La teneur en caroténoïdes de l'extrait de lentisque est légèrement supérieure à celle rapporté par **Manai et al. (2012)**, qui ont noté des valeurs entre 1,07 mg E β-carotène/100g et 3,82 mg E β-carotène/100g.

D'après les travaux de **Ben Rahal, (2008)**, le dosage des antioxydants de la graine et des huiles de *Silybum marianum* (Chardon-Marie) qui est de la même famille que l'inule Visqueuse (*Asteraceae*), extraits ont permis de donner une idée générale sur la composition poly phénolique, les caroténoïdes avec des valeurs égales à $1,9 \pm 1,2$ mg E β-carotène/g pour les graines et $13,4 \pm 0,7$ mg E β-carotène/g. Comparé à nos résultats des extraits de feuille de la plante, ils sont en accord avec ces derniers.

Le taux des caroténoïdes des plantes dépend du degré de la maturation et d'oxydation selon l'expérience effectuée par **Gimeno et al., (2002)**. En effet, au cours de la maturation, la teneur en caroténoïdes diminue graduellement (**Roca et Minguez-Mosquera, 2001**).

I.2. Détermination de l'activité antioxydante et anti-radicalaire des extraits étudiés

I.2.1. Neutralisation du radical DPPH*

L'activité antiradicalaire des différents extraits a été évaluée par leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH*, mesurée à 517 nm. Les standards utilisés étaient la quercétine, l'acide gallique, le BHA (hydroxyanisolbutylé) et le BHT (butylhydroxytoluène).

Le DPPH* est un radical libre permettant de déterminer le potentiel de piégeage des huiles et des extraits grâce à sa sensibilité à détecter les composants actifs à de basses concentrations (**Yi et al., 2008**). Il est aussi bien connu que quand une solution de DPPH* est

mélangée avec celle d'une substance contenant des antioxydants, le radicale libre stable DPPH de couleur violette foncée subit une décoloration facilement mesurable (Molyneux,2004).



Figure 16 : Photographie représentant l'Activité antioxydante des extraits méthanoliques.

Parmi les quatre extraits de plantes, l'extrait du Laurier représente l'extrait le plus actif avec un IC₅₀ de l'ordre de $20,18 \pm 3,39 \mu\text{g/ml}$ suivi par l'extrait de Menthe avec un IC₅₀ de $26,45 \pm 0,75 \mu\text{g/ml}$ puis l'Inule visqueuse avec un IC₅₀ de $52,32 \pm 11,24 \mu\text{g/ml}$ et enfin l'extrait du Pistachier lentisque avec un IC₅₀ de $61,23 \pm 11,14 \mu\text{g/ml}$. L'activité antiradicalaire des différents extraits de feuilles de plantes ainsi que les huiles essentielles a été illustrée dans les Figures (21, 22 et 23).

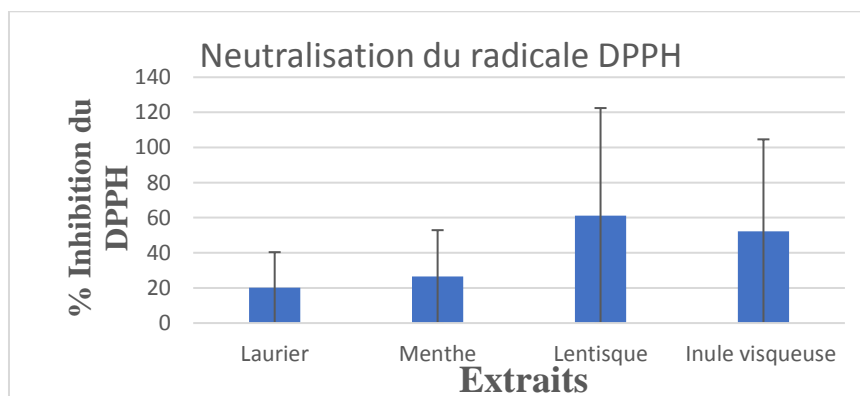


Figure 17 : Représentation graphique de l'activité antioxydante du DPPH*des différents extraits de plantes étudiés.

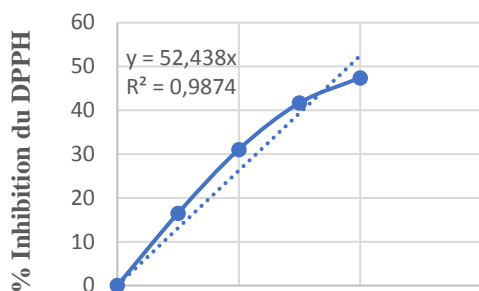


Figure 18 : Pouvoir antiradicalaire de l'huile essentielle de la Menthe.

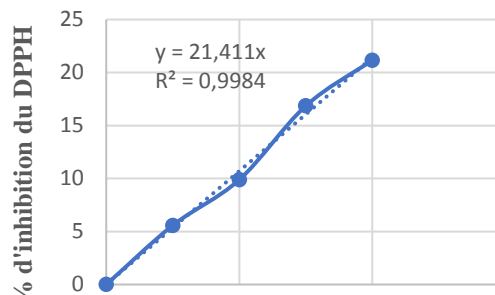


Figure 19 : Pouvoir antiradicalaire de l'huile essentielle du Pistachier lentisque.

L'inhibition du radical DPPH* est exprimée en IC50, ce paramètre est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait capable de piéger 50% des radicaux libres DPPH* dans le mélange réactionnel ou l'activité la plus forte correspond à l'IC50 la plus faible.

L'activité antiradicalaire des extraits méthanoliques obtenus à partir des feuilles de Lentisque, Menthe, Inule visqueuse et laurier a été fait en comparaison avec celle de l'acide ascorbique.

Des recherches faites sur les extraits éthanoliques du Laurier à différentes concentrations montrent une forte activité inhibitrice par rapport aux BHA et BHT (El masfa *et al.*, 2005). Conforti *et al.* (2006) ont cherché à comparer l'effet antioxydant du Laurier sauvage et du laurier cultivé, où ils ont trouvé que le Laurier cultivé est riche en terpènes comme le Linon, Terpinole, l'acétate, α térpinyl, le thymol, le caryophyllène, l'aromandène, le selinène...etc, tandis que le Laurier sauvage contient un taux élevé en eugénols et méthyle d'eugénol, vitamine E et stérols et a présenté une activité antioxydante plus intéressante, on peut attribuer cela à la diversité et la nature des composés par rapport au Laurier cultivé, ce qui explique aussi sa faible activité antioxydante.

L'étude faite par Norhaliza et Zukify (2017) et Fardijio et sliman (2019) sur l'activité antioxydante des extraits acétoniques et éthanoliques de la plante *Mentha rotundifolia* a permis de conclure que les valeurs des IC50 varient d'un extrait à un autre et que les extraits acétoniques ont une activité antioxydante plus forte (IC50 le plus faible) par rapport aux extraits éthanoliques.

D'après les résultats du test de DPPH* obtenus par Derriche *et al.* (2015) sur différents extraits de l'Inule visqueuse (méthanolique, éthanolique et acétonique) préparé par la technique

du Soxhlet, les extraits méthanoliques sont ceux qui possèdent une activité antioxydante la plus élevée, il est également remarquable que les teneurs en polyphénols suivent les mêmes variations que celle des activités antioxydantes.

L'activité des HEs est exprimé en IC50, ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats (**Abdulmajed et al. ,2005 ; Ranga et al. ,2009 ; Ahmed et al. ,2012**). Il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH, plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité de l'HE testé est grande.

D'après nos résultats et les figures qui illustrent l'efficacité des huiles essentielles et du BHT à piéger le radical DPPH* nous a permis de déduire que l'activité antiradicalaire est dépendante à la concentration de l'HE, car plus la concentration augmente plus l'activité antiradicalaire augmente mais reste faible par rapport aux BHT et BHA, selon **Serigne Mbacké et al. (2021)**.

En comparant nos résultats à d'autres études sur l'huile essentielle de la menthe, tel que l'HE de *M.arvensis* du Sénégal avec une IC50 égal à 19.5µg/ml qui est plutôt intéressante et forte par rapport à *M. pulegium* d'Algérie avec une IC50 égale à 29.4µg/ml et qui est également très faible par rapport à celle de *M. pulegium* du Maroc dont l'IC50 est égal à 6.4 µg/ml (**Ouyehia,2015 ; Achiri, 2018**). Toutefois, le potentiel antioxydant peut varier selon la méthode utilisée.

Quant au Pistachier lentisque, des études ont confirmé que ses différentes parties possèdent une activité antiradicalaire. L'étude effectuée par **Arab et Bouchenat. (2014)** montre que l'extrait phénolique des feuilles de Lentisque présente une activité antioxydante plus importante (100%) par rapport à l'huile essentielle du Lentisque.

