

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Polytechnique



Département Génie Chimique

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Magister en

Génie Chimique

Présenté par M^r Imad Eddine HAOUI

Ingénieur d'état en Génie Chimique (ENP, Alger)

Thème

**EXTRACTION ET VALORISATION DES HUILES ESSENTIELLES DE
L'*INULA VISCOSA* (L.)**

Soutenu le : 30/05/2011

devant le jury d'examen :

M ^{me} S.CHARCHARI	Professeur ENP	Présidente
M ^r E.H BENYOUSSEF	Professeur ENP	Examineur
M ^r T.AHMED ZAID	Professeur ENP	Examineur
M ^{me} R.DERRICHE	Professeur ENP	Rapporteuse
M ^{me} L.MADANI	M.A.A Univ Médéa	Invitée

Promotion 2011

استخراج و تثمين الزيوت الأساسية لنبتة المقرمان (*Inula viscosa(L.)*)

ملخص:

في هذا العمل قمنا بدراسة تأثير عامل الدورة النباتية للمقرمان (*Inula viscosa*) على مردود وتركيبه الزيت الأساسي . بينت النتائج المحصل عليها أن مردود عملية الإستخراج لكل من شهر سبتمبر و مارس كانا على التوالي % 0,3 و 0,45 % و أن الزيوت المحصل عليها كانت غنية بالمركب " acide isocostique " بنسبة (56,81- 56,71 %). من جهة أخرى سجلنا مردودا أكبر في كل من شهري جوان و ديسمبر و أن الزيوت المحصل عليها غنية بـ " BDE " . بالإضافة إلى هذا قمنا بدراسة نشاط الزيت ضد أربعة أنواع من الفطريات و كان زيت جوان الأكثر فعالية.

Extraction et Valorisation des Huiles Essentielles de *L'Inula Viscosa (L.)*

Résumé

Dans ce travail, nous avons étudié l'influence du cycle végétatif de l'inule visqueuse sur l'huile essentielle en termes de rendement et composition. Les résultats montrent que les lots de septembre et mars ont un rendement de l'ordre (0,3-0,45%), et l'huile est riche en acide isocostique (56,71-56,81%) ; par contre ceux de décembre et juin présentent un rendement plus élevé (3,21- 6%) et l'huile est riche en « BDE ». L'évaluation de l'activité antifongique de l'huile a été faite sur quatre champignons. L'huile essentielle du lot de juin a montré une forte efficacité (62-91%).

Mot clés : Inule visqueuse ; huile essentielle ; extraction ; activité antifongique.

Extraction and Valorization of Essential Oils of *Inula Viscosa (L.)*

Abstract:

In this work, we studied the influence of the vegetative cycle of the inula viscosa on essential oil in terms of yield and chemical composition. The results show that the batches of September and March have a yield of the order (0.3% - 0.45%), and it oil is rich in isocostic acid (56.71% - 56.81%); on the other hand those of December and June present a higher yield (3.21% - 6%) and it oil is rich in "BDE". The evaluation of the antifungal activity of oil was made on four micro-organisms. The essential oil of the batch of June showed a strong effectiveness (62% - 91%).

Key words: Inula viscosa; essential oil; extraction; antifungal activity.

Dédicaces

A mes parents pour leurs amours et sacrifices

A ma grand-mère

A mes frères Farid ; Khalifa

A mes sœurs Nawal ; Leila ; Asma ; Aicha

A Mme Tigamounine ; Fadhila ; Safia

A tous mes amis

A tout, je dédié ce travail

Imad Eddine

Remerciements

Tout d'abord, je remercie sincèrement M^{me} R.DERRICHE Professeur à l'ENP, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour m'avoir accordé sa confiance ainsi que pour m'avoir guidé tout au long de ce mémoire. Ses compétences, ses précieux conseils, sa disponibilité et sa gentillesse ont contribué au bon déroulement de ce travail.

Je tiens à remercier M^{me} S.CHARCHARI Professeur à l'ENP de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Que Monsieur E.H. BENYOUSSEF, Professeur à l'ENP.

Monsieur T.AHMED ZAID, Professeur à l'ENP.

Madame L.MADANI M.A.A à Univ Médéa

Trouvent ici l'expression de mes plus vifs remerciements pour avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie de jury.

Je tiens à remercier aussi l'ensemble des partenaires qui ont participé à la réalisation de ce mémoire, principalement à M^{me} Oudjedi, responsable de la chromatographie au CRD (Boumerdès) pour ses analyses, et M^{lle} Oukali pour avoir effectué le test antifongique.

Symbole	Signification
HE	Huile essentielle
GC	Chromatographie en phase gazeuse
GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée par spectrométrie de masse
EVE	Entrainement à la vapeur d'eau
HD	Hydrodistillation
ESC	Extraction supercritique
PDA	Potato Dextrose Agar
H	Taux d'humidité
N	La banque des données de NIST
w	La banque des données de Wiley
BHT	Butyl Hydroxy Toluène
AOC	Acide 9,12-Octadecadiénoïque
ADC	Acide 2,3-didehydrocostique
AIC	Acide isocostique
BDE	Ester diisocétylique de l'acide 1,2-Benzène dicarboxylique
ATO	2-amino-1,3,4-trihydroxy-8-octadécène

Tableau I 1	La classification botanique de l'inule visqueuse	8
Tableau I 2	Indice d'inhibition antifongique de l'huile essentielle de l'inule.....	8
Tableau I 3	Compositions des extraits au méthanol. [18].....	9
Tableau I 4	Les différents groupes chimique, trouvés dans l'huile essentielle de l'inule visqueuse selon GRANDE et al [21].	10
Tableau I 5	Compositions des huiles essentielles de l'inule visqueuse [25].....	11
Tableau I 6	Compositions de l'huile essentielle de l'inule [26].....	12
Tableau I 7	Les principaux constituants identifiés dans l'huile essentielle de l'inule [27]	13
Tableau I 8	Composition de l'huile essentielle de l'inule visqueuse [28]	14
Tableau II 1	Description des différents lots de la matière végétale.....	29
Tableau II 2	Conditions opératoires de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	31
Tableau II 3	Conditions opératoires de l'hydrodistillation.....	33
Tableau II 4	Les conditions chromatographiques d'analyse.....	34
Tableau III 1	Rendements en huile essentielle obtenus par EVE, pour différents lots.	36
Tableau III 2	Rendements en huile essentielle obtenus par HD, pour les lots de Septembre et Mars.....	37
Tableau III 3	Résultats de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle par l'EVE. Lot de Septembre	39
Tableau III 4	Résultats de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle par l'EVE. Lot de Décembre	39
Tableau III 5	Résultats de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle par l'EVE. Lot de Mars	40
Tableau III 6	Résultats de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle par l'EVE. Lot de Juin	40
Tableau III 7	Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par l'EVE. Lot de Septembre	44
Tableau III 8	Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par l'EVE. Lot de Juin	47
Tableau III 9	Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par l'HD. Lot de Mars.....	49
Tableau III 10	Activités biologiques des composés majoritaires de l'inule visqueuse.	52
Tableau III 11	Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par l'EVE. Lot de Mars	53
Tableau III 12	Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par l'EVE. Lot de Décembre	57
Tableau III 13	Compositions chimiques de l'huile essentielle de l'inule visqueuse provenant de différents pays.....	60
Tableau III 14	Les résultats de la masse et du rendement des composés majoritaires en fonction du temps d'extraction	62
Tableau III 15	Teneurs de l'AIC et le « BDE » pour chaque échantillon.	65
Tableau III 16	Les indices antifongiques de la croissance mécylienne des champignons par l'huile essentielle de l'inule visqueuse. Lot de mars	66
Tableau III 17	Les indices antifongiques la croissance mécylienne des champignons par l'huile essentielle de l'inule visqueuse. Lot de juin	67

Figure I 1: <i>Inula graveolens</i>	3
Figure I 2 : <i>Inula helenium</i>	4
Figure I 3 : <i>Inula salicina</i>	5
Figure I 4 : <i>Inula montana</i>	5
Figure I 6: <i>Inula crithmoides</i>	6
Figure I 5: <i>Inula Helvetica</i>	6
Figure I 7: <i>Inula conyza</i>	7
Figure I 8: Photos de l'Inule visqueuse.....	7
Figure I 9: Les 4 types de trichomes sécréteurs observés chez <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	17
Figure I 10 :(a). Poche sécrétrice schizogène; (b). Poche sécrétrice schizolysigène.....	18
Figure I 11 : (a). Schéma d'une installation VMHD. (b) . Evolution des principaux paramètres du procédé VMHD en fonction du temps.	26
Figure II 1 : Montage de Dean Stark	29
Figure II 2: Appareillage de l'entraînement à la vapeur d'eau.	31
Figure II 3: Appareillage de l'hydrodistillation.	32
Figure III 1 : Rendements en huile essentielle pour chaque Lot, et chaque procédé d'extraction (HD, EVE).....	38
Figure III 2: Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps lors de l'extraction par EVE. Lot de Septembre.....	41
Figure III 3 : Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps lors de l'extraction par EVE. Lot de Décembre.	41
Figure III 4 : Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps lors de l'extraction par EVE. Lot de Mars.	42
Figure III 5: Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps lors de l'extraction par EVE. Lot Juin	42
Figure III 6: Structures chimiques des composés majoritaires.....	43
Figure III 7 :Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par EVE, Lot de Septembre.	46
Figure III 8 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par EVE, Lot de Mars.	48
Figure III 9 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par HD, Lot de Mars.	51
Figure III 10 : Les rendements des composés majoritaires pour les deux procédés d'extraction (EVE, HD).....	53
Figure III 11 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par EVE, lot de Juin.	55
Figure III 12 : Les variations du rendement de l'AIC et le BDE en fonction de la période de récolte.	56
Figure III 13 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par EVE. Lot de Décembre.	58
Figure III 14: Evolution du rendement de l'AIC, en fonction du temps d'extraction.	63
Figure III 15 : Evolution du rendement du « BDE », en fonction du temps d'extraction.	63
Figure III 16: Suivi de l'évolution des composés majoritaires lors de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	64

Figure III 17 : Les indices d'inhibition pour différentes concentrations de l'huile essentielle du lot de Mars. 66

Figure III 18 : Effet de l'huile essentielle de l'inule visqueuse sur la croissance mécylienne des champignons de Botrytis cinea & Micro. 66

Figure III 19 : Les pourcentages d'inhibition pour différentes concentrations (Fusarium C) 67

Figure III 20: Les pourcentages d'inhibition pour différentes concentrations (Fusarium G)..... 67

Figure III 21 : Effet de l'huile essentielle de l'inule visqueuse sur la croissance mécylienne des champignons de Fusarium C, Fusarium G. 68

Introduction Générale.....	1
----------------------------	---

Chapitre I Etude Bibliographique

<i>I.A Présentation de la matière végétale.....</i>	3
I.A.1 Les plantes de Genre Inula (Dittrichia)	3
I.A.2 Différentes espèces de genre Inule.....	3
I.A.2.1 Inula graveolens (Inule fétide)	3
I.A.2.2 Inula helenium	4
I.A.2.3 Inula salicina.....	4
I.A.2.4 Inula montana.....	5
I.A.2.5 Inula Helvetica.....	6
I.A.2.6 Inula crithmoides	6
I.A.2.7 Inula conyza	7
I.A.3 Description botanique d’Inula viscosa.....	7
<i>I.B Travaux antérieurs</i>	8
I.B.1 Activités biologiques	8
I.B.2 La composition des l’huile essentielle de l’inule visqueuse	10
<i>I.C Extraction des huiles essentielles</i>	15
I.C.1 Les huiles essentielles	15
I.C.1.1 Historique	15
I.C.1.2 Définitions et généralités.....	16
I.C.1.3 Localisation des huiles essentielles dans la plante	17
I.C.1.4 Composition chimique des huiles essentielles.....	19
I.C.1.5 Activités biologiques des huiles essentielles et leurs domaines d’utilisation	20
I.C.1.6 Les facteurs de variabilité de la composition chimique des huiles essentielles.....	20
I.C.2 Techniques d’extraction des huiles essentielles	21
<i>I.C.2.1 Les techniques d’extraction conventionnelles.....</i>	22
<i>I.C.2.2 Techniques d’extraction récentes</i>	24

Chapitre II Matériels & Méthodes

II.1 Matière végétale.....	29
II.2 Calcul du taux d'humidité.....	29
II.3 Procédés d'extraction	30
II.3.1 Entraînement à la vapeur d'eau	30
II.3.2 Hydrodistillation	32
II.4 Calcul du rendement en huile essentielle	33
II.5 Analyse de l'huile essentielle.....	33
II.6 Identification	33
II.7 Evaluation de l'activité antifongique	34
II.7.1 Matériels fongiques	34
II.7.2 Préparation du milieu de culture PDA.....	35
II.7.3 Préparation et incorporation d'huile essentielle de l'inule visqueuse dans le milieu PDA.....	35
II.7.4 Ensemencements des champignons	35
II.7.5 Mesure du pourcentage d'inhibition	35

Chapitre III Résultats & Discussion

III.1 Analyses quantitatives des huiles essentielles de l'inule visqueuse	36
III.1.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	36
III.1.2 Extraction par Hydrodistillation.....	37
III.1.3 Etude de la cinétique de l'extraction des huiles essentielles obtenues par l'entraînement à la vapeur d'eau	38
III.2 Analyses qualitatives des huiles essentielles de l'inule visqueuse	43
III.2.1 Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse, Lot de Septembre	43
III.2.2 Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse, Lot de Mars	45
III.2.2.1 Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau	45
III.2.2.2 Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par Hydrodistillation	45
III.2.3 Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse, Lot de Juin	53
III.2.4 Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse, Lot de Décembre	56

<i>III.3 Etude cinétique d'entraînement à la vapeur d'eau des composés majoritaires de l'huile essentielle de l'inule visqueuse</i>	<i>62</i>
III.3.1 Evolution de la composition des constituants AIC et BDE en fonction de la durée d'extraction	64
<i>III.4 Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de l'inule visqueuse ..</i>	<i>65</i>
Conclusion Générale.....	70

INTRODUCTION GENERALE

Les plantes ont, toujours, fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. Les extraits des plantes étaient, déjà, connus et utilisés par les égyptiens, les romains et les grecs, pour leurs propriétés odorantes et médicinales.

Les conditions climatiques méditerranéennes de l'Algérie favorisent, aussi bien le développement des plantes sauvages (romarin, thym...) que cultivées (marjolaine, menthe...). Malheureusement, parmi les espèces que compte la flore algérienne, jusqu'à présent, seul un petit nombre a été étudié.

La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction de leurs huiles essentielles. Ces dernières sont des produits à forte valeur ajoutée, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires.

L'inule visqueuse (*Inula viscosa* (L.) Aiton) appartient à la famille Asteraceae [1]. C'est une plante à une odeur forte, ligneuse à sa base et présente des capitules à fleurs jaunes très nombreux au sommet de la tige, elle est largement utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne, surtout dans les régions paysannes pour le traitement de diverses affections ou maladies telles que les bronchites, les diabètes, les blessures... etc.

Plusieurs études montrent la présence des composés phénoliques de type eudesmanes [2], flavonoïdes [3] et triterpénoïdes [4] dans cette plante. Les acides eudesmanes ont démontré fortes activités biologiques à savoir : antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire...

C'est dans ce contexte que notre travail se situe et a pour objectif l'extraction et la valorisation de l'huile essentielle d'*Inula viscosa* (L) ; provenant de la région de Sidi rzine (10 km d'Alger), il comporte l'étude de l'influence du cycle végétatif de la plante sur le rendement et la composition chimique, et l'évaluation in vitro de l'activité antifongique de l'huile vis-à-vis des champignons qui causent certains problèmes pour l'animal, la plante et l'être humain.

Notre travail comporte trois chapitres :

Le premier c'est une étude bibliographique, il est divisé en trois parties. La présentation de la matière végétale utilisée sera faite en première partie, tandis que la deuxième expose les travaux antérieurs qui ont été fait sur *Inula viscosa (L)*. en commençant par les différentes activités biologiques puis la composition. La troisième partie sera consacrée aux huiles essentielles et les techniques de leurs obtentions.

Concernant **le second chapitre**, il rassemble les matériels et méthodes que nous avons utilisés dans cette étude.

Dans **le dernier chapitre**, nous allons présenter les résultats de l'expérimentation et faire la discussion.

CHAPITRE I

Etude Bibliographique

Ce chapitre constitue une synthèse bibliographique des différentes notions abordées tout au long de ce mémoire.

Nous exposerons tout d'abord la matière végétale (inule visqueuse) ; et les différentes espèces du genre inule. Ensuite les travaux antérieurs traitant la composition et les activités biologiques de l'inule visqueuse seront cités. Puis une revue sur les huiles essentielles sera présentée. Enfin pour terminer les techniques d'extraction de ces huiles à savoir les conventionnelles et récentes seront discutés.

I.A Présentation de la matière végétale

I.A.1 Les plantes de Genre *Inula* (*Dittrichia*)

Le nom *Inula* est très ancien et vient du nom de l'espèce *Inula helenium* et généralisé pour tout le genre. Le nom *Helenium* découlerait du grec "helen". La légende antique raconte que la fleur serait née des larmes de la belle Hélène de Troie.[5]

Le genre *Inula* comprend une variété d'environ 90 espèces. Ce sont des plantes à fleurs généralement jaunes, exceptionnellement violacées. Celles du centre des capitules sont en tube, celles de la périphérie sont ligulées, mais parfois très courtes. Le réceptacle floral est nu. Les bractées de l'involucre sont disposées sur plusieurs rangs inégaux. Le fruit est surmonté d'une aigrette de soies disposées sur un seul rang. Les anthères sont prolongées inférieurement par deux appendices filiformes. Les feuilles sont alternes. Chez les plantes du genre *Dittrichia*, le fruit est étranglé puis élargi au sommet. [6]

I.A.2 Différentes espèces de genre *Inule*

I.A.2.1 *Inula graveolens* (*Inule fétide*)

Il s'appelle aussi inule à odeur forte, On rencontre cette espèce dans les lieux sablonneux d'une grande moitié sud de la France. Elle remonte, à l'est, jusque dans l'Ain et, à l'ouest, jusque dans le Cotentin. C'est une plante glanduleuse-visqueuse à forte odeur camphrée. La tige est très ramifiée et le port est pyramidal. Les capitules sont petits, allongés, et les ligules, jaunes ou violacées, sont courtes. [7]

- ✚ Hauteur : 0,3 à 1 m.
- ✚ Capitule : 1 cm.
- ✚ Floraison : août à octobre.
- ✚ Altitude : 0 à 400 m.

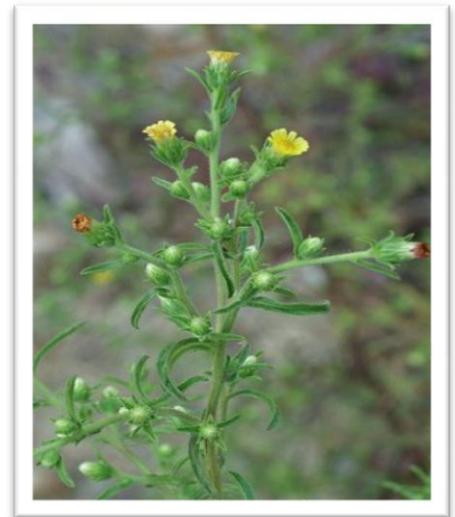


Figure I 1: *Inula graveolens*.

I.A.2.2 *Inula helenium*

Originnaire des régions tempérées et subtropicales d'Europe, d'Afrique et d'Asie, la plante d'*Inula helenium* se rencontre dans diverses zones, principalement dans les sites montagneux secs et rocaillieux mais aussi dans les régions de plaines, fraîches et ombragées. La plante d'*Inula helenium* présente de grandes feuilles basales et des feuilles caulinaires de plus en plus petites, en disposition alterne. Les fleurs, en capitules, ressemblant à des marguerites, sont plates et portent de nombreuses ligules jaunes, étroites, et des fleurons tubulaires composant le disque central. Elles sont solitaires ou réunies en petits corymbes ou en panicules. [8]

✚ Hauteur : 0,80 à 1,50 m.

✚ Capitule : 6 à 8 cm.



Figure I 2 : *Inula helenium*

I.A.2.3 *Inula salicina*

C'est une plante commune dans une zone qui va des Pyrénées aux Ardennes. Elle devient de plus en plus rare au fur et à mesure qu'on s'en éloigne. Elle se rencontre dans des prairies fraîches et humides, en lisière de forêt, mais aussi dans des milieux plus secs. La tige simple, ou seulement ramifiée dans le haut, porte des feuilles lancéolées, plus ou moins luisantes et qui s'écartent à angle droit. Les ligules sont étroites. Les bractées externes de l'involucre sont recourbées en dehors. Une confusion est possible avec *Buphtalmum salicifolium* Linné dont le réceptacle est pourvu de paillettes et chez qui les ligules sont plus larges. [9]

✚ Hauteur : 30 à 70 cm.

✚ Capitule : 3 à 5 cm.

✚ Floraison : juin à septembre.

✚ Altitude : 0 à 600 m.



Figure I 3 :Inula salicina

I.A.2.4 Inula montana

C'est une espèce qui croît sur les sols pierreux calcaires dans un grand quart sud-est de la France. La plante, plus ou moins velue-laineuse, a des tiges généralement simples qui portent quelques feuilles lancéolées. Les capitules sont ordinairement solitaires. Les bractées externes sont étalées. [10].

