

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI BOUMEDIENE  
FACULTE DE GENIE MECANIQUE & GENIE DES PROCÉDES



### *Mémoire*

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER

En : Génie des Procédés

Spécialité : Technologie Pharmaceutique

Par : ABDOUNE Yamina

### *Thème*

CONTRIBUTION À L'EXTRACTION DES HUILES  
ESSENTIELLES DE L'INULE VISQUEUSE ALGÉRIENNE PAR  
DIVERSES MÉTHODES, ÉTUDE DE SES PROPRIÉTÉS  
ANTIMICROBIENNES ET ANTIOXYDANTES

Soutenu publiquement, le 14/04/2012, devant le jury composé de:

M <sup>me</sup> R.MAACHI	Professeur, à USTHB	Présidente
M <sup>me</sup> H. MOGHRANI	Maitre de conférences/A, à USTHB	Directrice de mémoire
M <sup>me</sup> S. AMOKRANE	Maitre de conférences/A, à USTHB	Examinatrice
M <sup>r</sup> M.TALEB AHMED	Maitre de conférences/A, à USTHB	Examineur
M <sup>r</sup> F. BENKACI-ALI	Maitre de conférences/A, à USTHB	Examineur

## Remerciements

*Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Génie de la Réaction de la faculté de Génie Mécanique et de Génie des Procédés à l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene sous la direction de Madame MOGHRANI HOURIA maitre de conférence que nous remercions pour son aide , sa gentillesse et ses encouragements .*

*Nous tenons également à remercier le Directeur du CRD-SAIDAL pour m'avoir accueillie au sein de son établissement. Ainsi que les cadres du laboratoire de microbiologie pour leurs accueils et leurs aides durant mon stage pratique, en particulier Madame CHAHANE et Madame HALLI.*

*Je tiens à remercier Madame MAACHI, Professeur à l'USTHB de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*Que Madame AMOKRANE, MCA à l'USTHB ; Monsieur TALEB AHMED, MCA à l'USTHB et Monsieur BENKACI-ALI, MCA à l'USTHB, trouvent ici l'expression de mes plus vifs remerciements pour avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie de jury.*

*Je tiens à remercier MERIEM, YASMINA, SOUAD, et HOURIA pour leur accueil et leur aide qui m'a été tant précieux.*

*J'exprime mes remerciements à tous mes collègues du laboratoire M.P.A pour l'atmosphère agréable qu'ils ont su créer et entretenir au sein de notre équipe.*

*Je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

## *Dédicaces*



*Je dédie ce modeste travail :*

*À mes parents pour leurs amours et sacrifices*

*À Mes grands parents*

*À mes très chères sœurs*

*À mes très chers frères*

*À toutes mes amies et collègues et surtout houria*

*Yamina*

---

## Glossaire

---

**Abortive** : Se dit d'un acte, d'une substance qui provoque l'avortement.

**Analgésique** : Qui calme ou atténue les douleurs.

**Antalgique** : Qui calme ou atténue les douleurs.

**Antibactérien** : Qui s'oppose ou développement des bactéries.

**Antinévralgique**: Se dit d'une substance actif contre les douleurs vives ressentie sur le trajet d'un nerf sensitif ou dans son territoire.

**Antiseptique** : Qui détruit les microbes et empêche leurs proliférations.

**Antispasmodique** : Qui agit contre les spasmes, les convulsions, les crampes

**Antivomitif** : Médicament qui prévient les vomissements.

**Bactéricide** : qui tue les bactéries.

**Céphalée** : Douleur à la tête.

**Cicatrisation** : Réparation spontanée d'un tissu de l'organisme atteint d'une lésion aboutissant généralement à une cicatrice.

**Dépuratif** : Se disait d'une substance censée provoquer une purification de l'organisme.

**Diurétique** : Stimule la production de l'urine.

**Expectorant** : Qui facilite l'expectoration (expulsion par la bouche des matières qui encomrent les voies respiratoires, ex : les mucosités en excès dans les branches).

**Fer blanc** : Acier recouvert d'étain.

**Hémostatique** : Se dit d'un agent physique ou médicamenteux arrêtant les hémorragies.

**Hypertension** : Augmentation de la tension.

**Hypnotique** : Se dit de médicaments qui provoquent le sommeil et qui sont prescrits cotre l'insomnie.

**Hypoglycémians** : Ce dit d'une substance qui diminue la glycémie.

**Hyprotique** : Ce qui provoque le sommeil.

**Sédatif** : Se dit d'un médicament ayant un effet calmant, apaisant.

**Spasmes** : Contraction involontaire des muscles.

**Stimulant** : Excitant des fonctions organiques et, ou, psychiques, généralement d'effet passager.

**Tonique** : Qui stimule l'activité de l'organisme ou qui stimule le morale.

**Vermifuge** : Qui permet l'élimination des vers parasites de l'intestin.

---

## Nomenclature

---

% R : Pourcentage relatif

$A_{\%}$  : Activité antioxydante (%)

$A_0$  : Absorbance du blanc ( $t=0$ min).

AFNOR : Association Française de Normalisation.

$A_t$  : Absorbance de la solution de l'huile essentielle testée ( $t=30$  min).

ATCC : American Type Culture Collection.

B0 : Lot de l'inule visqueuse cueillie de Bab-Azzouar en Septembre 2010.

B1 : Lot de l'inule visqueuse cueillie de Bab-Azzouar en Mai 2011.

B2 : Lot de l'inule visqueuse cueillie de Bab-Azzouar en Juillet 2011.

BHA : butyl hydroxy anisol.

C.R.D : Centre de Recherche et Développement.

C0 : Lot de l'inule visqueuse cueillie de Cherchell en Avril 2011.

C1 : Lot de l'inule visqueuse cueillie de Cherchell en Mai 2011.

C2 : Lot de l'inule visqueuse cueillie de Cherchell en Juillet 2011.

CA : Circulation d'air.

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplé à la Spectrométrie de masse.

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

$D$  : Croissance mycélienne du traité exprimé en mm.

DPPH : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl.

$D_t$  : Croissance mycélienne du témoin exprimée en mm.

$-dw/dt$  : Vitesse de séchage.

EVE : Entraînement à la vapeur d'eau.

HD : Hydrodistillation.

HE : Huile Essentielle.

$I_{\%}$  : Pourcentage d'inhibition.

$KI_X$  : Indice de Kovats.

MH : Muller Hinton.

$M_{HE}$  : Masse d'huile essentielle (g).

$M_S$  : Masse sèche de la charge au temps de séchage  $t \rightarrow \infty$ .

$M_t$  : Masse de la matière végétale à l' instant t.

N : La banque des données de NIST.

$P_E^0$  : Tension de vapeur de l'eau

$P_H^0$  : Tension de vapeur de l'huile essentielle.

$P_i^0$  : Tension de vapeur du constituant *i* pur.

PDA : Potato Dextrose Agar.

$P_i$  : Pression partielle du constituant *i*.

$P_T$  : Pression totale.

$R_{HE}$  : Rendement en huile essentielle (%).

RNS : Reactive Nitrogen Species.

ROS : Reactive Oxygen Species.

SAB : Sabouraud.

SCA : Sans circulation d'air.

t : Temps en jours.

tr (n) : Temps de rétention de l'alcane à n atome de carbone qui précède x.

tr (n+1) : Temps de rétention de l'alcane à (n+1) atome de carbone qui suit x.

tr(x) : Temps de rétention de soluté (x) étudié.

W : Teneur en eau (%).

$X_i$  : Fraction molaire du constituant *i* en phase liquide.

Y : Taux d'humidité (%).

z : Différence du nombre d'atomes de carbonnes entre les deux alcanes.

## Résumés

**Résumé.** Ce travail porte sur l'extraction des huiles essentielles de l'inule visqueuse de deux régions (Cherchell et Bab-Ezzouar) par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation et l'étude de ces quelques activités biologiques. Les résultats obtenus montrent que les rendements les plus élevés sont obtenus par entraînement à la vapeur d'eau à la période de juillet et la région de Cherchell donne les meilleurs rendements. L'analyse par CG/MS a permis d'identifier quelques composés de cette huile essentielle. L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile de la période d'Avril a été faite sur quatre bactéries et deux levures. Cette huile a une forte action inhibitrice sur les 2 bactéries à gram<sup>+</sup> : *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. L'étude de l'activité antioxydante a révélé que le pouvoir antioxydant des huiles essentielles est faible.

**Mot clés :** Inule visqueuse, extraction, huile essentielle, composition, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

**Abstract.** This work deals with the extraction of essential oils of *Inula viscosa* of two regions (Cherchell and Bab-Ezzouar) by hydrodistillation and steam distillation and the study of some biological activities. The results obtained show that the highest yields are obtained by steam distillation to the period of July and the region of Cherchell gives the best yields. Analysis by GC/MS is allowed to identify some compounds of this essential oil. The evaluation of the antimicrobial activity of the oil of the period of April was made on four bacteria and two yeasts. This oil has a strong inhibitory action on the 2 gram<sup>+</sup> bacteria: *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. The study of antioxidant activity showed that the antioxidant power of essential oils is low.

**Key words:** *Inula viscosa*; extraction; essential oil; composition, antimicrobial activity, antioxidant activity.

**الخلاصة.** يتناول هذا العمل استخراج الزيوت الأساسية للمقرمان من منطقتين (شرشال وباب الزوار) عن طريق hydrodistillation و entraînement à la vapeur d'eau و دراسة بعض الأنشطة البيولوجية. النتائج التي تم الحصول عليها تظهر ان مردود عملية الاستخراج وصل الى أعلى قيمة عن طريق entraînement à la vapeur d'eau في فترة جويلية و منطقة شرشال أعطت أفضل مردود. سمح التحليل عن طريق الكروماتوغرافيا في وسط غازي مقرون بالمكيال الطيفي إلى التعرف على بعض مركبات هذه الزيوت. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات لزيت شهر افريل على أربعة أنواع من البكتيريا ونوعين من الفطريات. هذا الزيت كان له قوة كابحة على نوعين من بكتيريا غرام<sup>+</sup> : *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis*. أظهرت دراسة نشاط ضد الأكسدة أن القوة المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية ضعيفة.

**المفتاح اللغوي :** المقرمان، استخراج، الزيوت الأساسية، المكونات، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات.

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1.</b> Quelques plantes médicinales d'Algérie .....	4
<b>Tableau I.2.</b> Certains médicaments à base de plantes .....	7
<b>Tableau III.1.</b> Les espèces réactives d'oxygène (ROS) et les espèces réactives d'azote (RNOS) .....	23
<b>Tableau IV.1.</b> Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse. ....	27
<b>Tableau IV.2.</b> Quelques usages traditionnels de l'inule visqueuse. ....	28
<b>Tableau IV.3.</b> Indice d'inhibition antifongique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse. ....	30
<b>Tableau V.1.</b> Description des différents lots de la matière végétale. ....	34
<b>Tableau V.2.</b> Conditions de séchage des feuilles de l'inule visqueuse des lots C0, C1 et B0. ....	37
<b>Tableau V.3.</b> Conditions d'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de l'inule visqueuse. ....	43
<b>Tableau V.4.</b> Caractéristiques des souches testées. ....	45
<b>Tableau V.5.</b> Concentrations des solutions testées pour l'activité antioxydante.....	48
<b>Tableau VI.1.</b> Rendements en huile essentielle obtenus pour différents lots.....	55
<b>Tableau VI.2.</b> Rendements en huile essentielle pour différents lots. ....	56
<b>Tableau VI. 3.</b> Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de l'inule visqueuse .....	57
<b>Tableau VI.4.</b> Les constituants de l'huile essentielle d'Inule visqueuse de lot C0 par entraînement à la vapeur d'eau. ....	58
<b>Tableau VI.5.</b> Les constituants de l'huile essentielle d'inule visqueuse de lot C2 par entraînement à la vapeur d'eau. ....	60
<b>Tableau VI.6.</b> Les constituants de l'huile essentielle d'Inule visqueuse de lot C2 par hydrodistillation. .	62
<b>Tableau VI.7.</b> Principales familles des composés identifiés. ....	65

## Liste des figures

<b>Figure II.1.</b> Structures chimiques de quelques composés des huiles essentielles .....	12
<b>Figure II.2.</b> Évolution des températures de distillation de l'eau et l'huile essentielle, et du mélange eau/huile essentielle en fonction de la pression du milieu .....	16
<b>Figure IV.1.</b> Inule visqueuse. ....	25
<b>Figure IV.2.</b> Structures chimiques de quelques composés identifiés dans les feuilles de l'inule visqueuse .....	33
<b>Figure V.1.</b> Photo de la disposition de la plante pour le séchage des feuilles de l'inule visqueuse. ....	36
<b>Figure V.2.</b> Dispositif expérimental de l'entraînement à la vapeur.....	39
<b>Figure V.3.</b> Dispositif expérimental de l'hydrodistillation.....	40
<b>Figure V.4.</b> Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de pétri.....	44
<b>Figure V.5.</b> Forme libre et réduite du DPPH [115]. ....	47
<b>Figure VI.1.</b> Coupe transversale d'une feuille de l'inule visqueuse met en évidence des poils sécréteurs unicellulaire et pluricellulaire (25×3,2).....	49
<b>Figure VI.2.</b> Coupe transversale d'une feuille de l'inule visqueuse met en évidence des poils sécréteurs pluricellulaires (25×3,2) .....	50
<b>Figure VI.3.</b> Évolution de la teneur en eau des feuilles de l'inule visqueuse.....	51
<b>Figure VI.4.</b> Évolution de la vitesse de séchage des feuilles de l'inule visqueuse.....	51
<b>Figure VI.5.</b> Évolution de la vitesse de séchage des feuilles de l'inule visqueuse en fonction de la teneur en eau à différentes températures ambiantes. ....	53
<b>Figure VI.6.</b> Évolution de la vitesse de séchage des feuilles de l'inule visqueuse en fonction de la teneur en eau dans un milieu sans circulation d'air et avec circulation d'air. ....	53
<b>Figure VI. 7.</b> Évolution du rendement de l'huile essentielle en fonction du temps. ....	55
<b>Figure VI.8.</b> Rendements en huile essentielle pour chaque lot, et chaque procédé d'extraction. ....	57
<b>Figure VI.9.</b> Chromatogramme de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de lot CO. ....	59
<b>Figure VI.10.</b> Chromatogramme de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de lot C2 par entraînement à la vapeur d'eau.....	61

<b>Figure VI.11.</b> Chromatogramme de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de lot C2 par hydrodistillation.....	63
<b>Figure VI.12.</b> Les pourcentages relatifs des composés majoritaires des huiles essentielles obtenues par les deux procédés de lot C2. ....	64
<b>Figure VI.13.</b> Les pourcentages relatifs des composés majoritaires des huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau de lot C0 et C2.....	64
<b>Figure VI.14.</b> Zones d'inhibition de l'huile essentielle d'inule visqueuse sur les bactéries gram +. ....	65
<b>Figure VI.15.</b> Zones d'inhibition de l'huile essentielle d'inule visqueuse sur les bactéries gram-. ....	66
<b>Figure VI.16.</b> Zones d'inhibition de l'huile essentielle d'inule visqueuse sur les levures. ....	66
<b>Figure VI.17.</b> Activité antioxydante de l'huile essentielle de lot B1 extraite par hydrodistillation. ....	68
<b>Figure VI.18.</b> Activité antioxydante de l'huile essentielle de lot B2 extraite <i>par entraînement à la vapeur d'eau</i> .....	69
<b>Figure VI.19.</b> Activité antioxydante de l'huile essentielle de lot B2 extraite par hydrodistillation. ....	69
<b>Figure VI.20.</b> Activité antioxydante du témoin BHA. ....	70

---

# Sommaire

---

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

## CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES PLANTES MEDICINALES

I.1. Historique.....	3
I.2. Les plantes médicinales en Algérie.....	3
I.3. Récolte, dessiccation, stockage de plantes médicinales.....	5
I.4. Principes actifs des plantes médicinales.....	6

## CHAPITRE II : GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES

II.1. Définition :.....	9
II.2. Répartition et localisation des huiles essentielles.....	9
II.3. Propriétés physiques.....	10
II.4. Composition chimique.....	10
II.5. Conditions de conservation et de stockage.....	11
II.6. Domaine d'utilisation des huiles essentielles.....	13
II.7. Toxicité des huiles essentielles.....	13
II.8. Les procédés d'extraction des huiles essentielles.....	14
II.8.1. Expression.....	14
II.8.2. Distillation.....	14
II.8.3. Extraction par solvant fixe.....	17
II.8.4. L'extraction par solvants volatils des extraits aromatiques.....	17
II.8.5. Extraction au CO <sub>2</sub> .....	17

## CHAPITRE III : ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE ET ANTIOXYDANTE

III.1. Activité antimicrobienne.....	19
III.1.1. Activités bactéricide et bactériostatique.....	19
III.1.2. Facteurs influents l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	20
III.1.3. Association d'huiles essentielles.....	21
III.1.3. Mode d'action antimicrobien des huiles essentielles contre les bactéries.....	22
III.2. Activité antioxydante.....	22
III.2.1. Le stress oxydatif.....	22
III.2.2. Les radicaux libres.....	23

III.2.3. Les antioxydants.....	24
III.2.4. Les antioxydants naturels .....	24

#### **CHAPITRE IV : MATIERE VEGETALE : *Inule visqueuse***

IV.1. Généralités .....	25
IV.2. Description botanique .....	25
IV.3. Nom vernaculaires .....	26
IV.4. position systématique .....	26
IV.5. Répartition géographique .....	26
IV.6. Phytochimie de la plante .....	26
IV.7. Usage traditionnel de l'inule visqueuse .....	27
IV.8. Travaux antérieurs sur l'inule visqueuse.....	29

#### **CHAPITRE V : MATERIELS ET METHODES**

V.1. Récolte de la matière végétale.....	34
V.2. Étude histologique : élaboration des coupes anatomiques .....	34
V.3. Séchage de la matière végétale.....	35
V.4. Procédés d'extractions.....	38
V.5.1. Entraînement à la vapeur d'eau .....	38
V.5.2. Hydrodistillation.....	39
V.6. Rendement en huile essentielle.....	40
V.7. Analyse des huiles essentielles.....	41
V.7.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) .....	41
V.7.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS) .....	41
V.8. Étude qualitative de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'inule visqueuse .....	43
V.8.1. Principe.....	43
V.8.2. les souches microbiennes choisies.....	44
V.8.3. Protocole expérimental.....	45
V.9.1. Principe.....	47
V.9.2. Mode opératoire.....	47

#### **CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS**

VI.1. localisation des organes de sécrétion des huiles essentielles de feuille de l'inule visqueuse.....	49
VI.2. Étude de la cinétique de séchage de la matière végétale.....	50
VI.2.1. Influence de la température ambiante sur la vitesse de séchage .....	52
VI.2.2. Influence du courant de l'air sur la vitesse de séchage .....	52
VI.3. Valorisation des huiles essentielles de l'inule visqueuse .....	54
VI.3.1. Cinétique de l'extraction des huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau. 54	

VI.3.2. Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau.....	55
VI.3.3. Extraction des huiles essentielles par Hydrodistillation.....	56
VI.3.4. Détermination des propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de l'inule visqueuse .....	57
VI.3.5. Analyses qualitatives des huiles essentielles de l'inule visqueuse.....	58
VI.3.5.1. Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de lot C0.....	58
VI.3.5.2. Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de Lot C2.....	59
VI.3.5. 3. Les Principales familles chimiques des composés identifiées .....	65
VI.4. Évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de l'inule visqueuse.....	65
VI.5. Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de l'inule visqueuse .....	68
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	71

---

## *INTRODUCTION*

---

---

## INTRODUCTION

L'Algérie est riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes. Ces plantes aromatiques sont à l'origine des produits à forte valeur ajoutée (huiles essentielles, extraits, résines...) qui se présentent presque toujours comme des mélanges complexes.

L'engouement actuel du grand public pour les produits d'origine naturelle, accentué par les effets controversés des additifs alimentaires de synthèse sur la santé, oblige les secteurs agroalimentaire et pharmaceutique au recours à de tels produits en remplacement des produits purement synthétiques [1].

L'usage généralisé et abusif des antibiotiques en thérapeutique humains et animale conduit de plus à la sélection des germes résistants, qui paradoxalement ont plus de mal à développer des résistances aux mélange complexes de composés que représentent les huiles essentielles [2].

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes d'oxydations et de la résistance bactérienne. Dans ce but l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à caractère antibactérien et antioxydant, si l'on considère que chacune de ces plantes peut contenir des centaines, voir des milliers de métabolites secondaires.

Les huiles essentielles constituent l'une des classes de métabolisme secondaire, et forment un très vaste ensemble de substances. Elles présentent des propriétés biologiques, thérapeutiques et odoriférantes. Pour cette raison, les huiles essentielles capturent l'intérêt de plusieurs recherches.

L'espèce inule visqueuse (*Inula viscosa* (L) Aiton) appartient à la famille des Asteraceae. C'est une plante très répandue dans le nord de l'Algérie et dans tout le pourtour méditerranéen [3], elle est très appréciée par les populations dans les soins traditionnels.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'une meilleure connaissance de cette plante en valorisant son huile essentielle du point de vue composition chimique et d'activité antioxydante et antimicrobienne.

Pour la réalisation de cette étude, nous allons la partager en deux parties essentielles :

- La première partie est consacrée à l'étude bibliographique, relative aux plantes médicinales, aux huiles essentielles, à l'activité antimicrobienne et antioxydante, et à la plante étudiée.
- La deuxième partie concerne l'étude expérimentale, qui portera sur l'observation sous microscope optique des coupes de la plante, le séchage des feuilles et l'extraction des huiles essentielles de l'inule visqueuse de deux régions d'Algérie (Bab-Ezzouar et Cherchell). les huiles essentielles obtenues seront analysées par CG/MS et testées pour l'étude de leurs éventuelles activités antimicrobienne et antioxydante.

Nous terminons par une conclusion et perspectives.

---

*CHAPITRE I*

*GENERALITES SUR LES PLANTES*

*MEDICINALES*

---

---

## CHAPITRE I

### GENERALITES SUR LES PLANTES MEDICINALES

#### I.1. Historique

Les plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composantes de valeur thérapeutique. Récemment, l'acceptation de la médecine traditionnelle comme forme alternative de santé et le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles a conduit les chercheurs à valoriser l'effet thérapeutique des plantes [4]. De même, les effets secondaires négatifs infligés par les drogues modernes, imposent les soins par les remèdes naturels [5].

Dans les civilisations chinoise, indienne ou aztèque, on trouve la trace de l'utilisation des plantes médicinales. Le premier livre de la matière médicale, le *Scen Nung Ben Cao Jing* (« traité des plantes médicinales de l'empereur Shen Nung »), fut rédigé vers 2900 avant J.-C. Les populations babyloniennes et sumériennes utilisaient les plantes pour se soigner ; 600 tablettes mentionnent 1000 plantes pour leurs vertus curatives et plus de 800 remèdes sont décrits par les Egyptiens [6]. Le soin de la peau a commencé 3000 ans avant la naissance du Christ, chez les Egyptiens [7].













A l'apogée de l'empire arabe (dont les frontières allaient de l'Inde à l'Espagne), tous les documents écrits furent réunis à Bagdad dans la plus grande bibliothèque de l'époque (entre le 7<sup>e</sup> et le 9<sup>e</sup> siècle). Les arabes avaient aussi leurs spécialistes en médecine et en pharmacie comme Abu Bakr al-Razi ou Rhazés (865-925) qui fut l'un des grands médecins de son temps et le précurseur de la psychothérapie. Il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne (980-1037) qui écrivit le « *Canon de la médecine* ». Ce livre servira de base à l'enseignement de la médecine dans les universités de Louvain et de Montpellier jusqu'aux environs de 1650. Ibn al Baytar (1197-1248) rédigea le très complet *Somme des Simples* : ce livre contenait une liste de 1400 préparations et plantes médicinales [6].

#### I.2. Les plantes médicinales en Algérie

L'Algérie, comporte une flore très diversifiée, à travers ses étages bioclimatiques allant de l'humide (au nord) vers le saharien (au sud), concentrée surtout dans le nord du pays.

Le tableau I.1 mentionne certaines plantes médicinales qui poussent en Algérie avec leurs utilisations thérapeutiques.

**Tableau I.1.** Quelques plantes médicinales d'Algérie [8,9].

Nom	Appellation locale	Nom scientifique	Utilisation thérapeutique	Photo
Camomille	<i>Baboundj</i>	<i>anthemis nobilis</i>	Stress Antalgique Tonique	
Coquelicot	<i>Hantal</i>	<i>papaver rhoeas</i>	Insomnie Toux Sédatif	
Eucalyptus	<i>Kafor</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Grippe Rhume Bronchite	
Genévrier	<i>Aârâr</i>	<i>Juniperus oxycedrus</i>	Antiseptique Diurétique Stimulant	
Laurier noble	<i>Rand</i>	<i>Laurus nobilis</i>	Stomachique Pédiculaire Stimulant	
Lavande	<i>El khouzama</i>	<i>Lavandula officinalis</i>	Nervosité Insomnie Antiseptique	
Myrte	<i>Rihan</i>	<i>Myrtus communis</i>	Hypertension Antiseptique	
Menthe	<i>Nânâ</i>	<i>Mentha spicata</i>	Antispasmodique Antivomitif Tonique	
Persil	<i>Makadnous</i>	<i>Petroselinum crispum</i>	Hypertension Antianimé	
Romarin	<i>Aklil</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Cicatrisation, Stimulant	
Verveine	<i>Luïza</i>	<i>Vinus vinifera</i>	Spasmes Insomnie	
Inule visqueuse	<i>Ammagramane</i>	<i>Inula viscosa</i>	Abortive Anti-inflammatoire antiseptique antidiabétique	

### I.3. Récolte, dessiccation, stockage de plantes médicinales

Les drogues végétales proviennent des plantes sauvages ou cultivées, la qualité finale de la drogue dépend des conditions de récolte, de séchage, de fragmentation et de stockage [10].

#### a) *La récolte*

La récolte des plantes médicinales est soumise à certaines règles. Elle tient compte des variations climatiques et saisonnières; en effet, les plantes ou leurs organes (feuilles, bourgeon, fleurs, fruits,...) doivent être cueillis par temps sec, de préférence après le levé du soleil, et ne pas par temps de pluie afin d'éviter les risques de moisissure [11].

#### b) *La dessiccation*

Généralement les plantes récoltées doivent être soigneusement séchées le plus rapidement possible, afin d'éviter leur altération, leur fermentation et la perte de leurs principes actifs.

Un mode de séchage incorrect provoque une augmentation de la quantité des produits de dégradation sans valeur thérapeutique et le principe actif perd sa qualité [12].

La dessiccation apparaît comme une étape essentielle qui garantit la bonne conservation de la drogue végétale. Les techniques de dessiccation sont variables [13].

- A l'ombre et sous abri.
- A l'air libre et au soleil
- A l'air chaud et sec.
- A l'étuve et sous vide.

Tout procédé de séchage, doit tenir compte de la nature et des caractéristiques spécifiques des produits à sécher, et obéir à certains critères et contraintes comme la qualité de produit fini et le cout de revient de l'opération.

#### c) *Le stockage*

Au cours du stockage, on doit préserver les drogues de l'humidité, de la lumière, de l'attaque des ravageurs, des divers insectes et champignons.

Lorsqu'il ne reste plus aucune trace d'humidité, les plantes séchées se rangent soigneusement et séparément dans des récipients adéquats portant le nom de la plante et la date de l'échantillon. Il faut choisir des boîtes ou des bocaux en verre, fer blanc ou en carton, mais surtout pas en plastique, il faut bien les fermer et les ranger dans un endroit sombre [14].

#### **I.4. Principes actifs des plantes médicinales**

Chaque espèce contient un certain nombre de substances, lesquelles dépendent du métabolisme de la plante et s'élaborent comme produits secondaires. Les principes actifs des diverses plantes médicinales issues de ce métabolisme secondaire, possèdent des propriétés physiologiques importantes pour l'homme et les animaux [15].

Parmi les principes actifs contenus dans les plantes médicinales, on cite :

- **Les tanins**

Les tanins hydrosolubles et condensés, ils sont des produits naturels phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses. Ils possèdent des propriétés antiseptiques mais également antibiotiques, astringentes et anti-inflammatoires [16].

- **Les lignanes**

Chez les plantes, les lignanes jouent un rôle important pour leur défense : des propriétés antibactériennes et antifongiques ont été décrites pour de nombreuses molécules de ce groupe [17, 18].

- **Les flavonoïdes**

Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux (plusieurs milliers des molécules sont décrites pour ce groupe), presque toujours hydrolysables, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Leur formule chimique est basée sur un squelette de C15. Les flavonoïdes ont des effets thérapeutiques comme antioxydants, anti-inflammatoires, bonne circulation de système cardiovasculaire. [19, 20].

- **Les alcaloïdes**

Le terme alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIXe siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme des *alcalis* (de l'arabe *alkaly*, la soude

et du grec *eidos*, l'aspect). Initialement définis comme des substances azotée, basique, d'origine naturelle et de distribution restreinte, les alcaloïdes ont une structure complexe présentant un azote inclus dans un hétérocycle. Ces composés présentent une extrême variété, on connaît quelque 5000 alcaloïdes (tels que la morphine, la caféine, la strychnine ou la quinine), ils possèdent une activité pharmacologique significative [21, 22].

- **Les lactones sesquiterpéniques**

Se sont des substances naturelles très diverses ayant en commun cette saveur particulière correspondant aux 'principes amers' des astéracées (absinthe, artichaut, cardon, chicorée, pissenlit). Toutes ces substances ont une action stimulante sur la production de suc gastrique, favorisant ainsi la digestion [23].