Dans notre présente étude l'HE du Lentisque est plus faible comparé à l'HE de la Menthe et cela peut s'expliquer par le fait que l'augmentation du pourcentage d'inhibition soit proportionnelle à la concentration de la solution comme l'indique **Atoui et al. (2005) ; Oke et al. (2009)**.

I.2.2. Neutralisation du radical ABTS*

La méthode utilisant le radical ABTS* se base sur la capacité d'un radical cationique ABTS+ (2,2'-azobis-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique) de coloration bleu-vert qui se

transforme en ABTS incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant. La diminution de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre. La figure ci-dessous illustre les résultats de l'activité antiradicalaire, trouvé par les différents extraits de feuilles de plantes et d'huiles essentielles analysés.



Figure 20 : photographie représentant l'activité antiradicalaire des extraits de plantes et d'HE analysés.

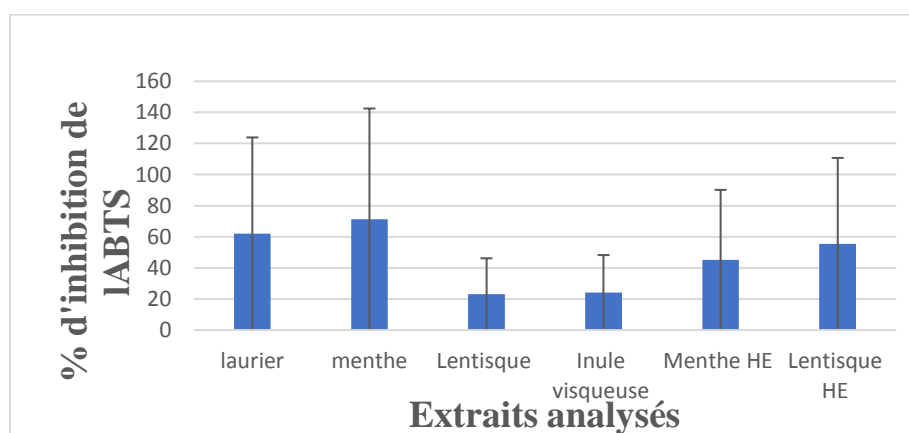


Figure 21 : Représentation graphique de l'activité antiradicalaire de l'ABTS des différents extraits des feuilles de plantes et des Huiles essentielles analysés.

D'après **Khorasani et al. (2015)** les extraits méthanoliques possèdent la plus forte activité de piégeage du radical libre ABTS* en raison de leur forte teneur en composés phénoliques.

Le potentiel de réduction de l'ABTS du Laurier reste plus performant par rapport à certaines activités antioxydantes relevées dans la littérature et celles obtenus par **Brahmi et al. (2015)**. Selon les résultats obtenus par **Stefani et al. (2009)** et **Ester et al. (2011)**, ils trouvent

un potentiel plus important de l'activité antiradicalaire (ABTS) avec un IC50 égal à 0.65µg/ml pour l'extrait méthanolique du *Laurus nobilis*.

Dans une étude similaire réalisé par **Bouyahya et al. (2019)**, les résultats de l'activité antioxydante évalué par l'ABTS montrent qu'il y a une différence entre différente méthode et que l'huile essentielle du Pistachier lentisque a une capacité antioxydante meilleur comparé à l'extrait obtenu à partir des feuilles.

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'IC50 de l'extrait de Menthe est égal à 71.24µg/ml et que l'IC50 de l'huile essentielle de la Menthe verte est égal à 45.07 µg/ml, nous constatant que l'HE de *Mentha viridis* et l'extrait méthanolique de *Mentha sp* étudié ont un bon potentiel antioxydant contre le radical ABTS mais ils restent faibles comparé aux résultats obtenus par **Brahmi et al (2016)**. Cependant, l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *M. viridis* obtenue en utilisant l'ABTS est supérieur à celle enregistré en utilisant le DPPH et ces résultats sont en accord avec ceux trouvé par **Rajurkar et Hande (2011)**, cette supériorité peut être due à la faible sensibilité des radicaux DPPH et à la teneur de leur vitesse réactionnelle comparé à celle de l'ABTS selon **Wenta (2012)**.

Mahmoudi et al. (2016), ont montrés que la concentration efficace d'inhibition radicalaire d'ABTS*à 50% de l'Inule visqueuse est d'ordre de 16,75 µg/ml, et qui est largement inférieure à celle obtenue dans notre étude (24.11 ± 1.56 µg/ml).

II. Analyse mycologique

II.1. Identification macroscopique de la mycoflore présente dans les échantillons de figes sèches collectées

L'étude macroscopique des souches après 9jours d'incubation à 28°C, montre des colonies duveteuses à poudreuses aux couleurs vives et différentes. On remarque la dominance d'une flore fongique comportant des souches de couleur noir caractéristique qui est spécifique aux micromycètes du genre *Aspergillus* section *Nigrii* qui sont potentiellement ochratoxinogènes. Cette mycoflore est presque présente dans 70% des échantillons de figes sèches analysées tandis que les représentants de la section *Flavii*, sont estimés à 30% et aussi d'autres flores fongiques sont représentées de 15 à 20% et cela est presque compatible avec les résultats obtenus par **G. Salih. (2020)**.



Figure 22 : Aspect macroscopique des souches fongiques isolées des différents échantillons de figes sèches collectées après 9 jours d'incubation à 28°C sur milieu DG18.

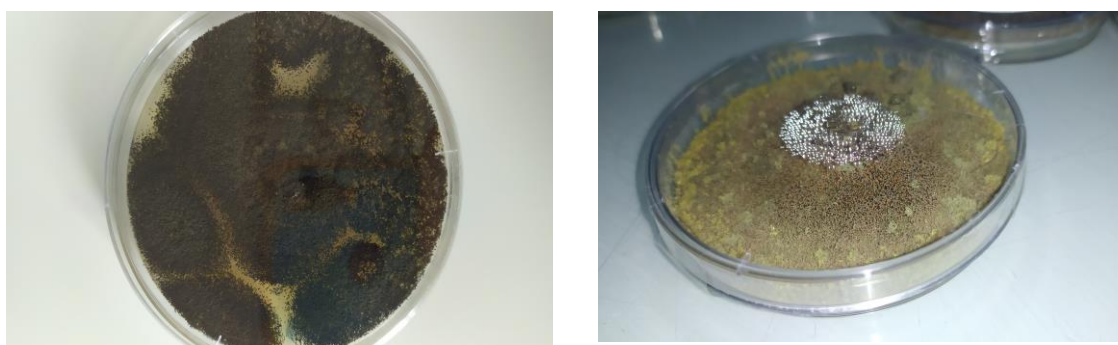


Figure 23 : Aspect macroscopique des souches isolées après purification et repiquage successif sur milieu DG18 après 8 jours d'incubation à 28 °C.

II.2. Identification microscopique des isolats fongiques obtenus

Suite à l'étude micro morphologique à l'aide d'un microscope optique (G*10), on note la présence d'un mycélium cloisonné (conidiophores), phialides formées sur la vésicule comme on peut le distinguer sur la figure (28). Ces critères sont typiques au genre *Aspergillus* section *Nigri* selon ce que rapporte (Tabuc 2007).

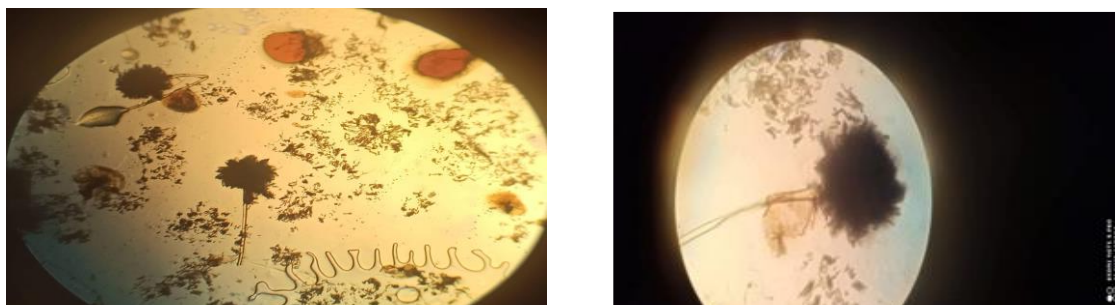


Figure 24 : Aspect microscopique du genre identifié observer sous microscope optique au grossissement G*10.

Les phialides peuvent être insérés directement sur la vésicule, on parle de tête unisériée. Ou bien portées par de petits articles insérés sur la vésicule (les métules), on parle alors de tête bisériée. L'ensemble vésicule (\pm métules) + phialides + conidies, constitue la tête aspergillaire qui caractérise le genre *Aspergillus* (Chabasse *et al.*, 2002).