- ✚ Hauteur : 10 à 40 cm.
- ✚ Capitule : 2 à 4 cm.
- ✚ Floraison : juin-juillet.
- ✚ Altitude : 0 à 1200 m.



Figure I 4 : Inula montana [11]

I.A.2.5 *Inula Helvetica*

C'est une espèce peu commune qu'on rencontre essentiellement dans le Jura et la moitié nord des Alpes. Elle se plaît dans les lieux humides, en particulier sur les bords buissonneux des rivières. La plante est pubescente et plus ou moins blanchâtre. Les ligules sont longues, étalées et étroites. Les bractées du capitule sont écartées en dehors. [12]

- ✚ Hauteur : 0,5 à 1,5 m.
- ✚ Capitule : 3 cm.
- ✚ Floraison : juillet à septembre.
- ✚ Altitude : 100 à 1200 m.

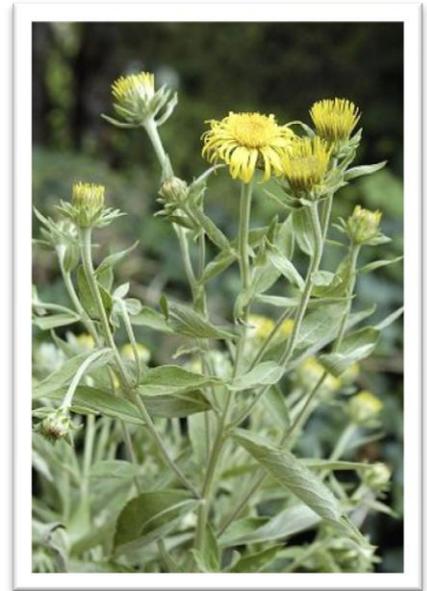


Figure I 5: *Inula Helvetica*

I.A.2.6 *Inula crithmoides*

C'est une espèce du littoral méditerranéen et atlantique qu'on peut rencontrer sur les plages, parmi les rocailles ou même dans les marais salants. La plante est ligneuse dans le bas. Les feuilles glabres sont charnues, étroites, obtuses ou terminées par trois dents. [13]



Figure I 6: *Inula crithmoides*

- ✚ Hauteur : 10 à 90 cm.
- ✚ Capitule : 20 à 25 mm.
- ✚ Floraison : août à octobre.
- ✚ Altitude : littoral.

I.A.2.7 *Inula conyza*

C'est une plante commune dans les bois clairs ou sur leur lisière. La tige ramifiée porte des feuilles un peu gaufrées, pubescentes en dessous. Les petits capitules, plus hauts que larges, ont des ligules très courtes et parfois rougeâtres. Les bractées sont arquées. [14]

- ✚ Hauteur : 20 à 80 cm.
- ✚ Capitule : 8 à 12 mm.
- ✚ Floraison : juillet à septembre.
- ✚ Altitude : 0 à 1200 m.

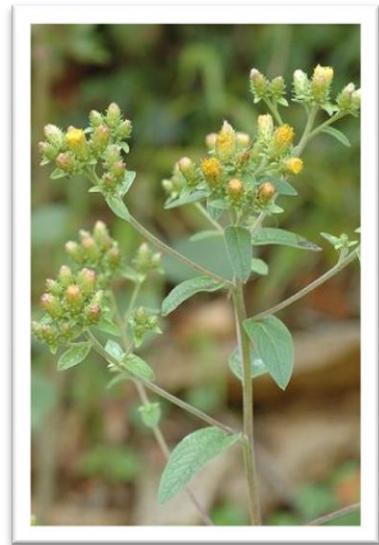


Figure I 7: *Inula conyza*

I.A.3 Description botanique d'*Inula viscosa*

L'*Inula viscosa* est l'un des rares représentants du genre *Inula*. C'est une plante vivace, herbacée, visqueuse et glanduleuse, à odeur forte qui appartient à la famille des Astéracées (Composées). Elle peut atteindre de 50 cm à 1m de hauteur et présente des capitules à fleurs jaunes très nombreux au sommet de la tige. Les feuilles sont entières ou dentées, aiguës, sinuées ; les caulinaires amplexicaules, plus largement lancéolées, les capitules assez gros en longues grappes pyramidales [1].



Figure I 8: Photos de l'*Inula viscosa*

✚ Classification botanique

Le tableau suivant représente la classification de l'inule visqueuse [15]

Tableau I 1 La classification botanique de l'inule visqueuse

Famille	Genre	Ordre	Règne	Division	Classe
Astéracées	Dittrichia	Astérales	Plantae	Magnoliophyta	Magnoliopsida

✚ Localisation et floraison

L'inule visqueuse est fréquente dans les lieux incultes, pierreux, de la région méditerranéenne. En Algérie l'espèce est localisée en générale dans les régions de moyenne altitude du tell. Elle fleurit à la fin de l'été et au début de l'automne (Août –octobre).

I.B Travaux antérieurs

L'inule visqueuse a fait l'objet d'étude de plusieurs travaux de recherches, ayant comme objectifs ; la détermination de la composition et le test des différentes activités biologiques à savoir : l'activité antifongique ; antibactérienne ; anti-inflammatoire etc. Dans ce qui suit nous allons rapporter quelques études en commençant par les différentes activités biologiques et puis la composition.

I.B.1 Activités biologiques

BENHAMMOU et al (2006) [16] ont étudié le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse provenant de la région de Tlemcen. Les moisissures retenues pour cette étude sont: *Aspergillus flavus* de référence (AF_R) : 994294 ; *Aspergillus flavus* (AF) ; *Rhizopus stolonifer* (O_1) ; *Trichoderma* sp (R_3) ; *Fusarium* sp (Fus). La détermination du pouvoir antifongique, a été faite pour deux doses des huiles essentielles (100 et 200 μ l) additionnées à 20ml de PDA stérile.

Tableau I 2 Indice d'inhibition antifongique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse. [16]

Dose/moisissure	Indice d'inhibition pour chaque moisissure (%)				
	O_1 (48H)	AF (8J)	AF_R (8J)	R_3 (7J)	Fus (7J)
100 μ l	80,58	39,43	57,65	75,15	59,41
200 μ l	84,11	60,56	56,75	81,21	65,88

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

En 2007 **HERNANDEZ** et al [17] ont évalué l'activité anti- inflammatoire de trois composés flavonoïdes isolés de l'inule visqueuse : sakuranetin, 7-O-methylaromadendrin, et 3-acetyl-7-O-methylaromadendrin.

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

En 2009, **BSSAIBIS** et al [18] ont étudié l'extraction par solvant des feuilles et des fleurs de l'inule visqueuse de la région de Kenitra (Maroc), ils ont utilisé trois solvants : éthanol, méthanol, acétone. Les meilleurs rendements ont été obtenus avec l'éthanol (les feuilles : 31,72% et les fleurs : 28.82%), suivi du méthanol et de l'acétone.

Les tests antibactériens de différents extraits de l'inule visqueuse ont été opérés sur des souches bactériennes d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Leurs résultats montrent que les extraits au méthanol sont les plus actifs, ce ci est expliqué par la diversité chimique que possèdent ces extraits.

Tableau I 3 Compositions des extraits au méthanol. [18]

Composé	Extrait des feuilles au méthanol	Extrait des fleurs au méthanol
Caryophyllene	7.27 %	13,53%
Germacrene-D	5.95 %	16,95%
Oxyde de Caryophyllene	3.85 %	5,97%
1,1'-Bi(5,5'-dimethoxy-2,2,2',2'-tetramethylindan)	10.84 %	4,39%
2-(2-Methoxyphenyl)-1H-pyrrole	22.95 %	13,78%

DANINO et al (2009) [19] ont examiné l'activité antioxydante des extraits de l'inule visqueuse. Ils ont isolé et identifié par RMN un nouvel poly phénolique qui est : Acide 1,3-dicaffeoylquinique. Par différentes méthodes, ils ont montré que ce composé possède une activité antioxydant.

I.B.2 La composition de l'huile essentielle de l'inule visqueuse

Le premier travail qui traite la composition de l'huile essentielle de l'inule visqueuse date de 1968 ; CHIARLO [20] a identifié sept azulènes, le composé majoritaire (49%) est 1,4 diméthylazulène suivi par chamazulène (32%).

L'équipe de recherche de GRANDE et al, ont réalisé plusieurs études sur l'inule visqueuse d'Alicante (Espagne). En 1985 [3] ils ont pu isoler 16 flavonoïdes (Apigenin, Genkwanin, Hispidulin, sakuranetin).

Dans un autre travail, en 1992 [4], ils ont identifié 10 composés de nature triterpénoïdes, parmi les quels on cite :

- 3β -acetoxydammar-20,25-diène-24-ol.
- 3β -acetoxydammar-20,23-diène-25-ol.
- 2-(4'-hydroxyphenyl)-ethanol.

Ils ont aussi trouvé des composés sesquiterpénoïdes, eudesmanes, et des dérivées nerolidol ; dans l'inule visqueuse d'Alicante [21].

Tableau I 4 Les différents groupes chimique, trouvés dans l'huile essentielle de l'inule visqueuse selon GRANDE et al [21].

Composés sesquiterpénoïdes	Composés eudesmane	Composés dérivées nero- lidol
3,7,11-Trimethyldodeca-1,6,10-triène-3,9-diol.	Eudesma-2, 4(15), 11(13)-trien--oic acid.	9-iso butyroxynерolidol
11-Methoxy-3, 7, 11 trimethyl dodeca-1, 6, 9-trien-3-ol.	2, 5-Peroxy eudesma-3, 11(13)-dien-12-oic acid.	9 iso valeroyloxynerolidol
3,7,11-trimethyldodeca-1,6,9-triene-3,11-diol	Acide Ilcique	9-(2-methyl-butyroxy)-nerolidol

L'huile essentielle de Turquie a été étudiée par ALONZO et al en 1996 [22], les composés majoritaires sont : Borneol (25,2%), Isobornyl d'acétate (22,5%), et Bornyl d'acétate (19,5%).

Les travaux d'ABUZARGA et al (1998, 2002) [2,23] ont décrit la présence en plus de 14 composés identifiés dans l'huile essentielle de l'inule visqueuse de la région jordanienne, 6 nouveaux sesquiterpeniques de type eudesmane. Ces composés sont l'acide 3 β -hydroxyilicique, l'acide 3 α -hydroxy-epi-ilicique, l'acide 2 α -hydroxyilicique, l'acide 9 β -hydroxy-2-oxoisocostique, l'acide 1 β hydroxyilicique et l'acide 2 β -hydroxyilicique.

En 2000, CAMACHO et al [24], ont identifié 53 constituants, qui représentent 60% de l'huile de Donadio (Espagne), les sesquiterpènes alcooliques Fokienol (38,8%) et (E)- nerolidol (7,1%) sont les principaux composés, les auteurs ont constaté la présence des sesquiterpènes : α -cadinol (1,9%), δ -cadinène (1,7%) et T-cadinol plus T-muurolol (1,1%).

Dans une étude publiée en 2002, DE LAURENTIS et al [25] ont examiné les huiles essentielles de l'inule visqueuse provenant de quatre champs différents d'Apulia (Sud d'Italie), pour les fleurs et les feuilles ; l'entraînement à la vapeur d'eau est le procédé d'extraction utilisé, les rendements trouvés pour les feuilles et les fleurs sont respectivement : 0,35% ; 0,37%. Le tableau I.5 présente les composés majoritaires identifiés.

Le composé majoritaire de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de la région d'Apulia est le carboxylate bicyclique sesquiterpène (12-Carboxyeudesma-3,11 (13) diène), ce qui rejoint le résultat de CHAMACO et al [25] qui montre que les composés majoritaires sont des sesquiterpènes oxygénés (38% Fokienol ; 7% Nerolidol).

Tableau I 5 Compositions des huiles essentielles de l'inule visqueuse selon DE LAURENTIS et al [25]

Composé	Feuilles				Fleurs			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Eucalyptol	0,11	0,12	0,15	-	9,61	0,32	2,31	2,27
1-Terpineol	0,15	0,14	0,14	0,27	1,76	2,00	1,28	0,74
α -Terpineol	t	0,34	0,10	0,32	3,10	3,86	2,57	1,74
Eugenol	t	0,11	-	0,14	-	7,27	0,43	1,21
Nerolidol	1,94	1,47	2,09	0,58	6,93	3,35	2,35	2,91
Oxyde de caryophyllène	3,27	1,77	0,84	0,91	2,62	0,63	1,31	2,19
Selina-6-en-4-ol	7,52	3,09	2,95	2,29	3,31	1,35	2,10	2,02

α -Caryophyllen-5-ol	1,82	2,80	1,49	1,60	1,66	1,02	1,07	1,90
β -Eudesmol	2,06	0,91	0,22	0,41	1,01	0,44	0,59	0,55
α -Eudesmol	3,46	1,65	0,15	1,43	2,72	2,19	1,35	1,55
Hexahydrofarnesyl acetone	0,13	0,46	t	0,30	5,14	0,94	1,80	2,07
12Carboxyeudesma- 3,11(13)diene	43,97	52,54	62,37	56,23	20,24	42,13	47,97	27,14
Monoterpènes	0,26	0,77	0,39	0,73	16,88	7,17	7,23	5,47
Sesquiterpènes Hydrocarbo- nés	5,92	3,68	3,16	2,40	9,91	5,90	7,19	8,30
Sesquiterpènes Oxygénés	66,22	68,96	72,25	66,19	46,84	53,69	60,25	43,03
Total	76,07	78,53	77,57	76,57	84,29	80,03	80,68	73,45

A : Martina ; **B** : Putignano ; **C** : Bari ; **D** : Otranto

Tableau I 6 Compositions de l'huile essentielle de l'inule visqueuse obtenues par hydrodistillation et par la méthode CO₂ supercritique (90 bar, 50 C°). [26]

IK	Composé	ESC (%)	HD (%)
1215	cis-Carveol	3,9	---
1249	Geranial	5,6	---
1395	(E)-Caryophyllène	3,5	1,9
1457	9-epi-(E)-Caryophyllène	1,8	3,0
1469	γ -Gurjunène	4,2	0,5
1473	cis- β -Guaiène	---	3,4
1502	δ -Cadinène	0,4	3,9
1545	(E)-Nerolidol	4,5	1,9
1560	Oxyde de caryophyllène	8,2	8,0
1573	Globulol	15,0	16,8
1588	Viridiflorol	8,3	2,2
1599	(E)-Sesquilavandulol	4,4	---
1620	α -Eudesmol	3,2	2,0
1633	Valerionol	---	12,0
1869	8-isobutyryloxy isobornyl isobutyrate	13,1	---
Type de colonne : DB5			

En 2003, MARONGIU et al [26] ont examiné l'huile essentielle de l'inule visqueuse de serdinia (Italie), utilisant deux méthodes d'extraction : Extraction supercritique par CO₂ et hydrodistillation. L'huile essentielle obtenue par ESC contient comme le montre le tableau ; (15%) globulol, (13,1%) 8-isobutyryloxy isobornyl isobutyrate, (8,3%) viridiflorol, et (8,2%) oxyde de caryophyllène. Tandis que pour l'hydrodistillation, les principaux constituants sont : (16,8%) globulol, (12,0%) valerionol, et (8,0%) oxyde de caryophyllène. L'existence de valerionol est constatée seulement pour l'hydrodistillation, d'après les auteurs ce composé probablement a été généré durant le procédé de l'hydrodistillation.

BLANC et al en 2006, [27] ont étudié l'huile essentielle de l'inule visqueuse Corsica (France). Premièrement ils ont fait l'analyse chromatographique des deux échantillons : échantillon acide (huile+HCl), et échantillon neutre (huile+H₂O).

Les principaux composés pour l'échantillon neutre sont : Fokienol (21,1%), (E)-nerolidol (8,6%) et Eudesm-6-en-4 α -ol (6,2%). L'activité antimicrobienne a été aussi évaluée pour les deux échantillons. L'échantillon neutre apparaît inactif, tandis que l'autre est actif contre tous les microorganismes testés. La forte activité a été constatée contre *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus foecalis* et *Proteus vulgaris*.

Tableau I 7 Les principaux constituants identifiés dans l'huile essentielle de l'inule visqueuse. [27]

Echantillon neutre		Echantillon acide	
Composé	%	Composé	%
(E)-Nerolidol	8,6	Acide Eudesma-3,11(13)-dien-12-oïque	43,7
Oxyde de caryophyllène	2,5	Acide Eudesma-4,11(13)-dien-12-oïque	10,9
Fokienol	21,1	Acide costique	4,8
Eudesm-6-en-4 α -ol	6,2	Acide Eudesma-2,4(15),11(13)-trien-12-oïque	1,9

En 2008, FALEIRO et al [28] ont étudié l'huile essentielle de l'inule visqueuse du Portugal, ils ont utilisé l'hydrodistillation comme procédé d'extraction, l'huile a été analysé par CG/MS et RMN. L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile contre six *Helicobacter pylori* a révélé que

L'huile essentielle du Portugal possède un pouvoir antibactérien (0.025 µl/ml). La composition est présentée sur le tableau I.8.

Tableau I 8 Composition de l'huile essentielle de l'inule visqueuse
selon FALEIRO et al [28]

IK	Composé	Teneur (%)
1021	1,8-Cineole	0,5
1083	Linalool	0,4
1269	Bornyl acetate	0,5
1377	α -Copaene	0,7
1419	trans-Caryophyllene	1,0
1475	α -Amorphene	0,8
1494	α -Muuroleone	1,4
1508	γ -Cadinene	2,4
1517	δ -Cadinene	4,6
1573	oxyde de caryophyllene	1,1
1608	Eudesm-6-en-4 α -ol	4,8
1622	γ -Eudesmol	1,1
1630	T-Cadinol	2,1
1630	T-Muurolol	2,7
1643	α -Eudesmol	1,4
1643	α -Cadinol	6,3
1682	3-Methoxy cuminyl isobutyrate	12,0

Type de colonne : BP-1.

I.C Extraction des huiles essentielles

I.C.1 Les huiles essentielles

I.C.1.1 Historique [29]

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. Environ, lors du règne du roi Mènes. Il existe d'autres traces qui témoignent de la persistance et l'évolution de ces pratiques. Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation, ... Par exemple, chez les Romains et les Grecs, romarin et thym étaient associés comme emblème décoratif dans la pratique des cultes et dans la célébration des triomphes. En 812, les capitulaires de Charlemagne sélectionnent 73 plantes qu'ils qualifient de plantes utiles.

L'étape byzantine de la civilisation va permettre l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale ; ainsi, vers l'an mille, Avicenne, philosophe, médecin et scientifique persan, va définir précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques.

Suite aux croisades (XIème et XIIème siècles), ces savoirs seront diffusés en Europe. Les huiles essentielles seront utilisées lors de l'épidémie de peste du XIVème siècle. Et il faudra attendre le XVIIème siècle pour que la notion d'huile essentielle apparaisse. Apothicaires et herboristes, notamment en Provence, commencent à prescrire quelques huiles essentielles.

Ensuite, les huiles essentielles vont bénéficier des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation va aussi tirer profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice Gattefossé crée, en 1928, le terme d'aromathérapie. Et en 1937, il leur consacre un ouvrage : « Aromathérapie – Les Huiles essentielles, hormones végétales ». Il mènera de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment sur leurs propriétés. Ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches, réalisées notamment par Jean Valnet.

I.C.1.2 Définitions et généralités

De très nombreux auteurs ont tenté de donner une définition des huiles essentielles. L'AFNOR donne la définition suivante (norme NF T 75-006) : « l'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation « sèche ». L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » [30].

Cette définition détermine les huiles essentielles au sens strict. Mais, de ce fait, elle écarte les produits obtenus, toujours à partir de matière première végétale, mais en employant d'autres procédés d'extraction, comme l'utilisation de solvants non aqueux ou l'enfleurage. Ainsi nous pouvons définir quatre autres types de produits [31] :

- **Concrète** : extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction par un solvant non aqueux, nommé aussi essence concrète ou essence ;
- **Résinoïde** : extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première sèche d'origine végétale, par extraction par un solvant non aqueux ;
- **Pommade florale** : corps gras parfumé obtenu à partir de fleurs, soit par enfleurage à froid (par diffusion des constituants odorants des fleurs dans le corps gras), soit par enfleurage à chaud (par digestion ou immersion des fleurs dans le corps gras fondu).
- **Absolue** : produit à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par extraction par éthanol à température ambiante.

Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau. Elles sont généralement liquides à température ambiante. Elles ont une densité inférieure à l'unité, à l'exception de quelques cas (cannelle, sassafras et vétiver). Elles ont un indice de réfraction et un pouvoir rotatoire très élevés.

Certaines plantes ont développé cette particularité pour plusieurs raisons. Pour quelques espèces, les essences représentent une stratégie pour attirer les insectes pollinisateurs [31]. Pour d'autres, elles constituent une arme de défense contre divers agresseurs (champignons, insectes, micro-organismes, herbivores). Par exemple, Belanger et Khanizadeh [32] ont montré qu'un certain nombre de cultivars de fraisiers présente un degré de résistance aux acariens qui est fonction de leur teneur en huile essentielle.

