

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Polytechnique
Département de Génie Chimique



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
En vue de l'obtention du diplôme
D'INGENIEUR D'ETAT EN GENIE CHIMIQUE

Thème

Extraction des huiles essentielles et des concrètes de l'inule visqueuse

Proposé par :
Dr. R- Derriche

Etudié par :
B.Tedjini

Dirigé par :
Dr. R- Derriche

Président du Jury : Pr. S. Charcahri
Examineur : Pr. C. Boutekjiret
Rapporteur : Dr. R.Derriche

PROMOTION JUIN 2006

ENP, 10Avenue Hassan Badi EL-Harrach Alger

****Dédicace****

*Ama chère mère qui ma
toujours soutenu et
encouragé*

Remerciements

Je tiens a remercier M.R. Derriche pour l'honneur qu'elle ma fait pour accomplir et terminer ce travail, pour son aide et sa patience avec moi.

A Madame le .S. Cherchari, et M.El.Hadi. Ben Youssef pour leurs aides et leurs conseils.

A monsieur le professeur Chems Eddine Chitour pour sa précieuse aide pour finaliser ce projet.

☆☆☆ *Préambule* ☆☆☆

Ce travail a été réalisé dans le cadre des activités de l'équipe « valorisation des espèces végétales » du laboratoire « valorisation des énergies fossiles » dirigé par monsieur le professeur Chants Eddine Chitour.

ملخص

يتناول هذا العمل دراسة مختلف طرق استخلاص الزيوت الأساسية لنبته "اينولا فيزكوزا" المعروفة في الجزائر باسمها البربري "ماقرمان" حيث تطرقنا إلى دراسة حركية الاستخلاص بالتقطير المائي و السحب ببخار الماء و كذا الاستخلاص باستعمال مذيب عضوي و حساب مرد وديتها في كل حاله.

في الأخير أجرينا دراسة تحليليه للزيت المستخلصة بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية و بيننا أثار وسمية هذه الزيوت تجاه بعض الفطريات.

الكلمات المفتاحية نبتة اينولا فيزكوزا – الزيوت الأساسية – النشاط الضد فطري- التحليل الكروماتوغرافي

Résumé

Le présent travail est une contribution à l'étude de l'extraction des huiles essentielles de l'inule visqueuse par trois modes d'extraction, à savoir une Hydrodistillation, entraînement a la vapeur, et enfin l'extraction par solvant organique, où l'on s'est intéressé au calcul des rendement par chaque mode et l'étude de la cinétique d'extraction.

A titre complément, une étude analytique par chromatographie en phase gazeuse, et par couplage CPG/ SM a été effectuée afin d'identifier les différentes composantes de cette huiles, et on a démontré la toxicité ou l'effet antifongique de ces huiles envers certain champignon.

Mots clés : inule visqueuse – huile essentielle- analyse chromatographique- activité antifongique -

Abstract:

This work is a contribution to the study of the extraction of essential oils of the inula viscosa, also called in english "ditrichia viscosa", by three methods of extraction, namely Hydrodistillation, water's steam, and finally the by organic solvent, we were in calculation of the output by each mode and the study of the kinetics of extraction.

With title complement, an analytical study by gas chromatography, and coupling CPG / SM was carried out in order to identify the various components of these oils, and one has to show the toxicity or the effect antifungal of these oils towards certain mushroom.

Keys word: ditrichia viscosa- essential oil – chromatography gas – antifungal activity.

Sommaire

Résumé

Sommaire

Introduction générale

Partie Bibliographique :

Chapitre I : présentation de la matière végétale

I.1 - Description botanique	5
I.2 - nativité et localisation	8

Chapitre II : les huiles essentielles.....10

II.1 - Historique	11
II.2 - Définition	11
II.3 - Quelques définitions d'extrait de plante	12
II.4 - Propriétés des huiles essentielles	12
II.5 - principales structures chimiques	13
II.6 - Activité biologique des huiles essentielles	15
II.7 - Différences entre huiles essentielles et essence	20

Chapitre III : les études antérieures

III.1 - introduction	22
----------------------------	----

Chapitre IV : les techniques d'extraction

IV.1 - Introduction	25
IV.2 - L'Hydrodistillation.....	25
IV.3 - L'entraînement à la vapeur d'eau.....	26
IV.4 - Fondement thermodynamique de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	27
IV.5 - L'extraction par solvant	29
IV.6 - Facteurs à considérer pour la mise en œuvre de l'extraction de la matière végétale.....	29
IV.7 - Notions importantes	31

Partie expérimentale

Chapitre I : récupération des huiles essentielles et des concrètes de l'inule visqueuse

I.1 - Introduction	37
I.2 - Extraction dans un soxhlet	37
I.3 - Extraction en lit fixe par circulation en continu du solvant.....	41

I.4 - Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	43
I.5 - Extraction par Hydrodistillation	47
I.6 - Conclusion	50

Chapitre II : analyses et activité des HE et des concrètes de l'inule visqueuse

II.1 - Rappels sur les méthodes analytiques	52
II.1.1 - Chromatographie en phase gazeuse	52
II.1.2 - Spectrométrie de masse	53
II.1.3 - Introduction dans le cas des techniques couplées	53
II.2 - Analyses et Compositions des HE de l'inule visqueuse	53
III.3 - Activité des HE	62
III.3.1 - Mesure de l'activité antifongique	62
III.3.2 - Techniques de mesure ou antifongigramme	62
III.4 - Analyse du pouvoir antifongique des HE de l'inule visqueuse.....	62
Conclusion générale	64

Annexe

Bibliographie

Introduction Générale

Depuis plusieurs années, l'utilisation des plantes médicinales ou de préparations à base de plantes connaît un succès croissant. Il est d'abord intéressant de remarquer que 30% environ des médicaments prescrits par le médecin sont d'origine naturelle, alors que cette proportion est de 50% pour les médicaments en vente libre.

Parmi les derniers médicaments obtenus à partir des plantes, on trouve le taxol, isolé de l'if (*Taxus baccata*, Taxaceae) qui a sa place dans le traitement des cancers gynécologiques. L'artémisinine, substance isolée d'une armoise chinoise (*Artemisia annua*, Asteraceae) est utilisée dans le traitement des formes résistantes de la malaria. On peut encore citer la galanthamine, obtenue de la perce-neige (*Galanthus nivalis*, Amaryllidaceae), utilisée depuis peu dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Ces trois molécules, très toxiques bien que naturelles, ne peuvent être utilisées que sur prescription médicale et avec un dosage précis.

Mais de nombreuses plantes ont un effet bénéfique sous forme de tisanes ou d'extraits de plantes. Le ginkgo (*Ginkgo biloba*, Ginkgoaceae) est certainement la plante réalisant le plus grand chiffre d'affaires. Il est utilisé sous forme d'extrait lors des troubles de la circulation cérébrale, comme le manque de concentration et les pertes de mémoire. Le millepertuis (*Hypericum perforatum*, Hypericaceae) connaît également un très grand succès dans le traitement des états dépressifs légers à moyens. Cependant, les plantes médicinales, quelle que soit leurs formes d'utilisations, sont à considérer comme des médicaments à part entière, avec tous les bénéfices qu'elles peuvent apporter, mais aussi avec les risques liés à leurs consommations. Citons par exemple le risque d'interactions médicamenteuses avec le millepertuis ou même avec le jus de pamplemousse matinal.

L'effet "santé verte" est très présent dans le mode de vie actuel, des préparations diverses, compléments alimentaires ou autres, à base de plantes médicinales foisonnent sur le marché [1].

L'inule visqueuse est l'une des plus importantes plantes médicinales connues dans le bassin méditerranéen depuis longtemps et ses huiles ont été utilisées par les anciens pour se guérir de plusieurs maladies.

Utilisations traditionnelles de l'inule visqueuse :

Les vertus médicinales de la plante sont connues depuis longtemps, preuve les différentes écritures laissées par les anciens qui décrivent les différentes applications médicinales de la plante ainsi que le mode d'utilisations, la plupart de ces textes dérivent de manuscrits hébreux.

« les branches fleurissantes sont utilisées pour la bronchite, tuberculose, anémie, astringent, engraisseur, pour la malaria et les maladies du système urinaire ; bouillies en huile, l'huile est frottée sur les contusions et le gonflement, cataplasme pour des douleurs rhumatismales [2]

« La viscosa d'*Inula* est une plante qui a beaucoup d'utilisations, elle est recommandée pour le traitement du scorbut, la poudre de feuille de viscosa d'*Inula* est employée pour le traitement d'arthrite. **En Algérie**, les branches de viscosa d'*Inula* sont bouillies dans de l'huile, qui sera ensuite employées pour le traitement topique du gonflement, de l'arthrite ; dans la médecine traditionnelle Arabe la plante est utilisée pour le traitement d'une quarantaine de maladies différentes [3]

Le médecin et physicien arabe El Tamimi el makhdiyyi (mort en 985) qui vivait dans le palais du khalife fatimide a décrit certaine application de la plante « elle est employée dans la

médecine traditionnelle pour le traitement des douleurs dorsales et les pieds gonflés, les extraits des feuilles sont utilisés pour le traitement des infections des blessures ouvertes » [3]

L'activité antiparasitaire de la plante a été démontrée grâce à des recherches récentes sur les racines et les parties aériennes de la plante ; les extraits examinés sont séparés avec plusieurs solvants. L'acide sesquiterpénique est isolé par chromatographie sur colonne. Les extraits purs sont testés in vitro sur les variétés d'*Obvelata nana* de *Hymenolepis* et le *hepatica* de *Fasciola* de *Symphoricarpos* (des vers).

Les données montrent une vraie action antifongique des parties aériennes de l'inule, tandis que les racines ne présentent aucune activité significative. Dans les parties aériennes, les fractions solubles dans l'eau sont inactives, le plus actif est obtenu avec le dichlorométhane. Un acide sesquiterpénique responsable de l'activité antifongique a été isolé dans cet extrait. L'activité de cet acide in vitro est positive envers ces trois genres de vers. Les résultats obtenus indiquent aussi que seulement les parties aériennes de l'inule ont une activité significative antiparasitaire. [4].

Les études récentes ont montré que les huiles essentielles de cette plante possèdent un pouvoir antipyrétique, propriétés antiphlogistiques et antiseptiques, elle est aussi utilisée pour la bronchite; tuberculose; anémie; et contre certaines maladies tel que la malaria et les maladies du système urinaire [5].

La présente étude est une contribution à l'étude des modes d'extraction des huiles de cette plante et la détermination de leurs compositions.

Chapitre I :

Présentation de la matière végétale

1 - Description botanique :



Figure 1 : Inule visqueuse [6]

1-1- Présentation de la plante :

On englobe sous le nom populaire d'inule diverses plantes appartenant à la famille des astéracées (ou composées), les inules font partie soit du genre *Inula*, soit du genre *Dittrichia*.

L'espèce Inule renferme plusieurs types dont les plus connus sont:

Genre *Inula* :

- Inula bifrons* (L.).
- Inula britannica* L.
- Inula conyza* DC.
- Inula crithmoides* L.
- Inula helenioides* DC.
- Inula helenium* L.
- Inula helvetica* (Weber).
- Inula hirta* L.
- Inula Montana* L.

- Dittrichia graveolens* (L.) Greuter
- Dittrichia viscosa* (L.) Greuter [7]

Genre *Dittrichia* :

L'inule visqueuse est une plante vivace à tige frutescente à la base de taille 40-100 cm, à rameaux rougeâtre, feuille entière ou denté, aigues sinuées, les caulinares amplexicaules, plus largement lanceales, plantes glanduleuse visqueuse à odeur forte. [8]

L'espèce pousse en général dans les régions méditerranéennes, elle se caractérise par les bractées sous les languettes jaunes externes qui sont visqueuses sur l'extérieur et qui justifie son nom.

Quand au nom du genre Inula, il dérive du grec qui signifie purifier car certaines inules ont des propriétés diurétiques. [9]

En Algérie, l'espèce est très connu sous le nom berbère magramène dans les régions du tell, ou encore mersitt chez les touareg. [8]

1-2 Structure générale de la plante :

L'inule visqueuse se caractérise par une forme de croissance droite verticale à partir de la terre, Ses branches nombreuses se refoulent le long de la tige commune principale.



Figure 2 : tige principale de la plante [6]

Sa surface possède des cheveux appelés poils glandulaires qui soutiennent des glandes ou des gonflements à leur bout.

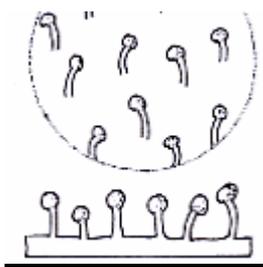


Figure 3 : poil glandulaire [6]

Quand à ses tiges elles croissent à différentes positions le long de la tige commune principale

1-2-1 Les feuilles :

Les feuilles ont une forme de lance qui se forme le plus largement dans le troisième basique et s'enfilent graduellement vers le bout.



Figure 4 : forme dentelé des feuille [10]

Le contour de la feuille est dentelé avec des dents aigues pointues, incliné à la marge, se dirigeant comme une scie.

1-2-2 Fleurs :



Figure 5,6 : fleur d'Inula d'Australie [9]

Les fleurs sont de couleur jaune lumineuse, de taille moyenne entre 20-22mm (pour les espèce méditerranéenne et de 15 mm dans certaine région (Inula d'Australie), elles possèdent une odeur légèrement douce et aromatique ; elles se composent de pétales rayonnants du réceptacle central, leur nombre dépend de la taille des fleurs mais en générale varie entre 12 et 18, et de 30 à 40 pour les sépales. [6].

1-2-3 Grains :

Les fruits ont une structure apicale de couleur brun clair, leur nombre varie entre 40 -50 et leur taille ne dépasse pas 2millimètres.

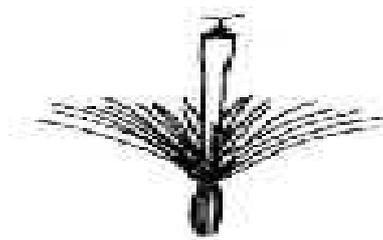


Figure 7 : grain d'Inula

2- Nativité et localisation :

L'inule visqueuse est une plante native du bassin méditerranéen, elle se développe dans les terres pierreuses de forte composition en calcaire et dans les zones humides.

En Algérie l'espèce est localisée en générale dans les régions de moyenne altitude du tell, dans les terres garrigues, rocaille, et dans les terrains argileux humides. [8]

En générale elle est localisée dans les zones suivantes :

- **Afrique du Nord:** Algérie; Egypte; Libye; Maroc; Tunisie.
- **Asie Occidentale:** Chypre; Palestine; Jordanie; Liban; Syrie; Turquie.
- **Europe:** Albanie; Bulgarie; Grèce ; Italie (inclus. Sardaigne, Sicile); Yougoslavie. L'Europe Du sud-ouest: France (. Corse inclus); Portugal; Espagne (îles Canaries inclus). [2].

Chapitre II :

Les huiles essentielles

2-1 Historique :

Les traces d'utilisation de l'aromathérapie remontent à plus de 7000 ans, preuve en est un alambic en terre cuite retrouvé au Pakistan datant de cette époque. On trouve des inscriptions datant de 4000 ans en Mésopotamie et des écrits égyptiens datant de 3500 ans. Les égyptiens obtenaient des huiles essentielles en pressant des plantes. Les Romains utilisaient également les huiles essentielles. Mais la grande épopée des huiles essentielles débute au 15^{ème} siècle jusqu'en 1935, date à laquelle elle fut reléguée en arrière plan avec la découverte de la pénicilline. [12]

2-2 Définition :

La huitième édition de la pharmacopée française (1965) a défini une huile essentielle, appelée encore essence ou huile volatil, comme étant un produit de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenu dans les végétaux et plus aux moins modifiés au cours de l'extraction. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés, deux seulement sont utilisés pour la récupération des essences officinales : la distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essences ou de certaines de leur organes, et le procédé par expression. Depuis la neuvième édition en 1972, la pharmacopée n'utilise plus que le terme huiles essentielles. [13]

Depuis octobre 1987, la norme AFNOR NF T-75-006 définit une huile essentielle comme étant un produit généralement odorant obtenu soit par entraînement à la vapeur d'eau de végétaux ou de partie de végétaux, soit par expression de péricarpe frais de certains hespéridés. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques. [13], [14]

La volatilité des huiles essentielles les oppose aux huiles de table (lipides). Les propriétés physiques de ces huiles rendent leur extraction à la vapeur particulièrement aisée. On les appelle huiles essentielles. Parce que, comme l'essence elles s'enflamment. On les appelle d'ailleurs parfois essences.

Les huiles essentielles peuvent être extraites de différentes parties de la plante : fleurs (pétales de rose), écorces de fruits (citron, bergamote, orange), graines (anis), feuilles (eucalyptus), baies (genévrier), boutons floraux (clou de girofle), fruits, bois (santal, écorce de quinquina).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes, contenant de très nombreuses espèces chimiques (de l'ordre d'une centaine à plusieurs centaines), identifiables par chromatographie. Il s'agit d'espèces organiques : des terpénoïdes et des aromatiques (aldéhydes; esters, alcools...). L'espèce majoritaire est appelée principe actif.

En principe, toutes les parties d'une plante contiennent ces huiles essentielles. La composition peut varier selon la localisation dans la plante, par exemple, dans l'oranger amer, le zeste donne l'essence de Curaçao, et la fleur, l'essence de Néroli.