II.3. L'étude du pouvoir ochratoxinogène et aflatoxinogène des isolats appartenant au genre *Aspergillus* section *Nigrii*

Les résultats de l'étude du potentiel toxigène basée sur la Techniques de Détection Rapide (TDR) des moisissures ochratoxinogènes et aflatoxinogène révèle que la majorité des souches d'*Aspergillus* de la section des *Nigrii* ont produit une fluorescence bleue au revers de la boîte sous lumière UV à la longueur d'onde de 365 nm contrairement au souche *Aspergillus* de la section *Flavii* qui n'ont produit aucune fluorescence. Les cultures d'*Aspergillus* section *Nigrii* de 2 jours ont produit un faible anneau fluorescent bleu entourant la colonie, mais il était nécessaire de prolonger l'incubation pendant 5 à 8 jours pour observer un fond intense de fluorescence bleu vif comme on peut le voir sur la figure suivante.

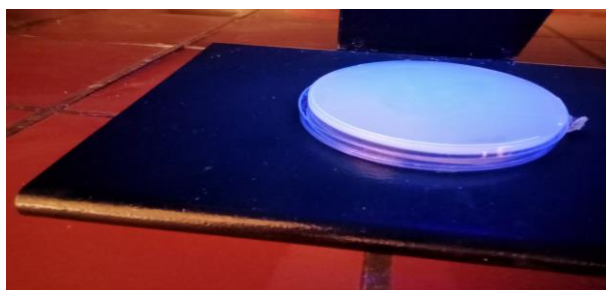


Figure 25 : Etude du pouvoir ochratoxinogène des isolats du genre *Aspergillus* section *Nigrii* sur le milieu CYA après huit jours d'incubation à 28°C sous une lampe UV à 365 nm.

Les *Aspergillus* sont des microorganismes cosmopolites, avec une valeur économique très importante vue leur capacité à produire divers métabolites intéressants pour l'homme mais

c'est un genre qui renferme également des espèces très dangereuses par leur capacité à produire des métabolites toxiques (G.Salih, 2020).

Au sein du genre *Aspergillus*, la section "*Nigri*" ou "*Black aspergilli*" présente la taxonomie la plus conflictuelle malgré tous les efforts fournis pour mieux l'élucider. Cette section est très importante vue l'ochratoxigénicité qui a été attribuée à certains de ses représentants, *A. niger* et *A. carbonarius* prouvés comme contaminants majeurs de certaines denrées tropicales et subtropicales tels que les raisins et dérivés. La présence d'ochratoxine A sur des figes sèches a été mise en évidence dans la littérature (G.Salih, 2020).

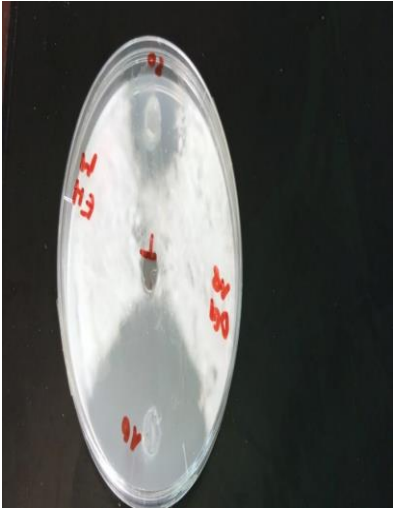
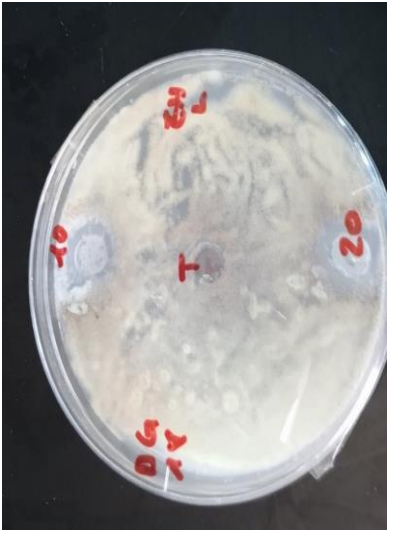
II.4. Activité antifongique et test d'antagonisme

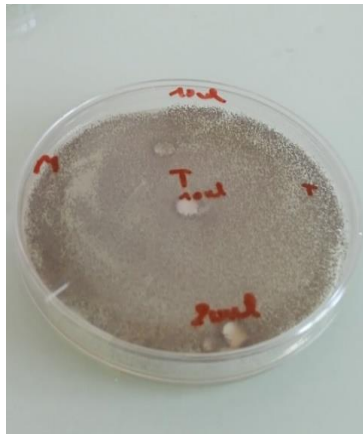
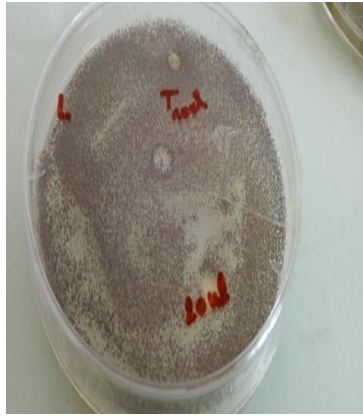

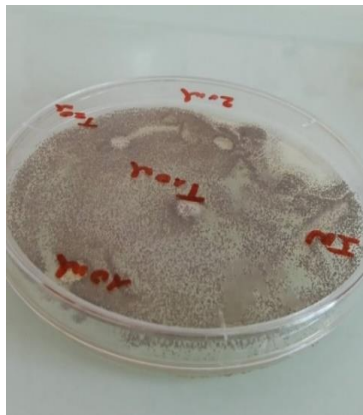
- **Expression des résultats**

L'absence de la croissance mycélienne se traduit par une zone translucide autour du disque wattman ou du puit contenant la concentration en huiles essentielles et extraits de feuilles de plantes dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre du disque 6mm).

La sensibilité des souches aux différents agents antimicrobiens a été classifié selon le diamètre de la zone d'inhibition comme on peut le voir sur le tableau suivant.

Tableau III : Résultats de l'activité antifongique des extraits de plantes et des huiles essentielles étudiés après 72h d'incubation.

Souche	Huiles essentielles et extraits éthanoliques		Sensibilité	Résultats en images
<i>Aspergillus Section Nigrii</i>	Huiles essentielles	Menthe	Extrêmement sensible D >= 20mm 30ul -> 55mm 20ul -> 27mm	
		lentisque	Moyennement sensible 9mm <= D <= 14mm 30ul -> 17mm 20ul -> 14mm	

<p><i>Aspergillus</i> section <i>Nigrii</i></p>	<p>extraits éthanoliques</p>	<p>Menthe</p>	<p>Aucune activité</p>	
		<p>Laurier</p>	<p>Aucune activité</p>	
		<p>Lentisque</p>	<p>Aucune activité</p>	
		<p>Inule visqueuse</p>	<p>Aucune activité</p>	

- **Discussion**

Les résultats concernant l'activité antifongique (in vitro) obtenue à l'aide de la méthode des disques, montrent que les HEs possèdent un pouvoir inhibiteur important contre la croissance des *Aspergillus* et cela a été constaté en observant la réduction de l'abondance mycélienne (zone d'inhibition au tour des disques) contrairement aux extraits éthanoliques des plantes qui n'ont aucune activité antifongique vis-à-vis de la souche testée, aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée pour *Aspergillus* section *Nigrii* donc les champignons ont un potentiel de résistance très élevé contre l'action antifongique de ces extraits.

D'une façon générale, la plupart de nos extraits n'ont pas d'activité antifongique, le pouvoir inhibiteur n'a été enregistré que pour les huiles essentielles (menthe et lentisque). Cette activité peut être importante ou faible selon la concentration et la quantité de nos échantillons par la méthode directe des disques ou des puis sur le milieu gélosé.

Selon l'étude réalisée par **El Bakkali (2016)** sur une plante de la même famille que la Menthe utilisée dans notre étude qui est la *Mentha pulegium* sur des souches de *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum*, il trouve des taux d'inhibition allant jusqu'à 38%.

D'autres travaux peuvent être cités sur le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de la menthe comme l'étude de **Lahlou et al. (2005)** qui montre que l'huile essentielle de *M.pulegium* inhibe la croissance des *Penicillium sp* au volume de 20µl.

Ourainiet al., (2001, 2007) ont obtenus une inhibition totale de la croissance des dermatophytes à partir d'une concentration de 20µg/ml d'huile essentielle de *Mentha pulegium*.

Plusieurs travaux ont étudié l'action antifongique des HEs sur les champignons du genre *Aspergillus* section *Nigrii* et rapportent des altérations morphologiques au niveau du mycélium qui apparaît sévèrement détruit, ceci est due à l'absence des cytoplasmes. Le mécanisme fongicide peut engendrer la destruction du mycélium existant ainsi que l'inhibition de la formation du nouveau mycélium (**Bohme et al.,2014**).

