

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Ecole Nationale Polytechnique

Département de Génie Chimique

Laboratoire de valorisation des énergies fossiles

Thèse de Doctorat en Sciences en Génie chimique

option : Génie chimique

Présentée par :

Mme MADANI LEILA ép. Bouguermi

Magister en Génie Chimique

Intitulée

Récupération et Valorisation des Extraits de l'Inule Visqueuse

Soutenue publiquement le : 16 Avril 2015

devant le jury :

Président	Mr Benyoussef El-Hadi	Professeur ENP
Rapporteuse	Mme Derriche Ratiba	Professeur ENP
Examineur	Mme Bentahar Fatiha	Professeur USTHB
	Mr Krea Mohamed	Professeur U.Medea
	Mr Hanini Salah	Professeur U.Medea
Invitée	Mme Bensebia Ouahida	M.C.B USTHB

ENP 2015.

ملخص : هذا العمل يستهدف تقييم نبتة طبية جزائرية "المقرمان" . وذلك من خلال مسح الاختلافات الكيميائية لمستخلصات هذه النبتة المتحصل عليها باستعمال مختلف تقنيات الاستخراج التقليدية و العصرية. هذا المسح أوضح وجود تباينات في الكم و الكيف لهذه المستخلصات. هذه الأخيرة تتأثر كذلك باختلاف أصل النبتة و دورة نموها. الإستخراج بواسطة ثاني أكسيد الكربون فوق الحرج يعطي مردودا أعلى مقارنة بالإستخراج بواسطة الماء في حالته تحت الحرجة ,التقطير بالماء والتقطير ببخار الماء. المستخلص الناتج عن طريق الطرق الحديثة غني بالتمتوزان بالمقابل حمض الإزوكستيك يهيمن على تركيبة الزيوت الأساسية عن طريق الطرق التقليدية. من جهتها آثار العوامل التكنولوجية على سرعة الاستخراج بواسطة ثاني أكسيد الكربون في حالة فوق الحرجة درست من أجل فهم آليات هذا الاستخراج. الضغط والحرارة لهما تأثير إيجابي على المردود في حين حجم الجسيمات و معدل التدفق تأثيرهما سلبي. تم تطبيق نماذج رياضية مختلفة على معطيات حركيات الاستخراج لهدف اختيار النموذج المناسب الذي يصف بدقة أحسن النظام المدروس من ناحية. و من ناحية أخرى من أجل تحديد ظواهر إنتقال المادة المتحركة في سلوك هذا النوع من الاستخراج.أوضحت النتائج بأن سلوك هذا الإستخلاص يخضع لتوازنات الأطوار في المرحلة الأولى من حركية الاستخراج وأهمية نقل الحركة الداخلي في المرحلة الأخيرة. إختبارات بيولوجية طبقت على بعض المستخلصات و أظهرت فعالية مضادة للبكتيريا ومضادة للفطريات.

الكلمات المفتاحية: مقرمان,زيت أساسي, ثاني أكسيد الكربون فوق الحرج,نمذجة

Abstract : This work consists to investigate the recovery of an Algerian medicinal plant 'Inula Viscosa'. The scanning of the chemical variability of the plant extracts obtained by using various conventional separative methods and those modern found the existence of differences in the quality and quantity of the extracts. These last seem to be also affected by the plant origin and his vegetative cycle. The supercritical CO₂ extraction proved superiority in the yield comparing with subcritical water extraction, hydrodistillation and steam distillation. The extract obtained using the recent techniques are rich on tomentosin while isocostic acid dominates the composition of essential oils of classical methods. On his part the impact of some technological parameters on the extraction supercritical CO₂ rate has been studied aimed at understanding the mechanisms involved in this kind of extraction. Therefore the pressure and temperature has positive effect on the yield, on the contrary the effect of the particle size and flow rate of CO₂ is negative. The application of some mathematical models on the kinetic data was made firstly to choose the adequate model that gives a best description of our system, then to identify the mass transfer phenomena governing the supercritical CO₂ Inula viscosa extraction. The results show that phase equilibrium governs the behavior of mass transfer in the first period as well as the importance of the internal mass transfer during the final phase of this separative technique. Biological tests undertaken on some obtained extracts showed the antibacterial and antifungal power of this plant.

Key words : Inula viscosa, essential oil, supercritical CO₂ , modeling

Résumé : Ce travail consiste à valoriser une plante médicinale algérienne 'l'inule visqueuse'. Un balayage de la variabilité chimique des extraits de cette plante obtenus par les différentes techniques séparatives conventionnelles ainsi que récentes a révélé l'existence des divergences en quantité et en qualité des extraits. Ces dernières semblent être affectées aussi par l'origine de la plante et de son cycle végétatif. L'extraction par le CO₂ supercritique a montré une supériorité en termes de rendement par rapport à l'extraction par l'eau sous critique, l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur. L'extrait obtenu par les techniques innovantes est riche en tomentosin tandis que l'acide isocostique domine la composition des huiles essentielles issues des méthodes classiques. L'impact de quelques paramètres

technologiques sur la vitesse d'extraction par le CO₂ supercritique a été étudié visant la compréhension des mécanismes mis en jeu. A cet effet la pression et la température ont manifesté un effet positif sur le rendement, par contre l'effet de la taille des particules solides et le débit du CO₂ est négatif. L'application des différents modèles mathématiques sur les cinétiques d'extraction par le CO₂ supercritique a été effectué en vue d'une part de choisir le modèle approprié qui décrit au mieux notre système et d'autre part identifier les phénomènes de transfert de matière régissant l'extraction par le CO₂ supercritique. Les résultats ont révélé l'influence des équilibres des phases pour la première étape de la cinétique d'extraction et l'importance du transfert de matière interne lors de la phase finale de la cinétique de cette technique de séparation. Des tests de l'activité biologiques sur quelques extraits obtenus ont montré le pouvoir antibactérien et antifongique de cette plante.

Mots clés : Inule visqueuse, huile essentielle, CO₂ supercritique, modélisation.

Dédicaces

À la mémoire de mon cher père, que Dieu repose son âme en paix.

À ma très chère mère, je ne saurais jamais exprimer mon amour, mon respect, ma considération et ma gratitude pour tous ses sacrifices pour moi.

À mon époux, à qui je témoigne de tout cœur ma gratitude pour son dévouement, son enthousiasme, son soutien inconditionnel et ses encouragements sans relâches.

À ma très chère fille Amena Thawab, que Dieu la protège.

À la mémoire de ma chère sœur Zahira, l'exemple de gentillesse et de sympathie.

À tous mes frères et sœurs, je suis très fière d'avoir à mes côtés.

À toute ma famille, et tous ceux qui me sont proches et chers.

Leïla.

Remerciements

Je remercie le bon Dieu le tout puissant qui m'a aidé à mener à bien ce travail.

Je le remercie jusqu'à ce qu'il soit satisfait.

Je le remercie s'il est satisfait.

Je le remercie après sa satisfaction.

Je tiens à remercier Mme Derriche Ratiba, professeur à l'ENP, J'ai beaucoup apprécié ses qualités d'encadrement. J'aimerais lui adresser mes plus vifs remerciements pour son dynamisme, son soutien, ses conseils et sa confiance qui m'ont permis de mener à bien cette thèse. Qu'elle trouve ici toute ma reconnaissance et gratitude pour ces années de travail sous sa direction.

Monsieur le Professeur Benyoussef El-Hadi, je suis très sensible à l'intérêt que vous avez manifesté à l'égard de ce travail et d'avoir accepté de présider ce jury de soutenance.

Que Mme Bentaher fatiha, Professeur à l'USTHB, trouve ici ma sincère considération pour l'honneur qu'elle m'a accordé en acceptant d'examiner ce travail et de faire partie de ce jury.

Je suis très reconnaissante aux Messieurs Hanini Salah et Kréa Mohammed, Professeurs à l'université de Médéa d'accepter de participer au Jury. Qu'ils trouvent ici mes expressions de gratitude et de considérations.

Je remercie vivement Mme Bensebia Ouahida, Maître de conférence à l'USTHB d'accepter l'invitation à la participation au jury.

Je suis très reconnaissante à Monsieur Ali-Hassana Al-Marzouqi, professeur au département de génie chimique et pétrochimique de l'université d'Al-Ain aux Emirats Arabes Unies pour son chaleureux accueil dans son laboratoire, ses qualités humaines et pour ses conseils tous constructifs qui m'ont beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail.

J'aimerais adresser mes vifs remerciements et mes considérations à mon mari, qui m'a tant aidé dans l'organisation et la réalisation d'une partie importante du travail expérimental de cette thèse.

Nombreuses sont les personnes que je souhaite remercier pour m'avoir aidé et soutenu durant ces années et qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce projet, en particulier ma grande famille et mes amis.

Sommaire :

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I

Bilan bibliographique des connaissances

I-A- Les méthodes séparatives	4
I-A-1 Les méthodes séparatives conventionnelles	5
I-A-1.1 L'hydrodistillation	5
I-A-1.1 L'entraînement à la vapeur d'eau	6
I-A-1.3 L'extraction par solvant volatil	7
I-A-2 Les méthodes séparatives innovantes	9
I-A-2.1 Extraction assistée par microondes	9
I-A-2.2 L'extraction par l'eau sub- critique (SBWE).....	11
I-A-2.3 L'extraction par les fluides supercritiques.....	12
I-A-2.4 Applications industrielles du CO ₂ supercritique	17
I-A-2.5 Procédé d'extraction par le CO ₂ supercritique	18
I-A-2.6 Phénomènes de transport lors d'une extraction par les fluides supercritique (SFE).....	18
I-B-Description de la matière végétale.....	21
I-B-1 Inula Viscosa (L.)Aiton.....	21
I-B-2 Aspect botanique	21
I-B-3 Aspect anatomique	22
I-B-4 Aspect phytochimique	24
I-B-5 Répartition géographique	26
I-B-6 potentiel bioactif et importance de l'inule Visqueuse	27
Conclusion.....	27

Chapitre II

Balayage des techniques d'extraction sur l'inule visqueuse

Introduction.....	28
II-1 Matière végétale	28
II-1.1 Récolte de la plante.....	28
II-1.2 Examen par microscopie électronique à balayage	29
II-1.3 Mesure du taux d'humidité	29
II-2 Les techniques d'extraction des huiles essentielles et des extraits aromatiques	31
II-2.1 Hydrodistillation HD.....	31
II-2.2 Entraînement à la vapeur d'eau EVE	31
II-2.3 Extraction par solvant volatil.....	32
II-2.4 Extraction par l'eau sub-critique : SBWE.....	32
II-2.5 Extraction par l'éthanol sub-critique : SBETOH.....	33

II.2.6 Extraction par le CO ₂ supercritique :_SCCO ₂	33
II.3 Aspect quantitatif de l'huile essentielle de l'inule visqueuse.....	35
II.3-1 Influence de la méthode d'extraction.....	35
II.3.2 Influence de la provenance de la plante	39
II.3-3 Influence de la période de récolte.....	40
II.4 Aspect qualitatif de l'huile essentielle de l'inule visqueuse	41
II-4.1 Identification.....	44
II.4.2 Aspect qualitatif d'huile essentielle en fonction du mode d'extraction	44
II.4.3 Aspect qualitatif au cours du cycle végétatif de l'inule visqueuse	50
II-5 Extraction par le CO ₂ supercritique	52
II-5.1 Dispositif d'extraction par le CO ₂ supercritique	53
II-5.2 Procédure d'extraction	54
II-6 Influence des variables opératoires sur le rendement et la cinétique d'extraction par le CO ₂ supercritique	56
II-6.1 Influence de la taille des particules	56
II-6.2 Influence de la masse végétale utilisée.....	58
II-6.3 Influence du débit du CO ₂ supercritique	60
II-6.4 Influence de l'organe de la plante	62
II-6.5 Influence du taux d'humidité	65
II-6.6 Influence de la température	66
II-7.2 Influence de la pression	68
Conclusion.....	70

Chapitre III

Modélisation mathématique

Introduction.....	71
III-1 Application des modèles mathématiques	74
III-1.1 Modèle empirique t ⁿ : (MEP1).....	74
III-1.2 Modèle empirique 2 : (MEP2).....	76
III-1.3 Modèle semi-empirique de Sovova : (MEP4).....	78
III-1.4 Modèle de la diffusion interne	82
III-1.5 Modèle de Sovovà	86
Conclusion.....	91

Chapitre IV

Potentiel bioactif de l'inule visqueuse

Introduction	92
IV-1 Dosage des polyphénols	93
IV-2 Evaluation de l'activité antibactérienne	95
IV-2.1 Mode Opérateur	95
IV-3 Evaluation de l'activité antifongique.....	99

IV-3.1 Mode opératoire.....	99
Conclusion.....	102
Conclusion générale.....	103
Bibliographie	
Annexes	

Symboles et abréviations

a	aire interfaciale (m^2/m^3).
D	coefficient de diffusion (m^2/s).
D_e	diffusivité effective (m^2/s).
D_a	diamètre de croissance (mm).
D_b	diamètre de croissance du contrôle.
d_p	diamètre de la particule solide (m).
e	taux spécifique du soluté (g/g).
f_k	fraction du soluté accessible dans le solide %.
EVE	entraînement à la vapeur.
H%	taux d'humidité (g. 10^{-2} / g matières végétale)
HD	hydrodistillation.
HE	huile essentielle.
I %	indice d'inhibition
k_f	coefficient de transfert de masse dans le fluide (m/s).
k_s	coefficient de transfert de masse dans le solide (m/s).
m_{charge}	masse de la plante après séchage (g).
m_{ext}	masse extraite à l'instant t (g).
m_{∞}	masse extraite après un temps infini (g).
MEP	modèle empirique.
P	pression (bar).
q_n	solution de l'équation caractéristique.
Q_{CO_2}	débit du CO_2 supercritique (ml/min).
r_p	rayon de la particule sphérique du solide (m).
R%	rendement (g soluté/g charge sèche).
SC- CO_2	dioxyde de carbone à l'état supercritique.
SBWE	extraction par l'eau sous critique.
SBETOH	extraction par l'éthanol sous critique.
t	temps d'extraction (min).
t_i	temps caractéristique du transfert de masse interne (min).
T	température ($^{\circ}C$).
x_0	concentration massique initiale du soluté dans la phase solide (kg/kg).
x_k	concentration massique du soluté inaccessible dans la phase solide (kg/kg).

y	concentration massique du soluté dans la phase fluide (kg/kg).
y^*	solubilité du soluté dans le solvant (kg/kg).
$Y_{n \text{ exp}}$	rendement expérimental(%) (10^{-2} g d'extrait/ g charge sèche).
$Y_{n \text{ mod}}$	rendement calculé par le modèle mathématique (%) (10^{-2} g d'extrait/ g charge sèche .
ε	porosité du lit.
δ	épaisseur de la feuille (m).

Liste des tableaux :

Tableau I-1 : Propriétés thermophysiques des gaz, liquides et fluides supercritiques	13
Tableau I. 2 : Coordonnées critiques de certains fluides.....	16
Tableau I-3 : Taxonomie de l'inule visqueuse.....	21
Tableau I-4: Composition des huiles essentielles de l'inule visqueuse provenant différents pays.....	26
Tableau II.1 : Rendements des méthodes d'extraction utilisées.....	34
Tableau II-2 : Comparaison des cinétiques d'extraction HD, EVE.....	39
Tableau II-3 : Conditions d'analyses chromatographiques.....	43
Tableau II-4 : composés identifiés dans les huiles des feuilles de l'inule visqueuse récoltée en mois de Mars (Région : Alger).....	45
Tableau II-5 : Composition chimique des extraits de l'inule visqueuse obtenus par SC-CO ₂ (Période de récolte : sept, Région : Alger).....	47
Tableau II-6 : Composition chimique de l'extrait de l'inule visqueuse obtenu par SBWE (Période de récolte : sept, Région : Alger).....	48
Tableau II-7 : Composition chimique des extraits de l'inule visqueuse obtenus par SBETOH (Période de récolte : sept, Région : Alger)	49
Tableau II-8: composition chimique des HE de l'inule visqueuse pendant son cycle végétatif.....	52
Tableau II-9 : conditions opératoires des extractions par le CO ₂ supercritique de l'inule visqueuse.....	56
Tableau II-10 : Evolution en fonction de la température de la solubilité apparente de l'extrait de l'inule visqueuse obtenu par le SC- CO ₂	68
Tableau III-1 : valeurs des constantes k' du modèle empirique t ⁿ	74
Tableau III-2 : valeurs Ds estimées par l'équation proposé par Hong.....	75
Tableau III-3 : valeurs des paramètres e _∞ ; b des modèles empiriques MEP2, MEP3.....	78
Tableau III-4: valeurs de la constante du temps caractéristique du T.M interne calculé par le modèle empirique MEP4.....	81
Tableau III-5: Paramètres de transfert de matière en utilisant le modèle diffusion1 et le modèle diffusion2 à différentes pressions et températures (conditions d'extraction: taille de particule <425µm, 2 ml CO ₂ /min).....	83
Tableau III-6 : Paramètres de transfert de matière en utilisant le modèle de Sovovà à différentes pressions et températures (conditions d'extraction: taille de particule 425µm, 2ml CO ₂ /min).....	91
Tableau IV-1 : teneurs en polyphénols pour les différents extraits de l'inule visqueuse obtenus par l'extraction par les solvants volatils.....	94
Tableau IV-2 : Les diamètres de la zone d'inhibition des extraits par solvants	

volatils de l'inule visqueuse de Médéa récoltée au mois d'Avril.....	96
Tableau IV-3 : Les diamètres de la zone d'inhibition des extraits par solvants volatils de l'inule visqueuse d'Alger en mois d'Avril.....	97
Tableau IV-4 : Les diamètres de la zone d'inhibition des extraits de l'inule visqueuse d'Alger obtenus par l'eau sub-critique et par le SC-CO ₂	99
Tableau IV-5 : Les indices antifongiques et les diamètres d'inhibition de la croissance des espèces fongiques par l'huile essentielle de l'inule visqueuse récoltée à Alger en mois de Mars.....	100
Tableau IV-6 : Les CI ₅₀ et les CI ₉₀ de l'effet antifongique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse récoltée à Alger en mois de Mars.....	101

Introduction

Introduction

L'Homme a connu l'utilisation des plantes comme agents thérapeutiques depuis les temps préhistoriques. L'antique source médicale basée principalement sur les plantes n'a pas cessé de présenter un énorme intérêt dans la médecine et les pharmacopées modernes. La phytothérapie a créé ces dernières périodes un engouement certain pour les scientifiques. Parmi environ 250000 types de plantes [1], 15% ont été évalués phytochimiquement et 6% ont été valorisés pour leurs activités biologiques [2].

Les plantes recouvrent un potentiel important de principes actifs inépuisable et renouvelable ce qui a conduit à la focalisation des efforts dans l'isolation des substances bioactives, elles sont concentrées et purifiées pour leur usage dans divers et multiples champs d'application (cosmétiques, pharmaceutiques, additifs, nutritionnels...). L'utilisation des plantes médicinales a des retombées certaines sur : i) isolation des composés qui sont de nos jours utilisés dans les préparations galéniques (exemple digoxin, morphin, taxol), ii) synthèse de nouveaux composés possédant une haute activité et/ ou une basse toxicité à partir de composés issus des plantes médicinales (exemple metformin, verapamil et amiodarone qui sont basés principalement sur la galegine, le podophyllotoxine et le khelline) ; iii) utilisation de la plante complète comme étant un remède herbale (exemple echinacea, garlic, ginkgobibola et plusieurs d'autres) [3].

La valorisation de ce potentiel naturel passe toujours par une étape préalable d'extraction, l'opération considérée comme délicate car elle demande le développement de techniques permettant d'élaborer des concentrés riches en certains composés qui ne sont présents qu'à faible teneur tout en respectant le compromis entre plusieurs contraintes parmi lesquelles la sélectivité, le rendement, la pureté des produits finaux et le coût de l'opération.

Actuellement parmi les procédés les plus répandus mis en œuvre qui donnent une huile essentielle à partir de plante, on trouve principalement l'hydrodistillation et l'entraînement à

la vapeur d'eau, ces procédés présentent le risque de dégradation thermique de certains composés possédant un grand intérêt. L'extraction par solvant volatil produit une concrète ou résinoïde qui dans la plupart des cas nécessite une deuxième ou plusieurs opérations de séparation selon l'utilisation de l'extrait récupéré. «L'approche verte du génie des procédés» et de «l'éco-extraction» et son influence sur l'intensification des procédés et sur le couple produits/procédés verts est souvent mise en œuvre dans le but de produire plus en consommant moins. Ainsi les technologies innovantes conduisent à une meilleure utilisation des matières premières et de l'énergie.

L'extraction par le CO₂ supercritique apparaît comme une solution alternative minimisant le risque de dégradation thermique et aboutissant à des produits finaux exempts de solvant. L'extraction par le SC-CO₂ est l'une des rares technologies d'extraction compatible avec le cahier de charge de la préservation de l'environnement.

Conscient de l'importance des substances naturelles, notre travail s'est inscrit dans le cadre de la valorisation d'une matière végétale méditerranéenne très abondante dans notre pays : l'inule visqueuse (*inula viscosa* (L.Ait) appelée également *Dittrichia viscosa*, qui représente un vaste réservoir de produits naturels à haute valeur ajoutée. Son pouvoir bioactif a été prouvé par ses propriétés antimicrobiennes [4], anti-inflammatoires [5], antifongiques [6], antipyrétiques, antiseptiques [7], elle peut remédier les troubles gastroduodénaux [8]etc.