- **Les huiles essentielles**

Les principaux constituants des huiles essentielles sont des terpènes. Divers huiles essentielles contiennent toutefois une forte teneur en dérivés aromatiques, comme huile essentielle d'anis riche en anéthol, et en aldéhyde anisique, et huile essentielle de géroflier riche en eugénol [24, 25].

### I.5. Quelques médicaments à base de plantes.

Le tableau I.2 regroupe quelques plantes utilisée en pharmacie.

**Tableau I.2.** Certains médicaments à base de plantes [26].

Médicament	Plantes utilisées	Les parties utilisées	Propriétés des plantes utilisées
Arkogélules Pensée sauvage	Pensée sauvage	Partie arienne fleurie	Dépuratif, antioxydant, améliore l'état des peaux séborrhéiques
Elusanes Bardane	Bardane	Racine	Antibactérien (actif sur les bactéries Gram <sup>+</sup> )
Arkogélules lavande	Lavande	Fleurs	Sédatif nerveux hypnotique léger
Céfamig	Grande camomille	Plante	Antimigraïneuse, antinévralgique, antispasmodique
Anxoral	Aubépine Passiflore Valériane	Fleurs Parties aériennes Racine	Hypnotique léger, antispasmodique. Sédatif sans effet secondaire modéré, antispasmodique Antispasmodique, sédatif du SNC, hyprotique léger

Les plantes ont joué un rôle important dans la vie de l'être humain comme source principale de nourriture, aussi bien pour l'entretien et l'amélioration de la santé que pour le traitement des maladies. Les huiles essentielles extraites de certaines plantes aromatiques ont prouvé, au même titre, leur valeur inestimable pour l'homme. Dans le chapitre suivant on va donner l'essentiel sur les huiles essentielles.

---

*CHAPITRE II*

*GENERALITES SUR LES HUILES*

*ESSENTIELLES*

---

---

## CHAPITRE II

### GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES

#### II.1. Définition :

Selon AFNOR, 1988, « une huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de citrus. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques, pour les deux modes d'obtention, elle peut subir des traitements physiques n'entraînent pas le changement significatif de sa composition [27].

Cette définition est très restrictive et n'est pas toujours acceptée car elle exclue, d'une part, les produits odorants d'origine animale et, d'autre part, les essences obtenues par d'autres procédés d'extraction.

Notons que la notion d'aromes est à la fois différente et plus vaste que celle des huiles essentielles puisqu'elle s'applique à tout principe odorant qui émane des substances naturelles ou qui est engendré par un processus Physique, chimique ou enzymatique (le café torréfié, la viande grillée, le poisson, le fromage...).

#### II.2. Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont largement réparties dans le règne végétal dont certaines sont particulièrement riches (conifères, rutacées, myrtacées, ombellifère, labiées, composées).

Elles peuvent être rencontrées dans tout les organes végétaux : somites fleurie (lavande, menthe), écorces (cannelier), racine (vétiver), rhizomes (gingembre), fruits (anis, fenouil), bois (camphrier). Dans une même plante, elles peuvent être présente à la fois dans différents organes. La composition des essences peut varier d'un organe à un autre comme l'huile essentielle des fleurs, de feuilles et des fruits de divers citrus [28].

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à huiles essentielles des Lauraceae au des Zingiberaceae, poil

sécréteurs des Lamiaceae, poches sécrétrices des Myrtaceae au des Rutaceae, canaux sécréteurs des Apiaceae [29].

Quantitativement, les teneurs en huiles essentielles sont plutôt faibles, assez souvent inférieures à 1%. Des teneurs fortes comme celle du bouton floral de giroflier (15% et plus de la drogue sèche) sont exceptionnelles [29].

### II.3. Propriétés physiques

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques.

- Elles sont généralement des liquides à la température ordinaire.
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle. Il existe cependant quelques exceptions (huiles essentielles à azulène, de coloration bleue).
- Leur densité est, le plus souvent, inférieure à 1.
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire.
- Peu soluble dans l'eau, elles sont solubles dans les alcools de titres élevés, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques.
- Elles sont également très sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux [29].

### II.4. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes dont les constituants sont presque exclusivement appartiennent à deux groupes : le groupe des terpénoides et le groupe des composés aromatiques.

#### II.4. 1. Les terpènes

Ils sont formés d'unités isoprène en 5 carbones, selon le nombre de ces unités les terpènes sont classés en monoterpènes à 10 carbones, sesquiterpènes à 15 carbones, diterpènes à 20 carbones, les triterpènes 30 carbones et les tetraterpènes 40 carbones (figure II.1) [30].

##### *a- Les monoterpènes*

Ils sont formés de l'accouplement de deux unités d'isoprène (C<sub>10</sub>). Ils sont les molécules les plus représentatives, constituant 90% des huiles essentielles. Ils se présentent sous forme de

carbures (myrcène, ocimène, bisabolène, caryophyllène...), d'alcools (géraniol, menthol, terpinéol...), d'aldéhydes (géranial, santalal, citronellal...), de phénols (thymol, carvacrol..), de cétones (menthone, thuyone, pulégone, vétivone...), d'esters (acétate de linalyle, de menthyle, de cédryle ...), d'éther (cinéole).

### **B- Les sesquiterpènes**

Ils sont formés de l'ensemble de trois unités d'isoprène (C15). Les mêmes familles chimiques rencontrées dans la série des monoterpènes se trouvent dans cette série : les Carbures (azulene, b-bisabolene, cadinènes), les alcools (bisabol, cedrol), les cétones (germacrone, nootkatone, turmerones), les epoxyde (oxyde de caryophyllene, époxydes d'humulène).

#### **II.4.2. Les composés aromatiques**

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C6-C3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des allyl et propénylphénols. Les composés aromatiques comportent : les aldéhydes (cinnamaldéhyde), les alcools (alcool cinnamique), les phénols (chavicol, eugénol), les dérivés méthoxy (anethole, elemicine, estragole), les composés de dioxyde de méthylène (apiole, myristicine) (figure II.1) [29].

Les principales sources de ces composés sont anis, cannelle, clou de girofle, fenouil, noix de muscade, persil, sassafras, anis d'étoile, estragon, et quelques familles botaniques (Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Rutaceae) [30].

#### **II.4.3. Les composés d'origines divers**

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire entraînés lors de l'hydrodistillation tels que : les carbures (linéaires et ramifiés, saturés ou non), les acides (C3 à C10), les alcools, les aldéhydes, les esters acycliques, les lactones [29].

### **II.5. Conditions de conservation et de stockage**

Beaucoup de dégradations peuvent modifier les propriétés et /ou mettre en cause l'innocuité de l'huile essentielle lors du stockage, il convient de les éviter, pour cela, on préconise l'utilisation de flacons propres et secs en aluminium vernissé, en acier inoxydable ou en verre teinté anti-actinique, presque entièrement remplis et fermés de façon étanche (l'espace libre étant rempli d'azote ou d'un autre gaz inerte). Le stockage doit être réalisé à l'abri de la chaleur et de la lumière. Dans certains cas, un antioxydant approprié peut être ajouté. Dans ce cas, cet additif

est à mentionner lors de la vente ou l'utilisation de l'huile essentielle. Par ailleurs, des incompatibilités sérieuses peuvent exister avec certains conditionnements en matières plastiques [31].

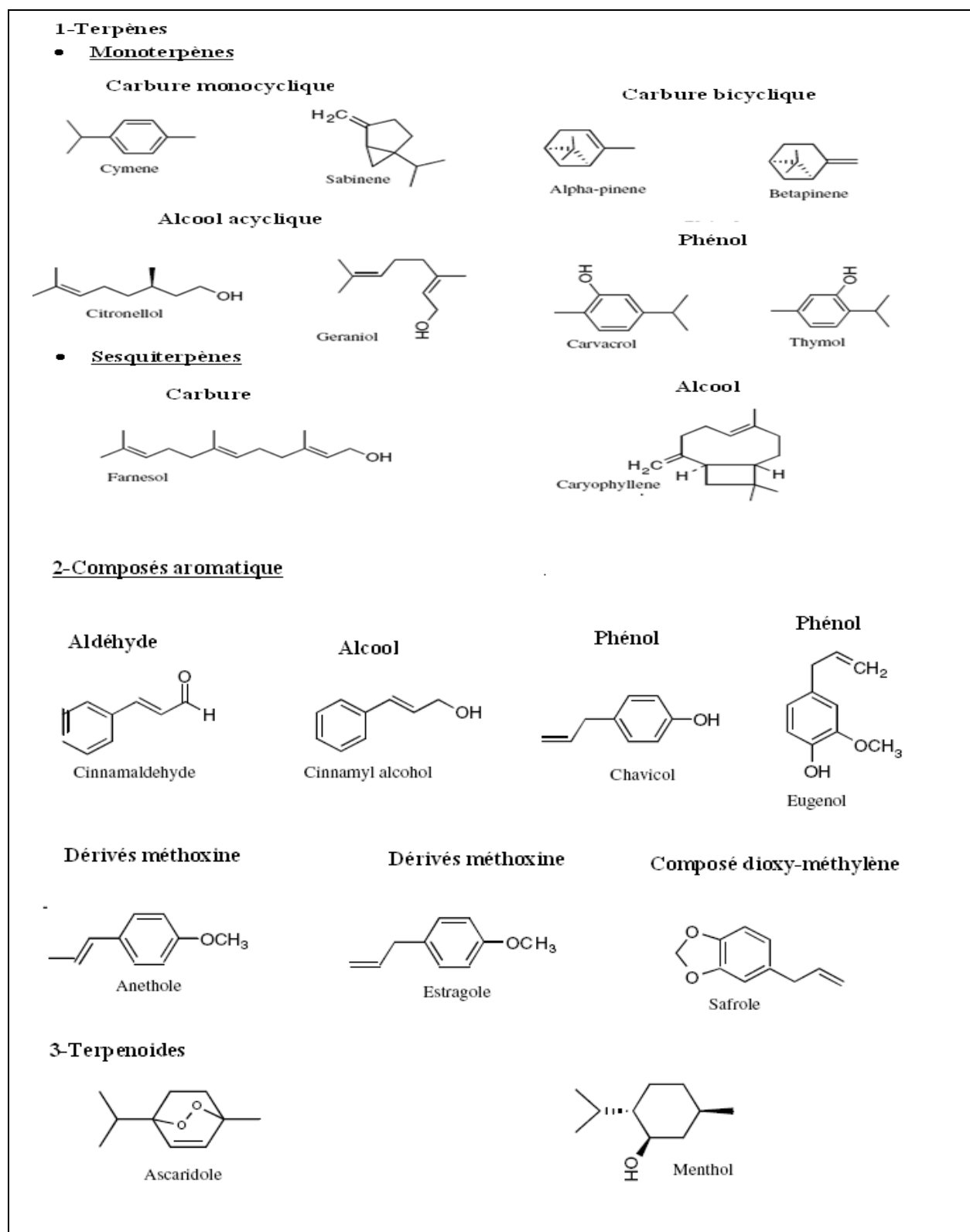


Figure II.1. Structures chimiques de quelques composés des huiles essentielles [30]

## **II.6. Domaine d'utilisation des huiles essentielles**

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles, peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs.

### **II.6.1. En pharmacie**

Les huiles volatiles ont un grand intérêt en pharmacie. Elles s'utilisent sous la forme de préparations galéniques et dans la préparation d'infusion (verveine, thym, menthe) [32].

Aussi, elles s'emploient pour leurs propriétés aromatisantes pour masquer l'odeur désagréable des médicaments destinés à la voie orale.

De plus les huiles essentielles sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques ; ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques de désinfection. Elles sont utilisées comme anti-infectieux (girofle, eucalyptus, myrte). Les essences d'eucalyptus qui, à cause de leur volatilité, favorisent l'expectoration et sont, de ce fait, indiquées dans les bronchites chroniques [33].

### **II.6.2. En parfumerie**

C'est le débouché principal des huiles essentielles, des concrètes, des absolues, et autres résinoïdes. La cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs [29].

### **II.6.3. Dans les industries agroalimentaires.**

En effet, tous les secteurs alimentaires sont consommateurs : alcools, boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, produits carnés, sauces, soupes, produits de boulangerie, sans oublier la nutrition animale [34].

## **II.7. Toxicité des huiles essentielles**

La puissance des huiles essentielles est très grande, du fait de leur forte concentration. De nombreuses précautions doivent être prises avant tout emploi, surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe.

Les molécules aromatiques présentes dans les huiles étant très puissantes, une ingestion accidentelle peut, selon la sorte et la quantité, générer une toxicité élevée voir un coma et même

la mort (Un cas de décès aux USA a été enregistré après l'ingestion de 60 ml de l'huile essentielle de Gaulthérie) [35].

Les huiles essentielles présentant une certaine toxicité sont celles contenant de la cétone comme l'absinthe, l'anis, le fenouil, le romarin, la menthe, le thuya, la sauge officinale [36].

## **II.8. Les procédés d'extraction des huiles essentielles**

Plusieurs procédés d'extraction des produits aromatiques des plantes sont connus. Selon la technique utilisée, nous pouvons obtenir des huiles essentielles, des concrètes, des pommades ou des résinoïdes [37].

### **II.8.1. Expression**

Ce procédé est appliqué aux écorces de la plupart des citrus tels que la bergamote, l'orange, dans ce cas l'écorce est pressée pour en obtenir l'essence. L'inconvénient majeur de cette méthode reste cependant les faibles valeurs de rendement obtenu. Néanmoins, elle présente l'avantage de donner des produits de haute qualité [38].

### **II.8.2. Distillation**

#### **II.8.2.1. Entraînement à la vapeur d'eau**

Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter, elle s'applique en général à toutes les essences qui ne sont pas sensiblement altérées à 100°C. Son principe consiste à placer la plante au dessus d'une grille traversée par un courant de vapeur d'eau fournie par une chaudière.

Durant le passage de la vapeur à travers le matériel végétal, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique par décantation [39].

#### **II.8.2.2. Hydrodistillation**

L'hydrodistillation est une technique très ancienne, elle est basée sur le même principe que l'entraînement à la vapeur d'eau, la seule différence est que dans ce cas la matière végétale peut selon sa densité soit être immergée dans l'eau, soit flottée. L'ensemble est porté à ébullition, la vapeur formée entraîne l'huile essentielle qui est recueillie après condensation et décantation.

Cependant, l'hydrodistillation présente deux inconvénients majeurs :

- L'altération de certaines substances à température élevée et en présence de l'eau.
- L'obtention d'une huile appauvrie en certains constituants soluble dans l'eau [40].

### II.8.2.3. Théorie de distillation

Bien que les huiles essentielles soient des mélanges forts complexes de plusieurs constituants, il n'est souvent pas nécessaire de les traiter comme des systèmes multicomposés, la théorie des mélanges binaires semble convenir pour en expliquer le phénomène [41]. Ainsi, l'entraînement des molécules organiques, correspondant à une distillation hétérogène et dépendant de l'équilibre des phases liquide et vapeur, met en jeu l'application de deux lois physiques [42]:

- **La loi de Dalton**, selon laquelle la pression du mélange de vapeur est égale à la somme des tensions de vapeur de divers constituants du mélange [43].

$$P_T = P_H + P_E \quad \dots\dots\dots \text{(II.1)}$$

En assimilant le système eau - huile essentielle à un mélange binaire de liquides non miscibles et en supposant que chaque constituant peut se vaporiser sans contrainte, la pression de vapeur du système sera égale à la somme des pressions de vapeurs des constituants purs.

Donc la relation II.1 devient :

$$P_T = P^0_H + P^0_E \quad \dots\dots\dots \text{(II.2)}$$

Où,  $P_T$  est la pression totale;  $P^0_H$  et  $P^0_E$  : la tension de vapeur de l'huile essentielle et de l'eau respectivement [42].

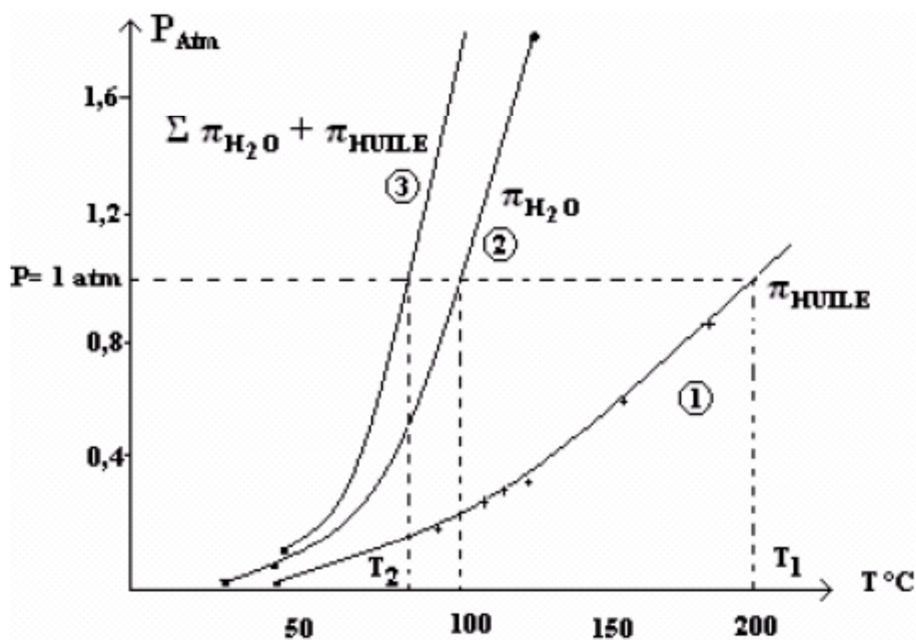
- **La loi de Raoult**, selon laquelle, la pression partielle de chaque constituant de la solution est proportionnelle à sa fraction molaire en phase liquide [43].

$$P_i = P^0_i X_i \quad \dots\dots\dots \text{(II.3)}$$

Où,  $P_i$  : la pression partielle du constituant  $i$  ;  $P^0_i$  : la tension de vapeur du constituant  $i$  pur et  $X_i$  : la fraction molaire du constituant  $i$  en phase liquide.

La température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation. Elle est donc inférieure à

chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange « eau + huile essentielle » distille à une température inférieure à 100°C à pression atmosphérique. Par contre, les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart plus élevées [44]. La figure II.2 montre l'évolution de la température de co-distillation d'un mélange hétérogène d'eau et d'huile essentielle.



**Figure II.2.** Évolution des températures de distillation de l'eau et l'huile essentielle, et du mélange eau/huile essentielle en fonction de la pression du milieu [45].

D'une façon générale, la production des huiles essentielles peut être assimilée à une combinaison de trois processus [46] :

- L'extraction proprement dite, conduisant au relargage des composés volatils dans le milieu aqueux sous l'action physique qu'exerce le gonflement de la matière végétale (phénomènes d'absorption d'eau ou osmotiques) via la pression interne, et de l'action chimique exercée par l'eau.
- La co-distillation eau/composés odorants.
- La séparation de l'huile essentielle des condensas impliquant la coalescence et la décantation (L'isolement des composés volatils après leur distillation est déterminé par leur degré de solubilité dans l'eau).

L'huile essentielle récupérée par ce procédé est un produit qui diffère de l'essence originelle, La matière chimique fait l'objet de réactions chimiques diverses : hydrolyses, déprotonations,

hydratations et cyclisations pouvant être catalysées par des métaux présents à l'état de traces dans la plante, provoquant des transformations chimiques des constituants [47].

### **II.8.3. Extraction par solvant fixe**

Les solvants fixes utilisés pour l'extraction des huiles essentielles sont principalement des matières grasses, la graisse animale, l'huile d'olive, paraffine et d'autres solvants, l'extraction peut être réalisée à froid (procédé d'enfleurage) ou à chaud (macération).

#### **a) Enfleurage**

Ce procédé met à profit la liposolubilité des composés odorants des végétaux [29]. Son principe consiste à mettre les pétales en contact avec un corps gras sur des châssis superposés à température ambiante, au bout de quelque jours, les graisses utilisées sont saturées en essence végétale, les fleurs sont ensuite renouvelées jusqu'à l'obtention d'une pommade parfumée ; cette dernière est traitée par un solvant qui ne dissout que les principes odorants, la solution est évaporée et l'essence pure est obtenue [38, 43, 48].

#### **b) Macération**

La macération repose sur le même principe que celui de l'enfleurage, seulement l'opération est effectuée à température élevée (50 à 70°C). A l'inverse de l'enfleurage, les fleurs fraîches sont immergées et constamment renouvelées dans un bac de graisse chaude jusqu'à saturation, cette dernière est ensuite épuisée par l'alcool [41].

### **II.8.4. L'extraction par solvants volatils des extraits aromatiques**

L'extraction par solvant volatil consiste à épuiser la matière végétale de ses constituants odorants au moyen d'un solvant extrait, appelé miscella, elle est ensuite dépouillée du solvant par évaporation sous vide afin d'éviter la dégradation thermique des molécules odorantes. Cette dégradation conduit à l'obtention d'essences, concrètes ou oléorésines, de résinoïdes et d'absolues [48, 49].

### **II.8.5. Extraction au CO<sub>2</sub>**

Le terme supercritique signifie que le CO<sub>2</sub>, sous pression et à une température de 31°C, se trouve entre l'état liquide et l'état gazeux. Lorsqu'il est dans cet état, le CO<sub>2</sub> est capable de dissoudre de nombreux composés organiques et c'est cette propriété dont les fabricants se servent pour extraire les huiles essentielles [50].

La matière végétale est chargée dans l'extracteur où est ensuite introduit le CO<sub>2</sub> supercritique sous pression et réfrigéré. Le mélange est ensuite recueilli dans un vase d'expansion où la pression est considérablement réduite. Le CO<sub>2</sub> s'évapore et il ne reste plus que l'huile essentielle.

---

*CHAPITRE III*  
*ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE ET*  
*ANTIOXYDANTE*

---

---

## CHAPITRE III

### ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE ET ANTIOXYDANTE

#### III.1. Activité antimicrobienne

Les pouvoirs antimicrobiens des plantes aromatiques et médicinales sont connus depuis l'antiquité. Toute fois il aura fallu attendre le début du 20<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues à la fraction de l'huile essentielle contenues dans les plantes [51].

##### III.1.1. Activités bactéricide et bactériostatique

Comme cela est le cas pour les agents chimiques on distingue, pour les huiles essentielles, deux sortes d'effets ; un effet bactéricide c'est-à-dire létale et un effet inhibiteur de croissance mais non létale dit bactériostatique.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle est déterminée par la mesure des diamètres d'inhibition de la croissance microbienne.

L'estimation de cette activité est basée sur une échelle de mesure mise en place par Meena et Sethi (1994) et Ela et al. (1996), ils ont classé le pouvoir antimicrobien en fonction du diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 4 classes (cas d'un disque de 9 mm) [52, 53]:

- Fortement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 28 mm.
- Modérément inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 16 et 28 mm.
- Légèrement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 10 et 16 mm.
- Non inhibitrice lorsque le diamètre d'inhibition est inférieur à 10 mm.

L'activité de l'huile essentielle testée est évaluée par la mesure de deux concentrations essentielles : CMI et CMB.

CMI : Concentration minimale inhibitrice qui est la concentration minimale d'agent antimicrobien qui inhibe la croissance bactérienne, après incubation en condition standard, par

comparaison avec un contrôle de croissance ne contenant pas l'agent testé. Les microorganismes restent cependant viables.

CMB : Concentration minimale bactéricide qui est la concentration minimale d'agent antimicrobien nécessaire pour détruire l'inoculum initial après incubation en condition standard. Les microorganismes ne sont plus viables. La CMB est aussi connue sous le nom de CML : concentration minimale létale.

La CMI et la CMB sont aussi utilisées lors des études sur les effets antifongiques.

Ces deux concentrations peuvent être exprimées en  $\mu\text{g/ml}$  ou en  $\mu\text{l/ml}$  ou encore en % (vol / vol).

De façon générale, ces grandeurs sont utilisées pour évaluer la résistance des microorganismes à un agent antimicrobien, ou encore pour évaluer in vitro l'efficacité d'un nouveau produit désinfectant.

### **III.1.2. Facteurs influents l'activité antimicrobienne des huiles essentielles**

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'activité antimicrobienne, nous citons :

#### **III.1.2.1. La composition chimique des huiles essentielles**

Le principal facteur motivant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est le type et la structure moléculaire des composants actifs présents dans cette huile. Ainsi une activité antimicrobienne plus élevée des terpènes oxygénés en comparaison des terpènes hydrocarbures a été observée. La structure moléculaire semble présenter un rôle aussi important que la présence d'oxygène dans la molécule terpène : la caractéristique lipophile du squelette hydrocarboné aussi que la propriété hydrophile des groupes fonctionnels sont déterminantes vis-à-vis de l'activité antimicrobienne de ces composés [54]. Sur cette base, l'ordre d'activité antimicrobienne de ces composés est le suivant [55]:

Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Oxydes > Hydrocarbures > Esters

Stylo et al. (2005), ont montré que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est en rapport avec leur fort contenu phénolique en particulier en thymol et carvacrol [55]. Ces résultats sont en accord avec ceux donnés par [56, 57]. Ils ont prouvé que plus les teneurs en phénols sont élevées, plus les huiles essentielles sont efficaces.

### III.1.2.2. Type de microorganismes ciblés

Un autre paramètre important déterminant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est le type des microorganismes ciblé. En général, les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis-à-vis des huiles essentielles.

Lahlou (2004), a souligné que la sensibilité des microorganismes peut varier selon le germe testé car une H.E peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, biostatique vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet. C'est pour cela qu'il est important de mentionner la dénomination complète, le Gram des microorganismes ainsi que l'espèce botanique et le chymotype de l'huile essentielle [59].

En effet, Marzouk et al. (2006), ont prouvé que les bactéries à Gram positif seraient plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif [60]. Cette affirmation n'a cependant pas été confirmée par d'autres travaux. Loziene (2007) rapporte que les bactéries à Gram négatif apparaissent plus résistantes que celles à Gram positif vis-à-vis des huiles essentielles [61].

### III.1.3. Association d'huiles essentielles

Les effets antimicrobiens des associations d'huile, comme pour les associations d'antibiotiques, le plan pharmacologique l'interaction de deux substances peut se traduire par les trois types de conséquence suivants [62].

**a) Synergie :** Elle s'exerce entre deux substances possédant une activité qualitativement semblable. L'effet globale de l'association est supérieur à celui de plus actif de ces constituants, mais trois cas sont possibles.

- Synergie additive complète : Lorsque les effets s'ajoutent totalement.
- Synergie additive partielle : Lorsqu'ils s'ajoutent partiellement.
- Synergie potentialisatrice : Lorsque les effets s'exaltent mutuellement.

**b) Antagonisme :** Il s'exerce entre deux substances possédant une activité qualitativement semblable ou différente. La encore il faut distinguer deux cas :

- Antagonisme partiel : Lorsque l'effet globale de l'association est inférieur à celui de l'un ou de l'autre de ces constituants pris isolément.
- Antagonisme total : Lorsque les effets de deux substances se compensent exactement et que la résultante est nulle.

c) **Potentialisation** : Elle s'exerce entre deux substances possédant une activité qualitativement différente. Les effets de l'association sont toujours supérieurs à ceux de l'un ou de l'autre de ces constituants pris isolément.

#### **III.1.4. Mode d'action antimicrobien des huiles essentielles contre les bactéries**

Selon Caillet et al., 2007, les huiles essentielles possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches de bactéries, mais d'une manière générale leur action se déroule de trois façons [51] :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique conduisant à la mort de la bactérie.

### **III.2. Activité antioxydante**

L'un des facteurs importants du vieillissement est une diminution progressive de la capacité des cellules à lutter contre les phénomènes d'oxydation. Il existe des défenses physiologiques naturelles contre les agressions des radicaux libres et une part de ces défenses provient de la nourriture.

#### **III.2.1. Le stress oxydatif**

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs [63].

La production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) est normale pour tous les organismes vivant et ne constitue pas en soi une situation de stress oxydant. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense contre les radicaux libres (ROS).

La cellule dispose d'un système de détoxification comprenant des enzymes comme les superoxydes dismutases, les catalases, la glutathion peroxydase, la glutathion réductase et de petites molécules telles que la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes, certains polyphénols et les huiles essentielles. Si tel n'est pas le cas, que se soit par déficit en antioxydant ou par suite d'une surproduction des radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » [64].

### III.2.2. Les radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou atome ayant dans sa périphérie (appelée orbitale) un électron au lieu de deux ; cet électron qui est célibataire, cherchera à «s'apparier» avec un autre électron, en l'arrachant à une autre molécule qui devient alors déséquilibrée donc instable, un tel système pouvant se poursuivre atteignant d'autres molécules qui à leur tour produisent d'autres radicaux libres. Réaction en chaîne conduisant à la dégradation des molécules et à leur fractionnement en molécules plus petites [65].

Les radicaux libres sont générés au cours du fonctionnement normal de l'organisme, mais leur production peut être augmentée par la pollution, la fumée des cigarettes ou une exposition prolongée au soleil.

Les dérivés réactifs de l'oxygène. (Reactive Oxygen Species, ROS) sont pour la plupart des radicaux chimiques dérivés de l'oxygène (Tableau III.1).