Selon **Rigane et al. (2016)** l'activité antifongique des feuilles du Pistachier lentisque sont pourvus de 17% de composées phénoliques responsable de leur activité antifongique et d'après **Ben hammou et al. (2008)** l'extrait éthanolique des feuilles du Pistachier a montré une activité inhibitrice sur *Aspergillus flavus*, *Trichoderma sp* et *Fusarium sp*.

Selon **Mahmoudi et al. (2015)** qui ont testé l'activité antifongique des extraits éthanoliques des feuilles de l'Inule visqueuse sur plusieurs espèces de champignons (*Fusarium*, *Polyphialidicum*, *Oxysporum*, *Accurivalum*, *Aspergillus*) ont révélé qu'une concentration de l'extrait de l'ordre de 40µg/ml et la valeur minimale d'inhibition pour ses espèces.

D'après l'étude effectuée par **Hadizedah (2009)** sur *Nerium aleander* qui est une plante de la même famille que le Laurier, il montre que l'*Aspergillus flavus* est très sensible vis-à-vis de cette plante contrairement aux autres champignons tel que *Rizoctonia*, *Solari* et *Fusarium* qui sont moins sensibles. La sensibilité des *Aspergillus* au *Nerium aleander* nous montre donc qu'elle possède un fort pouvoir inhibiteur et cela est en fonction de la concentration de l'extrait utilisé.

Conclusion

L'analyse mycologique et la maîtrise de la contamination des figes sèches par la flore fongique toxigène, nous a permis de révéler que les huiles essentielles ont un effet antifongique plus important sur les micromycètes potentiellement toxigènes contrairement aux extraits de plantes qui n'ont pas enregistré un effet de lutte positif. Cependant, il reste bien entendu qu'un grand travail doit être fait sur la concentration et le dosage de ses extraits végétaux.

De plus, l'utilisation thérapeutique des composés phénoliques et des huiles essentielles peut également fournir une solution au développement rapide de la résistance fongique à diverses substances antifongiques répandues qui est actuellement observée. Ces résultats obtenus permettent de justifier de futures recherches en se focalisant sur les propriétés antifongiques des plantes et leurs huiles essentielles ce qui conduit à une application d'une stratégie de contrôle et de lutte naturelle contre la contamination des denrées alimentaires en stockage par les Aflatoxines et l'ochratoxine A.

Nos travaux de recherches ont permis de constater que les huiles essentielles du Lentisque et de la menthe ont un pouvoir inhibiteur plus important sur la prolifération de la mycoflore isolée des figes sèches. Il y a lieu de mentionner que les extraits de plantes n'arrivent pas à produire l'effets escomptés.

Pour arriver à un grand pouvoir d'inhibition on doit suffisamment travailler sur les dosages à opérer. Ceci peut être un sujet d'étude qui aura à déterminer avec plus de détails sur les interactions à opérer pour obtenir de meilleurs résultats quant à l'utilisation des plantes.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

A

1. ABOU NABILA, F. K. (2017). Activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Mentha pulegium* L (Doctoral dissertation). <http://dspace.univ-bba.dz:80/xmlui/handle/123456789/191>
2. Adjou et Aoumanou. (2013). Efficacité des extraits de plantes dans la lutte contre les moisissures toxigènes isolées de l'arachide en post-récolte au Bénin. *Journal of Applied Biosciences*
3. Ahmed, I., Saini, J., Singh, L. R. K., Gupta, D. E. V. A. N. S. H. U., & Chandra, K. A. I. L. A. S. H. (2020). Insecta: Hymenoptera. Fauna of Haryana. *Zoological Survey of India. State Fauna Series*, 24, 189-220.
4. Anastasopoulos E. Kalogeropoulos N. Kaliora AC et Kountouri AM. (2011). Quality Indices, Polyphenols, Terpenic Acids, Squalene, Fatty Acid Profile, and Sterols in Virgin Olive Oil Produced by Organic versus Non-Organic Cultivation Method.
5. Andersen MR, Jensen LL, Lyhne EK, at the group Network Engineering in Eukaryotic Cell Factories at Technical University of Denmark in Denmark (2018).
6. Arumugam P., Ramesh N., et Gayatri P. (2008). Activité anti-inflammatoire de quatre fractions solvantes de l'extrait éthanolique de *Mentha spicata* L. étudié sur des rats induits par une inflammation aigüe et chronique. *Environmental Toxicology and Pharmacology*.
7. Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., et Debbache N. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem*, 112: 303–309.
8. Atoui AK., Mansouri A., Boskou G., et Kefalas P. (2015). Tea and herbal infusions : Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*? 89(1) : 27-36.
9. Aziz, N. H ; Moussa, L. A and FAR, F. M. (2004). Reduction of fungi and mycotoxins formation in seeds by gamma-radiation. *Journal of food safety*, 24, 109-127.

B

10. Bachir BM. et Louaileche H. (2015). A comparative study of phytochemical profile and in vitro antioxidant activities of dark and light dried fig (*Ficus carica*L.) varieties. *The Journal of Phytopharmacology*,4 (1),41-48.
11. Barbouchi M., Elamrani K., et El Idrissi, M. (2020). A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties

Références Bibliographiques

- of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of King Saud University Science*, 32(1), 302-306.
12. Behnas D. et Benayache A. (2015). Extraction et identification de mycotoxines de *Penicillium chrysogenum*. Université de Constantine.
 13. Belhattab R., Larous L., Kalantzakis G., Boskou D. et Exarchou V. (2004). Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. Extracts. *Food, Agriculture & Environment* Vol.2, pp. 69-73.
 14. Benabdallah A., Rahmoune, C., Boumendjel M., Aissi O. et Messaoud C. (2016). Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from north east of Algeria. *Journal of Tropical Biomedicine*.
 15. Benamar H., Rached W., Derdour, A. et Marouf A. (2010). Screening of Algerian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Biological Sciences*, 10, 1-9.
 16. Ben-Rahal N. (2012). Etude des molécules bioactives de la graine de *Silybum Marianum*. Caractérisation et analyse des extraits huileux. Université de Lorraine (France) et de Carthage (Tunisie).
 17. Berthet Jacques et Amar-Costesec Alain (2006). Dictionnaire de biologie. 1^{er} édition De Boeck Université (Bruxelles): De Boeck et Larcier s. a. (Paris- France).
 18. Bircan, C. (2009) Incidence of ochratoxin A in dried fruits and co-occurrence with aflatoxins in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1996-2001. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2009.05.008>
 19. Borges A., Ferreira C., Saavedra MJ. et Simões M. (2013). Antibacterial Activity and Mode of Action of Ferulic and Gallic Acids Against Pathogenic Bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 19, 256–265.
 20. Bouyahya A., Abrini J., Bakri Y., et Dakka N. (2017). Sreebing phytochimique et evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de *Origanum compactum*. *Phytothérapie*, 15 :379-383.
 21. Brahmi F., Dahmoune F., Kadri N., Chibane M., Dairi S., Remini H., Oukmanou-Bensidhoum S., Mouni L. et Madani K. (2016). Antioxidant capacity and phenolic content of two Algerian *Mentha* species *M. rotundifolia* (L.) Huds, *M. pulegium* L., extracted with different solvents. *Biophysique Biochimie* 10 : 9p.
 22. Brahmi, F., Abdenour, A., Bruno, M., Silvia, P., Alessandra, P., Danilo, F., ... & Mohamed, C. (2016). Chemical composition and in vitro antimicrobial, insecticidal and

Références Bibliographiques

antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* (L.) Huds growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 88, 96-105.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.002>

C

23. Carette AS. (2000). *La lavande et son huile essentielle*. Université de Toulouse, France.
24. Céline-Aubert Malien et Amiot-Carlin Marie Josèphe. (1999). Pigments Phénoliques- Structure, stabilité, marché des colorants naturels et effets sur la santé. In : les polyphénols en agroalimentaire. *Sciences et Techniques Agroalimentaires*. pp. 297-318.
25. Chahmi N., Anissi J., Jennan S., Farah A., Sendide K., El Hassouni. (2015). Antioxidant activities and total phenol content of *Inulaviscosa* extracts selected from three regions of Morocco. *Asian Pac J Trop Biomed* ; 5 : 228-233.
26. Chellah S. et Djedi N. (2016). Etude de l'effet de la conservation sur quelques caractéristiques physicochimiques et les propriétés antioxydantes de pâtes de figes sèches. Université de Bejaia, Algérie.
27. Cherbal A., Kebieche M., Madani K. et El-Adawi, H. (2012). Extraction and valorisation of phenolic compounds of leaves of Algerian *Pistacia lentiscus*. *Asian Journal of Plant Sciences*, V. 11, 131- 136.
28. Christian R. Polyphénols : effets biologiques et biodisponibilité. In DOSSIER DE PRESSE 20 Novembre 2003.
29. Conforti F., Marreilli M., Statti G. et Menichini F. (2006). Activités antioxydantes de l'extrait méthanolique et des fractions de *Senecio gibbosus* subsp. *Gibbosus*. (GUSS) DC. *Recherche de produits naturels* Volum 20, Numero 9.
30. Conforti, F., Statti, G., Uzunov, D., & Menichini, F. (2006). Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum* (Ucria) coutinho seeds. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(10), 2056-2064.
31. Curtay JP. Et Robin, JM. (2000). Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info*, 1-4.