Notre ambition scientifique s'articule autour de trois axes, le premier vise un balayage de la variabilité chimique des extraits de cette plante obtenus par les différentes techniques séparatives conventionnelles telle que l'hydrodistillation, extraction par solvants volatils, l'entraînement à la vapeur d'eau et d'autres récentes comme l'extraction par le CO₂ supercritique, l'eau sub-critique et l'éthanol sub-critique. Le deuxième axe recherche les facteurs naturels et technologiques influençant le rendement des extraits issus de l'extraction par le SC-CO₂. Le troisième axe concerne la modélisation mathématique de la cinétique

d'extraction par le SC-CO₂ pour la compréhension des mécanismes de transfert de matière mis en jeu dans ce type d'extraction.

Notre travail a été organisé autour de quatre chapitres, dans un premier chapitre, nous présentons d'abord une synthèse des connaissances sur les différentes méthodes d'extractions en abordant plus particulièrement l'extraction par les fluides supercritiques, ensuite un bilan bibliographique sur l'inule visqueuse afin de mettre l'accent sur son aspect botanique et anatomique, ainsi que son aspect phytochimique. Une rubrique exposant son importance et son potentiel bioactif a été incluse également dans ce chapitre.

Le second chapitre décrit dans sa première partie un balayage des méthodes classiques qui ont été utilisées comme témoin comparatif. A cet égard une étude comparative portera tant sur le rendement que sur la qualité de la fraction volatile des extraits obtenus par les méthodes utilisées. Dans la deuxième partie du même chapitre nous évoquerons la méthodologie de la mise en œuvre d'extraction par le SC-CO₂ et nous discuterons l'influence des différentes conditions opératoires sur l'extraction de l'inule visqueuse par ce type de solvant.

Un troisième chapitre a été consacré à la modélisation mathématique de la cinétique d'extraction de l'inule visqueuse par le SC-CO₂ dans l'objectif d'expliquer les phénomènes de transfert de matière mis en jeu dans ce type d'extraction. Dans cette partie une critique des modèles appliqués est également menée. Des potentiels bioactifs de l'inule visqueuse ont été éventuellement dévoilés dans le dernier chapitre de cette étude.

Chapitre I

Bilan bibliographique des connaissances

Chapitre I

Introduction :

Cette synthèse bibliographique est structurée autour de plusieurs aspects et permet de cerner les techniques d'extraction existantes, la matière première utilisée et éventuellement la nature et l'utilité des extraits récupérés. Nous aborderons donc chaque technique d'extraction des substrats végétaux en énumérant les travaux réalisés avec la plante étudiée. Nous exposons avec une attention particulière une rubrique d'extraction par les fluides supercritiques qui connaît un développement accru depuis le début les années 70.

Partie A

I-A- Les méthodes séparatives :

Le progrès des procédés d'extraction a ses origines depuis l'antiquité. Des fragments de tissus teints à partir de garance, datés de 3500 ans avant JC, ont été découverts dans les ruines de certaines civilisations indiennes comme cité par [9,10]. Au cours du 18^{ème} siècle, se déclenche l'utilisation de solvants d'origine pétrochimique pour extraire les matières naturelles. Les travaux de mise en œuvre d'un procédé de distillation- extraction simultanée par Likens et Nickerson en 1964, ont constitué la base d'innombrables recherches afin d'améliorer la qualité des produits et de réduire les temps d'extraction. La progression des inventions de nouvelles méthodes d'extraction a continué. Durant les 40 dernières années ont été développées des méthodes d'extraction par les fluides supercritiques et sub-critiques.

Toutes les techniques séparatives solide-fluide sont basées sur la différence de solubilité des composés du solide dans le fluide. Parmi ces techniques on trouve celles dites

conventionnelles entre autre l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau, l'extraction par solvant volatil et d'autres innovantes : extraction assistée par microondes, extraction utilisant les hautes pressions (extraction par l'eau sub-critique, extraction par le CO₂ supercritique).

I-A-1 Les méthodes séparatives conventionnelles :

I-A-1.1 L'hydrodistillation :

C'est la méthode normée pour l'isolation des huiles essentielles à partir des plantes ainsi que pour le contrôle de qualité. Cette technique met en contact direct la matière végétale à extraire avec l'eau. L'ensemble est porté à ébullition à pression atmosphérique, le chauffage permet l'éclatement et la libération des molécules volatiles aromatiques contenues dans les cellules végétales pour former avec la vapeur d'eau un mélange azéotrope. Ce mélange azéotrope huile essentielle – eau subit ensuite un refroidissement et une condensation dans un essencier ou vase florentin. Une séparation de la phase aqueuse eau et la phase organique huile essentielle se produit sous l'effet de la différence de leur densité. L'hydrodistillation des huiles essentielles est contrôlée par l'hydrodiffusion (diffusivité capillaire et moléculaire), la co-distillation due principalement à la différence de volatilité entre les divers constituants) et la séparation de l'huile essentielle du condensat (en fonction du degré de solubilité dans l'eau). Malgré son ancienneté, l'hydrodistillation est toujours d'actualité puisque des améliorations sont apportées pour donner naissance à des nouveaux procédés :

- ❖ le procédé d'hydrodistillation par microondes qui est basé entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique avec une modification du mode de chauffage. Ce qui a apporté plus de rapidité et une similitude de composition d'huile par rapport à une hydrodistillation classique.

- ❖ Le procédé d'hydrodistillation par ultrasons : Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation des constituants des huiles essentielles. Dans certains cas, les rendements en huiles essentielles sont augmentés et les cinétiques accélérées.

Un grand nombre de chercheurs ont utilisé l'hydrodistillation pour isoler le contenu des feuilles et des fleurs de l'inule visqueuse. Perez-Alonzo et al en 1996 [11], ont montré que les huiles essentielles obtenues après 4 heures d'hydrodistillation des feuilles de l'inule visqueuse provenant de la Turquie avec un rendement faible n'excédant pas 0,20% contiennent une forte proportion de bornéol (25%), isobornyl acétate (22,5%) et bornyl acétate (19%). Un échantillon provenant de Corse (France) [12], présente un rendement beaucoup plus faible 0,03-0,07% d'HE composée principalement de fokienol (21%), E-nérolidol (8,6%), eudesm-6-en-4 α -ol (6,2%).

Les feuilles fraîches de l'inule visqueuse d'origine portugaise, ont produit une HE avec un rendement de 0,3% constituée essentiellement des composés oxygénés : 3-méthoxycuminyloisobutyrate (12%) suivi du α -cadinol (6,3%), eudesm-6-en-4 α -ol (4,8%), δ -cadinène (4,6%) [13].

La plante provenant du Portugal a fait l'objet d'une HD pendant 3h dans une autre étude entreprise par Silvia. M et al. en 2012, elle donne un rendement en HE qui atteint 0,4%. Cette huile est dominée par une fraction de sesquiterpènes oxygénés, le trans-nérolidol (8%), β -olopénone (7%), T-cadinol (6%) accompagnés par d'autres composés à des teneurs assez importantes 1,8 cinéole (5,6%), δ -cadinène (5,7%) [14].

I-A-1.2 Entraînement à la vapeur d'eau:

C'est la plus ancienne et la plus répandue méthode pour produire les huiles essentielles. De la vapeur d'eau traverse un lit de matière végétale ce qui conduit à l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules aromatiques. Sous l'effet de la chaleur l'huile libérée

est vaporisée et forme ainsi un mélange eau-huile essentielle. Par la suite ce mélange est condensé pour séparer la phase aqueuse (l'hydrolat) et la phase organique (HE). On peut également récupérer la phase aqueuse, comportant une faible proportion de composés aromatiques, qui porte alors le nom d'eau florale. Contrairement à l'hydrodistillation, cette technique réduit les phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. L'entraînement à la vapeur d'eau a été aussi utilisé par Camacho.A et al en 2000 pour séparer l'huile essentielle de l'inule visqueuse récoltée en Espagne [15]. Les rendements d'huiles essentielles issues dans ce cas sont au voisinage des rendements obtenus par l'hydrodistillation ne dépassant pas 0,33%, et les compositions des fractions obtenues sont largement constituées par le fokiéol (38,8%), et E-nérolidol (7,1%).

Cette méthode d'extraction a été aussi adoptée par Cafarchia et al. en 2002 dans l'objectif d'étudier les propriétés antifongiques des HEs séparées des feuilles et des fleurs de l'inule visqueuse d'Italie [16].

I-A-1.3L'extraction par solvant volatil :

L'extraction par solvant organique volatil reste une méthode très populaire. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. Ce type d'extraction est adapté soit pour obtenir des produits que l'on ne peut extraire par un autre procédé, soit en vue de rendements plus élevés. Néanmoins son emploi est restrictif ce qui se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, le risque de la thermodestruction des composés thermolabiles, la sélectivité du solvant qui n'est pas automatisable par contre elle dépend de la polarité du solvant. Pour l'extraction des antioxydants Pokorny et al ont rapporté que les solvants de polarité intermédiaire (acétone, acétate d'éthyle) semblent préférables que ceux de polarité faible ou extrême (méthanol, éthanol) [17].

L'inule visqueuse a été soumise aussi à l'extraction par solvant volatil dans de nombreux travaux. Avec ce type d'extraction on extrait plus de composés lipophiles qui ont prouvé une haute activité biologique par rapport aux composés contenus dans les extraits aqueux [18,19].

Pérez et al.[11] ont comparé l'extrait du n-hexane des feuilles fraîches de l'inule visqueuse par rapport à celui issu de l'hydrodistillation, ils ont trouvé que la différence dans la fraction principale est quantitative et non pas qualitative : l'extrait du n-hexane manifeste une large proportion 48,7% d'acétate de bornyl qui était le deuxième constituant majoritaire de l'HD, et une faible teneur de l'acétate d'isobornyl (0,3%) qui a été décrit comme le troisième constituant. Le taux de bornéol est important dans les deux extraits (20,8%).

Une étude de Cohen en 2005 a démontré que le tomentosin et l'acide costique sont les principaux constituants de la fraction séparée des feuilles de l'inule visqueuse de Palestine en utilisant l'extraction par un mélange de solvants volatils (acétone+hexane)[18]. Les auteurs ont décrit dans ce travail que ces composés sont des agents antifongiques.

Le tomentosin a été aussi extrait de cette plante par l'hexane dans un travail mené par Cafarchia et al.en 2001. Ils ont démontré que ce composé est actif contre les espèces fongiques *Microsporum canis* et le *Microsporum gysem*[19].

L'acétone a été utilisé comme solvant pour l'extraction des concrètes des feuilles de l'inule visqueuse par Wang et al. en 2004. Ils ont trouvé dans cette étude que ces concrètes sont des sources naturelles fongicides contre les trois familles fongiques pathogènes Oomycètes, Ascomycètes et Basidiomycètes [20].

L'acétone a été aussi utilisé comme solvant dans une étude portant sur un échantillon provenant d'Italie de la même plante réalisée par Fantana et al en 2007, la concrète obtenu a été principalement composée par l'acide iso-costique accompagné du carabrone, tomentosin, l'acide 2,5- dihydroxyisocostique, l'acide 2,5-dihydroxycostique [21]

Par contre l'acétone mélangé au dichlorométhane peut isoler à partir de l'inule visqueuse provenant de l'Espagne trois dihydroflavonols : Sakuranetin et le 7,O-methyl-aromadendrin, 3-acetyl-7,O-methyl-aromadendrin. Hernandez et al. ont décrit dans leur étude que ces trois composés isolés ont une propriété anti-inflammatoire [22]. Dans une autre étude effectuée par Máñez et al. en 2007 sur la même plante et de la même provenance, les auteurs ont décrit que le dichlorométhane utilisé seul peut extraire un sesquiterpénoïde (inulviscolide) possédant une importante activité pharmacologique [23].

Mamoci et al. en 2011 et en 2012, ont pu extraire de l'inule visqueuse provenant de l'Italie en utilisant de l'hexane et de l'éthanol des concrètes constituées du tomentosin, acide isocostique, l'acide ilicique et l'inuviscolide. Elles sont actives contre des espèces fongiques (*Botryotinia fuckeliana*, *Penicillium digitatum*, *P.expansum*, *Monilinia laxa*, *M.fructigena*) et contre même la croissance de deux types d'insectes (*spadoptera littoralis* et *Myzuspersicae*).

I-A-2. Les méthodes séparatives innovantes :

I-A-2.1 Extraction assistée par microondes :

Ses premières apparitions étaient en 1986 par Gedye [26]. Le procédé consistait à irradier par micro-ondes de la matière végétale en présence d'un solvant, puis l'ensemble subit un chauffage pendant de courtes durées figure I-1. Ce chauffage, fait vaporiser l'eau contenue dans les glandes oléifères, et crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois des cellules végétales et libère ainsi le contenu en huile. Ainsi les micro-ondes atteindraient directement les systèmes glandulaires et vasculaires du végétal. Les molécules volatiles sont entraînées dans le mélange azéotrope formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. Deux cas figurent : pour les plantes à huiles essentielles superficielles les micro-ondes chauffent la matière végétale pour extraire l'huile essentielle seulement à l'aide de l'eau contenue dans la plante. Par contre pour les huiles essentielles localisées dans des

sites internes, les micro-ondes génèrent un gradient thermique inversé par rapport à celui obtenu par la vapeur ce qui facilite la diffusion des molécules aromatiques. La séparation de l'extrait se fait par une étape de centrifugation de l'ensemble. Plusieurs modifications ont été adoptées dans ce type d'extraction pour en faire découler de nouvelles techniques à savoir : l'extraction par micro-onde sans solvant [27], et l'extraction par solvant assistée par micro-ondes [28]. C'est une méthode peu coûteuse car elle utilise de petites quantités de solvants et elle est plus économique en temps, en énergie et en matière végétale, mais adaptée principalement aux plantes contenant une teneur en eau suffisamment élevée. Parmi ces majeurs inconvénients c'est le besoin d'une étape de filtration ou de centrifugation pour éliminer le résidu de l'extrait.

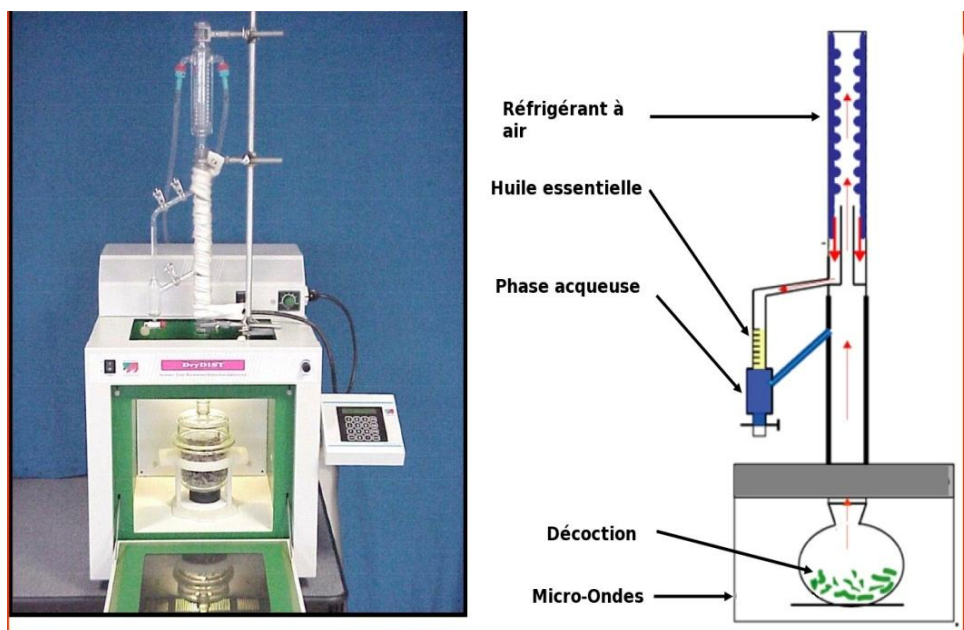


Figure I-1 : dispositif utilisé dans l'hydrodistillation assistée par micro-ondes.

I-A-2.2 L'extraction par l'eau sub-critique (SBWE) :

Cette méthode met en œuvre comme solvant l'eau à des températures entre 100 et 374°C (points critiques de l'eau 221 bars et 374°C) et haute pression suffisante pour maintenir l'eau à son état liquide figure I-2. Elle est également appelée extraction par l'eau surchauffée ou bien extraction par l'eau liquide surchauffée, c'est une technique verte prometteuse qui a prouvé dans le domaine d'extraction des agents bioactifs un grand potentiel en terme de sélectivité et efficacité.

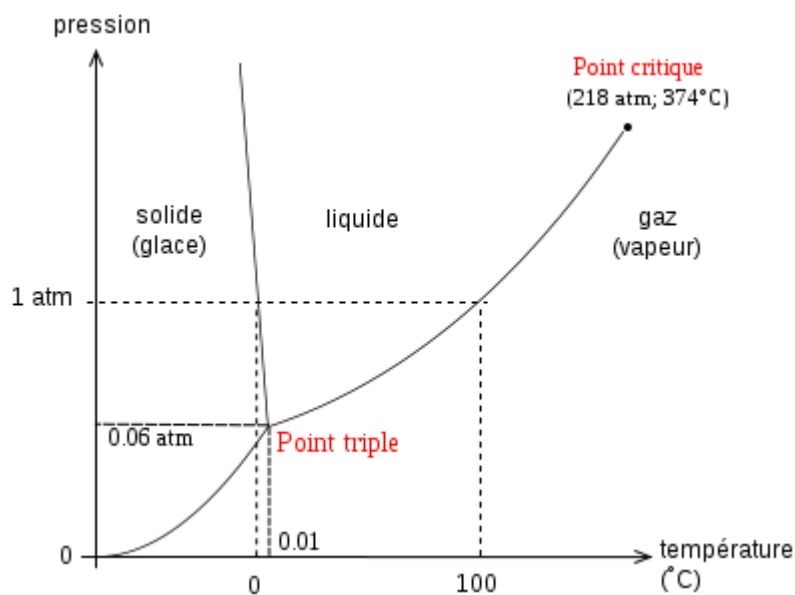


Figure I-2 : Diagramme de phases de l'eau [29].

L'eau qui apparaît le solvant le plus vert qui soit, est la molécule la plus abondante sur la terre, elle est utilisée comme solvant et retient une attention particulière surtout avec le développement du nouveau concept de chimie verte, vue ses propriétés physico-chimiques qui peuvent être considérablement modifiées par un changement de sa température [29]. A température ambiante, l'eau est un solvant polaire qui possède une constante diélectrique (ϵ), de 78,4 à 20°C. Cette valeur élevée est due aux effets collectifs des molécules dipolaires de l'eau. Cependant, dans une atmosphère pressurisée à des températures élevées de l'ordre de

250-300°C, la polarité de l'eau diminue et la constante diélectrique aussi. Elle devient équivalente à celle d'un solvant organique tel que l'éthanol ($\epsilon' = 24$) [30]. Sa valeur chute d'une valeur de 80 à $P = 200$ bar et $T = 20^\circ\text{C}$ pour tendre vers 2 à la même pression et $T = 400^\circ\text{C}$, valeur proche du comportement de la vapeur. Ainsi le processus de l'eau sub-critique permet l'extraction de molécules moyennement polaires à non-polaires sans utiliser de solvants organiques avec une amélioration de la solubilisation des principes actifs [31]. Les extraits obtenus par ce type de procédés sont de pureté appréciable [32]. Parmi ses avantages aussi c'est le temps d'extraction court, le faible volume d'eau utilisé. Du point de vue de la sécurité, l'utilisation de l'eau est nettement avantageuse par rapport à certains produits comme l'hexane. La polarité modulable de l'eau sub-critique en fait un solvant possiblement intermédiaire entre l'eau en condition standard et des solvants apolaires comme le benzène ou l'hexane [31].

L'inconvénient majeur du SBWE est l'utilisation des hautes pressions qui nécessite des équipements coûteux [32]. A haute température, beaucoup de groupes fonctionnels sont susceptibles de s'hydrolyser. Cette technique ne convient pas beaucoup aux composés thermolabiles. Son développement est freiné par la difficulté de sa mise en œuvre à l'échelle pilote et industrielle. Si l'oxygène n'est pas soigneusement purgé avec l'eau surchauffée, il y a possibilité de corrosion des équipements de l'extraction [33].

I-A-2.3 L'extraction par les fluides supercritiques :

Un fluide est dit à l'état supercritique (FSC) lorsqu'il est chauffé au-delà de sa température critique et lorsqu'il est comprimé au-dessus de sa pression critique figure I-3. Les coordonnées critiques des corps purs s'élèvent avec l'augmentation de la taille des molécules.