La teneur des plantes en huile essentielle est faible de l'ordre de 1 à 3 % à l'exception du clou de girofle (14 à 19 %), du macis (10 à 13 %), de la noix de muscade (8 à 9 de la cardamome (4 à 10 %)). [15]

Elles sont utilisées dans certains médicaments, en parfumerie, en phytothérapie ou comme agent de saveur dans l'alimentation.

2-3 Quelques définitions d'extrait de plante :

- **Eau aromatique (hydrolat) :** Distillat aqueux qui subsiste après entraînement à la vapeur d'eau, après la séparation de l'huile essentielle.
- **Alcoolat :** distillat résultant de la distillation d'une matière première d'origine naturelle en présence d'un éthanol de titre variable. Produit obtenu par le traitement d'une matière première d'origine naturelle par un solvant. Après filtration, le solvant est éliminé par distillation, excepté dans le cas de solvant non volatil.
- **Absolue :** produit ayant une odeur caractéristique, obtenue à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïdes par extraction à l'éthanol à température ambiante.

Remarque : la solution éthanolique est généralement refroidie et filtrée dans le but d'éliminer les cires. L'éthanol est ensuite éliminé par distillation.

- **Concrète :** extrait à odeur caractéristique obtenu à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction au moyen d'un solvant non aqueux.
- **Résinoïde :** extrait à odeur caractéristique obtenu à partir d'une matière sèche d'origine végétale; par extraction au moyen d'un solvant non aqueux.
- **Pommade florale :** corps gras parfumé obtenu à partir de fleurs. soit par "enfleurage à froid" (diffusion des composés odorants des fleurs dans le corps gras), soit par "enfleurage à chaud" (digestion ou immersion des fleurs dans le corps gras fondu).
- **Teinture :** solution obtenue par macération d'une matière première d'origine naturelle dans un éthanol de titre variable :(exemples : teinture de benjoin, teinture d'ambre gris). [16]

2-4 Propriétés des huiles essentielles :

Les propriétés des huiles essentielles sont très variées, néanmoins, chaque huile essentielle possède ses vertus qui lui sont propre.

De nombreuses huiles essentielles ont un pouvoir antiseptique, antiviral, antibactérien, curatif ... Elles traversent la barrière cutanée, ce qui permet une meilleure cicatrisation et reconstruction tissulaire. Les huiles essentielles peuvent aussi relancer l'activité hormonale.

Le fait que les HE soient volatiles permet alors de purifier non, seulement notre corps, mais aussi tout simplement l'atmosphère.

Les HE possèdent donc un grand pouvoir de guérison, ce sont de véritables médicaments qui peuvent largement concurrencer certains antibiotiques.

En plus du coté physique, les HE activent notre conscient. Des recherches en biochimie montrent que des états émotionnels chroniques négatifs changent de façon permanente la chimie endocrinienne. En effet, les HE aident à remplacer les émotions négatives telles que la colère ou la honte par des émotions positives, ce qui permet de prévenir la maladie [17].

2-5 Principales structures chimiques

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes, prépondérants dans la plupart des essences, et des dérivés du phénylpropane, retrouvé en tant que composé majoritaire dans quelques unes, telles que les essences d'anis, de cannelle, de girofle, etc.... Divers autres constituants minoritaires leurs sont associés. De nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont également considérés comme des composés terpéniques.

Les **composés terpéniques** sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique. Suivant le nombre entier d'unités pentacarbonés (C_5) $_n$ ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (isoprène), nous pouvons réaliser la classification suivante :

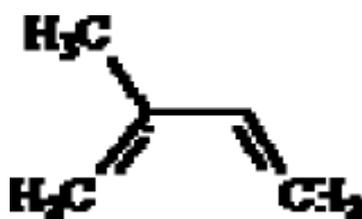


Figure 8 : L'isoprène.

- Pour $n = 2$: les monoterpènes. Ces terpènes proprement dits sont des hydrocarbures en C_{10} , ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales, surtout alcool et aldéhyde.

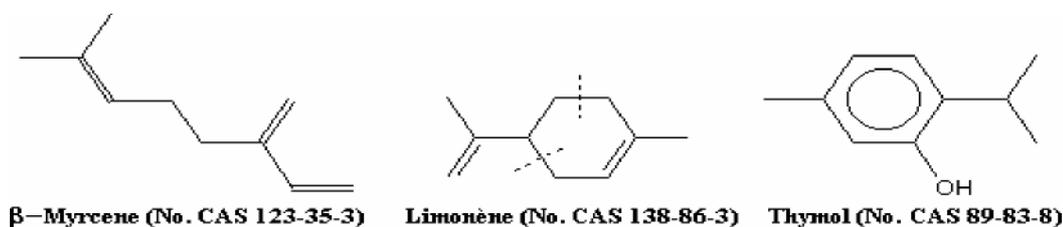


Figure 9 : Exemples des composants monoterpéniques

- pour $n = 3$: les sesquiterpènes. Ce sont des hydrocarbures de formule C_{15} , soit une fois et demie (sesqui-) la molécule des terpènes (en $C_{10}H_{16}$). Un groupe particulier de sesquiterpènes est représenté par les azulènes, composés instables dont le nom vient de leur coloration bleue et qui sont importants en pharmacognosie en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires. Ces composés, non saturés, sont constitués par deux cycles penta et hepta carbonés. Nous retrouvons dans ce groupe le chamazulène (des essences de camomille et de matricaire).

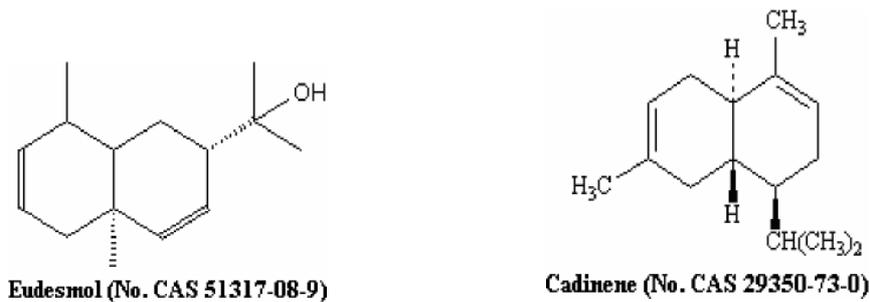
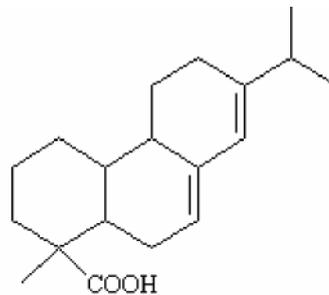


Figure 10 : Exemple des composants sesquiterpéniques

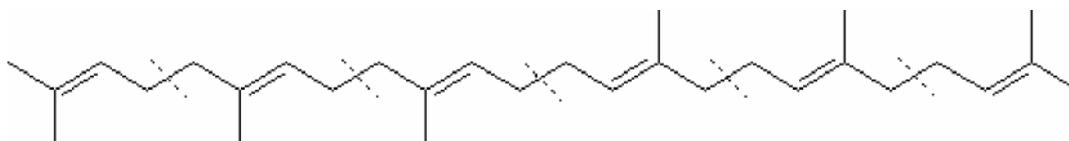
- Pour $n = 4$: les diterpènes qui sont des dérivés d'hydrocarbures en C_{20} . Ces composés, à température d'ébullition élevée, se rencontrent surtout dans les résines.



Acide abiétique (No. CAS 514-10-3)

Figure 11 : Exemple des composants diterpéniques.

- Pour $n = 5$: les sesterpènes. Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en C_{25} .
- Pour $n = 6$: les triterpènes. Ces composés en C_{30} sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifiés, ou sous forme hétérosidique.



Squalène (No. CAS 7683-64-9)

Figure 12 : Exemple des composants triterpéniques.

- Pour $n = 8$ le caoutchouc naturel est l'exemple le plus connu. Le caoutchouc naturel est un polymère de l'isoprène. Il est produit par coagulation de la sève de l'hévéa par la chaleur.

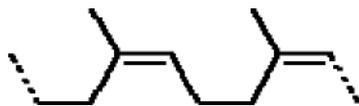


Figure 13 : Caoutchouc naturel.

Dans une huile essentielle, nous retrouvons presque exclusivement des mono- et sesquiterpènes.

Les **dérivés du phénylpropane** sont moins abondants que les terpénoïdes, ce sont des arènes issues d'une voie métabolique secondaire de l'acide shikimique lui-même intermédiaire de la synthèse de la lignine à partir du phénylpropane.

Les composés sont néanmoins importants sur le plan qualitatif et quantitatif chez certaines espèces. Par exemple, le trans-anéthole qui est la molécule responsable en grande partie de l'arôme d'anis, constitue environ 80% de l'huile essentielle de fenouil (1-3% d'essence), et d'anis vrai (3% d'essence). Les dérivés phénylpropanoïques et les terpénoïdes sont associés en nombre et en proportions très variables de telle sorte que le produit est hétérogène et complexe sur le plan chimique. Ils sont biosynthétisés au sein des mêmes organes sécréteurs où ils forment l'essence naturelle [17].

2-6 Activités biologiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires [18] ou au niveau de la microflore vaginale[19] , et d'origine fongique contre les dermatophytes [20]. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques [21] qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques. Le thymol est très irritant, astringent et caustique. La dose de thymol applicable sur la peau et les muqueuses est de 0,5%. Ingré à la dose de 2 g ou à plus fortes doses, il est responsable de gastralgies avec nausées [22].

Dans les domaines phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes [22] et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires [23].

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc. L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles les plus actives. Son composé majoritaire, le carvacrol, possède également une forte activité antimicrobienne [24]. D'après les travaux de Sivropoulou et col [21]. , et Hudaib et col [25]. , les huiles de menthe et d'origan présentent des activités antibactériennes remarquables contre les souches à Gram⁺ et à Gram⁻ [17].

Etant donné la grande complexité de la composition chimotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. Chaumont et Leger ont testé 12 composés aromatiques vis-à-vis de huit souches pathogènes pour l'homme *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Microsporum canis* et 5 *Trichophyton* spp [20].

Ils concluent que les phénols, chavicol, 4-allyl-2,6-diméthoxyphénol sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (cinnamique et hydrocinnamique) présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative. Kurita et col [26], [27], ont classé les composés purs selon leur activité antifongique vis-à-vis de sept champignons.

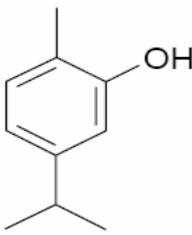
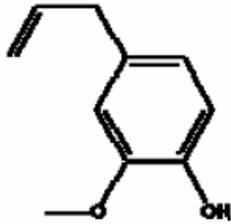
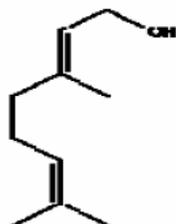
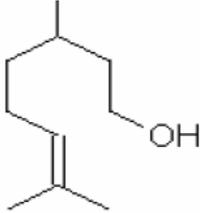
Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonctions chimiques:

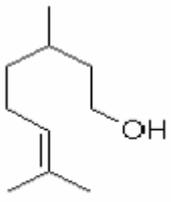
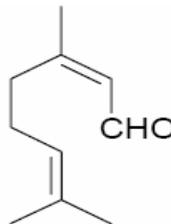
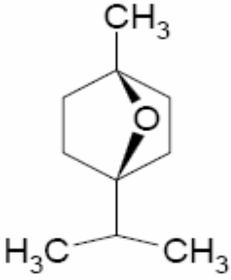
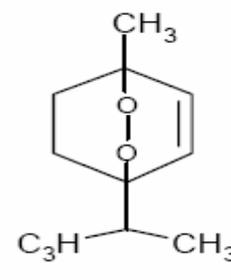
~ **Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Hydrocarbures /**

Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-n-propylphénol > thymol > isoeugénol > eugénol). L'addition de groupements alkyl au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique. Par conséquent, un certain degré d'hydrophobicité des composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques paraît donc requis pour exprimer une caractéristique antifongique optimale [17].

L'activité des terpènes des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique. Les travaux de Zakarya et col ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait. Ils donnent un exemple de variations qualitatives et quantitatives de 21 espèces [28].

Dans le tableau 1 sont répertoriés les caractères physico-chimiques, les formules développées, ainsi que les propriétés de quelques terpènes. [17]

Composés aromatiques	Formules développées	Caractères physico chimiques	Teneur dans quelques plantes	Propriétés
Phénols	 <p><i>Carvacrol</i></p>	Densité : 0.98 g/ml PM : 150.2	Thym (<i>T. vulgaris</i>) 33% [19] Origan (<i>origanum vulgare</i>) 76%	Stimulantes, Toniques Anti septiques Bactéricides Fongicides Anti-virale Antiparasitaires Irritantes
	 <p>eugénol</p>	Densité 1.07 g/ml PM : 164.2	Girofle (<i>S. aromaticum</i>) 82% Bay St Thomas (<i>P. racemosa</i>) 60% Poivre (<i>P. dioica</i>) 54%	Stimulantes Toniques Anti septiques Bactéricides Fongicides Anti-virale Anti parasitaires Irritantes
Alcools Terpéniques	 <p><i>Géranol</i></p>  <p><i>Citronellol</i></p>	Densité : 0.88 g/ml PM : 154,3	Palmarsa : -(<i>C. martinii</i>) 75-95% -(<i>C. helichrysum</i>) 80-90% Citronelle: - (<i>C. winterianus</i>) 12-18% -(<i>C. nardus</i>) 20-40% Citronelle. (<i>C. winterianus</i>) 11-15% -(<i>C. nardus</i>) 10-20%	Anti- Inflammatoire, Anti septiques, Bactéricides, Fongicides, Anti-virale, Neurotoniques

Aldéhydes Terpéniques	 <i>Citronellal</i>	Densité : 0.89 g/ml PM : 154,30	Citronelle (<i>C. winterianus</i>) 35-45% Eucalyptus citronne (<i>E. Citriodora</i>) 90%	Antifongiques, Sporocidas Toxicité liée à la présence du groupe aldéhyde Insecticide
	 <i>Citral</i>	Densité : 0.89 g/ml PM : 154,3	Lemongrass (<i>C. citratus</i>) 70- 80%	Antifongique, Sporocidas, Toxicité liée à la présence du groupe aldéhyde Insecticide
Ether-oxides péroxydes	 <i>Cinéole</i>	Densité : 0,92 g/ml PM : 154,2	Eucalyptus (<i>Eucalyptus globulus</i>) 56%	Antibactériens, Antifongiques Insecticides L'ascaridole est fortement réactif et toxique (par la liaison -O-O-)
	 <i>Ascaridole</i>	Densité : 1,01 g/ml PM : 168,2	Epazote (Ch. Ambrosiodes) 61%	

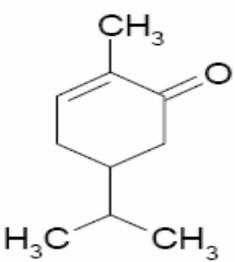
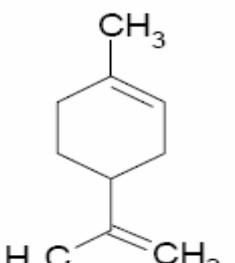
Cétones	 <p style="text-align: center;"><i>Carvone</i></p>	Densité : 0,96 g/ml PM : 150,2	Carvi (Carum carvi, 50%)	Calmantes, Antivirales, Antifongiques Neurotoxiques Anti-épileptique
Hydrocarbures Aliphatiques sesquiterpènes	 <p style="text-align: center;"><i>Limonene</i></p>	Densité : 0,96 g/ml PM : 150,2	Carvi (Carum carvi) 45%	Fongistatique Bactériostatique Insecticides Nematicide Herbicide

Tableau 1 : propriétés physico-chimiques et structures des terpènes

2.7 Différence entre huile essentielle et essence :

L'essence est une substance aromatique naturelle secrétée par la plante. Pour les agrumes, on extrait principalement l'essence par expression du zeste. On devrait dire essence de citron et non HE de citron.

Lors de sa transformation par distillation l'essence subit une modification biochimique et devient HE. L'huile essentielle est donc l'essence de la plante distillée.

