

**ETUDE DE PLANTES  
AROMATIQUES MALGACHES:  
POTENTIALITES DE L'HUILE  
ESSENTIELLE  
D'*Apodocephala pauciflora*  
(ASTERACEAE)  
DANS LA PROTECTION DES  
ALIMENTS CONTRE LES  
MOISSISSURES**



**par**  
**Danielle A. Doll RAKOTO**

- **HUILES ESSENTIELLES (HE)**  
= productions végétales **recherchées**
- Composition complexe permettant des **fonctions biologiques** variées:
  - Communication entre végétaux
  - Pollinisation et dispersion des spores
  - Défense vis-à-vis des pathogènes et prédateurs
  - Action télétoxique

# PROPRIÉTÉS

- Spasmolytiques et sédatives
- Antimicrobiennes :
  - Vis-à-vis de nombreuses bactéries, dont résistantes aux antibiotiques
  - Vis-à-vis de champignons et levures

# UTILISATIONS

- En parfumerie
- En cosmétologie
- En thérapeutique
- En alimentation (HE dans les condiments et aromatisants)

- HE = candidates de choix dans la lutte contre les pathogènes d'aliments
- Alternatives aux produits de synthèse (additifs, pesticides,...)

# AVANTAGES DES HE

- Produits naturels, biodégradables
- Action ciblée
- Pas d'effets secondaires
- Pas de phénomènes de résistance
- Faible coût

# OBJECTIFS

- Au Laboratoire de Biochimie Appliquée aux Sciences Médicales, Mention Biochimie fondamentale et appliquée (LABASM), Faculté des Sciences (Université d'Antananarivo):

*Mise au point de molécules à visées thérapeutique et pesticides, issues de plantes malgaches, dont plantes aromatiques*

# OBJECTIFS (suite)

- *Valorisation de plantes aromatiques peu connues, mais utilisées empiriquement*
- *Recherche des possibilités d'application de leurs propriétés*
- *Protection des aliments*

# PROJET PER /AUF

« Valorisation des ressources de la biodiversité végétale de Madagascar et des Comores pour la sécurité des aliments : identification des plantes, criblage et caractérisation des molécules actives »

Laboratoires impliqués :

- LABASM,  
Mention Biochimie  
fondamentale et appliquée,  
Faculté des Sciences,  
Université d'Antananarivo



- Département Persyst,  
UMR Qualisud,  
CIRAD Montpellier

# ETAPES DE L'ETUDE

- Extraction des HE
- Analyse de la composition
- Etude de l'activité sur des moisissures