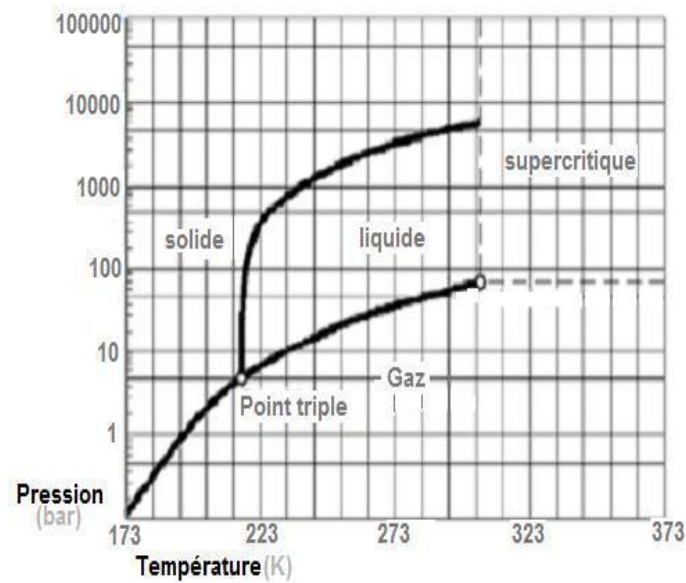


Figure I.3 : Diagramme de phases P-T du CO₂ [34].

Le fluide supercritique a des propriétés différentes de celles d'un gaz ou d'un liquide mais qui sont comprises entre les deux. Ils ont une viscosité proche de celle d'un gaz, une densité proche de celle du liquide avec un pouvoir de diffusivité très élevé par rapport au fluide liquide tableau I-1. Ce qui facilite leur pénétration dans les milieux poreux. La faible viscosité dynamique et la forte masse volumique résultent en une viscosité cinématique faible, qui favorise les phénomènes de convection naturelle massique.

Tableau I-1 : propriétés thermophysiques des gaz, liquides et fluides supercritiques [35].

Etats	Densité (g/cm ³)	Viscosité(Pa.s)	Compressibilité (MPa ⁻¹)	Coefficient de diffusion (m ² /s)
Gaz	0,5-2×10 ⁻³	1-5×10 ⁻⁵	1-10	1-3×10 ⁻⁵
FSC				
à T _c et P _c	0,2-0,5	1-3×10 ⁻⁵	∞	7×10 ⁻⁸
à T _c et 4P _c	0,4-1	3-9×10 ⁻⁵	0,1-10	1×10 ⁻⁸
liquide	0,6-1,6	0,2-3×10 ⁻³	1-5×10 ⁻³	0,2-2×10 ⁻⁹

Les fluides supercritiques présentent une particularité du point de vue de l'importante variabilité de leurs propriétés autour du point critique comme la masse volumique, la densité, la viscosité et le facteur de compressibilité, qui sont très sensibles aux variations de la pression et de la température.

Le fluide supercritique possède plusieurs avantages par rapport au fluide liquide :

- Un grand coefficient de diffusivité, une augmentation de la température fait croître la diffusivité tandis qu'elle diminue avec une élévation de pression. En revanche cet accroissement de pression entraîne ainsi une augmentation de la densité qui limite le transfert de matière, mais les valeurs élevées de masses volumiques leur confèrent un bon pouvoir solvant.

Par ailleurs, en raison de cette propriété, les fluides supercritiques présentent un bon intérêt pour des applications telles que l'extraction, le traitement des solides (imprégnation et micronisation), les synthèses organiques et la chromatographie.

- Une faible viscosité ; Plus la viscosité est faible, mieux le fluide s'écoule dans les pores et mieux il circule dans les espaces intercellulaires favorisant ainsi le transfert de matière par une meilleure pénétration dans le milieu et permet de diminuer l'apport énergétique nécessaire pour déplacer le fluide. Par ailleurs, on observe d'importantes variations de viscosité au voisinage du point critique (pour $P > P_c$). A température constante, une augmentation de la masse volumique avec la pression entraîne un accroissement de la viscosité. Par contre, à pression constante, une augmentation de la température décroît la masse volumique du milieu, ce qui provoque une diminution de la viscosité figure I-4.

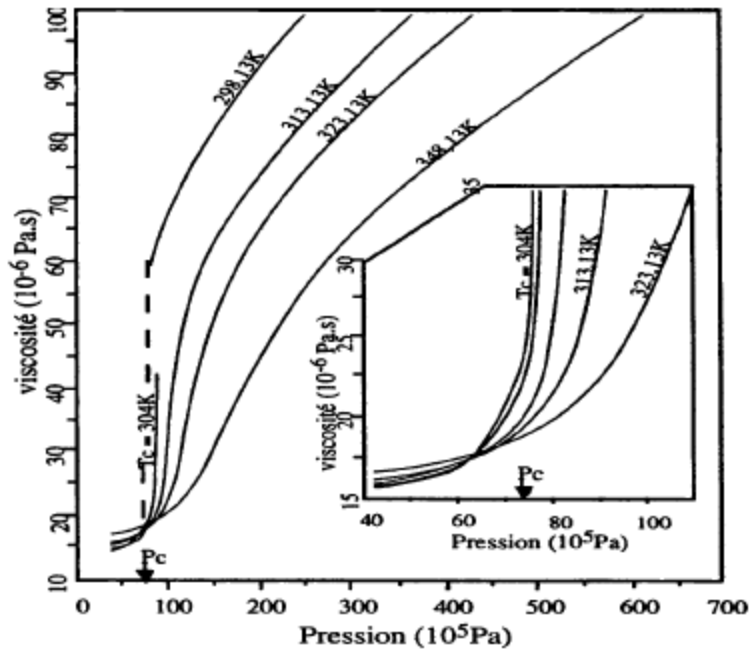


Figure I-4 : Variation de la viscosité du CO₂ avec la pression et la température au-delà du point critique [35].

- Absence de tension de surface, ce qui augmente le pouvoir de pénétration du fluide supercritique.
- On peut moduler ses propriétés en changeant les paramètres extérieurs (température et/ou pression), ce qui est appelé un pouvoir solvant « à géométrie variable ». Cette variation permet de dissoudre de manière sélective les composés.

L'extraction par les fluides supercritiques peut apporter une amélioration nette en termes de rendement d'extraction et de sélectivité.

Le tableau I-2 regroupe les fluides supercritiques couramment utilisés dans l'industrie, cependant les plus utilisés sont le CO₂ et l'eau. Toutefois cette dernière pose certains problèmes car ses coordonnées critiques réduisent son accessibilité expérimentale et son caractère corrosif exige un appareillage adapté assez coûteux [35,36]. Elle est essentiellement réservée pour le traitement de déchets ou la synthèse hydrothermale.

Tableau I. 2: Coordonnées critiques de certains fluides [36].

Composés	Température T_c (°C)	Pression P_c (bar)	Masse volumique (g/cm ³)
CO ₂	31,1	73,8	0,468
Ethane	32,2	48,8	0,203
Propane	96,7	42,5	0,220
Propylène	91,9	46,2	0,23
Toluène	318,6	41,14	0,29
Oxyde nitreux	36,5	71,0	0,457
Eau	374,2	220,5	0,272
Ethanol	243,1	63,9	0,280
acétone	235,0	47,6	0,273

Le CO₂ est le plus répandu des fluides supercritiques car sa température et pression critiques sont relativement basses, comme il présente des propriétés qui en font un solvant de choix pour l'extraction des molécules naturelles :

- ✓ non toxique largement utilisé dans l'industrie alimentaire (boissons gazeuses).
- ✓ Peu onéreux.
- ✓ une faible réactivité chimique.
- ✓ Sa faible température critique permet d'effectuer les extractions à basse température. minimisant ainsi les risques de dégradation thermique.
- ✓ Il ne crée pas de contamination dans les phases liquides qui sont en contact avec lui.
- ✓ Il ne laisse aucun résidu dans l'extrait ni dans la matière première épuisée contrairement aux solvants organiques.
- ✓ Recyclé à l'état gazeux en fin de processus, il permet de concevoir des usines propres et respectueuses de l'environnement.

Dans son état supercritique, le CO₂ a le pouvoir de solubiliser avantageusement les composés apolaires (lipophiles) et peu polaires. En jouant sur sa densité, notamment par le paramétrage de la pression et de la température, le pouvoir solvant peut être optimisé afin de cibler différentes molécules d'intérêt. Son pouvoir solvant peut être amélioré par l'ajout d'un co-

solvant comme l'éthanol, l'eau ou bien des huiles végétales. Par ailleurs, la solubilité dans le CO₂ supercritique dépend de la nature chimique des composés [35,36]:

- la solubilité dans le CO₂ supercritique diminue lorsque la masse molaire du composé augmente.
- les chaînes carbonées aliphatiques sont plus solubles que les composés aromatiques.
- les doubles liaisons d'une molécule font augmenter la solubilité dans le CO₂ supercritique.

I-A-2.4 Applications industrielles du CO₂ supercritique :

L'utilisation du CO₂ supercritique présente un large spectre de potentialités dans de nombreux domaines d'activités. Cette technique se trouve couramment appliquée dans les traitements d'extraction, de fractionnement, de déposition, d'imprégnation, de réaction, de chromatographie et d'autres. On peut citer :

- ❖ domaine agro-alimentaire : extraction/fractionnement de diverses matrices animales ou végétales : extraits de plantes, décaféiné du café et du thé, extraction de fragrances et d'arômes (valériane, arômes d'eau de vie, pétales de roses, ail,...), préparation de tabac sans nicotine.
- ❖ extraction et /fractionnement de graisses animales (ex : oméga 3)
- ❖ extractions d'insecticides naturels (Pyrèthre).
- ❖ extraction de polyphénols (tanins).
- ❖ extraction en continu de vitamines liposolubles
- ❖ élimination des impuretés
- ❖ Domaine pharmaceutique : extraits de plantes médicinales, de stéroïdes, de pénicilline...
- ❖ Domaine des matériaux : purification de monomère, et de polymères, création d'aérogels, teintures

- ❖ La chimie : diverses réactions peuvent être menées en milieu supercritique : oxydations, condensations, photochimie, polymérisation...
- ❖ La biochimie : purification d'antibiotiques, d'acides organiques, réactions enzymatiques...

I-A-2.5 Procédé d'extraction par le CO₂ supercritique :

Un procédé typique d'extraction comporte les étapes suivantes :

- Introduction de la matière première dans l'extracteur.
- Le CO₂ est pompé et porté à la pression et température désirées pour atteindre les conditions supercritiques.
- Le CO₂ supercritique circule à travers la matière première et solubilise les molécules recherchées.
- A la fin de l'extraction, par abaissement de la pression dans les séparateurs (phase de détente) on provoque le passage du gaz carbonique de l'état supercritique à l'état gazeux. Dans ces conditions le pouvoir solvant baisse, et les molécules dissoutes précipitent.
- Le CO₂ gazeux est ensuite recyclé.
- A la fin les extraits exempts de tous résidus de solvant sont recueillis.

I-A-2.6 Phénomènes de transport lors d'une extraction par les fluides supercritique (SFE) :

Le processus d'extraction d'un composé comporte plusieurs étapes figure I-5 :

- pénétration du solvant à travers le film qui entoure la particule ensuite à l'intérieur des pores
- solubilisation du soluté dans le solvant. (A → B) ;
- diffusion interne du mélange solvant+soluté de l'intérieur des pores vers la surface (B → C) ;

- diffusion du mélange soluté+ solvant dans la couche limite du fluide supercritique entourant la particule (C → D) ;
- transport du soluté (D → E).

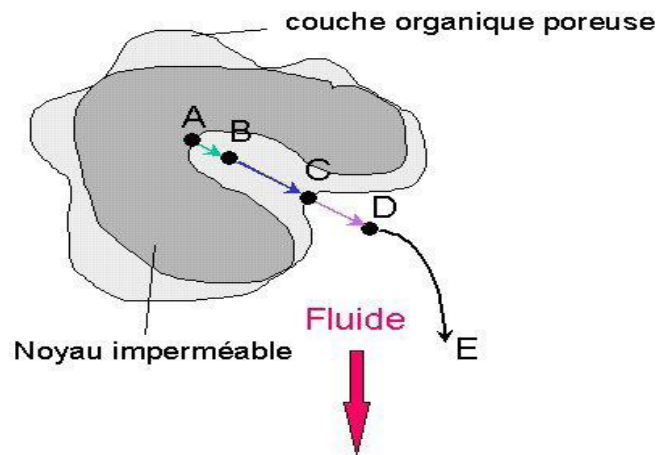


Figure I-5 : Représentation schématique du processus d'extraction de matrices solides par les fluides Supercritiques.

Par conséquent, le phénomène d'extraction par le CO₂ supercritique dépend des interactions composé-matrice et la répartition du soluté dans la matrice solide, du pouvoir extractif (capacité de diffusion et de pénétration) et du pouvoir de solubilisation du fluide supercritique ainsi que des phénomènes du transport externe.

La nature séquentielle de ces quatre processus fait que l'opération globale d'extraction se déroule à la vitesse du processus le plus lent, qualifiée alors le processus limitant du procédé

La majorité des extractions sont complexes et leur efficacité varie en fonction des paramètres thermodynamiques et cinétiques.

L'extraction par le SC-CO₂ est une méthode très attractive car elle est avantageuse par rapport aux méthodes conventionnelles par un temps d'extraction plus court, une puissante purification, une sélectivité élevée et facilement ajustable par une simple variation de pression. La SFE permet le couplage avec les méthodes chromatographiques qui peuvent

constituer par la suite des moyens d'extraction et de quantification directe des composés très volatils [37]. Parmi ses désavantages le coût élevé de sa mise en œuvre ainsi que la co-extraction des composés indésirables dans certaines conditions comme les acides gras et les cires.

L'extraction par le SC-CO₂ supercritique a montré son efficacité vis-à-vis plusieurs matières végétales, son utilisation par plusieurs chercheurs en témoigne [38-41]. Une comparaison de l'extrait issu de l'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse de Sardaigne (Italie) à celui obtenu par HD a fait l'objet d'une étude effectuée par Marongiu et al. en 2003. Les rendements étaient différents, le plus important est celui obtenu par le SC-CO₂ (0,65%) tandis que le rendement par HD n'excède pas 0,43%. Les deux compositions chimiques étaient dominées par le globulol (15% pour le SC-CO₂ et 16,8% pour HD), ce composé est suivi par 8-isobutyryloxy-isobornyl isobutyrate (13,1%), viridiflorol (8,3%) et l'oxyde de caryophyllène (8,2%) pour l'extrait du SC-CO₂. Cet extrait est plus riche en monoterpènes oxygénés (10,8%) par rapport à celui du HD (0,3%). Pour l'HD le globulol est accompagné par le valerianol (12%) ; qui est totalement absent dans le premier extrait ; et l'oxyde de caryophyllène (8%). Les auteurs ont observé des teneurs élevées de viridiflorol, nérolidol et le quilavandulol dans l'extrait du SC-CO₂[42].

Partie B

I-B- Description de la matière végétale:

I-B-1 *Inula Viscosa* (L.)Aiton:

Inula viendrait du mot grec *Inéo* qui signifie je purge (allusion thérapeutique de la plante) [43], *Viscosa* veut dire visqueuse. L'inule visqueuse est une plante de feuillage persistant de la famille des Astéraceae [44]. Le genre *Inula* présente plus de 100 espèces, parmi elles *Inula Helenium*, *Inula Crithmoides*, *Inula Brittanica* et bien d'autres qui présentent un grand intérêt pour les scientifiques [45,46].

Tableau (I-3) : Taxonomie de l'inule Visqueuse [45,47].

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	angiospermes
Classe	Dicotylydones
Sous classe	Gamopetales
Ordre	Campunulales
Famille	compositae
Genre	<i>Inula</i>
Espèce	<i>Viscosa</i>
Synonymie	<i>Dittrichia Viscosa</i>
Nom commun	Inule, aunée visqueuse
Noms vernaculaires	Magramane ou Amagramane en Afrique du nord.

I-B-2 Aspect botanique :

L'inule Visqueuse est une plante herbacée pérenne ou vivace ayant des tiges dressées qui bourgeonnent à chaque printemps figure (I-6). Elle apparaît sous forme de buissons atteignant 0,5 à 1m de hauteur. Ses feuilles sessiles sont ondulées, dentées, aiguës rudes recouvertes sur les deux faces de glandes visqueuses qui dégagent pendant la phase végétative

une odeur forte et âcre [48]. Par une plante d'inule visqueuse, il existe en moyenne 130,9 feuilles qui recouvrent une surface de 200 cm² [49]. Les fleurs du centre sont tubulaires, et celles périphériques sont liguliformes. A la fin de l'été la floraison débute pour donner des inflorescences jaunes et à la fin de son cycle de vie elle produit des fruits qui sont des akènes velus à aigrette grisâtre.



Figure (I-6) : Inule visqueuse. A : capitules de fleurs, B : capitule détaillée, C : vue de plante entière, D : feuilles d'inule visqueuse. E : akènes de l'inule visqueuse [48].

I-B-3Aspect anatomique :

Les feuilles de l'inule Visqueuse possèdent de longs poils protecteurs, de nombreux trichomes glandulaires et des stomates sur les deux faces de la feuille figure I-7 (a). Les poils protecteurs ont une structure complexe constituée d'environ 10 cellules basales arrangées dans une rangée verticale en diminuant progressivement de l'ampleur vers l'extrémité supérieure. La cellule terminale étant plus longue que les autres et pointue figure I-7 (b). Les trichomes glandulaires sont plus courts sécrétant une substance emprisonnée entre la paroi cellulaire et la cuticule de la cellule de la tête figure I-7 (c) [51]. La densité des poils protecteurs sur les surfaces

abaxiale et adaxiale de la feuille de l'inule visqueuse est en moyenne de 14 et 11 poils par millimètre respectivement [52].

Les complexes de stomates de type anomocytique situés au dessus des chambres substomatal du mésophile sont facilement distingués sur l'épiderme figure I-7 (b). Le parenchyme spongieux est compact ne laissant que quelques espaces intercellulaires. Toutes les cellules palissadées du parenchyme contiennent des inclusions vacuolaires de formes sphériques remplies de lipides et des composés phénoliques [51,52].

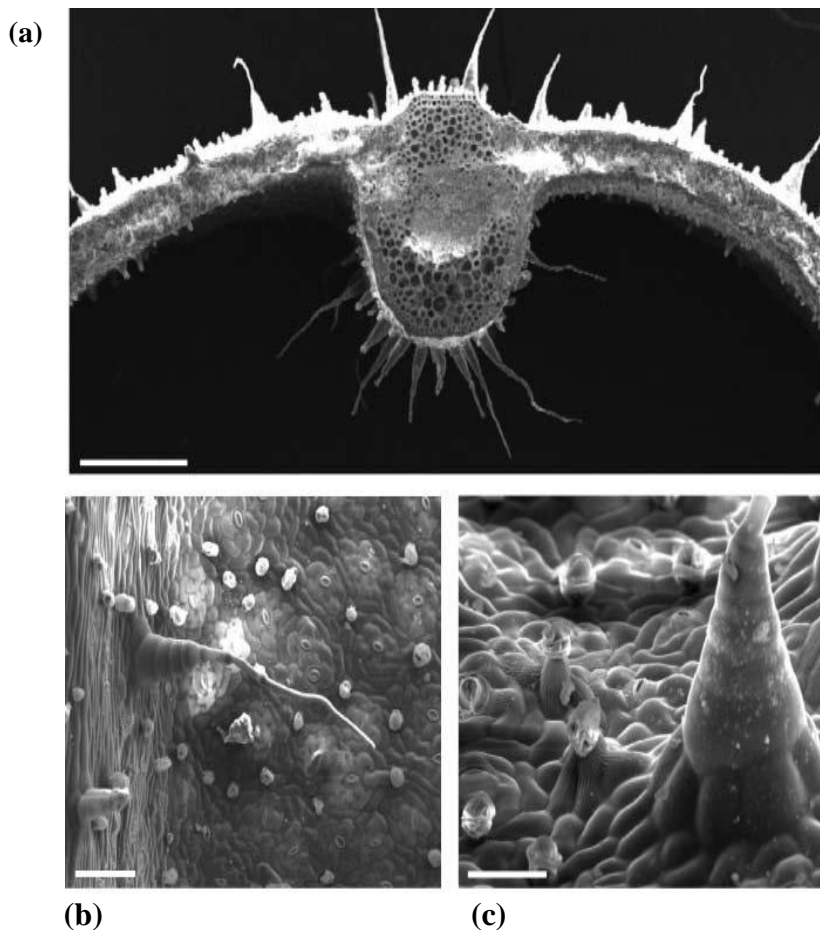


Figure I-7 :(a)Vue par MEB d'une coupe transversale de la feuille d'inule visqueuse x 500 μ m. (b), (c) Vue par MEB de la surface [51].(b) x 100 μ m, (c) x 50 μ m.

Des investigations histochimiques réalisés par A.Nikolakaki et N.S. Christodoulakis [51] ont conduit à la localisation des sites sécréteurs dans la feuille de l'inule visqueuse. Les cellules du mésophile et les trichomes glandulaires sont très actives dans la sécrétion d'un large spectre de composés intéressants, ils produisent les polysaccharides et les protéines en outre des terpènes. Les produits volatils sont sécrétés par les trichomes et les poils protecteurs [53,54]. Les produits sécrétés dans les feuilles de l'inule Visqueuse sont soit exsudé à travers de fins pores dans la cuticule ou s'accumule au dessous de la cuticule puis ils sont évacués vers l'extérieur après une légère rupture de la cuticule par un facteur externe [54].