Exemple : la fréquente modification chimique du sabinène qui a été étudiée par Koedam et coll. [29] et signalée par O.Wallach [30], elle ne se réalise qu'en milieu acide dilué, ce composé se transforme en terpinèn-4-ol ; Divers auteurs ont confirmé ce résultat et montré que le réarrangement du sabinène produit en plus du sabinène-4-ol, de α -terpinène, du γ -terpinène, et terpinolène [17]

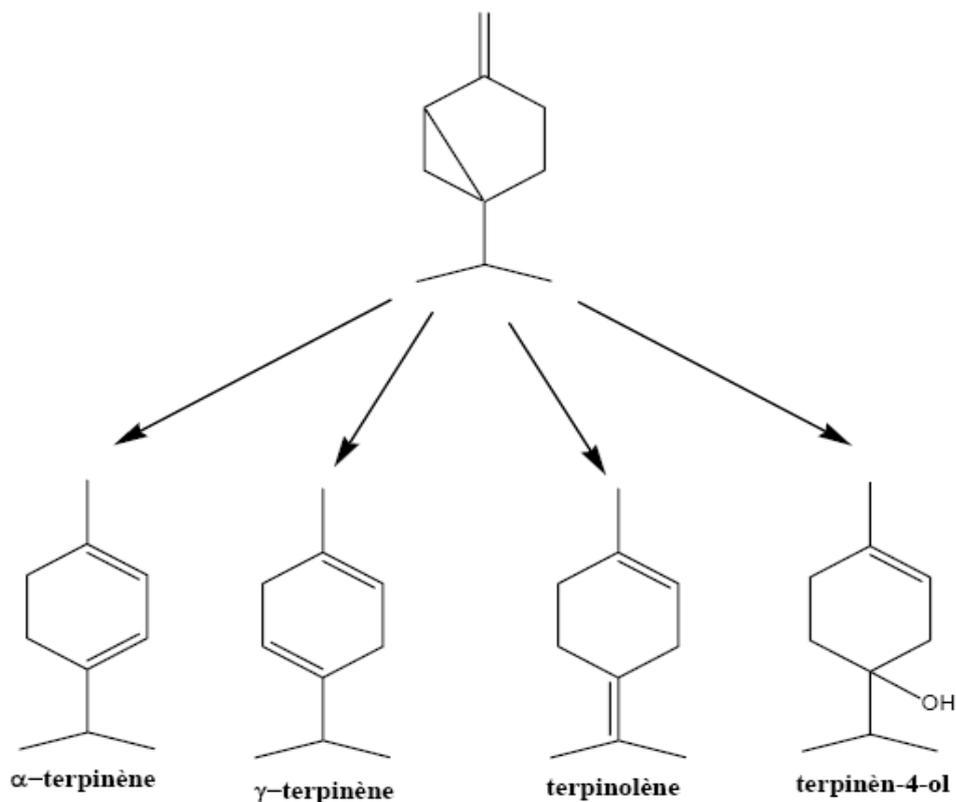


Figure 14 : principales modifications du sabinène lors de l'hydrodistillation

Chapitre III :

Lestravaux antérieurs

1 Introduction :

L'inule visqueuse a été sujette de plusieurs projets de recherche à travers le monde, les effets antifongique, antiseptique, antibactérien... de la plante ont attiré les attentions des chercheurs, médecin, botaniste depuis des milliers années.

Ces différentes recherches concernaient à la fois la détermination des modes d'extraction adéquat des essences de la plantes, leur composition, puis l'évaluation des différentes activités quelle peuvent contenir.

En 1981, Une étude publié en Russie menée par la scientifique russe Belova L.F. Baginskaia sur les propriétés pharmacologiques de l'inule de japon a montré que ces HE contiennent des lactones de sesquiterpène ; une dose de 5-60mg/ kg de poids exerce une action de stimulant sur le système nerveux central et les muscles lisses de l'intestin. [31]

Bruno Marongiu et coll. de l'université de Cagliari en Italie, ont pu déterminer certains composés des essences de la plantes tel que les flavonoïdes, les azulènes, les sesquiterpènes (carboxyudesmadiene), Tous les extraits avaient une activité antifongique significative contre des dermatophytes même aux basses concentrations (0,01 mg/ml). ; La même étude a été menée par C .Cafarchia et coll. De l'université de Bari, Italie et a donnée les mêmes résultats [32].

Une équipe de chercheur portugais a réussi à isoler les huiles essentielles par hydrodistillation, ces huiles ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse et par spectrométrie de masse, L'examen préliminaire d'huiles a permis l'identification de 32 composants. Seulement quatre composants ont atteint un pourcentage de plus de 5 % : fokienol (11.8%) ; T-Murorol (7,9 %) ; le E- nérolidol (5,5%) et le cadinène (5,0 %).

Une récente recherche a permit l'isolation et l'identification d'autres composées des huiles de la plante tel que: les Dérivés de Terpène ; Azulènes ; Hispidulin ; Taraxasterol d'acétate ; camphre ; Thymol ; Carvacrol ; Eucalyptol. [32]

En 2003, une recherche entreprise par une équipe de chercheur israélien [33] de l'université de Bar Ilan en Israël sur des inules cueillies à différentes périodes de l'année, le premier but était de déterminer le pourcentage de partie qu'ont pouvait extraire de la plante pour chaque récolte.

Chaque récolte a subit une extraction par solvant pendant une durée de 3 h avec un mélange d'acétone et de n- Hexane (9 :1 vol / vol) a un rapport de (1:10 poids /vol sec) ; L'extrait a été filtré sous vide à une température de 45 à 50 °C et en utilisant du papier filtre pour obtenir une pâte huileuse, sèche, verte. La pâte a été pesée pour déterminer le pourcentage de pâte sec, les résultats sont donnés dans la **figure 15**

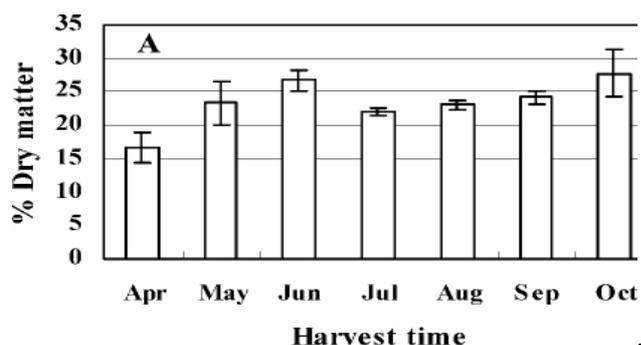


Figure 15 : rendement en masse des pattes de l'inule selon les saisons

On remarque que les périodes de mai-juin et sep-octobre donnent un très bon rendement en pattes, ce qui peut influencer sur le rendement en huile essentielle.

Les Pâtes ont été ensuite dissoutes dans de l'acétone, produisant les solutions verdâtres et transparentes. De telles solutions ont été appliquées comme pulvérisateur au feuillage de plantes malade mises en pot pour évaluer leur efficacité.

Des échantillons de concombre, pomme de terre, tomate, blé, et de tournesol, infectés par diverses maladies (*Pseudoperonospora cubensis*, *Phytophthora*, et *Blumeria graminis*) ont été traités par des solutions d'acétone à divers concentrations en pâtes. (0 %, 0.25 %, 0.50 %, 1%, et 2%), les résultats sont donnés dans le diagramme suivant :

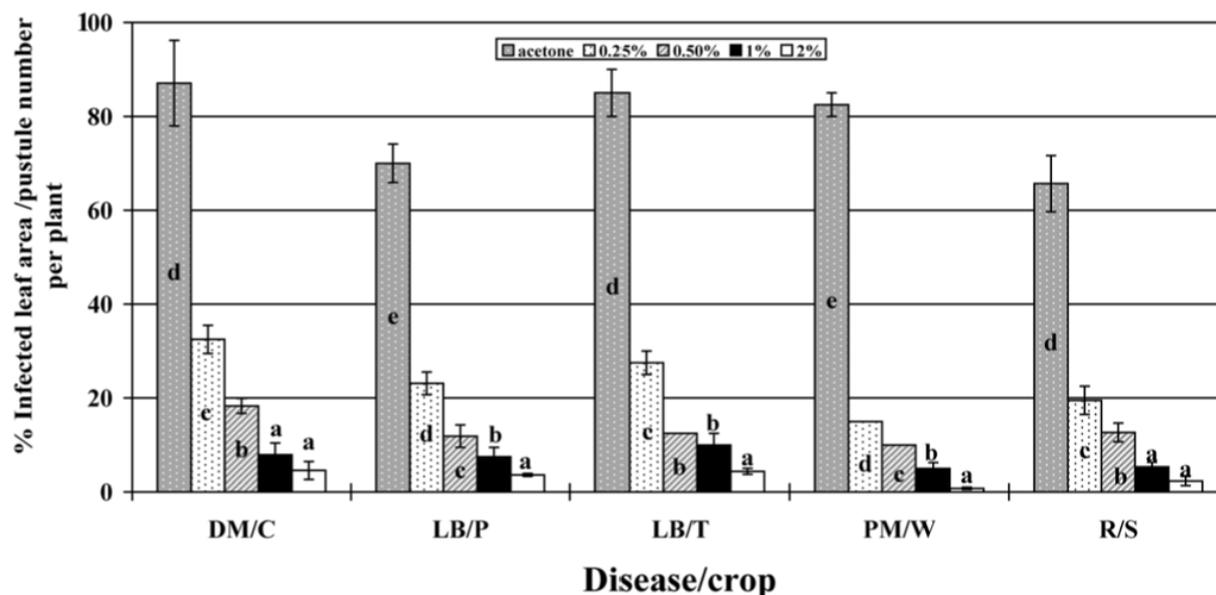


Figure 16 : effet de la concentration en pâtes l'évolution des diverses maladie par rapport a chaque échantillon.

On remarque la diminution du pourcentage de plantes infectées avec l'augmentation de la concentration en pâtes.

En résumé, les pouvoirs antifongique, antibiotique, antibactérien, ainsi que ces immenses pouvoirs médicaux montrent l'importance de cette étude.

Chapitre IV :

Les Techniques d'extractions

Introduction :

Divers procédés sont actuellement utilisés pour l'extraction de ces produits aromatiques et selon la technique utilisée, l'extraction permet d'obtenir des huiles essentielles, des pommades, des concrètes, des absolues, des résinoïdes ou des infusions.

Nous donnerons une brève description de quelques techniques d'extraction des huiles essentielles.

4.1. L'hydrodistillation :

La matière végétale est immergée dans de l'eau portée à ébullition, la vapeur formée au sein de l'eau bouillante entraîne l'huile essentielle qui est recueillie après condensation et décantation comme pour l'entraînement à la vapeur [34].

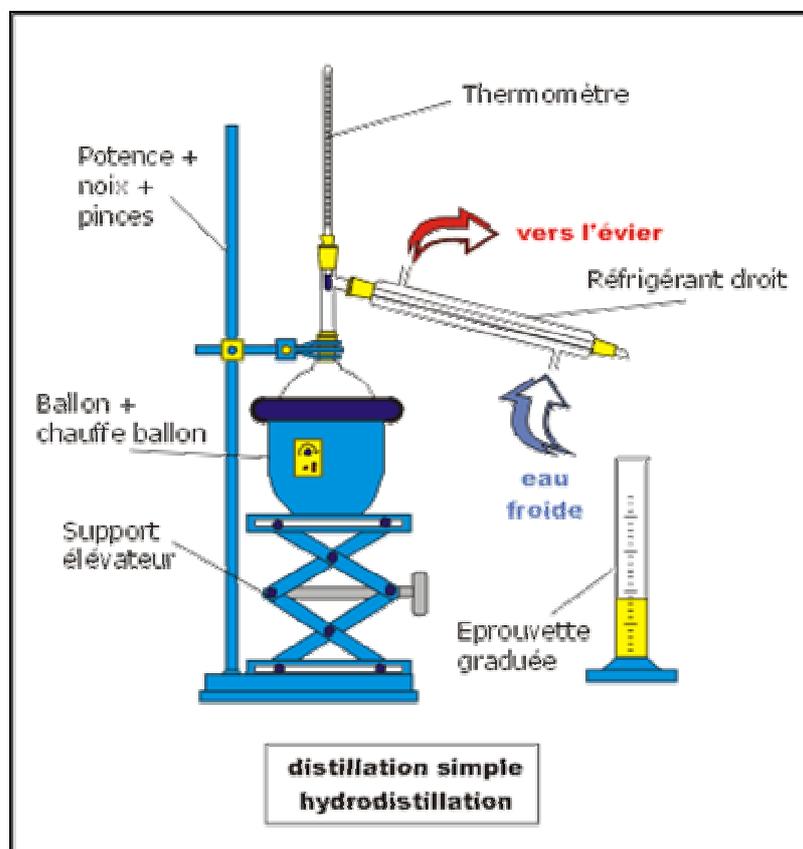


Figure 17 : distillation simple ou hydrodistillation

Lors de l'hydrodistillation des huiles essentielles, des phénomènes sont à la base d'échanges de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de la production.

Les expérimentations [29], [35] conduites jusqu'à épuisement du substrat en essence montrent que la durée de la distillation est plus longue pour les organes de plantes ligneuses que pour les herbacées.

Cette différence est fortement liée à la localisation des structures d'élaboration ou de stockage des essences qui peuvent être superficielles ou internes. De ce fait, elles ont une influence sur le déroulement de l'hydrodistillation, c'est-à-dire sur les mécanismes successifs mis en jeu, et par conséquent sur la durée.

Dans le cas où ces structures sont superficielles, la membrane externe ou la cuticule qui constituent les seules barrières à la libération de l'huile essentielle, est vite rompue à ébullition, les composés volatils sont aussitôt évaporés. Lorsque les essences sont sous-cutanées, elles doivent d'abord diffuser à travers l'épaisseur du tissu végétal avant d'entrer en contact avec l'eau ou sa vapeur. Elles sont alors évaporées comme dans le cas des sécrétions superficielles [36].

En ce qui concerne la localisation des sites producteurs d'essence, les molécules odorantes sont rencontrées dans tous types d'organes : racine, tige, bois, écorce, feuille, fleur, fruit, etc. Elles sont produites par diverses structures spécialement différenciées dont le nombre et les caractéristiques sont très variables.

Nous distinguons :

- les poils glandulaires épidermiques rencontrés souvent chez les Labiaceae, Géraniaceae et Rutaceae. Ils produisent les essences dites superficielles.
- les organes sécréteurs sous-cutanés comprenant des cellules et des poches sécrétrices qui sont généralement disséminées au sein du tissu végétal chez les Myrtaceae, Aurantiaceae, ainsi que des canaux sécréteurs chez les Umbelliferaeae [17].

4.2. L'entraînement à la vapeur d'eau :

Elaboré par le médecin et philosophe Ibn Sina (980-1037), l'entraînement à la vapeur d'eau dit parfois "distillation à la vapeur", est une méthode de séparation et/ou de purification, fondée sur les équilibres de changement d'état liquide/vapeur, sans rectification et le plus souvent, en présence de vapeur d'eau [34].

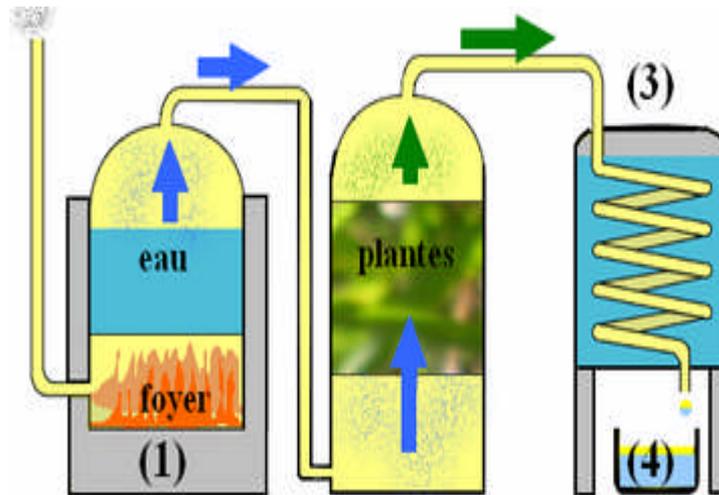


Figure 18 : Entraînement à la vapeur d'eau

Elle est basée sur le fait que la plupart des composés odorants contenus dans les végétaux sont susceptibles d'être entraîné par des aérosols de vapeur d'eau, du fait du point d'ébullition relativement bas du mélange. Pour ce faire, la plante ou organe de la plante est placé dans un appareil de distillation traversé par un courant de vapeur d'eau [34].

Les principes volatils peu solubles dans l'eau sont entraînés et après condensation, séparés du distillat par décantation.

Fondement thermodynamique de l'entraînement à la vapeur d'eau :

Le procédé, correspondant à une distillation hétérogène, met en jeu l'application de deux lois physiques [37], [38] :

- **La loi de Dalton** : dans laquelle la pression du mélange de vapeurs est égale à la somme des tensions de vapeur de divers constituants.

$$P_T = T_H + T_E$$

- **La loi de Raoult** : le rapport des quantités des entités distillées simultanément est fonction de la tension et des densités des vapeurs (donc des masses moléculaires) à la température de distillation choisie.

$$\frac{\text{Mole H}}{\text{Mole E}} = \frac{T_H}{T_E}$$

La relation de ces deux lois donne respectivement la pression totale et la composition des vapeurs en fonction des pressions partielles, d'où le calcul du taux de corps entraîné appelé également rapport d'entraînement :

$$R = \frac{T_H}{T_E} * \frac{M_H^0}{M_E^0} = \frac{P_H}{P_E}$$

H et E désignent respectivement l'huile essentielle et l'eau,

P_T = Pression totale

T : Tension de vapeur

M : masse molaire

P : poids

R : rapport d'entraînement

La température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeurs 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 distillée possède une température inférieure à 100°C à pression atmosphérique (généralement proche de 100°C en raison de la faible tension des constituants odorants) alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées.

La figure 19 montre l'évolution de la température de co-distillation d'un mélange hétérogène d'eau et d'huile essentielle.

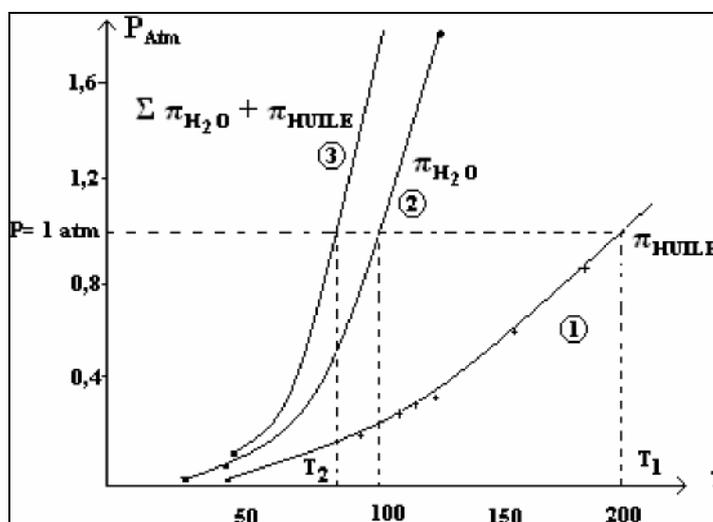


Figure19 : Evolution des températures de distillation de l'eau et l'huile essentielle, et du mélange eau/huile essentielle en fonction de la pression du milieu [15]

4.3. L'extraction par solvant :

C'est le procédé d'usage pour l'extraction des concrètes, résinoïdes et absolues .il consiste à épuiser la matière végétale de ses constituants odorants au moyen d'un solvant, dans la plupart des cas à la température ambiante.