**Tableau III.1.** Les espèces réactives d'oxygène (ROS) et les espèces réactives d'azote (RNS) [66].

Espèces réactives	Propriétés
$O_2^{\cdot -}$ Anion superoxyde	Produit par la chaîne de transport d'électrons et d'autres sites. Ne peut pas diffuser du site d'origine. Génère les ROS.
$H_2O_2$ Peroxyde d'hydrogène	N'est pas un radical libre, mais peut en générer en réagissant avec des métaux de transition, peut diffuser à travers les membranes.
$OH^{\cdot}$ Radical hydroxyles	L'espèce la plus réactive dans l'attaque des molécules biologiques, produit à partir de $H_2O_2$ dans la réaction de fenton en présence de $Fe^{2+}$ or $Cu^{2+}$ .
$RO^{\cdot}$ , $R^{\cdot}$ , $R-S^{\cdot}$ Radicaux organiques	Radical organique libre (R correspond au substituant) Produit à partir de ROH, RH (e.g. au carbone d'une double liaison dans un acide gras) ou de RSH par une attaque de $OH^{\cdot}$
$RCOO^{\cdot}$ Radical peroxyde	Un radical organique peroxyde, produit durant la dégradation lipidique
$HOCl$ Acide hypochloreux	Produit dans les neutrophiles durant le sursaut respiratoire pour détruire les organismes invasifs. La toxicité s'effectue à travers des réactions d'halogénations et d'oxydations. L'espèce réactive est $OCl$
$O_2$ Oxygène singulet	Oxygène avec des spins antiparallèles. Produit à des pressions importantes en oxygène sous l'effet de l'absorption des rayons UV. Il disparaît trop vite pour être toxique <i>in vivo</i> .
$NO$ Nitrique oxyde	RNOS. Un radical libre endogène produit par l'oxyde nitrique synthétase. Se lie aux ions métalliques, se combine avec $O_2$ ou aux autres radicaux contenant l'oxygène pour produire RNOS
$ONOO^{\cdot}$ Peroxyde nitrite	RNOS. Un agent oxydant puissant qui n'est pas un radical libre. Il peut générer $NO_2$ (dioxyde de nitrogène), qui est un radical.

### III.2.3. Les antioxydants

Le terme antioxydant (on dit parfois antioxygène) était à l'origine utilisé pour désigner les substances chimiques qui empêchent les réactions avec l'oxygène. À la fin du XIXe siècle et au début du XXe siècle les propriétés des antioxydants ont été largement étudiées pour leur utilisation dans les procédés industriels afin de réduire la corrosion des métaux, la vulcanisation du caoutchouc et la polymérisation des carburants dans les moteurs à explosion.

En biologie, les premières recherches sur les antioxydants concernèrent la réduction de l'oxydation des acides gras insaturés, cause du rancissement. L'activité antioxydante était facilement mesurée en enfermant des corps gras dans des récipients hermétiques avec de l'oxygène, puis en vérifiant le taux d'absorption de ce dernier. Cependant, ce n'est qu'avec des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides.

Les antioxydants sont des substances qui sont capables d'empêcher d'autres substances sensibles à l'action de l'oxygène de former des structures peroxydées, c'est-à-dire de comporter anormalement un ou plusieurs atomes d'oxygène provenant de l'intervention des radicaux libres. Dans ce cas, les substances qui ont cette propriété sont dites antiradicalaires [65].

### III.2.4. Les antioxydants naturels

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Parmi ces antioxydants on peut citer : les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les huiles essentielles, les phénols et les xanthones.

---

*CHAPITRE IV*

*MATIERE VEGETALE :*

*Inule visqueuse*

---

---

## CHAPITRE IV

### MATIERE VEGETALE : *Inule visqueuse*

#### IV.1. Généralités

La famille des compositae est l'une des plus distribuées dans le règne végétal. Cette famille comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces [67]. En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces [68] et en France, 111 genres et 638 espèces [67]. Une des propriétés typique de la famille des compositae est sa richesse en composés naturels divers. On y trouve des terpenoïdes, des flavonoïdes et des alcaloïdes. C'est une famille très riche en lactones sesquiterpéniques qui représente des principes amers typiques de cette famille [69].

Le genre *Inula* comprend une variété d'environ 90 espèces. Ce sont des plantes herbacées vivaces, à feuilles alternes. Le nom *Inula* est très ancien et vient du nom de l'espèce *Inula helenium* et il est généralisé pour tout le genre.

#### IV.2. Description botanique

L'*Inule visqueuse* (figure IV.1), est une plante annuelle, herbacée, visqueuse et glanduleuse, à odeur forte qui appartient à la famille des Astéracées (Composées). Elle peut atteindre de 50 cm à 1m de hauteur et présente des capitules à fleurs jaunes très nombreux au sommet de la tige. Les feuilles sont entières ou dentées, aiguës, sinuées ; les caulinaires amplexicaules, plus largement lancéolées, les capitules assez gros en longues grappes pyramidales [68]. La floraison a lieu entre la fin du mois d'aout et le mois de novembre ses fruits sont des akènes velus ; rétrécis en col au sommet [70].



**Figure IV.1.** *Inule visqueuse*.

### IV.3. Nom vernaculaires

Français : Inule visqueuse [70].

Anglais : Stickey fleabane [71].

Berbère : Amagramane [70].

### IV.4. position systématique

La classification botanique de l'espèce l'inule visqueuse selon guignard (2001) est [15]:

- Règne : végétal.
- Embranchement : spermaphyte.
- Sous embranchement : angiospermes.
- Classe : dicotylédones.
- Sous classe : astérides.
- Ordre : astérales.
- Familles : astéracées, composées.
- Genre : *inula* .
- Espèce : *inula viscosa* (L.) aiton.

### IV.5. Répartition géographique

L'inule visqueuse est originaire de bassin méditerranéen, elle est distribuée largement dans le sud de l'Espagne, le nord de l'Afrique et le moyen orient [71, 72, 73]. Cette espèce pousse sur les lieux incultes et rocaillieux dans des sols secs et calcaires [74].

### IV.6. Phytochimie de la plante

Des études sur l'inule visqueuse ont révélé que cette plante contient des flavonoïdes, de la paraffine, des azulènes, de l'inuline. Elle contient également des huiles essentielles, de la résine et des tanins. On rapporte aussi la présence de mucilage et de quelques sels minéraux [3, 75, 76, 77,78, 79, 80, 81, 82].

La composition en huiles essentielles de cette plante comme reportée dans le tableau IV.1 est en fonction du lieu géographique et des données climatiques.

**Tableau IV.1.** Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse.

Pays	Composants majoritaires (%)	Hauteurs
Turquie	Borneol (25.2%) Isobornyl acetate (22.5%) Bornyl acetate (19.5%)	[83]
Espagne	Fokienol (38.8%) (E)-nerolidol (7.1%)	[84]
Sardaigne (Sardinia)	Globulol (16.8%), Valerianol (12.0%) Caryophyllene oxide (8.0%) Globulol (15.0%) Caryo-phyllene oxide (8.2%)	[85]
Corse (Corsica)	Fokienol (21.1%), (E)-nerolidol (8.6%) Eudesm-6-en-4 $\alpha$ -ol (6.2%)	[82]
Algérie	12-carboxyeudesma-3,11 (13) diene (28.88%) acide linolenic (7.80%) acide palmitic (5.38%) butyl hydroxy toluene (4.11%) fokienol (3.37%)	[86]

#### IV.7. Usage traditionnel de l'inule visqueuse

L'inule visqueuse, son histoire thérapeutique est très diversifiée et connue depuis longtemps dans les médications traditionnelles. Elle est utilisée pour ses activités (tableau IV.2) : anti-inflammatoires, antidiabétiques, antipyrétiques, antiseptiques [87, 88, 89].

En Algérie, l'inule visqueuse jouit d'une grande popularité, où elle est utilisée sous forme de suc de feuilles fraîches pour arrêter les hémorragies, prévenir les inflammations et activer les cicatrifications [69].

**Tableau IV.2.** Quelques usages traditionnels de l'inule visqueuse.

Pays	Parties utilisées	Voie	Usage	Références
Palestine	Plante entière	Externe	Antispasmodique, sédative, Antiseptique, Blessures curatives, contre les maux de tête, traitements des hémorroïdes	[88]
		Interne	Antispasmodique, antidiabétique, anti-helminthique, diurétique	
Jordanie	Feuilles	Orale	Abortive, anti- fertilité.	[92]
	Partie aériennes	Injection	Anti- inflammatoire, antiulcérogénique.	[91]
Israël	Partie aériennes	Injection	Anti-inflammatoire.	[91]
Espagne	Parties aériennes, fleurs	Injection péritonéal	Anti-inflammatoire, antiseptique.	[92]
	Feuilles	Infusion	Anti-inflammatoire, antilithique rénal, diurétique. Antihypertensif.	
		Cataplasme de feuilles fraîches.	Topique : hémostatique. Antiseptique, analgésique, antirhumatismal.	
Algérie	feuilles	Cataplasme	Céphalées, les douleurs rhumatismales, cicatrisation, antihémorragiques.	[70]
	Plante entière	Orale	Hypoglycémiant, affection des voies urinaires, analgésique, antiseptique, hémostatique, vermifuge.	
France	Racines	Orale	Expectorant, tonique (estomac), vermifuge, tuberculose, antiseptique.	[93]
Maroc	Feuilles	Orale	Anti-diabétique, hypoglycémiant, tuberculose, affections pulmonaires	[94, 95]

#### IV.8. Travaux antérieurs sur l'inule visqueuse

L'inule visqueuse a fait l'objet de plusieurs projets de recherche à travers le monde. Ces différentes recherches concernaient à la fois la détermination des modes d'extraction adéquat des essences de la plante, leur composition, puis l'évaluation des différentes activités quelle peuvent contenir.

L'inule est une plante très anciennement connue, elle a été utilisée au moyen âge jusqu'à nos jours pour ses vertus médicinales variées [96].

Au niveau de l'appareil respiratoire, elle agit comme sédatif de la toux et des spasmes bronchiques c'est un antiseptique certain de l'arbre respiratoire [3]. Il a été rapporté aussi que la poudre de l'inule visqueuse est utilisée dans le traitement des mycoses cutanées [97].

Yaniz (1987) montre l'action hypoglycémiant de l'inule visqueuse absorbée en infusion chez l'homme diabétique [98].

Les travaux de Chari et Pacha (1999) attribuent à l'Inule un pouvoir cicatrisant certain d'après les essais de traitement des brûlures expérimentales réalisées sur des lapins. Cette propriété cicatrisante a été mise en évidence en utilisant une préparation galénique contenant 45 % d'huile d'amande douce, 45 % de glycérine et 10 % d'extrait alcoolique de l'inule visqueuse. Les résultats obtenus avec la préparation galénique ont été comparés à ceux obtenus en utilisant un placebo.

Il a été noté une accélération nette du processus de cicatrisation 19 à 21 jours pour les brûlures traitées avec la préparation de l'Inule et 31 jours pour les brûlures traitées avec le placebo. Enfin, il a été possible de conclure que l'Inule aurait agit en stimulant la synthèse de callogène et en créant un foyer aseptique favorisant ainsi la réparation tissulaire [99].

Khalil et al. (2007) ont constaté que l'inule visqueuse est dépourvue d'alcaloïdes et d'anthraquinones [100].

Les aglycones flavoniques de l'inule visqueuse ont été étudiés et testés dans différents domaines, ce qui a révélé les activités suivantes : anti-inflammatoire [101, 102], antioxydante [103].

En 2006, l'étude menée par Zeggwagh et al. (2006) a concerné les parties aériennes de l'inule visqueuse qui ont été préparées selon la méthode traditionnelle employée au Maroc

(décoction, 1 g de plante entière en poudre mélangée à 100 ml d'eau distillée bouillis pendant 10 minutes et puis refroidis pendant 15 minutes). Ensuite, l'extrait aqueux a été lyophilisé. L'extrait aqueux de l'inule visqueuse était rouge foncé coloré avec un rendement de 10%, son osmolarité moyenne était 60 mOsm/kg H<sub>2</sub>O et pH 7. Cette étude a montré que l'inule visqueuse possède une activité hypoglycémique mais non hypolipidémique [94].

En 2000, Maoz et Neeman ont travaillé sur des poudres maintenant le pH à 9,0 (acide borique de 0,1 M avec l'addition de NaOH) dans un autoclave à 121°C pendant 15 mn. Après refroidissement, la phase aqueuse a été extraite au moyen de l'éther de pétrole 40-60°C trois fois. L'extrait récupéré après avoir évaporé d'abord sous vide et puis avec le gaz d'azote l'éther de pétrole a un rendement de 0,485% de la poudre sèche. L'effet antifongique a été mis en évidence sur *Candida albicans* [72].

Bssaibis et al., (2009) Ont fait une étude sur l'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles et des fleurs de l'inule visqueuse dans différents solvants (éthanol, méthanol et acétone). Les meilleurs rendements d'extractions ont été obtenus avec l'éthanol (31,72% et 28,82% respectivement pour les feuilles et les fleurs), suivi du méthanol et de l'acétone. Les tests antibactériens de différents extraits de l'inule visqueuse ont été opérés sur des souches bactériennes d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Une activité antibactérienne optimale a été observée pour l'extrait des fleurs au méthanol [104].

Benhammou et al (2006) ont étudié le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse provenant de la région de Tlemcen. Les moisissures retenues pour cette étude sont: *Aspergillus flavus* de référence (AFR) : 994294 ; *Aspergillus flavus* (AF) ; *Rhizopus stolonifer* (O1) ; *Trichoderma* sp (R3) ; *Fusarium* sp (Fus). La détermination du pouvoir antifongique (tableau IV.3), a été faite pour deux doses des huiles essentielles (100 et 200 µl) additionnées à 20ml de PDA stérile.

**Tableau IV.3.** Indice d'inhibition antifongique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse.

<b>Indice d'inhibition pour chaque moisissure (%)</b>					
<b>Dose/moisissure</b>	<b>O1 (48H)</b>	<b>AF (8J)</b>	<b>AFR (8J)</b>	<b>R3 (7J)</b>	<b>Fus (7J)</b>
<b>100 µl</b>	80,58	39,43	57,65	75,15	59,41
<b>200 µl</b>	84,11	60,56	56,75	81,21	65,88

Le pourcentage d'inhibition provoqué par l'huile essentielle est déterminé selon l'équation IV.1:

$$I_{\%} = \frac{D_t - D}{D_t} * 100 \quad \dots\dots\dots (IV.1)$$

Où,  $I_{\%}$  : Le pourcentage d'inhibition.

$D_t$  : Croissance mycélienne du témoin exprimée en mm.

$D$  : Croissance mycélienne du traité exprimé en mm.

Les résultats obtenus montrent que l'activité inhibitrice de l'huile essentielle de l'inule visqueuse est puissante, les pourcentages d'inhibition dépassent 50 % dans toutes les souches, il varie entre 56,75 % dans le cas d'aspergillus flavus de référence (AFR) et 84,11 % dans le cas de Rhizopus stolonifer à 200ml [105].

En 2007 Hernandez et al ont évalué l'activité anti-inflammatoire de trois composés flavonoïdes isolés de l'inule visqueuse : sakuranetin, 7-O-methylaromadendrin, et 3-acetyl-7-O methylaromadendrin.

Le test a été fait sur des enzymes qui sont responsables à la réponse inflammatoire. Les résultats montrent que le flavonoïde le plus actif est le 7-O-methylaromadendrin (8 mg/kg) suivi par sa-kuranetin (18 mg/kg) [102].

Danino et al (2009) ont examiné l'activité antioxydante des extraits de l'inule visqueuse. Ils ont isolé et identifié par RMN un nouvel poly phénolique qui est : Acide 1,3-dicaffeoylquinique. Par différentes méthodes, ils ont montré que ce composé possède une activité antioxydante [106].

Le premier travail qui traite la composition de l'huile essentielle de l'inule visqueuse date en 1968 ; Chiarlo a identifié sept azulènes, le composé majoritaire (49 %) est 1,4 dimethyazulène suivi par chamazulène (32 %) [107].

L'équipe de recherche de Grande et al, ont réalisé plusieurs études sur l'inule visqueuse d'Alicante (Espagne). En 1985 ils ont pu isoler 16 flavonoïdes ( Apigenin, Genkwanin, Hispidulin, sakuranetin ....) [77]. Dans un autre travail, Grande et Bellido (1992), ont identifié 10 composés de nature triterpenoides.

Ils ont aussi trouvé des composés sesquiterpenoides, eudesmanes, et des dérivées nerolidol ; dans l'inule visqueuse d'Alicante [108].

Les travaux d'Abu zarga et al., (1998, 2002) ont décrit la présence en plus de 14 composés identifiés dans l'huile essentielle de l'inule visqueuse de la région jordanienne, 6 nouveaux sesquiterpeniques de type eudesmane. Ces composés sont l'acide 3 $\beta$ -hydroxyilicique, l'acide 3 $\alpha$ -hydroxy-epi-ilicique, l'acide 2 $\alpha$ -hydroxyilicique, l'acide 9 $\beta$ -hydroxy-2-oxoisocostique, l'acide 1 $\beta$  hydroxyilicique et l'acide 2 $\beta$ -hydroxyilicique [80, 109].

En 2000, Camacho et al., ont identifié 53 constituants, qui représentent 60 % de l'huile de Donadio (Espagne), les sesquiterpènes alcooliques Fokienol (38,8 %) et (E)- nerolidol (7,1 %) sont les principaux composés, les auteurs ont constaté la présence des sesquiterpènes :  $\alpha$ -cadinol (1,9 %),  $\delta$ -cadinène (1,7 %) et T-cadinol plus T-muurolol (1,1 %) [84].

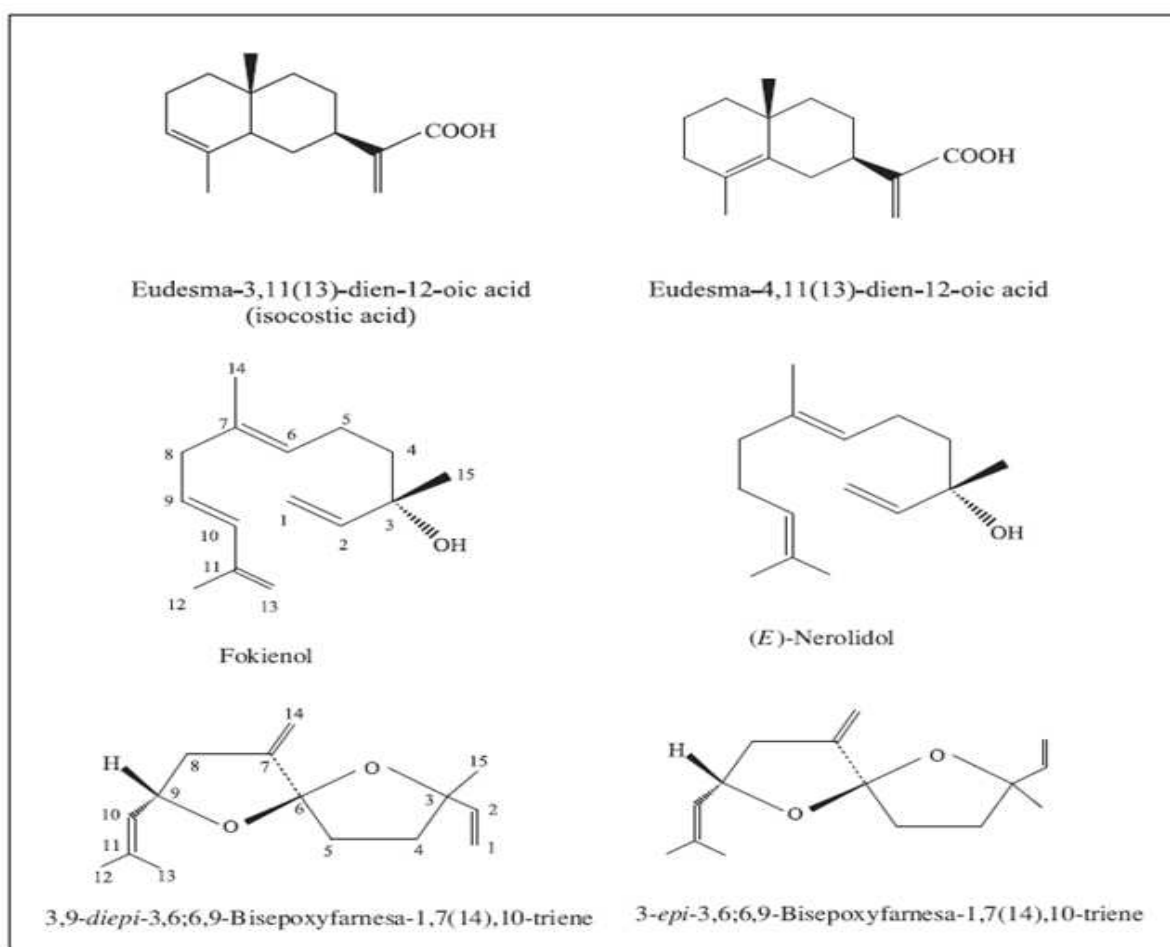
Dans une étude publiée en 2002, De Laurentis et al ont examiné les huiles essentielles de l'inule visqueuse provenant de quatre champs différents d'Apulia (Sud d'Italie), pour les fleurs et les feuilles ; l'entraînement à la vapeur d'eau est le procédé d'extraction utilisé, les rendements trouvés pour les feuilles et les fleurs sont respectivement : 0,35 % ; 0,37 %.

Le composé majoritaire de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de la région d'Apulia est carboxylate bicyclique sesquiterpène (12-Carboxyeudesma-3,11 (13) diene), ce qui rejoint le résultat de Camacho et al., (2000) qui montre que les composés majoritaires sont des sesquiterpènes oxygénés (38 % Fokienol ; 7 % Nerolidol) [110].

En 2003, Marongiu et al ont examiné l'huile essentielle de l'inule visqueuse de serdinia (Italie), utilisant deux méthodes d'extraction : Extraction supercritique par CO<sub>2</sub> et hydrodistillation. L'huile essentielle obtenue par extraction au CO<sub>2</sub> supercritique contient (15 %) globulol, (13,1 %) 8-isobutyryloxy isobornyl isobutyrate, (8,3 %) viridiflorol, et (8,2 %) oxyde de caryophyllène. Tandis que pour l'hydrodistillation, les principaux constituants sont : (16,8 %) globulol, (12,0 %) valerionol, et (8,0 %) oxyde de caryophyllène. L'existence de valerionol est constatée seulement pour l'hydrodistillation, d'après les auteurs ce composé est probablement a été généré durant le procédé de l'hydrodistillation [85].

Blanc et al., en 2006, ont étudié l'huile essentielle de l'inule visqueuse Corsica (France). Premièrement ils ont fait l'analyse chromatographique aux deux échantillons : échantillon acide (huile+HCl), et échantillon neutre (huile+H<sub>2</sub>O).

Les principaux composés pour l'échantillon neutre sont : Fokienol (21,1 %), (E)-nerolidol (8,6 %) et Eudesm-6-en-4 $\alpha$ -ol (6,2 %). quand pour l'échantillon acide les principaux composés sont : Acide Eudesma-3,11(13)-dien-12-oïque (43,7 %), Acide Eudesma-4,11(13)-dien-12-oïque (10,9 %) et Acide costique (4,8 %). L'activité antimicrobienne a été aussi évaluée pour les deux échantillons. L'échantillon neutre apparaît inactif, tandis que l'autre est actif contre tous les microorganismes testés. La forte activité a été constatée contre *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus foecalis* et *Proteus vulgaris*. La figure IV.2 montre la structure chimique de quelques composés identifiés [82].



**Figure IV.2.** Structures chimiques de quelques composés identifiés dans les feuilles de l'inule visqueuse [82].

En 2008, Miguel et al., ont étudié l'huile essentielle de l'inule visqueuse du Portugal, ils ont utilisé l'hydrodistillation comme procédé d'extraction, l'huile a été analysé par CG/MS et RMN. L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile contre six *Helicobacter pylori* a révélé que l'huile essentielle du Portugal possède un pouvoir antibactérien (0.025  $\mu$ l/ml). Les composés majoritaires identifiés par cette étude sont : 3-Methoxy cuminyl isobutyrate (12 %),  $\alpha$ -Cadinol (6,3 %), Eudesm-6-en-4 $\alpha$ -ol (4,8 %) et  $\delta$ -Cadinene (4,6 %) [111].

---

*CHAPITRE V*

*MATERIELS ET METHODES*

---

---

## CHAPITRE V :

### MATERIELS ET METHODES

#### V.1. Récolte de la matière végétale

La récolte du matériel végétal a été réalisée dans deux régions, au campus de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB) de Bab-Ezzouar et dans un champ délimité par un rayon de 20 m environ d'une manière aléatoire de Cherchell. Plusieurs lots de matières végétales ont été sélectionnés. Les caractéristiques de chaque lot sont données dans le tableau V.1. La plante a été identifiée à l'École Nationale Agronomique comme étant l'inule visqueuse. Les lots sélectionnés sont constitués de feuilles saines dépourvues de leur tige.

**Tableau V.1.** Description des différents lots de la matière végétale.

Région	Lot	Date de la récolte
<b>CHERCHELL</b>	C0	04/04/2011
	C1	29/05/2011
	C2	26/07/2011
<b>BAB-EZZOUAR</b>	B0	24/10/2010
	B1	29/05/2011
	B2	12/07/2011

#### V.2. Étude histologique : élaboration des coupes anatomiques

Pour mieux localiser les structures sécrétant les huiles essentielles de l'inule visqueuse, des coupes histologiques ont été réalisées à l'École Nationale d'Agronomie, au niveau de laboratoire de botanique. Nous avons procédé suivant le protocole disponible au niveau du laboratoire.

Les coupes de la feuille de la plante sont effectuées en section transversale sur une moelle de sureau, à main levée à l'aide d'une lame de rasoir. Les morceaux de la matière végétale obtenus doivent être aussi minces que possible. Les coupes minces sont récupérées et immergées par la suite respectivement dans les différents bains.

- Bain 1 : hypochlorite de sodium (eau de javel) à 20 C° pendant 20 min, dont le but de vider les cellules de leurs contenus et n'en laisser que le contour.
- Bain 2 : eau distillée pendant 2 min pour rincer l'hypochlorite de sodium (eau de javel).
- Bain 3 : acide acétique à 5 % pendant 5min pour éliminer toute trace de l'hypochlorite de sodium.
- Bains 4 : eau distillée pendant 2 min pour rincer les coupes.
- Bain 5 : colorant carminovert de couleur violette pendant 5 min pour avoir une coloration de cellulose en rose. Plusieurs coupes ont été observées sous un microscope photonique [111].

### V.3. Séchage de la matière végétale

Le séchage est une opération du génie chimique qui a pour but l'élimination partielle ou totale de l'eau d'un produit humide, afin d'obtenir un produit dit sec, même s'il continue à renfermer une certaine humidité résiduelle.

Lors de l'opération de séchage, il se produit un double transfert : thermique et de masse. Ce qui fait que l'air à sa sortie a une humidité plus grande tandis que sa température sèche a diminué. De son côté le produit voit diminuer son humidité relative et croître sa température sèche. La théorie de la cinétique de séchage est donnée en annexe (A.1).

Le séchage des feuilles des lots sélectionnés a été réalisé à l'ombre dans un lieu sans circulation d'air (sans courant d'air) à température ambiante, réparties en couches minces sur du papier étalé sur les étagères des armoires. Sauf pour le lot C0 une partie a été séchée dans un lieu avec circulation d'air, destiné pour l'extraction, et une partie dans un lieu avec circulation d'air utilisé juste pour suivre la cinétique de séchage (Figure V. 1). Pour éviter l'attaque des champignons et des bactéries, une surveillance constante de la matière végétale est nécessaire.

Nous avons opté pour un séchage dans un lieu sans courant d'air pour les lots destiné à l'extraction vu qu'un séchage avec circulation d'air a donné des pertes en huile essentielle assez considérables [113]. Les Chromatogrammes sont donnés en annexe (A.2).



**Figure V.1.** Photo de la disposition de la plante pour le séchage des feuilles de l'inule visqueuse.

(a) Dans un lieu sans circulation d'air.

(b) Dans un lieu avec circulation d'air.

Afin de suivre l'évolution de la cinétique de séchage, trois échantillons de la matière végétale sont pris d'une manière aléatoire de chaque lot donné par le tableau V.2 considéré. Les trois échantillons sont placés dans des cristallisoirs ou ils seront pesés chaque début de journée à l'aide d'une balance de précision de 0,0005 g jusqu'à stabilité.

Pour chaque échantillon, L'humidité relative ( $W_i$ ) de la charge à chaque instant  $t$ , exprimée en gramme d'eau par gramme de charge sèche est calculée par l'équation V.1 :

$$W_i = \frac{M_i - M_S}{M_S} \dots\dots\dots(V.1)$$

Ou :

$M_i$ : Masse de la charge en début de journée.

$M_S$ : Masse sèche de la charge au temps de séchage  $t \rightarrow \infty$ .

**Tableau V.2.** Conditions de séchage des feuilles de l'inule visqueuse des lots C0, C1 et B0.

lot	Date de la cueillette	Température ambiante (C°)	Lieu de séchage
Avril SCA (C0)	04/04/2011	13-16	A l'ombre sans circulation d'air
Avril CA (C0)	04/04/2011	13-16	A l'ombre avec circulation d'air
Juin SCA (C1)	29/05/2011	23-27	A l'ombre sans circulation d'air
Octobre SCA (B0)	24/10/2010	16-19	A l'ombre sans circulation d'air

SCA : sans circulation d'air

CA : circulation d'air

Afin de déterminer la masse sèche  $M_S$ , les feuilles de l'inule visqueuse séchées dans les différentes conditions, ont été ensuite placées dans une étuve réglée à 105°C durant 4 heures jusqu'à ce que la feuille atteigne sa déshydratation maximale.

Pour chaque lot, on va déterminer l'humidité moyenne ( $W$ ) en chaque temps  $t$  (jours) donnée par l'équation V.2 :

$$W = \frac{W_1 + W_2 + W_3}{3} \dots\dots\dots(V.2)$$

Le taux d'humidité  $Y$  à chaque instant  $t$  est déterminé par l'équation V.3 :

$$Y = W * \frac{M_S}{M_t} \dots\dots\dots (V.3)$$

Avec :

$Y$ : Taux d'humidité.

$W$ : Quantité d'eau par gramme de matière sèche.

$M_t$ : Masse de la matière végétale à l' instant  $t$ .

$M_S$ : Masse de la matière végétale sèche.