I-B-4 Aspect phytochimique:

Les parties aériennes de l'inule visqueuse produisent des :

- ❖ **monoterpenes** : cinéole, thymol, borneol, carvacrol [12, 42, 55].
- ❖ **sesquiterpenes** : nérolidol et ses dérivés, fokienol, chamazulène, acide alpha-costique, acide iso-costique, 2,5-dihydroxyisocostique et 2,3-dihydroxyisocostique, tomentosin, inuviscolide [12, 13, 18, 19, 42, 56, 57, 58, 59, 60, 61].
- ❖ **triterpenes esters** : faradiol et calenduladiol [62, 63]
- ❖ **flavonoïdes** : méthylaromaendrine, dihydroflavonol3-O-acetil-aromadendrina, quecertin, Sakuranetin, 3,30-di-O-Methylquercetin [55, 64, 65, 66, 67].
- ❖ **phénylpropanoïdes** : acide chlorogénique, cinamaldéhyde [64, 68]
- ❖ **polycetides** : acide palmitique, acide oléique, acide linoléique [12, 42, 55].

Les racines de l'inule visqueuse contiennent de nombreux composés comme l'inuline, le camphre d'Aunée [66], 3-methoxy-p-cymene-7-yl isobutyrate, isoveralate et le nerylisovalerate [11], de la paraffine et trois sesquiterpènes essentiels : l'alantole, l'alontolactone et l'acide allantique [67, 68].

En effet l'influence de plusieurs facteurs sur la variabilité de la qualité chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse a été dévoilée dans plusieurs travaux antérieurs. Dans un travail mené par De Laurentis et al. en 2002 [69], l'examen de deux différents organes de l'inule visqueuse a révélé une richesse en monoterpènes des fleurs par rapport aux feuilles, par contre ces dernières sont plus riches en sesquiterpènes oxygénés. Ceci résulte de la différence des biosynthèses de ces deux parties aériennes de la plante.

Les conditions environnementales comme les conditions climatiques et édaphiques peuvent influencer aussi la composition, par exemple l'inule visqueuse récoltée en Espagne est constituée principalement de Fokienol(38,8%) et de E- Nerolidol (7,1%) [15]. En Turquie, la même plante est riche en Bornéol (25,2%), Isobornyl d'acétate (22,5%) et Bornyl d'acétate (19,5%) [11]. Par contre le composé majoritaire de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de la région d'Apulie en Italie est le (12-carboxyeudesma-3,11 (13) diene)[69].

Blanc et al. ont trouvé que les principaux constituants de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de Corsica en France sont le Fokienol (21,1%), E-Nerolidol (8,6%) et eudesm-6-en-4 α -ol (6,2%) [12]. L'inule visqueuse récoltée dans différentes régions présente une diversité de composés majoritaires comme mentionné dans le tableau I-4.

Tableau I-4: Composition des huiles essentielles de l'inule visqueuse provenant de différents pays.

Constituents %	Jordanie (Ibrid) [60]	Italie (Sardinia) [42]	Italie (Bar, Apulia) [69]	Turquie (Fethiye) [11]	Espagne (Jaèn) [15]	France (Corsica) [12]
acide isocostique	-	-	62,37	-	-	-
Fokienol	20,87	-	-	-	38,8	21,1
T-Cadinol	-	-	-	tr	-	-
Nerolidol	-	1,9	2,09	1,5	7,1	-
α -Copaene	1,15	-	-	tr	0,2	0,2
E-Nerolidol	19,75	1,9	-	-	7,1	8,6
β -Eudesm-6-en-4 α -ol	5,64	-	-	-	-	-
α -Vetivone	3,60	-	-	-	-	-
α -Eudesmol	2,68	2,0	0,15	0,3	-	2,2
oxide de Caryophyllene	2,57	8,0	0,84	1,5	-	2,5
Selin-11-en-4 α -ol	2,18	1,8	-	-	-	1,6
Cedren-14-ol-acetate	2,00	-	-	-	-	-
Khusimol	1,80	2,6	-	-	-	-
Globulol	1,79	16,8	-	-	0,4	-
Bornéol	-	-	-	25,2	tr	-
Isobornyld'acétate	-	-	-	22,5	-	-
Bornyld'acétate	-	-	-	19,5	-	-
δ -Cadinene	-	3,9	tr	-	1,7	0,2
γ -Cadinene	-	1,4	-	0,1	-	0,2
Valerianol	-	12,0	-	-	-	-

I-B-5 Répartition géographique :

L'inule Visqueuse est distribué dans tout le bassin méditerranéen, sur les sols salés, les prairies humides et les bords des cours d'eau [48, 70]. Son aire naturelle d'origine comprend les pourtours du sud européen (France, Espagne, Grèce, Italie, Bulgarie, Turquie), et du proche orient (Palestine, Jordanie, Syrie) ainsi que de l'Afrique du nord (Algérie, Egypte, Libye). Les graines de l'inule visqueuse ont un efficace pouvoir de production et de dispersion, en fait elle est mise en place fréquemment dans les Açores, Belgique et Grande Bretagne [71]. En Algérie elle est largement répandue dans les rocailles et les terrains argileux et les champs abandonnés, elle est abondante dans les régions de moyenne altitude du tell [50].

I-B-6 potentiel bioactif et importance de l'inule Visqueuse :

Le genre *Inula* revête une importance médicinale remarquable avec ses propriétés antibactérienne, cytotoxique, hepatoprotective, anticancéreuse, anti-inflammatoire [5,58,72].

L'inule visqueuse est une source naturelle des agents responsables de l'activité antipyrétique, antiseptique, antiphlogistique [7,73], elle est utilisée comme un remède aux troubles gastriques [8]. Cette plante a prouvé un potentiel pharmacologique important, elle possède des activités antimicrobiennes [65], anti-oxydante [74,75], anti-inflammatoire [5] et anti-tumorale [59].

L'inule visqueuse est considérée comme une source de composés naturels anticancéreux, c'est ce qu'a révélé une recherche menée par Merghoub et al en 2009 portant sur des extraits méthanoliques de sept plantes aromatiques marocaines. Entre ces 7 plantes testées, l'inule visqueuse a présenté un effet cytotoxique le plus élevé sur deux types de cellules de cancer cervical humain (SiHa et HeLa) avec CI_{50} de 54 $\mu\text{g/ml}$ [76].

L'extrait de l'inule visqueuse obtenu par une solution de NaOH avec des concentrations variant de 0,1-0,7% a manifesté une activité inhibitrice de la corrosion du cuivre avec une efficacité qui peut atteindre 86,49% [77].

Conclusion :

Cette synthèse bibliographique nous a permis de soulever l'importance de l'inule visqueuse dans plusieurs domaines car elle possède un large réservoir des produits bioactifs. Cette recherche nous a permis également de discerner les facteurs influençant sur la variabilité de la qualité chimique de cette plante. Les méthodes récentes qui sont bien avantageuse que celles conventionnelles car elles synchronisent clairement avec les besoins de l'éco-extraction utilisant la chimie verte sont très rarement utilisées dans l'extraction de ce genre de plante, ce qui nous a encouragé dans ce travail à s'orienter vers ce type d'extraction.

Chapitre II

Balayage des

techniques

d'extraction sur l'inule

visqueuse

Chapitre II

Introduction :

Afin de contribuer à une éventuelle valorisation de l'espèce végétale inule visqueuse, nous avons opté dans une partie de notre travail pour une étude comparative des différentes techniques extractives des substrats végétaux. Au cours de ce balayage nous évaluerons la variation du rendement et parfois de la qualité des extraits obtenus en fonction des divers modes de récupération adoptés à savoir : l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau, extraction par solvant volatil, extraction par l'eau sub-critique, l'extraction par l'éthanol sub-critique ainsi que l'extraction par le CO₂ supercritique.

II-1 Matière végétale :

Le choix de la plante inule visqueuse a été basé sur son abondance dans notre pays ainsi que son utilisation par la population locale dans la médecine traditionnelle et dans l'agriculture pour conserver les récoltes. Une recherche bibliographique qui témoigne son importance dans plusieurs domaines nous a aussi encouragé d'adopter ce choix.

II-1.1 Récolte de la plante :

Dans ce travail, les expériences ont été réalisées avec les parties aériennes de l'inule visqueuse récoltée pendant les différentes étapes de son cycle végétatif des années 2008,2009 et 2010. La plante provient des champs abandonnés situés dans deux régions différentes de l'Algérie : Oued Harbil 18 km ouest du chef lieu de la wilaya de Médéa (100 km sud d'Alger) et sidi Rzine (10 km sud ouest d'Alger). L'identification de la plante a été faite au niveau du laboratoire de botanique du département d'agronomie de l'université de Blida par

comparaison aux spécimens existants sur l'herbier numérisé de Gérard de Beliar et ainsi que sur le guide des plantes du bassin méditerranéen élaboré par Andreas, B. en 1998.

II-1.2 Examen par microscopie électronique à balayage :

Dans notre travail on a procédé à une analyse par microscopie électronique à balayage (MEB) type Jeol JSM 5600 capable de produire des images en haute résolution de la surface en utilisant le principe des interactions électrons-matière.

Les vues microscopiques au niveau des feuilles de l'inule visqueuse d'Alger ont révélé la présence des structures sécrétrices superficielles : les poils protecteurs, des trichomes glandulaires et des stomates. Figure II-1.

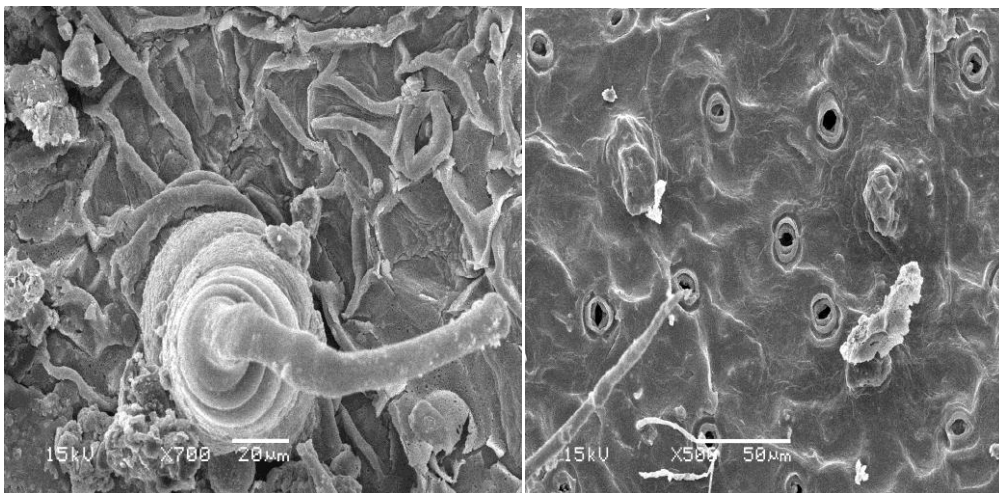


Figure II-1 : Vue de surface de la feuille de l'inule visqueuse d'Alger, observée au - microscope électronique à balayage.

II-1.3 Mesure du taux d'humidité :

La teneur en eau dans la matière végétale a été effectuée avec deux méthodes différentes. Pour les échantillons extraits par les techniques séparatives conventionnelles, elle a été déterminé par distillation azéotropique de la plante au xylène dans un appareil de Dean Stark, représenté sur la figure II-2 afin d'extraire la masse d'eau existante dans la masse de la matière végétale.

Le taux d'humidité H est exprimé par :

$$H\% = \frac{m_{\text{eau}}}{m_{\text{végétale initiale}}} \times 100 \quad (\text{II-1}).$$

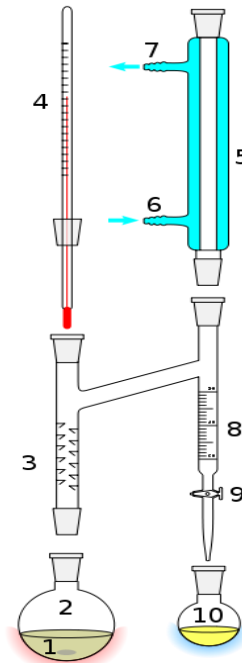


Figure II-2 : Montage de Dean Stark.

1-Barreau magnétique, 2-ballon rond remplis de MV+xylène , 3-colonne de vigreux, 4-thermomètre, 5-réfrigérant, 6-7- entrée et sortie d'eau de refroidissement, 8- décanteur, 9-Robinet, 10-Récipient de récupération du distillat.

Le taux d'humidité des échantillons destinés à une extraction par les méthodes innovantes a été déterminé par thermogravimétrie à l'aide d'un analyseur d'humidité du type Sartorius MA35 figure II-3. Le principe de mesure est le chauffage par rayonnement infrarouge d'une Source Halogène et la détermination continue de la masse au cours du séchage. Le taux d'humidité est calculé par l'équation (II-2) :

$$H\% = \frac{m_{\text{végétale initiale}} - m_{\text{végétale à l'état sec}}}{m_{\text{végétale initiale}}} \times 100 \quad (\text{II-2})$$

Par cette méthode l'atteinte de la température voulue est contrôlée avec précision et le résultat est obtenu plus rapidement que les méthodes conventionnelles (par distillation). Les normes de pharmacopée recommandent l'utilisation des méthodes de Karl Fischer et la méthode de distillation au Xylène pour la mesure du taux d'humidité.



Figure II-3 : Analyseur à halogène d'humidité modèle Sartorius MA35

II-2 Les techniques d'extraction des huiles essentielles et des extraits aromatiques :

II-2.1 Hydrodistillation HD:

Cette opération a été menée dans un appareil de type Clevenger. Les feuilles de l'inule visqueuse mise dans un ballon, sont baignées dans l'eau bouillante, la vapeur produite entraîne avec elle les constituants volatils qui seront recueillis dans un récipient de recette après condensation dans le réfrigérant raccordé au ballon. Par la suite l'huile est ainsi isolée du distillat par extraction liquide-liquide au moyen de l'éther diéthylique, l'huile récupérée peut être pesée après que tout l'éther diéthylique s'évapore.

II.2.2 Entraînement à la vapeur d'eau EVE :

La vapeur issue de l'ébullition de l'eau dans un ballon, traverse un lit de feuilles de l'inule visqueuse, entraînant ainsi l'huile essentielle. Après condensation de cette vapeur dans un réfrigérant, le mélange eau-huile est récupéré dans un récipient de recette. Ce mélange subit une extraction par l'éther diéthylique pour séparer l'huile des eaux de distillation. Après évaporation de l'éther diéthylique, l'huile récupérée est pesée.

Des prélèvements faits à des temps précis sur des huiles récupérées sont destinés aux mesures cinétiques d'HD et de l'EVE.

II.2.3 Extraction par solvant volatil :

Le solvant d'extraction est portée à ébullition, les vapeurs ascendantes traversent le réfrigérant pour être condensées, ce condensat est mis en contact avec les feuilles de l'inule visqueuse contenue dans la cartouche du soxhlet. Le cycle évaporation –condensation se poursuit au cours de l'opération jusqu'à l'épuisement totale de la matière végétale.

Afin d'éliminer le solvant et récupérer l'extrait, nous avons procédé à l'évaporation sous vide en utilisant un appareil 'Rota -évaporateur' qui permet l'extraction d'un solvant dont la température d'ébullition est abaissée en travaillant sous pression réduite. Les solvants testés sont l'hexane, pentane, acétone, acétate d'éthyle, éthanol.

II.2.4 Extraction par l'eau sub-critique : SBWE

L'extraction des feuilles de l'Inule visqueuse avec l'eau sub-critique a été menée à l'aide d'une installation à l'échelle laboratoire figure II-4. Une masse de 2g de la matière végétale est introduite dans une cellule d'extraction de 14 ml de volume. A l'aide d'une pompe HPLC programmée à un débit constant de 2ml/mn, on fait traverser la cellule d'extraction avec de l'eau traitée au préalable aux ultrasons pour éliminer l'oxygène dissout et puis réchauffée à une température de 100°C. On récupère le mélange eau – extrait dans une ampoule à décanter contenant 5ml de dichlorométhane, 1g de NaCl est ajouté pour briser l'émulsion formée et séparer l'extrait. La pression de l'extraction était de 60 bars.

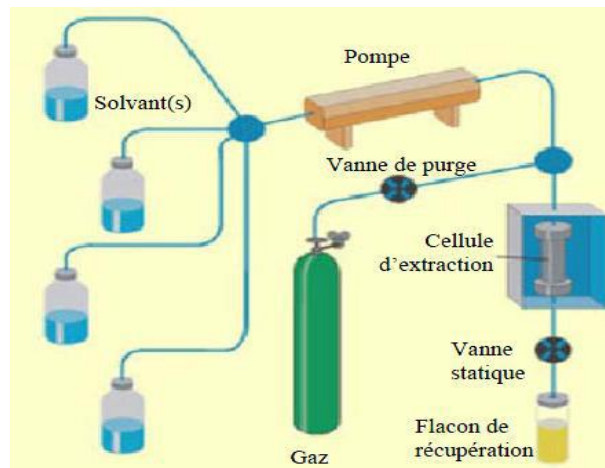


Figure II-4.Photo et schéma du dispositif d'extraction par l'eau sub-critique.

II.2.5 Extraction par l'éthanol sub-critique : SBETOH

Le même appareillage montré sur la figure II-5 a été utilisé pour l'extraction de 2g de feuilles de l'inule visqueuse par l'éthanol sous critique. Cette fois-ci la cellule est traversée avec de l'éthanol traité préalablement aux ultrasons puis pompée à une pression de 80 bar et préchauffé à une température de 125⁰C. Le débit de l'éthanol sous critique était de 2 ml/mn.

II.2.6 Extraction par le CO₂ supercritique : SCCO₂

Pendant une durée de 30 mn une quantité de CO₂ à l'état supercritique traverse une cellule d'extraction de volume de 10ml remplie des feuilles de l'inule visqueuse. A la sortie le

solvant chargé de substances extraites subit une détente pour séparer le solvant gazeux et récupérer l'extrait. Les extractions ont été réalisées à une pression de 400bar, une température de 40°C et un débit de 2 ml/mn.

Le rendement en extrait a été déterminé après chaque extraction à l'aide de l'expression suivante :

$$Rendement = \frac{M_{ext}(t)}{M_{sèche\ de\ la\ charge}} 100 \quad (II-3)$$

Nous présentons dans le tableau II.1 les rendements des méthodes d'extraction conventionnelles et récentes utilisées :

Tableau II.1 : Rendements des méthodes d'extraction utilisées.

Procédés d'extraction	Lieu de récolte de la plante	Période de récolte de la plante	Taux d'humidité	Durée d'extraction	rendement	
Hydrodistillation	Alger (Sidi-Rzine) Médéa	Septembre	13%	4h	0,16%	
		Mars	21%	4h	0,45%	
		Décembre	13%	4h	0,83%	
Entrainement à la vapeur d'eau	Alger	Septembre	13%	4h	0,34%	
		Mars	21%	4h	0,45%	
		Juin	13.5%	4h	6,69%	
	Médéa	Décembre	29%	3h	0,88%	
		Février	13%	3h	1,15%	
		Mars	29%	3h	1,17%	
		Avril	13%	3h	1,84%	
Extraction par :	Médéa	Mars	Hexane	29%	6h	17,83%
			Pentane	29%	6h	16,06%
			Acétone	29%	6h	15,26%
			Ethanol	29%	6h	14,43%
	Alger	Mars	Hexane	24%	8h	10,23%
			Pentane	22%	8h	7,40%
			Acétate d'éthyle	19%	8h	13,86%
	Eau sous-critique	Alger	Septembre	13%	30mn	2,15%
Ethanol sous-critique	Alger	Septembre	13%	30mn	10,53%	
CO ₂ supercritique	Alger	Septembre	13%	30mn	5,58%	

II.3 Aspect quantitatif de l'huile essentielle de l'inule visqueuse :

II.3-1 Influence de la méthode d'extraction :

L'examen des résultats expérimentaux de l'extraction des feuilles de l'inule visqueuse algérienne par les différentes méthodes montre des écarts dans les rendements obtenus. La reproductibilité des résultats obtenus sur le rendement est de 5 à 7%. L'importance de la méthode d'extraction choisie sur la quantité d'extrait peut être nettement objectivée à travers les histogrammes de la figure II-5 qui présente le suivi du rendement de l'extraction de l'inule visqueuse par les modes utilisés conventionnels et innovants.