Le solvant chargé, appelé miscella est ensuite récupéré par évaporation sous vide afin d'éviter la dégradation thermique des molécules odorantes [39].

La concrète est le résultat d'une extraction de la matière végétale fraîche ou séchée, au moyen d'un solvant non hydroxylé (de faible constante diélectrique), le plus souvent de l'éther de pétrole ou de l'hexane. Le procédé est effectué a température ambiante.

Entant que produit aromatique naturel, la concrète restitue fidèlement l'odeur de la matière végétale, est la plus durable que celle de l'huile essentielle [40].

Les résinoïdes sont le produit de l'extraction au moyen d'un solvant polaire (alcool éthylique, acétone). L'extraction est effectuée à chaud.

Outre les substances aromatiques, les solvants organiques extraient des cires et des colorants naturels, c'est pourquoi dans la plupart des cas, les concrètes ou les résinoïdes subissent plusieurs lavages à l'alcool (95%) à basses températures (environ -20%) a fin d'éliminer les cires et se transformer ainsi en absolues [34].

4.4 Facteurs à considérer pour la mise en œuvre de l'extraction de la matière végétale :

La définition d'un procédé d'extraction commence en général par la spécification de la méthode mise en œuvre et des facteurs l'affectant.

On se propose de définir quelques facteurs important qui peuvent avoir une grande influence sur le rendement de chaque méthode.

4.4.1 Nature du solvant :

Dans le cas de l'extraction par solvant, seul quasiment, la nature du solvant peut conduire à une spécificité des résultats, la procédure étant pratiquement la même, à l'exception des conditions de température. Le choix du solvant dépend de nombreux paramètres techniques et économiques.

En effet, un bon solvant, sélectif et volatil fournit des solutions riches en soluté désiré tout en réduisant les opérations d'évaporation, aussi le choix du solvant à faible viscosité et de masse volumique peu élevée est recommandé pour faciliter sa diffusion, l'agitation et la séparation mécanique.

En résumé, le solvant soit satisfaire les spécifications suivantes :

- Etre sélectif par apport aux produits à extraire ;
- Posséder une grande capacité de dissolution ;

- Avoir une température peu élevée, pour éviter toute dégradation des constituants thermolabiles ;
- Etre non toxique, non inflammable, non explosif.
- Avoir une volatilité élevée, pour éviter les opérations d'évaporation ;
- Avoir une faible viscosité et une masse volumique peu élevée, pour faciliter la diffusion, l'agitation et la séparation mécanique.

Remarque sur l'extraction par fluide supercritique :

Lorsqu'on place du CO₂ à une pression de plus de 74 bars et à une température supérieure à 31°C, on l'appelle du CO₂ supercritique. Il permet sous cette forme une forte récupération des substances aromatiques volatiles qui pourront être fixées par la suite sur un support et réintroduites dans divers aliments.

Un tel CO₂ est utilisé aujourd'hui à l'échelle industrielle et agit comme solvant pour extraire et purifier les molécules de faible masse moléculaire (2 000 Dalton). Cependant, certains composés ne deviennent extractibles qu'en ajoutant au CO₂ un co-solvant (éthanol). L'extraction est possible du fait de la forte diffusivité du CO₂ à l'état supercritique. Un réglage approprié permet d'extraire sélectivement la fraction volatile (huiles essentielles) de la matière première, puis les fractions lourdes (oléorésines). Les étiquettes de composition sont généralement explicites sur ces termes d'huiles essentielles ou d'oléorésines [15]

4.4.2 Température :

Il est difficile de cerner de façon simple l'influence de la température sur l'extraction. Car ce facteur agit de façon complexe sur tous les effets concernant l'extraction. On peut grossièrement distinguer deux cas :

4.4.2.1 Extraction ne mettant pas en jeu l'hydrolyse enzymatique :

Dans ce cas les gammes élevées de température sont favorables au rendement de l'extraction et ceci pour quatre raisons principales :

- La chaleur facilite l'extraction en perméabilisant la paroi cellulaire par dénaturation.
- La chaleur, du moins dans les gammes usuelles, augmente la solubilité des matières à extraire.
- La chaleur augmente le coefficient de diffusion.
- La chaleur, enfin, diminue la viscosité des jus d'extraction, ce qui facilite non seulement le passage du jus à travers la masse du substrat solide, mais aussi les opérations ultérieures de séparation (sédimentation ou filtration).

Une température excessive, par contre, agit en sens contraire par dénaturation des produits à extraire.

Le souci de sélectivité peut être un facteur limitant la température choisie : on ne dépasse pas en huilerie la température de 50°C à 55 °C lors de l'épuisement des tourteaux, afin d'éviter l'extraction des gommés et des mucilages. De même lorsqu'on abaisse la température pour améliorer la qualité du café.

4.4.2 Extraction mettant en jeu des hydrolyses enzymatique :

On se range alors aux températures optimales d'activités des enzymes impliquées, quitte à modifier la température après hydrolyse pour l'adapter aux étapes suivantes.

4.4.3. PH du milieu d'extraction :

Le PH du milieu d'extraction intervient essentiellement au niveau de la dissolution des composées solubles et au niveau de la solubilisation de la fraction hydrolysable.

Les macromolécules douées d'une certaine polarité, sont spécialement concernées par le PH. Enfin, d'une manière secondaire, le PH peut être mis à profit pour apporter à l'extraction une certaine sélectivité.

4.4.4. Taille et forme des particules :

Il est clair qu'on a doublement intérêt de travailler sur des particules fines, les échanges osmotique seront d'autant plus important que la surface totale des particules sera plus élevée et que le rayon des particules sera plus faible. C'est pourquoi, dans la pratique, une extraction est toujours précédée d'une opération mécanique (découpage, râpures), on peut également favoriser le rapport surface sur le volume en agissant sur la forme des éléments solides.

On est cependant limité dans la finesse des particules : une exagération dans le sens diminue la perméabilité du lit solide au solvant, ce qui entraîne l'établissement de courants préférentiels et le blocage du processus d'extraction à certains endroits où le solvant ne circule plus. D'autre part, il faut prévoir l'opération suivante qui est toujours une phase de clarification (séparation du jus et du résidu insoluble) : celle-ci est d'autant plus difficile, quelle que soit la technique employée, que la taille des particules à séparer est réduite.

4.4.5 Puissance d'agitation :

L'agitation mécanique des systèmes d'extraction solide – liquide est toujours favorable pour l'augmentation du rendement en créant une phase liquide uniformément concentrée.

4.4.6 Taux d'humidité du solide :

Lors de l'utilisation des solvants hydrophobes, la diffusivité varie inversement avec la teneur en eau du solide.

4.4.7. Durée d'extraction :

Une longue durée d'extraction favorise la récupération du soluté, mais en industrie, il est conseillé d'arrêter l'extraction à l'instant où le rendement en produits désirés soit maximal [15], [17], [41]

4.5. Notions importantes :

4.5.1 Pouvoir de solubilisation [17] :

Le pouvoir de solubilisation est rattaché à ses caractéristiques moléculaires, définissant notamment sa polarité et son hydrophilie, utilisées en tant qu'indicateurs de l'affinité chimique.

Les caractéristiques de polarité et d'hydrophilie sont notamment révélées par :

- la présence de groupes fonctionnels dissociant.
- le potentiel de liaison hydrogène et la faculté de mise en commun d'électrons,

Cette approche sur la capacité extractive des solvants se justifie d'autant plus qu'elle concerne des substrats végétaux dont la teneur en eau peut atteindre 80% pour les matières fraîches. L'affinité eau/solvant conditionne la diffusion dans les tissus riches en eau et dans les cellules où l'eau libre est abondante.

En outre, la solubilisation peut atteindre le milieu interstitiel qui participe à l'intégrité des tissus. Cette action prime sur les facteurs intervenants sur le pouvoir extractant, notamment liés à la diffusion en relation avec les propriétés physiques du solvant. Par sa qualité destructurante, elle a pour incidence d'assurer la diffusion du solvant dans les tissus végétaux [42]. Indicateur de l'affinité vis-à-vis de l'eau, une forte polarité se traduit soit par une action directe du solvant sur les constituants polaires du contenu cellulaire, soit par une solubilisation de certains de ces constituants ou encore par une rupture des interactions.

Un exemple de cette interaction et rupture concerne l'éthanol, qui a une grande affinité pour l'eau. Il déstabilise les interactions hydrophobes responsables de la structure tertiaire des molécules protéiques ou lipoprotéiques présentes dans les membranes cellulaires. De plus, l'action alcoolisée de l'éthanol, provoque certaines dégradations au sein des matières végétales portant notamment sur la rupture des ponts éther des molécules phénoliques, en particulier des motifs de lignine [43], [44].

. L'éthanol modifie donc la structure des tissus ligneux ainsi que le contenu cellulaire des matières traitées.

Quelles que soient ses propriétés physiques déterminant sa diffusion, l'éthanol bénéficie d'un fort pouvoir extractant dès lors que la majorité des tissus, dont les tissus structuraux et de soutien de la matière végétale, est d'origine ligno-cellulosique. En ce qui concerne l'affinité vis-à-vis de l'eau, deux facteurs sont à prendre en compte : la solubilité du solvant dans l'eau et la solubilité de l'eau dans le solvant.

Ces facteurs interviendront vraisemblablement sur la diffusion des produits à l'intérieur du contenu cellulaire, notamment la solubilité dans l'eau pour la circulation du solvant dans les milieux hydratés. La solubilité de l'eau et sa polarité sera plus particulièrement déterminante pour prévoir le pouvoir du solvant vis-à-vis des composés hydrophiles dans un milieu hydrophile.

4.5.2 Le pouvoir extractant :

L'estimation de l'efficacité d'un solvant ne peut pas être réduite aux seules propriétés chimiques de polarité et d'affinité vis à vis de l'eau. Nous devons également tenir compte

des propriétés physiques déterminant la capacité du solvant à pénétrer dans une matrice poreuse, donc nous parlons de pouvoir extractant. Le pouvoir extractant est défini par la capacité du solvant à pénétrer et à diffuser dans la structure végétale de telle sorte qu'il rencontre et entraîne les molécules cibles. Evidemment ce dernier processus suggère la solubilisation de ces molécules par le solvant.

Il est clair que ces notions de pouvoir solvant et extractant, ainsi que de sélectivité chimique, sont liées les unes aux autres par les caractéristiques chimiques et physiques du solvant. Nous tenterons d'apprécier le pouvoir extractant selon deux composants eux-mêmes liés à plusieurs paramètres indiqués ci-dessous :

- la capacité de pénétration : tension superficielle et viscosité.
- la capacité de diffusion [17].

4.5.3 La capacité de pénétration :

La faible tension superficielle d'un liquide dans lequel on immerge une matrice solide poreuse tel qu'un substrat végétale, permet un bon mouillage des pores, d'autant plus si ces pores sont de petite dimension, d'où une pénétration efficace du liquide, notamment s'il s'agit d'une matière à organisation cellulaire. Si la viscosité du liquide est peu élevée, il bénéficiera d'un bon écoulement dans les pores et circulera naturellement dans les espaces intercellulaires [43].

4.5.4 La capacité de diffusion :

La diffusion d'un composé A dans un système binaire A-B a lieu en générale grâce au gradient de concentration de A. ce phénomène est appelle « diffusion ordinaire ». Par opposition à la diffusion sous pression où le mouvement de A résulte d'un gradient de pression, ou la diffusion thermique (la progression de A découle d'un gradient thermique), ou la diffusion force (la dispersion de A résulte d'un apport énergétique externe quelconque). La diffusion dans un système multiphasique est plus complexe car elle n'est pas régie par un simple équilibre de la viscosité au sein du milieu. Liley et col [45] utilisent l'équation de Stokes Einstein pour calculer le coefficient de diffusion de A dans B en phase liquide.

$$D_{AB} = RT / 6\pi\eta_B r_A$$

Le coefficient de diffusion des solvants dans les matières végétales est impossible à déterminer selon ce modèle mathématique, car les matières végétales sont des corps complexes hétérogènes pour lesquels on ne dispose pas des constantes physico-chimiques.

Cependant, Liley montre que le coefficient de diffusion des solvants est lié à leur viscosité. En ce qui concerne la diffusivité d'une solvant dans une matière végétale, Krasuk et col [46] rapportent qu'elle dépend de certaine facteur internes tels que l'épaisseur et la taille des particules, le teneur en eau et en huile, etc..

Ainsi la diffusivité est fréquemment corrélée à la viscosité cinématique (γ) donne par la relation :

$$\gamma^* = \mu / \rho$$

* Exprime en (cm². sec⁻¹)

γ : viscosité cinématique

μ : viscosité dynamique

ρ : masse volumique

Partie expérimentale :

Chapitre I :

Récupération des huiles essentielles et des concrètes de l'inule visqueuse

Introduction :

Cette partie sera consacrée à l'étude de l'extraction des HE de l'inule visqueuse provenant de la région montagneuse de Beni chograne (860 m altitude) située géographiquement à l'est de Mascara (380 à l'ouest d'Alger). La plante a été cueillie à la fin du mois de mars

A cet effet trois procédés ont été utilisés :

✚ Une extraction par solvant qui est le n-hexane par deux méthodes différentes, à savoir :

1. Une extraction dans un Soxhlet.
2. Une extraction en continu par le même solvant

✚ une extraction par entraînement à la vapeur d'eau. (avec et sans cohobation).

✚ Une hydrodistillation

Dans les deux derniers cas on s'intéressera à l'étude de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle.

1. Extraction par solvant :

1-1 Extraction dans un Soxhlet

Principe :

Le solvant d'extraction est porté à ébullition. Ces vapeurs traversent le Soxhlet, sont condensées au niveau du réfrigérant et s'écoulent au travers de l'échantillon dans la cartouche. Ce système de distillation-condensation assure au solvant une circulation en continu dans l'échantillon. Un siphon permet au solvant de s'écouler de la cartouche pour retourner dans le ballon. Le solvant peut donc recommencer un nouveau cycle d'évaporation - condensation. Cette méthode est utilisée pour l'extraction des composés non volatils et semi volatils.

Son principal avantage est que l'échantillon est continuellement extrait avec du solvant renouvelé. Un temps d'extraction long et un volume de solvant nécessaire important sont les principaux inconvénients de cette technique manuelle.

L'appareillage :

L'appareillage utilisé dans ce mode d'extraction est représenté sur la **figure 20** et se compose de :

1. un soxhlet de 125 ml.
2. un ballon de 1 litre.
3. un réfrigérant à boule.