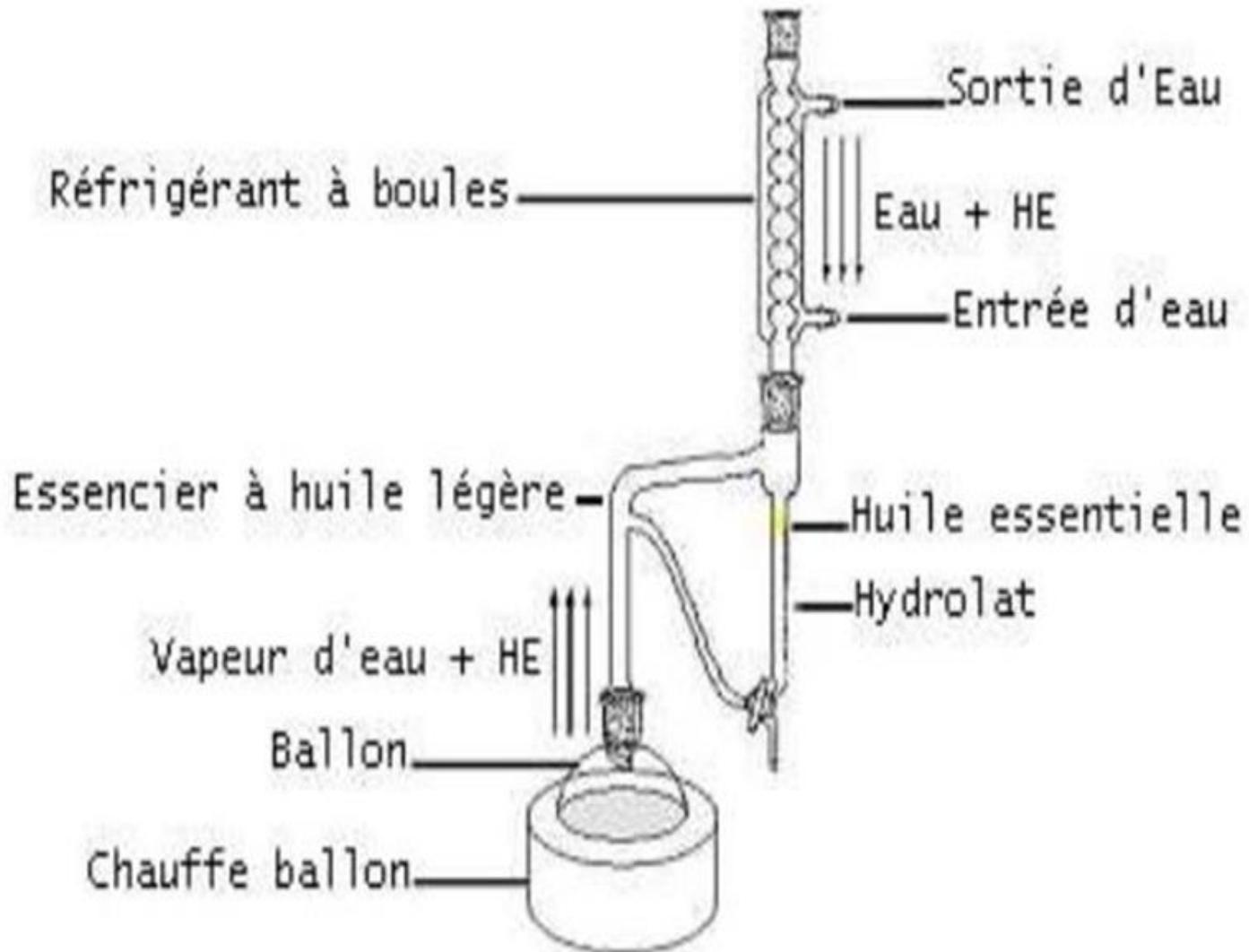
# LES PLANTES

- Ecorces et feuilles récoltées dans la forêt dense humide de Mandraka  
(70 km à l'Est d'Antananarivo, 1300 m d'altitude)

<b>Famille</b>	<b>Nom scientifique (nom de code)</b>	<b>Nom vernaculaire</b>	<b>Organes récoltés</b>
Anacardiacées	<i>Micronychia tsiramiramy</i> (HE1)	Ditimena	Feuilles
Araliacées	<i>Polyscias ornifolia</i> (HE8)	Votsilana tokatovo	Feuilles
Araliacées	(HE12)	Votsilambato	Feuilles
Araliacées	(HE13)	Votsilambavy	Feuilles
Araliacées	(HE14)	Votsilambato	Feuilles
Araliacées	(HE15)	Votsilandahy	Feuilles
Asteracées	<i>Apodocephala pauciflora</i> (HE10)	Ramy ravipibasy	Ecorces, feuilles
Lauracées	<i>Ocotea auriculiformis</i> (HE2)	Manitrakondro	Feuilles
Lauracées	<i>Cryptocaria crassifolia</i> (HE3)	Longotra	Feuilles
Lauracées	<i>Ocotea laevis</i> (HE4)	Varongifotsy	Feuilles
Lauracées	<i>Ravensara aromatica</i> (HE6)	Havozo	Ecorces
Lauracées	<i>Ocotea cymosa</i> (HE7)	Varongy katakana	feuilles
Lauracées	<i>Ocotea zahamenensis</i> (HE9)	Varongy ravimanga	Ecorces
Lauracées	(HE16)	Ravintsara	Feuilles
Lauracées	<i>Ocotea racemosa</i> (HE17)	Varongy mavo	Feuilles
Pipéracées	<i>Piper borbonense</i> (HE5)	Tsiperifery	Feuilles
Rutacées	<i>Zanthoxylum tsihaniposa</i> (HE11)	Tsihaniposa	Feuilles