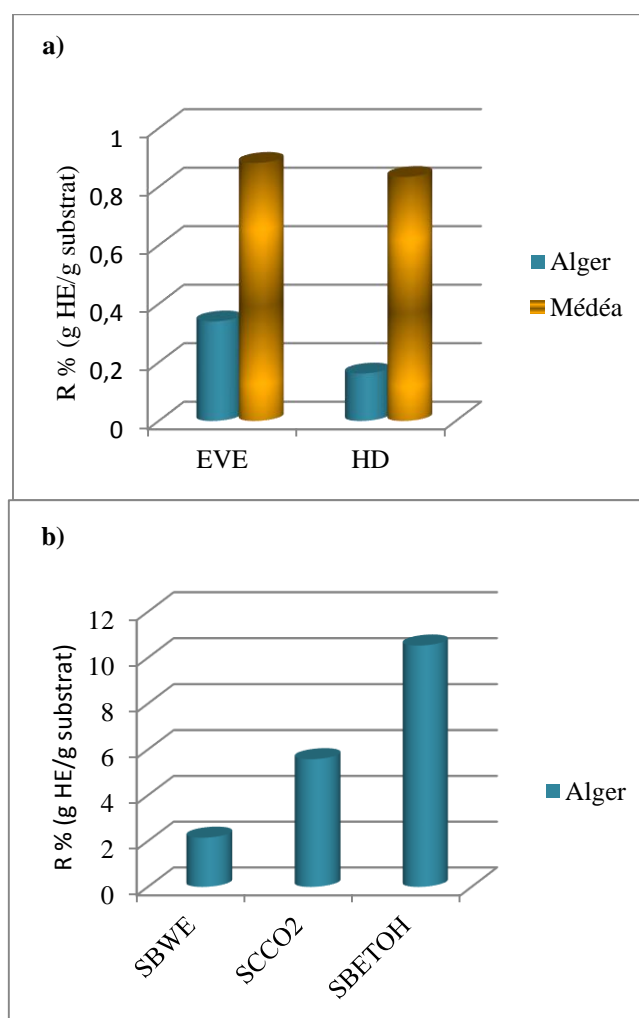


Figure II-5 : variation du rendement de l'HE de l'inule visqueuse en fonction de la méthode d'extraction et du lieu. **a)** (Alger, Médéa : méthodes conventionnelles) **b)** (Alger : méthodes innovantes).

L'extraction de l'inule visqueuse par le CO₂ supercritique donne un meilleur rendement comparé à celui obtenu par l'HD, EVE, SBWE. Il faut noter que l'extrait récupéré par ces quatre méthodes est exempt de solvant et reproduit clairement l'arôme naturel de l'inule visqueuse.

Pour l'extraction par les solvants volatils et l'éthanol sub-critique, les rendements sont beaucoup plus importants car la masse extraite par ce genre de méthode peut en outre contenir des résidus de solvants ainsi que des pigments et des matières cireuses.

Néanmoins les polarités opposées des solvants utilisés ont permis d'extraire des quantités différentes du soluté. Les rendements sont plus élevés en utilisant les solvants non polaires (hexane, Pentane) par rapport aux solvants polaires (éthanol). Les extraits sont bien distincts en termes de la nature de leurs constituants car les composés apolaires sont plus solubles dans les solvants apolaires. L'éthanol est peu sélectif que les autres solvants, mais vue leurs faibles précisions, les valeurs des rendements obtenus par ce type d'extraction ne sont données qu'à titre inductif. L'acétone est d'une polarité intermédiaire peut favoriser l'extraction des antioxydants [17].

La quantité de la concrète obtenue après 30 mn seulement d'extraction par l'éthanol sub-critique peut avoisiner les quantités obtenues par les autres solvants après 6h d'extraction. Ceci peut avoir pour cause l'augmentation du pouvoir solvant à l'état sous critique.

Les résultats expérimentaux des cinétiques d'extraction de l'huile essentielle des feuilles de l'inule visqueuse par EVE, SC-CO₂ sont rapportés sur la figure II-6. Il apparaît que la vitesse d'extraction par le SC-CO₂ est nettement plus élevée que celle de l'extraction par EVE. Cependant le SC-CO₂ peut extraire dans un temps plus court une masse importante de la substance huileuse par rapport à celle issue de l'EVE. A titre comparatif après 10mn d'extraction par le SC-CO₂ le rendement est de 48 fois plus supérieur que celui obtenu par EVE, et à 70 mn le rendement est 22 fois plus élevé. Même après épuisement totale de la

matière végétale par l'entraînement à la vapeur la masse d'huile récupérée reste énormément plus inférieure que celle extraite par le SC-CO₂. La masse totale d'HE issue après 240 min de l'EVE est 13 fois plus inférieure que la quantité d'extrait obtenue après 10 min seulement d'extraction par le SC-CO₂. Ces résultats sont d'autant plus intéressants que l'on gagne du temps, pour obtenir des produits naturels.

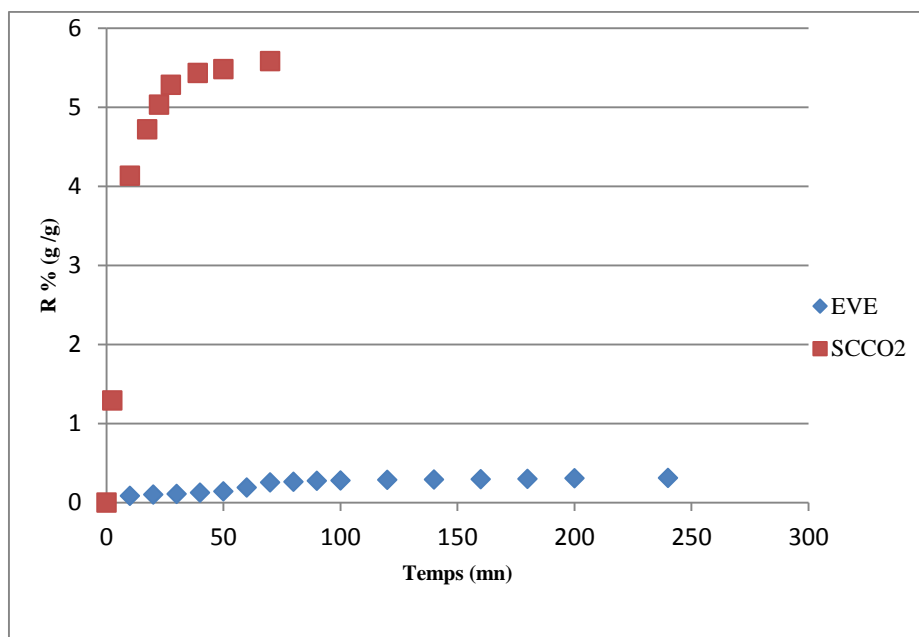


Figure II-6 : cinétiques d'extraction par entraînement à la vapeur et par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse d'Alger. (Période de récolte : Septembre, feuilles sèches complètes).

Le suivi de l'évolution des cinétiques d'extraction par HD et par EVE est rapporté sur la figure II-7. Par rapport à l'EVE, l'HD extrait beaucoup plus lentement la substance huileuse de l'inule visqueuse, ce déphasage est plus prononcé surtout durant la période d'extraction à partir des sites exogènes. L'accroissement au cours du temps des rendements obtenus par entraînement à la vapeur par rapport aux rendements issus de l'hydrodistillation qui sont supposés comme la base 100 est présenté sur le tableau II-2. Après 60 mn d'extraction l'accroissement atteint son seuil (57%), cette supériorité se réduit de plus en plus à 140 mn pour atteindre (9,6%). A 180mn l'accroissement décroît à 6%. Il faut noter qu'il faut dépasser

180 mn pour arriver à l'épuisement de la matière végétale par les deux méthodes d'extraction EVE, HD.

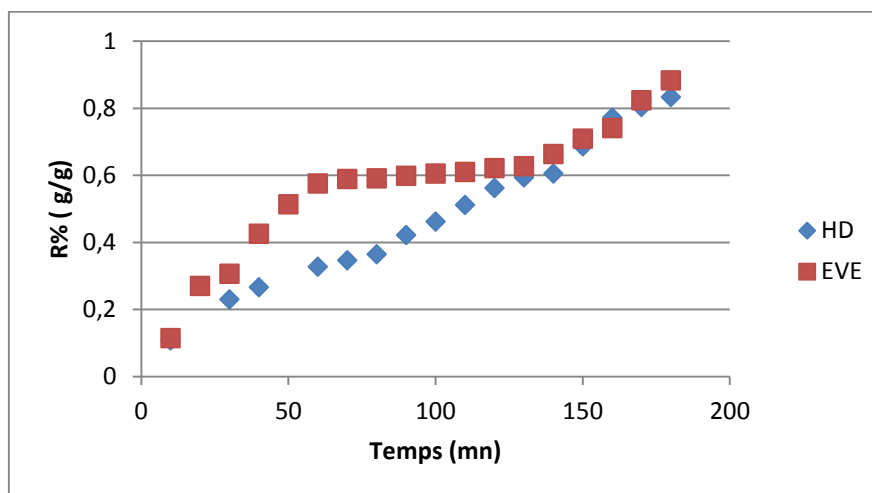


Figure II-7 : Cinétiques d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation de l'inule visqueuse de Médéa (période de récolte : Décembre, feuilles sèches complètes).

La cinétique d'extraction par l'HD et l'EVE peut dépendre de la nature du substrat végétal traité, de la localisation et de la nature des sites producteurs des HEs qui influent sur le phénomène de transfert. Toutefois, il est à noter que l'extraction à partir des sites exogènes qui se fait dans la première période est sensiblement affectée par le mode d'extraction suivi. Tandis que quand l'extraction concernerait le contenu des sites endogènes dans la deuxième période, l'opération est lente quelque soit le moyen d'isolation suivi, elle est peu affecté par le mode d'extraction. En effet cette étape est dominée par la diffusion interne, ce qui suggère qu'un suivi de la composition des fractions obtenues en fonction du temps semble utile pour cerner la source de déphasage existant entre les cinétiques d'extraction par HD et EVE. La différence de ces comportements cinétiques peut être aussi attribuée à la différence du contact eau en ébullition et le soluté entre l'HD et l'EVE.

Tableau II-2 : Comparaison des cinétiques d'extraction HD, EVE.

Temps (mn)	Accroissement du rendement par EVE par rapport HD
60	57%
90	41,83%
140	9,59%
180	5,99%

Les rendements trouvés par l'HD et par EVE dans cette étude [78,79] sont comparables avec ceux rapportés dans la littérature (0,33%) [15], (0,04%) [60], (0,20%) [11]. Le rendement de l'extrait par le SC-CO₂ était élevé par rapport à celui cité dans la littérature (0,65%) [42], ceci peut être dû, en plus du facteur de la différence du site géographique de la plante, au facteur de l'utilisation d'une forte pression d'extraction qui peut solubiliser plus de cires. Dans ce genre d'extraction la distinction de la sélectivité avec la pression est couramment rapportée [80,81].

II.3.2 Influence de la provenance de la plante :

Dans un deuxième volet, la lecture de l'histogramme de la figure II-5 montre l'influence de la provenance de la plante sur le rendement. L'extraction par HD entreprise avec l'inule visqueuse de la région de Médéa (région montagneuse) a donné un rendement de 0,834%, tandis que la même plante provenant d'Alger (région à côté de la mer) peut fournir seulement 0,16%-0,44%. Toutefois, en utilisant l'EVE on peut extraire 0,45% de l'huile essentielle à partir de l'inule visqueuse récoltée d'Alger en mois de Mars. On a pu extraire plus d'huile essentielle 1,17% à partir de la plante provenant de Médéa avec ce même procédé d'extraction.

Ces résultats décrivent que la région de Médéa qui est bien différente de la région d'Alger en termes de la nature du climat et d'altitude engendre dans les feuilles de l'inule visqueuse une richesse en huiles essentielles probablement dû à un apport supplémentaire de constituants. La différence en huiles essentielles de l'inule visqueuse issues de différents sites géographiques a été démontrée précédemment dans la littérature. De Laurentis et al. en 2002 [69] ont comparé les HEs de l'inule visqueuse d'Italie de deux provenances différentes. L'HE de la plante des régions montagneuses se caractérise par une forte proportion de monoterpènes ainsi qu'en sesquiterpènes oxygénés. Par contre celle récoltée dans des régions proche de la mer, elles sont plus riche en sesquiterpènes oxygénés et esters d'acides gras.

II.3-3 Influence de la période de récolte :

Il apparaît également que la période de récolte de l'inule visqueuse a manifesté son effet sur le rendement en huile essentielle comme rapporté sur les figures II-8 et II-9. Il est à noter que le rendement en huiles essentielles de l'inule visqueuse au mois de septembre est plus faible que celui du mois de Mars et Juin. Selon Parolin [48] pendant la période de croissance principale (Mars – Juin), il y a accumulation dans toutes les parties de la plante des métabolites secondaires où le maximum est atteint au mois de Juin et puis ça diminue de plus en plus à la sénescence des feuilles.

Le contenu en huile essentielle au mois de décembre ; qui présente dans notre étude la fin du cycle végétatif antécédent ; est le plus faible par rapport aux autres périodes. Meletiouchou et al. en 1998 [82] ont décrit dans leur étude que le potentiel du contenu en substance stockée dans les feuilles matures de l'inule visqueuse décroît continuellement après la floraison jusqu'à la vieillesse et la défoliation des feuilles.

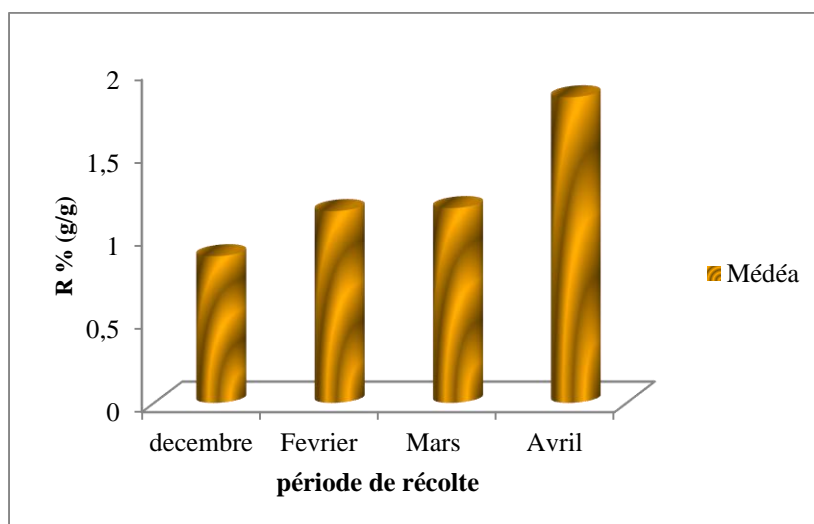
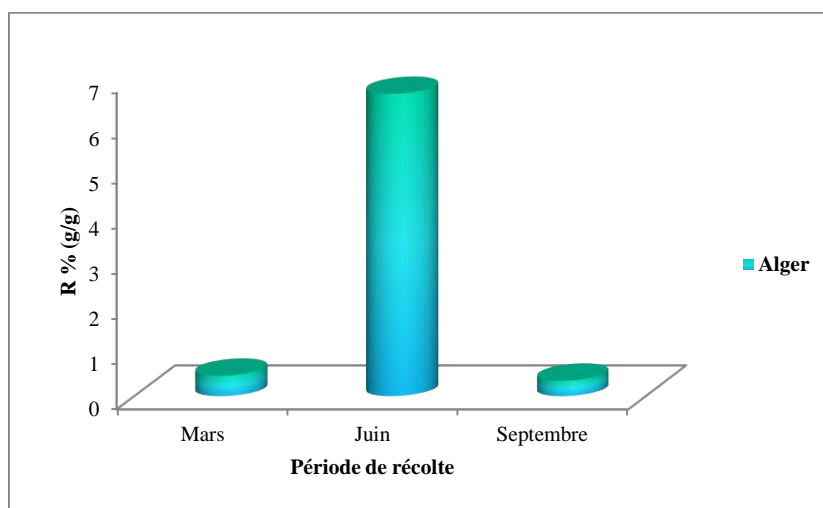


Figure II-8: Rendement en HE de l'inule visqueuse de Médéa pendant son cycle végétatif



FigureII-9:histogramme des rendements en HE de l'inule visqueuse d'Alger pendant le cycle végétatif.

II.4 Aspect qualitatif de l'huile essentielle de l'inule visqueuse :

Les plantes secrètent des substances de compositions très complexes qui dépendent d'un grand nombre de paramètres entre autre le cycle végétatif, espèce génétique, le mode d'extraction Par ailleurs ces facteurs jouent un rôle non négligeable à la fois sur les aspects quantitatifs et qualitatifs des extraits.

Parallèlement aux écarts des rendements observés entre les différentes techniques extractives, la comparaison de l'aspect qualitatif s'avère utile. Pour cela, notre intérêt s'est porté sur

l'analyse qualitative des substances huileuses issues par CG et CG-MS. Nous tenterons d'objectiver l'influence du cycle végétatif de la plante sur la qualité d'huile essentielle de l'inule visqueuse et le balayage de la variabilité chimique à travers l'utilisation des différents modes d'extraction de cette matière végétale.

Pour le premier paramètre on a évalué la qualité des extraits de l'inule visqueuse récoltée en période de floraison (Septembre); en essayant de déterminer la composition chimique. Ces extraits sont issus des méthodes d'extraction différentes : entraînement à la vapeur, extraction par le CO₂ supercritique, extraction par l'eau sous critique, et par l'éthanol sous critique.

Pour le deuxième paramètre, les extraits des feuilles en début de croissance (en mois de Mars) obtenus par l'EVE ainsi que par l'HD ont été qualitativement analysés.

La technique d'analyse utilisée est la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. Les conditions opératoires de toutes les analyses effectuées sont récapitulées dans le tableau II-3. Par cette technique d'analyse la comparaison de l'aspect qualitatif pourra concerner principalement les fractions volatiles des extraits obtenus.

Tableau II-3 : Conditions d'analyses chromatographiques

Mode d'extraction	Période de récolte	appareil	Colonne	Température	Gaz vecteur	SM	Volume injecté
EVE	Mars (2010)	HP6890G C/HP597 3 MS	HP5	Colonne :35°C(5min) à250°C(6 °C/min). Injecteur :250 °C Détecteur :250 °C	Hélium débit 1ml/min	Température interface :280 °C Source :250 °C Energie :70 eV.	1 µl
	Sept (2009)	HP6890G C/HP597 3MS	DB1	Colonne : 80 °C(5min) à 280 °C(30min)(2 °C/min) Injecteur :250 °C Détecteur :250 °C.	Hélium 0.5ml/min	Températures interface :280 °C Source :230 °C Energie : 70eV.	1 µl
	Juin (2010) Déc (2009)	HP 6890GC/ HP5973M S	HP5	Colonne :60à250 °C(3°C/min) palier de 15min Injecteur :250 °C Détecteur :250 °C	Hélium 1ml/min	Températures interface : 280 °C Source :230 °C Energie : 70eV	1 µl
HD	Mars (2010)	HP6890G C/HP597 3 MS	HP5	Colonne :35°C(5min) à250°C(6 °C/min). Injecteur :250 °C Détecteur :250 °C	Hélium débit 1ml/min	Température interface :280 °C Source :250 °C Energie :70 eV	1 µl
SCCO ₂ SBETOH	Sept (2009)	HP6800 GC HP5973 MS	HP-5 MS	Colonne :70°C (5min)) à 220°C(10 °C /min) à 280 °C (5 °C/min). Injecteur : 250 °C Détecteur :250 °C	Hélium débit : 0.5ml/min	Température interface :300 °C Source :230 °C Energie :70eV	1 µl
SBWE	Sept (2009)	HP6890G C/HP597 3 MS	HP5	Colonne :60°C(5min) à250°C(6 °C/min). Injecteur :280 °C Détecteur :250 °C	Hélium débit 1ml/min	Température interface :280 °C Source :250 °C Energie :70 eV.	1 µl

II-4.1 Identification :

Les identifications ont été réalisées sur la base de la comparaison de nos spectres de masse avec ceux des banques de données de NIST et WILEY7 et des indices de rétention quand cela est possible.

II.4.2 Aspect qualitatif d'huile essentielle en fonction du mode d'extraction :

Le tableau II-4 rassemble les composés identifiés dans les huiles essentielles des feuilles de l'inule visqueuse récoltée en mois de Mars du lot d'Alger, ces huiles sont obtenues par deux modes d'extractions l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau.

Les compositions chimiques varient sensiblement d'un échantillon à l'autre. 33 constituants de l'huile totale ont été identifiés représentant 86,57% pour l'HD et 83,66% pour l'EVE. Ces deux procédés conventionnels EVE et HD peuvent extraire une huile essentielle majoritairement constituée du composé 12-carboxyudesma-3,11(13)diene (acide isocostique) à 28,88% et 56,81% respectivement [78].

L'acide isocostique a été rapporté comme étant le composé majoritaire d'un échantillon d'huile essentielle provenant de l'Italie [69]. Il semble que l'inule visqueuse de l'Algérie est du même chimiotype que celle de sud d'Italie.

La fraction des sesquiterpènes oxygénés marque une présence prédominante dans les deux huiles. Toutefois, L'huile obtenue par EVE est plus riche en sesquiterpènes oxygénés présentant 73% de l'huile, tandis que la moitié de cette quantité 47,72% est contenue dans l'huile essentielle obtenue par HD ou la présence de l'acide isocostique qui représente la majorité de cette fraction est de 6% moins importante que sa présence dans la fraction obtenue par l'EVE.

Une forte teneur d'acides gras, d'alcanes et d'alcools est extraite par l'HD.

Tableau II-4 : composés identifiés dans les huiles des feuilles de l'inule visqueuse récoltée en mois de Mars (Région : Alger).