Ou,

$$M_S = \frac{M_{S1} + M_{S2} + M_{S3}}{3} \dots\dots\dots(\text{V.4})$$

$$M_t = \frac{M_1 + M_2 + M_3}{3} \dots\dots\dots(\text{V.5})$$

$M_{S1}$ ,  $M_{S2}$  et  $M_{S3}$  : masses sèches de trois échantillons pour chaque lot.

$M_1$ ,  $M_2$  et  $M_3$  : masses de la matière végétale de trois échantillons pour chaque lot à un instant t.

#### V.4. Procédés d'extractions

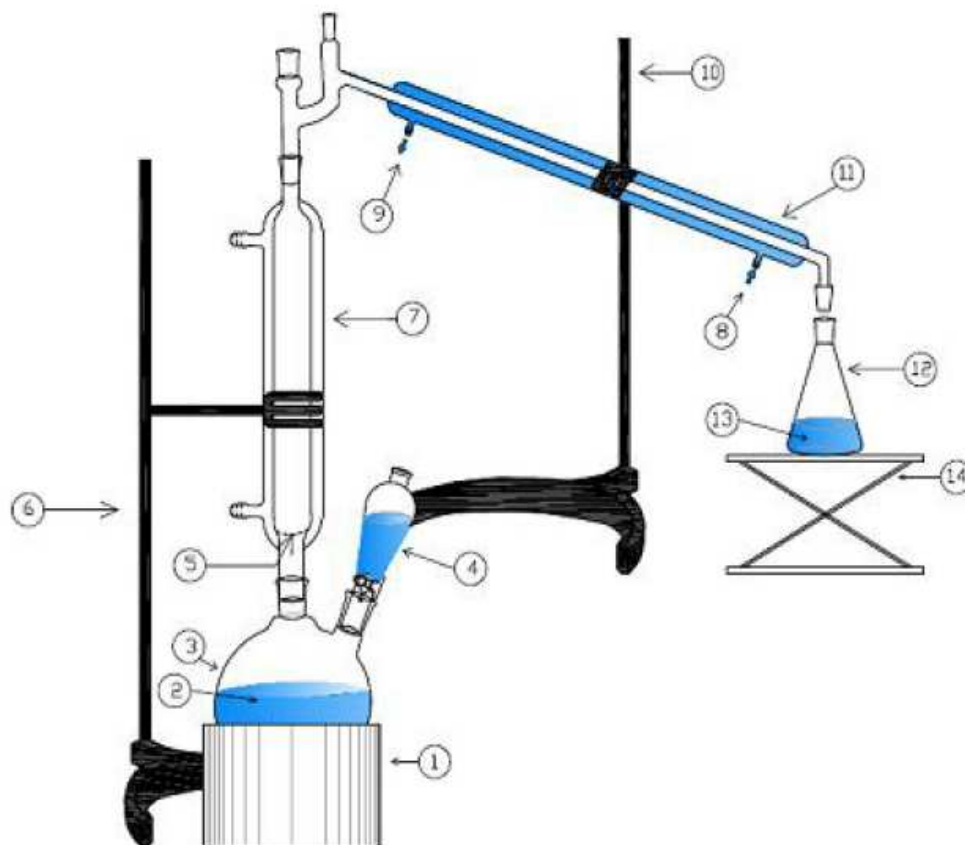
Afin d'extraire les huiles essentielles de l'inule visqueuse, deux procédés d'extractions ont été utilisés : entraînement à la vapeur d'eau et hydrodistillation.

##### V.5.1. Entraînement à la vapeur d'eau

La matière végétale, préalablement pesée, est introduite dans l'extracteur représenté par la figure V.2. La vapeur, issue de l'ébullition de l'eau dans le ballon, traverse le lit de la matière végétale, entraînant ainsi l'huile essentielle. Les vapeurs sont condensées dans le réfrigérant et le mélange eau-huile est récupéré dans le récipient de recette. L'huile est séparée des eaux de distillation par extraction à éther diéthylique. La masse d'huile récupérée est déterminée par pesée, après évaporation de l'éther. Les conditions opératoires sont fixées comme suit :

- Feuilles sèche sans broyage et sans coupage.
- Masse de la matière végétale : 15g.
- Débit de vapeur : 5,33 ml/mn.
- Hauteur de lit : 32 cm.
- Taux d'humidité : 17,42 % pour le lot C0 et 11,76 % pour les lots C1, C2, B1 et B2.

Pour l'extraction on a utilisé la matière sèche car la matière fraîche et semi fraîche a donnée un rendement négligeable vu la viscosité de la plante qui empêche le bon contacte entre la matière végétale et la vapeur d'eau.



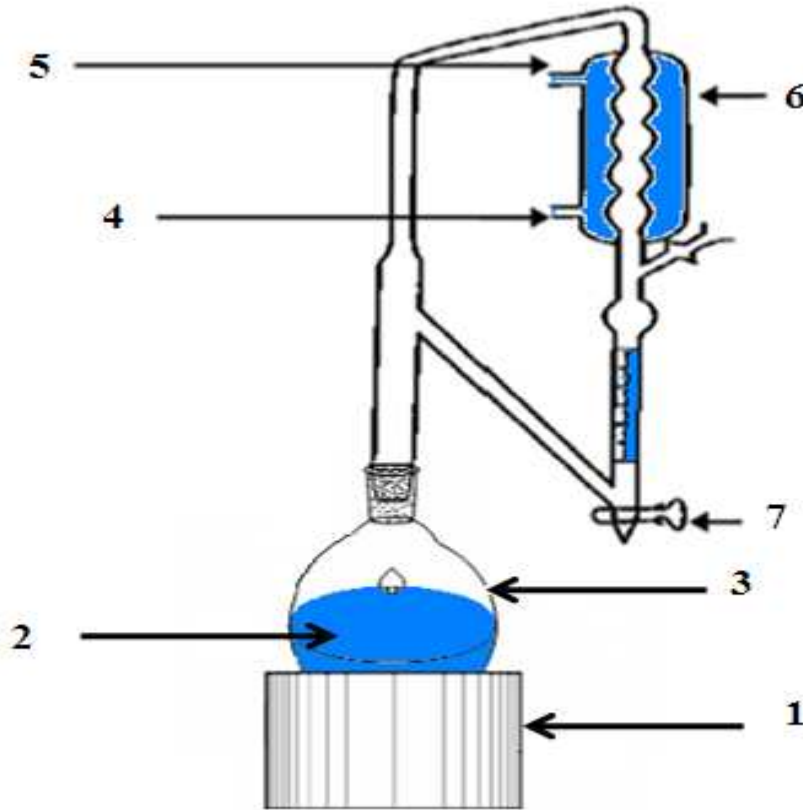
**Figure V.2.** Dispositif expérimental de l'entraînement à la vapeur.

(1) : Chauffe ballon, (2) : Eau, (3) : Ballon, (4) : Ampoule à couler, (5) : Distributeur de vapeur, (6) : Support de l'extracteur, (7) : Extracteur contenant la matière végétale. (8) : Entrée de l'eau de refroidissement, (9) : Sortie de l'eau de refroidissement, (10) : Support du réfrigérant, (11) : Réfrigérant, (12) : Récipient de recette, (13) : Distillat.

### V.5.2. Hydrodistillation

L'hydrodistillation a été réalisée à l'échelle laboratoire à l'aide du dispositif expérimentale schématisé par la figure V.3. Il comprend un ballon d'une capacité de quatre litres servant à contenir l'eau et la matière végétale. Ce ballon est relié directement à un extracteur de type Clevenger ayant servi à l'hydrodistillation classique. Les conditions opératoires sont fixées comme suit :

- Feuilles sèches coupés à des petits morceaux.
- Masse de la matière végétale : 120 g.
- Le rapport volume d'eau/masse de matière végétale est de 22,2.
- Taux d'humidité : 11,76 %.



**Figure V.3.** Dispositif expérimental de l'hydrodistillation.

(1) : Chauffe ballon, (2) : Matériel végétal et eau, (3) : Ballon, (4) : Entrée de l'eau de refroidissement, (5) : Sortie de l'eau de refroidissement, (6) : Réfrigérant, (7) : Robinet de récupération.

### V.6. Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle ( $R_{HE}$ ) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale sèche utilisée. Il est calculé par l'équation V.6.

$$R_{HE} = \frac{M_{HE}}{M_S} \times 100 \quad \dots\dots\dots (V.6)$$

Ou,

$M_{HE}$  : La masse d'huile essentielle (g).

$M_S$  : La masse de la matière végétale sèche (g).

## V.7. Analyse des huiles essentielles

Dans le but d'identifier la composition chimique des huiles essentielles extraites par les différentes méthodes, nous avons analysé ces huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC/MS). Les conditions opératoires sont données au tableau V.5.

### V.7.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition.

Elle permet ainsi d'analyser des mélanges éventuellement très complexes de natures et de volatilités très diverses [114].

Un appareil de CPG réuni dans un bâti unique, outre les trois modules classiques, injecteur, colonne et détecteur, un four thermostaté qui permet de porter, si nécessaire, la colonne à une température élevée. La phase mobile qui entraîne l'échantillon dans la colonne est un gaz, appelé gaz vecteur. Les débits, contrôlés avec précision, permettent une grande répétitivité des temps de rétention [115].

### V.7.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS)

Le couplage GC/MS est la combinaison de deux techniques analytiques puissantes, à savoir : la chromatographie en phase gazeuse qui sépare les composés d'un mélange et le spectromètre de masse qui fournit les informations nécessaires pour la détermination structurale de chaque composé [114].

#### ✓ Le principe de fonctionnement

Les constituants de l'échantillon à analyser sont d'abord séparés sur la colonne de la CPG, puis introduit séparément dans le spectromètre de masse où se passe la fragmentation des molécules. Cette fragmentation se produit lors d'un bombardement sous vide par des électrons d'énergie contrôlée. La séparation des ions ainsi formés, faite selon leur rapport masse/charge dans un tube analyseur, constitue le principe de base de la spectrométrie de masse.

### ✓ Indices de rétentions

L'indice de rétention introduit par Kovats dans des conditions isothermes. Une approche des indices de rétention en programmation de température a été établie par Van Den Dool et Cratz (Equation V.7).

Pour les mêmes conditions opératoires, on injecte un mélange constitué de composés appartenant à une série homologue de n-alcanes. Le chromatogramme obtenu va permettre de calculer l'indice de Kovats ou l'indice de Van Den Dool et Cratz dépendant de la programmation de la température.

$$KI_x = 100 n + 100 \frac{tr(x) - tr(n)}{tr(n+1) - tr(n)} * z \quad \dots\dots\dots (V.7)$$

Ou,

tr(x) : temps de rétention de soluté (x) étudié.

tr (n) : temps de rétention de l'alcane à n atome de carbone qui précède x.

tr (n+1) : temps de rétention de l'alcane à (n+1) atome de carbone qui suit x.

z : différence du nombre d'atomes de carbones entre les deux alcanes.

Avec : tr (n) < tr (x) < tr (n+1).

Nous avons procédé à l'analyse des huiles essentielles de l'inule visqueuse obtenues pour les lots C0 et C2 par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

Le tableau V.3 montre toutes les conditions chromatographiques.

**Tableau V.3.** Conditions d'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de l'inule visqueuse.

		Lot C0	Lot C2
chromatographe	Appareille	HP 6890 GC	HP 6890 GC
	Colonne	HP5 MS (30 m × 0.25 mm × 0.32 µm)	HP5 MS (30 m × 0.25 mm × 0.32 µm)
	Température de l'injecteur	Injecteur : 250°C	Injecteur : 250°C
	Température de la colonne	Colonne : 60°C à 280°C à raison de 2°C /min	Colonne : 60°C à 250°C à raison de 2°C /min
	Gaz vecteur	Hélium Débit : 1,2 ml/min	Hélium Débit : 1,5 ml/min
	Volume injecté	0,2 µl	0,3 µl
Spectromètre de masse	Appareille	HP 5973 MS	HP 5973 MS
	Température	Interface : 280°C Source : 230°C Quadripôle : 10°C	Interface : 280°C Source : 230°C Quadripôle : 10°C
	Énergie d'ionisation	70 eV	70 eV

### V.8. Étude qualitative de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'inule visqueuse

L'effet inhibiteur de l'huile essentielle de l'inule visqueuse sur les microorganismes testés est évalué par la méthode de diffusion sur un milieu solide appelée aussi aromagramme ou méthode des disques. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de pétri.

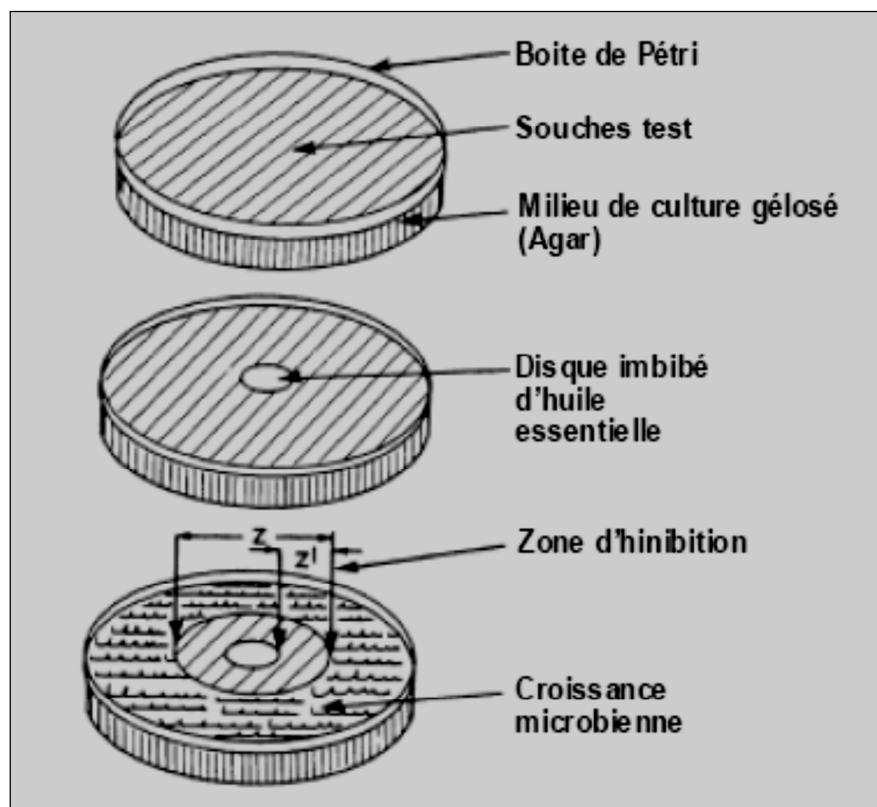
Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque absorbant sur lequel on dispose une quantité donnée d'huile essentielle.

#### V.8.1. Principe

Le principe de la méthode est tiré du titrage des antibiotiques « Pharmacopées Européenne 2002 » et validé par le laboratoire de microbiologie du CRD Sidal

Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antibactérienne et antifongique ou les deux à la fois de l'huile essentielle, en la mettant en présence des germes testés, dont la concentration est ajustée à  $10^7$  -  $10^8$  germes / ml avec un spectrophotomètre UV visible.

Des disques absorbants stériles de 9 mm imprégnés d'huile essentielle sont déposés sur une gélose inoculée avec les souches testées. La diffusion de l'huile essentielle dans la gélose permet d'inhiber la croissance des germes toute au tour du disque; ce qui permet d'avoir comme résultat positif après incubation une zone claire et distincte autour du disque, appelée « Halo ou Zone d'inhibition » et la lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues pour chaque souche comme il est illustré dans la figure V.4.



**Figure V.4.** Illustration de la méthode des aromatochromes sur boîte de pétri.

### V.8.2. les souches microbiennes choisies

Les souches microbiennes utilisées proviennent de la collection ATCC du laboratoire de microbiologie du C.R.D Saidal.

Notre choix s'est porté sur 04 souches bactériennes, 02 gram<sup>+</sup> et 02 gram<sup>-</sup>, et 02 levures. La signification de Gram est définie dans l'annexe A.4 .L'essai d'inhibition a été réalisé sur des

cultures jeunes. Le tableau V.4 regroupe la liste des souches microbiennes testées ainsi que leur caractéristique. Les propriétés de ses souches sont données en annexe (A.5)

**Tableau V.4.** Caractéristiques des souches testées.

Nom de la souche	N° ATCC	Gram
<i>Bacillus subtilis</i>	9372	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	-
<i>Echerichia coli</i>	4157	-
<i>Saccharomyce cerevisiae</i>	2601	/
<i>Candida albicans</i>	24433	/

*ATCC : American Type culture Collection.*

*Gram : Type de coloration.*

### V.8.3. Protocol expérimental

#### a. Préparation de la première couche de milieu

on fait fondre les deux milieux de culture Muller-Hinton (pour les bactéries) et Sabouraud (pour les levures) dans un bain marie à 95°C, puis on verse aseptiquement dans les boites de pétri de 90 mm de diamètre une couche à raison de 20 ml par boite avec trois répétitions par boite. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse.

#### b. Préparation de l'inoculum

- **Pour les bactéries**

A partir d'une culture jeune de 18h, on réalise des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées, qu'on dépose dans 5 à 6 ml d'eau physiologique stérile, puis on agite au vortex pendant quelques secondes

Pour le calcul de la transmittance, on utilise un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm. La transmittance doit être entre 22 % et 32 % (sauf pour *Staphylococcus aureus* qui doit être comprise entre 30 % et 40 %), ce qui correspond à une concentration de  $10^7$  à  $10^8$  germes /ml

- **Pour les levures**

La préparation pour les levures est la même que celle pour les bactéries sauf que, pour les levures, la culture doit être jeune de 48h et que la transmittance doit être entre 2 % et 3%, ce qui correspond à une concentration de  $10^7$  à  $10^8$  germes /ml.

Si la valeur de la transmittance n'appartient pas aux intervalles notés ci-dessus, on ajuste la concentration, soit en ajoutant des colonies si elle est inférieure à la valeur minimale, soit de l'eau physiologique si elle est supérieure à la valeur maximale. L'inoculum doit être utilisé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

**c. Préparation de la deuxième couche du milieu**

On fait fondre les deux milieux de culture Muller-Hinton et Sabouraud dans un bain marie à 95°C, puis on les refroidit jusqu'à atteindre une température de 45°C. Des flacons en verre stériles sont remplis avec 50 ml de Muller-Hinton pour les bactéries et 50 ml de Sabouraud pour les levures, ceci pour chacune des souches. 200 µl de chaque suspension sont ensuite prélevés pour ensemer les milieux de culture, puis on agite manuellement les flacons et on transvase rapidement 5 ml de chaque milieu inoculé en deuxième couche sur la surface des boîtes contenant déjà la première couche de gélose. On étale rapidement la seconde couche en faisant pivoter la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme, et enfin on laisse solidifier sur la paillasse.

**d. Dépôt des disques**

Les disques en cellulose stérile de 9 mm de diamètre, imbibés d'une quantité d'huile essentielle à tester, sont déposés sur la surface de la gélose, puis laissés sur la paillasse pendant 30 mn. Incubation s'effectue à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries et 25°C pendant 48 heures pour les levures.

**e. Lecture**

Le diamètre des zones claires autour des disques (zone d'inhibition) est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.

## V.9. Étude de l'activité antioxydante de l'huile essentielle

L'effet antioxydant de l'huile essentielle de l'inule visqueuse est évalué par la méthode de réduction du radical libre DPPH.

### V.9.1. Principe

Le DPPH (figure V.5) est un radical stable, il présente en solution une absorption caractéristique à 517 nm qui lui confère une coloration violette. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux libres. On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



Où (AH)<sub>n</sub> représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH<sup>\*</sup> (violet) pour le transformer en molécule DPPH-H [115].

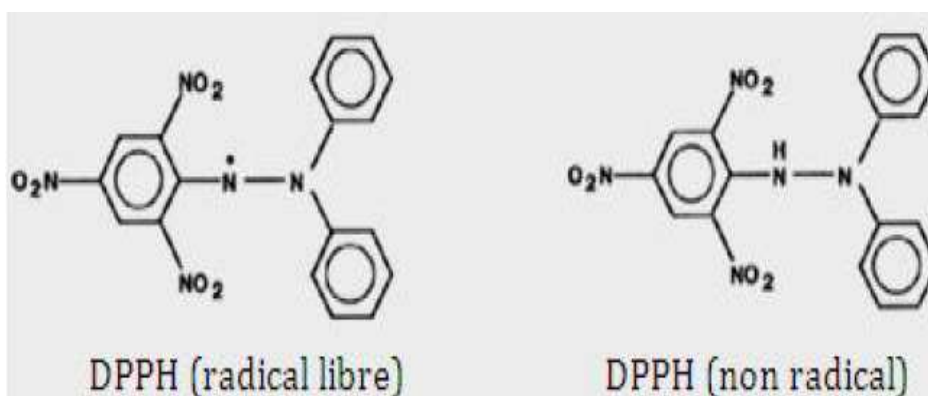


Figure V.5. Forme libre et réduite du DPPH [115].

### V.9.2. Mode opératoire

Le protocole appliqué est celui mis au point par Hazit (2008) [117].

#### a) Préparation de la solution alcoolique de DPPH

Le DPPH est solubilisé dans l'éthanol pour en avoir une solution de 24 mg/l.

#### b) Préparation des solutions d'échantillons

Pour les huiles essentielles, trois solutions ont été préparées dans l'éthanol à raison de 20, 40 et 40 g/l respectivement pour les échantillons 1, 2 et 3. Ces solutions dites solution mères, subiront ensuite des dilutions pour en avoir différentes concentrations (Tableau V.5).

Pour le BHA, qui sert comme un témoin positif, une solution de 3g/l (échantillon 4) a été préparée dans l'éthanol. Cette solution a subi des dilutions pour en avoir différentes concentrations (Tableau V.5).

**Tableau V.5. Concentrations** des solutions testées pour l'activité antioxydante.

Les échantillons	Échantillon n° 1	Échantillon n° 2	Échantillon n° 3	Échantillon n° 4
<b>Concentrations (g/l)</b>	2	4	4	0,3
	4	8	8	0,6
	8	16	16	1,2
	12	24	34	1,8
	16	32	32	2,4
	20	40	40	3

*Échantillon n° 1 : huile essentielle obtenue par Hydrodistillation de lot B1*

*Échantillon n°2: huile essentielle obtenue par entrainement à la vapeur d'eau de lot B2*

*Échantillon n°3 : huile essentielle obtenue par Hydrodistillation de lot B2.*

*Échantillon n°4 : BHA.*

### c) Protocole expérimental

Dans des tubes secs, on introduit 975 µl de la solution de DPPH qu'on a mesuré son absorbance  $A_0$ , puis on ajoute 25 µl de la solution à tester. On laisse le mélange à incuber à l'abri de la lumière et à la température ambiante pendant 30 min, après on mesure son absorbance  $A_t$ . Pour chaque concentration le test est répété 3 fois. La réduction de DPPH s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune. La lecture est effectuée par mesure de l'absorbance à 517 nm par un spectrophotomètre UV-visible.

L'activité antioxydante est donnée par l'équation V.9.

$$A_{\%} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} * 100 \quad \dots\dots\dots (V.9)$$

Les valeurs ont été exprimées par moyenne de trois mesures  $\pm$  écart type. Les valeurs de  $A_{\%}$  ainsi que les concentrations des échantillons après l'ajout de DPPH sont données en annexe (A.6).

---

*CHAPITRE VI*

*RESULTATS ET DISCUSSIONS*

---

## CHAPITRE VI

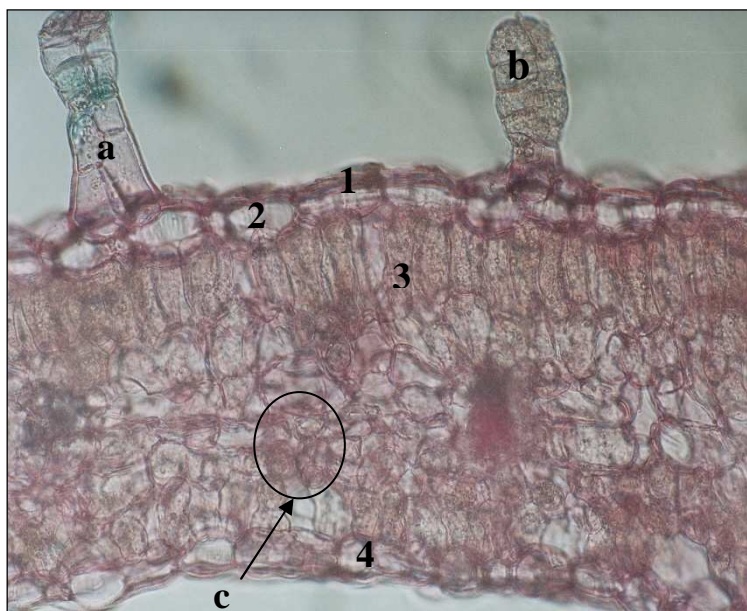
### RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'inule visqueuse est une plante vivace qui se trouve en Algérie, afin de contribuer à la valorisation de cette plante nous nous sommes intéressés à l'extraction de ces huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation.

#### VI.1. localisation des organes de sécrétion des huiles essentielles de feuille de l'inule visqueuse

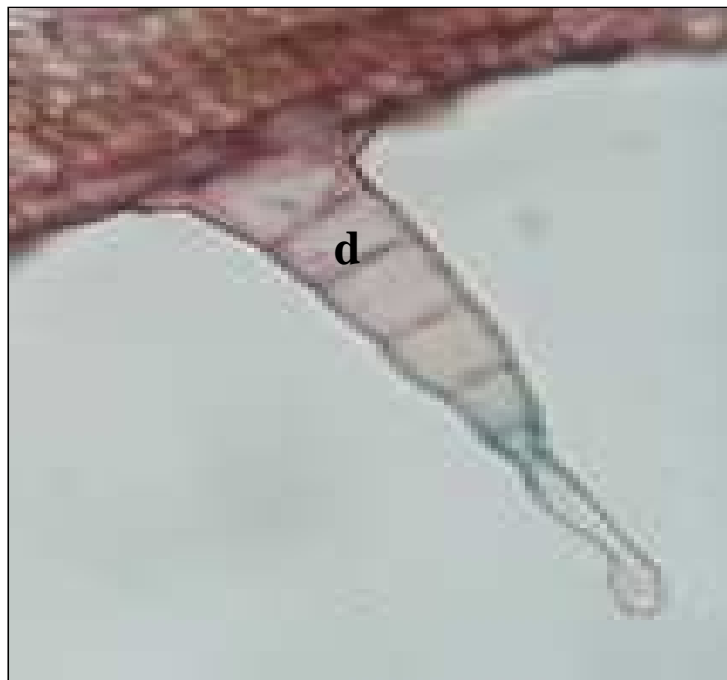
Les observations par microscope photonique des coupes transversales mettent en évidence des poils glandulaires unicellulaires et pluricellulaires (Figure VI.1) et des poils sécréteurs pluricellulaires (Figure VI.2) sur la surface de la feuille. Donc les feuilles de l'inule visqueuse ont des sites exogènes.

Nous avons également des cellules sécrétrices endogènes d'huile essentielle (Figure VI.2) qu'on observe à la surface de la coupe.



**Figure VI.1.** Coupe transversale d'une feuille de l'inule visqueuse met en évidence des poils sécréteurs unicellulaire et pluricellulaire (25×3,2).

*a : Poil glandulaire pluricellulaire ; b : poil glandulaire unicellulaire ; c : cellules sécrétrices  
1 : La cuticule ; 2 et 4 : Cellule épidermique de la face supérieure et inférieure respectivement ; 3 : Parenchyme palissadique chlorophyllien.*



**Figure VI.2.** Coupe transversale d'une feuille de l'inule visqueuse met en évidence des poils sécréteurs pluricellulaires (25×3,2).  
*d : Poil sécréteur pluricellulaire*

## VI.2. Étude de la cinétique de séchage de la matière végétale

Pour l'étude de la cinétique de séchage des feuilles de l'inule visqueuse, on a tracé la variation de la teneur en eau ( $W$ ) donnée par l'équation (V.1) et (V.2) en fonction du temps de séchage pour les différents cas (Figure VI.3). Les valeurs donnant cette variation sont regroupées dans les tableaux en Annexe (A.3).

Par dérivation des courbes de séchage décrivant l'évolution de la teneur en eau en fonction du temps, nous avons déterminé les courbes des vitesses de séchage en fonction du temps qui seront représentées par la figure VI.4.

Les valeurs donnant les vitesses de séchage en fonction du temps sont regroupées dans les tableaux en Annexe (A.3).