I.C.1.3 Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles sont localisées dans le cytoplasme de certaines cellules végétales sécrétrices qui se situent dans un ou plusieurs organes de la plante, à savoir [29] :

✚ Les poils sécrétrices ou trichomes :

Ils peuvent se présenter sous quatre formes : ils peuvent se composer de plusieurs cellules sécrétrices, associées pour constituer un plateau porté par un pédicelle court, poils peltés, poils capités à pieds court ou long ou bosselé. Les poils sécrétrices peuvent être externes ou bien internes, comme dans les divers eucalyptus.

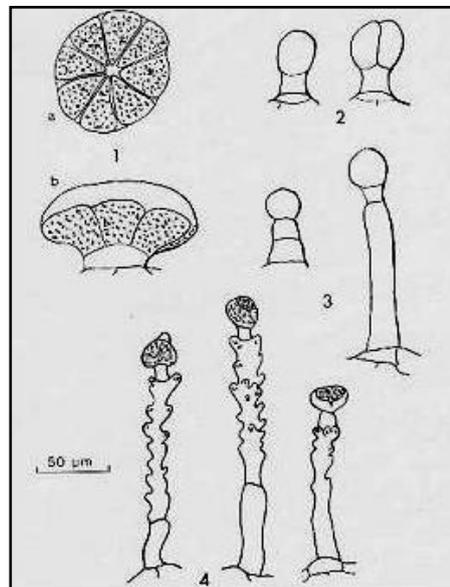


Figure I 9: Les 4 types de trichomes sécrétrices observés chez *Lavandula angustifolia* Mill.

- (1) Poil pelté, (a) vue de dessus, (b) vue de profil ; (2) Poil capité court ; (3) Poil capité long ; (4) Poil sécrétrice bosselé, différents stades de la sécrétion

✚ Les cellules épidermiques.

Il s'agit de cellules plus petites que les autres cellules épidermiques. Elles sont davantage perméables car leur paroi ne contient pas de cutine. Ce type de cellules se rencontre généralement dans les pétales de fleurs.

✚ Les cellules sécrétrices internes.

Elles sont plus grandes et plus épaisses que les autres cellules. Elles peuvent se situer dans différents tissus, comme le parenchyme, le phloème ou le xylème.

✚ Les poches sécrétrices.

La genèse des poches sécrétrices débute par la division d'une cellule parenchymateuse en quatre cellules, qui forment en leur centre une poche. Dès lors il existe deux voies d'évolution pour cette poche :

- a) soit les cellules, qui entourent la poche, continuent à se diviser tout en formant une seule rangée tout autour, la poche est qualifiée de schizogène (Figure, a).
- b) soit les cellules, entourant la poche, vont se diviser et s'organiser pour constituer des rangées successives autour de la poche, avec un phénomène de lyse pour les cellules de la rangée la plus interne, ce qui forme alors une poche schizolysigène (Figure I.10, b).

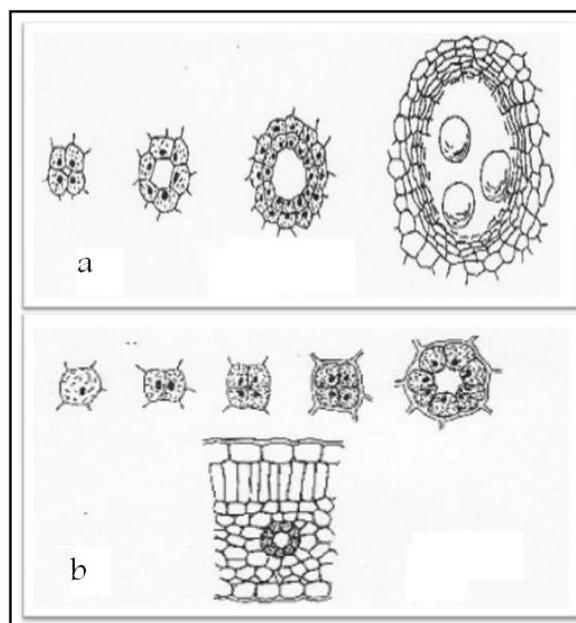


Figure I 10 :(a). Poche sécrétrice schizogène; (b). Poche sécrétrice schizolysigène

✚ Les canaux sécréteurs

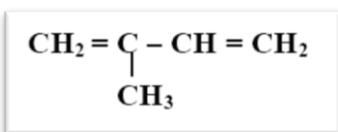
I.C.1.4 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles constituent des mélanges complexes de composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses. Ainsi, par l'analyse instrumentale moderne (chromatographie gazeuse capillaire, couplage chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse), il n'est pas rare de reconnaître plusieurs dizaines voire une ou deux centaines et parfois plus de constituants dans une huile essentielle (huiles essentielles de vétiver, de patchouli, de géranium). Par contre, certaines huiles ne contiennent que quelques composés, avec, généralement, la prédominance d'un composé. Enfin les propriétés odorantes de ces huiles sont souvent sous l'influence de plusieurs composés qui ne sont présents qu'à de très faibles proportions. [33]

L'ensemble de ces composés peut être divisé en deux grands groupes :

- ✚ le groupe des terpénoïdes.
- ✚ le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.
- **Les terpènes ou terpénoïdes** [34]

Les terpènes constituent une classe de composés d'origine naturelle présente surtout dans le règne végétal. Ce sont des hydrocarbures de structure très diverses : acycliques, monocycliques, bicycliques..., portant parfois différentes fonctions. Les molécules de la famille des terpènes sont considérées comme formées de l'assemblage de deux ou plusieurs unités d'isoprène ou 2-méthylbuta-1,3-diène :



Ils répondent à la formule brute : (C₅H₈)_n.

- **Composés aromatiques** [34]

Les composés de la classe de phényl-propanoïdes sont moins fréquents que les terpénoïdes. Ce sont très souvent des allyl- et propényl-phénols. On trouve parfois des aldéhydes aromatiques caractéristiques de certaines huiles essentielles de la famille des Apiaceae (anis, fenouil, persil, etc.). Certaines huiles essentielles contiennent le cinnamaldéhyde ou l'estragol (essence de basilic). Dans d'autres essences, les acides benzoïque et cinnamique sont présents. On rencontre également des aldéhydes phénols comme l'aldéhyde protocatéchétique ou l'aldéhyde salicylique de la

Reine des prés. Les aldéhydes aromatiques et les phénols sont à l'origine des arômes caractéristiques des condiments, tels que les clous de girofle (eugénol) et la cannelle (cinnamaldéhyde).

I.C.1.5 Activités biologiques des huiles essentielles et leurs domaines d'utilisation [35]

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 endocanalaire et d'origine fongique contre les dermatophytes. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques 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.

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

I.C.1.6 Les facteurs de variabilité de la composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, parmi lesquels, on cite :

I.C.1.6.1 La biosynthèse

Le premier paramètre influençant la composition chimique d'une plante est sa biosynthèse et donc son profil génétique. C'est la raison pour laquelle, une même espèce peut présenter plusieurs chimotypes de profils chimiques différents. Il s'agit en fait de races chimiques. Il existe de nombreux exemples d'un tel phénomène, notamment chez le basilic, le thym, la sauge... [36]

I.C.1.6.2 Les organes

La composition varie aussi suivant les organes de la plante concernés. Les biosynthèses y sont différentes. Par exemple, l'huile essentielle d'écorce de cannelle sera riche en cinnamaldéhyde, alors que l'huile essentielle de feuille le sera en eugénol. [36]

I.C.1.6.3 Les conditions environnementales

Elles influencent aussi la composition. La température, la quantité de lumière, la pluviométrie, les conditions édaphiques représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée [36]

I.C.1.6.4 Les conditions culturelles

Telles que la date de semis, date de récolte, les traitements phytosanitaires, l'emploi d'engrais, ainsi que les techniques de récolte... influencent aussi la composition. [36]

I.C.1.6.5 Cycle végétatif

Le stade végétatif au moment de la récolte est un facteur déterminant pour le rendement et la composition de l'huile essentielle des plantes. On prend l'exemple qui a été étudié par Edmongor et al [37] (1989), ils ont comparé la composition des huiles essentielles de camomille obtenues à partir de fleurs récoltées à différents temps après leur repiquage initial (entre 78 et 176 jours). Ils ont pu observer, une nette diminution du pourcentage en Chamazulène avec le temps et une augmentation de l'Oxyde de bisabol de type B.

I.C.2 Techniques d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont composées par des molécules aromatiques d'origines végétales présentant une très grande diversité de structure. Cependant ces huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%), ce qui en fait des substances fragiles, rares, mais toujours précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisant une forte demande toujours plus exigeante.

Il existe nombreuses techniques d'extraction des huiles essentielles, parmi lesquelles figure la distillation qui est la méthode la plus ancienne, mais également la plus utilisée. D'autres techniques plus récentes restent d'un emploi très limité.

Dans un premier temps, nous présenterons les principales techniques d'extraction conventionnelles des huiles essentielles et des extraits aromatiques actuellement utilisées. Après cela nous allons décrire quelques méthodes récentes à savoir : l'extraction assistée par micro-ondes.

I.C.2.1 Les techniques d'extraction conventionnelles

I.C.2.1.1 Entraînement a la vapeur d'eau [38]

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

I.C.2.1.2 Hydrodistillation [38]

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotropique « eau + huile essentielle » distille à une température égale 100°C à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. Il est ensuite refroidi et condensé dans un essencier ou vase florentin.

Une fois condensées, eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le principe de recyclage est communément appelé cohobage. En laboratoire le système équipé d'une cohobe qui est généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles en accord avec la Pharmacopée Européenne est le Clevenger

I.C.2.1.3 La technique de l'enfleurage [39]

Cette technique est employée en parfumerie. Elle est fondée sur l'affinité qui peut exister entre les corps gras et les huiles essentielles. En effet les huiles essentielles sont absorbées par les corps gras, souvent à froid (enfleurage à froid) ou à l'état liquide par chauffage (enfleurage à chaud).

- **L'enfleurage a froid ou extraction dans la graisse froide**

Elle est particulièrement adaptée aux fleurs fragiles (jasmin, tubéreuse, ...). Ces dernières conservent leur odeur après la cueillette, mais elles la perdent sous l'action de la chaleur.

Des surfaces planes en verre, supportées par un châssis en bois, sont recouvertes, sur leurs deux faces, d'une couche de graisse inodore, souvent de la graisse animale raffinée. Après cette opération, les fleurs sont réparties sur ce « lit » de graisse. Grâce à son pouvoir d'absorption, la graisse capture les constituants du parfum exhalés par la matière première. Les châssis sont retournés régulièrement afin d'éliminer les fleurs « vidées » de leur parfum. Une même couche de graisse est utilisée jusqu'à sa saturation en parfum.

Le temps de l'opération dépend de la nature de la matière première. Au terme de cette étape, la graisse est recueillie à l'aide d'une spatule en bois par raclage. Le produit obtenu est appelé « pommade florale », qui peut subir, par la suite, une extraction par l'alcool afin d'avoir une « absolue ». La graisse parfumée est placée dans une batteuse, dans laquelle est également versé de l'alcool. Les molécules odorantes migrent vers la phase éthylique. Le mélange graisse-alcool est refroidi et la graisse est éliminée par filtration. Ensuite l'alcool est évaporé par distillation sous vide, pour obtenir l'absolue.

- **L'enfleurage a chaud ou extraction dans la graisse chaude :**

Il s'agit d'une variante de la technique précédente, réservée aux fleurs un peu moins fragiles, comme la rose centifolia, la violette, la fleur d'oranger et la cassie. L'enfleurage à chaud est aussi appelé digestion ou macération. Cette technique consiste à faire fondre de la graisse dans de grandes marmites, chauffées au bain-marie, dans lesquelles est plongée la matière première. Le mélange est laissé à refroidir pendant une à deux heures, puis à nouveau chauffé afin d'être filtré par un tamis métallique pour séparer la graisse parfumée de la matière première épuisée. La même charge de graisse est employée jusqu'à sa saturation en molécules odorantes.

Le produit final est, comme précédemment, une « pommade florale ». Il est également possible d'obtenir « l'absolue » par extraction éthylique.

I.C.2.1.4 L'extraction par solvant organique [29]

Cette dénomination est employée dès lors que le solvant n'est pas de l'eau. Il est possible d'utiliser des solvants de natures différentes. Mais le solvant choisi doit répondre à de très nombreuses exigences :

- ✚ Être non miscible dans l'eau, car le cas contraire rendrait impossible la séparation entre l'eau, le solvant et l'huile essentielle ;
- ✚ avoir une température d'ébullition basse afin d'être facilement et rapidement éliminé après l'opération d'extraction, par évaporation sans l'application d'une température élevée qui pourrait altérer la qualité du produit final ;
- ✚ être suffisamment puissant pour dissoudre les molécules responsables du parfum, mais sans extraire les autres molécules inutiles dans la composition du parfum, comme les pigments par exemple ;
- ✚ être liquide à la température et la pression sélectionnées pour l'opération d'extraction, tout en étant ininflammable ;
- ✚ être non réactif avec les composants du produit final ;
- ✚ être peu cher.

L'inconvénient de cette technique réside dans la nature même de ce procédé. Les solvants employés sont en effet dangereux pour l'homme et/ou pour l'environnement. Ainsi, l'innocuité des produits extraits grâce à cette technique n'étant pas garantie, il est impossible des les utiliser pour des applications alimentaires ou pharmaceutiques. Le benzène, autrefois couramment utilisé, est aujourd'hui interdit en raison de ses effets néfastes pour l'homme. Il est remplacé par l'hexane qui présente néanmoins encore beaucoup de risques.

I.C.2.2 Techniques d'extraction récentes

I.C.2.2.1 L'extraction assistée par micro-ondes [40]

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques, dont la fréquence est comprise entre 300 MHz et 30 GHz, soit une longueur d'onde entre 1 m et 1 cm. La fréquence généralement employée est de 2450 MHz, soit une longueur d'onde de 12,2 cm. Les matériaux capables de

s'échauffer sous l'action des micro-ondes sont des matériaux composés de molécules formant des dipôles électriques (des matériaux électriquement neutres, mais ayant une répartition dissymétrique de leurs charges ioniques partielles). Ces dipôles de répartition généralement aléatoire, s'orientent dans le sens du champ électrique extérieur imposé. Dans le cas d'un champ électrique alternatif, les dipôles changent « rapidement » de sens et la haute fréquence génère un mouvement aléatoire traduisant ainsi une haute température du système.

La faculté d'un matériau à s'échauffer sous l'action des micro-ondes se révèle par son facteur de pertes diélectriques ϵ . Si ce facteur est supérieur à 1, les matériaux sont facilement chauffés par micro-ondes ; entre 0,1 et 1, le chauffage par micro-ondes reste possible sous certaines conditions ; pour des valeurs inférieures à 0,1 ; le chauffage par micro-ondes est impossible.

Dans le cas des produits naturels, c'est la teneur en eau qui déterminera la capacité de ces produits à être chauffé par micro-ondes : si la teneur en eau est supérieure à 20% en masse, le produit s'échauffera facilement ; et si la teneur est inférieure, le chauffage par les micro-ondes nécessitera une mise en œuvre particulière.

I.C.2.2.2 Extraction par micro-ondes sans solvant (SFME):

Deux cas sont à considérer : les plantes à huile essentielle superficielle et celles à huile essentielle non superficielle. Dans le premier cas, les micro-ondes sont en mesure de chauffer la matière première et d'extraire l'huile essentielle, seulement à l'aide de l'eau de constitution du végétal. Dans la deuxième situation, les micro-ondes sont capables de générer un gradient thermique inversé par rapport à celui obtenu lors d'une extraction par la vapeur, ce qui permet au système de remédier au paradoxe d'AL-HADDAD et al. Cette inversion a pour conséquence de faciliter la diffusion des molécules constitutives de l'huile essentielle. Dans tous les cas, la matière première doit présenter une teneur en eau suffisamment élevée.

Cette technique a été testée lors de plusieurs travaux. Dans ces derniers, la SFME est le plus souvent comparée à l'hydrodistillation classique. Par exemple, Lucchesi et al. [41] ont appliqué la SFME pour l'extraction d'huile essentielle à partir d'*Ocimum basilicum* L., *Mentha crispa* L. et *Thymus vulgaris* L. Les huiles essentielles ont été extraites en 30 min par SFME, contre 4, 5 h pour l'hydrodistillation et elles étaient plus riches en composés oxygénés. La technique SFME est donc plus économique, en temps, en énergie et en matière première. Wang et al. [42] ont extrait l'huile essentielle à partir de matières premières séchées, *Cuminum cyminum* L. Et *Zanthoxylum bungeanum* Maxim., après réhumidification. Dans ce cas également la technique SFME s'est

révélée être simple, rapide et économique, mais aussi adaptée aux matières premières fraîches comme au matériau séché et ré-humidifié.

I.C.2.2.3 Hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulse (VMHD)

Ce procédé a été breveté et développé par la société Archimex [43]. Il repose sur l'application simultanée des micro-ondes et d'un vide pulsé. La puissance des micro-ondes (fixée au début du traitement, généralement entre 0, 2 et 1 kW/kg de matière première) est maintenue constante tout au long du traitement.

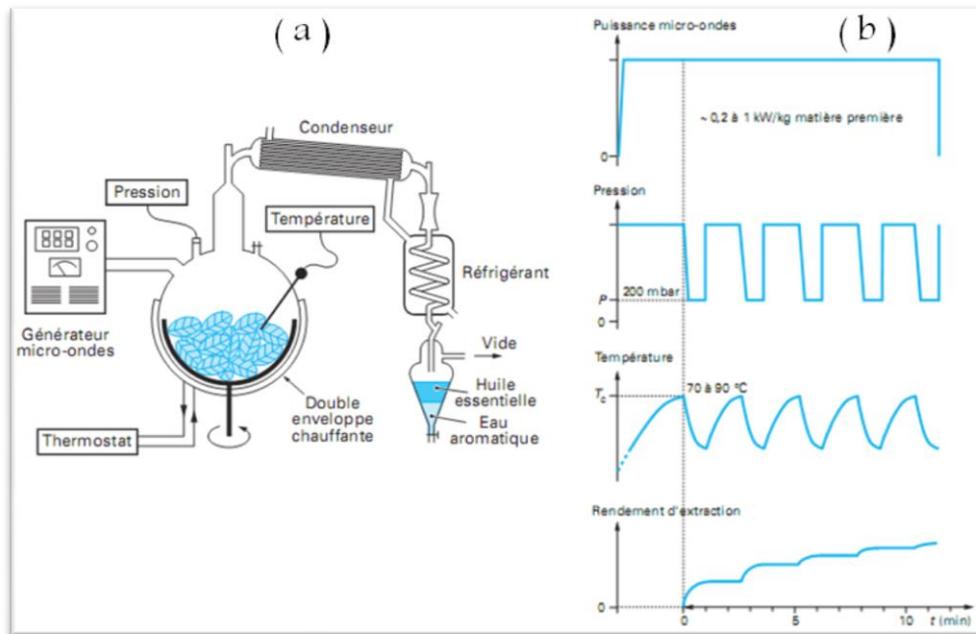


Figure I 11 : (a). Schéma d'une installation VMHD. (b). Evolution des principaux paramètres du procédé VMHD en fonction du temps.

Ces micro-ondes ont pour effet d'accélérer le transfert des molécules vers le milieu extérieur. Le vide pulsé, quant à lui, permet de réaliser l'entraînement azéotropique de l'huile essentielle à une température inférieure à 100°C. La figure I.11 a donne le détail d'une installation pilote VMHD, alors que la figure I.11 b montre l'évolution des principaux paramètres du procédé VMHD et du rendement d'extraction en fonction du temps. Le chauffage par les micro-ondes et par la double enveloppe amène la matière première à une température T_c , ce qui demande un temps t_1 . Une chute de pression est alors provoquée et cette pression reste à un niveau assez bas, inférieur à la tension de vapeur d'eau à cette température, pendant un temps t_2 .

Pendant cette période de faible pression, l'eau de constitution du végétal est vaporisée, ce qui a pour effet de diminuer la température. Un cycle correspond à la succession des deux périodes t_1 et t_2 . Plusieurs cycles vont se succéder. Notons, dès à présent, le niveau des temps mis en jeu tout particulièrement la vitesse à laquelle le passage vers le vide a lieu.

Le procédé VMHD réalise une extraction 5 à 10 fois plus rapide, pour un rendement équivalent [44]. Il nécessite une température inférieure à celle des méthodes traditionnelles, réduisant ainsi les risques de dégradation thermique et produisant, de ce fait, des huiles essentielles ayant un profil très proche des essences contenues dans la matière première végétale. Cette technique permet une économie d'énergie, car il n'y a pas d'étape de chauffage de l'eau comme dans les méthodes classiques. Les résidus d'extraction du procédé VMHD sont solides et plus facilement manipulables. Enfin le procédé VMHD peut traiter les matières premières fraîches, mais aussi les produits secs après ré-humidification [39]. Cette technique présente quelques difficultés. D'une part les micro-ondes ne pénètrent qu'à une faible profondeur. D'autre part, il est assez complexe d'obtenir un couplage efficace et homogène entre ces micro-ondes et la charge. Aussi la transposition à l'échelle industrielle connaît quelques problèmes. Toutefois, il existe des installations d'une capacité de 100 litres.