D

32. Dall'Acqua, S., Cervellati, R., Speroni, E., Costa, S., Guerra, M. C., Stella, L., ... & Innocenti, G. (2009). Phytochemical composition and antioxidant activity of *Laurus*

Références Bibliographiques

- nobilis L. leaf infusion. Journal of medicinal food, 12(4), 869-876.
<https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0119>
33. Derriche, Bouaiz A., Salhi H. et Sehal I. (2013). Extraction des polyphénols et activité antioxydante des extraits et huile essentielle de l'inule visqueuse. Récents Progrès Fr. Génie des procédés, Numéro 104. ISSN : 1775-335X ; ISBN : 978-2-910239-78-7, Ed. SFGP, Paris, France.
34. Djenane D., Yanguela J., Amrouche T., Boubrit S., Boussad S., et Roncales P. (2011). Chemical composition and antimicrobialeffects of essential oils of Eucalyptus globulus, Myrtus communis and Saturejah ortensis against Escherichia coli O157:H7 and Staphylococcus aureus in mincedbeef. Food sci. Technol. Int. 17, 505-515.
35. Djidel S., Khennouf S., Ameni D., Baghiani A., Arrar L. et Charef N. (2013). Antioxidant proprieties of Pistacia lentiscus L. leaves extracts. PhcogCommn. 2013;3:28-34.
36. Doymaz L. (2004). Sun drying of figs: an experimental study. Journal of Food Engineering. 71:403-407.
37. Dupas C. (2005). Influence des protéines laitières sur le pouvoir antioxydant et la biodisponibilité des polyphénols du café. Ecole nationale supérieure des industries agricoles et alimentaires (ENSIA).

E

38. El Khoury Caceres, I., R., Bailly, S., Oswald, I. P., Puel, O. & Bailly, J. D. (2017). Piperine inhibits aflatoxin B1 production in Aspergillus flavus by modulating fungal oxidative stress response. Fungal Genetics and Biology, 107(August), 77–85.
<https://doi.org/10.1016/j.fgb.2017.08.005>
39. El-Bakkali A. (2016). Activité antifongique in vitro de Mentha pulegium sur des souches de Fusarium colmorum et fusarium graminearum. Université Mohamed Ben Abdellah, Maroc.
40. Emanfo AS., Sekou D. et Fantodji A. (2013). Contamination fongique des fourrages sonsommes par les aulacodes (Thryonomys swinderianus) d'élevage en zone périurbaine d'abidjan (Côte d'Ivoire). Agronomie Africaine 25 (1) : 53-60.

Références Bibliographiques

F

41. Faostat. La base de données statistique de l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. (2016)
42. Fernández, Aspé, E., 2011. The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* Bark. *Industrial Crops and Products*.
43. Ferradji A., Chabour H. et Malek A. (2011). Séchage solaire des figes. *Revue des Energies Renouvelables*. 14 (4) : 717-726.
44. Frisvad, J.C ; Hubka, V. ; Ezekiel, C.N. ; Hong, S.-B. ; Nováková, A. ; Chen, A.J. ; Arzanlou, M. ; Larsen, T.O. ; Sklenář, F. ; Mahakarnchanakul, W. ; Samson, R.A.; Houbraeken, J. (2019). Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. *Stu. Mycol.* 93, 1–63. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.06.001>

G

45. Gauthier A. Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. *Sciences pharmaceutiques*. 2016.
46. Ghedadba N., Hambaba L., Ayachi., Aberkane MC., Bousselsela H. et Oueld-Mokhtar SM. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13 :118-129.
47. Ghizlane S. (2020). Figes sèches de basse catégorie au Maroc : État sanitaire et possibilités de valorisation. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*.
48. Ghosh, A., Das, B. K., Roy, A., Mandal, B., & Chandra, G. (2008). Antibacterial activity of some medicinal plant extracts. *Journal of natural medicines*, 62(2), 259-262.
49. Gimeno E., Castellote AI., Lamuela-Raventos RM., De la Torre MC. Et Lopez-Sabater MC. (2002). The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, a-tocopherol, and b-carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 78 : 207–211.
50. Giraud N., Richard D., Chevalet P., Fournel S., Gros P., Laurenti F., Pradère F et Soubaya. (2012). *CAPES. Prépas*. Dunod, Paris, 2 e édition (1 e édition 2010).
51. Goli AH., Barzegar M. et Sahari MA. (2004). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hullexttracts. *Food Chem.* 2005 ; 92 : 521–5. [10.1016/j.foodchem](https://doi.org/10.1016/j.foodchem).

Références Bibliographiques

52. Gómez-Caravaca AM., Gómez-Romero M., Arráez-Román D., Segura-Carretero A. et Fernández-Gutiérrez A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 41, p 1220- 1234.
53. Gozlekci S. (2011). Pomological traits of fig (*Ficus carica* L.) genotypes collected in the west Mediterranean region in Turkey. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 21 (4), 646-652
54. Guiraud JP. (2003). *Microbiologie alimentaire*. (edn) Dunod. Paris.p: 651

H

55. Hadi M. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractères pro-oxydant ou capteurs de Radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat en Sciences. Université Louis Pasteur. Pharmacochimie. p. 155.
56. Haesslein D. et Oreiller S. (2008). Fraîche ou séchée, la figue est dévoilée ! Filière Nutrition et diététique. H. e. d. s (haute école de santé Genève).
57. Hajji S., Chaker A. et Jridi M. (2016) Structural analysis, and antioxidant and antibacterial properties of chitosan-poly (vinylalcohol) biodegradable films. *Environ SciPollutRes* 23, 15310–15320 (2016).
58. Hand KC et Malikarjunan PK. (2015). Mid-infrared spectroscopy for discrimination and classification of *Aspergillus* species contamination in peanuts. *Food Control* v.52 Find all articles in: *Food control* 2015 v.52pp. 103-111.
59. Heperkan, D., A. Moretti, C.D. Dikmen, and A.F. Logrieco. 2012. Toxigenic fungi and mycotoxin associated with figs in the Mediterranean area. *Phytopathol. Mediterr.* 51(1):119–130

J

60. John I Pitt. (2009). *Aspergillus and Related Teleomorphs*.

K

61. Kabak, B ; Dobson, A. D and Var, I. L. (2006). Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 593-619
62. Kanapitsas, A., Batrinou, A., Aravantinos, A., Sflomos, C. and Markaki, P. (2016). Gamma radiation inhibits the production of Ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius*.

Références Bibliographiques

- Development of a method for OTA determination in raisins. *Food Bioscience*, 15, 42-48.
63. Karathanos VT. et Belessiotis VG. (1997). Sun and artificial airdrying kinetics of some agricultural products. *Journal of Food Engineering*. 31:35-46.
64. Kendrick B. (2000). Molecular characterization of fungal species from pure cultures and environmental sample stimothytarbellfordham.
65. Khorasani Esmaeili, A., Mat Taha, R., Mohajer, S., & Banisalam, B. (2015). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of various solvent extracts from in vivo and in vitro grown *Trifolium pratense* L.(Red Clover). *BioMed Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1166/jbt.2015.1361>
66. Khorasani-Esmaeili A., Mat-Taha R., Mohajer S. et Banisalam B. (2015). Antioxydant activity and total phenolic and flavonoid content of various solvent extracts from in vivo and in vitro grown *Trifolium pratense* L. (Red clover). *Biomed Res. Int*, 6(4): 72-85.
67. Khoudir M, Boussouf L., Boutennoune H., Kebieche M., Adjeroud N. et Al-Qaoud K. (2017). Antinflammatory, analgesic and antioxidant effects of phenolic compound from Algerian *Mentha rotundifolia* L. leaves on experimental animals. *Biochimie* 113 : 77-83.
68. Klančnik, A., Piskernik, S., Jeršek, B., & Možina, S. S. (2010). Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of microbiological methods*, 81(2), 121-126.