4. un chauffe ballon régulé. 5. cartouche en papier (papier thimble)

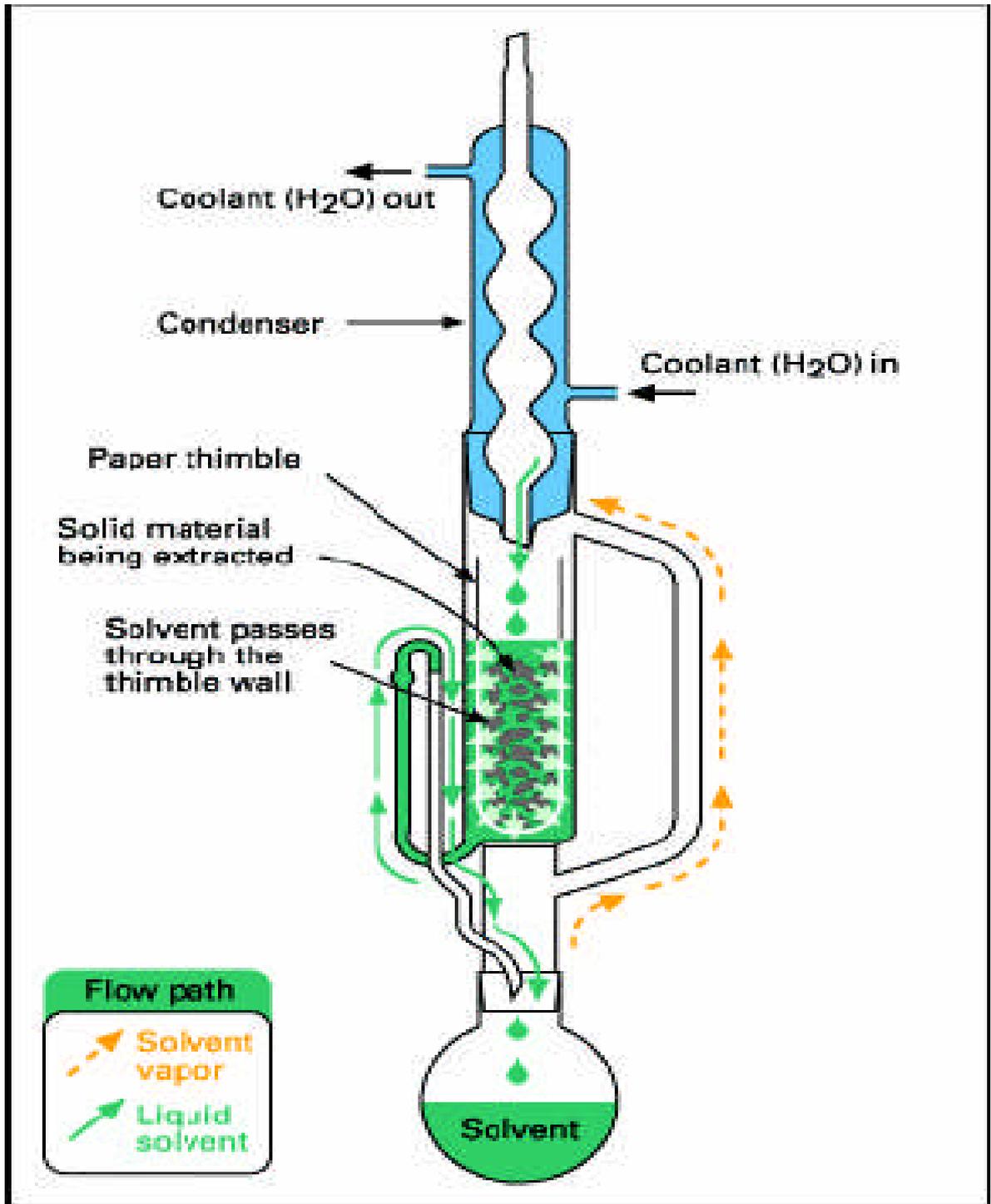


Figure 20: extraction dans un Soxhlet

Mode opératoire :

On procède lors de cette manipulation comme suit :

- On pèse une quantité suffisante de matière végétale pour remplir la cartouche (10 g).
- Mettre la matière pesée dans la cartouche ;
- Placer la cartouche dans le soxhlet ;
- Remplir au **2/3** le ballon avec du n-Hexane ;
- Assembler le montage de la **figure 20** ;
- Mettre en marche le chauffe ballon ;
- Ouvrir le robinet d'eau passant par le réfrigérateur ;
- Le solvant est porté à ébullition ;
- Les vapeurs de solvant se condensent dans le réfrigérant ;
- Les gouttelettes de solvants s'écoulent dans le récipient du soxhlet et entre en contact avec la matière végétale ;

- Quand le solvant condensé atteint son plus haut niveau, il retourne par le trop-plein du ballon et le cycle évaporation – condensation se poursuit jusqu'à épuisement de la matière végétale ;

- L'extrait avec le solvant sont recueilli dans le ballon ;
- Après épuisement total de la matière végétale, le solvant chargé d'extrait subit une distillation atmosphérique suivi d'une distillation sous vide pour récupérer l'extrait.

Condition opératoire :

Quantité de matière végétale	10 g
Taux d'humidité	7.46%
Pression	atmosphérique
Volume du solvant	0.66 litre environ
Durée d'extraction	7 heures

Tableau 2 : conditions opératoires de l'extraction dans un Soxhlet

Le mélange (extrait + solvant) a subit une distillation sous vide a l'aide d'un rot a vapeur

Résultats et discussion :

Le rendement en masse de cette méthode a donné une quantité de substance huileuse de l'ordre de 0.05965 soit 5.965 % de la masse totale humide, ou 6.51% de la masse sèche.

Bien que le rendement apparaît important, il faudra noter que cette substance huileuse n'est pas composée seulement d'huiles essentielle, il existent autre composés tel que les cires, les colorants, d'où la nécessité d'un traitement par de l'éthanol.

La solution éthanolique est généralement refroidie et filtrée dans le but d'éliminer les cires. L'éthanol est ensuite éliminé par distillation.

1-3 L'extraction en lit fixe avec circulation en continu du solvant :

L'appareillage utilisé ressemble à celui qui est présenté sur la figure 21

- | | |
|--|----------------|
| 1. ballon | 7. Réfrigèrent |
| 2. Support | 8. Thermomètre |
| 3. Chauffe ballon | |
| 4. Colonne d'extraction | |
| 5. entrée de l'eau chaude (non utilisée) | |
| 6. sortie de l'eau chaude (non utilisée) | |

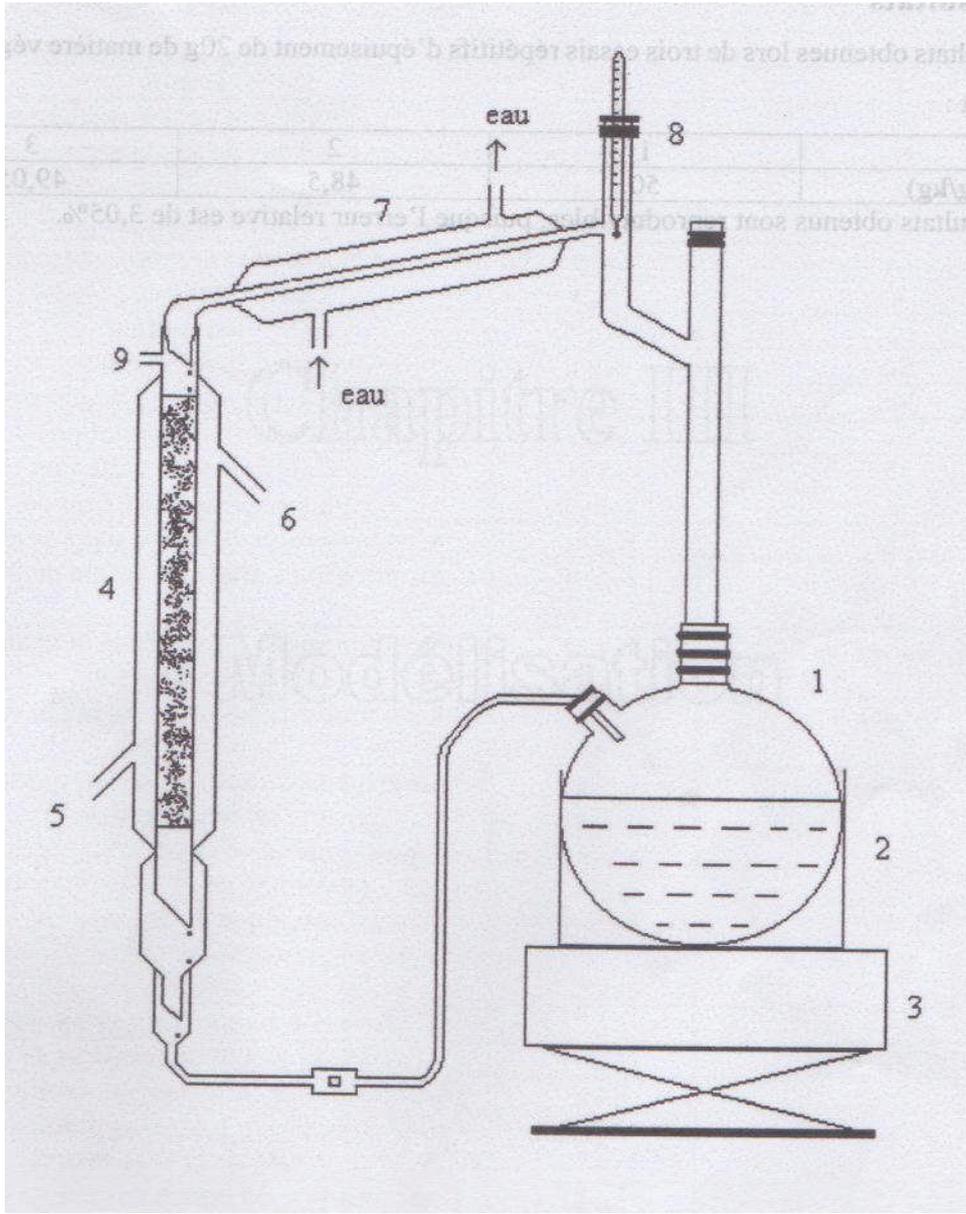


Figure 21: montage de l'extraction lit fixe avec circulation en continu du solvant

Mode opératoire :

- Introduire dans la colonne d'extraction la masse végétale pesée.
- Remplir l'extracteur par de l'hexane pur jusqu'à immersion de la plante.
- Remplir le ballon à moitié par le solvant.
- Porter à ébullition l'hexane contenu dans le ballon,
- Ajuster le débit de sortie de la colonne de façon à maintenir le lit immergé par le solvant.

Condition opératoire :

Quantité de matière végétale	15.032 g
Taux d'humidité	7.46%
Pression	atmosphérique
Volume du solvant	0.5 litre (dans le ballon),
Durée d'extraction	7 heures

Tableau 3 : conditions opératoires de l'extraction en lit fixe

Résultat et discussion :

Le mélange (extrait + solvant) a subi une distillation poussée sous vide pendant 02 heures afin d'éliminer le solvant restant, le rendement en masse de cette méthode est de l'ordre de 0.7894 g (sans solvant), soit 5.25 %, ou 5.73% de la matière sèche.

Il faudra noter aussi que ce rendement ne reflète pas réellement la teneur réelle en HE d'où la nécessité d'un traitement afin d'éliminer les cires et les autres composés lourds tel que les cires et les colorants, etc....

L'extraction par Soxhlet fournit le meilleur rendement que celui obtenu par extraction en lit fixe.

La comparaison du rendement des deux méthodes précédentes montre bien l'influence du facteur température sur le rendement, on a supposé que les deux extraits possèdent la même teneur en composés chimiques, l'extraction dans un Soxhlet (à chaud) fournit un meilleur rendement que l'extraction en lit fixe (à froid) d'où l'intérêt d'une étude auxiliaire afin de déterminer l'influence du facteur température.

Remarque :

La valeur du rendement calculée par cette méthode a été calculée indirectement, en effet la distillation sous – vide n'a pas permis d'éliminer tout le solvant restant (Hexane). Une analyse par CPG a permis de déterminer la fraction du solvant restante (1.87 % en masse) d'où le résultat précédent.

1- 4 Extraction par entraînement a la vapeur d'eau :

Appareillage : l'appareillage utilisé est représenté sur la **figure 22** :

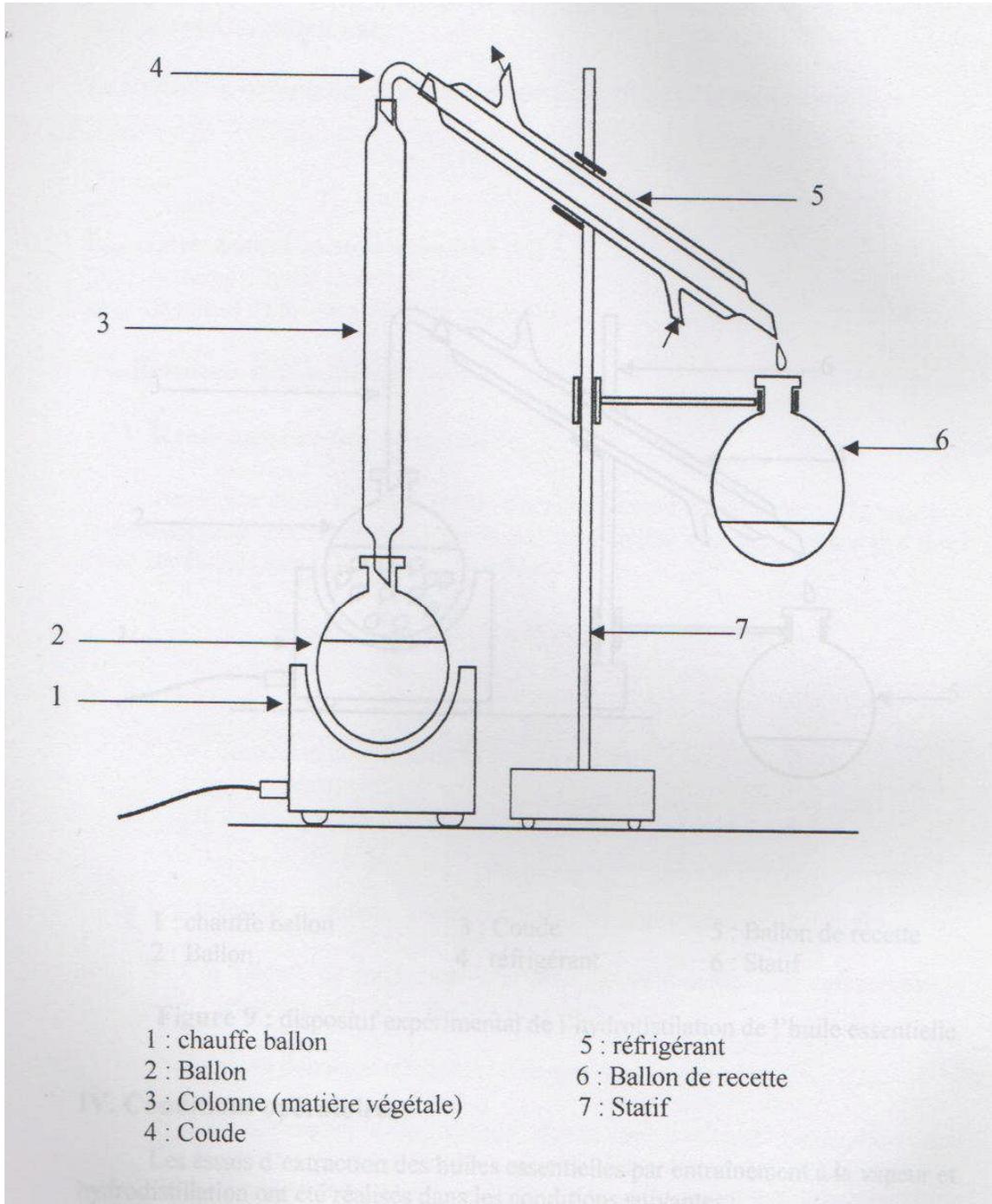


Figure 22 : montage de l'entraînement a la vapeur

Mode opératoire :

- Introduire dans la colonne d'extraction la masse végétale pesée ultérieurement.
- Porter à ébullition l'eau contenue dans le ballon de 2 litres.
- Peser les tubes à essais vides
- Prélever pour des intervalles de temps bien défini dans un récipient des quantités de vapeur condensée chargée d'extrait.
- Ajouter une quantité d'éther diéthylique et laisser décanter dans une ampoule à décanter.
- Mettre les échantillons dans les tubes à essais
- Séparer les deux phases et laisser l'éther se volatiliser.
- Peser à nouveau les tubes à essais, la différence représente la masse de l'huile essentielle.

Condition opératoire :

Masse de la matière végétale	10 g
Taux d'humidité	7.46 %
Température	100
Pression	Atmosphérique
Durée d'extraction	2 h

Tableau 4 : condition opératoire de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau :

Etude cinétique de l'extraction :

Essai n° 1 :

Tube n°	1	2	3	4	5	6	7	8
Temps (min)	5	10	20	30	45	65	90	120
Masse de l'huile	0.0111	0.0117	0.0205	0.0288	0.0318	0.0284	0.0165	0.0111
Valeurs cumulées	0.0111	0.0228	0.0433	0.0721	0.1039	0.1323	0.1488	0.1599

Essai n°2 :

Tube n°	1	2	3	4	5	6	7	8
Temps (min)	5	10	20	30	45	65	90	120
Masse de l'huile	0.0099	0.0115	0.0189	0.0251	0.0283	0.0259	0.0162	0.0093
Valeurs cumulées	0.0099	0.0214	0.0403	0.0654	0.0937	0.1196	0.1358	0.1451

L'évolution de la quantité de l'huile récupérée au cours du temps est donnée sur le graphe suivant :

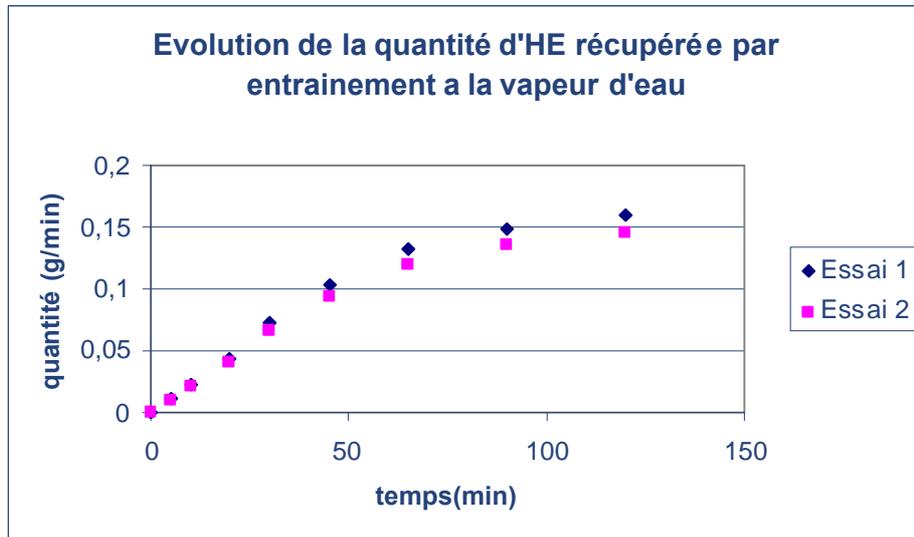


Figure 23 : Evolution de la quantité HE récupérée par entraînement à la vapeur (sans cohobation) en fonction du temps

Calcul du rendement :

Le rendement en huiles essentielles est calculé en utilisant la relation suivante :

$$R_{HE} = \frac{M_{HE}}{M_{MVS}} * 100$$

Avec :

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

M_{HE} : la masse d'huile essentielle.