I.C.2.2.4 Extraction par le dioxyde de carbone supercritique

Avec une faible température critique (31°C), le dioxyde de carbone CO_2 se positionne en tête des fluides supercritiques industriels, il permet de développer des procédés à basse température pour des produits thermosensibles. Il présente par ailleurs de nombreuses propriétés qui en font un solvant de choix (non toxique, incolore, inodore et ininflammable et peu coûteux) ce qui permet des conditions de sécurité supérieures [45].

Un procédé d'extraction par CO_2 supercritique fonctionne en circuit fermé. Il comporte des organes de mise en pression (pompe) et en température (échangeur) afin d'amener le CO_2 au-dessus de son point critique. Le produit à traiter est placé dans un extracteur traversé par le flux de CO_2 supercritique. Le fluide se charge en composé extrait, puis il est détendu, passe en phase gazeuse et se sépare du composé extrait, ce dernier est recueilli dans un séparateur [46].

L'avantage de cette extraction est qu'à la fin du procédé, on obtient des extraits 100% naturels, sans traces de solvant. L'extraction au CO_2 supercritique est donc actuellement le moyen le plus écologique et technologique d'obtenir des actifs végétaux de très haute qualité. Ce sera donc un solvant de choix pour les applications dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, cosméto-

logiques, le seul inconvénient qui empêche le développement de cette technologie est le coût élevé des appareillages lié à l'application de pressions relativement élevées et nécessitant des équipements en matériaux spéciaux [47].

CHAPITRE II

Matériels & Méthodes

Dans l'objectif d'étudier l'influence de la période de récolte sur le rendement et la composition de l'huile essentielle de l'inule visqueuse ; nous avons cueilli les feuilles de l'inule visqueuse pour quatre périodes de l'année (septembre, décembre ; mars ; juin).

Nous avons fait pour chaque lot des extractions par EVE et HD ; dans le cas de l'extraction par EVE, nous avons aussi élaboré des cinétiques.

Des analyses par GC et GC/MS ont été faites pour les quatre lots ; ces dernières ont permis d'identifier les constituants de l'huile essentielle.

L'évolution des composés majoritaires de l'huile essentielle au cours de l'extraction par EVE a été faite ; afin de mieux comprendre les cinétiques de ces constituants.

Les huiles ainsi récupérées pour les périodes de mars et juin ont été testées sur des champignons, concernant lot de mars nous avons utilisé *Botrytis cinerea* , et *Micro* ; pour lot de juin nous avons sélectionné *Fusarium C* , *Fusarium G*.

II.1 Matière végétale

La plante utilisée provient de la région de Sidi rzine située 10 km au sud d'Alger. L'inule visqueuse a été récoltée durant quatre périodes de l'année.

Tableau II 1 Description des différents lots de la matière végétale

N° de lot	Date de récolte	Quantité (g)
1	20/ 09 / 2009	300
2	21 / 12 / 2009	800
3	20 / 03 / 2010	750
4	20 / 06 / 2010	1200

II.2 Mesure du taux d'humidité

Le taux d'humidité de la matière végétale a été déterminé dans l'appareil de Dean Stark, présenté à la figure II.1.

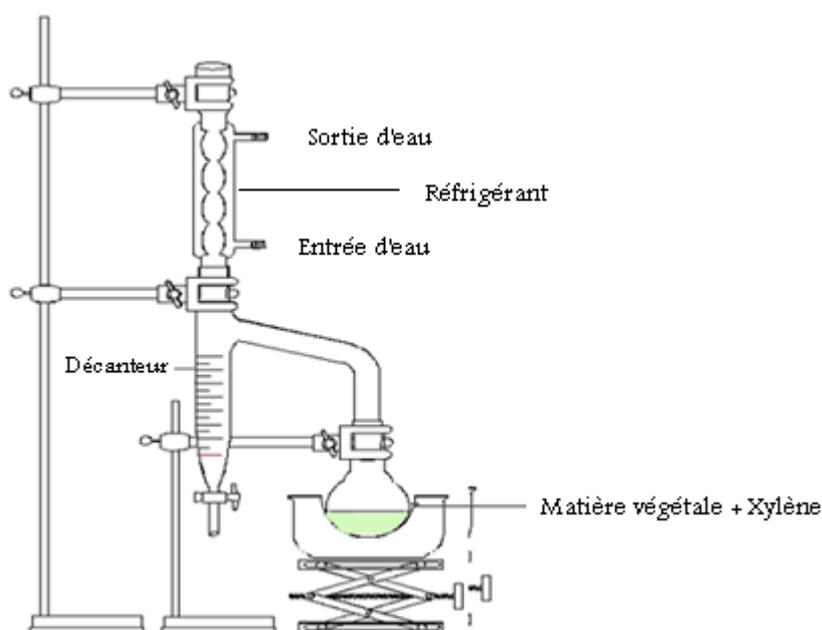


Figure II 1 : Montage de Dean Stark

Introduire une masse de 10 g de l'inule visqueuse dans le ballon de 500 ml. Ajouter l'xylène jusqu'à immersion totale de la matière végétale et surmonter le ballon de tube gradué et du réfrigérant. Chauffer le contenu du ballon, jusqu'à l'ébullition. Les vapeurs d'eau et d'xylène condensées dans le réfrigérant sont recueillies dans le tube gradué de réception. Après décantation, la phase légère, le xylène retourne par le trop-plein dans le ballon, alors que la phase lourde, l'eau, est recueillie au fond du tube gradué. Son volume est mesuré à la température ambiante.

La teneur en eau de la matière végétale, exprimée en % de masse de la matière végétale, est calculée par la formule suivante :

$$H = \frac{V_{\text{eau}} \cdot \rho_{\text{eau}}}{100} \cdot m$$

H : Taux d'humidité (%)

V_{eau} : Le volume d'eau recueilli dans le tube récepteur (ml);

ρ_{eau} : La masse volumique de l'eau à la température T° (g/ml).

m : masse de la matière végétale (g).

II.3 Procédés d'extraction

II.3.1 Entraînement à la vapeur d'eau

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

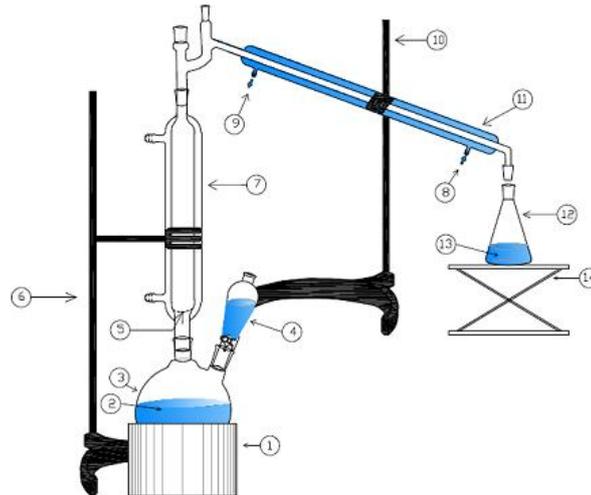


Figure II 2: Appareillage de l'entraînement à la vapeur d'eau.

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> 1) Chauffe ballon. 2) Eau. 3) Ballon. 4) Ampoule à couler. 5) Distributeur de vapeur. 6) Support de l'extracteur. 7) Extracteur contenant la matière végétale. | <ul style="list-style-type: none"> 8) Entrée de l'eau de refroidissement. 9) Sortie de l'eau de refroidissement. 10) Support du réfrigérant. 11) Réfrigérant. 12) Récipient de recette 13) Distillat. 14) Support élévateur. |
|--|---|

Les Conditions opératoires

Tableau II 2 Conditions opératoires de l'entraînement à la vapeur d'eau.

Lot	Septembre	Décembre	Mars	Juin
Quantité de matière végétale(g)	12	16	25	16
Taux d'humidité(%)	13	10	21	13,5
Temps de stockage	4 semaines	6 mois	2 semaines	3 semaines
Temps d'extraction (heure)	4	4	4	5

II.3.2 Hydrodistillation

L'hydrodistillation des feuilles de l'inule visqueuse a été menée, durant 4 heures, au moyen de l'appareillage schématisé sur la figure II.3. La matière végétale, baignant dans l'eau bouillante, est disposée dans un ballon à deux cols, d'une capacité de 4 litres, relié à un réfrigérant. La vapeur d'eau produite entraîne les constituants volatils qui, après condensation dans le réfrigérant, sont recueillis dans le récipient de recette. L'huile est ensuite séparée du distillat par extraction liquide-liquide au moyen de l'éther diéthylique.

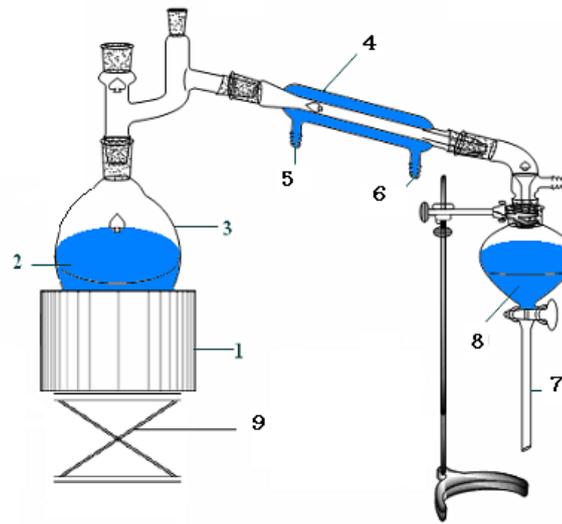


Figure II 3: Appareillage de l'hydrodistillation.

- | | |
|---------------------------------|-----------------------|
| 1. Chauffe ballon | 6. Entrée de l'eau |
| 2. Mélange eau/matière végétale | 7. Ampoule à décanter |
| 3. Ballon | 8. Distillat |
| 4. Réfrigérant | 9. Support élévateur |
| 5. Sortie de l'eau | |

Les Conditions opératoires

Tableau II 3 Conditions opératoires de l'hydrodistillation.

Lot	Septembre	Mars
Quantité de matière végétale (g)	50	50
Taux d'humidité (%)	13	21
Temps de stockage	4 semaines	2 semaines
Temps d'extraction (h)	4	4

II.4 Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement est le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse de la matière séchée.

$$R(\%) = 100 * \frac{m_{HE}}{M_{MS}}$$

$$M_{MS} = M * (1 - H)$$

Tel que :

M : la matière végétale utilisée ; H : taux d'humidité.

II.5 Analyse de l'huile essentielle

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

Le tableau II.4 montre toutes les conditions chromatographiques.

II.6 Identification

Les identifications ont été réalisées sur la base de la comparaison de nos spectres de masse avec ceux de la banque de données de NIST 98 et Wiley pour la plus part des constituants, pour certains les références sont mentionnées dans les tableaux.

Concernant les analyses par GC/FID, nous nous sommes basé sur la comparaison de temps de rétention avec ce qu'on a trouvé par GC/MS, dans les mêmes conditions d'analyse.

Tableau II 4 Les conditions chromatographiques d'analyse.

	Appareille	Colonne	Températures	Gaz vecteur	Spectromètre de masse	Volume injecté
Lot de Mars	HP 6890 GC/ HP 5973 MS	HP5	Colonne : 35 (5min) à 250C° (6C°/min).	Hélium	Températures :	1µl
			Injecteur : 250C° DéTECTEUR : 250C°	Débit : 1 ml/min	Interface : 280 C° Source : 250 C° Energie : 70 ev	
Lot de Septembre	HP 6890 GC/ HP 5973 MS	DB1	Colonne : 80C° (5min) à 280C° (30min) (2C°/min.)	Hélium	Températures :	1µl
			Injecteur : 250C° DéTECTEUR : 250C°	Débit : 0,5 ml/min	Interface : 280 C° Source : 230 C° Energie : 70 ev	
Lot de Juin et Décembre	HP 6890 GC/ HP 5973 MS	HP5	Colonne : 60 à 250C° (3C°/min.)	Hélium	Températures :	1µl
			palier de 15 min Injecteur : 250C° DéTECTEUR : 250C°	Débit : 1 ml/min	Interface : 280 C° Source : 230 C° Energie : 70 ev	

II.7 Evaluation de l'activité antifongique

II.7.1 Matériels fongiques

Quatre espèces fongiques : *Botrytis cinerea*, *Micro*, *Fusarium Culmorum*, *Fusarium Graminearum* ont été utilisées pour tester l'efficacité de l'huile essentielle de l'inule visqueuse. Ces champignons proviennent du laboratoire de Microbiologie, département Botanique de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomiques d'Alger. Les champignons *Botrytis cinerea*, et *Micro*, sont utilisés pour le test de l'huile de Mars, et les deux autres (*Fusarium C*, *Fusarium G*) pour l'huile essentielle de Juin.

II.7.2 Préparation du milieu de culture PDA

Le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) a été préparé au laboratoire dont la composition est :

Pomme de terre	200 g
Agar	30 g
Glucose	30 g
Eau distillée	1000 ml

II.7.3 Préparation et incorporation d'huile essentielle de l'inule visqueuse dans le milieu PDA

Pour chaque huile de l'inule visqueuse, nous avons utilisé trois concentrations : C_1 ; C_2 ; C_3 $\mu\text{g/ml}$. Les différentes concentrations ont été incorporées à l'aide d'une micropipette réglable dans chaque boîte de Pétri contenant le milieu en surfusion (PDA). Chaque boîte a été préalablement agitée avant la solidification du milieu. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque huile. Un témoin comportant le solvant (éthanol) additionné à 20 ml d'un milieu de culture PDA en surfusion a été réalisé.

II.7.4 Ensemencements des champignons

Des explants de 5 mm de diamètre ont été prélevés à partir des cultures de champignons. Les explants sont ensuite déposés au centre de chaque boîte de Pétri contenant un milieu PDA. Les cultures ainsi obtenues sont incubées dans une étuve à l'obscurité et à une température de 25C° .

II.7.5 Mesure du pourcentage d'inhibition

L'incubation a été arrêtée après une semaine lorsque le mycélium couvre la totalité de la boîte du témoin. Le pourcentage d'inhibition provoqué par l'huile essentielle est déterminé selon l'équation suivante :

$$I(\%) = \frac{Dt - D}{Dt} \cdot 100$$

Où I : le pourcentage d'inhibition %.

Dt : Croissance mycélienne du témoin exprimée en mm.

D : Croissance mycélienne du traité exprimé en mm.

CHAPITRE III

Résultats & Discussion

III.1 Analyses quantitatives des huiles essentielles de l'inule visqueuse

III.1.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Le tableau III.1 présente les résultats quantitatifs obtenus lors de l'extraction de l'huile essentielle de l'inule visqueuse par entraînement à la vapeur d'eau, à partir des feuilles récoltées à différentes périodes de l'année.

Tableau III 1 Rendements en huile essentielle obtenus par EVE, pour différents lots.

Lot	N° d'essai	Débit volumique moyen (ml/min)	Rendement (%)
Septembre	1	8,46	0,32
	2	7,35	0,27
	3	8,87	0,34
	Moy	8,23	0,28
	Ecart%	18,5	22,6
Décembre	1	8,84	3,21
	2	7,56	2,89
	Moy	8,20	3,05
	Ecart%	7,80	5,20
Mars	1	7,89	0,36
	2	8,39	0,42
	3	8,87	0,45
	Moy	8,38	0,41
	Ecart%	5,90	11,3
Juin	1	11,89	4,05
	2	12,28	4,91
	3	13,41	6,69
	Moy	12,53	5,22
	Ecart%	7,05	28,2

Commentaires

Les grands écarts sur le débit peuvent provoquer de grands écarts sur le rendement mais sur le lot de juin l'écart n'est pas uniquement dû au débit mais probablement à la manipulation et au lot lui-même.

On remarque l'existence d'une fluctuation des rendements au cours de l'âge de la plante. Les rendements plus élevés sont juin (6,69%) et Décembre (3,21%), les faibles sont ceux obtenus aux mois de Septembre (0,34%) et Mars (0,45%). Mais la différence sur l'essai du lot de décembre peut être attribuée en partie à la période de stockage.

III.1.2 Extraction par Hydrodistillation

Le tableau III.2 présente les résultats quantitatifs obtenus lors de l'extraction de l'huile essentielle de l'inule visqueuse par entrainement à la vapeur d'eau, à partir des feuilles pour les lots de Septembre et Mars.

Tableau III 2 Rendements en huile essentielle obtenus par HD, pour les lots de Septembre et Mars.

Lot	N° d'essai	Débit volumique moyen (ml/min)	Rendement (%)
Septembre	1	6,91	0,145
	2	7,23	0,163
	3	7,49	0,178
	Moy	7,21	0,162
	Ecart %	4,2	1,9
Mars	1	7,54	0,135
	2	8,42	0,148
	Moy	7,98	0,142
	Ecart %	5,5	4,6

Un écart faible sur le débit entraine un écart faible sur le rendement.

Commentaires

Le suivi du rendement de l'huile essentielle obtenu par les deux méthodes d'extraction, l'HD et l'EVE pour les deux lots ; Septembre et Mars est présenté sur les histogrammes de la figure III.1

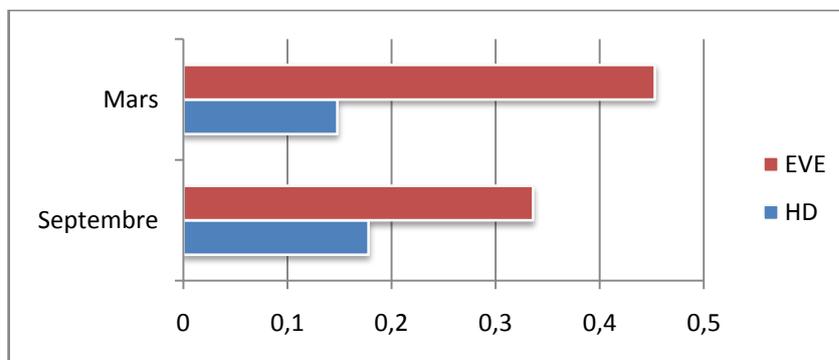


Figure III 1 : Rendements en huile essentielle pour chaque Lot, et chaque procédé d'extraction (HD, EVE).

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une supériorité en rendement obtenu par l'EVE pour les deux lots, cette supériorité est plus remarquable pour l'essai du lot de Mars. Ces résultats permettent de conclure que la façon optimale d'extraire une grande quantité d'huile essentielle est d'utiliser l'entraînement à la vapeur d'eau.

III.1.3 Etude de la cinétique de l'extraction des huiles essentielles obtenues par l'entraînement à la vapeur d'eau

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

Les résultats des cinétiques d'extraction par l'EVE pour les quatre périodes de récolte (Septembre, Décembre, Mars, Juin) sont respectivement donnés dans les tableaux III.3, III.4, III.5, III.6

Tableau III 3 Résultats de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle par l'EVE.

Lot de Septembre.

t(mn)	m_{HE}(g)	R(%)
10	0,0089	0,085
20	0,0104	0,100
30	0,0112	0,107
40	0,0129	0,124
50	0,0146	0,140
60	0,0197	0,189
70	0,0265	0,254
80	0,0274	0,262
90	0,0285	0,273
100	0,0289	0,277
120	0,0296	0,284
140	0,0303	0,290
160	0,0305	0,292
180	0,0311	0,298
200	0,0318	0,305
240	0,0325	0,311

Tableau III 4 Résultats de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle par l'EVE.

Lot de Décembre.

t(mn)	m_{HE}(g)	R(%)
30	0,008	0,056
60	0,012	0,085
90	0,025	0,172
120	0,035	0,242
150	0,083	0,574
180	0,086	0,601
210	0,380	2,642
240	0,492	3,417

Tableau III 5 Résultats de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle par l'EVE.

Lot de Mars.

t(mn)	m_{HE}(g)	R(%)
30	0,007	0,054
60	0,012	0,100
90	0,023	0,190
120	0,034	0,280
150	0,043	0,350
180	0,048	0,389
210	0,052	0,420
240	0,053	0,430

Tableau III 6 Résultats de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle par l'EVE.

Lot de Juin.

Fraction	t(mn)	m_{HE}(g)	R(%)
F₁	30	0,023	0,17
F₂	60	0,049	0,35
F₃	90	0,049	0,35
F₄	120	0,066	0,48
F₅	150	0,126	0,91
F₆	180	0,216	1,56
F₇	210	0,497	3,59
F₈	240	0,852	6,16
F₉	270	0,927	6,70
F₁₀	300	0,953	6,89

Les courbes cinétiques donnant les évolutions des rendements en huile essentielle, en fonction du temps lors de l'extraction par EVE pour les quatre périodes de récolte (Septembre, Décembre, Mars, Juin) sont respectivement illustrées par les figures III.2, III.3, III.4, III.5

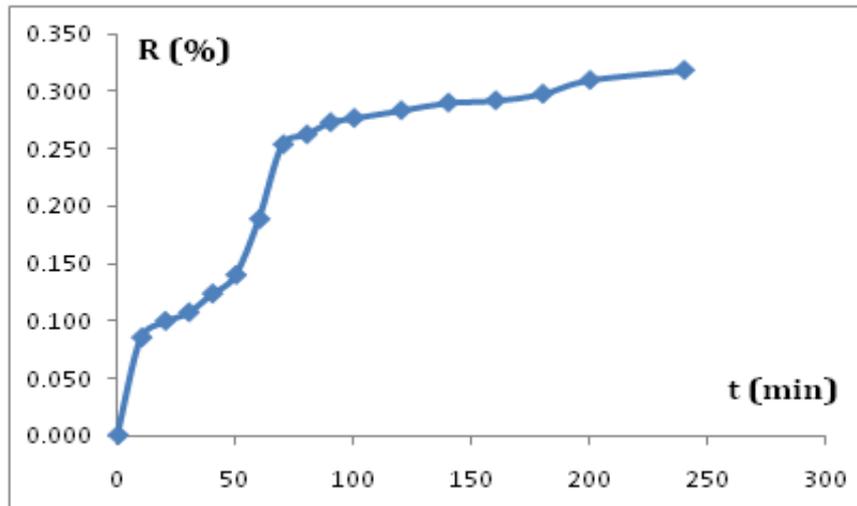


Figure III 2: Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps lors de l'extraction par EVE. Lot de Septembre.