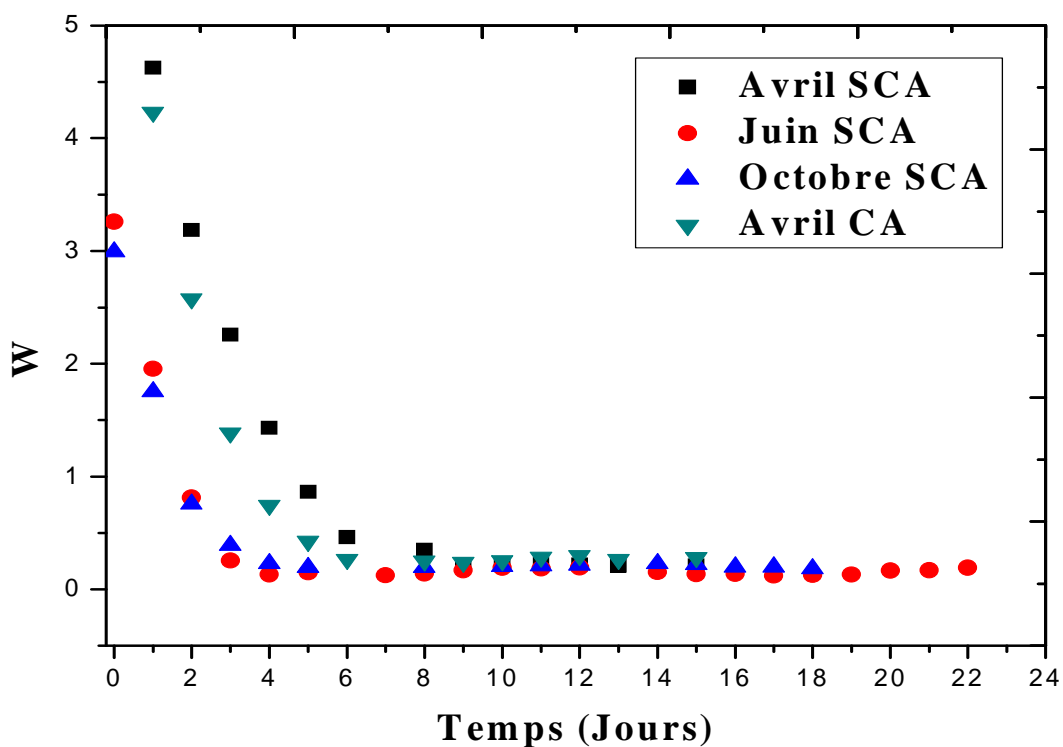


Figure VI.3. Évolution de la teneur en eau des feuilles de l'inule visqueuse en fonction du temps

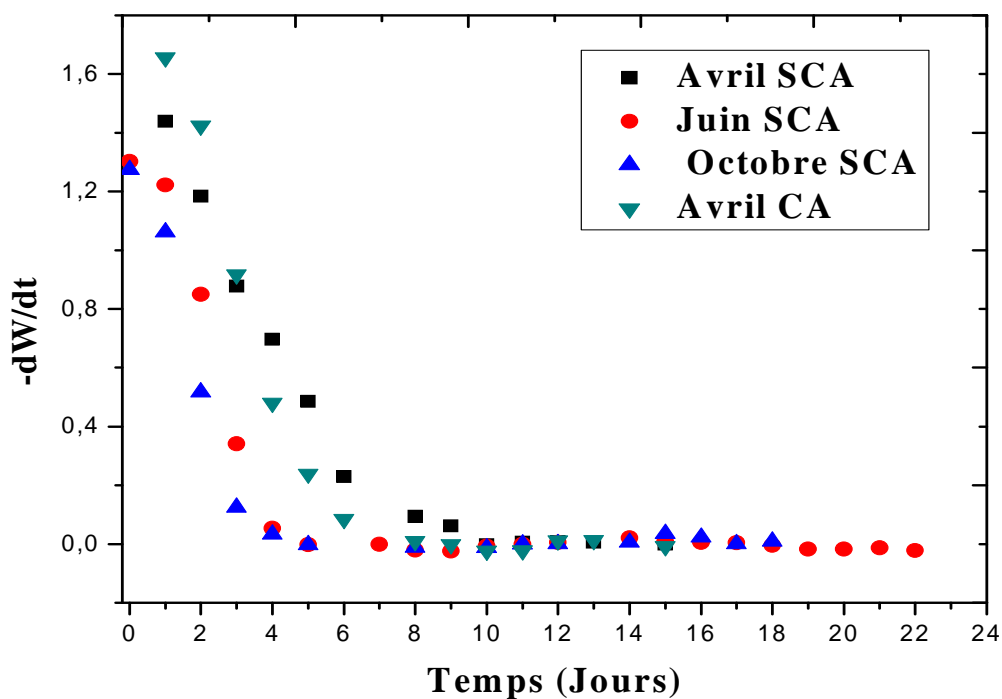


Figure VI.4. Évolution de la vitesse de séchage des feuilles de l'inule visqueuse en fonction du temps.

Les différentes courbes de séchage obtenues (figures VI.3 et figures VI.4) montrent l'allure décroissante de la teneur en eau et de la vitesse de séchage en fonction du temps. Elles confirment aussi l'absence de la phase transitoire et la phase de séchage à vitesse constante lorsque le produit est en feuille, et la présence unique de la phase de séchage à vitesse décroissante comme dans de nombreux cas de produits végétaux [118, 119]. Dans cette phase décroissante, on distingue deux périodes.

- Première période : cette phase est caractérisée par une décroissance rapide de l'humidité de la matière végétale correspondant à l'évaporation superficielle de l'eau.
- Deuxième période : Il y a disparition totale de l'eau superficielle. Dans ce cas, la vitesse de séchage s'approche de zéro, elle dépend uniquement de la vitesse de diffusion de l'eau interne vers la surface de la matière végétale.

Finalement, la vitesse de séchage s'annule lorsque l'humidité d'équilibre  $W_e$  est atteinte.

### **VI.2.1. Influence de la température ambiante sur la vitesse de séchage**

La vitesse de séchage augmente quand la température ambiante croît et par conséquent la teneur en eau des feuilles de l'inule visqueuse diminue considérablement (Figure VI.5). Ce résultat est en accord avec d'autres travaux sur le séchage solaire des produits agroalimentaires [120].

### **VI.2.2. Influence du courant de l'air sur la vitesse de séchage**

La vitesse de séchage croît est variable suivant que le séchage est réalisé avec ou sans circulation de l'air et par conséquent la teneur en eau des feuilles de l'inule visqueuse diminue considérablement (Figure VI.6). Ce résultat est en accord avec d'autres travaux sur le séchage solaire des produits agroalimentaires [120].

Les valeurs donnant les vitesses de séchage en fonction de la teneur en eau sont regroupées dans les tableaux en Annexe (A.3).

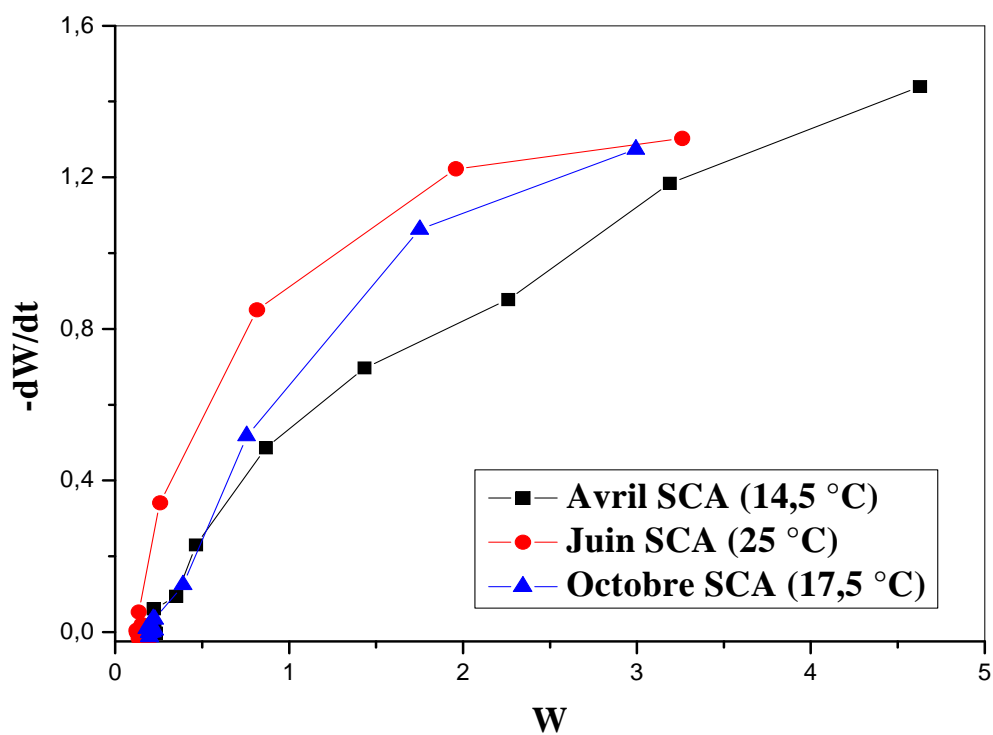


Figure VI.5. Évolution de la vitesse de séchage des feuilles de l'inule visqueuse en fonction de la teneur en eau à différentes températures ambiantes.

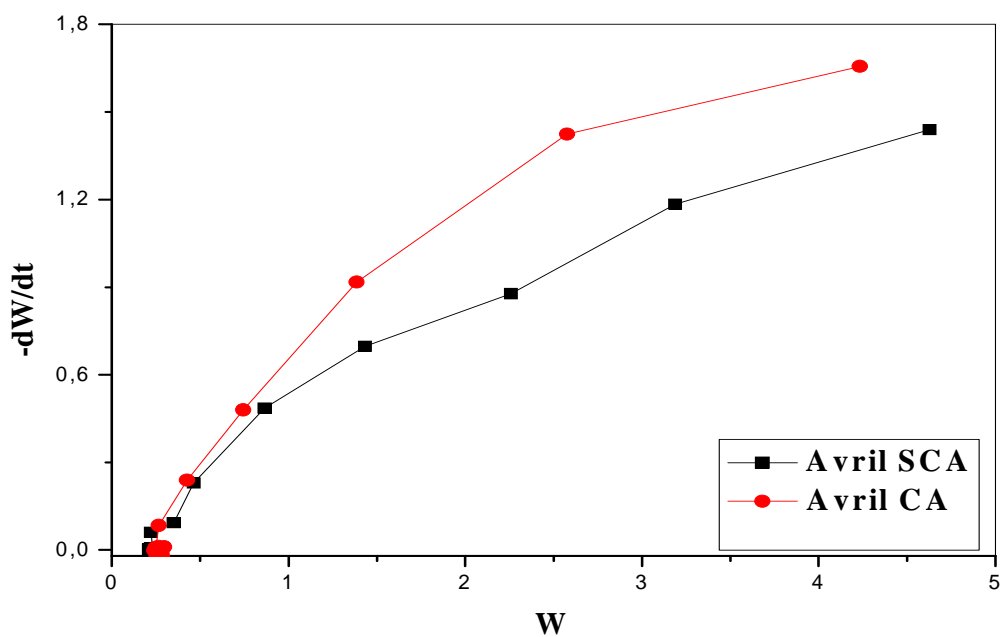


Figure VI.6. Évolution de la vitesse de séchage des feuilles de l'inule visqueuse en fonction de la teneur en eau dans un milieu sans circulation d'air et avec circulation d'air.

On a étudié expérimentalement le séchage des feuilles de l'inule visqueuse. D'après ces résultats, les courbes de séchage et les courbes des vitesses de séchage se caractérisent par l'absence de la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> phase (phase de mise en température et phase de la vitesse constante). Le lieu de séchage (avec ou sans circulation de l'air) est un facteur qui influence la vitesse de séchage; De même, l'effet de la température a été observé, la vitesse de séchage augmente avec la température de l'air asséchant.

Le lot de la matière végétale séché sans circulation d'air a été utilisé pour l'extraction des huiles essentielles par les deux méthodes (entraînement à la vapeur d'eau et hydrodistillation).

### **VI.3. Valorisation des huiles essentielles de l'inule visqueuse**

#### **VI.3.1. Cinétique de l'extraction des huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau**

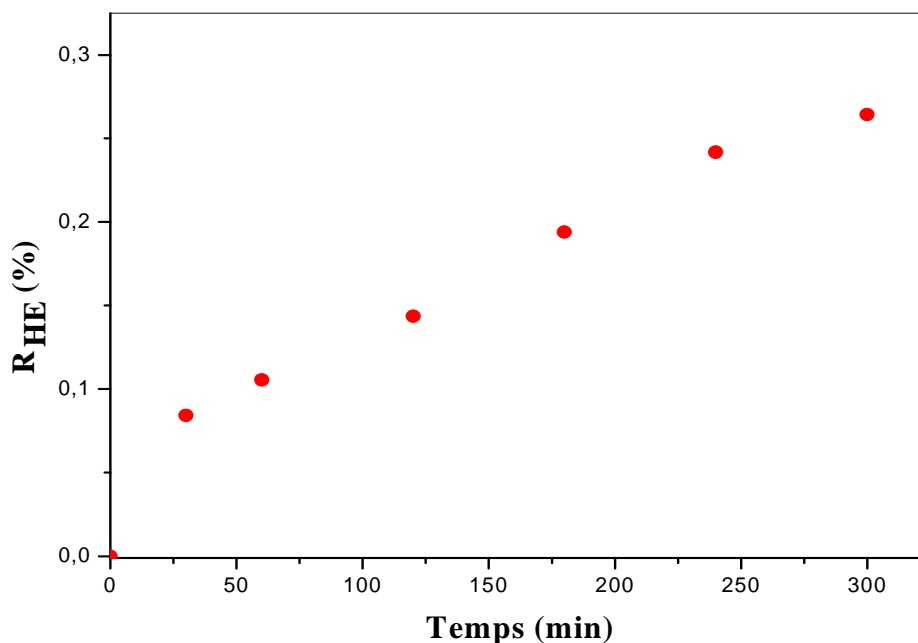
Nous avons suivi l'évolution du rendement en huile essentielle de l'inule visqueuse au cours du temps, lors de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau pour le lot C0.

La durée d'extraction est théoriquement le temps nécessaire à la récupération de la quasi totalité de l'huile essentielle contenue dans l'échantillon de la matière végétale. Or, en pratique, il est difficile de récupérer toute l'huile. Ce temps correspond alors au moment auquel nous n'observons plus d'huile dans le distillat. Il détermine aussi la fin du processus d'extraction.

Le rendement en huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau est d'environ 0,26%. Les variations du rendement en huile essentielle, représentées par la figure VI.7 montrent que le palier n'est pas atteint après cinq heures d'extractions, donc il reste encore de l'huile dans la plante. Le rendement augmente rapidement durant la première heure, ou plus de 39% de l'huile sont extraite, son évolution est moins importante par la suite. Pour notre étude, on a choisi quatre heures et demie comme temps d'extraction.

Les observations des coupes au microscope optique, ont montré que les sites renfermant l'huile essentielle sont de deux types (exogène et endogène). Pour cela la durée d'extraction est longue.

La première étape d'extraction serait consacrée aux huiles essentielles située à la surface, elle se termine par l'extraction des huiles qui se situe plus profondément dans la feuille.



**Figure VI. 7.** Évolution du rendement de l'huile essentielle en fonction du temps.

### VI.3.2. Extraction des huiles essentielles par entrainement à la vapeur d'eau

Les essais de l'extraction par entrainement à la vapeur d'eau ont été menés en fixant le temps d'extraction à quatre heures et demie.

Le tableau VI.1 présente les résultats quantitatifs obtenus lors de l'extraction de l'huile essentielle de l'inule visqueuse par entrainement à la vapeur d'eau des différents lots.

**Tableau VI.1.** Rendements en huile essentielle obtenus pour différents lots.

Région	N° de lot	Rendement (%)
<b>CHERCHELL</b>	C0	0,50
	C1	0,73
	C2	1,03
<b>BAB-EZZOUAR</b>	B1	0,19
	B2	0,80

D'après ce tableau on remarque que les rendements les plus élevés sont obtenus par les lots C2 et B2 (période de juillet) avec des pourcentages de 1,03 et 0,8 respectivement. Pour la même cueillette (lot C1 avec lot B1 et lot C2 avec lot B2), la région de Chercell donne les meilleurs rendements avec 0,73 et 1,03 respectivement pour les lots C1 et C2.

Le rendement obtenu est généralement supérieur de ceux obtenus dans d'autres études. En effet, De Laurentis et al. (2002) ont montré que l'inule visqueuse cultivée en Turquie, présente un rendement de 0,35 % [110]. Quand à Robertet (2000), ce dernier a eu un rendement de 0,3 % pour l'inule visqueuse cultivée en France [121]. L'inule visqueuse cultivée en Algérie renferme un rendement de 0,45 % [86].

### VI.3.3. Extraction des huiles essentielles par Hydrodistillation

Les essais de l'extraction par hydrodistillation ont été menés en fixant le temps d'extraction à quatre heures et demie.

Le tableau VI.2 présente les résultats quantitatifs obtenus lors de l'extraction de l'huile essentielle de l'inule visqueuse par hydrodistillation des différents lots.

**Tableau VI.2.** Rendements en huile essentielle pour différents lots.

Région	N° de lot	Rendement (%)
CHERCHELL	C1	0,28
	C2	0,35
BAB-EZZOUAR	B1	0,15
	B2	0,22

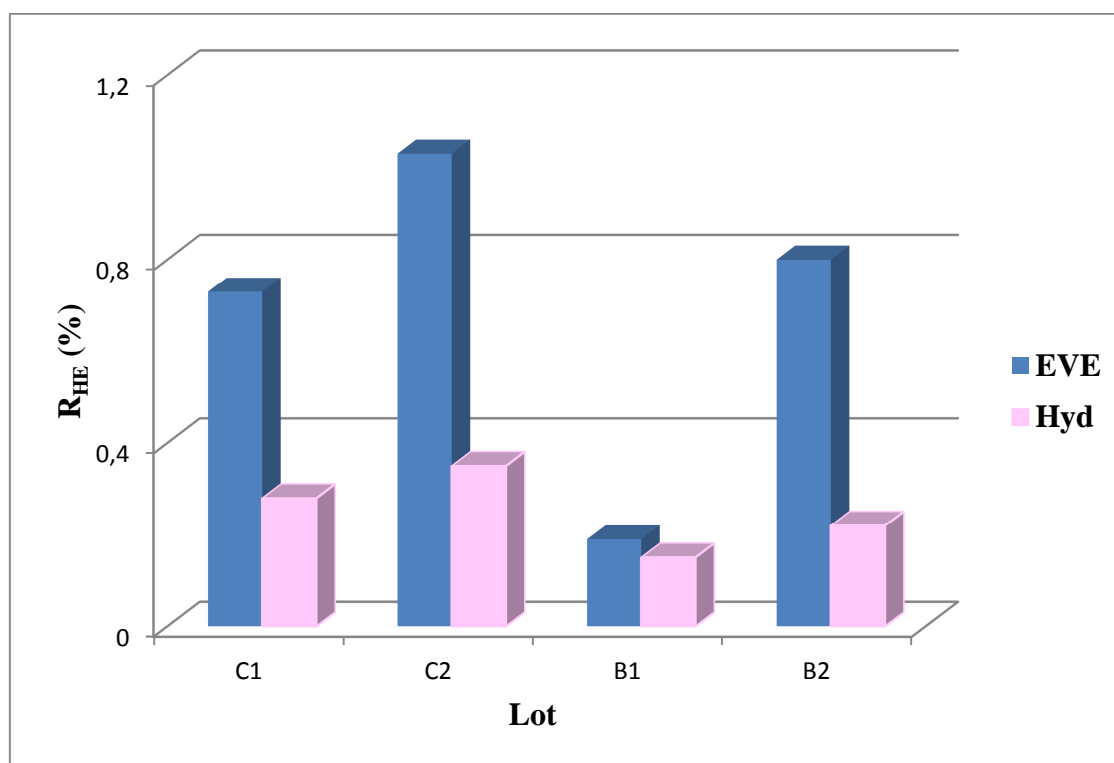
Nous remarquons une variation des rendements en fonction de la période et de la région de la cueillette. La région de ChercHELL donne le meilleur rendement.

Perez Alonso et al (1996) ont montré que l'inule visqueuse cultivée en Italie, présente un rendement de 0,2 %. Par ailleurs [83], Haoui et al (2011) ont montré que l'inule visqueuse cultivée en Algérie renferme un rendement de 0,15 % [86]. Les résultats obtenus par hydrodistillation dans le présent travail restent proche de ceux cités précédemment.

Le suivi du rendement de l'huile essentielle obtenu par les deux méthodes d'extraction, pour les lots C1, C2, B1 et B2 sont présentés par la figure VI.8.

Les résultats obtenus montrent que le rendement obtenu par l'entraînement à la vapeur d'eau est supérieur à celui obtenu par hydrodistillation pour les deux régions, ce résultat est plus remarquable pour l'essai du lot C2. Cela permet de conclure que l'entraînement à la vapeur d'eau est le meilleur procédé qui permet l'obtention d'une plus grande quantité d'huile essentielle pour l'inule visqueuse.

La variation du rendement pourrait être attribuée à l'origine géographique de la plante, à la technique d'extraction et aux facteurs climatiques, mais également à la période de cueillette de la matière végétale [121].



**Figure VI.8.** Rendements en huile essentielle pour chaque lot, et chaque procédé d'extraction.  
EVE : entrainement à la vapeur d'eau ; Hyd : hydrodistillation.

#### VI.3.4. Détermination des propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de l'inule visqueuse

Les résultats obtenus après l'appréciation des critères organoleptiques de l'huile essentielle de l'inule visqueuse sont regroupés dans le tableau VI.3.

**Tableau VI. 3.** Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de l'inule visqueuse

Propriétés organoleptiques	Huile essentielle de l'inule visqueuse
Aspect	Liquide visqueux
Couleur	jaune pâle
Odeur	Forte
Flaveur	Piquante

### VI.3.5. Analyses qualitatives des huiles essentielles de l'inule visqueuse

L'identification des constituants de l'huile essentielle de l'inule visqueuse a été réalisée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse pour les lots C0 et C2.

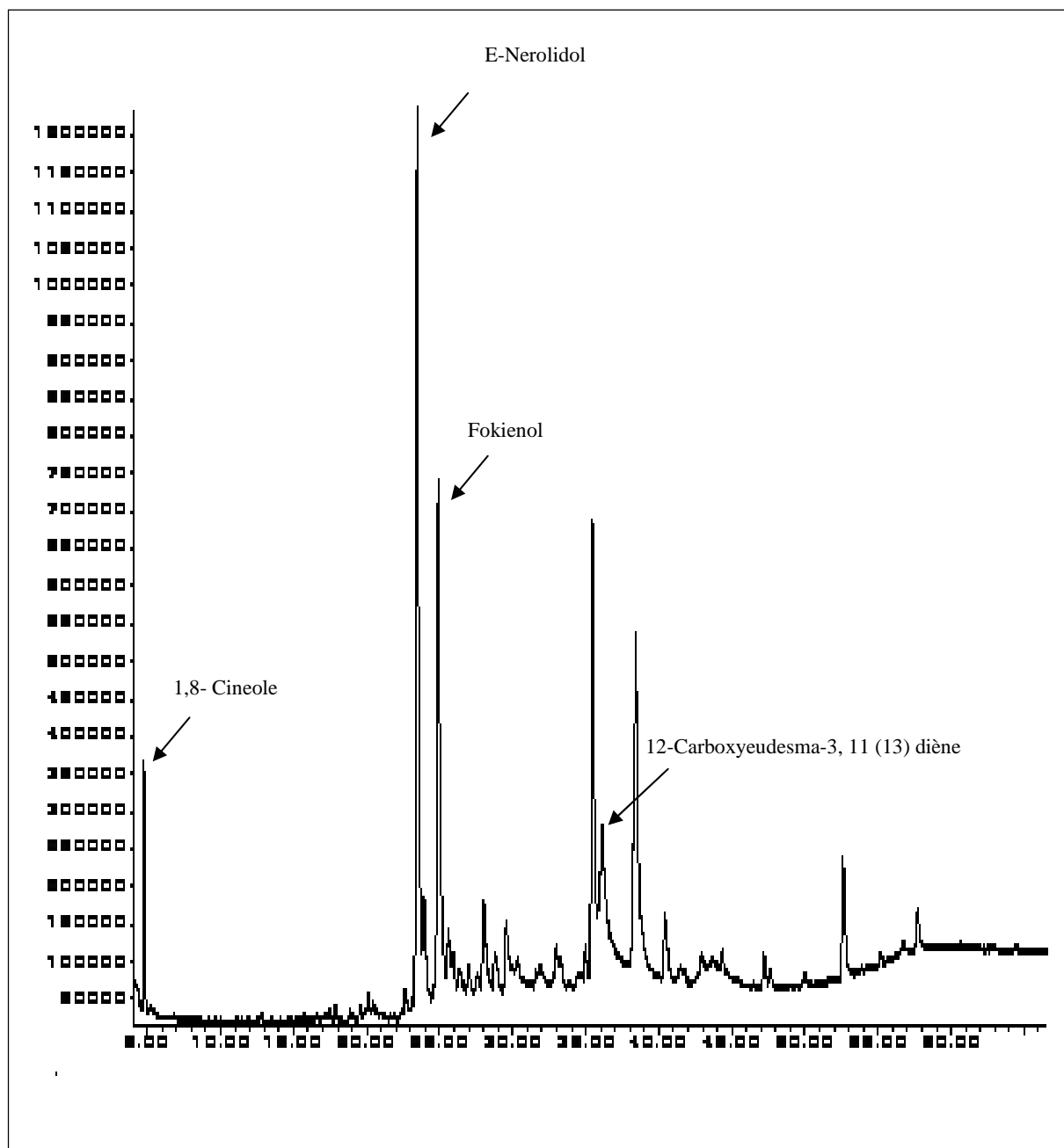
#### VI.3.5.1. Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de lot C0

On a pu identifier 10 constituants représentant 48,98 % de lot C0 obtenu par entraînement à la vapeur d'eau. Les résultats de l'identification des composés de lot C0 sont regroupés dans le tableau VI.4. Le chromatogramme de l'huile essentielle est représenté dans la figure VI.9.

On remarque que le E-Nerolidol est un composé majoritaire avec 60,03 %.de même nous avons 14,04 % de Fokienol et 11,88 % de 12-Carboxyeudesma-3, 11 (13) diène.

**Tableau VI.4.** Les constituants de l'huile essentielle d'Inule visqueuse de lot C0 par entraînement à la vapeur d'eau.

Constituants	KI échantillon	Teneur relative (%)	Méthode d'identification	Références
1. 1,8- Cineole	1016	1,87	MS, IK	[123]
2. $\beta$ -Funebrene	1412	0,06	MS, IK	[123]
3. E-Nerolidol	1552	18,48	MS, IK	[123]
4. Caryophyllene oxide	1582	3,04	MS, IK	[123]
5. Fokienol	1596	14,04	MS, IK	[123]
6. Selina-6-en-4-ol	1620	1,88	MS, IK	[123]
7. $\alpha$ -Eudesmol	1646	1,08	MS, IK	[123]
8. 12-Carboxyeudesma-3, 11 (13) diène	1912	11,88	MS	[123]
9. Manool	2054	2,04	MS, IK	[124]
10. Pentacosane	2494	2,76	MS, IK	[123]
Sesquiterpènes oxygénés : 50,4 %				
Autres : 9,63 %				



**Figure VI.9.** Chromatogramme de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de lot CO.

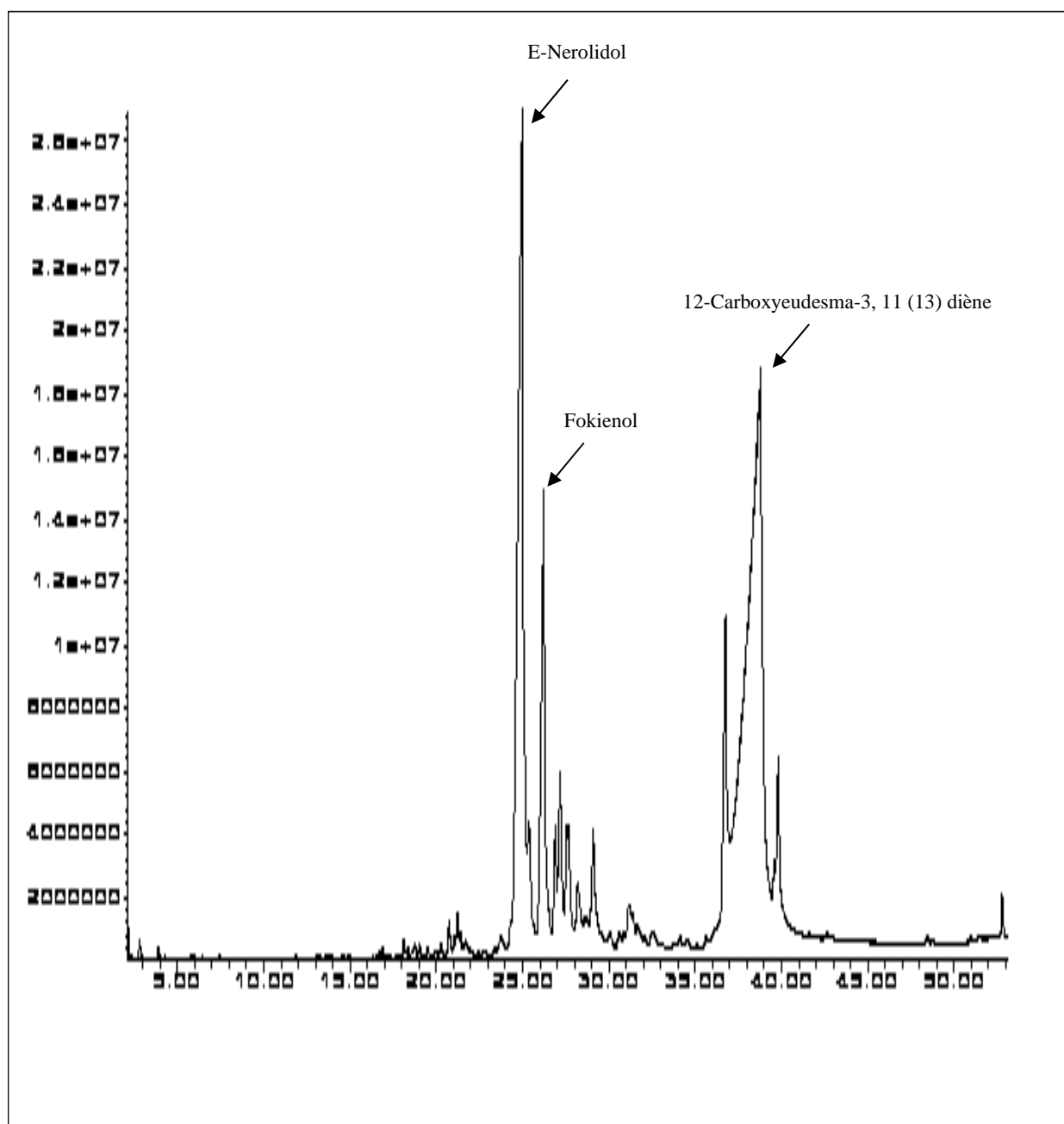
### VI.3.5.2. Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de Lot C2

#### ▪ Par entraînement à la vapeur d'eau

L'analyse par GC/MS montre que l'huile essentielle obtenue lors de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau est fortement riche en 12-Carboxyeudesma-3, 11 (13) diène (39,16%). D'après le tableau VI.5 la plus part des composés identifiés de cette huile sont des sesquiterène oxygénés. Le chromatogramme est donné par la figure VI.10.