N°	IR	Constituant	Teneur (%)	
			HD	EVE
1	1161	Menthol	0,22	-
2	1510	Butyl hydroxy toluéne	4,11	2,63
3	1544	1,6,10- dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl	0,63	-
4	1574	Oxide de caryophylléne	0,17	-
5	1594	Fokiénoïl	3,37	1,89
6	1607	C15H22O	1,79	-
7	1615	C15H24	0,14	-
8	1618	C15H22O	1,14	-
9	1624	Cubenol	-	0,29
10	1642	C15H24	0,77	-
11	1656	C15H22	0,32	-
12	1667	C15H24O	0,52	-
13	1678	C15H22O	0,89	-
14	1690	isobutyrate de 3-méthoxycuminyll	0,71	-
15	1694	C15H24O	0,33	-
16	1708	3,7,11-trimethyldodeca-1,6,10triéne,3,9-diol	0,85	-
17	1759	C15H22O	0,85	-
18	1840	Phytone	0,31	-
19	1855	C15H22O2	4,65	8,11
20	1861	Pentadecanoïc	1,85	-
22	1922	12-carboxyeudesma-3,11(13)diéne	28,88	56,81
23	1930	Acide 2,3- didehydrocostique	-	3,25
24	1998	Acide palmitique	5,38	1,91
25	2126	Phytol	2,96	0,28
26	2145	Acide 9,12-octadecadienoïc	2,03	-
27	2154	Acide linoléique	7,80	0,74
28	2174	Acide stéarique	-	0,75
29	2296	Tricosane	1,50	0,80
30	2395	Tetracosane	0,80	0,78
31	2482	Eicosanol	2,46	-
32	2497	Pentacosane	5,43	2,31
34	2601	Hexacosane	0,89	1,02
35	2705	Heptacosane	4,82	2,09
		Sesquiterpéne hydrocarbonés	1,22	-
		Sesquiterpénes oxygénés	46,72	72,98
		Acide gras	17,06	3,4
		Alcanes	13,44	7
		Alcools	6,9	0,28
		Autres	1,24	-
		Total	86,57%	83,66%

L'examen de la figure II-10 qui représente les rendements des composés majoritaires de l'HE issues de ces deux modes d'extractions indique que par rapport à l'HD, l'EVE peut extraire des teneurs plus élevées de fokienol, de l'heptacosane et du butyl-hydroxytoluène, tandis que le contraire peut être noté pour les deux composés l'acide linoléique et le phytol.

Il est à noter aussi que l'acide 2,3-didehydrocostique, est extrait avec l'entraînement à la vapeur à une teneur non négligeable 3,25%. Il ne figure pas dans l'HE obtenue par HD, faute de différence entre les conditions analytiques ou bien son existence sous forme de trace est probable.

La fraction des alcools n'excèdent pas 6,9% dans l'HE extrait par l'HD, et elle est minoritaire (0,2%) dans l'HE obtenue par l'EVE.

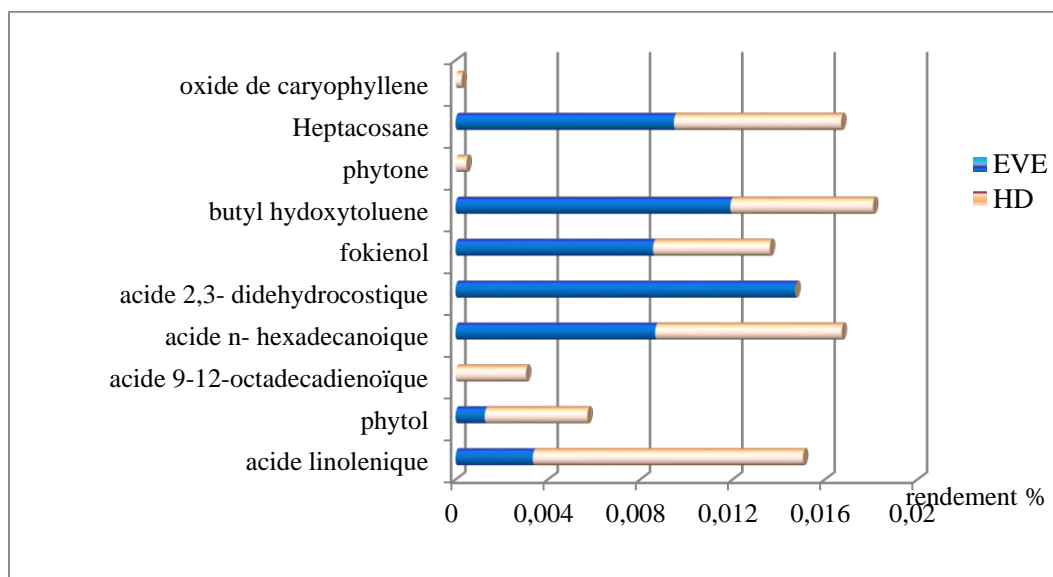


Figure II-10: Rendement des composés majoritaires des HE des feuilles de l'inule visqueuse obtenues par HD et EVE (période de récolte: Mars, Région : Alger).

Le balayage des méthodes d'extraction suivantes EVE, SC-CO₂, SBWE et SBETOH montre une fluctuation de la composition. Les nouvelles techniques utilisant les hautes pressions peuvent entraîner des constituants non accessibles par EVE et HD.

Sur les tableaux II-5, II-6, II-7 sont rassemblés tous les constituants identifiés dans les extraits obtenus par SC-CO₂, SBWE et SBETOH.

Tableau II-5 : Composition chimique des extraits de l'inule visqueuse obtenus par SC-CO₂ (Période de récolte : sept, Région : Alger)

N°	RI	constituant	teneur %
1	948	alpha pinene	0,20
2	1025	limonène	0,35
3	1107	cis-sabinène hydrate	0,87
4	1162	camphor	1,02
5	1373	farnesol	0,15
6	1430	alpha cubenene	0,24
7	1564	trans-nerolidol	0,28
8	1574	oxyde de caryophyllene	0,26
9	1582	fokienol	0,35
10	1640	t-cadinol	0,40
11	1657	alloramadenderene	0,92
12	1869	Pentadecanone 6,10,14 trimethyl-	1,12
13	1943	12-carboxyeudesma-3,11(13)diène	1,03
14	1986	Acide palmitique	7,07
15	2130	Acide linoléique,ethyl ester	5,65
16	2159	Acide oleïque	16,17
17	2665	Tomentosin	22,76
18	2702	Heptacosane	6,80
19	2833	Squalene	4,23
20	3403	Tetratriacontane	0,36
		Total:	70,23%

Tableau II-6 : Composition chimique de l'extrait de l'inule visqueuse obtenu par SBWE (Période de récolte : sept, Région : Alger)

N°	IR	constituant	Teneur %
1	1345	hydroxy citronellol	8,37
2	1397	α -copaene	0,62
3	1410	γ -caryophyllène	0,56
4	1540	Methyl-eugénol	0,37
5	1570	Trans-Nérolidol	0,65
6	1581	fokienol	0,29
7	1652	t-cadinol	1,77
8	1681	γ -Hydroxyisoeugenol	1,71
9	1848	phytone	1,17
10	1897	E-11-hexadecenyl acetate	0,23
11	1927	12-carboxyeudesma- 3,11(13)diène	0,31
12	1961	néocembreneA	0,57
13	1965	3-methylnonadecane	0,71
14	1976	Ethyl(E)-11-hexadecanoate	0,46
15	1992	Ethylpalmitate	3,66
16	2640	Tomentosin	39,53
17	2702	Heptacosane	0,26
18	2833	Squalene	0,65
19	3400	Tetratriacontane	0,53
20	3605	Hexatriacontane	1,53
		Total:	63,93%

Tableau II-7 : Composition chimique des extraits de l'inule visqueuse obtenus par SBETOH (Période de récolte : sept, Région : Alger)

N°	IR	constituant	Teneur %
1	962	alpha-pinène	18,25
2	981	Sabinène	2,75
3	1008	Alpha phellandrene	3,28
4	1017	Limonène	4,38
5	1030	2,3 dihydro-1,8 cinéole	1,25
6	1100	cis-sabinène hydrate	1,88
7	1107	Linalool	1,02
8	1160	Camphor	1,08
9	1165	R-Citronellal	1,37
10	1370	Alpha-copaene	0,87
11	1420	Trans-Caryophyllene	0,92
12	1510	Epsilon-Cadinène	0,97
13	1595	Fokienol	0,12
14	1850	Phytone	3,20
15	1932	12-carboxyeudesma-3,11(13)diène	2,88
16	1989	Acide palmitique	2,84
17	2549	tomentosin	3,56
18	2603	hexacosane	1,80
19	2780	heptacosane	3,93
20	2845	squalene	0,46
		total:	54,81%

Les résultats montrent que les compositions chimiques des extraits obtenus par les SC-CO₂ et par l'eau sub-critique sont dominées par le tomentosin, ce dernier n'est plus rencontré dans les extraits d'EVE et HD. Cela peut trouver sa cause au fort pouvoir solvant attribué d'une part aux conditions supercritique (haute pression, diffusivité), et d'autre part à la diminution de la constante diélectrique sous l'état sub-critique qui engendre une diminution de l'association des molécules de solvant et par la suite une solubilisation extrême des composés lipophiles.

Nous pouvons noter à travers la littérature que le tomentosin est un important agent bioactif qui n'est rencontré que dans les oléorésines et les concrètes, il a été décrit comme composé majeur des extraits isolés par le mélange de solvants (acétone+hexane) à partir des fleurs et de feuilles de l'inule visqueuse d'Italie [16,19]. Ce même composé apparaît à des teneurs

appréciables dans la fraction huileuse extraite des feuilles de l'inule visqueuse en utilisant l'acétone comme solvant [21,59].

La qualité des extraits de l'inule visqueuse obtenus par les trois modes d'extraction SCCO₂, SBWE, SBETOH se distingue clairement par l'écart en teneur du tomentosin 22,76%, 39,53%, 3,56% respectivement. Le fokienol est rencontré dans tous les extraits de l'inule visqueuse quelque soit la technique d'extraction utilisée. Pour sa part, la fraction des monoterpènes est présente en très faibles teneurs dans tous ces extraits, et elle est en forte teneur dans l'extrait du SBETOH. L'extrait par le SC-CO₂ est caractérisé par rapport aux autres extraits par une large fraction des acides gras et des alcanes, cela est du à l'utilisation de pression élevée.

La méthode d'obtention des huiles essentielles et des extraits aromatiques intervient de façon déterminante dans le rendement en huile et dans la composition de cette dernière.

Toute cette diversité en constituants dans les extraits obtenus par les différents modes extractifs peut favoriser largement la sélectivité, en permettant de cibler facilement les composés intéressants par un simple balayage entre ces modes.

II.4.2 Aspect qualitatif au cours du cycle végétatif de l'inule visqueuse :

En examinant les compositions chimiques des extraits des feuilles de l'inule visqueuse algérienne durant les différentes étapes de son cycle de vie tableau II-8, nous remarquons une variabilité de composés identifiés.

La plante en début de croissance (feuilles jeunes) secrète une huile riche en sesquiterpènes oxygénés 73% [78] et plus de 74% en phase de floraison [79]. Cette fraction est moins importante dans les HEs de la plante avant la floraison (en mois de juin) et Décembre.

Toutefois il existe un écart de la teneur de l'acide isocostique, malgré que sa présence est marquée dans l'HE de l'inule visqueuse quelque soit l'âge de la plante. Il peut se trouver à des concentrations élevées pendant la période des feuilles jeunes (Mars) ainsi que pendant la période de la fin de floraison (Septembre).

En revanche, il apparaît dès que l'inule visqueuse débute la phase de débourrement de fleur (Juin), la production de l'acide isocostique s'accompagne parallèlement avec la production de l'ester diisocetylque de l'acide 1,2-benzène dicarboxylique. Comme on peut noter que l'huile essentielle en mois de Juin et de décembre est dominée par une forte présence d'ester diisocetylque de l'acide 1,2-benzène dicarboxylique de 82,56% et 88,58% respectivement.

On suppose qu'un examen de la qualité des huiles essentielles contenues dans les bourgeons de fleurs (en juin) semble utile pour voir si la production de l'acide isocostique diminue dans toutes les parties aériennes de l'inule visqueuse pendant cette étape de croissance.

En période de floraison et le début d'apparition de fruits (Septembre), le fokienol se classe comme étant le deuxième composé majoritaire à côté de l'acide isocostique avec une teneur de 14,6% de l'huile tableau II-8. Tandis qu'il se positionne comme le septième et le troisième composé majoritaire avec une présence de 1,89% et 0,1% dans l'huile essentielle de l'inule visqueuse pendant les périodes de débourrement des feuilles (Mars) et le débourrement des fleurs respectivement (juin).

Le fokienol se manifeste comme un composé dominant dans les huiles essentielles de la même plante récoltée en période de floraison provenant de la Jordanie [60] ainsi que de l'Espagne [15, 12].

Tableau II-8: composition chimique des HE de l'inule visqueuse pendant son cycle végétatif

N°	RI	Constituant	teneur %		
			sept	Juin	Déc
1	1022	1,8 Cineole	tr	-	-
2	1149	p-Mentha-1,5-dien-8-ol	tr	-	-
3	1328	Eugenol	0,14	-	-
4	1360	β -Damascenone	tr	-	-
5	1373	α -Copaene	tr	-	-
6	1415	trans-caryophyllène	tr	-	-
7	1481	β -Patchoulene	tr	-	-
8	1495	Butyl Hydroxy-Toluene	2,26	tr	-
9	1549	Nerolidol	0,56	-	-
10	1595	Fokienol	14,6	0,1	-
11	1659	Trans-nerolidyl acetate	0,43	-	-
12	1961	12-carboxyeudesma-3,11 (13) diene	56,83	11,43	1,82
13	2025	Acide palmitique	1,9	-	-
14	2318	C ₂₃ H ₄₈ ramifié	0,17	-	-
15	2424	C ₂₄ H ₅₀ ramifié	0,1	-	-
16	2515	diisooctylphtalate	tr	-	-
17	2535	C ₂₅ H ₅₂ ramifié	1,17	-	-
18	2600	Hexacosane	tr	-	-
19	2630	C ₂₆ H ₅₄ ramifié	0,16	-	-
20	2667	3-éthyl tetracosane	tr	-	-
21	2698	Heptacosane	0,17	-	-
22	2741	C ₂₇ H ₅₆ ramifié	1,7	-	-
23	2956	C ₂₉ H ₆₀ ramifié	0,26	-	-
24		Ester diisooctylique de l'acide 1,2-benzène dicarboxylique	-	82,56	88,58
		monoterpènes oxygénés	0,14%	11,53%	-
		Hydroxy-acides	1,9%	-	-
		Sesquiterpenes oxygénés	74,68%	11,53%	1,82%
		n- alcanes et ramifiés	3,73%	-	-
		Ester	-	82,56%	88,58%
		Total	84,18%	94,09%	90,4%

II-5 Extraction par le CO₂ supercritique :

Les objectifs de la nouvelle technologie verte avec l'extraction par le CO₂ supercritique sont l'élimination de l'utilisation de solvant organique pour obtenir un produit pur et propre tout en minimisant la durée d'extraction et la consommation d'énergie.

Cette partie sera consacrée à une approche de la mise en œuvre de l'extraction par le CO₂ supercritique. Les paramètres opératoires d'extraction seront alors variés en vue de dévoiler

l'effet de chaque paramètre et d'aboutir à une analyse des mécanismes limitant les transferts de matière. Nous donnerons les résultats obtenus concernant l'évolution des rendements globaux et les cinétiques d'extraction.

II-5.1 Dispositif d'extraction par le CO₂ supercritique :

Les expériences ont été menées dans une installation d'extraction par le CO₂ supercritique (SFX200, ISCO).figure II-11.



Figure II-11 : Photo du dispositif d'extraction par le SC-CO₂.

Le dispositif est schématisé sur la figure (II-12).

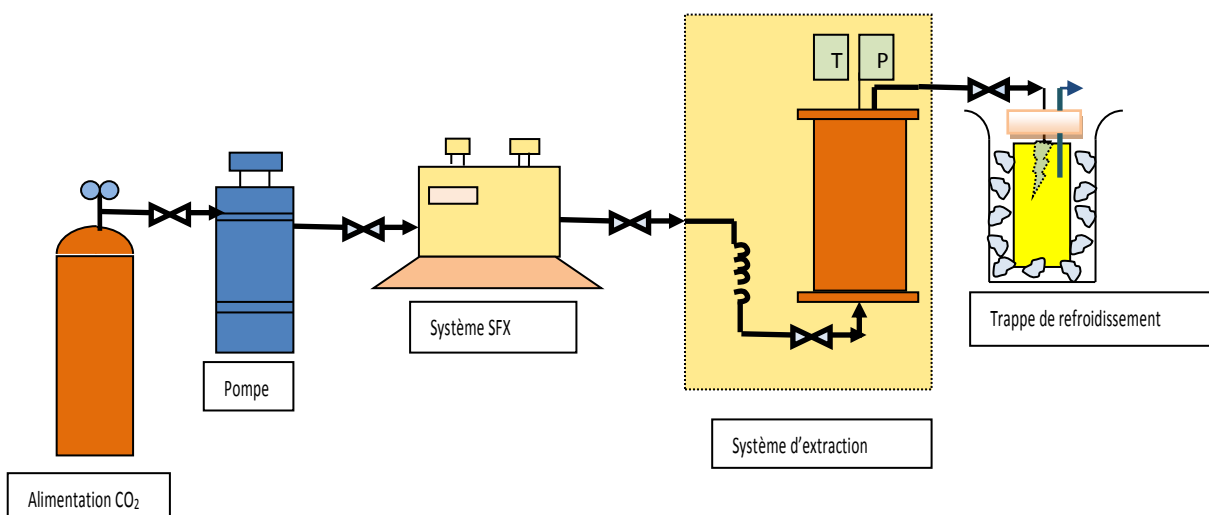


Figure (II-12) : Diagramme schématisé de l'installation expérimental de l'extraction par le CO₂ supercritique.

Le dispositif comprend deux parties distinctes, une partie pour la préparation du dioxyde de carbone supercritique et une autre partie l'extraction. Le système est alimenté par le CO₂ liquide contenu dans une bouteille sous pression égale à la tension de vapeur et une température ambiante. Le CO₂ liquide est pompé puis porté à la température critique avant d'être introduit dans l'extracteur en passant par un débitmètre. Le débit du CO₂ supercritique traversant la colonne d'extraction est contrôlé manuellement par un système de vannes. La partie extraction comprend un extracteur type (SFX220) à deux chambres d'extraction de volume 10 ml et de diamètre de 1,5cm. La température et la pression à l'intérieur de la chambre d'extraction peuvent être indépendamment mesurées et contrôlées.

II-5.2 Procédure d'extraction :

La cellule d'extraction remplie d'une masse de la matrice solide est maintenue à la température et pression opératoires pendant 15 minutes pour atteindre l'équilibre avant de faire traverser un volume de CO₂ supercritique à débit désiré. A la sortie de l'extracteur le flux extrait+ CO₂ supercritique est dirigé vers un séparateur où le solvant est amené vers son état gazeux par une détente à l'aide d'une vanne se trouvant en aval du séparateur. Pour établir la cinétique d'extraction, on récupère périodiquement l'extrait dans des récipients refroidis par un courant d'eau froide (-20°C) qui est pesé pour estimer le rendement de l'extraction au cours du temps.

L'influence des variables opératoires suivantes : température, pression, débit du CO₂ supercritique, granulométrie de la matrice végétale, organe de la plante, le rapport solvant/matière végétale et le taux d'humidité sur la cinétique d'extraction ainsi que sur le rendement de l'extraction de l'inule visqueuse par le CO₂ supercritique est réalisée dans les conditions opératoires mentionnées sur le tableau II-2.

Quelques extractions ont été réalisées par des feuilles et des feuilles séchées à froid (-80°C) à l'aide d'un lyophilisateur type Christ Alpha 1-2 LD figure II-13. Cet appareil est composé d'une enceinte frigorifique sous vide et d'une surface plus froide faisant office de piège frigorifique.



Figure II-13 : lyophilisateur type Christ Alpha 1-2 LD.

Tableau II-9 : conditions opératoires et rendements des extractions par le CO₂ supercritique de l'inule visqueuse.

Essai n°	Température (C°)	Pression (Bar)	débit (ml/min)	Volume de CO ₂ (ml)	taille (µm)	Masse de M.V (g)	H %	rendement (%)
1	40	400	2	140	feuilles complètes	2	12,73	5,58
2	40	400	2	140	feuilles< 425	2	13	7,32
3	40	400	4	120	feuilles< 425	2	13	7,06
4	40	400	6	100	feuilles< 425	2	13	6,13
5	40	300	2	140	feuilles< 425	2	13	7,16
6	40	200	2	140	feuilles< 425	2	13	6,17
7	50	400	2	60	feuilles< 425	2	13	8,04
9	50	120	2	300	feuilles< 425	3	13	2,62
8	35	400	2	60	feuilles< 425	2	13	6,35
9	40	400	2	60	feuilles< 425	1	13	6,65
10	40	400	2	60	feuilles< 425	3	13	6,63
11	40	400	2	140	Fleurs lyophilisées	2	12,09	5,70
12	40	400	2	140	Feuilles lyophilisées	2	12,09	4,23
13	40	400	2	140	Feuilles fraîches	2	64,52	2,68
14	50	120	2	220	Fleurs sèches<425	1,50	12,73	2,09
15	30	400	2	140	Feuilles sèches<425	2	13	7,03

Remarque : L'essai 15 a été fait dans les conditions proches du point critique.