M_{MVS} : masse de la matière végétale sèche.

Le rendement du premier essai avoisine 1.727%, alors que le deuxième donne un rendement inférieur à la première (1.693%), ceci peut être expliqué par deux hypothèses :

- Le deuxième essai a été réalisé 03 semaines après le premier, cette période est suffisante pour que la plante perde une partie de ces composés volatils.
- La deuxième supposition est les pertes en produits lors des différentes opérations de séparation et de décantation

Une deuxième série d'essais a été faite par le même mode d'extraction et dans **les mêmes conditions opératoires** mais avec cohobation afin d'évaluer les pertes qui pouvait avoir lieu lors des différentes opérations de séparation ou décantation ; les vapeurs

condensées sont récupérées dans une ampoule à décanté , les HE de densité inférieure à celle de l'eau flottent à la surface et l'eau s'écoulet vers le ballon à travers le robinet de l'ampoule se qui permet de créer un cycle évaporation – condensation- décantation de la vapeur d'eau.

La couche supérieure dans l'ampoule s'enrichit de plus en plus de l'huile et la séparation se fait de la même manière c'est-à-dire par extraction liquide –liquide par l'éther diéthylique ce qui permet de minimiser les pertes dues essentiellement lors des différentes opérations de séparation - décantation.

La moyenne des résultats des essais par cette méthode a donné un rendement de 1.897 % ce qui permet d'estimer les pertes de l'ordre de 10.73% ce qui est important.

Par ailleurs l'allure de la courbe de la cinétique d'extraction est donnée par le graphe suivant :

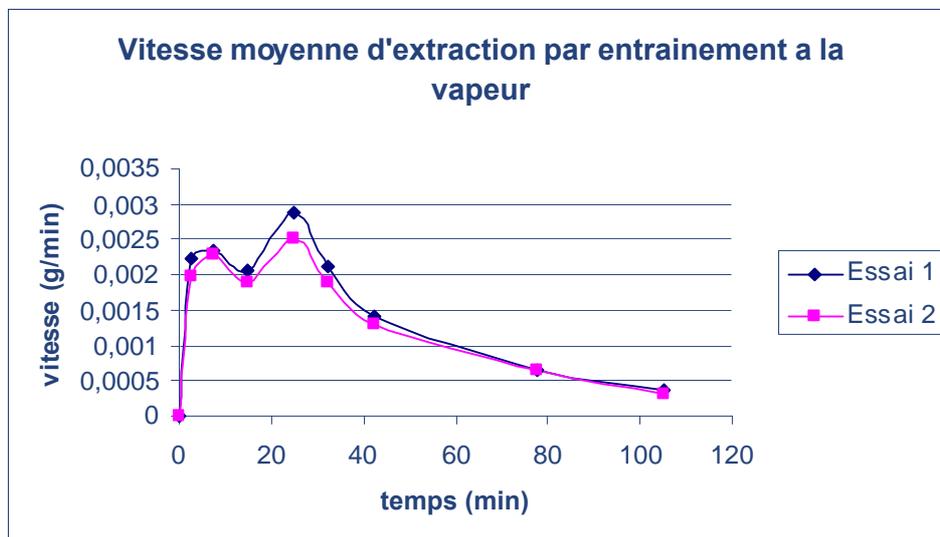


Figure 24 : vitesse moyenne d'extraction par entraînement a la vapeur en fonction du temps

On remarque bien l'existence de deux maximaux, le premier correspond à l'extraction des HE des sites exogènes, le deuxième concerne les sites endogènes.

L'analyse de cette courbe permet de dire que les sites endogènes sont plus riche en HE que les sites exogènes se qui peut être constaté par l'allure de la courbe de la **figure 25**, la courbe de pente faible au départ permet de dire que la plante est plus endogène qu'exogène.

3- Extraction par Hydrodistillation:

Appareillage : l'appareillage est représenté sur la **figure 25** :

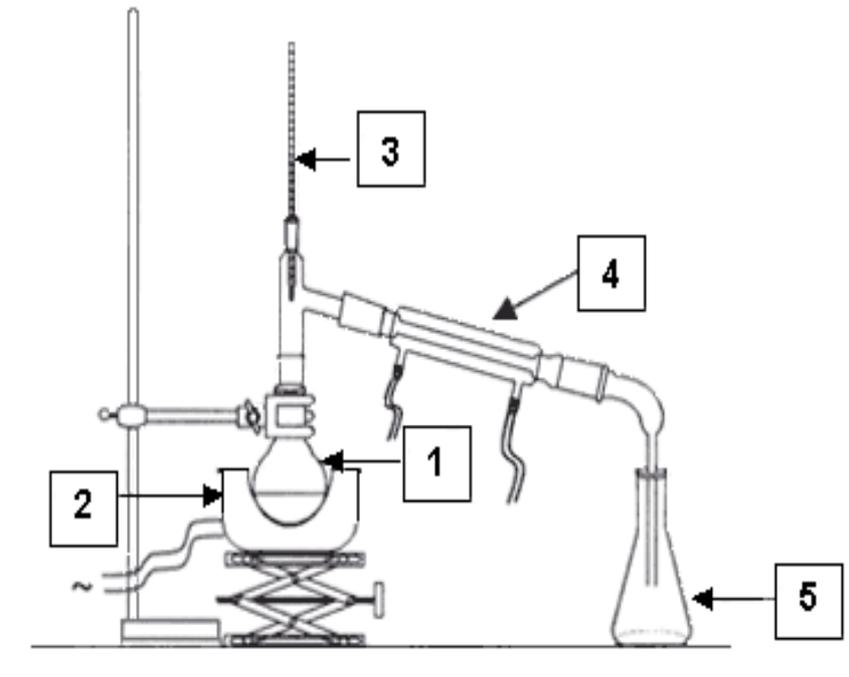


Figure25 : schéma du montage expérimental de l'hydrodistillation

1. Ballon 2. Chauffe ballon 3.thermomètre 4. Réfrigérant 5. Erlène Meyer

Mode opératoire :

- On place la matière végétale dans le ballon remplie au 2/3 par de l'eau ;
- L'ensemble est porté à ébullition ;
- Les vapeurs condensées au niveau du réfrigérant sont récupérées dans un récipient Pour des intervalles de temps bien définis.
- L'huiles essentielle (phase surnageante) est séparée de l'eau par simple décantation et extraction liquide- liquide au moyen de l'éther diéthylique ($C_4H_{10}O$)

Condition opératoire :

Masse de la matière végétale	10 g
Taux d'humidité	7.46
Température	100
Pression	Atmosphérique
Durée d'extraction	2 h

Tableau 5 : condition opératoire de l'extraction par hydrodistillation:

Les résultats sont représentés sur les tableaux suivants :

Essai n° 1 :

Tube n°	1	2	3	4	5	6	7	8
Temps (min)	5	10	20	30	45	65	90	120
Masse de l'huile	0.0023	0.0061	0.0123	0.0115	0.0056	0.0073	0.0031	0.0000
Valeurs cumulées	0.0023	0.0084	0.0207	0.0322	0.0378	0.0451	0.0482	0.0482

Essai n°2 :

Tube n°	1	2	3	4	5	6	7	8
Temps (min)	5	10	20	30	45	65	90	120
Masse de l'huile	0.0014	0.0058	0.0099	0.0103	0.0066	0.0059	0.0020	0.0009
Valeurs cumulées	0.0014	0.0072	0.0171	0.0274	0.0340	0.0399	0.0419	0.0428

L'évolution de la quantité de l'huile récupérée au cours du temps est donnée sur le graphe suivant :

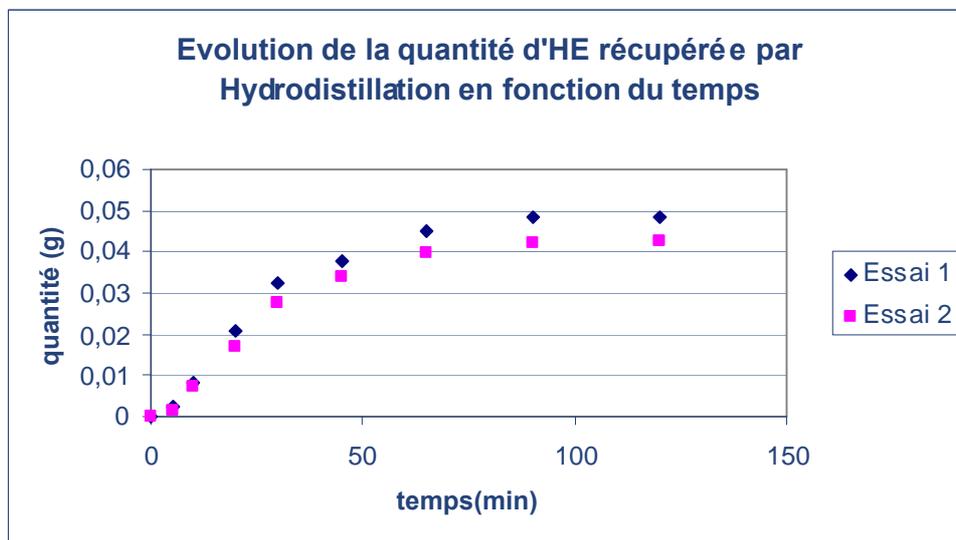


Figure 26 : Evolution de la quantité d'HE récupérée par hydrodistillation en fonction du temps

La moyenne des deux essais est de l'ordre de 0.491% ce qui est faible par rapport à la première méthode.

Cela peut être expliquée par le fait que certaine quantité d'HE est soluble dans l'eau, ou reste piégé au sein du liquide bouillonnant.

Par contre la courbe de la vitesse moyenne d'extraction a donnée la courbe suivante :

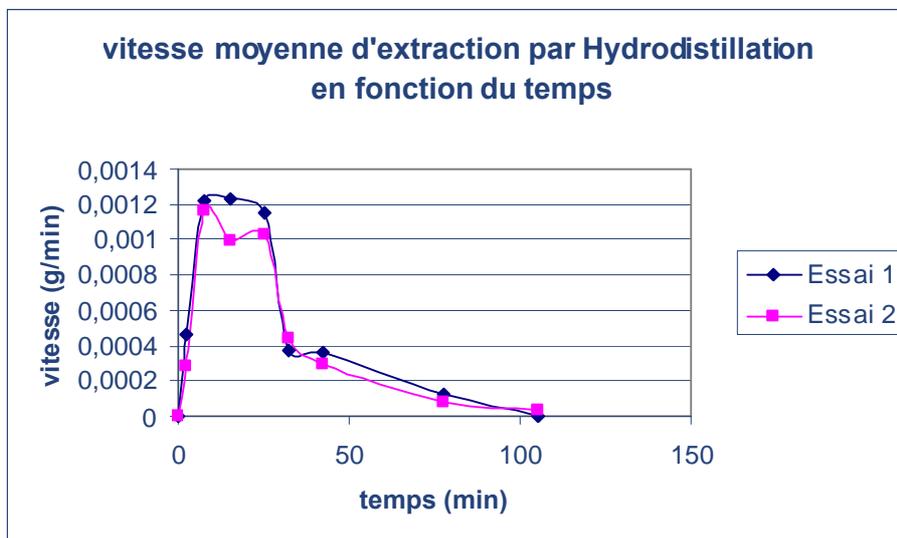


Figure 27 : vitesse moyenne d'extraction par hydrodistillation en fonction du temps

On remarque la même chose que pour l'entraînement, l'existence de deux maximums, le premier correspond à l'extraction des sites exogènes, le deuxième correspond à l'extraction dans les sites endogènes.

Propriétés organoleptiques et physiques de l'huile extraite :

Les caractéristiques physico- chimiques des HE extraites sont données dans le tableau suivant :

Caractéristiques		
organoleptique	Aspect	Liquide mobile
	Odeur	Jaune pale
	Couleur	Camphrée
Physique	Densités	-
	Indice de réfraction	1.512

Tableau 6 : caractéristiques organoleptique et physique des HE de l'inule visqueuse

Conclusion :

la comparaison des deux méthodes d'extractions nous laissent dire que l'entraînement à la vapeur est plus efficace que l'hydrodistillation car certains phénomènes physiques interviennent pour limiter le rendement de l'hydrodistillation, au cours de l'entraînement à la vapeur les molécules sont facilement extraites et entraînées par la vapeur, alors que dans l'hydrodistillation même si on suppose la diffusion des molécules vers l'extérieur se fait de la même manière, certains phénomènes physiques tel que la solubilisation de certaine fraction de l'huile dans l'eau, ou le degré d'agitation de l'eau bouillant, qui piège les molécules d'huiles et limite ainsi leur migration vers la surface.

L'analyse de l'évolution de la cinétique d'extraction (**rendement et vitesse**) montre l'existence de deux périodes d'extractions.

La première correspond à l'extraction des HE des sites externes (dites superficielles) qui atteint un seuil maximal avant de diminuer, le rendement étant faible par rapport à la deuxième qui possède un rendement meilleur et une vitesse maximale qui atteint 0.00136 % ce qui nous laisse dire que l'inule est une plante plus endogène qu'exogène, c.à.d. ces huiles essentielles sont localisées dans des sites internes plus que dans les sites externes.

Toutefois le choix d'une technique d'extraction n'est pas basé sur le rendement d'une huile essentielle, il faut tenir compte de la qualité de l'huile produite, aussi une analyse s'impose.

À première vue les méthodes d'extraction par solvant paraissent intéressantes du point de vue rendement, mais les diverses opérations que nous devons effectuer afin de purifier l'extrait (séparation de colorants, des cires par l'éthanol peuvent rendre cette opération plus coûteuse.

Nous suggérons une suite à cette étude concernant l'influence d'autres paramètres qui peut être effectuée afin de déterminer les conditions opératoires optimales, nous citerons :

- Les paramètres liés à la plante : lieu, période de cueillette, séchage
- Les paramètres technologiques : débits, température, pression, granulométrie, partie de la plante...

Chapitre II

**Analyse et activités
des huiles essentielles
et des concrètes de
l'insuline**

1 Rappels sur les méthodes analytiques:

1-1 Les méthodes chromatographiques :

La chromatographie, procédé de séparation des constituants d'un mélange est une méthodes analytiques de tout premier plan pour identifier et quantifier les composés d'une phase liquide ou gazeuse homogène, le principe repose sur les équilibres de concentration des composés présents, entre deux phases non miscibles dont l'une est emprisonnée dans une colonne ou fixée sur un support et l'autre, mobile se déplace au contact de la phase stationnaire. L'entraînement à des vitesses différentes des composés présents par la phase mobile conduit à leur séparation.

1.1.1 - Chromatographie en phase gazeuse :

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique très répandue, dont les premières applications- qui remontent au début des années 40- ont concerné des fractions légères des raffineries de pétroles. Son développement qui n'a cessé depuis, est dû à son extrême sensibilité, à sa polyvalence, permise par les nombreuses phases stationnaires commerciales, et à la rapidité de mise au point des analyses nouvelles. Les possibilités d'automatisation de cette technique augmentent encore son intérêt. La séparation sur la colonne se faisant sur des composés qui doivent être à l'état gazeux, l'analyse des composés liquides ou solides impose de pouvoir les porter à l'état de vapeur par chauffage. C'est sans doute la principale contrainte qu'il faut savoir apprécier avant de choisir cette technique, puisqu'elle limite son emploi à l'étude des composés moléculaires thermostable et suffisamment volatils

1.1.2 - Composition d'un appareil de CPG :

Un appareil de CPG correspond schématiquement à la réunion de différents modules spécialisés : l'injecteur, la colonne, et le détecteur, réunis dans un bâti unique (figure). La phase mobile qui entraîne l'échantillon dans la colonne est un gaz, appelé gaz vecteur. Les débits, contrôlés avec précision. Permettent une grande répétabilité des temps de rétention.

L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité de l'échantillon, sous forme liquide ou gazeuse, dans l'injecteur, qui a la double fonction de le porter à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de la colonne. Celle-ci se présente comme un tube de faible section enroulé sur lui-même, de 1 à 100 m de longueur suivant les cas et renfermant la phase stationnaire. La colonne est placée dans une enceinte à température réglable. La phase gazeuse en sortie de la colonne passe dans un détecteur avant de sortir à l'air libre.

1.1.3 – Tables des indices de rétention des composés organiques :

L'indice de rétention d'un composé, sur une phase et dans des conditions données, constitue une information intéressante, mais si on dispose, non plus d'un seul, mais plusieurs indices de rétentions du composé, obtenu avec différentes phases, on a alors un ensemble unique de données qui permet de mieux le définir.

1.2 - Spectrométrie de masse :

La spectrométrie de masse (SM) désigne une méthode d'analyses qui repose sur la détermination des masses des espèces atomiques ou moléculaires individuelles de l'échantillon analysé, ce qui permet de recueillir des informations sur sa nature sa composition et même sa structure.

1.2.1 - Principe de la méthode :

Une très petite quantité du composé à analyser sous forme gazeuse ou rendu tel est ionisée afin de soumettre les espèces qui en résultent à l'action d'un champ électrique et/ou magnétique selon le type de l'appareil. L'étude des trajectoires suivies, dans une enceinte où règne un vide poussé (10^{-4} pas), permet de déterminer le rapport *masse/charge* des ions, donc éventuellement leur nature. La méthode d'une extrême sensibilité détruit l'échantillon.