**Tableau VI.5.** Les constituants de l'huile essentielle d'inule visqueuse de lot C2 par entraînement à la vapeur d'eau.

Constituants	KI échantillon	Teneur relative (%)	Méthode d'identification	Références
1. Limonene	1025	0,02	MS, IK	[123]
2. Lavender lactone	1039	0,02	MS, IK	[123]
3. Linalool	1098	0,03	MS, IK	[123]
4. 2 E - Decenal	1276	0,07	MS, IK	[123]
5. $\alpha$ -Ylangene	1359	0,07	MS, IK	[123]
6. $\alpha$ -Copaene	1363	0,09	MS, IK	[123]
7. $\beta$ -Longipinene	1401	0,06	MS, IK	[123]
8. 6,9-Guaiadiene	1423	0,08	MS, IK	[123]
9. $\gamma$ - Gurjunene	1470	0,17	MS, IK	[123]
10. $\alpha$ -Copaen-11-ol	1532	0,42	MS, IK	[123]
11. E-Nerolidol	1569	19,92	MS, IK	[123]
12. Caryophyllene oxide	1580	1,86	MS, IK	[123]
13. Fokienol	1604	7,66	MS, IK	[123]
14. Selina-6-en-4-ol	1623	1,43	MS, IK	[123]
15. $\alpha$ -Eudesmol	1659	1,41	MS, IK	[123]
16. E- Isovallelcellol	1786	0,42	MS, IK	[123]
17. 12-Carboxyeudesma-3, 11 (13) diène	1920	39,16	MS	[124]
18. Pentacosane	2950	0,32	MS, IK	[123]
Sesquiterpènes oxygénés : 72,28 %				
Alcane : 0,93				



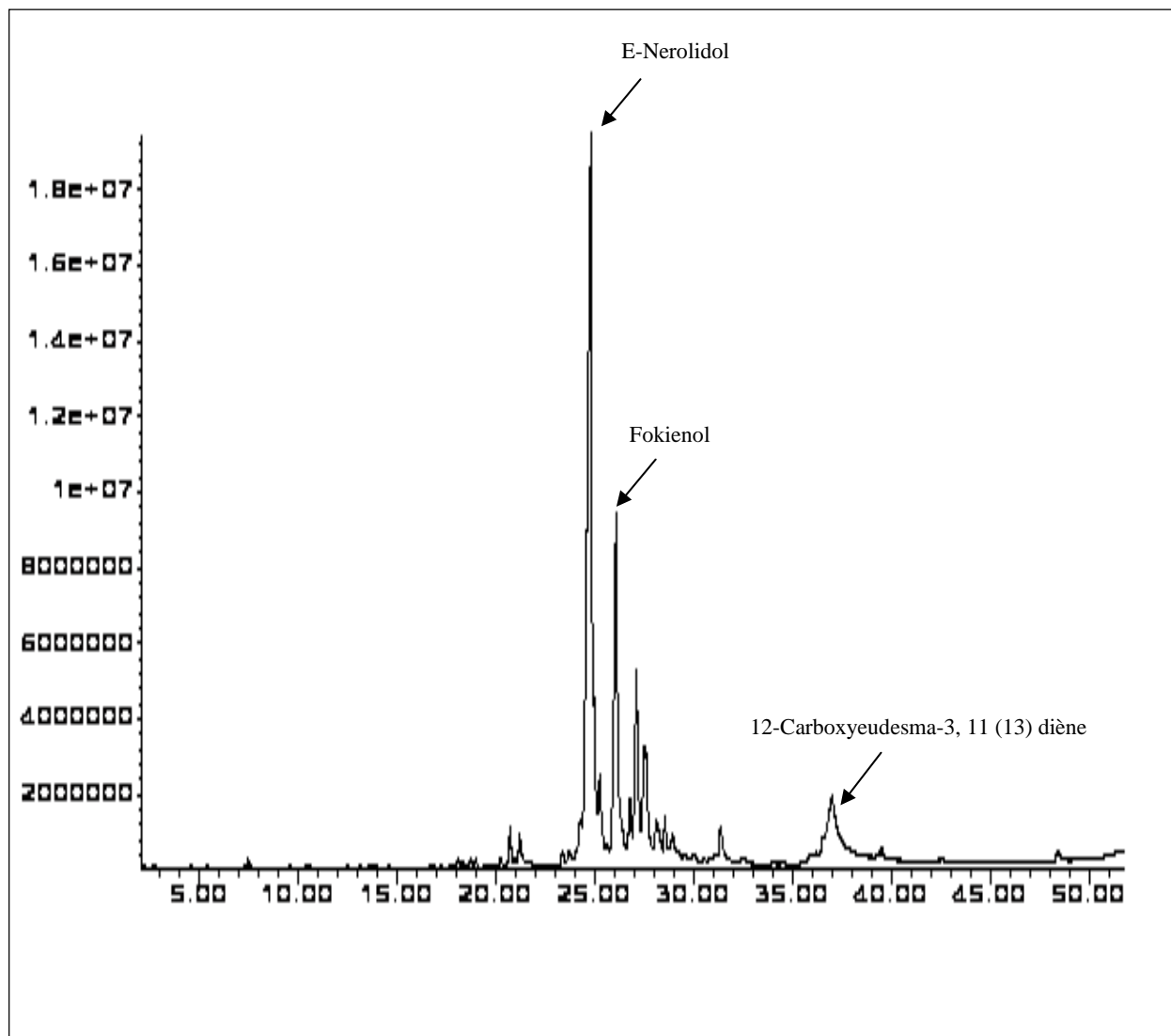
**Figure VI.10.** Chromatogramme de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de lot C2 par entraînement à la vapeur d'eau.

▪ **Par hydrodistillation**

L'analyse chromatographique a fourni le chromatogramme de la figure VI.11. Les résultats de cette analyse sont récapitulés dans le tableau VI.6. On a pu identifier environ 63,65 % de la composition avec un pourcentage très élevé en E-Nerolidol (31,45 %).

**Tableau VI.6.** Les constituants de l'huile essentielle d'Inule visqueuse de lot C2 par hydrodistillation.

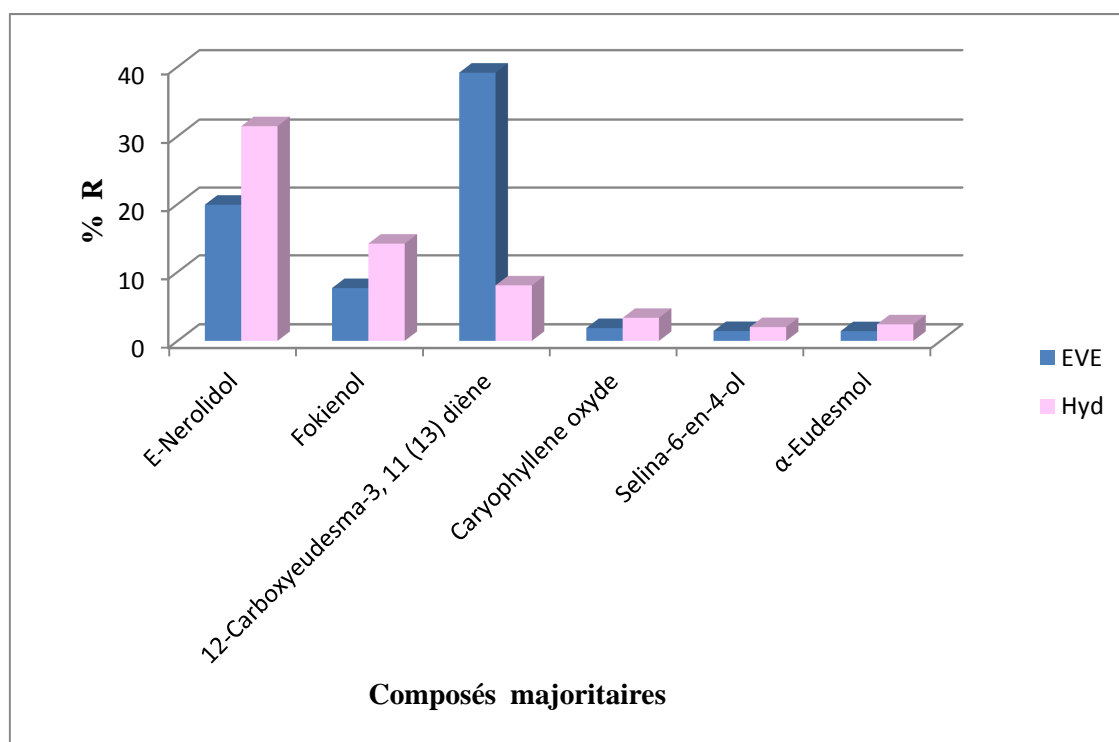
Constituants	IR échantillon	Teneur relative (%)	Méthode d'identification	Références
1. Cineole	988	0,06	MS, IK	[123]
2. Limonene	1024	0,03	MS, IK	[123]
3. Linalool	1098	0,04	MS, IK	[123]
4. Carvone	1229	0,03	MS, IK	[123]
5. $\alpha$ -Ylangene	1359	0,07	MS, IK	[123]
6. $\alpha$ -Copaène	1363	0,05	MS, IK	[123]
7. $\beta$ -Longipinene	1401	0,05	MS, IK	[123]
8. 6,9- Guaiadiene	1422	0,09	MS, IK	[123]
9. Cabreuva oxide A	1441	0,29	MS, IK	[123]
10. Cabreuva oxide B	1460	0,23	MS, IK	[123]
11. $\gamma$ Gurjunene	1470	0,20	MS, IK	[123]
12. $\alpha$ -Copaen-11-ol	1532	0,64	MS, IK	[123]
13. E-Nerolidol	1565	31,45	MS, IK	[123]
14. Caryophyllene oxide	1577	3,34	MS, IK	[123]
15. Fokienol	1601	14,25	MS, IK	[123]
16. Selina-6-en-4-ol	1620	2,00	MS, IK	[123]
17. $\alpha$ -Eudesmol	1657	2,4	MS, IK	[123]
18. E- Isovalcellol	1785	0,38	MS, IK	[123]
19. 12-Carboxyeudesma-3, 11 (13) diène	1910	8,05	MS	[124]
Sesquiterpènes oxygénés : 63,03 %				
Autres : 0,62 %				



**Figure VI.11.** Chromatogramme de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de lot C2 par hydrodistillation.

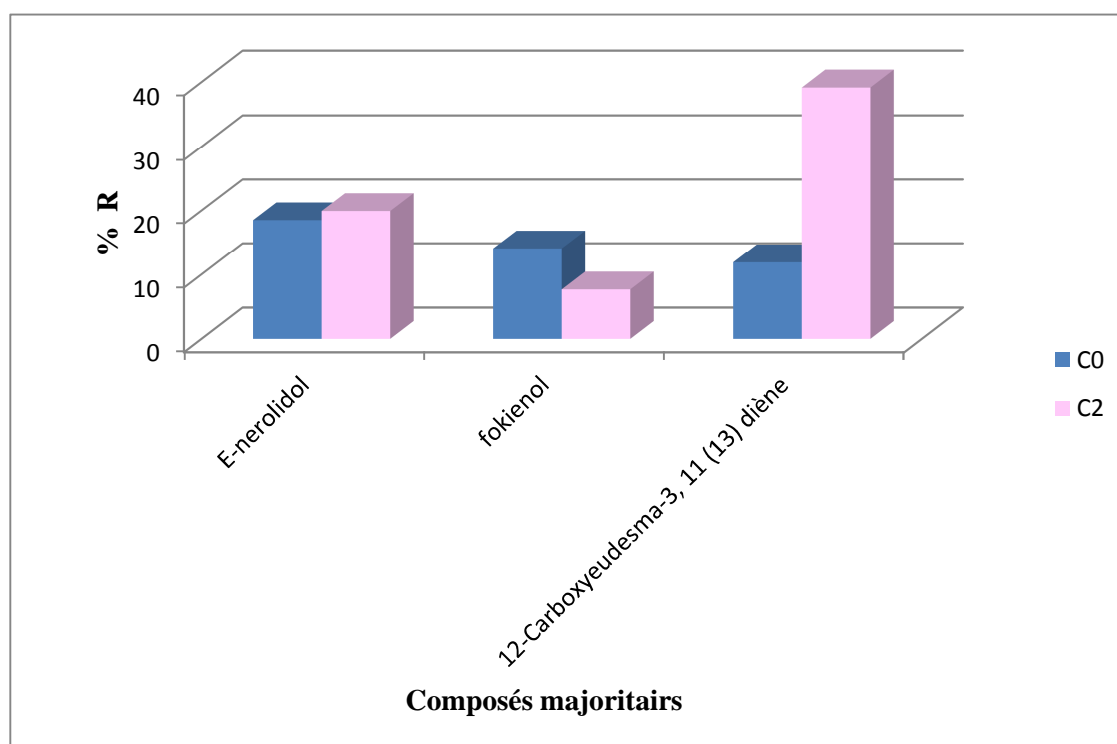
D'après la figure VI.12, on remarque que les pourcentages des composés extraits sont en fonction du procédé d'extraction. L'extraction de 12-Carboxyeudesma-3, 11 (13) diène est favorisée par l'hydrodistillation par contre l'entraînement à la vapeur d'eau favorise l'extraction de E-Nerolidol.

La figure VI.13 montre que la teneur en acide 12-Carboxyeudesma-3, 11 (13) diène est très importante dans l'huile essentielle extraite de lot C2, et le lot C0 est riche en E-Nerolidol.



**Figure VI.12.** Les pourcentages relatifs des composés majoritaires des huiles essentielles obtenues par les deux procédés de lot C2.

*EVE* : entrainement à la vapeur d'eau ;  
*Hyd* : hydrodistillation.



**Figure VI.13.** Les pourcentages relatifs des composés majoritaires des huiles essentielles obtenues par entrainement à la vapeur d'eau de lot C0 et C2.

### VI.3.5. 3. Les Principales familles chimiques des composés identifiés

D'après les résultats représentés dans le tableau VI.7 on remarque que les monoterpènes hydrocarbonés et les sesquiterpènes hydrocarbonés sont constitués en faible quantité dans nos huiles essentielles.

Les acides représentent une fraction variant entre 8,05 % et 39,16% constituée essentiellement de l'acide 12-Carboxy eudesma-3, 11 (13) diène.

Les alcools constituent une fraction importante des huiles essentielles obtenues dont les valeurs oscillant entre 31,29% et 51,12%.

**Tableau VI.7.** Principales familles des composés identifiés.

	Lot C0	Lot C2	
	EVE	EVE	Hyd
<b>Monoterpènes hydrocarbonés</b>	0	0,02	0,03
<b>Sesquiterpènes hydrocarbonés</b>	0,06	0,47	0,46
<b>Acide</b>	11,88	39,16	8,05
<b>Oxydes</b>	4,77	1,86	3,92
<b>Alcools</b>	37,52	31,29	51,12

### VI.4. Évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de l'inule visqueuse

L'évaluation du pouvoir antimicrobienne a été effectuée pour l'huile essentielle de lot C0. Nous avons choisi les micro-organismes selon la disponibilité.

Les résultats de l'activité antimicrobienne de notre extrait obtenus par mesure de la moyenne des diamètres d'inhibition de la croissance microbienne sont reportés dans le tableau VI.8. Les illustrations sont données par les figures VI. (14 à 16).



**Figure VI.14.** Zones d'inhibition de l'huile essentielle d'inule visqueuse sur les bactéries gram +.



Figure VI.15. Zones d'inhibition de l'huile essentielle d'inule visqueuse sur les bactéries gram-.

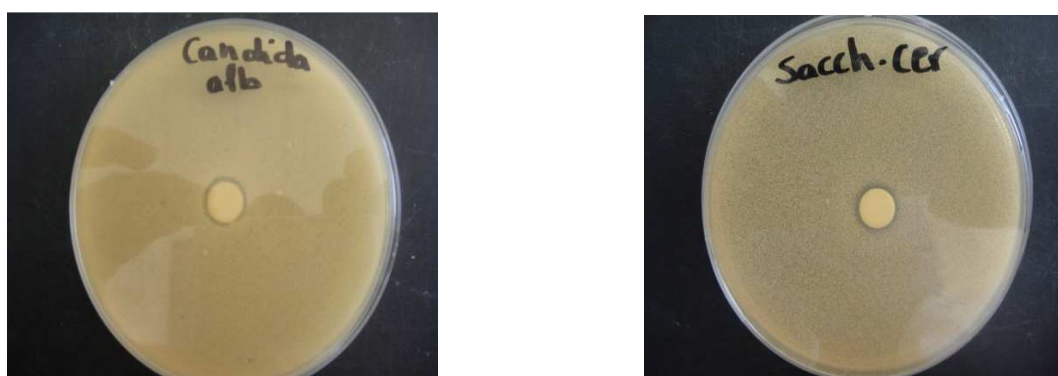


Figure VI.16. Zones d'inhibition de l'huile essentielle d'inule visqueuse sur les levures.

Tableau VI.8. Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'inule visqueuse.

Souches		Diamètres d'inhibitions (mm)	Pouvoir antimicrobien de l'HE « Chapitre (III.1.1) »	
Bactérie	Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	36	Fortement inhibitrice
		<i>Bacillus subtilis</i>	56	Fortement inhibitrice
	Gram -	<i>Escherichia coli</i>	11	Légèrement inhibitrice
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	Non inhibitrice
Levures		<i>Candida albicans</i>	11	Légèrement inhibitrice
		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11	Légèrement inhibitrice

Les résultats montrent que notre huile essentielle a un effet inhibiteur sur toutes les souches testées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*.

#### ▪ Bactéries à Gram positif

D'après les résultats obtenus et en se référant à l'échelle citée par Meena et Sethi (1994) [52] et Ela et al (1996) [53] on constate que l'huile essentielle d'inule visqueuse a une forte action inhibitrice sur les 2 bactéries étudiées : *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* avec des diamètres d'inhibition de 56 mm et 36 mm respectivement.

#### ▪ Bactéries à Gram négatif

La souche *Escherichia coli* s'est avérée légèrement sensible à l'action de notre huile essentielle avec un diamètre d'inhibition de 11 mm.

Concernant *Pseudomonas aeruginosa* une résistance à l'huile essentielle a été constatée avec un diamètre d'inhibition de 9 mm.

#### ▪ Les levures

*Candida albicans* et *Saccharomyce cerevisiae* ont montré une légère sensibilité vis-à-vis l'huile essentielle de l'inule visqueuse avec un diamètre de zone d'inhibition qui est égale à 11 mm.

Les résultats obtenus confirment les hypothèses données par Smith-Palmer et al (2001) ; la forte sensibilité des bactéries Gram<sup>+</sup> vis-à-vis de notre huile essentielle et contrairement à celle obtenue par les bactéries Gram<sup>-</sup>, peut s'expliquer par la différence de la structure de la paroi constituant les différentes bactéries Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>[125].

La paroi des Gram- présente une structure plus fine mais plus complexe que celle des Gram+.

La paroi Gram- est dotée d'une membrane externe qui crée une barrière imperméable tandis que les Gram+ en sont dépourvues.

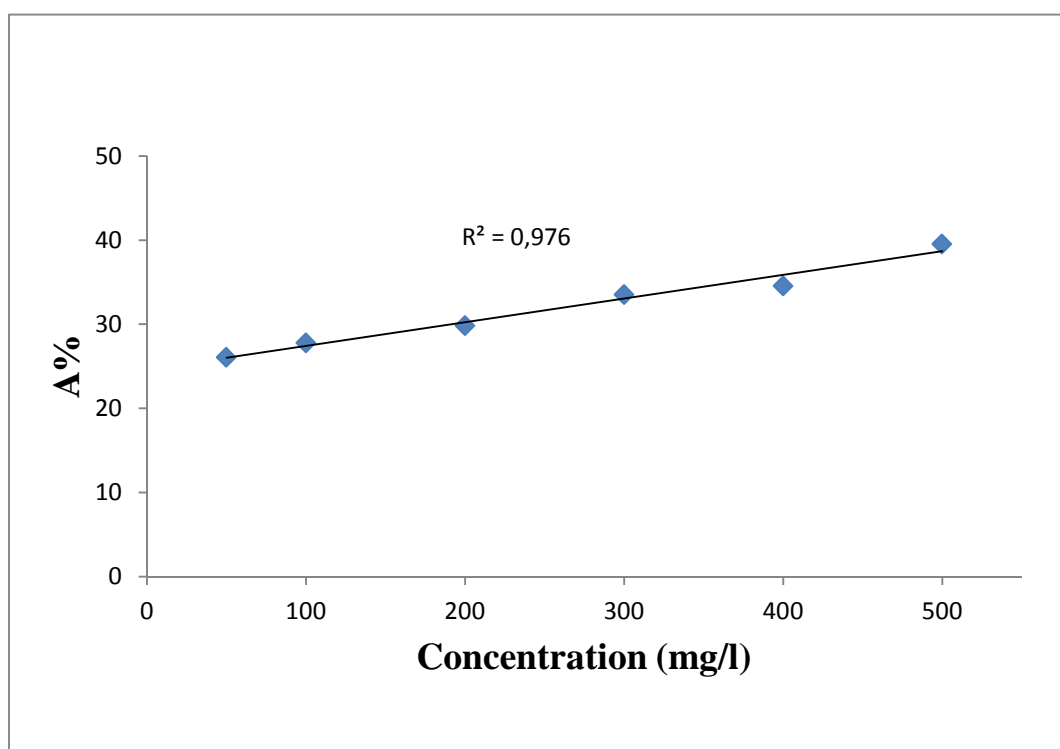
Le résultat obtenu par notre étude sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle s'avère très intéressant car d'après Smith-Palmer et al (2001) la *Staphylococcus aureus* est une bactérie à Gram positif responsable des infections des plaies, de la peau et du sang et très résistante aux antibiotiques [125]. Donc l'application de l'huile essentielle de l'inule visqueuse contre cette bactérie sera positive.

De même, pour la bactérie *Bacillus subtilis*, nous observons un diamètre d'inhibition de 56 mm obtenu par l'huile essentielle de cette plante. Cette bactérie peut contaminer les aliments et provoquer une intoxication alimentaire. Donc l'application de l'huile essentielle de l'inule visqueuse comme arôme des aliments peut être positive.

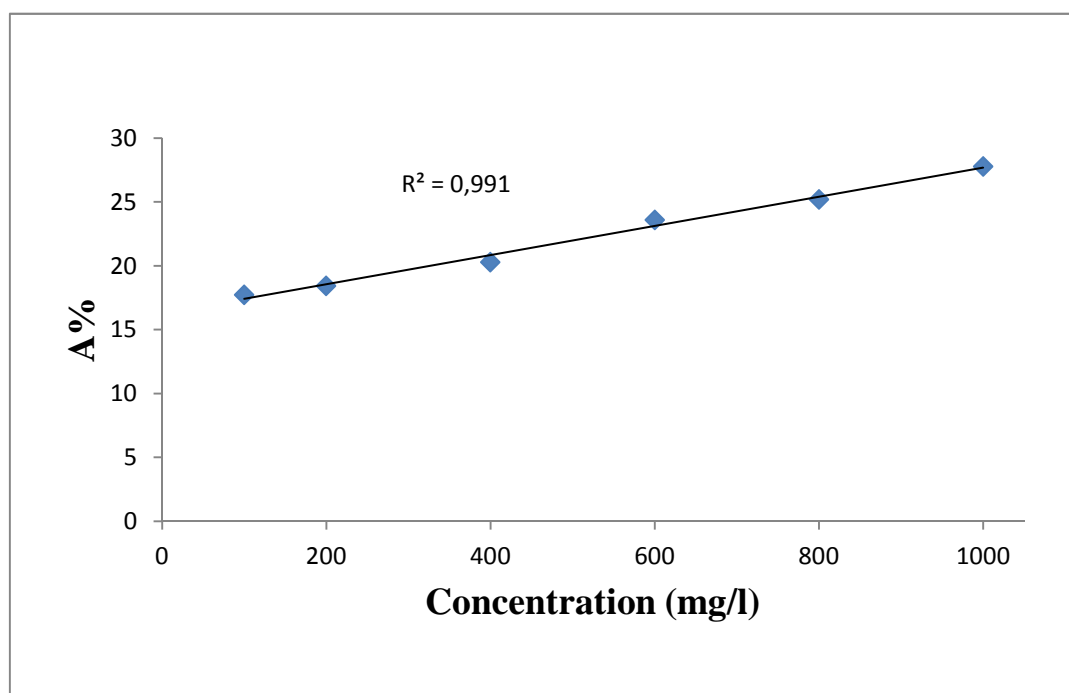
### VI.5. Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de l'inule visqueuse

L'évaluation du pouvoir antioxydant a été réalisée pour l'huile essentielle de lot B1 obtenue par hydrodistillation et celle du lot B2 obtenue par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation ainsi que pour l'antioxydant synthétique (BHA).

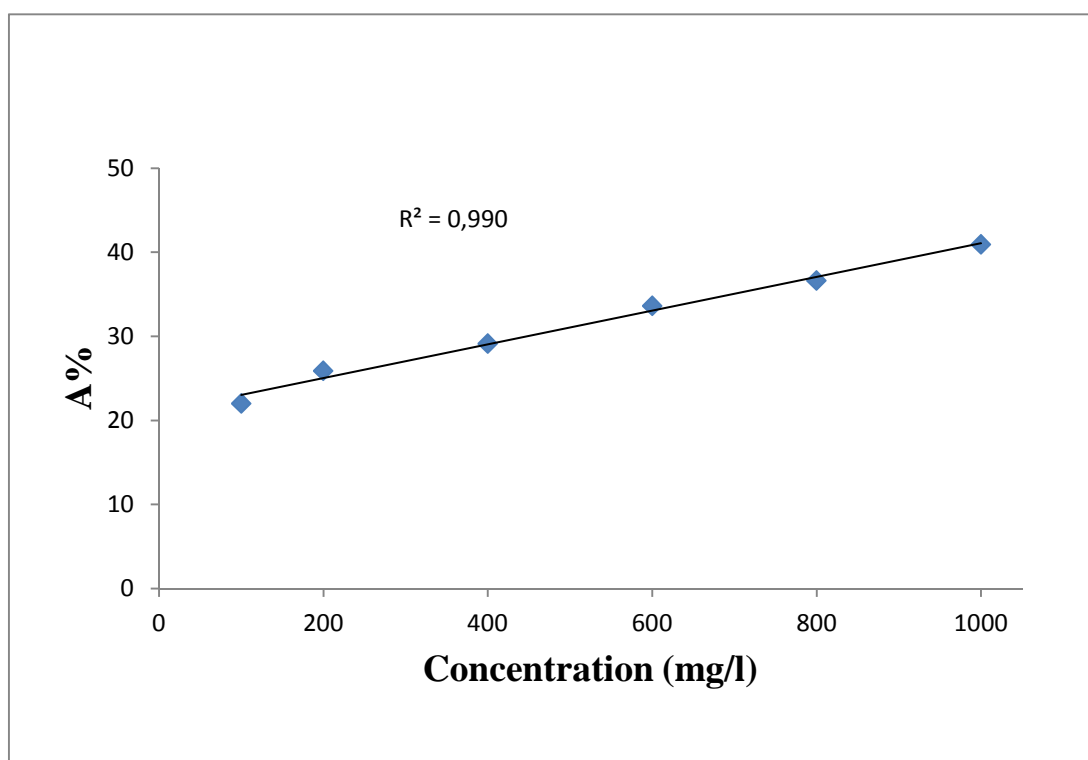
Les résultats obtenus sont regroupés dans les figures VI. (17 à 20). Les valeurs donnant cette variation sont regroupées dans les tableaux en Annexe (A.5).