II-6 Influence des variables opératoires sur le rendement et la cinétique d'extraction par le CO₂ supercritique :

Dans cette partie, nous avons évalué les rendements totaux et les cinétiques d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse sous différentes conditions opératoires afin de décrire l'influence de ces paramètres sur le rendement ainsi que sur la vitesse d'extraction et par la suite pouvoir sélectionner les conditions favorables à l'extraction.

II-6.1 Influence de la taille des particules :

La dimension des particules ne peut être négligeable dans un procédé d'extraction car elle influe d'une manière considérable sur la quantité d'extrait obtenu et la cinétique d'extraction. En effet dans le cas de particules de petites tailles le rendement de l'extraction est de 31,18% plus important que celui obtenu par les feuilles complètes figure II-14 (a). Ceci est dû à une

augmentation de la surface spécifique. Ce phénomène a été observé dans de nombreux travaux [83-84].

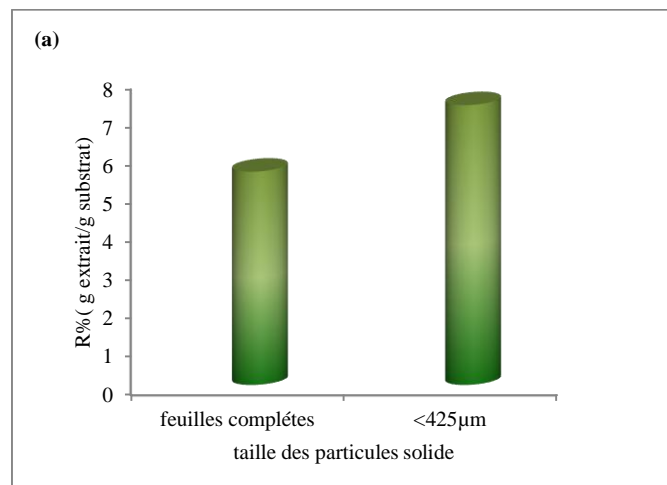


Figure II-14 (a) : effet de la taille des particules solides sur le rendement global d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (P=400bar, T=40°C, débit 2ml/mn).

La courbe de la cinétique II-14 (b) montre que l'extraction d'une fraction facilement accessible se trouvant à la surface des particules se fait avec une vitesse constante, elle est suivie d'une période au cours de laquelle la vitesse diminue causé par un appauvrissement de la couche d'huile superficielle. Ce ralentissement dépend alors entièrement de la vitesse de diffusion de l'huile de l'intérieur des tissus cellulaires vers la surface, une similarité de comportement a été reportée dans d'autres études pour l'extraction au SC-CO₂ [85,86].

Les cinétiques d'extraction sur la figure II-14 (b) des deux tailles testées présentent la même pente dans la première période d'extraction indiquant que dans les deux cas le SC-CO₂ est saturée en soluté.

Les divergences de comportements apparaissent nettement dans la phase transitoire et finale de l'extraction, le broyage du substrat réduit les chemins de la diffusion du soluté dans la matrice solide rendant la pénétration du solvant plus rapide et l'extraction du soluté présent à l'intérieur des particules plus accessible [87].

Ce comportement conduit à suggérer que les deux limitations d'équilibre et de transfert de matière interne sont suspectées de contrôler la première partie et la deuxième partie de la cinétique d'extraction respectivement. Nous adopterons pour les autres expérimentations le broyage des feuilles.

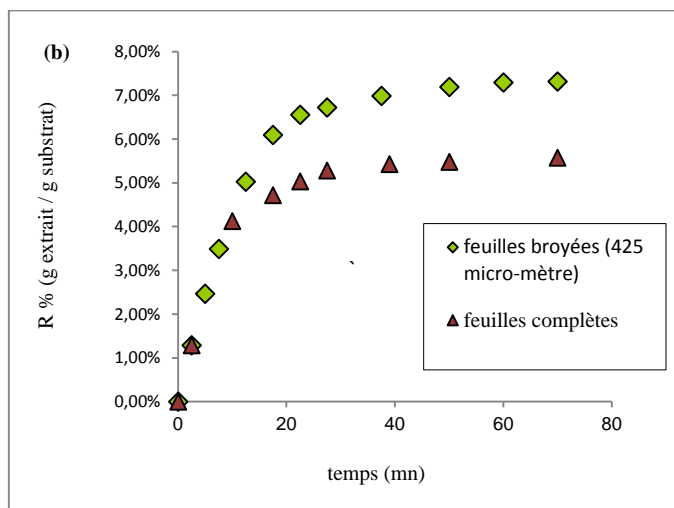


Figure II-14 (b) : effet de la taille des particules solides sur la cinétique d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (P=400bar, T=40°C, débit 2ml/mn).

II-6.2 Influence de la masse végétale utilisée :

La plage de variation de la masse à extraire des feuilles broyées de l'inule visqueuse varie de 1 à 3g. Les extraits obtenus ont des masses voisines. Il apparaît que le rapport pondéral entre la quantité du solvant et la charge du substrat n'a pas d'influence visible sur la quantité totale extraite figure II-15 (a).

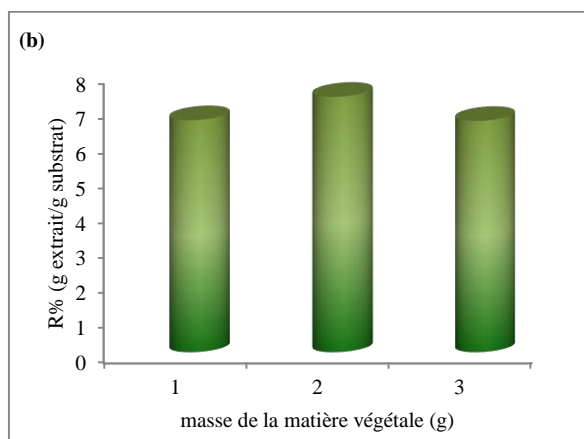


Figure II-15 (a) : effet de la masse végétale utilisée sur le rendement global d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (P=400bar, T=40°C, débit 2ml/mn, $d_p < 425 \mu\text{m}$).

L'examen de la quantité d'extrait au cours du temps d'extraction montre que les trois courbes cumulatives obtenues comprennent les mêmes étapes d'extraction type figure II-15 (b) avec une superposition pour les masses de substrat testées. Toutefois le suivi de l'évolution des quantités extraites en fonction du rapport solvant/charge révèle l'existence des comportements non identiques pour toutes les phases d'extraction figure II-15 (c). La déviation est d'autant plus claire pour une faible masse.

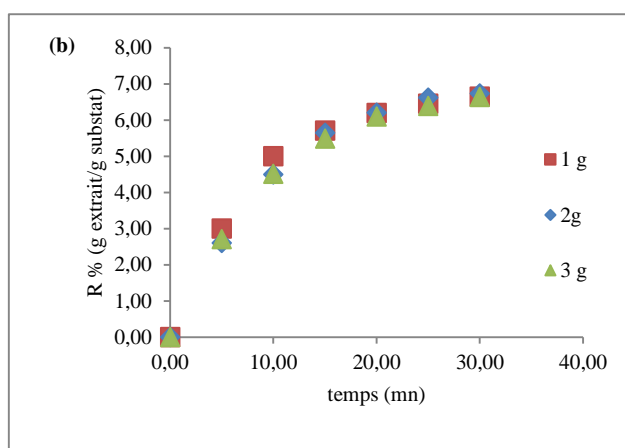


Figure II-15 (b) : effet de la masse végétale utilisée sur la cinétique d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (P=400bar, T=40°C, débit 2ml/mn, $d_p < 425\mu\text{m}$).

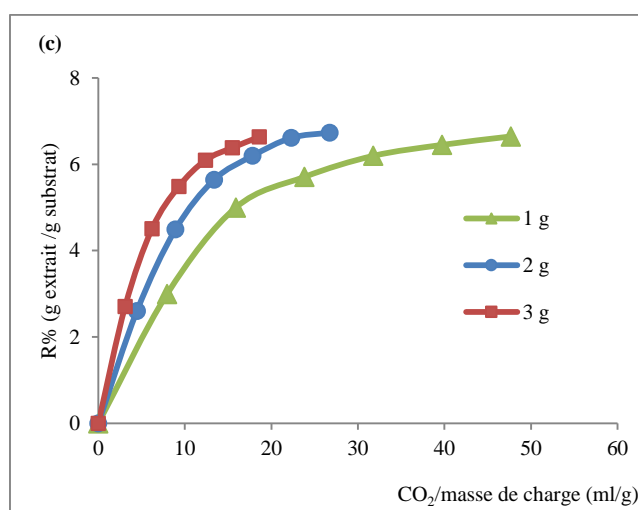


Figure II-15 (c) : évolution de la masse végétale utilisée en fonction du rapport quantité CO₂/charge pour une extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (P=400bar, T=40°C, débit 2ml/mn, $d_p < 425\mu\text{m}$).

II-6.3 Influence du débit du CO₂ supercritique :

Il a été observé qu'en diminuant le débit du solvant, le rendement de l'extraction s'améliore figure II-16 (a). Le meilleur rendement est obtenu par le plus faible débit 2ml/min, à faible débit le solvant résidera plus longtemps en contact de la matière végétale ce qui lui permet d'entraîner avec lui une plus grande quantité d'huile essentielle.

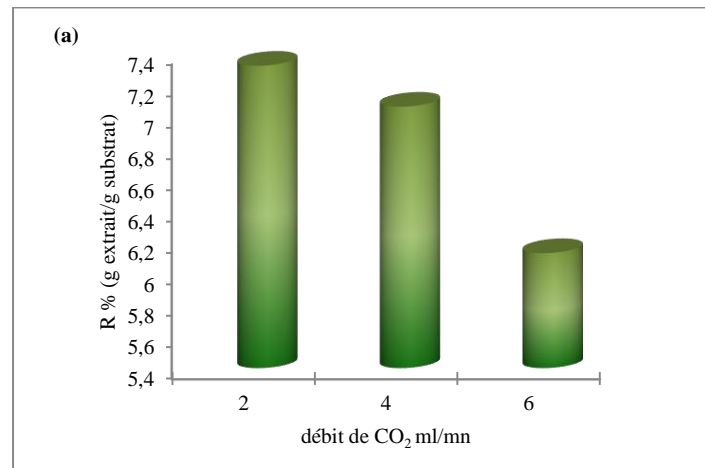


Figure II-16 (a) : effet du débit sur le rendement global d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (P=400bar, T=40°C, débit 2ml/mn, $d_p < 425 \mu\text{m}$).

Sur la figure II-16 (b), on peut distinguer sur chaque courbe représentant la cinétique d'extraction à différents débits les trois périodes standards d'extraction. Pour un plus grand débit de CO₂, la durée de la partie linéaire est plus courte et sa pente devient plus grande car la convection est favorisée et l'épaisseur du film autour de la particule solide est diminuée. Un comportement pareil a été observé pour l'huile du jaune d'œuf [88].

Par contre l'augmentation du débit avait un effet négatif sur le rendement global de l'huile de graines de céleri étudié par Papamichail et al. [89].

La figure II-16 (c) montre les mêmes résultats que la figure II-15 (c) à savoir que pour un même rapport m_{CO_2}/m_{charge} le rendement augmente avec l'augmentation de la charge ou avec une diminution du débit.

Pour un débit de 2ml/min la solubilité apparente est de $4,71 \cdot 10^{-3}$ g/g par contre elle est de $3,074 \cdot 10^{-3}$ g/g pour un débit de 4ml/min et de $3,020 \cdot 10^{-3}$ g/g pour 6ml/min. En revanche, pour un débit fort la durée d'extraction est plus courte mais la quantité du solvant utilisée sera plus importante.

Les courbes se rapprochent de plus en plus en allant vers la phase lente de l'extraction ou disparaît la limitation de transfert de matière externe tandis que la gouvernance de la résistance de transfert de matière interne devient plus intense. Le débit du solvant peut contrôler le procédé d'extraction si les conditions d'équilibre sont atteintes ou si le mécanisme du transfert externe est dominant [90,91].

L'extraction dans notre étude a été procédée à des pressions élevées favorisant l'atteinte des conditions d'équilibre rapidement, par conséquent la variation du débit du solvant n'intervient que sur la première étape du procédé.

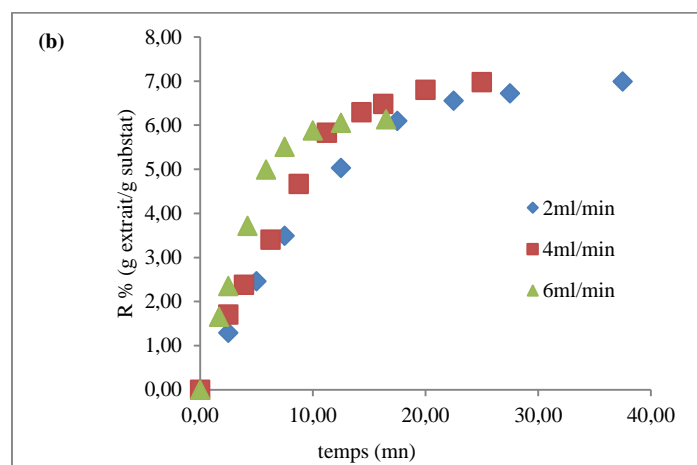


Figure II-16 (b) : évolution du rapport $m_{\text{ext}}/m_{\text{charge}}$ en fonction du rapport $m_{\text{CO}_2}/m_{\text{charge}}$ à différents débits obtenus par extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse ($P=400\text{bar}$, $T=40^\circ\text{C}$, $d_p < 425\mu\text{m}$).

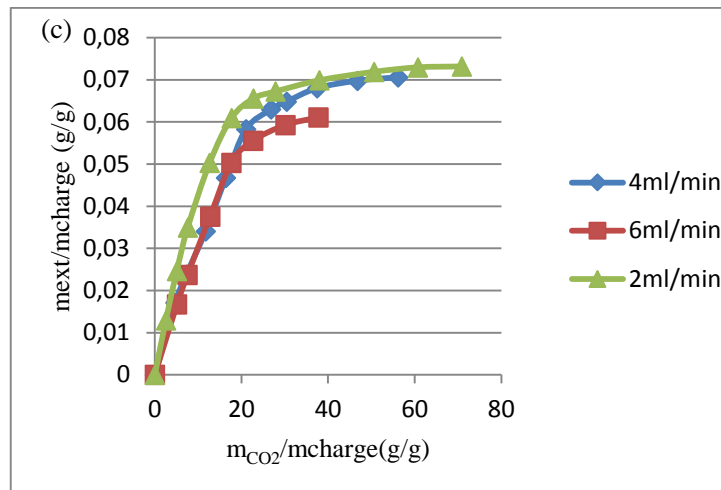


Figure II-16 (c) : évolution du rapport m_{ext}/m_{charge} en fonction du rapport m_{CO_2}/m_{charge} à différents débits obtenus par extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (P=400bar, T=40°C, $d_p < 425\mu m$).

II-6.4 Influence de l'organe de la plante :

Pour les conditions de pression P=120 bar, T=50°C et un débit de 2ml/mn, l'extraction par le CO₂ supercritique des feuilles de l'inule visqueuse fournit un rendement en extrait supérieure à celui issu de l'extraction des fleurs figure II-17 (a). La composition et la quantité d'huile essentielle varie suivant les organes de la plante concernés. Les biosynthèses y sont différentes ainsi que la différence de l'intensité des sites sécréteurs.

Par contre, à pression plus élevée P=400 bar et T=40°C la comparaison entre les rendements en extraits obtenus à partir des feuilles et des fleurs lyophilisées de l'inule visqueuse, montre une supériorité en rendement pour les fleurs lyophilisées figure II-17 (b). A cette pression le SC-CO₂ a pu solubiliser une fraction supplémentaire, qui est plus importante dans les fleurs.

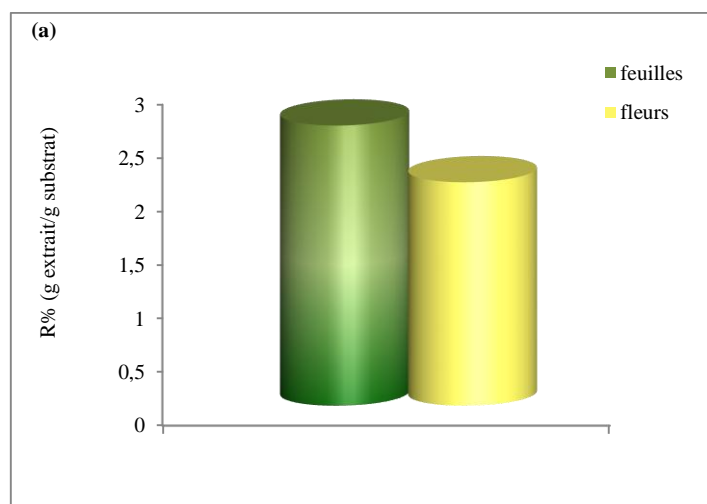


Figure II-17 (a) : effet de l'organe de la plante sur le rendement global d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (feuilles et fleurs séchées H= 12,73%, P=120bar, T=50°C,débit 2ml/mn).

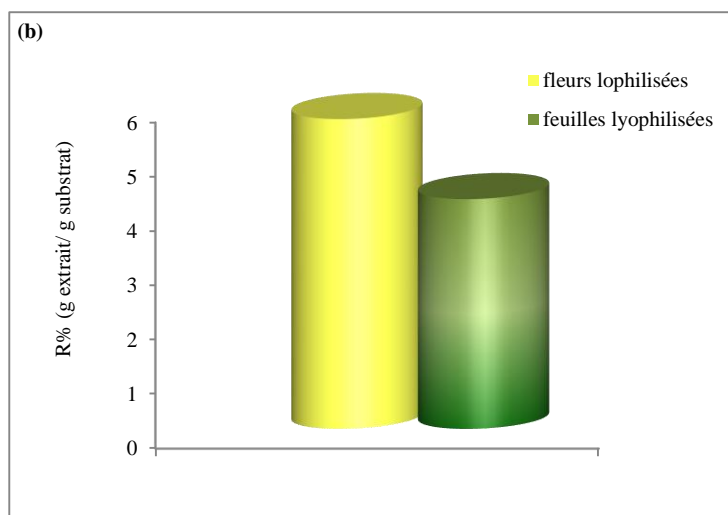


Figure II-17 (b) : effet de l'organe de la plante sur le rendement global d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (H= 12,09%, P=400bar, T=40°C,débit 2ml/mn).

Les cinétiques d'extraction des fleurs sèches de l'inule visqueuse et celle de ses feuilles sèches à P=120 bar et T=50°C se superposent dans la première période indiquant que le soluté extrait des feuilles pendant cette phase a la même solubilité apparente que celui extrait des fleurs figure II-17 (c).

La divergence qui apparaît dans les deux dernières phases d'extraction est causée probablement d'une part par le taux de contenu initial en huile essentielle. D'autre part la

probabilité des résistances internes distinctes dues aux structures physiques différentes des cellules sécrétrices des feuilles par rapport aux fleurs, la nature des substances huileuse peut intervenir aussi. Il ressort des cinétiques d'extraction des feuilles lyophilisées de l'inule visqueuse et celles de ses fleurs lyophilisées figure II-17 (d) que par rapport aux feuilles le contenu des sites exogènes des fleurs est plus important et plus riche en composés qui peuvent être perdus par le séchage à l'ombre.

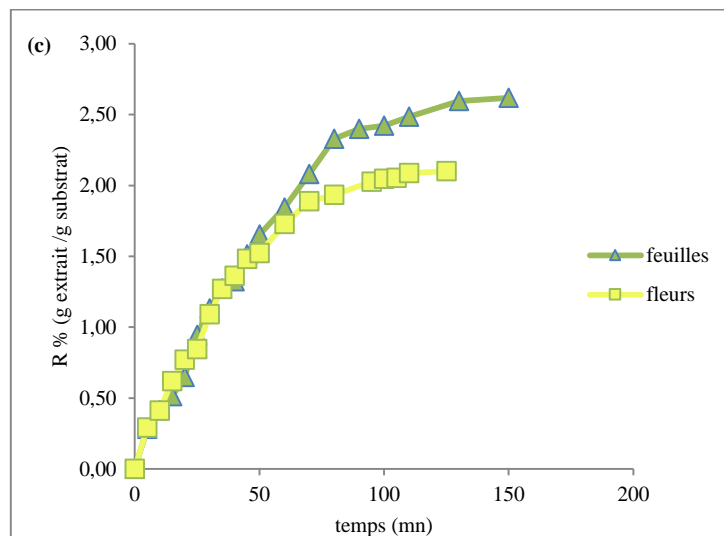


Figure II-17 (c) : effet de l'organe de la plante sur la cinétique d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (feuilles et fleurs séchées H= 12,73%, P=120bar, T=50°C,débit 2ml/mn).