Extraction

**HYDRODISTILLATION**



## Essencier pour huile légère (type Clevenger)

- HE obtenues déshydratées au sulfate de sodium puis conservées à la température ambiante et à l'obscurité dans des flacons teintés.
- **RENDEMENTS** déterminés par rapport au matériel de départ.

Nom de code	Nom vernaculaire	Nom scientifique	Organes	Rendement d'extraction
HE1	Ditimena	<i>Micronychia tsiramiramy</i>	Feuilles	<b>0,1%</b>
HE2	Manitrakondro	<i>Ocotea auriculiformis</i>	Feuilles	<b>1,3%</b>
HE3	Longotra	<i>Cryptocaria crassifolia</i>	Feuilles	<b>0,2%</b>
HE4	Varongifotsy	<i>Ocotea laevis</i>	Feuilles	<b>0,7%</b>
HE5	Tsiperifery	<i>Piper borbonense</i>	Feuilles	<b>1%</b>
HE6	Havozo	<i>Ravensara aromatica</i>	Ecorces	<b>&lt; 0,1%</b>
HE7	Varongy katakana	<i>Ocotea cymosa</i>	Feuilles	<b>1,3%</b>
HE8	Votsilana tokatovo	<i>Polyscias ornifolia</i>	Feuilles	<b>0,7%</b>
HE9	Varongy ravimanga	<i>Ocotea zahamensis</i>	Ecorces	<b>1,3%</b>
HE10	Ramy ravipibasy	<i>Apodocephala pauciflora</i>	Ecorces	<b>0,7%</b>
HE11	Tsihaniposa	<i>Zanthoxylum tsihaniposa</i>	Feuilles	<b>0,1%</b>
HE12	Votsilambato	Non déterminé	Feuilles	
HE13	Votsilambavy	Non déterminé	Feuilles	
HE14	Votsilambato	Non déterminé	Feuilles	
HE15	Votsilandahy	Non déterminé	Feuilles	
HE16	Ravintsara	Non déterminé	Feuilles	
HE17	Varongy mavo	<i>Ocotea racemosa</i>	Feuilles	<b>0,4%</b>

# ANALYSE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE

Deux méthodes

# Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM)

- CPG: séparation des constituants
- SM: obtention du spectre de masse et identification
- Association des deux techniques: très grande sensibilité

# Spectres en CPG/SM et compositions

- Liens spectres HE laevis
- [Fichiers Qualireg liens com 1\Profil Ocotea laevis.doc](#)

# Composition en GC/SM de HE4

Temps de rétention	Identification	Proportion relative
1,558	$\alpha$ -pinène	<b>11,08%</b>
2,083	$\beta$ -pinène	<b>14,81%</b>
2,738	$\beta$ - myrcène	3,12%
3,258	Limonène	1,24%
15,387	Camphre	1,93%
17,521	Linalol	3,95%
18,338	$\beta$ -caryophyllène	6,56%
20,351	$\alpha$ -humulène	2,42%
<b>21,647</b>	<b><math>\alpha</math>-terpinéol</b>	<b>6,90%</b>
24,994	$\delta$ -cadinène	2,64%
33,658	Eugénol	4,80%