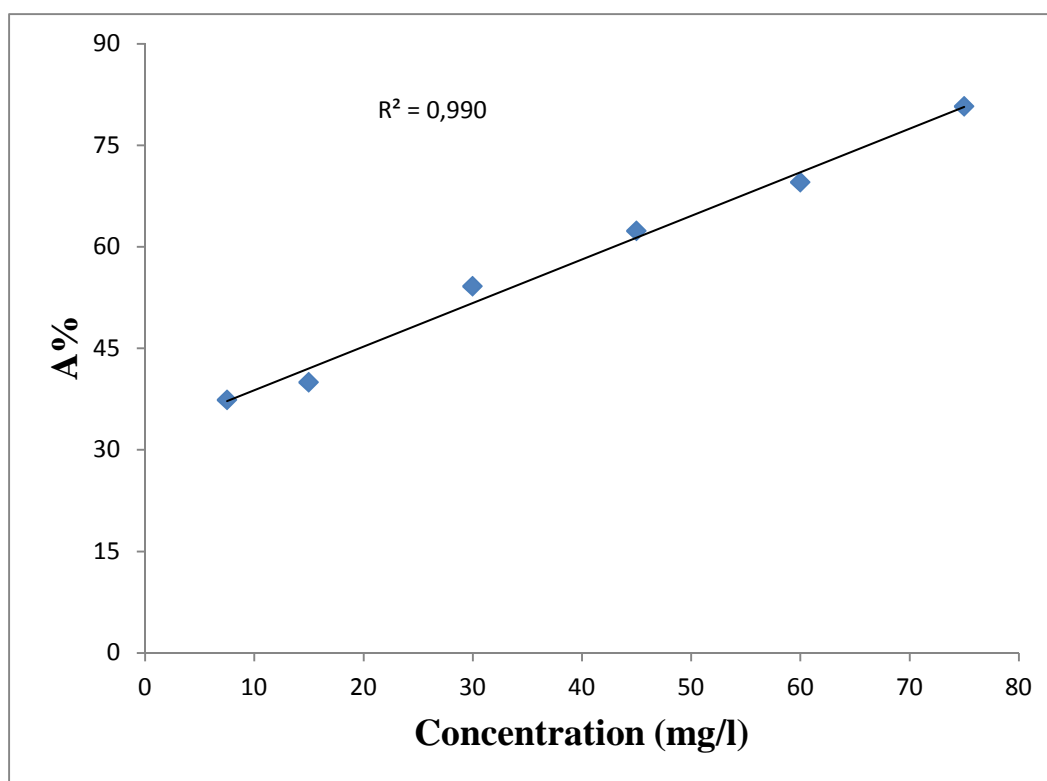
**Figure VI.17.** *Activité antioxydante de l'huile essentielle de lot B1 extraite par hydrodistillation.*



**Figure VI.18.** *Activité antioxydante de l'huile essentielle de lot B2 extraite par entraînement à la vapeur d'eau.*



**Figure VI.19.** *Activité antioxydante de l'huile essentielle de lot B2 extraite par hydrodistillation.*



**Figure VI.20.** *Activité antioxydante du témoin BHA.*

Toutes les huiles essentielles testées présentent une activité antioxydante pour toutes les concentrations étudiées. Cette activité augmente évidemment avec la concentration en huile essentielle de l'Inule visqueuse. Mais cette activité reste faible par rapport à celle obtenue par le BHA.

Nous constatons que le pouvoir antioxydant des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation est nettement plus important que celui obtenu par entraînement à la vapeur d'eau. En effet, pour la concentration de 1000mg/l, l'activité antioxydante sont de 27,78% et 40,96% respectivement pour les huiles essentielles extraites par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation.

Selon les figures VI. (17 et 19), le pouvoir antioxydant varie avec la période de la cueillette. L'activité la plus élevée est obtenue pour le lot B1 (fin Mai) suivi du lot B2 (mi Juillet).

---

*CONCLUSION ET PERSPECTIVES*

---

---

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'inule visqueuse (*Inula viscosa* L. Aiton) est une plante largement répandue et abondante dans notre pays et dans le reste du bassin méditerranéen. Une meilleure connaissance de cette plante du point de vue de sa composition chimique et de ces éventuelles propriétés contribuerait à sa valorisation dans les secteurs agro-industriels et pharmaceutiques.

Dans la première partie de notre travail, l'étude histologique au microscope photonique des feuilles de l'inule visqueuse, révèle la présence de poils sécréteurs, des cellules sécrétrices, des poils glandulaires unicellulaires et pluricellulaire.

Les courbes de séchage et les courbes des vitesses de séchage se caractérisent par l'absence de la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> phase (phase de mise en température et phase de la vitesse constante). Le lieu et la température de séchage sont des facteurs qui influencent sur la vitesse de séchage.

Dans la seconde partie on s'est intéressé à l'extraction des huiles essentielles de l'inule visqueuse et à leur caractérisation.

Le procédé d'extraction par entrainement à la vapeur d'eau a donné un rendement plus élevé par rapport à l'hydrodistillation pour les deux régions (Cherchell et Bab-Ezzouar).

Les rendements d'extraction trouvés pour la région de Cherchell sont plus importants par rapport à ceux de Bab-Ezzouar.

L'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de lot C0 a permis d'identifier environ 60,03 % de composés. Le E-Nerolidol est le composé majoritaire dans cette huile essentielle.

L'analyse des huiles essentielles de lot C2 par entrainement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation a permis d'identifier environ 73,21 % et 63,65% de la composition respectivement. Les composés majoritaires des huiles essentielles extraites par les deux procédés sont des sesquiterpènes oxygénés.

Dans la troisième partie, on a évalué le potentiel antimicrobien et antioxydant de l'huile essentielle de l'inule visqueuse.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de lot C0 a révélé que cette huile essentielle est dotée d'une forte activité inhibitrice sur les bactéries à gram<sup>+</sup>, de degrés moins sur les levures et très faible sur les bactéries à gram<sup>-</sup>.

L'estimation de l'activité antioxydante des huiles essentielles et le BHA par le test de l'inhibition du radical DPPH et l'évaluation de son pouvoir réducteur, révèle que ces huiles ont un pouvoir antioxydant faible par rapport à celui de BHA.

Dans la continuité de ce travail, il serait intéressant d'étudier d'autres activités biologiques comme l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles de cette plante.

Il serait très intéressant de quantifier les CMI (concentration minimale inhibitrice) de ces huiles et d'élargir la gamme des germes testés.

De même, le recours à d'autres méthodes d'extraction permettrait d'évaluer leurs influences sur la composition chimique et les capacités biologiques.

---

*ANNEXES*

---

---

## Annexe (A.1)

**Annexe (A.1).** Les périodes de séchage [126, 127].

Si l'on soumet une matière poreuse humide à des conditions de séchage identiques dans le temps, et quel que soit le mode de séchage, la teneur en liquide (eau) varie successivement de trois manières, on distingue donc trois périodes de séchage

- Première période : mise en régime de température.
- Deuxième période : le flux d'évaporation est constant au cours du temps, la teneur en eau diminue linéairement avec le temps.
- Troisième période : le flux d'évaporation diminue progressivement jusqu'au moment où l'air et la matière sont en équilibre ; le séchage s'arrête.

Le séchage peut être suivi graphiquement par :

- Le tracé de l'évolution de l'humidité du solide en fonction du temps (Figure A.1.1).
- Le tracé de l'évolution de la vitesse de séchage du solide en fonction du temps (Figure A.1.2).
- Le tracé de l'évolution de la vitesse de séchage en fonction de l'humidité du solide (Figure A.1.3).

**Période AB :** c'est la mise en régime, elle correspond à une période initiale de fonctionnement que connaît toute installation et n'est donc pas particulière au phénomène de séchage, c'est donc la période de mise en équilibre à la température du solide humide. À la fin de cette période, la quantité de chaleur absorbée par le produit est égale aux frigories émises par le liquide en évaporant.

**Période BC :** c'est la phase à vitesse de séchage constante. À ce niveau, le phénomène se ramène à un mouillage plus au moins complet de la surface. La masse de la matière, n'a alors aucune signification, étant donné que le liquide libre superficielle évaporé est remplacé continuellement par une quantité équivalente du liquide diffusant vers la surface, donc la pellicule d'eau à la surface se renouvelle très vite et ce phénomène est donc analogue à l'évaporation d'une surface liquide.

Par suite du mouvement du liquide, il se produit à l'intérieur de la substance des différences d'humidité d'où il résulte une diminution de la teneur en humidité superficielle. Celle-ci reste humide aussi longtemps que la force d'aspiration des capillaires suffit à amener rapidement de l'intérieur la quantité d'humidité qui s'évapore à la surface, dans les conditions qui règnent dans l'air ambiant. La température de la surface du produit est déterminée par la diffusion simultanée de la chaleur et de la matière. Durant cette période la pression de vapeur du liquide demeure constante en dépit de la diminution de la teneur en liquide de la matière.

**Point d'inflexion C :** lorsque la partie interne de la substance n'est plus susceptible de fournir à la surface la quantité d'humidité que l'air est à même de vaporiser, la vitesse de séchage ralentit et donc la vitesse de diffusion par abaissement progressif du taux d'humidité devient inférieur à la vitesse d'évaporation en surface. Le point C est dit point critique.

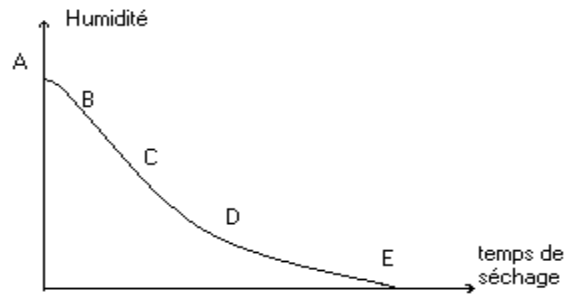
**Période CD :** c'est la première période de séchage à vitesse décroissante, elle correspond à l'apparition des points secs en surface qui augmentent avec le temps, le liquide qui s'évapore en surface est encore en forte proportion à l'état libre. Par suite de la diminution de la surface de transfert, la vitesse d'évaporation diminue de façon considérable et linéairement avec l'humidité du produit.

**Période DE :** à partir du point D, l'eau superficielle a totalement disparue de la surface, le processus de séchage n'est plus dominé par les conditions superficielles, mais par le mode de répartition du liquide dans le matériau, qui dépend de sa structure, de sa forme, des dimensions, etc. La migration du liquide capillaire a lieu sous influence d'une différence de concentration (diffusion en phase liquide) et d'une différence de pression (diffusion en phase vapeur).

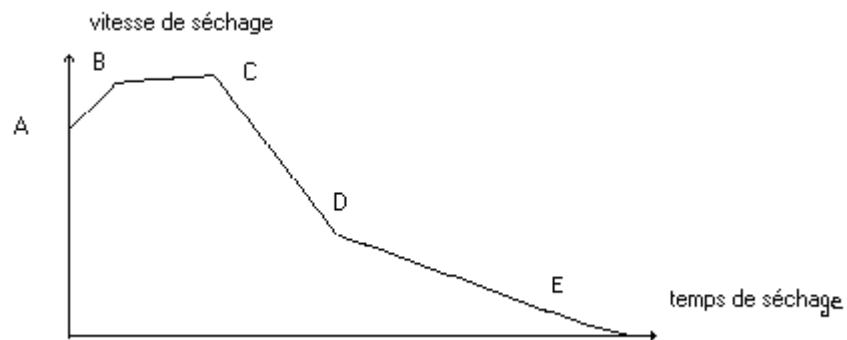
La vitesse de séchage dépend uniquement de la vitesse de diffusion du liquide vers la surface du solide. Il y a disparition totale du liquide à l'état libre. Le segment DE correspond à la seconde période de séchage à vitesse décroissante.

**Le point E :** correspond à une vitesse de séchage voisine de 0, l'humidité du produit est en équilibre du point de vue tension de vapeur avec le fluide de séchage : il s'agit pratiquement de l'humidité résiduelle à l'équilibre.

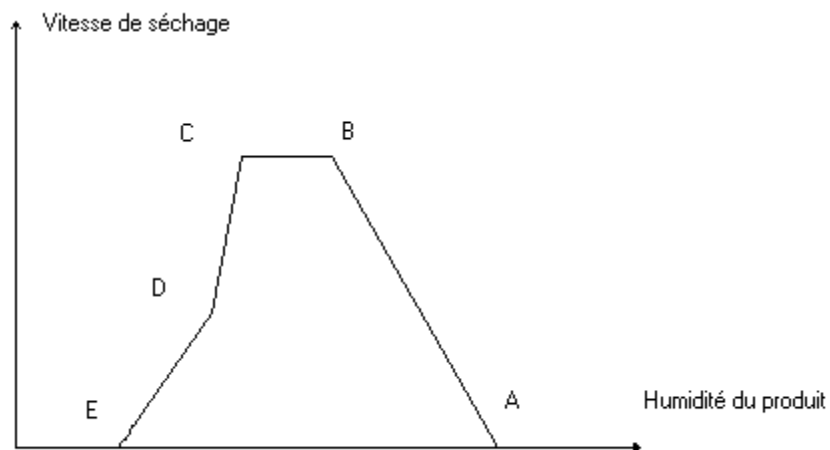
**Le segment DE :** sur les deux premières courbes de la figure correspond au temps nécessaire et suffisant pour un séchage optimal dans les conditions opératoires choisies.



**Figure A.1.1.** Variation de l'humidité résiduelle du produit en fonction du temps.



**Figure A.1.3.** Variation de la vitesse de séchage en fonction de l'humidité du produit.

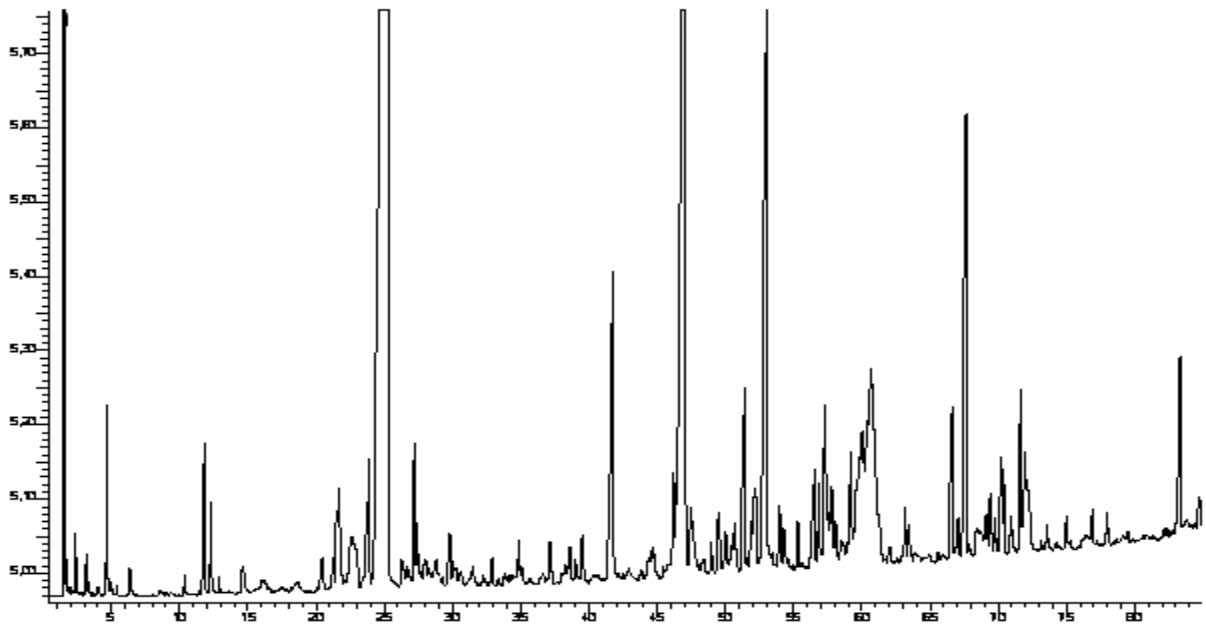


**Figure A.1.2.** Variation de la vitesse de séchage du produit en fonction du temps.

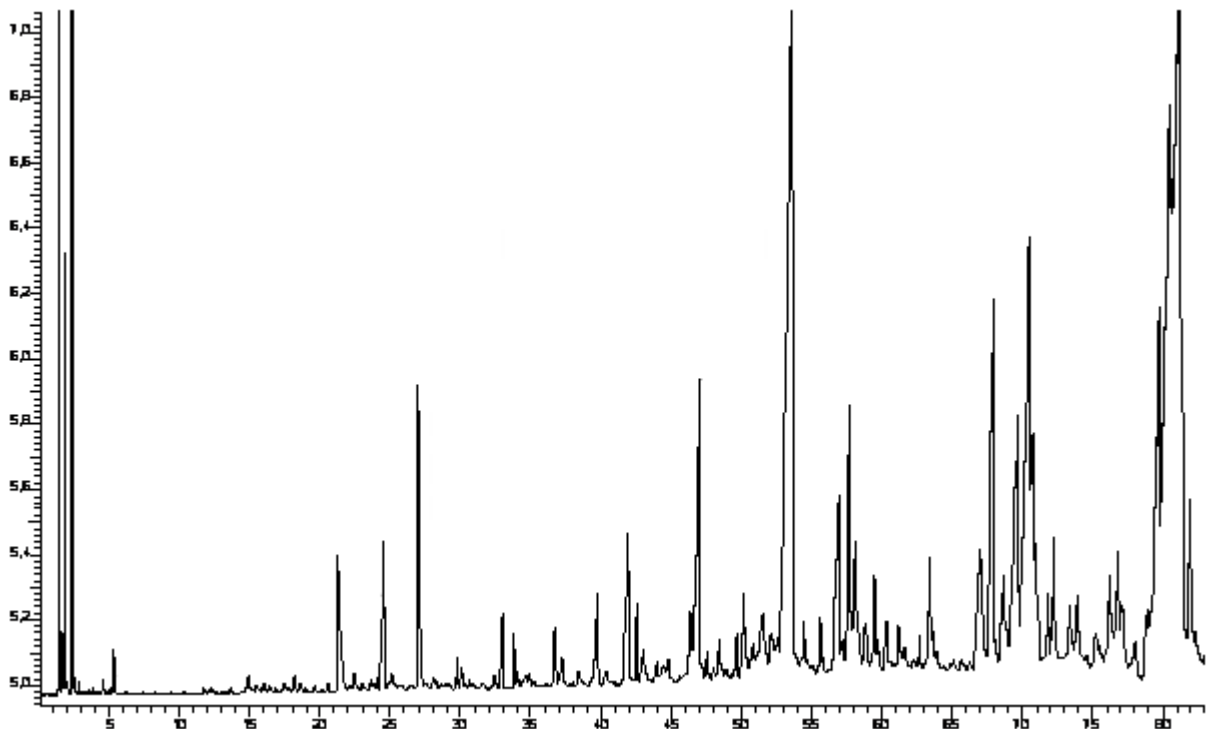
Annexe (A.2)

Annexe (A.2). Chromatographe de l'inule visqueuse à l'état frais et sec (à l'air libre) (Moghrani et al, 2009).

- À l'état frais.



- À l'état sec (à l'air libre).



## Annexe (A.3)

**Annexe (A.3).** Évolution de la teneur en eau et de la vitesse de séchage des feuilles de l'inule visqueuse en fonction du temps.

- Feuilles récoltées au mois d'avril séchées sans circulation d'air.

Temps (jours)	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	W <sub>1</sub>	W <sub>2</sub>	W <sub>3</sub>	W	W ± ΔW	- dw/dt
1	5,8314	6,0136	5,5584	6,2171	4,0971	3,5703	4,6282	1,4010	1,4395
2	4,198	4,6935	4,1255	4,1955	2,9782	2,3921	3,1886	0,9199	1,1843
3	3,2201	3,6583	3,2748	2,9853	2,1008	1,6926	2,2596	0,6608	0,8772
4	2,5923	2,66	2,2379	2,2083	1,2546	0,8401	1,4343	0,7016	0,6969
5	1,9606	2,055	1,738	1,4265	0,7418	0,4290	0,8658	0,5101	0,4856
6	1,4808	1,6342	1,4248	0,8327	0,3852	0,1715	0,4631	0,3374	0,2291
8	1,4035	1,4589	1,3162	0,7370	0,2366	0,0822	0,3519	0,3423	0,0935
9	1,0381	1,4411	1,4053	0,2848	0,2215	0,1555	0,2206	0,0647	0,0605
10	1,0474	1,4539	1,416	0,2963	0,2323	0,1643	0,2310	0,0660	- 0,0028
11	0,9677	1,5046	1,4661	0,1976	0,2753	0,2055	0,2261	0,0428	0,0049
12	0,9773	1,4643	1,4754	0,2095	0,2411	0,2131	0,2213	0,0173	0,0075
14	0,968	1,4536	1,4638	0,1980	0,2321	0,2036	0,2112	0,0183	0,0050
15	0,9626	1,4573	1,4685	0,1913	0,2352	0,2074	0,2113	0,0222	- 0,0001

- Feuilles récoltées au mois d'avril séchées avec circulation d'air.

Temps (jours)	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	W <sub>1</sub>	W <sub>2</sub>	W <sub>3</sub>	W	W ± ΔW	- dw/dt
1	5	5,371	5,9244	4,7944	4,0215	3,8817	4,2325	0,4916	1,6560
2	3,5928	3,6924	3,7788	3,1636	2,4521	2,1137	2,5765	0,5359	1,4239
3	2,3881	2,4845	2,5048	1,7675	1,3228	1,0639	1,3848	0,3559	0,9167
4	1,7408	1,6998	1,969	1,0174	0,5892	0,6224	0,7430	0,2382	0,4796
5	1,4045	1,3837	1,645	0,6277	0,2937	0,3555	0,4256	0,1777	0,2391
6	1,2455	1,2568	1,4275	0,4434	0,1750	0,1763	0,2649	0,1546	0,0842
8	1,2324	1,2474	1,4003	0,4282	0,1662	0,1538	0,2494	0,1550	0,0089
9	1,2226	1,2374	1,3891	0,4169	0,1569	0,1446	0,2394	0,1538	- 0,0014
10	1,2353	1,2498	1,4038	0,4316	0,1685	0,1567	0,2523	0,1554	- 0,0234
11	1,2693	1,2834	1,4417	0,4710	0,1999	0,1880	0,2863	0,1601	- 0,0226
12	1,2807	1,2945	1,4541	0,4842	0,2103	0,1982	0,2975	0,1617	0,0108
14	1,248	1,2623	1,417	0,4463	0,1802	0,1676	0,2647	0,1574	0,0121
15	1,2642	1,2798	1,4374	0,4651	0,1965	0,1844	0,2820	0,1587	- 0,0087

- Feuilles récoltées au mois de juin séchées sans circulation d'air.

Temps (jours)	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	W <sub>1</sub>	W <sub>2</sub>	W <sub>3</sub>	W	W ± ΔW	- dw/dt
0	6,005	6,074	6,004	3,1736	3,3491	3,2566	3,2598	0,0878	1,3028
1	4,008	4,318	4,2223	1,7857	2,0918	1,9935	1,9570	0,1563	1,2223
2	2,412	2,6444	2,6458	0,6764	0,8935	0,8758	0,8152	0,1205	0,8499
3	1,7515	1,7315	1,8537	0,2173	0,2398	0,3142	0,2571	0,0507	0,3410
4	1,6327	1,5758	1,6032	0,1348	0,1283	0,1366	0,1332	0,0044	0,0525
5	1,6584	1,602	1,6311	0,1526	0,1471	0,1564	0,1520	0,0047	- 0,0029
7	1,6236	1,566	1,592	0,1284	0,1213	0,1287	0,1261	0,0042	- 0,0012
8	1,6448	1,5872	1,615	0,1432	0,1365	0,1450	0,1415	0,0045	- 0,0213
9	1,681	1,6264	1,6552	0,1683	0,1645	0,1735	0,1688	0,0045	- 0,0252
10	1,7137	1,6581	1,6888	0,1911	0,1872	0,1973	0,1919	0,0051	- 0,0079
11	1,7035	1,6538	1,6727	0,1840	0,1842	0,1859	0,1847	0,0011	- 0,0016
12	1,7176	1,668	1,6884	0,1938	0,1943	0,1970	0,1950	0,0017	0,0054
14	1,6606	1,6082	1,626	0,1542	0,1515	0,1528	0,1528	0,0013	0,0201
15	1,6344	1,5808	1,5986	0,1359	0,1319	0,1334	0,1337	0,0021	0,0072
16	1,6395	1,5885	1,6055	0,1395	0,1374	0,1382	0,1384	0,0010	0,0052
17	1,6178	1,5684	1,5835	0,1244	0,1230	0,1227	0,1234	0,0009	0,0046
18	1,6253	1,5762	1,5928	0,1296	0,1286	0,1292	0,1292	0,0005	- 0,0047
19	1,6309	1,5809	1,598	0,1335	0,1320	0,1329	0,1328	0,0008	- 0,0182
20	1,6755	1,6271	1,6458	0,1645	0,1650	0,1668	0,1655	0,0012	- 0,0183
21	1,6815	1,6316	1,6518	0,1687	0,1683	0,1711	0,1693	0,0015	- 0,0131
22	1,711	1,6631	1,6855	0,1892	0,1908	0,1950	0,1917	0,0030	- 0,0223

- Feuilles récoltées au mois d'octobre séchées sans circulation d'air.

<b>Temps (jours)</b>	<b>M<sub>1</sub></b>	<b>M<sub>2</sub></b>	<b>M<sub>3</sub></b>	<b>W<sub>1</sub></b>	<b>W<sub>2</sub></b>	<b>W<sub>3</sub></b>	<b>W</b>	<b>W ± ΔW</b>	<b>- dw/dt</b>
0	3,7721	3,6996	3,951	3,1388	2,8176	3,0247	2,9937	0,1628	1,2741
1	2,5902	2,5626	2,7178	1,8420	1,6443	1,7685	1,7516	0,0999	1,0622
2	1,5612	1,6876	1,7787	0,7130	0,7414	0,8119	0,7554	0,0509	0,5175
3	1,2007	1,3701	1,4146	0,3174	0,4138	0,4410	0,3907	0,0649	0,1247
4	1,0974	1,1973	1,2201	0,2041	0,2355	0,2428	0,2275	0,0206	0,0332
5	1,091	1,1577	1,1773	0,1971	0,1946	0,1992	0,1970	0,0023	- 0,0026
8	1,0906	1,1564	1,175	0,1966	0,1933	0,1969	0,1956	0,0020	- 0,0122
10	1,0958	1,1624	1,181	0,2023	0,1995	0,2030	0,2016	0,0019	- 0,0132
11	1,1021	1,1661	1,1883	0,2092	0,2033	0,2105	0,2077	0,0038	- 0,0007
12	1,1092	1,1752	1,1942	0,2170	0,2127	0,2165	0,2154	0,0024	0,0001
14	1,1215	1,1874	1,2064	0,2305	0,2253	0,2289	0,2282	0,0027	0,0051
15	1,1134	1,1788	1,1984	0,2216	0,2164	0,2207	0,2196	0,0028	0,0351
16	1,095	1,1602	1,1792	0,2014	0,1972	0,2012	0,1999	0,0024	0,0225
17	1,0937	1,1581	1,178	0,2000	0,1950	0,2000	0,1983	0,0029	0,0003
18	1,0779	1,1437	1,1625	0,1827	0,1802	0,1842	0,1823	0,0020	0,0086

## Annexe (A.4)

## Annexe (A.4). La signification de Gram.

Coloration de gram : c'est une coloration qui doit son nom au bactériologiste Danois Hans Christian Gram qui met au point le protocole en 1884. C'est la coloration la plus fréquemment utilisée pour distinguer les deux groupes de bactéries en fonction de la structure de leur paroi cellulaire. L'enveloppe de cellules Gram<sup>+</sup> est constituée d'une membrane plasmique entourée d'une couche épaisse de peptidoglycane (Figure A.4.1). La bactérie Gram<sup>-</sup> a seulement une couche fine de peptidoglycane mais est entourée par une seconde membrane externe (Figure A.4.2). Les bactéries Gram<sup>+</sup> conservent un complexe cristallin violet et iodé après lavage à l'alcool et apparaissent par conséquent pourpres au microscope optique. Les bactéries Gram<sup>-</sup> se colorent en rose puisqu'elles ne conservent pas ce complexe et prennent la couleur pale de la fuchsine ([128].

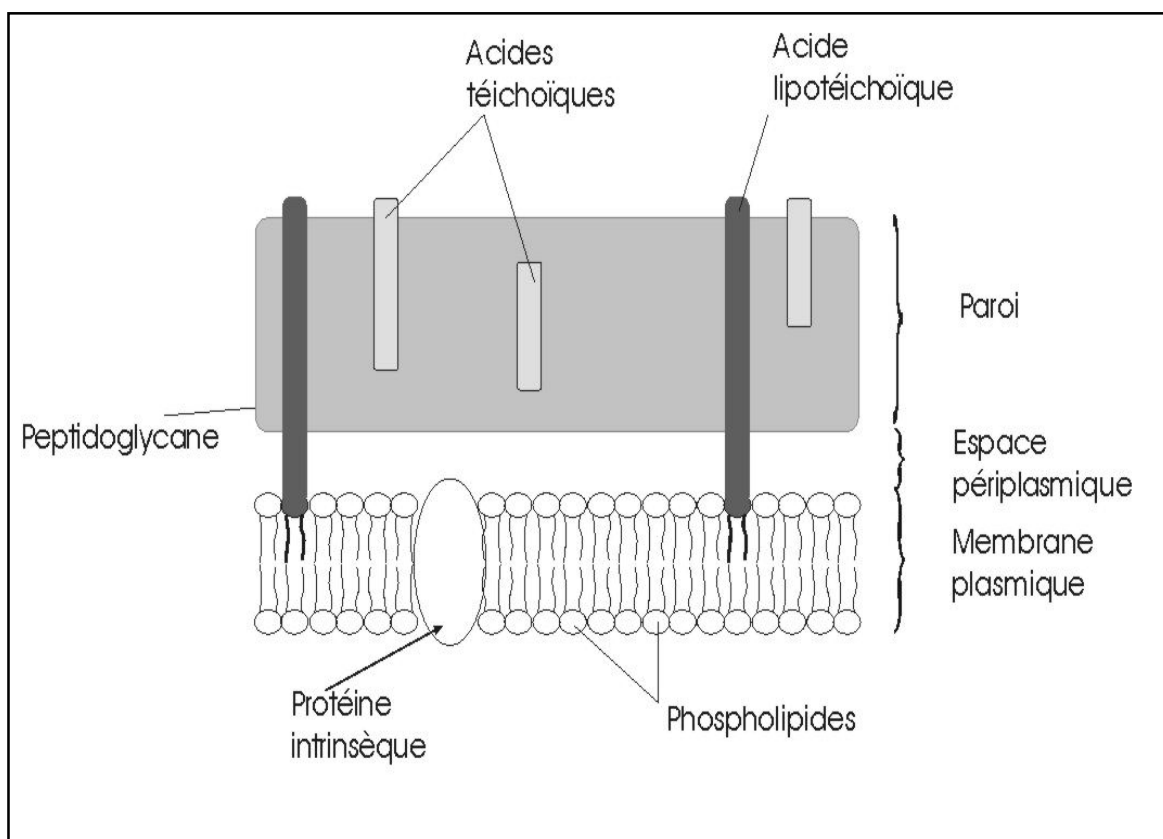


Figure A.4.1. Schémas de la Paroi d'une bactérie G<sup>+</sup>.