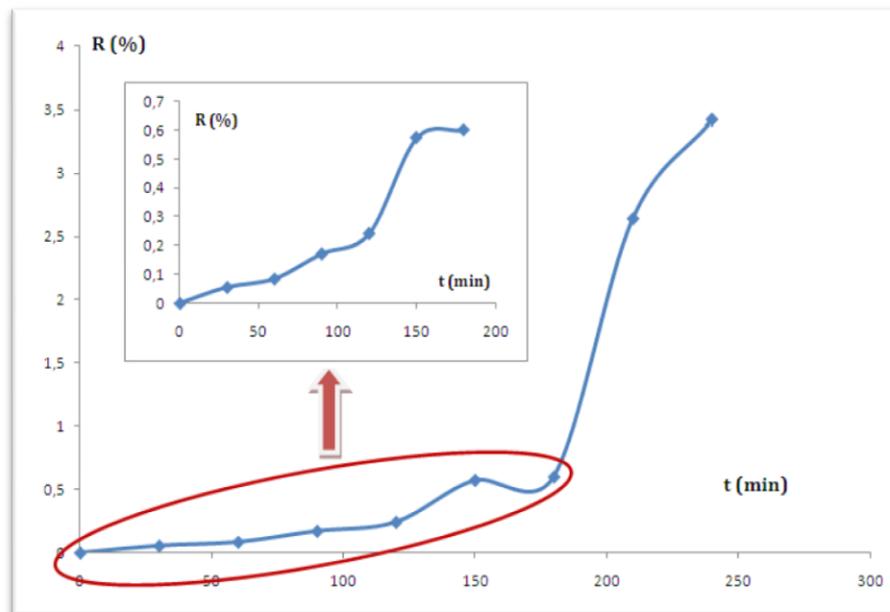


Figure III 3 : Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps lors de l'extraction par EVE. Lot de Décembre.

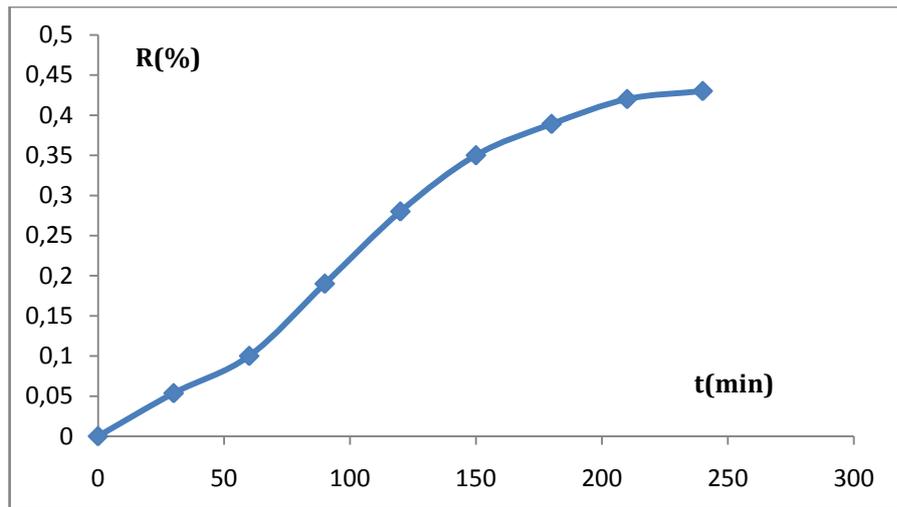


Figure III 4 : Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps lors de l'extraction par EVE. Lot de Mars.

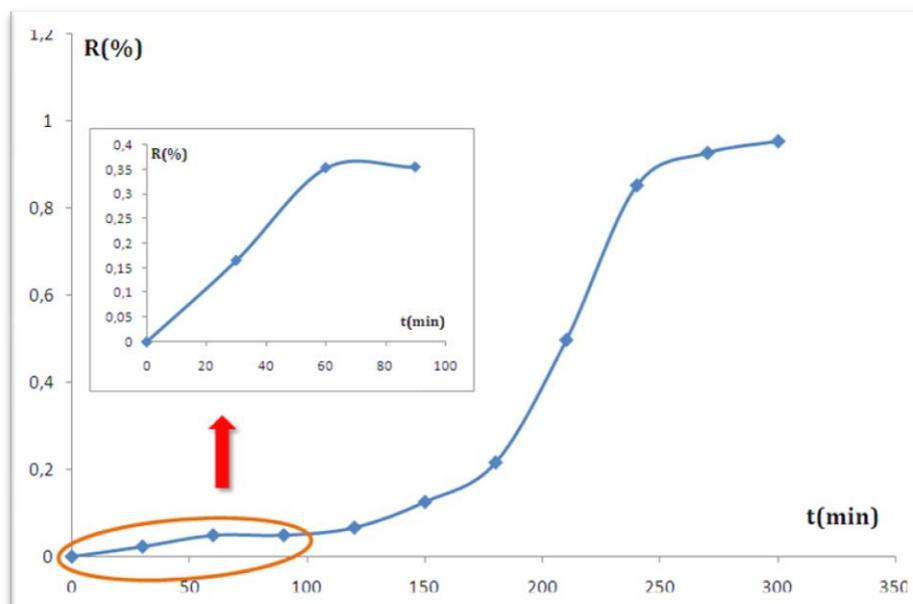


Figure III 5: Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps lors de l'extraction par EVE. Lot Juin.

Commentaires

L'examen des courbes obtenues pour le suivi de l'évolution de rendement de l'extrait par entraînement à la vapeur d'eau révèle l'existence de deux pseudos paliers. Ce comportement pourrait s'expliquer par le fait que le processus d'entraînement est régi par plusieurs lois physiques

distinctes ou alors les constituants de l'huile essentielle sont localisés dans des sites différemment accessibles par la vapeur d'eau.

III.2 Analyses qualitatives des huiles essentielles de l'inule visqueuse

Les analyses par GC et GC/MS ont été faites pour les quatre huiles essentielles obtenues lors de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau. Les conditions d'analyse sont mentionnées dans le tableau II.4. Concernant le lot de Mars, nous avons analysé aussi l'huile essentielle obtenue par l'hydrodistillation dont l'objectif est de voir l'influence du procédé d'extraction sur la composition de l'huile essentielle.

III.2.1 Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse, Lot de Septembre

La composition chimique de l'huile essentielle obtenue par EVE est présentée dans le tableau III.7. Nous avons pu identifier plus de 95% de l'huile.

La figure III.6 donne les structures chimiques aux composés majoritaires de cette huile essentielle :

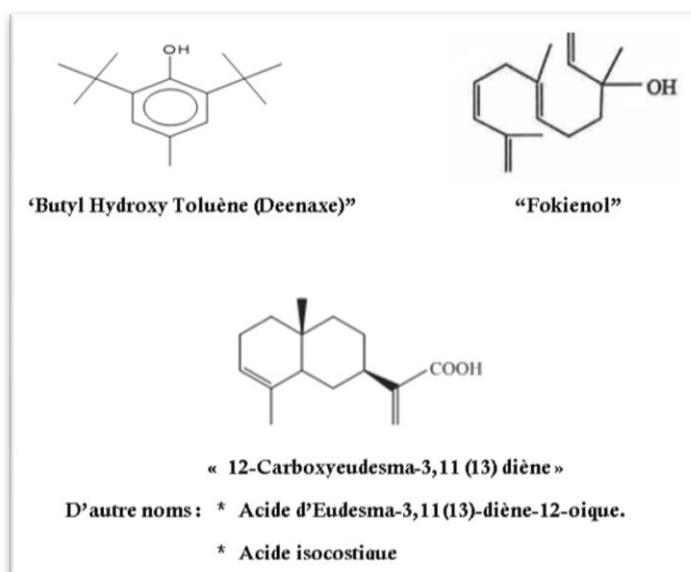


Figure III 6: Structures chimiques des composés majoritaires.

Tableau III 7 Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par l'EVE.

Lot de Septembre.

N°	tr(min)	teneur %	Formule Brute	Nom du Composé	Qualité %	Méthode	Réf
1	30,12	tr	C ₁₀ H ₁₈ O	1,8 Cinéole	97	MS,IK	w
2	39,91	tr		p-Mentha-1,5-dien-8-ol	83	MS,IK	w
3	52,84	0,14	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	Eugenol	98	MS,IK	w
4	54,94	tr		Beta-Damascenone	98	MS,IK	w
5	55,81	tr	C ₁₅ H ₂₄	Alpha-Copaene	99	MS,IK	w
6	58,54	tr	C ₁₅ H ₂₄	Trans-Caryophyllène	93	MS,IK	w
7	62,76	tr		Beta-Patchoulène	97	MS,IK	w
8	63,66	2,26	C ₁₅ H ₂₄ O	Butyl Hydroxy Toluène	99	MS,IK	w
9	66,92	0,56	C ₁₅ H ₂₆ O	Nerolidol	93	MS,IK	w
10	69,71	14,6	C ₁₅ H ₂₆ O	Fokienol	-	MS,IK	[48]
11(A₁)	70,87	6,61	C ₁₅ H ₂₂ O	---		---	
12	72,95	0,5	C ₁₅ H ₂₆ O	Azulène	95	MS,IK	w
13	73,37	0,43	C ₁₅ H ₂₂ O	---	-	---	
14	74,12	0,34	C ₁₅ H ₂₂ O	Alpha-longipinène	83	MS,IK	w
15	74,49	0,16	C ₁₅ H ₂₄ O	---		---	
16	75,25	0,61	C ₁₅ H ₂₄ O	Alpha-Gurjunène	99	MS,IK	w
17	76,91	0,59	C ₁₅ H ₂₄ O	---		---	
18(A₂)	83,13	8,78	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	---		---	
19	88,19	56,71	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	12-Carboxyeudesma-3,11 (13) diene	--	MS	[49]
20	91,12	1,9	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Acide Palmitique	99	MS,IK	w
21	103,76	0,17	C ₂₃ H ₄₈	Tricosane	95	MS,IK	w
22	107,96	0,1	C ₂₄ H ₅₀	Tetracosane	98	MS,IK	w
23	112,17	1,17	C ₂₅ H ₅₂	Pentacosane	95	MS,IK	w
24	120,3	tr	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Acide tetracosanoïque	90	MS,IK	w
		Monoterpènes oxygénés			0,14 %		
		Hydroxy-acides			1,9 %		
		Sesquiterpènes oxygénés			92,15%		
		Alcanes			1,44 %		
		Total			95,63 %		
		Rendement d'extraction :			0,336 %		

w : la banque des données de wiley.

Le chromatogramme du lot de Septembre est illustré dans la figure III.7

Commentaires

L'analyse de l'huile essentielle du lot de septembre par GC/MS, a montré l'existence de 25 constituants. La quasi-totalité de l'huile est de sesquiterpènes oxygénés (92,15 %), suivi par les hydroxy-acides (1,9 %), et les alcanes (1,44 %), monoterpènes oxygénés (0,14 %).

On doit signaler que la faible teneur de monoterpènes (1,9 %) est logique, car la plante utilisée n'est pas fraîche (H = 13 %). Tous les composés volatils se sont évaporés au cours de séchage.

III.2.2 Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse, Lot de Mars

Concernant le lot de Mars, nous avons fait l'analyse pour l'huile essentielle obtenue lors de l'extraction par EVE, et HD.

III.2.2.1 Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau

L'analyse chromatographique a fourni le chromatogramme de la figure III.8. Les résultats de cette analyse sont récapitulés dans le tableau III.8.

III.2.2.2 Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par Hydrodistillation

L'analyse par GC/MS a montré que l'huile essentielle obtenue lors de l'extraction par hydrodistillation contient 37 constituants. Nous avons pu identifier 91,28% de l'huile, le tableau III.9 résume la composition de cette huile. Le chromatogramme est donné par la figure III.9.

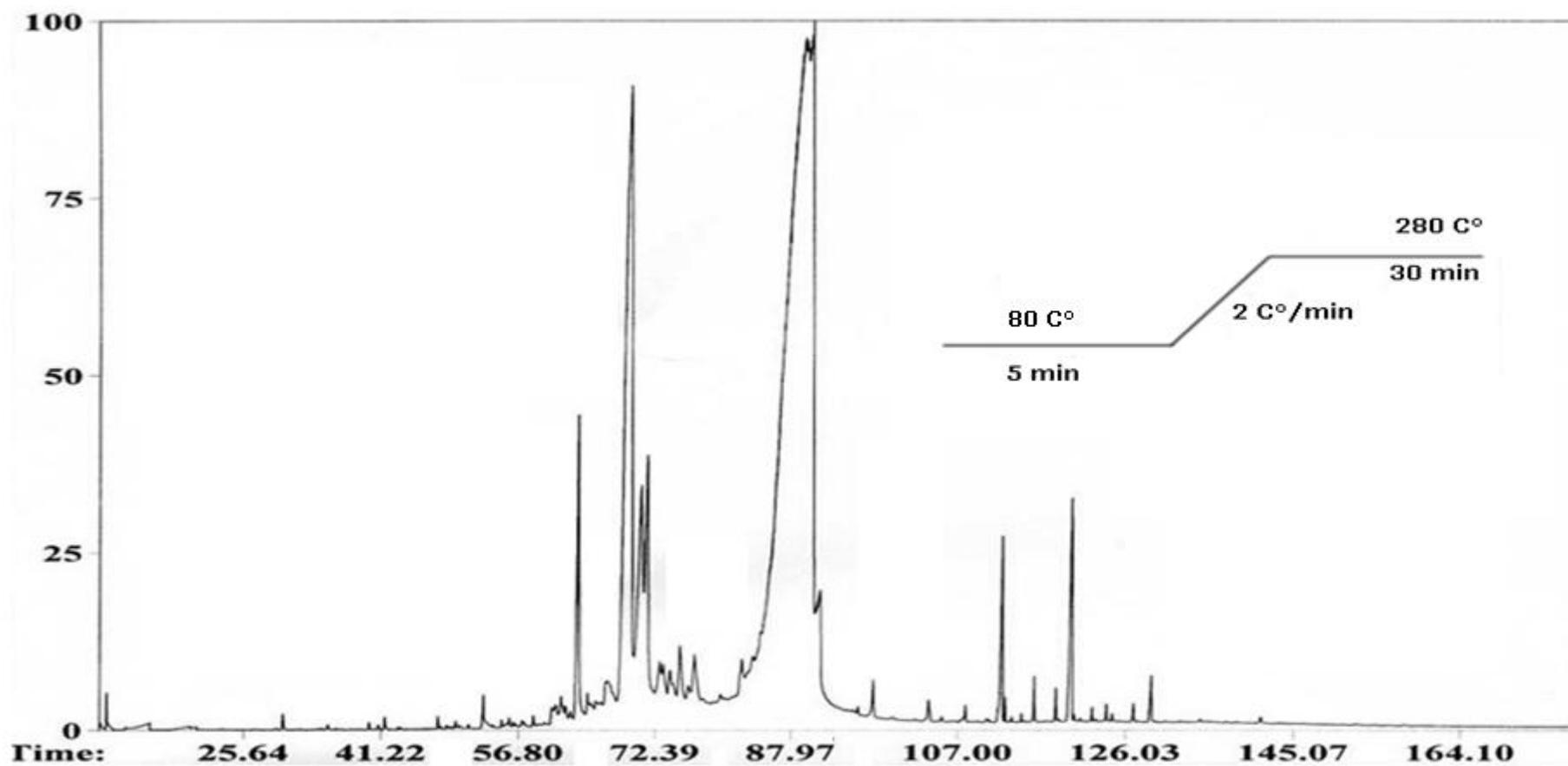


Figure III 7 :Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par EVE, Lot de Septembre.

Tableau III 8 Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par l'EVE.

Lot de Mars.

N°	tr (min)	Teneur %	Formule brute	Nom	Méthode d'identification	Réf
1	26,697	2,63	C ₁₅ H ₂₄ O	Butyl Hydroxy To- luène	MS,IK	N
2	28,336	1,89	C ₁₅ H ₂₄ O	Fokienol	MS,IK	[48]
3	28,941	0,29	C ₁₅ H ₂₄ O	Cubenol	MS,IK	N
4	31,115	0,28	C ₁₅ H ₂₄ O	---	---	
5	31,415	0,52	C ₁₅ H ₂₂ O	---	---	
6(B ₁)	32,713	8,11	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	---	---	
7(B ₂)	33,066	7,16	----	NI	---	
8	33,742	56,81	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	12-Carboxyeudesma- 3,11 (13) diene	MS	[49]
9	33,847	3,25	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	Acide 2,3- didehydrocostique	MS	[21]
10(B ₃)	33,900	2,63	---	NI		
11	34,770	1,91	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Acide Palmitique	MS ,IK	N
12	35,375	1,16	---	NI		
13	37,155	0,28	C ₂₀ H ₄₀ O	Phytol	MS ,IK	N
14	37,555	0,74	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	Acide linolenique	MS ,IK	N
15	37,849	0,75	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Acide octadecanoique	MS ,IK	N
16	38,360	0,39	C ₂₂ H ₄₆	Docosane	MS ,IK	N
18	39,799	0,80	C ₂₃ H ₄₈	Tricosane	MS ,IK	N
19	41,180	0,78	C ₂₄ H ₅₀	Tetracosane	MS ,IK	N
20	42,767	2,31	C ₂₅ H ₅₂	Pentacosane	MS ,IK	N
21	44,700	1,02	C ₂₆ H ₅₄	Hexacosane	MS ,IK	N
22	47,156	2,09	C ₂₇ H ₅₆	Heptacosane	MS,IK	N
				Hydroxy-acides	3,4%	
				Alcools	0,28%	
				Sesquiterpènes oxygénées	83,57%	
				Alcanes	7,39%	
				Total	94,64%	
				Rendement d'extraction :	0,453%	

N : la banque des données NIST

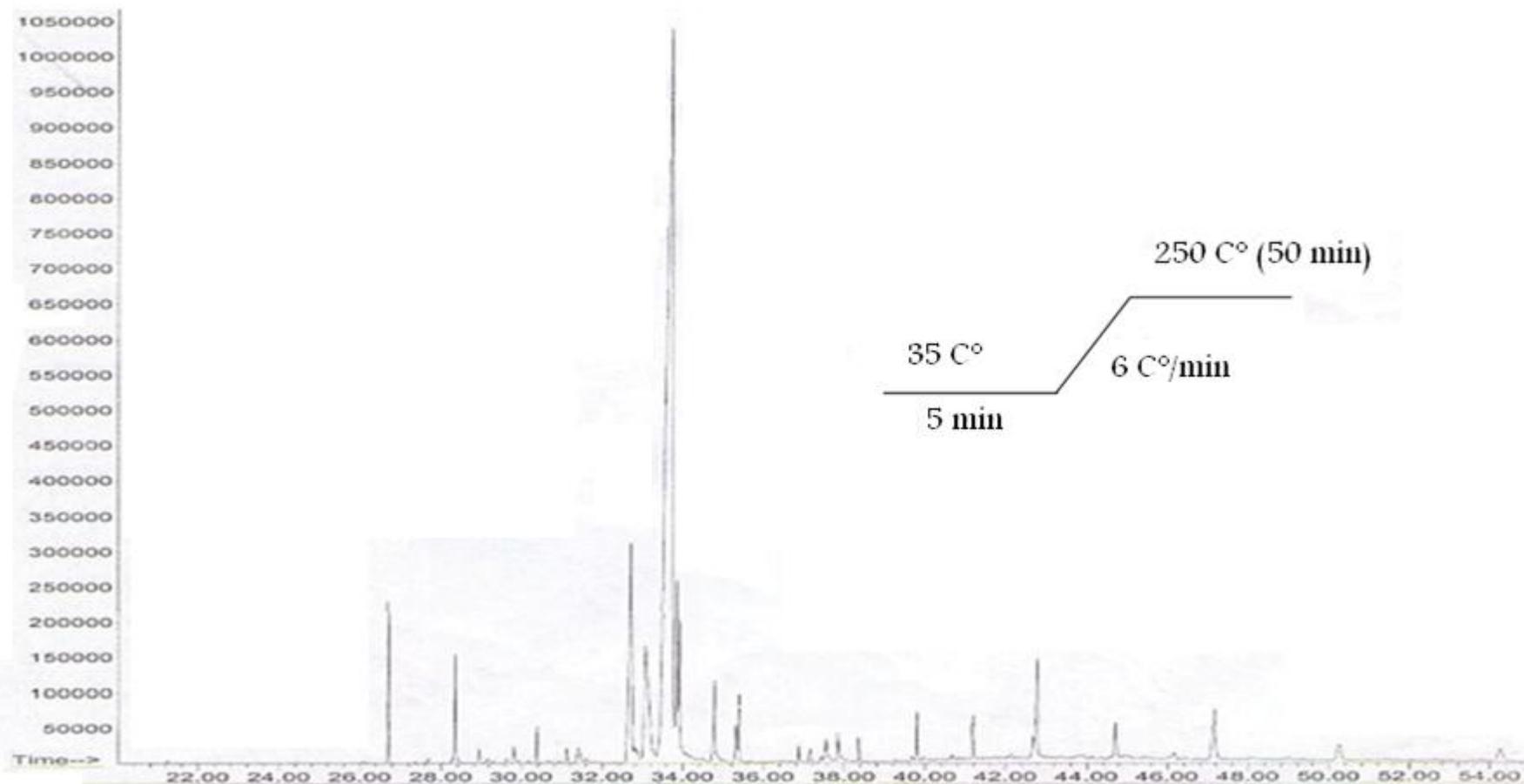


Figure III 8 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par EVE, Lot de Mars.