# Microextraction sur phase solide

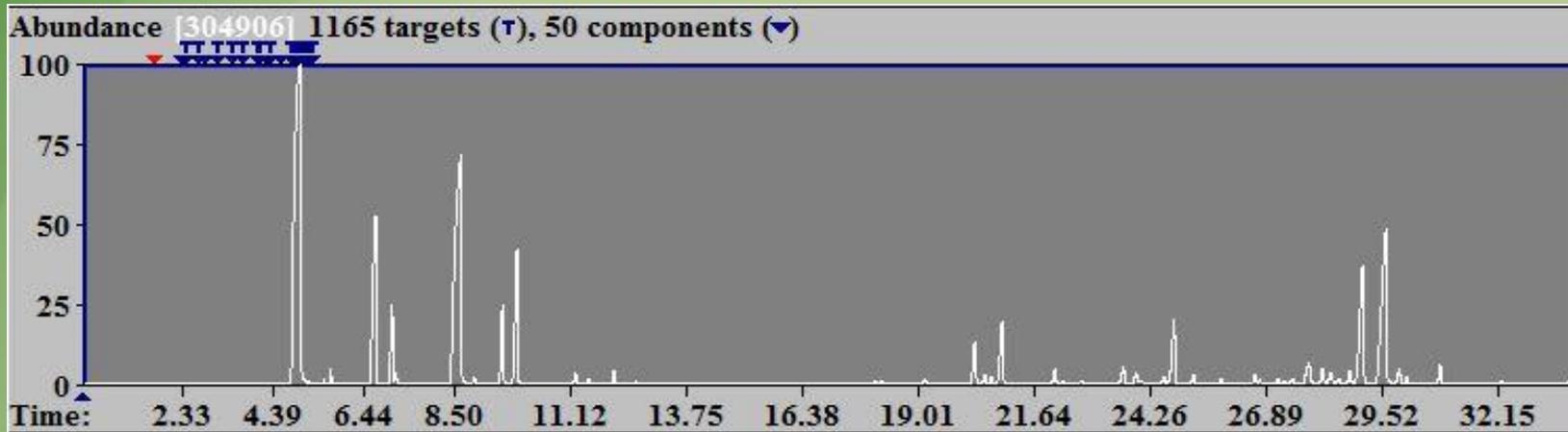
ou

## *Solid phase microextraction (SPME)*

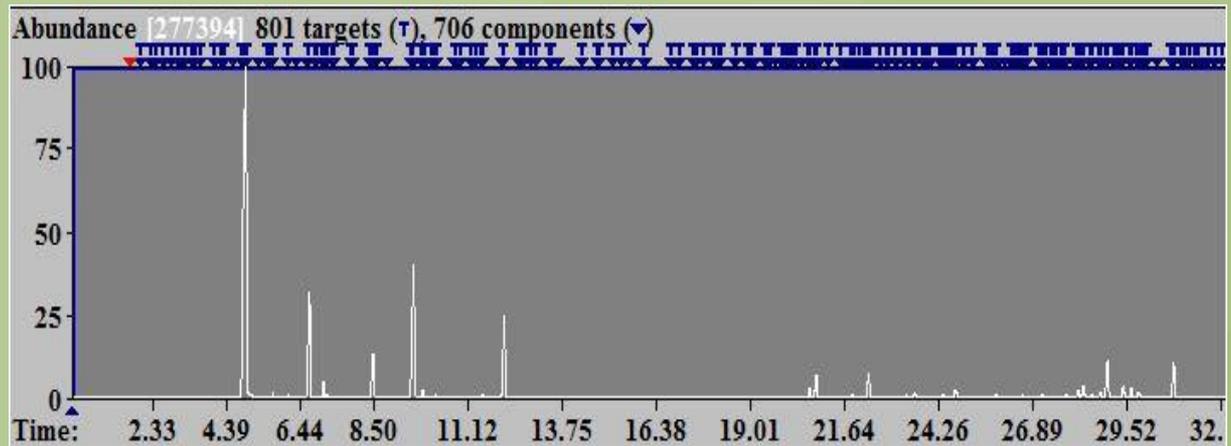
- Détermination de la composition de l'espace de tête
- Pratiquement pas de solvant ni d'appareillage compliqué
- Réduction du temps de préparation des échantillons et des coûts associés
- Grande sensibilité
- Sélectivité