1.3 - Introduction dans le cas des techniques couplées :

Le moyen le plus simple de réunir un spectromètre de masse (SM) à un chromatographe en phase gazeuse (CPG) (couplage CG/SM), consiste à introduire dans la chambre d'ionisation à l'extrémité de la colonne capillaire un spectromètre. Les pompes à vide du spectromètre suffisent à maintenir le vide nécessaire à l'analyse, le débit dans la colonne ne dépasse pas 1 à 2 ml/min [47].

2. Analyses et compositions des huiles essentielles de l'inule visqueuse :

Les huiles essentielles récupérées ont été soumises, en premier lieu à des analyses par chromatographie en phase gazeuse. L'appareil utilisé est de marque HP série 6890. équipé d'un détecteur à ionisation de flamme.

Les conditions opératoires d'analyse par CPG sont les suivantes :

Colonne capillaire : HPWAX (60m, 0.32 mm, 0.15 μ m)

Détecteur : FID

Gaz vecteur : Azote

Condition analytique :

Injecteur : 220°C.

Détecteur : 260°C.

Colonne : 60 à 220°C de 3°C /min (80 min)

Débit : 0.85 millilitre/min

Volume injecté : 1 μ L

Mode d'injection : Split

Paramètre de l'intégrateur :

Att : 4

Cht Rej : 0.3 – 0.2

Ar Rej : 1000

Thrsh : 3

Pk Wd : 0

Le profil chromatographique des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation est donné par la **figure 28** :

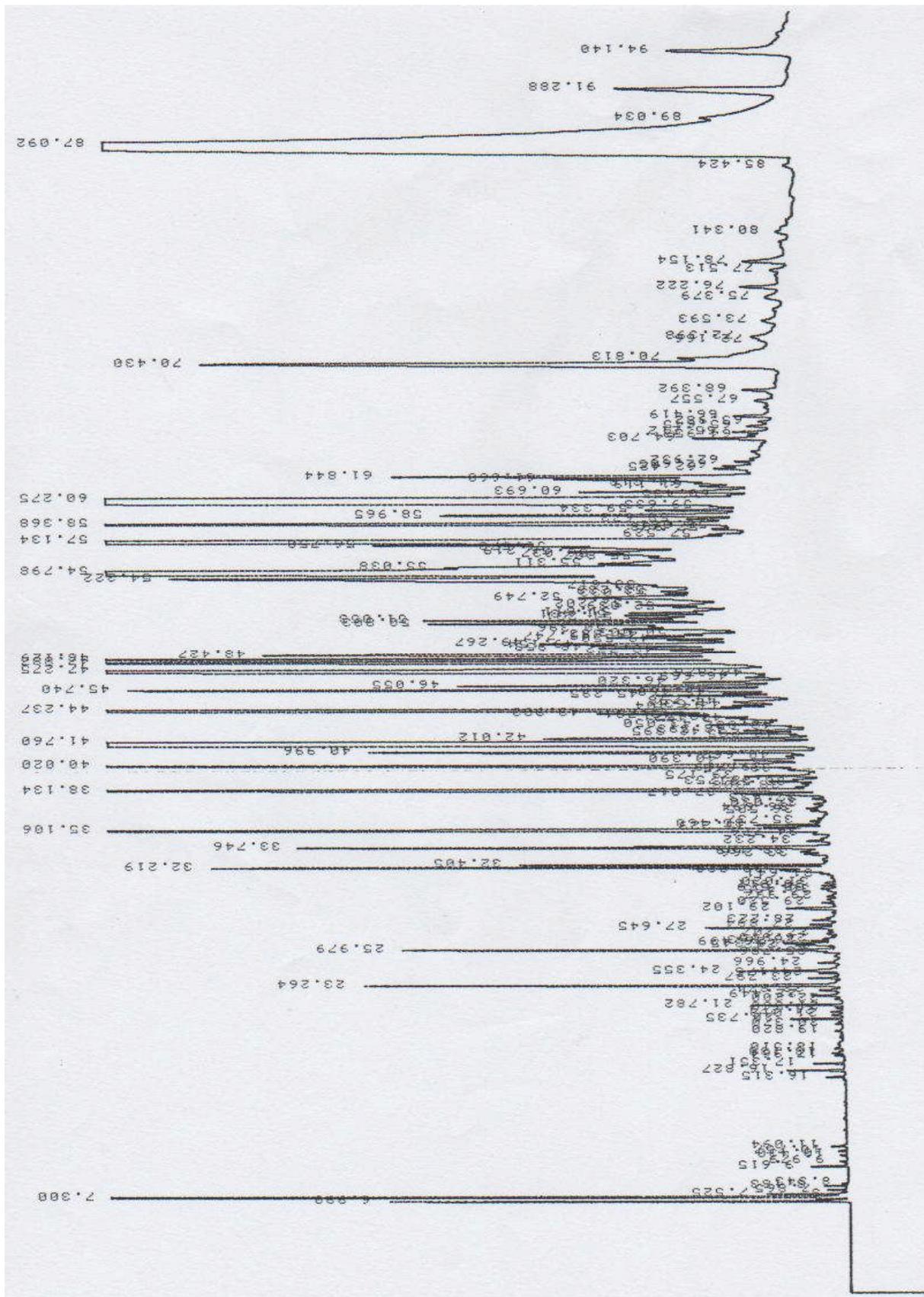


Figure 28 : chromatogramme des HE obtenues par hydrodistillation

Les indices de Kovats des composés sont calculés avec les formules suivantes :

Pour $T < 220^{\circ}\text{C}$

$$I_{ret(x)} = 100 * n + 100 * \frac{t_{ret(x)} - t_{ret(n)}}{t_{ret(n+1)} - t_{ret(n)}}$$

Pour $T = 220^{\circ}\text{C}$

$$I_{ret(x)} = 100 * n + 100 * \frac{\ln(T_{ret(x)}) - \ln(T_{ret(n)})}{\ln(T_{ret(n+1)}) - \ln(T_{ret(n)})}$$

Avec

T : température du composé.

$I_{ret(x)}$: indice de rétention du composé x.

$T_{ret(x)}$: temps de rétention du composé x

n : nombre d'atome de l'alcane ayant un temps de rétention inférieure ou égale au composé x

n+1 : nombre d'atome de l'alcane ayant un temps de rétention supérieur au composé x

La composition chimique et les indices de détection de chaque composé sont donnés dans le **tableau 3** :

N°	Nom du composé	Indice de rétention	teneur
1	2,4 heptadienol	1374	trace
2	2-formilthyophene	1390	trace
3	dihydromurcenol	1437	trace
4	benzaldehyde	1495	trace
5	linalool	1539	0.04
6	Non identifié	1560	0.458
7	Acethyl pyridine	1585	trace
8	3- terpinen-1-ol	1588	0.136
9	Safrol	1627	trace
10	Nerol	1669	trace
11	o-muurolene	1684	0.136
12	Aldéhyde lauric	1724	0.017
13	α - guaiene	1800	0.153
14	p-menthadienhydroperoxide	1806	0.629
15	isogeraniol	1811	0.271
16	Z- carveol	1847	0.698
17	γ - octalactone	1883	1.38
18	elémol	2088	0.264
19	viridiflorol	2102	0.129
20	O-cadinol	2134	0.136
21	Ethyl cinammate	2137	0.102
22	Eugenol	2142	0.19
23	T-murorol	2157	0.30

24	methyl dihydroepijasmonate	2214	0.451
25	cinnamal alcool	2302	0.215
26	non identifié	2308	0.304
27	non identifié	2315	0.235
28	non identifié	2319	0.342
29	non identifié	2328	0.234
30	non identifié	2335	0.287
31	non identifié	2340	0.159
32	non identifié	2344	0.17
33	E-diethyl tatrare	2357	0.38
34	E- isoeugenol	2370	0.737
35	cetyl alcool	2379	0.513
36	γ - dodecalactone	2385	0.244
37	non déterminer	2392	0.247
38	Z-6-dodecene- γ - lactone	2398	0.208
39	non identifié	2412	0.16
40	non identifié	2417	0.213
41	non identifié	2436	0.709
42	undecanaldehyde	2445	0.176
43	indole	2452	0.348
44	non identifié	2465	0.207
45	skatole	2485	2.23
46	non identifié	2504	9.976
47	non identifié	2512	0.729
48	non identifié	2521	0.536
49	non identifié	2537	0.263
50	non identifié	2545	0.287
51	Phenylactic acid	2551	0.47
52	non identifié	2562	0.35
53	non identifié	2568	0.61
54	Steanyl alcool	2580	4.71
55	non identifié	2617	2.06
56	non identifié	2670	9.949
57	non identifié	2901	1.993
58	non identifié	2933	0.2
59	non identifié	2954	14.193
60	non identifié	3162	1.38

Tableau 7: composition chimique de HE de l'inule visqueuse obtenue par hydrodistillation

Analyse des résultats :

- ✚ L'analyse montre bien l'existence de certains composés antifongiques tel que le thymol, linalool, et divers dérivés phénolique.
- ✚ Certains composés restent non identifiables du faite du manque de données sur les indices de rétention, cependant on suggère le recours à d'autres méthodes d'analyse,

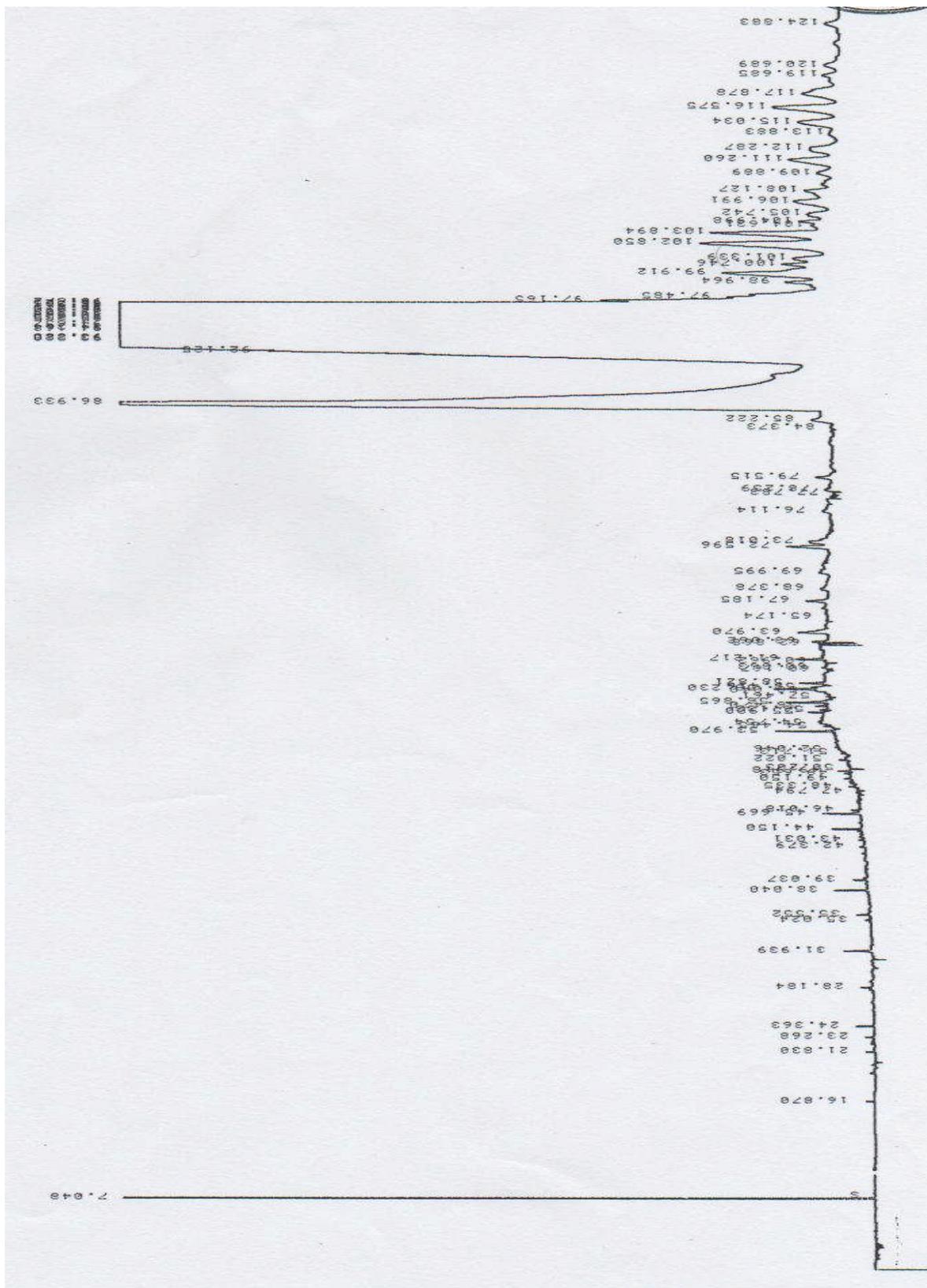
ou l'utilisation d'autres types de phases stationnaires pour obtenir plus d'informations

Remarque :

- ✚ Les indices calculés diffèrent au maximum de ± 2 par rapport aux valeurs données dans la littérature. Toutefois d'autres auteurs donnent des valeurs voisines, aussi pour confirmer l'existence de ces composés, il faut utiliser d'autres techniques telle que la CG/SM
- ✚ Les valeurs données dans le **tableau 3** concernent les composés ayant une teneur $\geq 0.1\%$, toutefois certains composés, très important du point de vue activité antifongique et cités dans la bibliographie, ont été portés dans ce tableau.
- ✚ Cette composition est semi quantitative.
- ✚ L'identification a été faite grâce à une banque de données disponible sur le site web [48].
- ✚ Les composés cités dans la partie bibliographique (chapitre 3) n'ont pas été identifié totalement dans notre cas par manque de données les concernant ou à cause de la variabilité de l'espèce.
- ✚ Il reste à identifier certains composés majoritaires cités dans le tableau 3

A l'issue de cette identification, nous pouvons conclure que cette proposition de composition n'est que suggestion, il faut confirmer ou infirmer ces hypothèses en faisant d'autres analyses CPG/FID, sur des colonnes polaires et apolaires, et faire passer les mêmes échantillons sur une CG/SM

La deuxième analyse s'est faite dans **les mêmes conditions** que la précédente mais pour l'extrait obtenu par l'hexane en continu, le profil chromatographique est donné par **la figure 29**.



La comparaison des deux chromatogrammes montre :

- ✚ L'extrait obtenue ne contient plus les mêmes composés que ceux identifiés dans l'huile essentielles volatils.
- ✚ L'extrait par solvant contient des composés qui apparaissent après un temps de rétention de 86 min ; on note la multitude de pics mais la séparation n'est pas idéale, il faudrait refaire l'analyse en utilisant d'autres conditions opératoires, ou d'autres colonnes, ou d'autres méthodes d'analyses tel que la HPLC.
- ✚ Toutefois certains de ces constituants se retrouvent les huiles essentielles (linalool, Guaiene, veridiflorol)

La troisième analyse par CPG couplée à un spectromètre de masse a été effectuée sur l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau selon les conditions suivantes :

Colonne capillaire : STABILWAX (60m, 0.25mm, 0.25)
Gaz vecteur : Hélium
Détecteur : MSD
Débit du gaz vecteur : 0.5 ml _____220 °C (80 min)
Température de la colonne : 60°C /3°C
Température de l'injecteur : 220°C
Quantité injectée : 1 µ l

Conditions analytiques :

Mode d'injection : Split 1/25
Température de l'auxiliaire : 250°C
Température de la source : 230°C
Température du quadripôle : 150°C
Energie d'ionisation : 70 EV
Vide : 35 torr

Le profil chromatographique et l'analyse par SM des huiles essentielles obtenus par entraînement à la vapeur d'eau est donné par **la figure 30**, on note que l'identification se fait par comparaison des spectres de masse trouvés dans la littérature ou par la banque de données Wiley.