M

69. Magnusson, J. and Schnurer, J. (2001) *Lactobacillus coryniformis* Subsp. *Coryniformis* Strain Si3 Produces a Broad-Spectrum Proteinaceous Antifungal Compound. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 1-5. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.67.1.1-5.2001>
70. Mahmoudi H., Hosni K., Zaouali W., Amri I., Zargouni H., Ben Hamida N., Kaddour R., Hamrouni L., Ben Nasri M., Ouerghi Z. (2016). Comprehensive phytochemical analysis, antioxidant and antifungal activities of *Inula Aiton* leaves. *Journal of Food Safety*, 36 : 77-88.
71. Mahmoudi H., Hosni K., Zaouali W., Amri W., Zargouni H., Ben Hamida N., Kaddour R., Hamrouni L., Ben Nasri M. et Ouerghi Z. (2015). Comprehensive phytochemical

Références Bibliographiques

- analysis, antioxidant and antifungal activities of *Inula viscosa* aiton leaves. *Journal of Food Safety*:1-12.
72. Manai DH., Kriche D., Ouni Y., Gallardo L., Sanchez J., Osorio E., Daoud D., Guido F. et Zarrouk M.(2012). Chemical profiles of five minor olive oil varieties grown in central Tunisia. *Journal of Food Composition and Analysis*. 27 ,109-119.
73. Marie-Alix d'Halewyn, M. Sc. microbiologie-immunologie et Pierre Chevalier, Ph. D. microbiologie (2019).
74. Martysiak-Żurowska, D., and Wenta, W. (2012). A comparison of ABTS and DPPH methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. *Acta scientiarum polonorum technologia alimentaria*, 11(1), 83-89.
http://www.food.actapol.net/issue1/volume/9_1_2012.pdf
75. Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A. S., Petitcolas, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, C., ... & Chemat, F. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essentials oils from the Alliaceae family. *Molecules*, 19(12), 20034-20053.
- O**
76. Oke F., Aslim B., Ozturk S. et Altundag S.(2009). Essentl oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Saturej cuneifolia* Ten. *Fd Chem*. 112: 874-879.
77. Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., & Altundag, S. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*, 112(4), 874-879. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.061>
78. Oliveira, L. N. ; Duarte, E. R. ; Nogueira, F. A. ; Silva, R. B. da; Faria Filho, D. E. de; Geraseev, L. C., 2010. Efficacy of banana crop residues on the inhibition of larval development in *Haemonchus* spp. from sheep. *Ciencia Rural*, 40 (2): 458-460
79. Ordoñez AL., Gomez JD., Vattuone MA., Isla MI. (2006). Antioxidant activities of *Sechiumedule* (Jacq.) Swartzextracts. *Food Chemistry* 97 (3),452-458.
80. O'Sullivan L, Ross RP, Hill C. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*. 2002 May-Jun;84(5-6):593-604. doi: 10.1016/s0300-9084(02)01457-8. PMID: 12423803.
81. Ouaouich A. et Chimi H. (2005). Guide du sécheur de figues. L'organisation des Nations Unies pour le développement industriel. 5-7

Références Bibliographiques

P

82. Parage C. (2013). Génomique fonctionnelle de la biosynthèse des stilbènes chez la vigne (*Vitis vinifera*). Université de Strasbourg
83. Pfohl Leszkowicz A. Mycotoxines dans l'aliment : effet sur la santé humaine dans 'mycologie médicale' Christian Rippert (ed), Tec & Doc, Lavoisier, (2013).
84. Pitt, R.A. Samson, J.C. Frisvad List of accepted species and their synonyms in the family Trichocomaceae R.A. Samson, J.I. Pitt (Eds.), Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification, Harwood Academic Publishers, Amsterdam (2000), pp. 9-79
85. Pohland A.E, Nesheim S, Friedman L. Ochratoxin A: A review. *Pure and Appl.Chem.* 64, 1992.
86. Popovici C., Saykova I., Tylkowsk B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel.* 4: 25-39.

Q

87. Quillien, J-F. (2002). Les mycotoxines. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) - Centre de Réseaux pour l'Innovation en Agriculture et Agroalimentaire (CRIAA), Paris, France, p. 1-24.

R

88. Rachid A. (2012). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethno pharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. These de doctorat. Université Abou BekrBelkaid –Tlemcen.
89. Rajurkar, N. S., & Hande, S. M. (2011). Estimation of phytochemical content and antioxidant activity of some selected traditional Indian medicinal plants. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 73(2), 146. doi: [10.4103/0250-474x.91574](https://doi.org/10.4103/0250-474x.91574)
90. Ramli B. (2013) Extraction des flavonoides de la plante. *Inula viscosa*.
91. Ramos AJ, Marin S, Sanchis V, Saenz R, Ramos AJ, Vinas I, Magan N. Ecological determinants for germination and growth of some *Aspergillus* and *Penicillium* spp. from corn grain. *J Appl Microbiol* (1998).

Références Bibliographiques

92. Rao, I. M. ; Borrero, V. ; Ricaurte, J. ; Garcia, R., 1999. Adaptive attributes of tropical forage species to acid soils. IV. Differences in shoot and root growth responses to inorganic and organic phosphorus sources. *J. Plant Nutr.*, 22 (7): 1153-1174
93. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. et Rice-Evans C. (1999) Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
94. Reboux G. Mycotoxines : effets sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2006 ;46 :208-12. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0335745706000694>.
95. Refai, M., Aziz, N., El-far, F. and Hassan, A. (1996). Detection of ochratoxin produced by *A. ochraceus* in feedstuffs and its control by γ radiation. *Applied radiation and isotopes*, 47, 617- 621
96. Rhimi W., Hlel R., BenSalem I., Boulila A., Rejeb A., Saidi IM. (2019). *Dittrichia viscosa* L. Ethanolic Extract Based Ointment with Antiradical, Antioxidant, and Healing Wound Activities.
97. Ribéreau-Gayon P. (1968). *Les composés phénoliques des végétaux*. Edition Dunod. Paris. pp : 173-201.
98. Rigane G., Ghazghazi H., Aouadhi C., Ben Salem R. et Nasr Z. (2016). Phenolic content, antioxidant capacity and antimicrobial activity of leaf extracts from *Pistacia atlantica*. *Natural Product Research*: 1-4.
99. Roca M. et Minguez M. (2001). Change in the natural ratio between chlorophylls and carotenoids in olive fruit during processing for virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78: 133-138
100. Roukia H. Dehak K. Mahfoud HM et Ouldeldhadj MD. (2015) Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de *Deverrascoparia* Coss. & Dur. (Apiaceae). *Lebanese Science Journal*, 16 : 27-36.

S

101. Sirisha S., Sreenivasulu M., Sangeeta K. et Chetty CM. (2010). Antioxidant properties of *Ficus* species: a review. *International Journal of Pharmacy and Technical Research*, 2, 2174-2182.

Références Bibliographiques

102. Slatnar A., Klancar U., Stampar F. & Veberic R. (2011). Effect of drying of figs (*Ficus carica* L.) on the contents of sugars, organic acids and phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 11696–11702.
103. Slatnar A., Klancar U., Stampar F. et Veberic R. (2011). Effect of Drying of Figs (*Ficus carica* L.) on the Contents of Sugars, 2 Organic Acids, and Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 6-21.
104. Souhila M., Khali M. et Mahmoudi N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) *Revue Nature et Technologie* Volume 5, Numéro 2, Pages 35-40.
105. Sousa A., Ferreira I., Calhella R., Andrade P., Valentao P., Seabra R., Estevinho L., Bento A. and Pereira J. A. (2006). Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives 'alcaparra'. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 14: 8533–8538.
106. Stalikas CD. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acid and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 3268–3295

T

107. Tabuc C. (2007). Incidence of *Fusarium* species and of their toxins in the compound feeds for poultry. *International Scientific symposium: Performances and competitiveness in animal production*, 26-27 avril 2007, Iasi, Roumanie.
108. Tan, J. B. L., & Lim, Y. Y. (2015). Critical analysis of current methods for assessing the in vitro antioxidant and antibacterial activity of plant extracts. *Food chemistry*, 172, 814-822.
109. Tjamos, S., Antoniou, P., Kazantzidou, A., Antonopoulos, D., Papageorgiou, I. and Tjamos, E. (2004). *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* in Corinth Raisin and Wine-Producing Vineyards in Greece: Population Composition, Ochratoxin A Production and Chemical Control. *Journal of Phytopathology*, 152, 250-255.

V

110. Velazquez E., Tournier HA., De-Buschiazzo PM., Saavedra G. et Schinella GR. (2003). Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. *Fitoterapia* Volume 74, Issues 1–2, February 2003, Pages 91-97.

Références Bibliographiques

111. Velioglu YS., Mazza G., Gao, L. et Oomah, BD. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural Biotechnology and Molecular Biology Review* Vol. 1, 21-38.
112. Vierling E. (1999). Aliments et boissons. Filières et produit. Biosciences et technique. Sciences des aliments, séries dirigées par Guy Leyral, 1ere édition de crdp d'Aquitaine, Bordeaux. France, pp. 123-150.
113. Vinson A., Zubik L., Bose P., Samman, N. et Proch J. (2005). Dried fruits: excellent in vitro and in vivo antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*. 24:44-50
114. Vuorela S., Salminen M., Makela R., Kivikari M., Karonen M. et Heinonon. (2005). Effect of plant phenolics on protein and lipidoxidation in cooked pork meat patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8492-8497.
115. Wu, J.H. and Wang, Y.M. (2006) Measuring KMS Success: A Respecification of the DeLone and McLean's Model. *Journal of Information & Management*, 43, 728-739. <http://dx.doi.org/10.1016/j.im.2006.05.002>

Y

116. Yakhlef G. (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de thymus vulgaris et laurus nobilis L. Université El Hadj Lakhdar, Batna.