Tableau III 9 Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par l'HD.

Lot de Mars.

N°	tr (min)	Teneur %	Formule brute	Nom	Méthode d'identification	Réf
1	18,676	0,22	C ₁₀ H ₂₀ O	Menthol	MS, IK	N
2	25,498	0,15		NI	---	
3	26,697	4,11	C ₁₅ H ₂₄ O	Butyl Hydroxy Toluène	MS, IK	N
4	27,037	0,27		NI	---	
5	27,355	0,63	C ₁₅ H ₂₆ O	1,6,10-Dodecatrien-3- ol,3,7,11-trimethyl	MS, IK	N
6	27,936	0,17	C ₁₅ H ₂₄ O	Oxyde de caryophyllène		N
7	28,336	3,37	C ₁₅ H ₂₄ O	Fokienol	MS, IK	[48]
8	28,600	1,79	C ₁₅ H ₂₂ O	---	---	
9	28,765	0,14	C ₁₅ H ₂₄	---	---	
10	28,824	1,14	C ₁₅ H ₂₂ O	---	---	
11	28,959	0,22	---	NI	---	
12	29,305	0,77	C ₁₅ H ₂₄	---	---	
13(C₁)	29,493	2,79		NI	---	
14	29,599	0,32	C ₁₅ H ₂₂	---	---	
15	29,828	0,52	C ₁₅ H ₂₄ O	---	---	
16	30,046	0,89	C ₁₅ H ₂₂ O	---	---	
17	30,298	0,71		isobutyrate de 3- méthoxycuminyle	MS, IK	[50]
18	30,386	0,33	C ₁₅ H ₂₄ O	---		
19	30,610	0,85	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	3,7,11-trimethyl dodeca- 1,6,10 triène,3,9-diol	MS	[21]
20(C₂)	31,080	4,40	-----	---	---	
21	31,268	0,85	C ₁₅ H ₂₂ O	---	---	
22	31,462	0,31	C ₁₅ H ₂₄ O	---	---	
23	32,466	0,31	C ₁₈ H ₃₆ O	Phytone		
24(B₁)	32,713	4,65	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	---	---	
25	32,905	1,85	---	NI	---	
26	32,913	0,35	---	NI	---	

27	33,742	28,88	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	12-Carboxyeudesma- 3,11 (13) diene	---	[49]																				
28	34,770	5,38	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Acide Palmitique	MS, IK	N																				
29	37,155	2,96	C ₂₀ H ₄₀ O	Phytol	MS, IK	N																				
30	37,452	2,03	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	Acide 9,12- Octadecadienoique	MS, IK	N																				
31	37,555	7,80	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	Acide linolenique	MS, IK	N																				
32	39,799	1,50	C ₂₃ H ₄₈	Tricosane	MS, IK	N																				
33	41,180	0,80	C ₂₄ H ₅₀	Tetracosane	MS, IK	N																				
34	42,554	2,46	C ₂₀ H ₄₂ O	Eicosanol		N																				
35	42,767	5,43	C ₂₅ H ₅₂	Pentacosane	MS, IK	N																				
36	44,700	0,89	C ₂₆ H ₅₄	Hexacosane	MS, IK	N																				
37	47,156	4,82	C ₂₇ H ₅₆	Heptacosane	MS, IK	N																				
<table> <tbody> <tr> <td>Monoterpènes oxygénés</td> <td>0,22 %</td> </tr> <tr> <td>Hydroxy-acides</td> <td>15,21 %</td> </tr> <tr> <td>Alcools</td> <td>6,05 %</td> </tr> <tr> <td>Sesquiterpènes hydrocarbonés</td> <td>2,08 %</td> </tr> <tr> <td>Sesquiterpènes oxygénés</td> <td>47,72 %</td> </tr> <tr> <td>Cétones</td> <td>0,31%</td> </tr> <tr> <td>Alcanes</td> <td>13,44 %</td> </tr> <tr> <td>Autres</td> <td>6,25 %</td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>91,28 %</td> </tr> <tr> <td>Rendement d'extraction :</td> <td>0,148 %</td> </tr> </tbody> </table>							Monoterpènes oxygénés	0,22 %	Hydroxy-acides	15,21 %	Alcools	6,05 %	Sesquiterpènes hydrocarbonés	2,08 %	Sesquiterpènes oxygénés	47,72 %	Cétones	0,31%	Alcanes	13,44 %	Autres	6,25 %	Total	91,28 %	Rendement d'extraction :	0,148 %
Monoterpènes oxygénés	0,22 %																									
Hydroxy-acides	15,21 %																									
Alcools	6,05 %																									
Sesquiterpènes hydrocarbonés	2,08 %																									
Sesquiterpènes oxygénés	47,72 %																									
Cétones	0,31%																									
Alcanes	13,44 %																									
Autres	6,25 %																									
Total	91,28 %																									
Rendement d'extraction :	0,148 %																									

N : la banque des données NIST

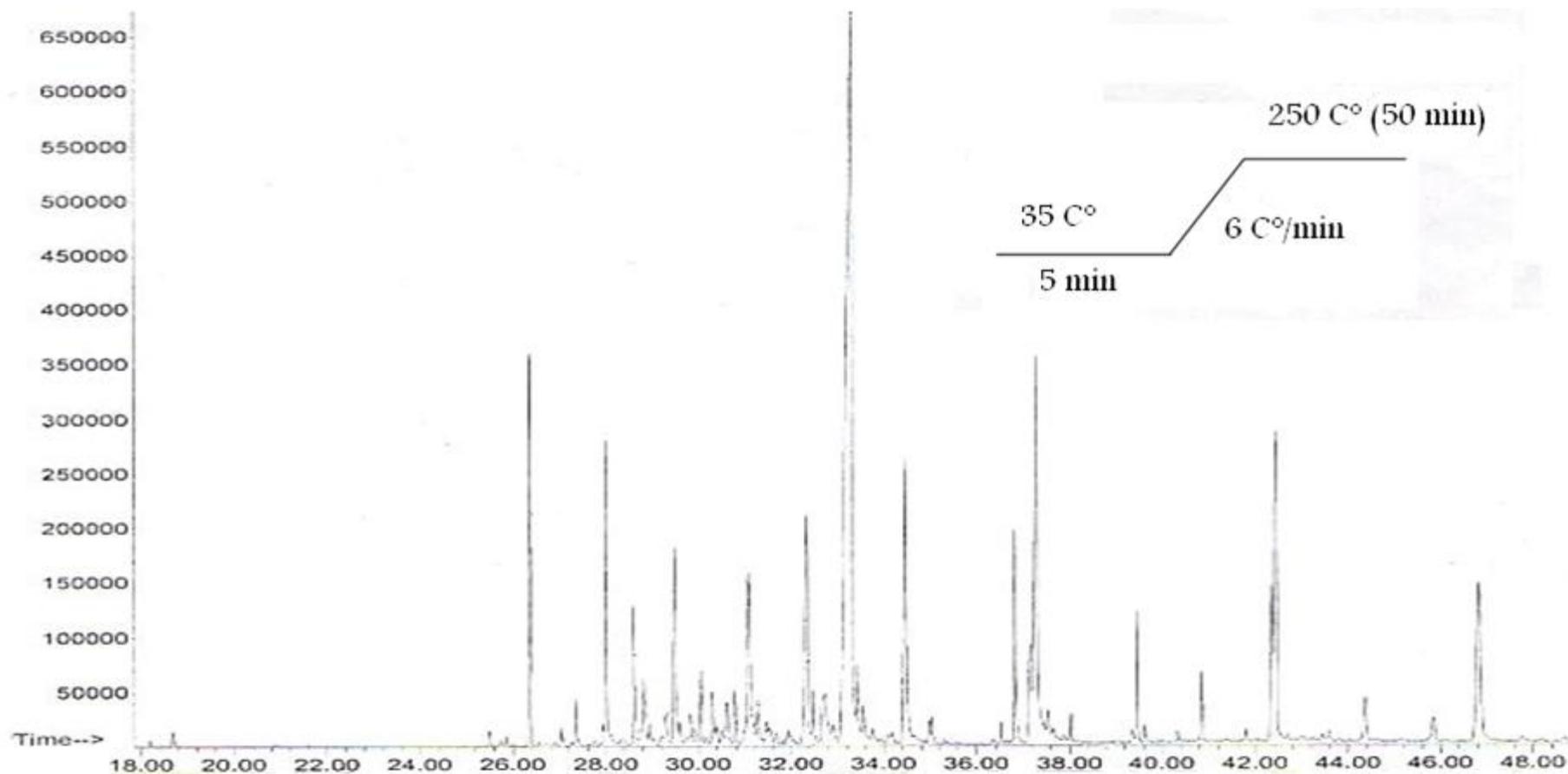


Figure III 9 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par HD, Lot de Mars.

Commentaires et Discussion

L'analyse par GC/MS de l'huile essentielle du lot de Mars obtenue par EVE a pu détecter 22 composés, qui représentent 94,64%. Tandis que pour l'HD, 37 composés ont été détectés, ils représentent 91,28% dans l'huile.

L'huile essentielle obtenue par EVE contient 83,57% des sesquiterpènes oxygénés, ce pourcentage est presque le double comparant avec l'HD (47,72%). Par contre l'huile de l'HD contient une teneur des hydroxy-acides, supérieure à celle de l'huile de l'EVE (15,21% HD ; 3,4% EVE). La même chose pour les alcanes et les alcools.

Le tableau III.10 illustre quelques activités biologiques attribuées par des travaux de recherche à des composés que nous avons identifiés dans l'huile essentielle de l'inule visqueuse. A titre d'exemple l'acide palmitique possède un effet insecticide sur la *Rhizopertha dominica* [55], et l'BHT présente une activité anti oxydante [51].

Tableau III 10 Activités biologiques des composés majoritaires de l'inule visqueuse.

Composé	Activités biologiques	Réf
BHT	Anti oxydante	[51]
Phytol	Antimicrobienne, anti cancére, anti inflammatoire, diurétique	[52]
Acide linolenique	Anti inflammatoire	[52]
Acide 9,12-Octadecadienoïque (AOC)	Anti inflammatoire, antiarthritique	[53]
Acide palmitique	Anti oxydante ; antimicrobienne ; larvicidal pesticide ; effet insecticide	[54], [55]
Acide isocostique	Antimicrobienne. antifongique	[27]

La figure III.10 présente les rendements en composés majoritaires donnés par l'EVE et l'HD. On remarque que l'EVE donne des quantités supérieures en B1, BHT et Fokienol, par rapport à l'HD, inversement pour les composés : l'acide linolenique, phytol. Cependant, l'acide 2,3-didehydrocostique (ADC) existe seulement dans l'huile obtenue par l'EVE, contrairement pour l'acide 9,12-Octadecadienoïque (AOC) qui existe uniquement dans l'HD.

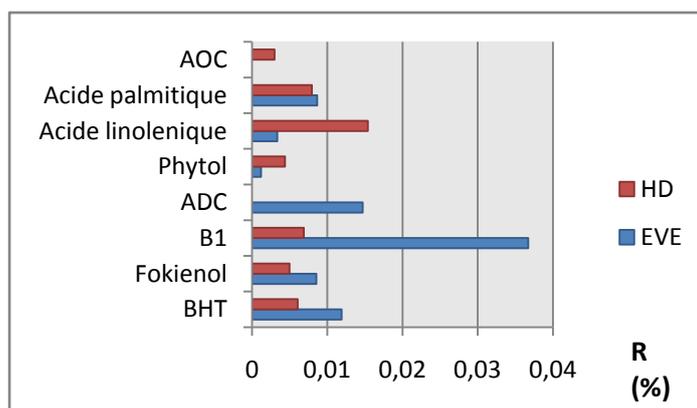


Figure III 10 : Les rendements des composés majoritaires pour les deux procédés d'extraction (EVE, HD).

III.2.3 Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse, Lot de Juin

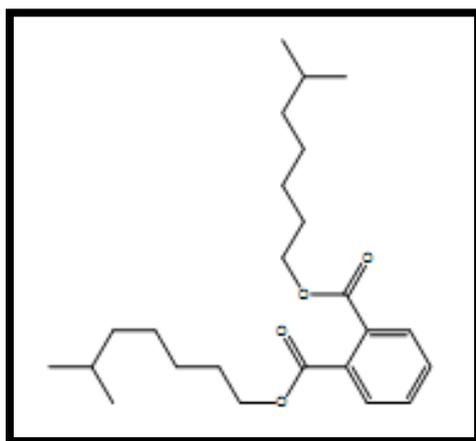
Dans l'huile essentielle du lot de Juin nous avons pu identifier plus de 94% de l'huile. Le tableau III.11 récapitule la composition. Le chromatogramme est donné par la figure III.11.

Tableau III 11 Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par l'EVE.
Lot de Juin.

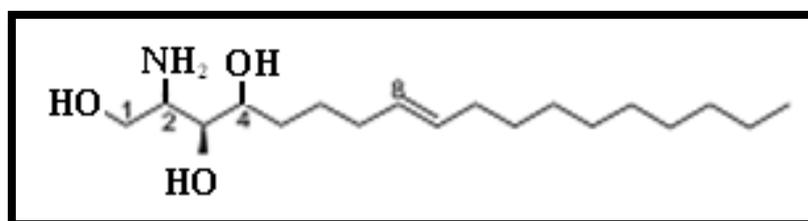
N°	tr (min)	Teneur %	Nom
1	29,312	tr	Butyl Hydroxy Toluène
2	31,443	tr	NI
3	32,040	tr	Oxyde de caryophyllène
4	32,916	0,1	Fokienol
5	43,627	0,39	NI
6	44,293	11,43	12-Carboxyeudesma-3,11 (13) diene
7	46,763	0,60	NI
8	52,084	0,13	NI
9	63,235	82,56	Ester diisoclylique de l'acide 1,2-Benzène dicarboxylique
		Sesquiterpènes oxygénées	11,53%
		Ester	82,56%
		Total	94,09%
		Rendement d'extraction	6,69%

Commentaires et Discussion

Le composé 9 est identifié comme un phtalate (*Ester diisocytlique de l'acide 1,2-Benzène dicarboxylique*) avec un taux de reconnaissance de 94% par la banque de NIST (proposition 1). Il n'a pas été signalé dans les extraits végétaux que par deux récentes études publiées en 2010 pour deux plantes différentes qui sont *Zanthoxylum rhetsa* [53] et *Acalypha fruticosa* [56]. Aucun travail ne donne sa biosynthèse, toutefois il pourrait exister dans la plante et provenir du milieu extérieur (eau, sol). Mais vu sa teneur élevée nous pensons que ce n'est pas un phtalate, les travaux de Lee et al. [57] et Kang et al. [58] citent le *2-amino-1,3,4-trihydroxy-8-octadecene* ayant le même spectre de masse avec les mêmes intensités des pics. Donc c'est une deuxième proposition. Aucun travail sur les huiles essentielles ne cite ce composé. D'autres investigations doivent être menées pour confirmer l'identification de ce composé.



Proposition 1 : *Ester diisocytlique de l'acide 1,2-Benzène dicarboxylique (BDE).*



Proposition 2 : *2-amino-1,3,4-trihydroxy-8-octadecene (ATO).*

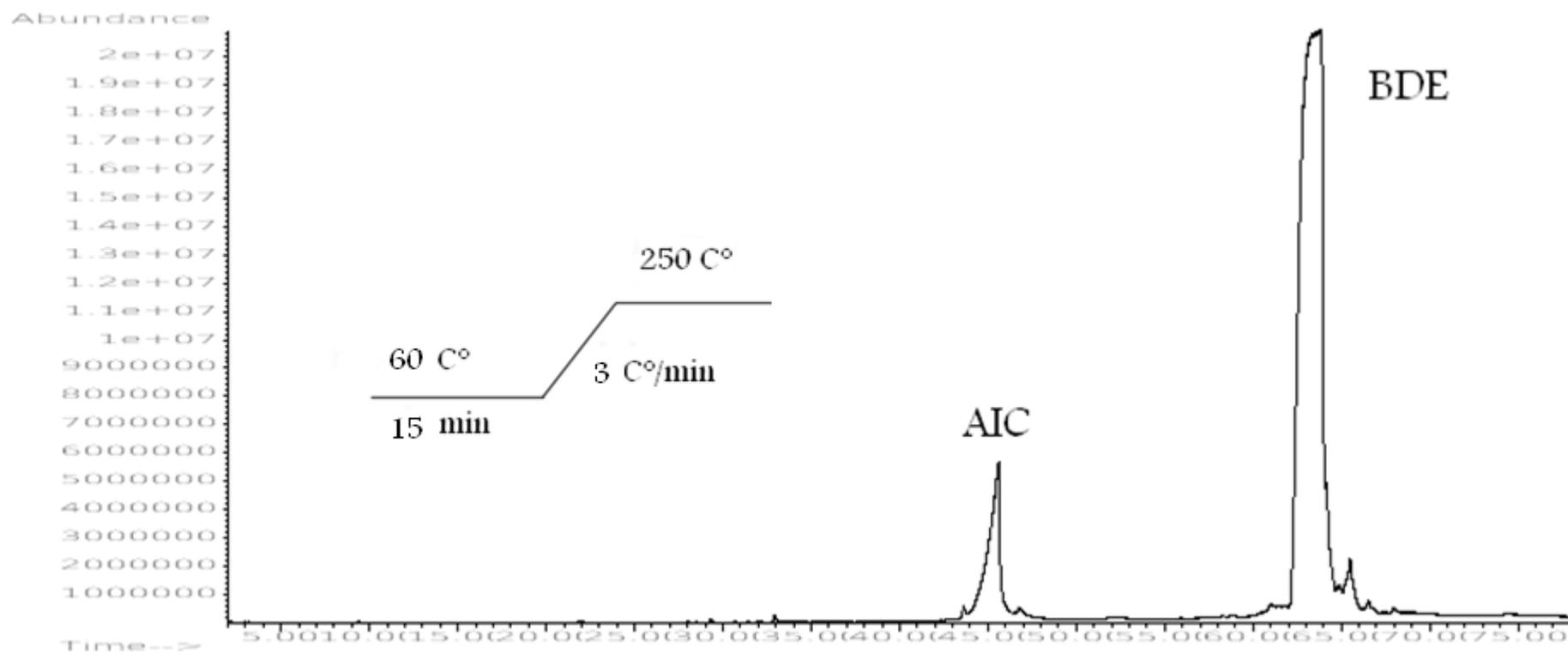


Figure III 11 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par EVE, lot de Juin.

D'après la figure III.12 on remarque que le lot de Juin contient des quantités en AIC et « BDE » très supérieures par rapport les autres lots. Si on s'intéresse à ces deux composés, leurs l'isolement dans cette période sera facile.

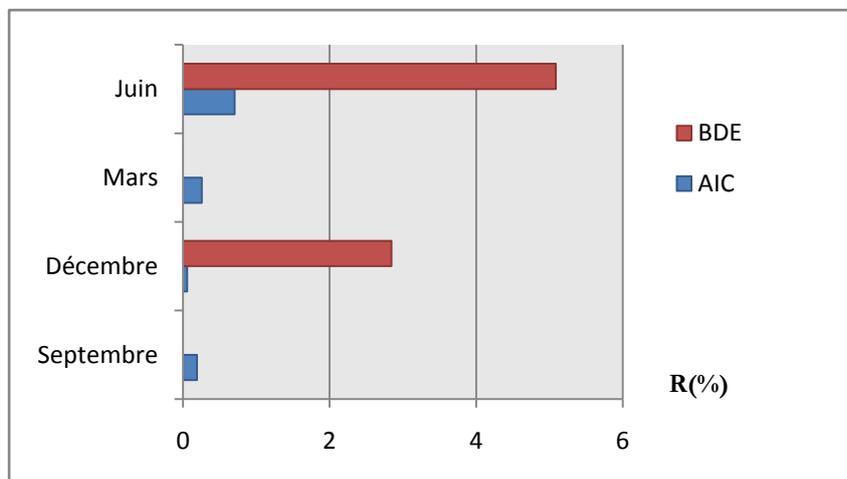


Figure III 12 : Les variations du rendement de l'AIC et le BDE en fonction de la période de récolte.

III.2.4 Composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse, Lot de Décembre

L'analyse de cette huile a été faite par le GC. Nous avons pu identifier plus de 90% de l'huile. Le tableau III.12 présente la composition chimique.

Tableau III 12 Composition chimique de l'huile essentielle obtenue par l'EVE.

Lot de Décembre.