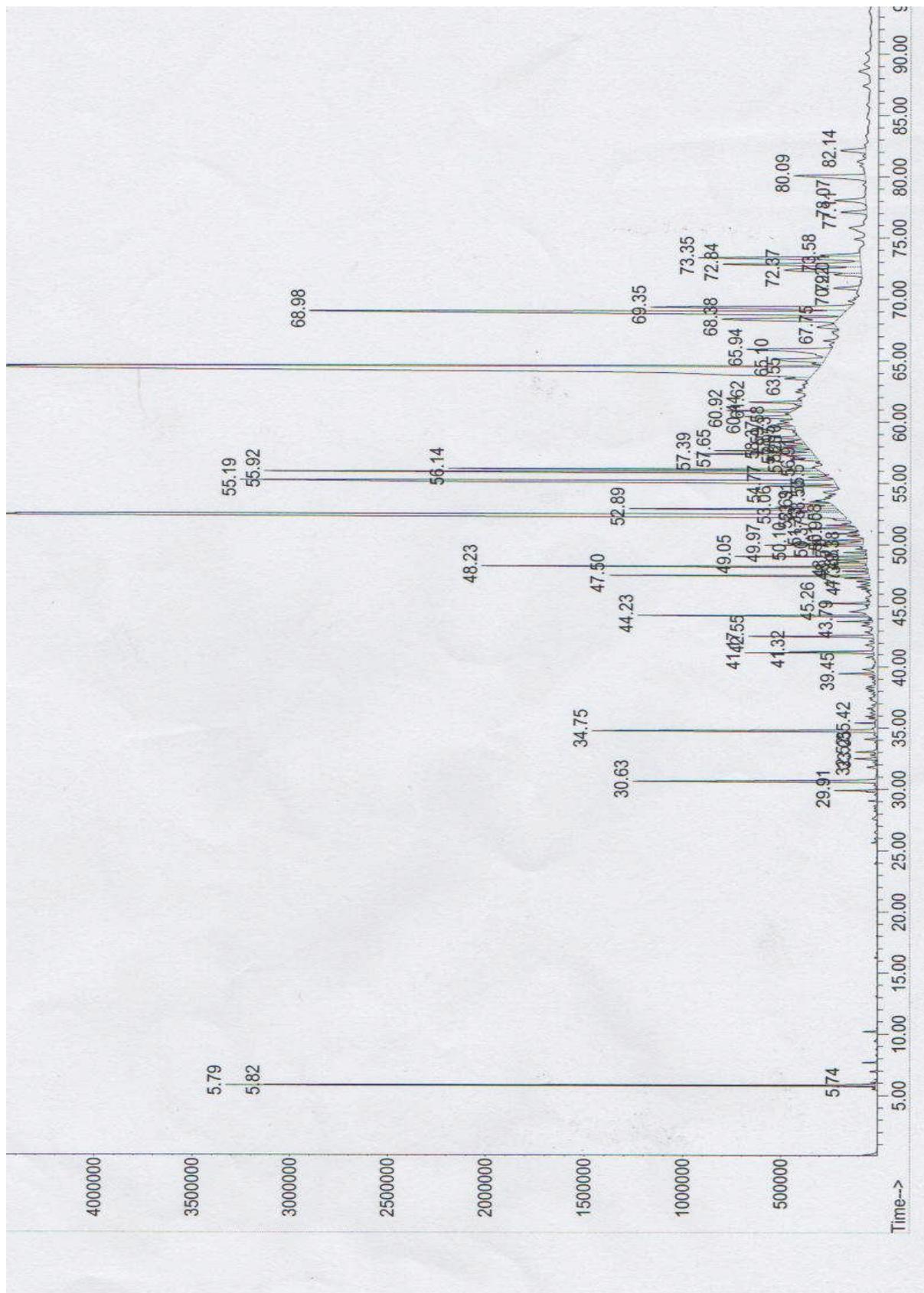


Figure 30 : chromatogramme des HE obtenue CG/SM

Les résultats obtenus sont représentés sur le **tableau n°4**:

N°	Nom	Probabilité %	Temps de rétention (min)	Teneur %
1	Pentane, 2-methyl	91	5.738	0.06
2	linalool	91	29.904	0.20
3	Acide propanoïque	91	30.327	1.75
4	Non identifié	-	34.748	1.86
5	Spiro [4.5] décane, 6-methylene	95	41.169	0.61
6	E-ocimènone	90	41.317	0.41
7	Butyl hydroxy toluène	99	44.234	1.11
8	Acide hexanoïque	98	45.266	0.30
9	Caryophyllène oxide	91	47.507	1.49
10	Neurol.	94	48.236	1.88
11	2,6-di(t-butyl)-4-hydroxy-4-méthyl-2,5 cyclohexadiène	94	50.104	0.43
12	Verdiflorol	99	50.370	0.28
13	Non identifié	-	52.38	12.57
14	Non identifié	-	52.884	1.27
15	2-naphtalène-méthanol ;1 ;2 ;3 ;4 ;4	99	54.77	0.46
16	Non identifié	-	55.19	6.67
17	Non identifié	-	55.914	3.84
18	Non identifié	-	64.422	19.97
19	Non identifié	-	64.54	4.40
20	n- pentacosane	96	65.939	1.46
21	Non identifié	-	68.382	1.86
22	Non identifié	-	68.981	6.84
23	Non identifié	-	69.348	2.56
24	(-)-.alpha.-costol	94	70.914	0.32
25	phytol	91	72.372	1.58
26	Non identifié	-	72.84	1.78
27	Non identifié	-	73.356	2.01
28	Acide tétradécanoïque	98	78.064	0.50
29	heptadécane	97	80.085	1.17
30	Contruculin-A	93	82.143	0.43
31	Acide hexadécanoïque.	99	102.485	1.75

Tableau 8: composition des HE obtenues par E.V.E

La composition donnée ci-dessus est différente de celle de l'hydrodistillation, ceci est dû à la nature du procédé utilisé en premier lieu, cependant certains composés identifiés se retrouvent dans les deux tableaux (ex : linalool).

Remarque :

✚ L'identification par SM est faite avec une probabilité > 90 %, certains composés de teneur importante ($\geq 1\%$) sont portés le tableau.

✚ La nomenclature de certains composés est en anglais.

3. Activité des HE :

De toutes les infections microbiennes de l'homme, les mycoses et plus particulièrement les mycoses profondes, sous cutanées ou viscérales, restent encore celles dont l'évolution souvent chronique et parfois mortelle est la plus difficile à modifier. Devenues très préoccupantes, elles exigent des médicaments antifongiques efficaces, doués d'effet **fongistatique** et **fongicide** diffusant parfaitement dans les tissus, faciles à administrer et bien tolérées.

3.1 mesure de l'activité antifongique :

On mesure le pouvoir antifongique de ces agents, soit pour tester leurs activités thérapeutiques respectives, soit d'une façon plus théorique pour rechercher leur efficacité sur des souches isolées, avant et pendant le traitement.

Les méthodes d'étude de sensibilités des champignons aux antifongiques s'inspirent très largement des techniques bactériologiques.

Les antifongiques sont fongistatiques lorsqu'ils inhibent la croissance des cellules ; ils sont fongicides lorsqu'ils les détruisent. Cette activité est définie par la **CMI** et la **CMF** ou la concentration minimale fongicide. La CMI est la quantité d'antifongicide nécessaire et suffisante in vitro pour inhiber le développement d'une population fongique donnée. Elle s'exprime en µg/ml. La CMF représente la concentration minimale d'antifongique qui permet de détruire une population fongique donnée.

3.2 Techniques de mesure ou antifongigramme :

- **Techniques de dilution :**

Dans la technique en milieu solide, les différentes concentrations de l'antifongique sont incorporées dans la gélose fondue. Après coulage et refroidissement du milieu, le ou les champignons à tester sont ensemencés. La CMI est par définition la première concentration à partir de laquelle aucune croissance fongique n'est observée après une incubation qui variera selon le champignon à tester.

- **Technique de diffusion :**

Elle consiste à déposer des disques de papiers imprégnés d'antifongique à la surface du milieu solide préalablement ensemencé. Celui-ci diffusant radialement à partir du disque, produit une zone d'inhibition circulaire, la limite de la zone correspond à la CMI de l'antifongique.

La valeur de la CMI est comparée aux taux thérapeutiques, c'est-à-dire à la concentration moyenne atteinte au cours des traitements, les souches sont considérées comme sensibles à un antifongique si leur CMI est inférieure au taux thérapeutique [49].

4. Analyse du pouvoir antifongique des huiles essentielles de l'inule visqueuse

L'analyse de la composition des huiles essentielles extraites a permis d'identifier plusieurs composés antifongiques et antibactériens, la présence du l, linalool, α -gaiene (teneur faible, non identifié avec certitude), et plusieurs dérivés phénoliques (très antifongique) ainsi que les différentes recherches partout dans le monde sur les composés antifongiques [50] nous laissent supposer que ces extraits peuvent avoir une activité antifongique remarquable.

Conclusion générale :

La valorisation de l'inule visqueuse par l'extraction des huiles essentielles et de ses extraits auront un impact environnemental, si ces extraits sont utilisés dans le domaines des antibiotiques et antifongiques.

Les procédés d'hydrodistillation, d'entraînement à la vapeur d'eau, et d'extraction à l'hexane ont été testés.

L'entraînement à la vapeur d'eau donne un meilleur rendement (1,897%) que celui obtenu par hydrodistillation (0,491%), La comparaison des résultats obtenus par les trois modes d'extraction ainsi que l'analyse quantitatif des extraits obtenus permet d'établir une certaine conclusion de notre travail. la comparaison des deux modes d'extraction par solvant (n-hexane) permet de déterminer l'influence du facteur température et son effet sur le rendement de cette méthode, une étude bien détaillée peut déterminer avec précision l'influence de ce facteur, cependant le bon rendement de cette méthode ne permet de justifier le choix de son utilisation à l'échelle industrielle car l'huile obtenue nécessite le recours à d'autre procédés afin de la purifier, ce qui permet de minimiser l'importance du rendement obtenue .

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse n'a pas permis d'identifier la totalité des constituants de notre huile du faite du manque de données sur les indices de rétention pour le type de colonne utilisé, la non présence de certains composés donnés dans la littérature dans les résultats des analyses ne justifie pas leur inexistence dans notre HE car on n'est pas arrivé à déterminer la composition totale, aussi on remarquent que se sont les composés majoritaires de l'huile qui ne sont pas identifiés, aussi une analyse par CPG/SM est nécessaire afin de définir complètement cette composition.

La détermination de l'activité antifongique de cette huile étant impossible du faite du facteur temps et le manque de matériels, nous avons essayé de corrélér ou faire une liaison entre la nature des composés identifiés et les données de la littérature ce qui a permis de dire avec certaines réserves que notre plante peut avoir une activité antifongique appréciable.

Symbolic	nom	chapitre
HE	huile essentielle	Chapitre 2
DM/C	downy mildew/cucumber	Chapitre 3
LB/P	late blight/potato (pomme de terre / rouille)	Chapitre 3
LB/T	late blight/tomato (tomate/ rouille)	Chapitre 3.
PM/W	powdery mildew/wheat rouille de blé	Chapitre 3
R/S	rust/sunflower (rouille de tournesol)	Chapitre 3
T_H	Tension de vapeur de l'huile	Chapitre 4
T_E	Tension de vapeur de l'eau	Chapitre 4
η_B	Concentration du solvant B	Chapitre 4
r_a	Rayon de la particule a	Chapitre 4

Bibliographie :

[01] - Gentiana : fondation pour la connaissance des plantes médicinales : page web

[02] - Loufty Boulus-

Plantes médicinales de l'Afrique du Nord. Édité par « Référence Publications », Etats-Unis, (1983).

[03] -Prof. Dan Palevitz et Dr. Zoahara Yaniv :

Les plantes médicinales de la sainte terre; L'Administration Israélienne De Recherches Agricole. Israël, (1991), p 157.

[04] - Auteurs: C. Susplugas, G. Balansard, J.c. Rossi, J. Julien, M. Gasquet, P. Timon-Timon-David.

Site web: [www. Actahort_org-books-96-96_40.htm](http://www.Actahort_org-books-96-96_40.htm)

[05] -Rabbi Moshé Ben Mimoun

Les Plantes Médicinales. Israël (1989), p 125

[6] – www.malta_wildplants.Com

[07] -Fleur du Roussillon.htm

[08] - P- Guezel et S- Santa

Nouvelle flore de l'Algérie, tome 1' édition du centre national de la recherche scientifique (1962)

[09] – les olympiades de chimie : page web

[10] – weed management guide

[11] - Marie-Claire HENNION, Valérie PICHON

Techniques séparatives et traitement de l'échantillon - ESPCI, Paris.

[12] – page web : http://fr.ekopedia.org/Huile_essentielle.

[13]- C. Boutekdjiret

Etude des procédés d'extraction appliquée a la récupération des essences de Romarin.
Transfert de matière et modélisation.
Thèse de doctorat, dpt : génie chimique E.N.P, Alger, 1999.

[14]- S. Boustila

Etude cinétique de l'entraînement à la vapeur d'eau et de l'hydrodistillation des huiles essentielles du bois du cèdre de l'atlas.

Projet de fin d'étude, Dpt : génie chimique, E.N.P, Alger ,1994

[15] - page web: www.google.fr

[16] - www.LesOlympiadesdechimie.com/Extraction.Htm.

[17] - **Léon Raul Hernandez Ochoa**

Substitution des solvants et matières actives de synthèses par un combine «solvant/actif» d'origine végétale – thèse de doctorat : L'institut polytechnique de toulouse. (octobre 2005).

[18] **J. Pellecuer., J.L Roussel C. Andary.**

Recherche du pouvoir antifongique de quelques huiles essentielles. *Rivista Italiana Essenzo (EPPOS)*. 23, 45-50; (1980).

[19] - **C. Viollon., J.P. Chaumont. .**

Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*. 128(3), 15 1-153; (1994).

[20] - **J.P. Chaumont. D. Leger.**

Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement très voisin. Relation structure –activité. *Plant Med. Phyto*. 23(2), 124-126; (1989).

[21] - **A. Sivropoulou, E; Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis.**

Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1202-1205. (1996).

[22] - **A. Zambonelli., A.Z. D'Aurelio., A. Severi., E. Benvenuti., L. Maggi., A. Bianchi.**
2

Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *thymus vulgaris* L. *J. Essent. Oil Res* 16(1), 69-74.

[23] - **T. Mangena., N.Y.O. Muyima.**

Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *artemisia afra*, *pteronia incana* and *rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Lett. Appli. Microbiol.* 28(4) 29 1-296; 1999

[24] - **D. Caccionni., M. Guizzardi., D. Biondi, R. Agantio., R. Guisepe.**

Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *penicillium digitatum* and *penicillium italicum*. *International J. Food Microbiol.*

43(12), 73-79; 1998

[25] - M. Hudaib., E. Speroni., M Di Pietra., V. Cavrini. 2002.

GC/MS evaluation of thymus (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. *J. Pharma. Biom. Analysis.* 29(4), 691-700; (1998)

[26] - Kurita, M. Miyaji., R. Kurane, Y. Takahara.

Antifungal activity of components of essential oils. *Agric. Biol. Chem.* 45(4), 945; (1981)

[27] - N. Kurita., M. Miyaji., R. Kurane., Y. Takahara., K. Ichimura.

Antimicrobial activity of dalmatian sage oil from different regions of the Yugoslav Adriatic coast. *Agric. Biol. Chem.* 43 (11), 2365. (1979).

[28] - Zakarya; T. Fathallah; M. Chascrette.

Use of multifunctional autocorrelation method to estimate molar volumes of alkanes and oxygenated compounds. Comparison between components of autocorrelation vectors and topological indices. *J. Phys. Org. Chem.* 6(10), 574-582. 1993

[29] - A. Koedam.

Some aspects of essential oils preparation in capillary gas chromatography in essential oils analysis. Ed. P. Sandra, C. Bicchi. Herdelberg. New York; 1987.

[30] - O. Wallach.

Contributions to our knowledge terpenes and ethereal oils. *Ber. Dtsch. Chem. KGes.* 80, 585-591; 1907.

[31]- Belova LF Baginskaia

Farmakol Toksikol (1981 Jul-Aug) 44(4):463-7
ISSN: 0014-8318 (édité en Russe)

[32] - www.malta wildplants.Com

[33] - Wenqiao Wang B. H. Ben-Daniel, and Yigal Cohen

Control of Plant Diseases by Extracts of *Inula viscosa*

Faculty of Life Sciences of Bar-Ilan University, Ramat-Gan 52900, Israel, publiée le 24May 2004.

[34] – DAHOUM Yamina

Etude de l'extraction de la concrète d'Artemisia herba-Alba Asso (chih)
Thèse de magister- Dpt de génie chimique, E.N.P, ALGER 1993

[35] - F.K.Denny

Dev.Food Sci; 229.236; 1988.

[36] - A. Koedam.

The influence of some distillation conditions on essential oil composition in aromatics plants: basic and applied aspects. Martinus Nijhoff Publishers. Netherlands. 229-236, 1982.

[37] - D.L. Pavida. G.M. Lampman. G.S. Kriz.

Introduction to organic laboratory techniques. W.B. Saunders Co. Philadelphia, USA. 567-573, 1976

[38] - E.BOCCHIO

Parfums, cosmétiques, arômes, 63, 1985

[39] - P.A.P LIDDLE, P.SMEDT

Parfums, cosmétiques, arômes, 24,37, 1981

[41] - E. GUEORGIEV

Technologie de la production des huiles essentielles, Ed. L'institut supérieur de l'industrie alimentaire, Plovdiv, Bulgarie, 1988

[41] – N. CHIBANE

Modélisation du transfert de matière lors de l'extraction des essences des graines de coriandres par l'éthanol

Projet de fin d'étude, Dpt : génie chimique, E.N.P. 2005

[42] - J.Q. Cu., F. Perineau. M. Delmas., A. Gaset.

Comparison of the chemical composition of carrot seed essential oil extracted by different solvents. J. Flavour Fragra 4(4), 225-23 1, 1989

[43] - H. Schultz., Gambroscheit.

Characterization of oakmoss products used in perfumery by high-performance liquid chromatography. J. Chromatog A. 466, 301-306.1989

[44] - F.E. Brauns.

The chemistry of lignin. Academic press Inc. New York. pp. 5 1-58, 1952

[45] - P.E. Liley, R.C. Reide, E. Buck

Physical and chemical data in *Perry's Chemical Engineer's Handbook*. McGraw-Hill Book Co. New York. 247-289, 1984

[46] - J.H. Krasuk, J. L. Lombardi, C. D. Ostrovsky.

I&EC Process Desing & Develop. 6(2), 56-59, 1967.

[47] - Francis Rouessac, Annick Rouessac

Analyse chimique- méthodes et techniques instrumentales modernes
4^{ème} édition, Dunod, France, 1998

[48] – flavouring by Terry Acree& Heinrich Am

[http:// www.flavornet.org](http://www.flavornet.org)

[49] - H.Leclerc, D. Izard, M.O.Husson, P.Wattre; E.Jacubczak.

Microbiologie générale, Doin éditeurs - paris, 1986

[50] – Braulio .M.Fraga

Natural sesquiterpenoids; previous review: *Nat. Prod. Rep.*, 2000, 17, 483; 2000 (page web)