Z

117. Zamora GS., Elhadi M., Brecht JK. et Gardea A. (2005). Effects of postharvest hot air treatments on the quality and antioxidant levels in tomato fruit. *LWT* 38 : 657–663.
118. Zinedine et Idrissi, « Présence et réglementation des mycotoxines dans les aliments au Maroc : Situation actuelle et perspectives ». (2007).

Annexes

Annexes

Annexe I : Les courbes d'étalonnage

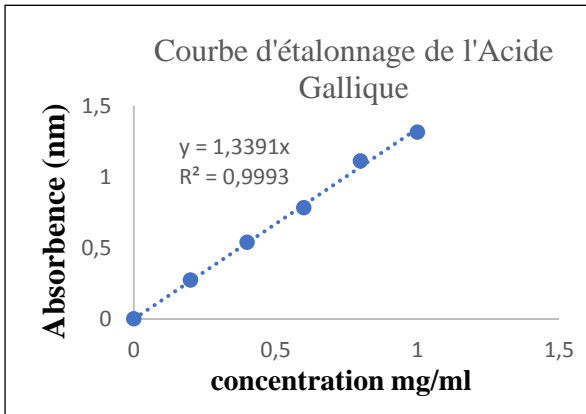


Figure 01 : courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique pour le dosage des polyphénols.

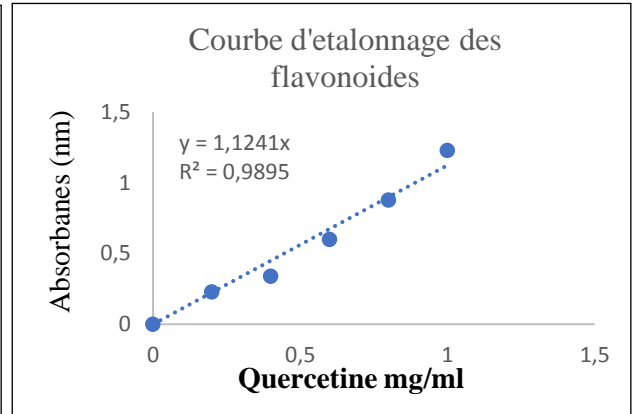


Figure 02 : courbe d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes

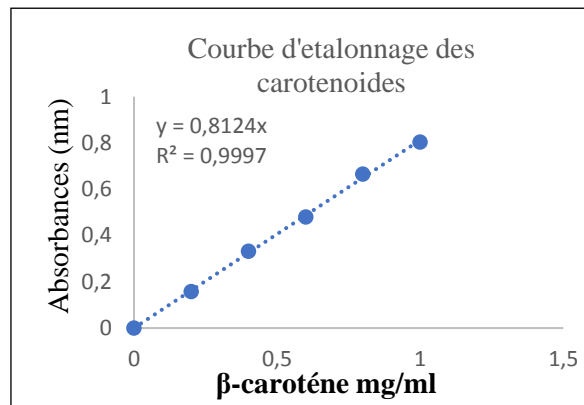


Figure 03 : courbe d'étalonnage de la β -carotène pour le dosage des caroténoïdes

Annexe II : Activité antioxydante.

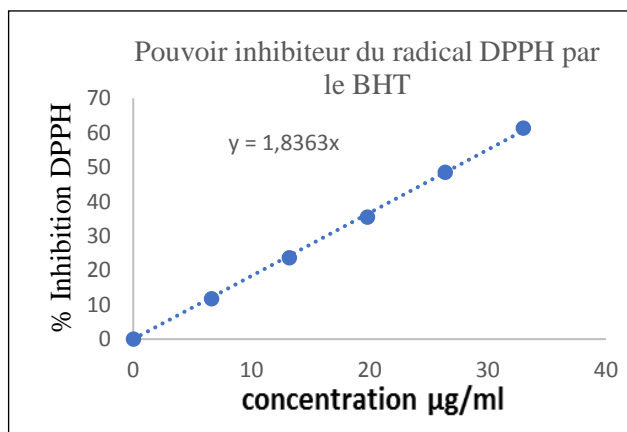


Figure 01 : courbe représentant le pouvoir inhibiteur du DPPH par le BHT.

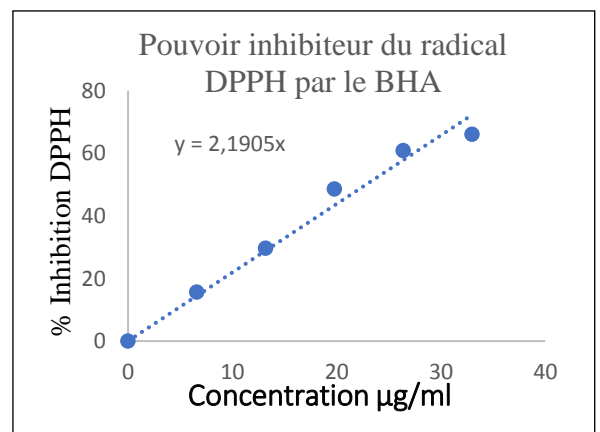


Figure 02 : courbe représentant le pouvoir inhibiteur du DPPH par le BHA.

Annexes

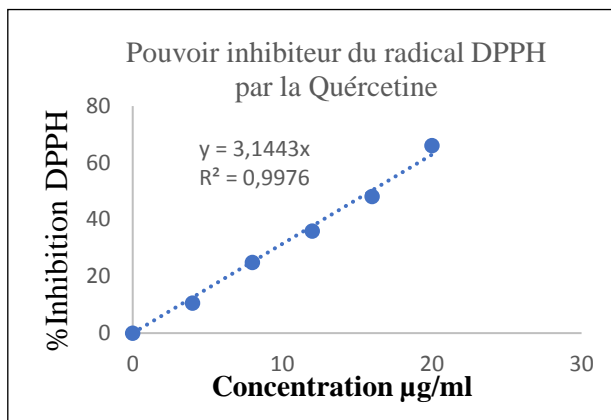


Figure 03 : pouvoir inhibiteur du radical DPPH par la Quercétine.

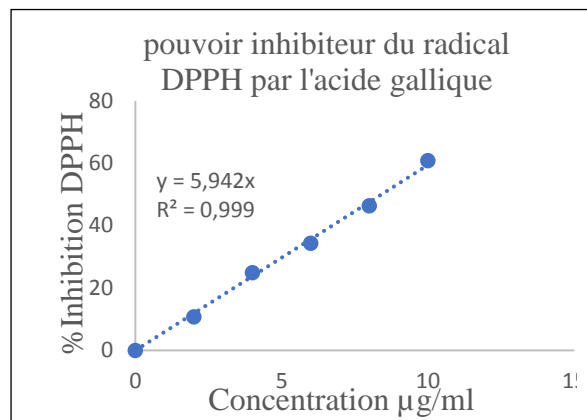


Figure 04 : pouvoir inhibiteur du radical DPPH par l'Acide Gallique.

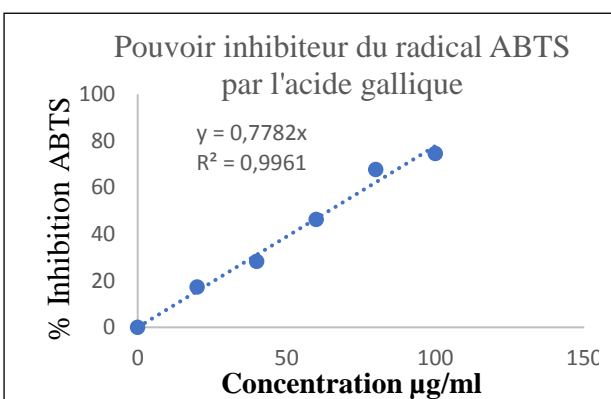


Figure 05 : pouvoir inhibiteur du radical libre ABTS par l'Acide Gallique.

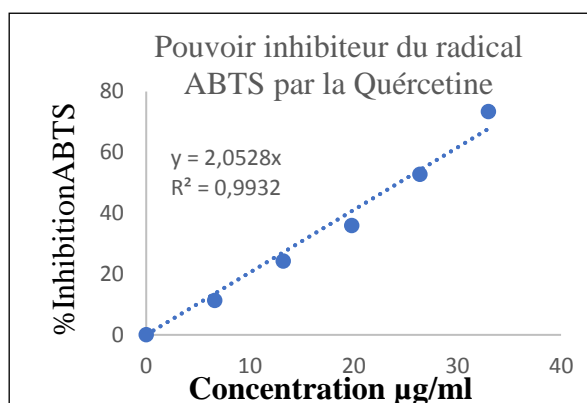


Figure 06 : pouvoir inhibiteur du radical libre ABTS par la Quercétine.