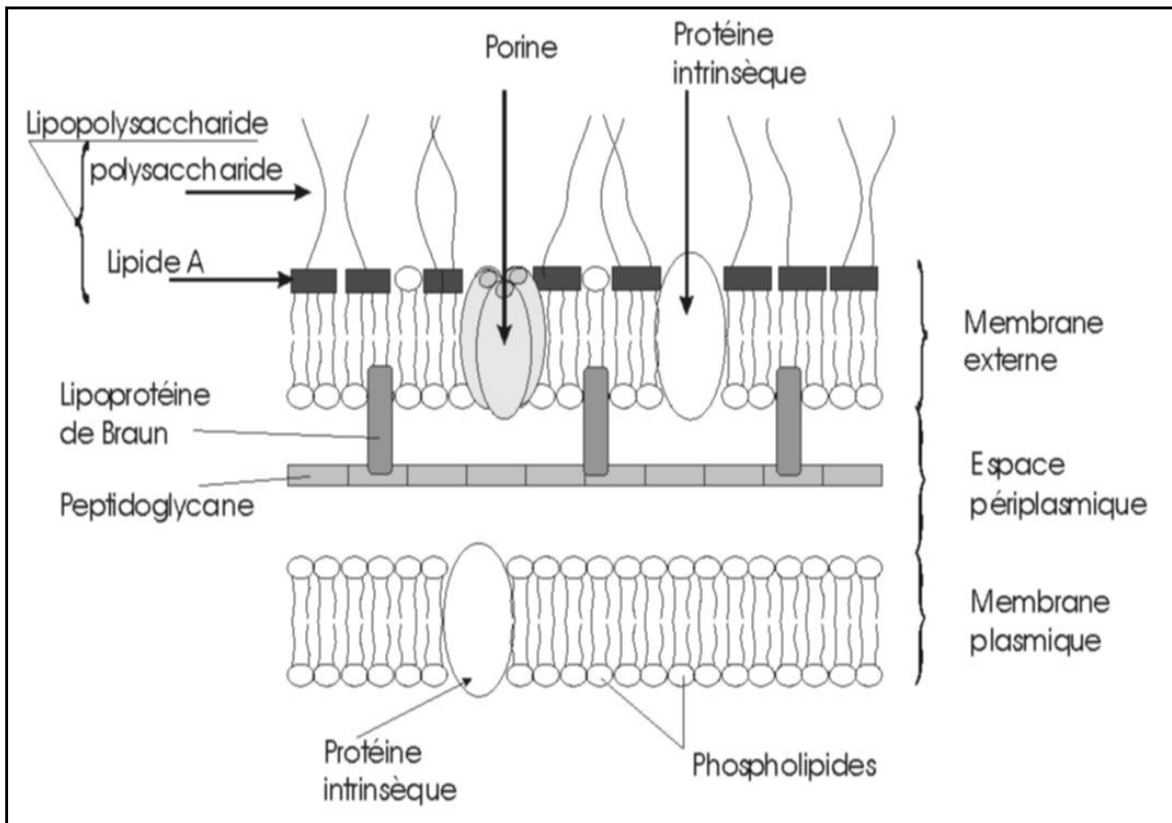


Figure A.4.2. Schémas de la Paroi d'une bactérie G<sup>-</sup>.

**Annexe (A.5)**

**Annexe (A.5).** Propriétés des souches utilisées.

- Bactéries Gram<sup>+</sup>

		Souches	propriétés
<b>Bactérie</b>	<b>Gram +</b>	Staphylococcus aureus ATCC 6538.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bactéries de forme arrondie, groupées en grappe de raisin, facultativement anaérobies.</li> <li>- Elles se développent généralement sur les muqueuses nasales et la peau, dans les appareils gastro-intestinal et urinaire des animaux à sang chaud</li> <li>- Elle produit une coagulase, une enzyme responsable de la coagulation.</li> <li>- Elle est le pathogène le plus important chez l'homme, il cause des abcès, des infections des blessures, des pneumonies, des empoisonnements alimentaires et d'autres maladies (Klein, 1995).</li> </ul>
		Bacillus subtilis ATCC 9372	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ces bactéries ne sont pas considérées comme pathogènes pour l'homme, mais peuvent contaminer des aliments et exceptionnellement provoquer une intoxication alimentaire</li> <li>- Ils sont présents dans le sol et résistent aux conditions extrêmes en formant des spores</li> </ul>

- Bactéries Gram<sup>-</sup>

		Souches	propriétés
<b>Bactérie</b>	<b>Gram -</b>	Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	<ul style="list-style-type: none"> <li>- bactéries pathogènes pour les animaux et les végétaux</li> <li>- Bacille incurvé mobile grâce à un flagelle polaire, strictement aérobies.</li> <li>- Elles se reproduisent dans le sol, les eaux douces et salées.</li> </ul> <p>Elles infectent les personnes les moins résistantes, envahissent les tissus brûlés et causent des infections des voies urinaires (Klein, 1995).</p>
		Escherichia coli (E. coli ou colibacille)	<p>C'est une bactérie qui est parfois mobile, anaérobie. Elle se cultive facilement sur les milieux usuels en biologie.</p> <p>Sa présence dans l'organisme humain peut être marquée par des infections des voies urinaires ou génitales.</p>

- levures

	<b>Souche</b>	<b>Propriétés</b>
<b>Levures</b>	Candida albicans ATCC 24433	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Levures ovales bourgeonnantes qui produisent des pseudos mycéliums en culture.</li> <li>- Présente sur la peau, dans la bouche et l'intestin</li> <li>- Mais peuvent devenir pathogène suite à un changement d'environnement et attaquent le tube digestif et la vessie,</li> <li>- La dissémination hématogène peut entraîner des lésions des reins, de la rate, des poumons, ainsi que du foie.</li> </ul>
	Saccharomyce cerevisiae ATCC 2601	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>, ou levure du boulanger, se présente sous la forme d'une petite cellule sphérique,</li> <li>- c'est une levure particulière parmi tous les ferments, levains, levures, utilisés depuis l'aube de l'humanité dans l'élaboration du pain, des yaourts.</li> </ul>

**Annexe (A.6)**

**Annexe (A.4).** Activité antioxydante des huiles essentielles.

- Huile essentielle extraite de lot B1 (Échantillon n° 1).

<b>Concentration g/l</b>	2	4	8	12	16	20
<b>A% ± Δ A%</b>	26,07 ± 0,680	27,77 ± 0,724	29,85 ± 0,585	33,54 ± 0,583	34,57 ± 1,146	39,54 ± 1,040

*Echantillon n° 1 : extraction par Hyd de lot B1, sΔ A% : écart-type.*

- Huile essentielle extraite de lot B2.

<b>Concentration (g/l)</b>	<b>A% ± Δ A%</b>	
	<b>Échantillon n° 2</b>	<b>Échantillon n° 3</b>
4	17,72 ± 0,992	22,02 ± 2,523
8	18,43 ± 1,649	25,9 ± 0,287
16	20,29 ± 1,079	29,12 ± 0,146
24	23,59 ± 0,767	33,64 ± 0,588
32	25,20 ± 0,559	36,62 ± 0,953
40	27,78 ± 0,365	40,96 ± 1,098

*Echantillon n°1 : extraction par EVE de lot B2,*

*Echantillon n°2 : extraction par Hyd de lot B2.*

*Δ A% : écart-type.*

- Concentrations des échantillons testées pour l'activité antioxydante après l'ajout de DPPH.

<b>Les échantillons</b>	<b>Échantillon n° 1</b>	<b>Échantillon n° 2</b>	<b>Échantillon n° 3</b>	<b>Échantillon n° 4</b>
<b>Concentrations (mg /l)</b>	50	100	100	7,5
	100	200	200	15
	200	400	400	30
	300	600	600	45
	400	800	800	60
	500	1000	1000	75

---

*Références bibliographiques*

---

---

## Références bibliographiques

- [1] Paradiso, M.V., Summo, C., Pasqualone, A., Caponio F. 2009. Evaluation of different natural antioxydants as affecting volatile lipid oxidation products related to off-flavours in corn flakes. Food chemistry, 113 : 543-549.
- [2] Dafera D.J., Zioga B.N., Polissiou M.G. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the botrytis cinerea, fusarium sp. And clavibacter michiganensis subsp. Michiganensis. Crop protection. 22 : 39-44.
- [3] Benayache S., Benayache F., Dendouchi H., Jay M. 1991. Les Favomoïdes de Inula viscosa L. Plantes médicinales et phytothérapie, Tome 25 .170-176.
- [4] Nostro A., Germano M.P., D'Angelo V., Marino A., Cannatelli M.A. 2000. Extraction methods and bioauthography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Letters en microbiologie appliqué. 30: 379.
- [5] Schnaubelt K. 1998. Advanced aromatherapy. Vermont : Healing Arts Press.
- [6] Fouché J.G., Marquet A., Hambuckers A. 2000. Les plantes médicinales, de la plante au médicament. Observation du monde des plantes Sart-Tilman.
- [7] Dweck A.C. 2002. Herbal Medicine for the Skin. Their Chemistry and effects on Skin and Mucous Membranes. Personal Care Magazine.3:19-21.
- [8] Baba Aissa F.1991. Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchène et Ad Diwan, Alger.
- [9] Beloued A. 2001. Plantes médicinales d'Algérie. OPU, Alger.
- [10] Wichtl R. antoton. 2003. plantes thérapeutique. Tec et Doc et EMI, France.
- [11] Baba Aissa F. 1999. Encyclopédie des plantes utiles ; flore d'Algérie et du Maghreb substance végétales d'Afrique d'orient et d'accident. Librairie moderne, Alger.
- [12] Volak J., Stodola, J. 1983. Les plantes médicinales. Paris.
- [13] Paris R.R., Moyses H. 1976. Précie de matière médicale, Tome I, Masson, Paris, 2-59.
- [14] Guignard J.L., 1979 : Abrégé de biochimie végétale, 2<sup>ème</sup> édition, Masson, Paris.
- [15] Guignard J.L. 2001. Botanique, systématique moléculaire. Masson, Paris. 100-272.
- [16] Perroti C., Caraffa N., Aïli S. 1999. Se soigner par les plantes. Berti, Alger.
- [17] Ferguson C. A., Nahar L., Finnie D., Kumarasamy Y., Reid R., Mirbabayev N.F., S. D. Sarker S.D. 2003. Centaurea scabiosa : a source of dibenzylbutyrolactone lignans. Biochem. System & Ecol, 31:389-396.
- [18] Middleton M., Cox P.J., Jaspers M., Kumarazamy Y., Nahar Reid L., Sarker S.D. 2003. Dibenzylbutyrolactone lignans and indole alkaloids from the seeds of Centaurea nigra (Asteraceae). Biochem. System & Ecol, 31:653-656.

## *Références bibliographiques*

---

- [19] Mishio T., Honma T., Iwashina T. Yellow flavonoids in centaurearuthrnica as flower pigments.2003. Biochem. System & Ecol, 34:180-184.
- [20] Sharaf M., El-Ansari M.A., Saleh N.A.M., 2000. Quercetin triglycoside from Capparis spinosa. Fitoterapia, 71: 46-49.
- [21] Henry T.A. 1949. The plant alkaloids. 4th Ed. J. & A. Churchill, London.
- [22] Todd, F.G., Stermits F.R., Schultheis, P., Knight A.P., Traub-Dargatz J. 1995. Tropan alkaloids and toxicity of convolvulus arvensis. Phytochemistry, 39:301-303.
- [23] Medroubi K., Benayache F., Bermelo J. 2005. Sesquiterpenes lactones from centaurea musimomun. Antiplasmodial and cytotoxic activities. Fitoterapia, 76:744-746.
- [24] Keita A. 1993.Terpènes de l'huile essentielle des inflorescences de 'Ce kala' Cymbopogon anteus Chivon. Méd. de l'Afr. Noire. 40:229-233.
- [25] Lockwood G.B. 2001. Techniques for gaz chromatography of volatile terpenoids from a range of matrices of chromatography, 936:23-31.
- [26] Chevallier L., Crouzet- Segarra C. 2004. Médicament à base de plantes. 2<sup>ème</sup> édition. Masson. Paris. 3-147.
- [27] AFNOR. 1988. Recueil de normes sur les huiles essentielles.
- [28] Paris M., Hurabielle M. 1980. Abrégé de matière médicale (pharmacognosie). Masson, Paris. Bruneton J. 1993. Pharmacognosie – Phytochimie : Plantes médicinales. Tec et Doc Lavoisier. 425.
- [29] Bruneton J. 1993. Pharmacognosie – Phytochimie : Plantes médicinales. Tec et Doc Lavoisier, Paris. 425.
- [30] Bakali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology, 46: 446–475.
- [31] Desmares C., Laurent A., Delerme C. 2008. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles .France.
- [32] Sallé J.L. 1991. Totum des plantes. Frison-Roche, Paris.
- [33] Duquenois P. 1968. L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie, leur normalisation et l'Europe du médicament. Parf. Cosm. Sav, 414-418.
- [34] Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie –Phytochimie : Plantes médicinales. Tec et Doc Lavoisier.
- [35] Pibiri M.C. 2005. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Pour obtenir le Grade de Docteur en science, Lausanne, France.
- [36] Collas P. 2006. Les huiles essentielles. Licence 2 BIologie, U.C.O Bretagne Nord, France.
- [37] Blackeway J., Salerno M. 1987. Pour la science. Institut des renseignements scientifique, Paris.
- [38] Carré P. 1953. Précis de technologie et chimie industrielle. Tomme III. J Bailler et fils.
- [39] Guenther E. 1965. The essential oil. D Van Norstand Campany INC, NY.

- [40] Krim S. 1999. Extraction de la concrète de romarin par circulation continue de solvant. Thèse de magister. ENP, Alger.
- [41] Guenther E. 1972. The essential oil. R.E. Krieger, Florida.
- [42] Bocchio E. 1985. Natural essentials oils, Parfums Cosmét. Arômes.
- [43] Vidal J. 1973. Thermodynamique méthodes appliquées au raffinage et au génie chimique. Société des éditions Technip & IFP, Paris.
- [44] Pavida D. L., Lampman G.M., Kriz G. S. 1976. Introduction to organic laboratory techniques. W.B. Saunders Co. Philadelphia, USA.
- [45] Martinez S., Marco A. 1981. Application de la coalescence sur lit fibreux à la séparation des huiles essentielles en parfumerie, Thèse de l'Institut National des Sciences Appliquées, Toulouse.
- [46] Lagunez Rivera L. 2006. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat INP Toulouse.
- [47] Morin P., Gunther C., Peyron L., Richard H. 1985. Study of the physical and chemical phenomena involved in steam distillation. *bullSoc Chim Fr* .5:921-930.
- [48] Peyron L. 1982. Technique classique actuelle de fabrication des matières naturelles aromatiques, techniques et Documentations, Paris. 220-231.
- [49] Renneau F., Bravo R., Delmas M., Gager A. 1988. Extraction des huiles essentielles. *Information Chimie N°298* .
- [50] Moura L.S., Carvalho R.N., Stefanini M.B., Ming L.C., Meireles M.A.A. 2005. Supercritical fluid extraction from fennel (*Foeniculum vulgare*) :global yield, composition and kinetic data. *The Journal of Supercritical Fluids*. Article in press.
- [51] Caillet L., Oussalah M. 2007. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. 5 : 414-420.
- [52] Meena M.R, Sethi V. 1994. Antimicrobial activity of the essential oils from spices. *Food Sci and Mysore*, 31: 68-70.
- [53] Ela M.A, El Shaer N.S., Ghanem N.B. 1996. Antimicrobial evaluation and chromatography analysis of some essential and fixed oils. *nPharmazie*. 51: 993-994.
- [54] Dorman H.J., Deans S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88:308-316.
- [55] Ouraini D., Agani A., Alaoui M.I., Alaoui K., cherrah Y., Alaoui M.A., Belabbas M.A. 2007. Activité antifongique de l'acide oléique et des H.E de *Thymus saturejoides*.L, et de *Mentha pulgium*.L, comparé aux fongiques dans les dermatoses mycosiques. *Phytothérapie*, 1 :6-14.
- [56] Stylo Q., Winward G.P., Avery L.M., Stephenson T, Jefferson B. 2005. Essential oils for the disinfection of grey water. *Tech. Rep. Ser*, 905:1-109.
- [57] Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H. A., Dafera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M., Salim F., 2004. The in vitro antimicrobial and antioxydant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus Spathulifolius*. *Food Control* ,15:627-634.

- [58] Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K., Abu-Shanab F., 2006. Antibacterial effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*. *Turk J Biol*, 30 : 239-242.
- [59] Lahlou M., 2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils. *phytotherapy research*, 18:435-448.
- [60] Marzouk Z., Neffati A., Marzouk B., Chaief I., Khemiss F., Chekir Ghedira L., Boukef K. 2006. Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. oil from Kasrine. *Journal of Food Agriculture & Environment*, 4 : 61-65.
- [61] Loziene K., Venskutonis P.R., Sipailiene A., Labokas J. 2007: Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus palegiodes* L., chemotypes, *Food Chemistry*, 103 : 546-559.
- [62] Lechat P. 1975. *Abrégé de pharmacologie médicale*. 2<sup>ème</sup> édition. 72-73
- [63] Boyd B., Ford C., Koepke., M.C., Gary K., Horm E., McAnalley B. 2003. Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glyco Science & Nutrition*. 4 : 7.
- [64] Favier A. 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.
- [65] Jean, M. 2003. L'oxydation des aliments et la santé ; prévention des dangers de l'agression oxydative alimentaire ; par le bon usage des fruits et des légumes. Collection «Ecologie Humaine».
- [66] Amzal H. 2010. Étude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier. Thèse de doctorat. Rabat.
- [67] Gaussen H., Leroy H.F. 1982. *Précis de Botanique (végétaux supérieurs)*, 2<sup>ème</sup> édition. 426.
- [68] Quezel F., Santa S. 1963. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. CNRS, Paris.
- [69] Harborne J.B., Swain T. 1969. *Perspectives In Phytochemistry*. Academic Press, London,
- [70] Baba Aissa F. 2000. *Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et de Maghreb*. Librairie moderne Rouïba. 252-253.
- [71] Wang W., Ben-Daniel B.H., Cohen Y. 2004. Control of plant diseases by extracts of *Inula viscosa*. *The American Physiological Society*. 94:1042-1047.
- [72] Maoz M., Neeman I. 2000. Effect of *Inula viscosa* extract on chitin synthesis in dermatophytes and *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*, 28: 479-482.
- [73] Stavrianakou S., Liakopoulos G., Karabourniotis, G. 2006. Boron deficiency effects on growth, photosynthesis and relative concentrations of phenolics of *Dittrichia viscosa* (Asteraceae). *Environmental and Experimental Botany*, 56:293-300.
- [74] Hernandez V., Recio M.D.C., Manes S., Prieto J.M., Giner R.M., Rios J.L. 2001. A mechanistic approach to the in vivo anti-inflammatory activity of sesquiterpenoid compounds isolated from *Inula viscosa*. *Planta Medica*, 67:726-731.
- [75] Bonnier G. 1934. *Flore complète*. Tome 2. France, Suisse, Belgique. 354.

## Références bibliographiques

---

- [76] Chiappini I., Fardella G., Menghini A., Rossi C. 1982. Flavonoids from *dittrichia viscosa*. *Planta medica*, 44 :159-161.
- [77] Grande, M., Piera, F., Cuenca, A., Torres, P., Bellido, I.S. 1985. Flavonoids from *inula viscosa*(L.). *Planta med*, 39 : 414-419.
- [78] Sanz J.F., Ferrando C., Marco J.A. 1991. Oxygenated nerolidol esters and eudesmane acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry*, 30:3653-3655.
- [79] Wollenweber E., Mayer K., Roitman J.N. 1991. Exudate flavonoids of *Inula viscosa*. *Phytochemistry*, 30:2445-2446.
- [80] Abu zarga M.H., Hamed E.M., Sabri S.S., Voelter W., Zeller K.P. 1998. New sesquiterpenoids from the Jordanian medicinal plant *Inula viscosa*. *J.Nat.Prod*, 61 : 798-800.
- [81] Abu Zarga M.H., Sabri S.S., Hamid E.M., Khafar M.A., Zeller K.P., Attaur R. 2003. A new eudismane type sesquiterpene from *Inula viscosa*. *Natural Products Research*, 17:99-102.
- [82] Blanc M.C., Bradesi P., Gonçalves M.J., Salgueiro L., Casanova J. 2006. Essential oil of *Dittrichia viscosa* ssp. *viscosa*: analysis by <sup>13</sup>C-NMR and antimicrobial activity. *Flavour Fragr. J*, 21 : 324–332.
- [83] Perez-Alonso M.J., Velasconeguerela A., Duru M.E., Harmandar M., Garcia-Vallejo M.C. 1996. *Flavour Fragr. J*, 11: 349.
- [84] Camacho A., Fernandez A., Fernandez C., Altarejos J., Laurent R. 2000. Composition of the essential oil of *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Riv. Ital. EPPOS*. 29 : 3–8.
- [85] Marongiu B., Piras A., Pani F., Porcedda S., Ballero M. 2003. Extraction, separation and isolation of essential oils from natural matrices by supercritical CO<sub>2</sub>. *Flavour Fragr J*, 18: 505–509.
- [86] Haoui I.E., Derriche R., Madani L., Oukali Z. 2011. Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry*.
- [87] Ali-Shtayeh M.S., Yaniv Z., Mahajna J. 2000. Ethnobotanical survey in the palestinian area: A classification of the healing potential plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 73: 221-232.
- [88] Maoz M., Kashman Y., Neeman I. 1999. Isolation and identification of a new antifungal sesquiterpene lactone from *inula viscosa*. *Planta Med*, 65 : 281-282.
- [89] Rozenbla S., Grossman S., Bergman M., Gottlieb H., Cohen Y., Dovrat S. 2008. Induction of G2/M arrest and apoptosis by sesquiterpene lactones in human melanoma cell lines. *Biochemical pharmacology*. 75:369-382.
- [90] Al-Dissi N.M., Salhab A.S., Al-Hajj H.A. 2001. Effets of *inula viscosa* leaf extracts on abortion and implantation in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 77:117-121.
- [91] Alkofahi A., Atta A.H. 1999. Pharmacological screening of the anti-ulcerogenic effects of some Jordanian medicinal plants in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 67: 341-345.
- [92] Fresquet J.L., Aguirre C., Bagueña M.J., Lopez M.L., Tronchoni J.A. 1993. Plantes médicinales d'usage populaire dans la région de la Ribera Alta (Valencia, Espagne). Actes du 2<sup>ème</sup> Colloque européen d'Ethnopharmacologie et de la 11<sup>ème</sup> conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg.

- [93] Iserin, P. 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse. Paris.
- [94] Zeggwagh N.A., Ouahidi M.L., Lemhadri A., Eddouks M. 2006. Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects of *Inula viscosa* L. aqueous extract in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 108:223-227.
- [95] Sqalli T-H., Laboudi A., Arrayhani M., Benamar L., Amar Y., Ouzeddoun N., Bayahia R., Rhou, H. 2007. Urinary tract infections in renal allograft recipients from living related donors. *Saudi Journal of Kidney Diseases and transplantation*, 19:551-553.
- [96] Fournier P. 1947. *Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. Tome 1.* Lechevalier, 176-178.
- [97] Ulubelen A. Goun S. 1986. Sesquiterpene acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry*. 26 : 1223-1224. Valnet, J. 1984. *Aromathérapie-traitement des maladies par les essences des plantes.* Maloine S.A.
- [98] Yanz Z., Dafni A., Friedmanj Palevitch D. 1987. Plants used for the treatment of diabetes in Israel. *J. Ethnopharmacol*, 2: 51-145.
- [99] Chari Z., Pacha H. 1999. Effets cicatrisants de *Inula viscosa* sur les brûlures expérimentales chez le lapin. Thèse de Magister. Université de Constantine.
- [100] Khalil E.A., Afifi F.U., Al-Hussaini M. 2007. Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in pluronic F127 using mice (*Mus musculus*). *Journal of Ethnopharmacology*, Vol 129: 104-112.
- [101] Manez S., Recio M.D.C., Gil I., Gomez C., Giner R.M., Watrman, P.G., Rios J.L. 1999. A glycosyl analogue of diacylglycerol and other antiinflammatory constituents from *Inula viscosa*. *American chemical society and American society of pharmacognosy. J. Nat. Prod*, 62:601-604.
- [102] Hernández V., Recio M.C., Mañez S., Giner R.M., Rios J.L. 2007. Effects of naturally occurring dihydroflavonols from *Inula viscosa* on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism. *Life sciences journal*, 81: 8-480.
- [103] Ortal D., Hugo E., Gottlieb Shlomo G., Margalit B. 2009. Antioxydant activity of 1,3-dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscosa*. *Food Research international*. 1-8.
- [104] Bssaibis F., Gmira N., Meziane M. 2009. Activité antibactérienne de *Dettrichia viscosa* (L.) W. Greuter", *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, 3: 44-55.
- [105] Benhammou N., Atik Bekkara F. 2006. Contribution à l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Inula viscosa*.
- [106] Danino O., Gottlieb H.E., Grossman S., Bergman M. 2009. Antioxydant activity of 1, 3-dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscosa*. *Food Research International*, 42. 1273–1280.
- [107] Chiarlo B. 1968. Sui costituenti dell'*Inula viscosa*. Ait. Contenuto in azuleni dell'olio essenziale. *Boll. Chim. Farm*, 107 :370 - 382.
- [108] Grande M., Bellido I.S. 1992. 9-Hydroxynerylidol esters and bicyclic sesquiterpenoids from *dittrichia viscosa*. *Journal of Natural Products*, 55 : 1074-1079.
- [109] Abu zarga M.H., Hamed E.M., Sabri S.S., Khanfar M.A., Zeller K.P., Rahman A.U. 2002. A new eudesmane type sesquiterpene from *Inula viscosa*. *Natural Product Research*, 17 : 99-102.

## Références bibliographiques

---

- [110] De Laurentis, N., Losacco, V., Milillo, M.A., Lai, O. 2002. Chemical investigations of volatile constituents of *Inula viscosa* (L.) Aiton (Asteraceae) from different areas of Apulia, Southern Italy. *Delpino*, n.s., 44:115-119.
- [111] Miguel G., Faleiro L., Cavaleiro C., Salgueiro L., Casanova J. 2008. Susceptibility of *Helicobacter pylori* to Essential Oil of *Dittrichia viscosa* subsp. *Revolute*. *Phytotherapy research*, 22 : 259–263.
- [112] Seguy E. 1949. *Le microscope emploi et application*. Paul lechevalier. Paris.
- [113] Moghrani H., Legras M., Maachi R. 2009. Contribution à l'étude de la rentabilité du séchage dans l'exploitation des plantes aromatiques algériennes. Congrès international sur la santé et l'agroalimentaire. Alger.
- [114] Amadou D. 2005. Etude de la phytochimie et des activités biologiques des *Syzygium guneense* WILLD. (MYRTACEAE) ; thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako, Mali.
- [115] Charpentier B., Hamon Lorléach F., Harlay A., Huard A. L. ridoux., Chansellé S. 2004. *Guide du préparateur en pharmacie*. 2<sup>ème</sup> édition; Masson, paris.
- [116] Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol*, 28 : 25-30.
- [117] Hazit Mohamed. 2008. Étude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en algérie. Thèse de doctorat. USTHB, Alger.
- [118] Belghit A., Kouhila M., Boutaleb B.C. 2000. Experimental study of drying kinetics by forced convection of aromatic plants. *Energy Conversion & Management*, 44:1303-1321.
- [119] Bellagha S., Amami E., Farhat A., Kechaou N. 2002. Drying kinetics and characteristic drying curve of lightly salted sardine (*Sardinella aurita*). *Drying Technology*, 20 : 1523-1534.
- [120] Aghfir M., Kouhila M., Jamali A., Ait Mohamed L. 2007. Séchage solaire convectif pour la conservation des feuilles de romarin (*rosmarinus officinalis*). 13<sup>èmes</sup> Journées Internationales de Thermique. France.
- [121] Robertet S.A. 2000. Composition of the essential oil of *dittrichia viscosa* (L.) W Greuter. *Rivista Italiana Ventinovesimo numer-Giuno. Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44 : 1327-1332.
- [122] Smith R.L., Cohen S.M., Doull J., Feron V.J., Goodman J.I., Marnett L.J., Portoghese P.S., Waddell W.J., Wagner B.M., Hall R.M., Higley N.A., Lucas-Gavin C. Adams T.B. 2005. A procedure for the safty evaluation of the natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. *Food Chemistry Toxicol*, 43: 345-363.
- [123] Adams R.P. 2007. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. Allured Publishing Corporation, Illinois, USA.
- [124] Chen Y., Zhou G., Liu L., Xiong Z., Li Y. 2001. Enantioselective Total Synthesis of Eudesma-3,11(13)-dien-12-oic Acid. *Thieme Journals*, 9:1305-1307.
- [125] Smith-Palmer A., Stewart J., Feyel L. 2001. The potential application of plants essential oils as natural food preservative in soft cheese. *Food Microbiology*, 18:463-470.
- [126] Amadou H. 2007. Modélisation du séchage solaire sous serre des boues de stations d'épuration urbaines. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur, Strasbourg I, France.

## *Références bibliographiques*

---

- [127] Laoufi N. 1998. Etude de la migration du DEHP, Du PVC plastique vers certains solvants et huiles végétales. Thèse de Magister, USTHB, Alger.
  
- [128] Nicklin J., Graeme-Cook.K., Payet T., Killington., R. 2000. L'essentiel en microbiologie. Berti, Paris.