# RESULTATS

## Spectre SPME HE10 Ecorces de tiges



## Spectre SPME HE10 Feuilles



# RESULTATS

- Interpretations en cours

# EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE

# Les souches testées

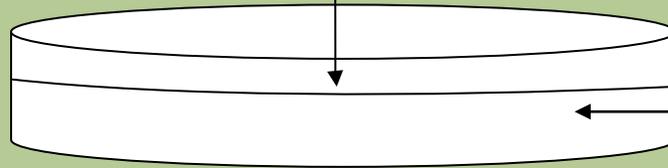
- 5 souches de champignons (moisissures) issues de la collection du CIRAD

<b>Souche de moisissure</b>	<b>Aliment infecté</b>	<b>Origine/code</b>
<i>Fusarium graminearum</i>	Café	Ouganda
<i>Colletotrichum musae</i>	Banane	C62
<i>Aspergillus niger</i>	Café	20
<i>Aspergillus niger</i>	Cacao	Cameroun 21/1523
<i>Aspergillus carbonarius</i>	Cacao	1504

# METHODE

- Mesure de la croissance du germe en milieu solide en présence des **HE**  
(SENHAJI *et al.*, 2005)

Mycélium de la moisissure **ensemencé** à la surface du milieu solide



Milieu Potato Dextrose Agar (PDA)  
+ **HE**  
+ Tween 80 à 0,05%

**Incubation à 30°C**

Mesure du **diamètre** du mycélium pendant 6 jours

**Cinq répétitions par concentration d'HE**

# RESULTATS

- Seize HE sur dix-sept, actives sur les champignons testés

# HE2

Concentration Souche	Taux d'inhibition		
	800 µl/l	3000 µl/l	6000 µl/l
<i>Fusarium graminearum</i>	43,7%	66%	77%
<i>Colletotrichum musae</i> C62	56%	91,3%	92,3%
<i>Aspergillus niger</i> 20	40%	63%	85%
<i>Aspergillus niger</i> 1523	61,5%	68%	89,4%
<i>Aspergillus carbonarius</i> 1504	45%	59,4%	70%

- Activité inhibitrice de HE2 sur ces 5 souches
- *Colletotrichum musae*, souche la plus sensible
- Taux d'inhibition maximum = 92,3%



*Colletotrichum musae* C62  
en présence de **HE2 6000 µl/l**

*Aspergillus niger* 1523  
en présence de **HE2 6000 µl/l**



# HE9

Concentration Souche	Taux d'inhibition		
	1000 µl/l	3000 µl/l	6000 µl/l
<i>Fusarium graminearum</i>	20%	49,5%	56,1%
<i>Colletotrichum musae</i> C62	40,1%	44,8%	75,2%
<i>Aspergillus niger</i> 20	0%	0%	0%
<i>Aspergillus niger</i> 1523	0%	4,1%	22,1%
<i>Aspergillus carbonarius</i> 1504	12%	35,6%	43,1%

- HE9 inactive sur *Aspergillus niger* 20
- *Colletotrichum musae*, souche la plus sensible
- Effet-dose net sur cette souche

# HE6

-Inhibition à partir de 800  $\mu\text{l/l}$  sur les 5 souches (autour de 60%)

-Atteint **100%** à **6000  $\mu\text{l/l}$**  sur les 5 souches (activité fongicide)



*Colletotrichum musae* C62  
en présence de **HE6 6000 µl/l**

*Aspergillus niger* 21  
en présence de **HE6 6000 µl/l**





*Aspergillus niger* 1523  
en présence de **HE6 6000**  $\mu\text{l/l}$

*Aspergillus carbonarius*  
en présence de **HE6 6000**  $\mu\text{l/l}$



2009-11-11

# HE10

- *Apodocephala pauciflora*  
(Asteraceae)
- « Ramy ravipibasy »