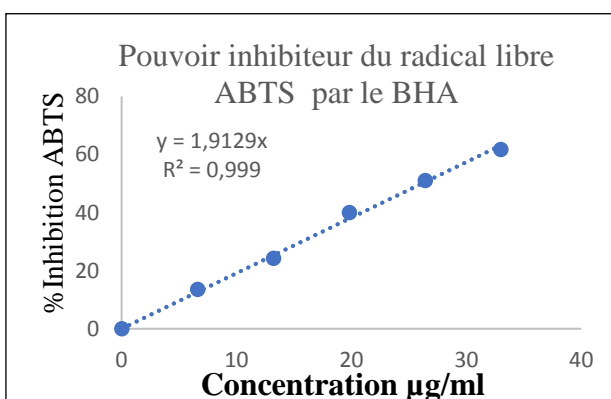


Figure 07 : pouvoir inhibiteur du radical libre ABTS par le BHA.

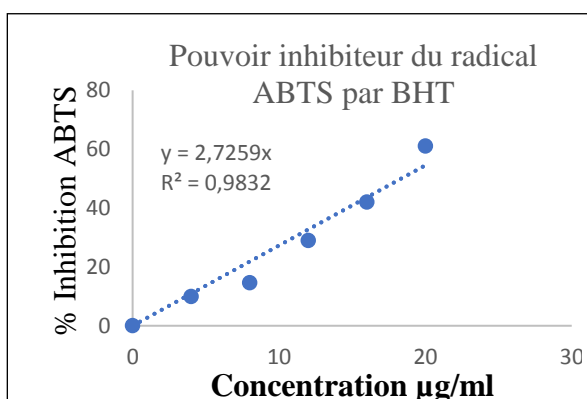


Figure 08 : pouvoir inhibiteur du radical libre ABTS par le BHT.

Annexes

Annexe III : Milieux de cultures

- Méthode de préparation du Milieu DG18

- Glucose..... 10 g
- Peptone bactériologique..... 5g
- KH₂PO₄..... 1,0 g
- MgSO₄..... 0,5 g
- Gélose.....15g
- Eau distillée.....1L



Tous ces éléments sont mis sous agitation pendant quelques minutes, puis 220 g de glycérol et 1 ml d'un 0,2% (en éthanol) solution de dichlorane ont été ajoutés, le tout remis à ébullition jusqu'à dissolution complète donnant une concentration finale de 18% de glycérol et 2 µg de dichlorane par ml. Le milieu a ensuite été stérilisé par autoclavage 15 min à 121°C, ensuite vers la fin on le reparti dans des boites de Pétris stériles (**Hocking et Pitt,1980**)

- Méthode de préparation du milieu CYA

Afin de préparer 1L de milieu CYA deux solutions ont été préparées (A et B), la solution A composée de NaNO₃ 20 g KCl 5 g MgSO₄ 5 g FeSO₄ 0.1 g pour 500 ml d'eau distillée et la solution C de K₂HPO₄ 10 g pour 500ml d'eau distillée puis on prend 50ml de chaque solution qu'on additionnera à 30g de saccharose, 5g d'extrait de levures, 1ml d'une solution de 1.0g de ZnSO₄ 7H₂O et CuSO₄ 5H₂O 0,5 g dans 100 ml d'eau distillée et 15g d'Agar-agar puis on complète avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre 1L. Le mélange est ensuite mis à ébullition jusqu'à dissolution complète puis stériliser à l'autoclave 15min à 121°C. on ajuste le pH à 6,7 si nécessaire avec une solution de HCl à raison de 2N, bien mélanger puis enfin répartir dans des boites pétries (**Ouattara-sourabie et al, .2011**).

- Méthode de préparation du milieu CAM

Dans le but d'obtenir le milieu CAM, 100 g de noix de coco broyées ont été homogénéisées pendant 5 min avec 200 ml d'eau distillée chaude. L'homogénat a été par la suite filtré à l'aide d'un morceau de tissu puis le pH du filtrat clair a été ajusté à pH ±7 avec de NaOH à raison de 2N. Une quantité d'agar a été ajoutée à raison de 20 g/litre et le mélange a été porté à ébullition et refroidi à environ 50°C. Le pH est vérifié et ajusté à 7 si nécessaire. Le mélange obtenu est

Annexes

ensuite autoclavé pendant 18 min à 15 lb/in², refroidi à environ 40 à 45°C, et versé sous agitation dans des boîtes de Pétri stériles (Davis *et al.*, 1987).

Annexe IV : matériels utilisés au laboratoire

Partie phytochimique :

- Balance
- Etuve
- Centrifugeuse
- Bain marie
- Spectrophotomètre
- Hotte de laboratoire
- Verreries : - Tubes à essais
- Bêchers
- Erlenmeyers
- Epprouvettes
- Entonnoirs
- Tubes Eppendorf
- Micropipettes
- Plaque agitatrice



Etuve



Centrifugeuse



Bain marie



Spectrophotomètre



Etuve



Balance

Partie mycologique :

- Boîtes pétris
- Bec bunsen
- Ance de platine
- Coton cardé
- Pince
- Ecouvillons
- Micropipettes
- Balance

Annexes

- Verreries : - tubes à essais stériles
 - Flacons stériles
 - Béchers
 - Erlenmeyers
 - Pipettes pasteur
- Plaque chauffante agitatrice
- Microscope optique
- Hotte a flux laminaire
- Etuve (28°C)
- Autoclave

Résumé :

Cette étude avait pour objectif l'évaluation de l'activité antifongique et anti oxydante (in vitro) des extraits éthanoliques des feuilles de la menthe (*Mentha sp*), le pistachier lentisque (*Lentiscus pistacia*), l'inule visqueuse (*Dittrichia viscosa*) et le laurier (*Laurus nobilis*), et des huiles essentielles de la menthe verte et du lentisque.

Des tests sur l'activité antifongique ont été réalisés sur milieux solides DG18 en présence d'*Aspergillus niger* isolée à partir de figes sèches, en utilisant la méthode des puits et des disques, les extraits éthanoliques des plantes n'ont présenté aucune activité antifongique contrairement aux huiles essentielles qui ont présenté une forte activité antifongique vis-à-vis de la menthe verte et d'une faible activité vis-à-vis du lentisque.

L'activité antioxydante a été évaluée en étudiant l'activité anti radicalaire (ABTS et DPPH) des huiles essentielles et des extraits éthanoliques des plantes, et avec des dosages des poly phénols, des flavonoïdes et des caroténoïdes des extraits éthanoliques des plantes uniquement, cette étude a démontré que la menthe et l'inule visqueuse ont une teneur élevée en poly phénols et flavonoïdes tandis que la teneur en caroténoïdes est beaucoup plus élevée chez le lentisque. L'extrait éthanolique de la menthe et du lentisque ont présenté une grande activité anti radicalaire, ainsi que l'huile essentielle du lentisque.

Les huiles essentielles de la menthe et du lentisque peuvent être utilisées sur les figes pour limiter les risques de contaminations qui peuvent altérer leurs vertus thérapeutiques.

Mots clés : activité antifongique, activité antioxydante, *Aspergillus niger*, extrait éthanolique, l'huile essentielle, figes sèches.

Abstract:

The objective of this study was to evaluate the antifungal and anti-oxidant activity (in vitro) of ethanolic extracts of the leaves of spearmint (*Mentha sp*), pistachio (*Lentiscus pistacia*), slime (*Dittrichia viscosa*) and laurel (*Laurus nobilis*), and essential oils of spearmint and lentisk.

Antifungal activity tests were performed on DG18 solid media in the presence of *Aspergillus niger* isolated from dry figs, using the well and disc method, the ethanolic extracts of the plants showed no antifungal activity unlike the essential oils which showed a strong antifungal activity towards spearmint and a weak activity towards lentisk.

Antioxidant activity was evaluated by studying the antiradical activity (ABTS and DPPH) of the essential oils and ethanolic extracts of the plants, and with determinations of poly phenols, flavonoids and carotenoids of the ethanolic extracts of the plants only, this study showed that spearmint and slime have high poly phenol and flavonoid content while the carotenoid content is much higher in lentisk. The ethanolic extract of spearmint and lentisk showed high anti-radical activity, as did the essential oil of lentisk.

The essential oils of spearmint and lentisk can be used on figs to limit the risks of contaminations which can alter their therapeutic virtues.

Key words: antifungal activity, antioxidant activity, *Aspergillus niger*, ethanolic extract, essential oil, dried figs.