N°	tr (min)	Teneur %	Nom du composé
1	31,962	tr	Oxyde de caryophyllène
2	42,934	0,10	NI
3	44,293	1,82	12-Carboxyeudesma-3,11 (13) diene
4	52,340	0,67	NI
5	63,235	88,58	Ester diisoclylique de l'acide 1,2-Benzène dicarboxylique
6	66,26	1,73	NI
			Sesquiterpènes oxygénées 1,82%
			Ester 88,58%
			Total 90,4%
			Rendement d'extraction 3,211%

La figure III.13 donne le chromatogramme du lot de Décembre.

Commentaires

L'analyse de l'huile essentielle du lot de Décembre a montré que cette huile se caractérise par la présence d'un composé majoritaire qui est «Ester diisoclylique de l'acide 1,2-Benzène dicarboxylique» (BDE), avec une teneur de 88,58% ,suivi par l'acide isocostique (AIC) 1,82%.

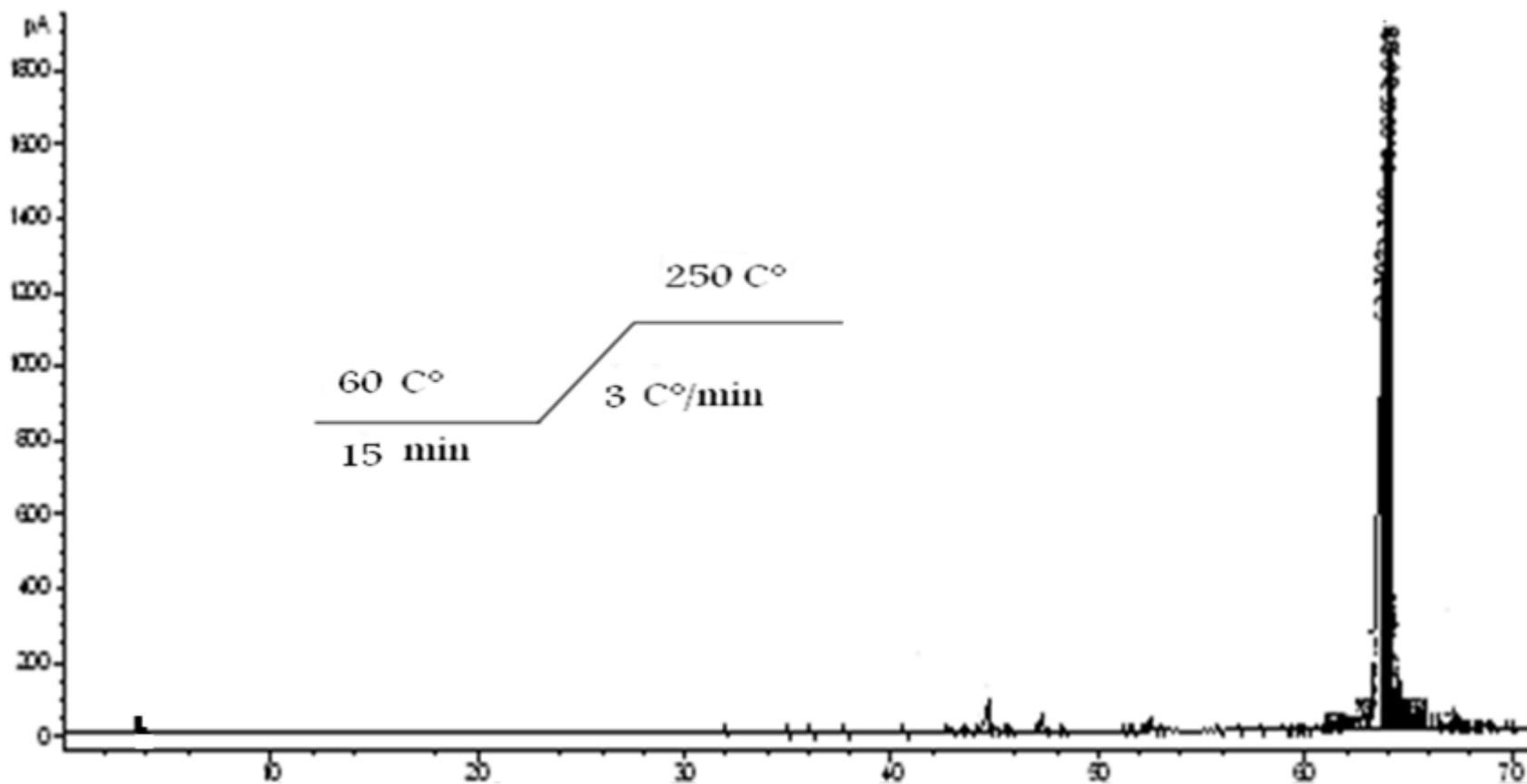


Figure III 13 : Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par EVE. Lot de Décembre.

Comparaison de l'huile essentielle de l'inule visqueuse d'Algérie avec les travaux antérieurs

L'examen du tableau III.13 montre que l'huile essentielle de l'inule visqueuse possède plusieurs chimotypes de classe sesquiterpène oxygénée sauf dans le cas de l'huile de la Turquie [22] (monoterpène), et d'Algérie (lot de Juin) qui est de classe ester. Pour l'huile essentielle du lot de Septembre nous avons trouvé le même composé majoritaire avec l'huile d'Italie [25] (Bari), qui est l'acide isocostique (56,71%). Or dans le lot de Juin, nous avons le «Ester diisocytlique de l'acide 1,2-Benzène dicarboxylique» comme constituant majoritaire (82,56%) ; cette différence est observée lors des études sur différents sites, c'est le cas d'Italie, la composition de la région de Sardinia [26] est globulol (16,8%), valerianol (12%), Oxyde de caryophylène (8%) ; tandis que pour la région de Bari [25] l'acide isocostique a été trouvé comme composé majoritaire avec une teneur de 62,37%.

Tableau III 13 Compositions chimiques de l'huile essentielle de l'inule visqueuse provenant de différents pays.

Pays Composé	Turquie [22]	Portugal [28]	France [27]	Italie		Espagne [24]	Algérie « Notre étude »	
				Serdinia [26]	(Bari) [25]		Lot de Septembre	Lot de Juin
Borneol	25,2	-	-	-	-	-	-	-
Isobornyl acetate	22,5	-	-	-	-	-	-	-
Bornyl acetate	19,5	-	-	-	-	-	-	-
γ -Cadinene	0,1	2,4	-	1,4	-	-	-	-
δ -Cadinene	-	4,6	-	3,9	tr	1,7	-	-
Eudesm-6-en-4 α -ol	-	4,8	6,2	-	-	-	-	-
T-Muurolol	-	2,7	-	-	-	-	-	-
T-Cadinol	0,7	2,1	-	-	-	-	-	-
α -Cadinol	-	6,3	-	-	-	1,9	-	-
3-Methoxy cuminyl isobutyrate	-	12	-	-	-	-	-	-
Fokienol	-	-	21,1	-	-	38,8	14,6	0,1
Nerolidol	1,5	-	8,6	1,9	2,09	7,1	0,56	-
α -Eudesmol	-	1,4	2,2	2,0	0,15	-	-	-
Butyl Hydroxy Toluène	-	-	-	-	-	-	2,26	tr

selina6en4 ol	-	-	-	-	2,95	-	-	-
Globulol	-	-	-	16,8	-	0,4	-	-
Oxyde de Caryophylène	1,5	-	-	8	0,84	-	-	tr
Valerianol	-	-	-	12	-	-	-	-
Acide isocostique	-	-	-	-	62,37	-	56,71	11,43
Tomentosin	-	-	-	-	1,64	-	-	-
Ester diisocetylque de l'acide 1,2- Benzène dicarboxylique	-	-	-	-	-	-	tr	82,56

III.3 Etude cinétique d'entraînement à la vapeur d'eau des composés majoritaires de l'huile essentielle de l'inule visqueuse

Pour mieux comprendre les phénomènes de transfert de l'huile essentielle de l'inule visqueuse, on a procédé à l'analyse par GC/FID des fractions (F1-F10) récupérées lors de l'étude de la cinétique du lot de Juin (Tableau III.6), pour suivre l'évolution du rendement des composés majoritaires en fonction de la durée d'extraction.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau III 14 Les résultats de la masse et du rendement des composés majoritaires en fonction du temps d'extraction

Composé	AIC tr = 44,293 min		« BDE » tr = 63,235 min	
	m(g) x10 ³	R % x10 ³	m(g) x 10 ³	R % x 10 ³
30	0,497	3,59	8,80	63,59
60	0,684	4,94	9,70	70,07
90	0,686	4,96	9,70	70,10
120	0,761	5,50	10,47	75,68
150	1,246	9,00	16,86	121,80
180	1,354	9,79	52,50	379,37
210	1,551	11,21	282,58	2041,78
240	1,622	11,72	583,01	4212,47
270	1,622	11,72	644,46	4656,51
300	1,622	11,72	661,95	4782,89

Les courbes cinétiques donnant le rendement des composés majoritaires en fonction du temps lors de l'extraction par EVE, sont illustrées par les figures III.14 III.15

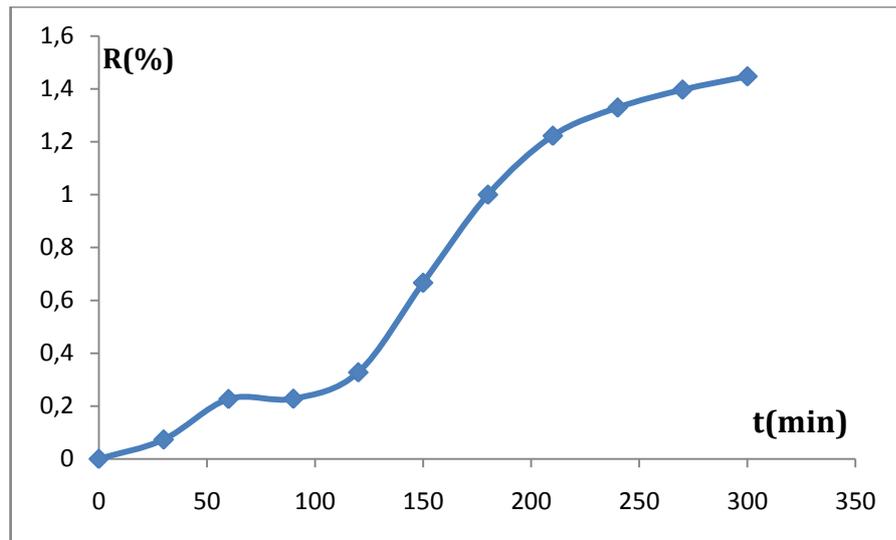


Figure III 14: Evolution du rendement de l'AIC, en fonction du temps d'extraction.

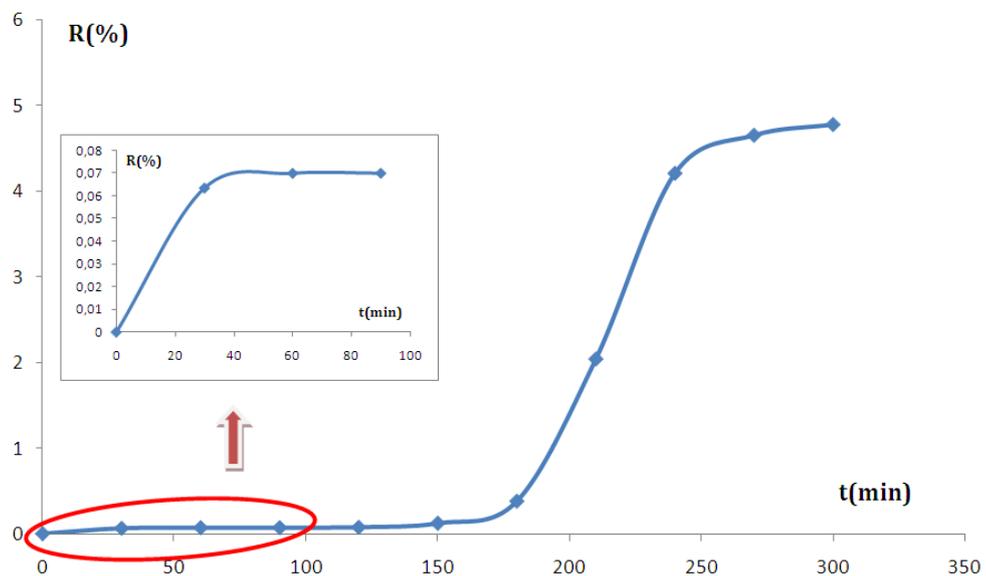


Figure III 15 : Evolution du rendement du « BDE », en fonction du temps d'extraction.

Commentaires

L'examen des courbes cinétiques représentées par les figures III.14 ; III.15 nous suggère que les sites sont endogènes. Le processus d'EVE de l'huile essentielle de l'inule visqueuse se fait en trois étapes :

La première étape qui dure une demi-heure c'est l'extraction de l'huile essentielle se trouvant sur la surface (cette huile représente 10% de l'huile essentielle). La deuxième étape qui dure entre une heure et deux heures selon la période de cueillette, une augmentation importante et continue du rendement est observée. Cette étape concernant les composés se trouvant dans les sites endogènes et ayant une certaine mobilité dans le végétal.

La troisième étape où les variations de rendements sont plus faibles, verrait l'apparition des composés à mobilité réduite (ou composés retenus par des liaisons aux parois végétales).

III.3.1 Evolution de la composition des constituants AIC et BDE en fonction de la durée d'extraction

Les résultats du suivi de l'évolution des deux composés majoritaires en fonction de la durée d'extraction sont résumés dans l'histogramme ci-dessous.

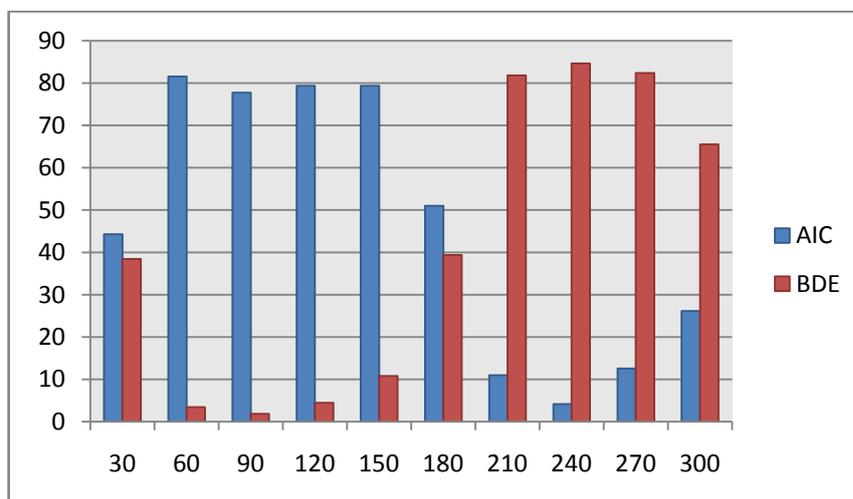


Figure III 16: Suivi de l'évolution des composés majoritaires lors de l'entraînement à la vapeur d'eau.

Nous constatons que la composition de ces deux constituants varient avec le temps et ne suit pas une évolution monotone. Les fractions de (0-30min) et (150-180min) sont caractérisées par des pourcentages équilibrées des deux composés majoritaires de l'huile. Pour les fractions récupérées de (30-60min), (60-90min), (90-120min), et (120-150min), l'acide isocostique (AIC) prédomine la composition totale de l'huile avec des pourcentages variant entre 77,73 et 81,54% alors que « 1,2-Benzènedicarboxylique acide, diisooctyl ester » (BDE) n'est présent qu'à des teneurs faibles. En revanche, les fractions récupérées chaque 30min de 180 à 300min sont caractérisées par la prédominance du « BDE ».

Pour le test antifongique, nous avons choisi deux fractions et l'huile essentielle totale : Fraction 1 : 90-120 min ; Fraction 2 : 210-240 min. Ce choix a pour objectif de voir l'effet antifongique des composés majoritaires ; l'AIC prédomine dans la fraction 1 (79,37%) et dans la fraction 2 le « BDE » prédomine (84,65%), voir le tableau 15. Il serait mieux de choisir les fractions (30-60 min) ou (60-90 min) au lieu la fraction 1 mais le problème est que nous avons des faibles quantités.

Tableau III 15 Teneurs de l'AIC et le « BDE » pour chaque échantillon.

Echantillon	AIC %	« BDE »%	Totale %
Huile essentielle totale	11,43	82,56	93,99
Fraction (90-120 min)	79,37	4,44	83,81
Fraction (210-240 min)	4,16	84,65	88,81

III.4 Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de l'inule visqueuse

L'évaluation du pouvoir antifongique a été faite pour les huiles essentielles de lot de Mars et Juin. Nous avons choisi les champignons selon la disponibilité. Les huiles essentielles sont solubilisées dans l'éthanol. Les résultats du test de l'huile de mars sont donnés dans le tableau III.16

Tableau III 16 Les indices antifongiques la croissance mécylienne des champignons par l'huile essentielle de l'inule visqueuse. Lot de mars

C (µg/ml)	3120		1560		780	
Souche	D(cm)	I (%)	D(cm)	I (%)	D(cm)	I (%)
Botrytis cinerea	1,9	76,25	3,4	57,5	6,1	23,75
Micro	3,3	58,75	5,2	35	6,3	21,25

Ces résultats sont tracés dans la figure III.17

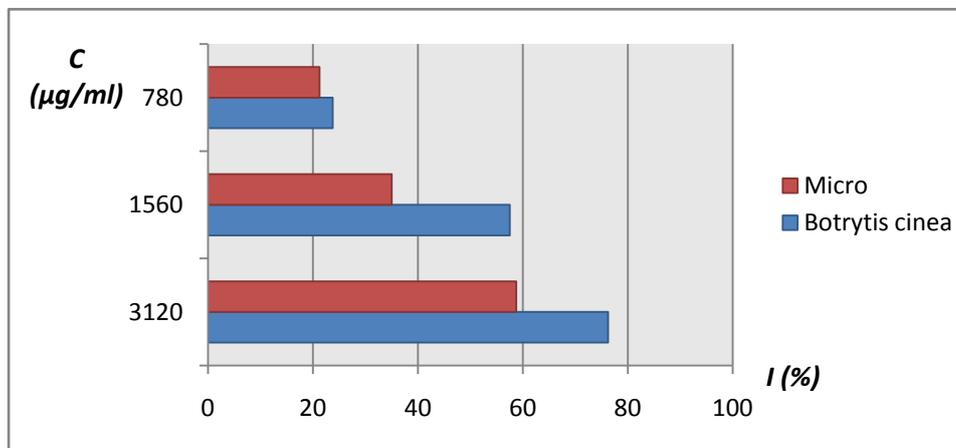


Figure III 17 : Les indices d'inhibition pour différentes concentrations de l'huile essentielle du lot de Mars.

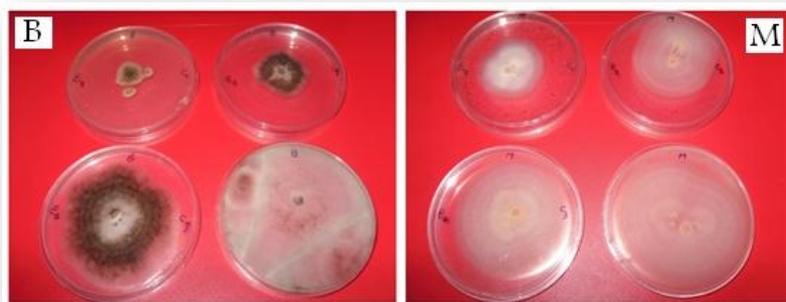


Figure III 18 : Effet de l'huile essentielle de l'inule visqueuse sur la croissance mécylienne des champignons de Botrytis cinerea & Micro.

Les résultats du test antifongique de l'huile essentielle du lot de juin sont présentés dans le tableau III.17.

Tableau III 17 Les indices antifongiques la croissance mécylienne des champignons par l'huile essentielle de l'inule visqueuse. Lot de juin

Chamignon	Fusarium C			Fusarium G			
	C (µg/ml)	6092	1523	762	6092	1523	762
HE Totale E1		91,25	90	85	88,75	77,5	75
Fraction (90-120 min) E2		86,25	75	70	83,75	76,25	65
Fraction (210-240 min) E3		87,5	85	76,25	78,75	77,5	62,5

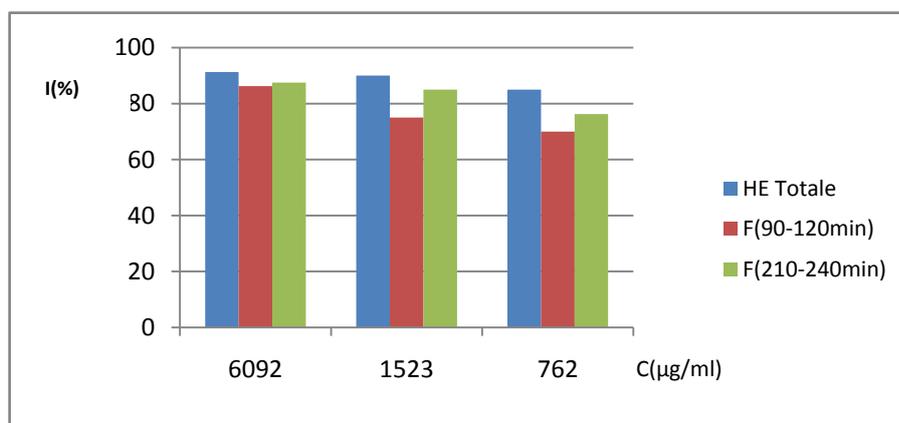


Figure III 19 : Les pourcentages d'inhibition pour différentes concentrations

(Fusarium C).