Pied  
d' *Apodocephala pauciflora*



Jeune pousse d'*Apodocephala pauciflora*





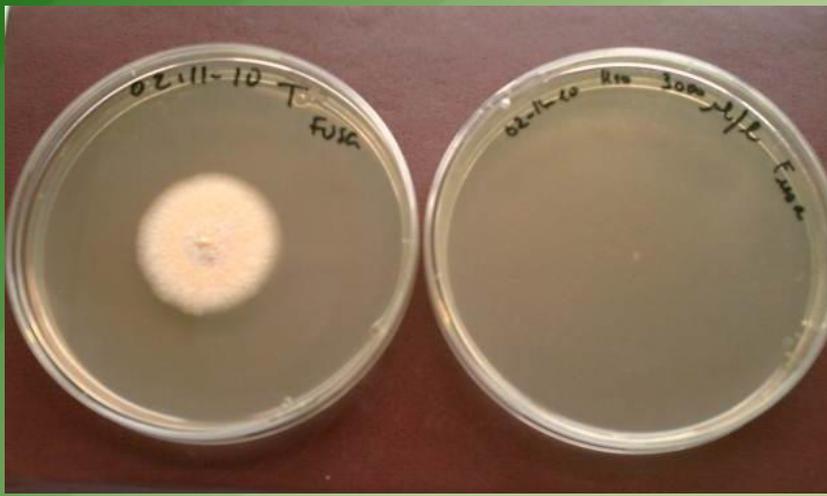
Feuilles  
d'*Apodocephala pauciflora*

**Matériel d'étude**

# ACTIVITE ANTIFONGIQUE DE HE10

Concentration Souche	Taux d'inhibition	
	1000 $\mu$ l/l	3000 $\mu$ l/l
<i>Fusarium graminearum</i>	58,6%	100%
<i>Colletotrichum musae</i> C62	30%	100%
<i>Aspergillus niger</i> 21	19,2%	89,4%
<i>Aspergillus niger</i> 20	4%	50%
<i>Aspergillus carbonarius</i> 1504	28,8%	100%