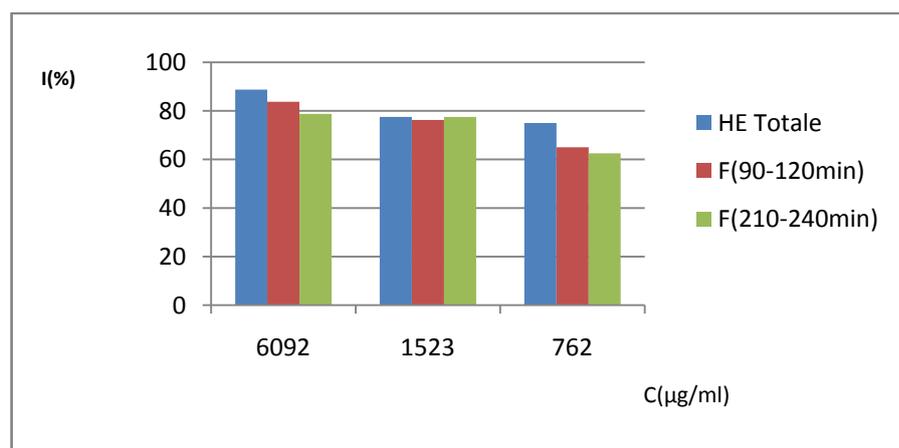


Figure III 20: Les pourcentages d'inhibition pour différentes concentrations

(Fusarium G).

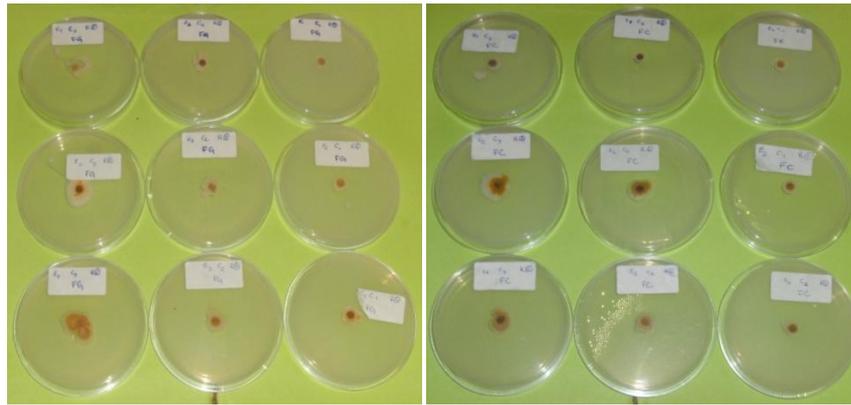


Figure III 21 : Effet de l'huile essentielle de l'inule visqueuse sur la croissance mécylienne des champignons de *Fusarium C*, *Fusarium G*.

Commentaires et Discussion

- **Huile essentielle de mars**

L'activité inhibitrice de l'huile essentielle du lot de Mars est puissante sur le champignon de *Botrytis cinerea* pour les concentrations de 3120 ; 1560 $\mu\text{g/ml}$, qui est entre (57,5 – 76,25 %). On remarque pour le deuxième champignon Micro, l'huile essentielle a été efficace seulement avec la concentration de 3120 $\mu\text{g/ml}$ où l'activité inhibitrice était 58,75%. En revanche, pour la concentration de 780 $\mu\text{g/ml}$ les deux champignons ont résisté à l'huile essentielle de l'inule visqueuse.

- **Huile essentielle de juin**

On remarque que pour les différentes concentrations, l'huile essentielle de chaque échantillon a été très efficace (entre 62,5% – 91,25%), d'après les compositions de fractions (90-120 min) et (210-240 min), on peut dire que les deux composés (AIC, « BDE ») ont un pouvoir antifongique. Mais d'autres composés à l'état de trace peuvent contribuer à cette activité. Les tests avec les corps purs permettraient de confirmer leurs activités.

La différence de l'efficacité entre l'huile de mars et juin est due principalement aux compositions ; l'AIC est majoritaire (56,81%) dans l'huile de mars par contre dans l'huile de juin c'est le « BDE » qui prédomine (82,56%).

Ces tests nous ont permis de rejoindre les résultats de Benhamou et al [16], Cafarchia et al [59], et Shtacher et al [60] qui ont montré dans leurs travaux que l'huile de l'inule visqueuse possède un pouvoir antifongique. Il serait intéressant d'étudier les effets de l'huile essentielle de l'inule visqueuse contre d'autres champignons dangereux pour le développement de nouveaux

agents antifongiques pour le control des maladies fongiques des plantes, des animaux et des humains. Ainsi, l'inule visqueuse pourrait devenir une alternative des fongicides synthétiques.

A la lumière de ces résultats il s'avère que l'utilisation de substances naturelles en tant que fongicides contre les microorganismes est efficace mais, des études à grande échelle seraient nécessaires afin de vérifier et valider les résultats trouvés à l'échelle laboratoire.

CONCLUSION GENERALE

Par le présent travail, nous avons tenté de contribuer à la valorisation des huiles essentielles de l'inule visqueuse d'Alger, en commençant par l'extraction, l'identification et l'évaluation de l'activité antifongique.

Dans un premier temps, nous avons étudié l'influence du cycle végétatif sur le rendement ; les rendements trouvés pour les quatre périodes de récoltes septembre, décembre, mars, juin sont respectivement : 0,34% ; 3,21% ; 0,45% ; 6,69%. Ces résultats montrent l'existence d'une fluctuation des rendements au cours de l'âge de la plante.

Dans un second temps, nous avons suivi la cinétique d'extraction par l'EVE pour les quatre lots, nous avons remarqué l'existence de deux pseudos paliers ; parfois de plusieurs paliers.

L'analyse par GC/MS de l'huile essentielle a révélé que l'inule visqueuse possède deux chimotypes : l'acide isocostique (AIC), et ester diisocytlique de l'acide 1,2-Benzène dicarboxylique « BDE ».

Les compositions d'huiles essentielles obtenues par EVE pour les lots de Septembre et Mars concordent, la différence réside dans les teneurs. Concernant le lot de Septembre nous avons trouvé 56,71% d'AIC ; 14,6% fokiéniol ; 2,26% de BHT ; 1,90% d'acide palmitique ; 1,17% de pentacosane. Or le lot de Mars : 56,81% d'AIC ; 1,89% fokiéniol ; 2,63% de BHT ; 2,31% pentacosane ; 2,09% heptacosane ; 1,91% d'acide palmitique ; 1,02% hexacosane. Pour le lot de décembre nous avons deux composés majoritaires qui sont l'AIC (1,82%) ; et le « BDE » (88,56%), mais on pense que le temps de stockage a une influence sur la composition.

L'étude de la cinétique des composés majoritaires a permis de penser que les feuilles de *Pinula viscosa* (L.) ont le caractère endogène de la structure sécrétrice ; des observations microscopiques seront nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

L'analyse des différentes courbes cinétiques nous suggère l'existence de trois étapes d'extraction. La première (durant la première demi heure) concernerait les composés se trouvant à la surface de la feuille, la deuxième concernerait les composés dont la durée varient entre une et deux heures selon la période de cueillette et ayant une certaine mobilité et la troisième étape en fin d'extraction concernerait les composés ayant une mobilité réduite

L'activité antifongique des huiles essentielles vis-à-vis de quatre champignons a été évaluée. L'huile essentielle du lot de juin a été très active sur les deux champignons testés (Fusarium C ; Fusarium G), l'indice d'inhibition était entre 62,5% et 92,25%. Pour l'huile de mars ; il s'avère qu'elle est efficace qu'à la concentration 3120 µg/ml pour les deux champignons (Botrytis cinerea ; Micro) ; mais à la concentration de 1560 µg/ml était actif qu'au champignon de Botrytis cinerea.

ANNEXE I

Spectres de masse de composés non identifiés

Composé (Nom ; tr ; Teneur %)	Spectre de masse
A₁ ; 70,87 min ; 6,61 %	55(50) ; 67(68) ; 79(65) ; 85(49) ; 91(71) ; 109(63) ; 119(100) ; 137(52) ; 150(20) ; 175(10) ; 189(9) ; 204(9) ; 218(2)
A₂ ; 83,13 min ; 8,78 %	55(47) ; 67(31) ; 73(19) ; 79(52) ; 91(100) ; 105(55) ; 119(45) ; 133(38) ; 147(39) ; 161(26) ; 173(24) ; 187(8) ; 205(12) ; 219(49) ; 234(16)
B₁ ; 32,713 min ; 8,11 %	41(27) ; 55(46) ; 67(25) ; 81(54) ; 91(71) ; 97(82) ; 105(47) ; 117(36) ; 123(45) ; 131(23) ; 138(100) ; 145(24) ; 164(22) ; 173(24) ; 183(4) ; 189(10) ; 201(13) ; 219(66) ; 234(35)
B₂ ; 33,066 min ; 7,16 %	41(20) ; 53(14) ; 65(15) ; 77(27) ; 91(63) ; 105(73) ; 119(91) ; 128(23) ; 143(85) ; 156(11) ; 171(90) ; 181(13) ; 187(5) ; 199(100) ; 207(7) ; 219(33) ; 232(71)
B₃ ; 33,90 min ; 2,63 %	43(45) ; 55(9) ; 67(7) ; 71(100) ; 79(9) ; 85(16) ; 93(14) ; 107(12) ; 119(11) ; 138(16) ; 147(4) ; 155(27) ; 173(2) ; 187(3) ; 205(2) ; 219(6) ; 232(1)
C₁ ; 29,493 min ; 2,79 %	43(100) ; 55(31) ; 59(19) ; 67(26) ; 71(54) ; 81(35) ; 85(13) ; 93(77) ; 109(46) ; 121(33) ; 138(55) ; 145(9) ; 152(4) ; 159(8) ; 175(2) ; 187(7) ; 193(1) ; 205(3)
C₂ ; 31,08 min ; 4,40 %	41(47) ; 55(46) ; 69(30) ; 73(10) ; 79(36) ; 83(25) ; 91(57) ; 105(92) ; 117(25) ; 131(77) ; 135(95) ; 148(100) ; 162(3) ; 175(2) ; 187(8) ; 200(4) ; 218(45) ; 228(4)

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

[1] P. Quezel, S. Santa.

Nouvelle flore de L'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du Centre National de la recherche scientifique. Tome II, 1963.

[2] M.H. Abuzarga, E.M. Hamed, S.S. Sabri, W. Voelter, K.P. Zeller.

New sesquiterpenoids from the Jordanian medicinal plant *Inula viscosa*. *J. Nat. Prod.* 61:798-800, 1998.

[3] M. Grande, F. Piera, A. Cuenca, P. Torres, I.S. Bellido

Flavonoids from *Inula viscosa*. *Journal : Planta Medica*. 1985

[4] M. Grande, P. Torres, F. Piera, I.S. Bellido

Triterpenoids from *dittrichia viscosa*. *Phytochemistry*, Vol.31, No5, pp.

1826-1828, 1992

[5] P. Paulian.

Guide pour l'Etude de quelques plantes Tropicales, Ed. Gauthier-Villards,

Paris. 1967.

[6] http://crdp2.ac-besancon.fr/flore/flore/nom_com/inules.htm

[7] <http://crdp2.acbesancon.fr/flore/flore/Asteraceae/especes/>

[dittrichia_graveolens.htm](http://crdp2.acbesancon.fr/flore/flore/Asteraceae/especes/dittrichia_graveolens.htm)

[8] L.R. Hernandez Ochoa

Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse d'état Institut National Polytechnique de Toulouse. 2005.

[9] <http://crdp2.acbesancon.fr/flore/flore/Asteraceae/especes/>

[inula_salicina.htm](http://crdp2.acbesancon.fr/flore/flore/Asteraceae/especes/inula_salicina.htm)

[10] <http://crdp2.acbesancon.fr/flore/flore/Asteraceae/especes/>

[inula_montana.htm](http://crdp2.acbesancon.fr/flore/flore/Asteraceae/especes/inula_montana.htm)

[11] (ichn.iec.cat)

[12] <http://crdp2.acbesancon.fr/flore/flore/Asteraceae/especes/>

inula_helvetica.htm

[13] <http://crdp2.ac-besancon.fr/flore/flore/Asteraceae/especies/>

inula_crithmoides.htm

[14] <http://crdp2.acbesancon.fr/flore/flore/Asteraceae/especies/>

inula_conyza.htm

[15] http://fr.wikipedia.org/wiki/Inule_visqueuse

[16] N.Benhammou, F.A.Bekkara

Contribution à l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Inula viscosa*. 2006

http://www.inpv.edu.dz/downloads/publication/file/25contribution_a_letude_du_pouvoir_antifongique_de_lhuile.pdf

[17] V.Hernández, M.C.Recio, S.Mañez, R.M.Giner, J.L.Rios

Effects of naturally occurring dihydroflavonols from *Inula viscosa* on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism. *Life sciences journal*, 2007.

[18] F.Bssaibis, N.Gmira, M.Meziane

Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* Vol 3, N°1, p : 44-55.2009

[19] O.Danino, H.E.Gottlieb, S.Grossman, M.Bergman

Antioxidant activity of 1, 3-dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscosa*. *Food Research International* 42. 1273–1280. 2009

[20] B.Chiarlo

Sui costituenti dell'*inula viscosa* .Ait. Contenuto in azuleni dell'olio essenziale. *Boll. Chim. Farm.*, 107(6) : 370 - 382. 1968.

[21] M.Grande, I.S.Bellido

9-Hydroxynerolidol esters and bicyclic sesquiterpenoids from *dittrichia viscosa*. *Journal of Natural Products*. Vol. 55, No8, pp. 1074-1079, August 1992.

[22] MJ.P.Alonso, A.Velasco-Negueruela.

Composition of the volatile Oil from the Aerial Parts of *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Flavour Fragr.J.*, Vol.11: 349–351. 1996

-
- [23] M.H.Abuzarga, E.M.Hamed, S.S.Sabri, M.A.Khanfar, K.P.Zeller, A.U.Rahman. A new eudesmane type sesquiterpene from *Inula viscosa*. *Natural Product Research*, Vol.17, No.2, pp.99-102, 2002.
- [24] A.Camacho, A.Fernandez, C.Fernandez, J.Altarejos, R.Laurent.
Composition of the essential oil of *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Riv. Ital. EPPOS*; 29: 3–8. 2000
- [25] N.De Laurentis, V.Losacco, M.A.Milillo, O.Lai
Chemical investigations of volatile constituents of *Inula viscosa* (L.) Aiton (Asteraceae) from different areas of Apulia, Southern Italy. *Delpinoia*, n.s. 44:115-119. 2002.
- [26] B.Marongiu, A.Piras, F.Pani, S.Porcedda, M.Ballero.
Extraction, separation and isolation of essential oils from natural matrices by supercritical CO₂. *Flavour Fragr J.* 18: 505–509. 2003.
- [27] M.C.Blanc, P.Bradesi, M.J.Gonçalves, L.Salgueiro, J.Casanova.
Essential oil of *Dittrichia viscosa* ssp. *viscosa*: analysis by ¹³C-NMR and antimicrobial activity. *Flavour Fragr. J.* Vol.21: 324–332.2006.
- [28] G.Miguel, L.Faleiro, C.Cavaleiro, L.Salgueiro, J.Casanova
Susceptibility of *Helicobacter pylori* to Essential Oil of *Dittrichia viscosa* subsp. *Revolute*. *Phytotherapy research*, vol.22, 259–263 (2008)
- [29] Maffei et Sacco
Perfumer and flavorist, October/November 1988, Vol.13, N° 5, P. 61. In *Progress in Essential oils*, 1988-1991.
- [30] Association Française de Normalisation.
Huiles essentielles, Tome 2, Monographies relatives aux huiles essentielles. 6ème édition. AFNOR, Paris, 2000.
- [31] W. F. Erman.
Chemistry of monoterpenes, part B. Marcel Dekker, New York, 1985.
- [32] A. Belanger, S. Khanizadeh.
Influence de la composition chimique des huiles essentielles de différents génotypes de fraisières sur la résistance aux acariens. *Rivista Italiana EPPOS*. 14, 443-445, 1995.

[33] J. Garnero.

Les huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur, K 345, 2003.

[34] D.El abed, N.Kambouche.

Huiles Essentielles. Ed Dar el Gherb, Algérie, 2003.

[35] C. Viollon., J.P. Chaumont.

Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*. 128(3), 151-153. 1994.

[36] C.Benini.

Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire de fin d'études. Univ GEMBLOUX. 2007

[37] Edmongor ; Chweya.

Perfumer and flavorist, Vol. 21, N° 3. Progress in Essential oils Journal, 1996.

[38] M.E.Lucchesi.

Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse d'état, Univ de la Reunion.2005

[39] B.M. Lawrence.

Essential oils. Perfumer and flavorist, 1980.

[40] J.Y. Anizon, B. Lemaire, M. Surbled.

Extraction assistée par micro-ondes. Techniques de l'ingénieur, F3060, 2003.

[41] M. E.Lucchesi, F.Chemat, J.Smadja.

Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043, 323–327, 2004.

[42] Z. Wang, L. Ding, T. Li, X. Zhou.

Improved solvent -free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. And *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of Chromatography A*, 1102, 11–17, 2006.

[43] P.Mengal ; B. Mompon.

Procédé et installation d'extraction sans solvant de produits naturels par micro-ondes. Brevet international, WO 94/26853, 1994.

-
- [44] P. Mengal, D. Behn, M. Bellido Gil, B. Mompon,
VHMD : extraction d'huile essentielle par micro-ondes. Parfums, cosmétiques, arômes, 114, 66-67,
1993.
- [45] C.Bachelot, A.Blaise, T.Corbel Et A.Le Guernic
Les huiles essentielles, U.C.O Bretagne Nord, France 2006.
- [46] Site web: www.aroma-zone.com/aroma/fiche_procede_extraction.
- [47] C. Bhupesh, G. Monobu ; H. Tsutomu.
"Extraction of ginger oil with supercritical carbon dioxide: experimental and modeling", Journal of
American Chemical Society, V35, 607-612, 1996.
- [48] R.P Adams
Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured
Publishing Corporation, Illinois, USA. 2007.
- [49] Y.Chen, G.Zhou, L.Liu, Z.Xiong, Y.Li
Enantioselective Total Synthesis of Eudesma-3,11(13)-dien-12-oic Acid. Thieme Journals Vol 9:
1305-1307. 2001
- [50] J. Paolini
Caracterisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM-(IE et IC) et RMN du carbone-13 de
cistus albidus et de deux asteraceae endemiquede Corse : eupatorium cannabinum subsp. Corsicum
et doricum corsicum. Thèse de Doctorat, Universite de Corse.2005
- [51] O.Politeo , M.Jukic, M.Milos
Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil
(Ocimumbasilicum L.) compared with its essential oil. Food Chemistry 101(2007)379–385.
- [52]: R.Hema, S.Kumaravel, K.Alagusundaram
GC/MS Determination of Bioactive Components of Murraya koenigii; Journal of American Science,
2011;7(1)
- [53] S.Lalitharani; V.R.Mohan; G.S.Regini
GC-MS analysis of ethanolic extract of zanthoxylum rhetsa (roxb.) dc spines. Journal of Herbal
Medicine and Toxicology 4 (1) 191-192 (2010)

[54] J.Bodoprost; H.Rosemeyer

Analysis of phenacylester derivatives of fatty acids from human skin surface sebum by reversed-phase HPTLC: chromatographic mobility as a function of physico- chemical properties. *Int. J. Mol. Sci*, 8: 1111 – 1124 (2007).

[55] A.Falodun, R.Siraj, MI.Choudhary,

GC – MS analysis of insecticidal leaf essential oil of *Pyrenacantha staudtii* Hutch and Dalz (Icacinaceae). *Trop. J. Pharm. Res.* 8: 139 – 143. (2009).

[56] G.Subbarayan , S.Krishnasami , E.Jeyaseelan Dulcy

Chemical investigation of aerial parts of *Acalypha fruticosa* forssk. *Der Pharma Chemica*, 2010, 2(5): 383-389.

[57] H.Y.Lee , B.S.Min , K.H.Son , H.W.Chang , H.P.Kim , S.S.Kang , K.H.Bae. Cerebrosides and Triterpenoids from the Roots of *Synurus deltoides*. 12(4) : 193-196.2006

[58] S.S.Kang, J.S.Kim, K.H.Son, H.P.Kim, H.W.Chang

Cyclooxygenase-2 Inhibitory Cerebrosides from *Phytolacca Radix*. *Chem. Pharm. Bull.* 49(3) 321—323.2001

[59] C.Cafarchia ; N. De Laurentis ; M.A Milillo ; V.Losacco ; V.Puccini. Antifungal activity of essential oils from leaves and flowers of *Inula viscosa* (Asteraceae) by Apulian region. *Parassitologia*.44 : 153-156, 2002.

[60] G.Shtacher, Y.Kashman.

12-Carboxyeudesma-3,11(13)-diene. A novel sesquiterpenic acid with a narrow antifungal spectrum. *J. Med. Chem.* 13:1221-1223. 1970.