- HE10 active sur les 5 souches
- Fongicide sur 3 souches à 3000  $\mu$ l/l



*Fusarium graminearum*  
en présence de **HE10 3000 µl/l**

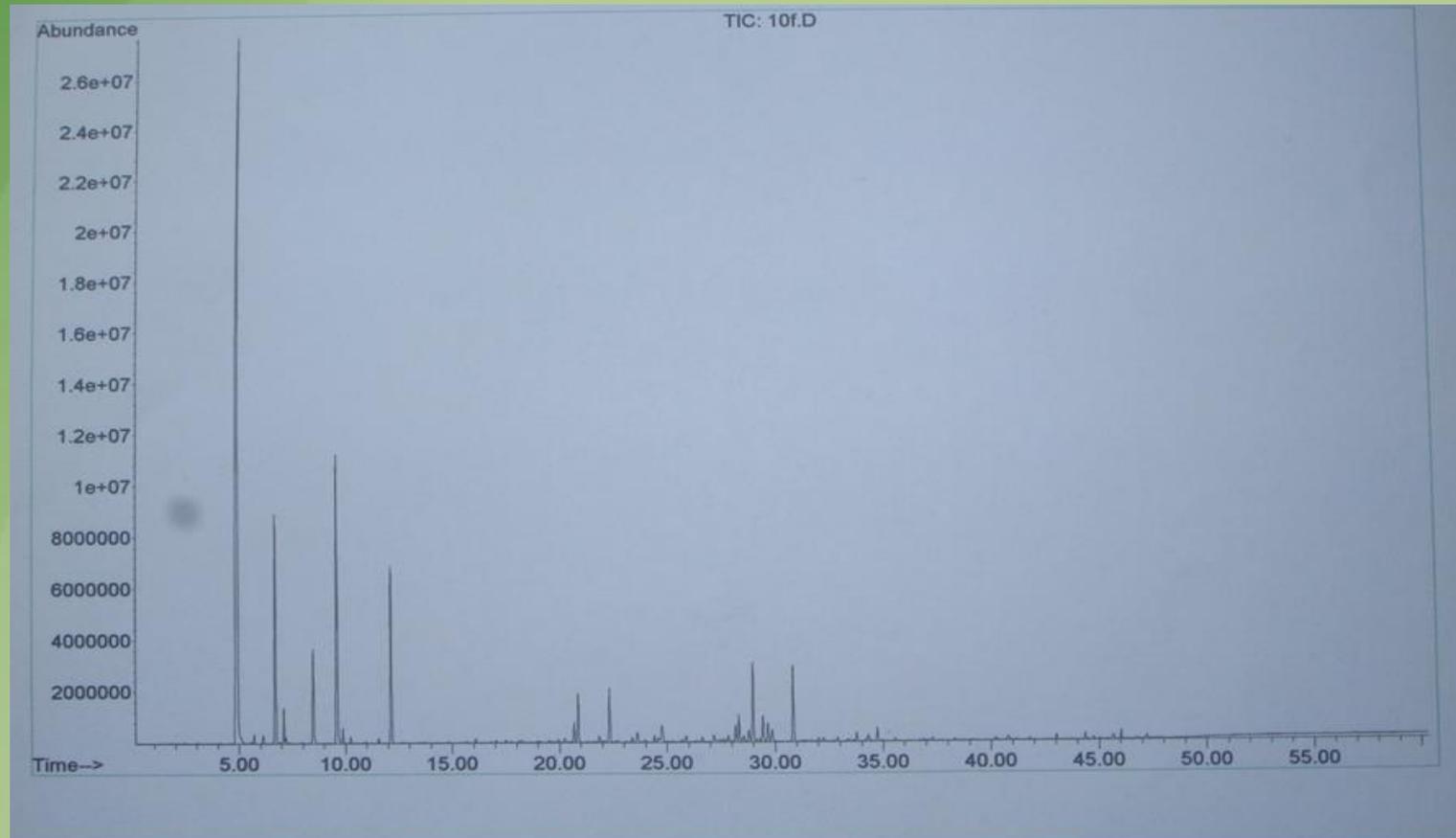
*Colletotrichum musae* C62  
en présence de **HE10 3000 µl/l**



*Aspergillus carbonarius*  
en présence de **HE10 3000 µl/l**



# Spectre GC/SM de HE10 feuilles



# Composition HE10 Feuilles

Lien vers Composition HE10f

[Fichiers Qualireg liens com](#)

[1\Composition HE10](#)

[feuilles.docx](#)

# Autres propriétés de HE10

- Quelques caractéristiques physico-chimiques connues
- Activité bactéricide sur *Streptococcus pneumoniae*
- (CMI = 13,59 mg/ml, CMB = 27,19 mg/ml)
- Activité antioxydante vis-à-vis du DPPH

# ETUDES APPROFONDIES

- **Dans le cadre d'une thèse:**
  - Amélioration du rendement en HE
  - Répartition dans les différents organes, dans le temps, selon la phénologie, selon le terroir
  - Influence de ces facteurs sur les caractéristiques physico-chimiques, la composition chimique, ...
  - Etude d'autres propriétés exploitables

# APPLICATIONS

- Protection des aliments contre les moisissures
- **Quels aliments?**









# Travaux futurs sur aliments

- Analyses
  - I. de la qualité nutritionnelle
  - II. de la qualité microbiologique
- Isolement et identification des moisissures

# Travaux avec HE10

- Tests d'activité sur les moisissures
- Mise au point de l'utilisation de HE10 en tant qu'aromatisant conservateur (forme, doses à appliquer, .)
- Etudes d'acceptabilité

# **REMERCIEMENTS**

- **LABASM (Faculté des Sciences):**
  - RAHARISOA Noelinirina (doctorante)
  - RAZAFINDRAKOTO Ravo (doctorante)
  
  - RANDRIANARIVO Ranjàna
  - JEANNODA Victor

# REMERCIEMENTS

- **PERSYST UMR QUALISUD :**
  - **SERVENT Adrien**
  - **LEBRUN Marc**

**MERCI DE VOTRE  
AIMABLE ATTENTION**