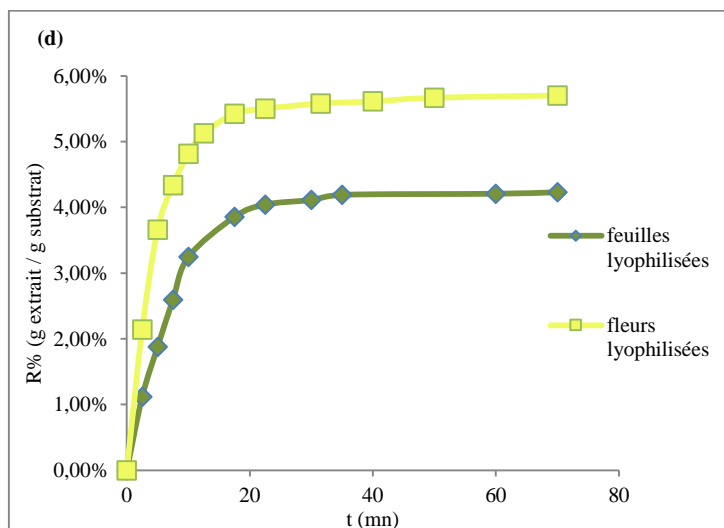


Figure II-17 (d) : effet de l'organe de la plante sur la cinétique d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (feuilles et fleurs lyophilisées H= 12,09%, P=400bar, T=50°C,débit 2ml/mn).

De Laurentis et al. [69] ont utilisé l'extraction par le SC-CO₂ à P= 90 bar et T=50°C ils ont pu extraire 0,35% d'huile essentielle à partir des feuilles de l'inule visqueuse majoritairement constituée de sesquiterpènes oxygénés, et 0,37% d'huile ; riche en monoterpènes, sesquiterpènes hydrocarbonés, composés aromatiques oxygénés ; en utilisant les fleurs.

II-6.5 Influence du taux d'humidité :

Les feuilles fraîches de l'inule visqueuse fournissent le plus faible rendement en extrait par le CO₂ supercritique par rapport aux feuilles séchées à l'ombre et celle lyophilisées figure II-18 (a).

Visuellement comparés, les extraits obtenus à différents taux d'humidité présentent des qualités distinctes. Les feuilles fraîches et lyophilisée fournissent des substances huileuses de couleur jaune plus clair et visqueuse comparativement aux feuilles séchées à l'ombre qui donnent des substances jaune verdâtre plus pâteuse. Il est à noter que le taux d'humidité ainsi que le mode de séchage peuvent affecter simultanément le rendement et la qualité des huiles.

Bien que l'eau soit seulement environ 0,3% soluble dans le SC-CO₂ supercritique, les composés de l'extrait fortement hydrosolubles se retrouveraient préférentiellement dans la phase aqueuse, diminuant ainsi l'efficacité de l'extraction par le fluide supercritique. D'autre part un contenu élevé d'humidité dans la matière végétale peut créer des volumes morts où le fluide ne peut pas contacter le solide ce qui fait réduire le rendement [91,92,93].

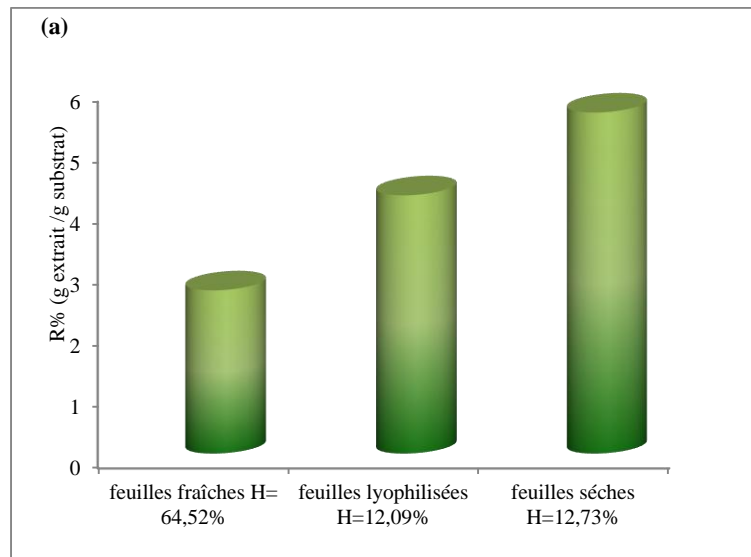


Figure II-18 (a) : effet du taux d'humidité de la plante sur le rendement global d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (P=400 bar, T=50°C, débit 2ml/mn, feuilles complètes).

II-6.6 Influence de la température :

L'examen de l'histogramme de la figure II-19 (a) montre que le rendement en huile essentielle atteint son maximum aux températures plus élevée. Néanmoins le rendement obtenu à la température 30°C est plus supérieur que celui obtenu à 35°C. Cela peut être probablement du à l'état thermodynamique du CO₂, à 30°C le CO₂ est à l'état proche du supercritique et au-delà de 31,2°C il entre dans la zone supercritique. L'augmentation de la température provoque une diminution de densité du SC-CO₂, ceci diminue la solubilité et donc le rendement. Cependant, l'effet de l'augmentation de la volatilité n'a pas pu compenser l'effet de la diminution de la densité.

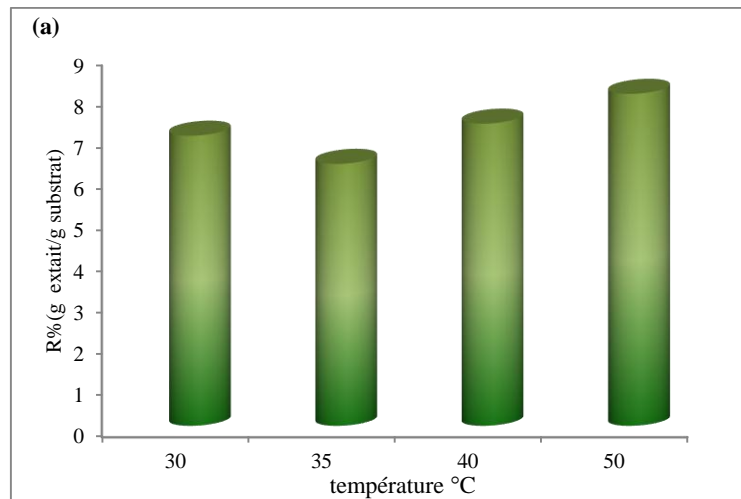


Figure II-19 (a) : effet de la température de la plante sur le rendement global d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (P=400bar, débit= 2ml/mn, $d_p < 425\mu\text{m}$).

Sur les cinétiques d'extraction on peut distinguer deux zones de températures figure II-19 (b). La première zone de 30°C à 40°C, les pentes de la partie linéaire des courbes cumulatives d'extraction varient dans un ordre décroissant tableau II-10, l'augmentation de la température induit une diminution de la masse volumique du SC-CO₂ et donc ce dernier perd son pouvoir solvant.

Dans la deuxième zone, en augmentant la température de 40°C à 50°C la pente de la partie linéaire plus importante à 50°C tableau II-10. Le rendement global d'extraction augmente de 10%. Cet effet peut s'expliquer par le fait que la solubilité des solutés dans le SC-CO₂ est affectée par deux facteurs compétitifs : la densité du SC-CO₂ et la volatilité du soluté qui dépendent de la température de deux façons opposées.

Aux températures faibles, l'effet de la densité du CO₂ est plus dominant que l'effet de la tension de vapeur du soluté sur la solubilité c'est l'effet rétrograde de la solubilité [41]. A hautes températures l'accroissement de la tension de vapeur compense la faiblesse du pouvoir solvant en raison de la diminution de la densité.

L'effet de la température sur la viscosité du SC-CO₂ et par conséquent sur le transfert de matière interne peut intervenir aussi, une élévation de température conduit à une diminution

de la viscosité et ainsi la pénétration du SC-CO₂ est favorisée. Cet effet est plus dominant quand la température augmente de 35°C à 40°C, car les plus importantes déviations sur les courbes cinétiques sont focalisées surtout dans les périodes transitoires et lentes figure II-19 (b).

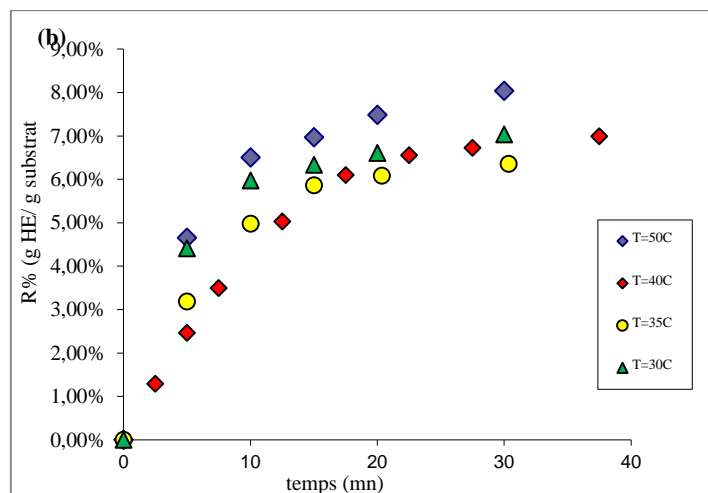


Figure II-19 (b) : effet de la température de la plante sur la cinétique d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (P=400bar, débit= 2ml/mn, d_p<425µm).

Tableau II-10 : Evolution en fonction de la température de la solubilité apparente de l'extrait de l'inule visqueuse obtenu par le SC- CO₂

Température (°C)	Solubilité apparente (g ext /g CO ₂) x 10 ⁺³
30	8,432
35	6,351
40	4,714
50	9,848

II-7.2 Influence de la pression :

La pression a un effet positif sur le rendement d'extrait de l'inule visqueuse par le SC-CO₂, il atteint son maximum à hautes pressions figure II-20 (a). La pression a un effet direct sur la masse volumique du CO₂, ce qui augmente son pouvoir solvant. L'essai 9 sous la pression P=120 bar confirme ce résultat même s'il a été réalisé à 50°C où l'effet de la température est favorable à une meilleure extraction. Cependant, une pression d'extraction élevée favorise

l'extraction des composés lourds ayant des grandes masses moléculaires telles que les lipides ou les cires [80,81].

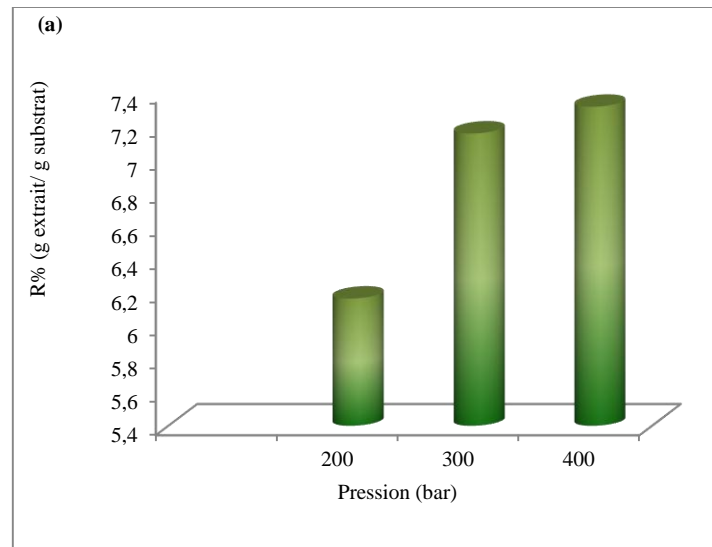


Figure II-20 (a) : effet de la pression sur le rendement global d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (T=40°C, débit= 2ml/mn, d_p <425µm).

Sur les cinétiques d'extraction figure II-20 (b), On observe une augmentation de la pente des parties initiales des courbes d'extraction avec l'augmentation de la pression. Ceci manifeste une augmentation linéaire de la solubilité apparente du soluté dans le SC-CO₂ avec la pression figure II-20 (c).

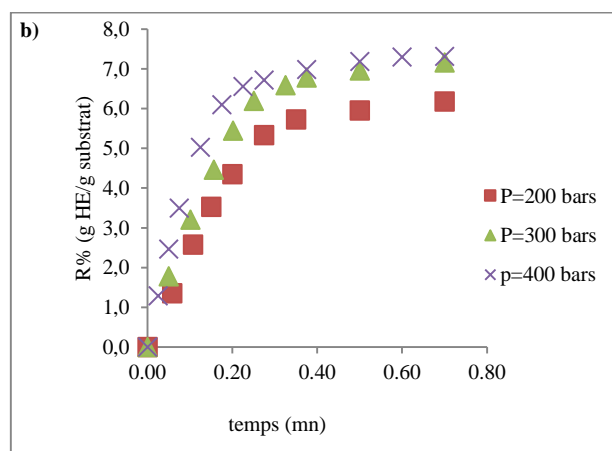


Figure II-20 (b) : effet de la la pression sur les cinétiques d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (T=40°C, débit= 2ml/mn, d_p <425µm).

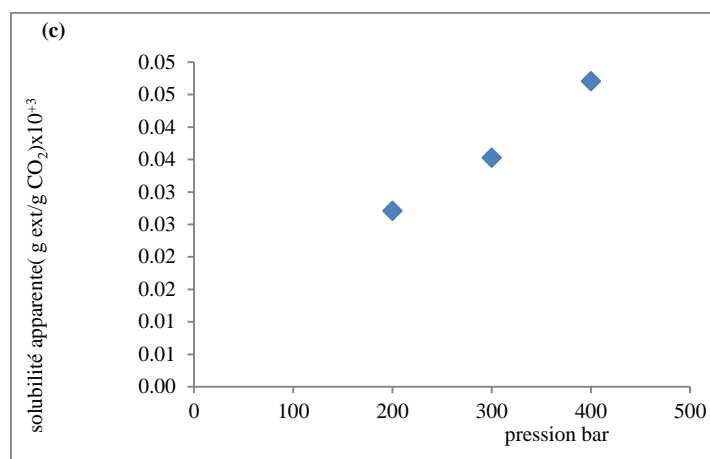


Figure II-20 (c) : effet de la pression sur le rendement global d'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse (T=40°C, débit= 2ml/mn, d_p<425µm).

La littérature montre qu'à pression élevée le solvant peut avoir une fluidité qui se rapproche des liquides ce qui réduit la diffusivité, par conséquent une réduction des interactions entre le fluide supercritique et le soluté contenu dans la matrice solide [95]. Ceci a été observé dans notre étude, le taux de l'accroissement en rendement est moins marqué pour les hautes pressions. Plusieurs études portant sur l'extraction par le SC-CO₂ montrent que les fractions volatiles des substrats végétaux sont solubles dans le SC-CO₂ à une pression de 90 bars [94,95]. La sélectivité de l'extraction de ce genre de composés est favorisée par des pressions faibles. Ce qui a été aussi reporté pour l'inule visqueuse provenant de Sardaigne sud d'Italie par Marongiu et al [42]. Ils ont pu extraire à basse pression (90 bar) une fraction volatile importante, tandis qu'une forte pression (200 bar) ne peut extraire que des traces de ces composés mais plus de composés lourds. Cette fraction est même plus riche en monoterpènes (10,8%) par rapport à la fraction obtenue par hydrodistillation. Plus la pression est forte, moins elle est sélective.

Conclusion : Une variabilité chimique des extraits de l'IV a été observée à travers le balayage des différents modes extractifs et pendant ses différentes phases végétatives, ce qui favorise la sélectivité. Le SC-CO₂ permet une rapide extraction des solutés contenus dans l'IV favorisée par la diminution du débit et par le broyage ainsi que par une augmentation de pression.

Chapitre III

Modélisation

mathématique

Chapitre III

Introduction :

En général, le profil d'une extraction par un fluide supercritique est un processus dynamique qui se divise en trois phases. Une phase initiale limitée par la solubilité du composé dans le fluide supercritique ou le transfert de matière externe, une phase intermédiaire contrôlée simultanément par la solubilité et la diffusion du composé au sein de la matrice solide et une phase finale liée au transfert de la matière interne.

En outre les cinétiques d'extraction peuvent être affectées par la nature de l'écoulement dans l'extracteur et aussi par l'effet de la dispersion axiale, celle-ci peut être négligeable au large nombre de Peclet (petit extracteur, faible débit) [95].

Les modèles mathématiques sont considérés comme des moyens puissants et utiles dans la conception des processus d'extractions par les fluides supercritiques. Au cours de ces dernières années plusieurs tentatives ont été menées pour modéliser mathématiquement l'extraction par les fluides supercritiques. Trois types différents d'approches sont appliqués, la première approche est basée sur l'utilisation des équations cinétiques empiriques.

Pour une deuxième approche, d'autres auteurs ont proposé des modèles basés sur l'analogie transfert de chaleur-transfert de matière [96-99]. Ces modèles supposent que l'extraction SFE comme un phénomène de transfert de chaleur, chaque particule unique est considérée comme une sphère chaude qui subit un refroidissement dans un milieu uniforme. Pour cela on appelle souvent ce modèle "sphère chaude" ou "sphère unique". Le soluté à extraire est supposé uniformément distribué dans la particule et toutes les particules constituent un lit fixe ayant

les mêmes conditions d'extraction. Ce type de modèles surestime le rendement d'extraction car il considère un comportement d'extraction idéal pour chaque particule [98].

La troisième approche est basée sur les équations du bilan de matière différentielles, les divergences entre les modèles appliquant cette troisième approche apparaissent d'une part au sujet de la considération des résistances au transfert de matière dans les deux phases solide et liquide ou dans l'une d'elles ainsi que la prise en compte des équilibres des phases [100-102], et d'une autre part au sujet de la prise en compte des caractéristiques de la particule ainsi que du lit (porosité, tortuosité, diamètre).[103-107].

Les modèles mathématiques doivent tenir en compte les différents paramètres affectant la vitesse d'un processus SFE (localisation de la substance à extraire, prétraitement mécanique et chimique, géométrie de l'extracteur, conditions opératoires : pression, température, fractionnement, débit) pour garantir la fiabilité de la description des données expérimentales [108]. Néanmoins la connaissance de la microstructure de la matière végétale a fait un progrès significatif dans le classement des différents comportements cinétiques à travers la différence de la localisation des HEs dans les particules solides des plantes. Ce qui a fait une poussée majeure dans la facilité du choix des modèles décrivant le processus d'extraction et permettre par la suite la simplification ou la négligence de quelques effets cités ci-dessous. Dans ce sens, un examen détaillé des SFE des HEs à partir des différents types de sites sécréteurs des plantes a été entrepris par Stamenić et al. Zizovic et al. [109,110].

Dans ce chapitre, les résultats expérimentaux de l'extraction de l'inule visqueuse par le SC-CO₂ ont été utilisés pour la modélisation mathématique dans l'objectif d'obtenir une bonne approximation du phénomène.

Dans ce contexte, on a envisagé l'application de trois approches différentes de modèles mathématiques :

- 1- une approche empirique qui a concerné l'application de deux équations cinétiques empiriques t^n où on suppose que l'isotherme de l'extraction a une forme sigmoïdale [111], tandis que la deuxième équation suppose que l'isotherme d'extraction est une isotherme de Langmuir [112]. Une troisième équation semi-empirique proposée par Sovova [96].
- 2- une approche basée sur l'analogie transfert de matière-transfert de chaleur exprimée par l'application du modèle de Crank [113]. Pour ce modèle deux cas ont été pris en considération, dans le premier cas la diffusion interne ou le transfert de la matière dans le solide est l'étape qui limite le processus de l'extraction. Dans le deuxième cas on considère que le transfert de matière se fait simultanément dans la phase solide et autour de la phase solide sans la considération de la nature de la phase solide.
- 3- finalement une approche basée sur l'intégration du bilan différentiel de transfert de matière dans un lit fixe où le modèle appliqué est le modèle proposé par Sovovà en 1994 [100] qui introduit le concept des cellules intactes et cassées. Ce modèle qui a été largement utilisé par de nombreux auteurs a l'avantage d'utiliser des hypothèses simplificatrices tout en restant réalistes.

Dans toutes les applications le soluté est considéré comme un pseudo-composant unique ayant des propriétés physiques (densité, viscosité, diffusivité) constantes.

La régression nécessaire dans tous les modèles se fait en minimisant par la méthode de Levenberg Marquardt la fonction objective qui représente la déviation absolue moyenne entre les rendements expérimentaux et ceux calculés par le modèle choisi :

$$AAD \% = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left| \frac{Y_{nexp} - Y_{nmod}}{Y_{nexp}} \right| 100 \quad (III-1)$$

L'application des différents modèles servira à l'obtention des prédictions des courbes cumulatives d'extraction et par la suite les déviations par rapport aux résultats expérimentaux pourront être évaluées.

En dernier lieu une comparaison des résultats des différents modèles permettra la sélection du modèle qui décrit au mieux le comportement de l'extraction pour les différentes conditions opératoires et l'identification des paramètres caractérisant le processus de transfert de matière à partir des données expérimentales.

III-1 Application des modèles mathématiques :

III-1.1 Modèle empirique t^n : (MEP1)

Le modèle est décrit par l'équation suivante :

$$\frac{\text{masse extraite}(t)}{\text{masse extraite à } \infty} = 1 - \exp(-k't^n) \quad (\text{III-2})$$

k' (mn^{-n}) et n sont deux constantes du modèles à ajuster.

Le tableau III-1 rassemble les valeurs du paramètre k' et n donnant une erreur minimale entre la courbe mathématique et celle expérimentale.

Tableau III-1 : valeurs des constantes k' du modèle empirique t^n

P (bar)	T (C)	taille des particule(mm)	débit (ml/mn)	k' (min^{-n})	n	AAD%
120	50	0,425	2ml/mn	0,005975	1,29	6,95
200	40	0,425	2ml/mn	0,009355	1,32	37,19
300	40	0,425	2ml/mn	0,036866	1,21	1,89
400	40	0,425	2ml/mn	0,070690	1,10	1,10
400	30	0,425	2ml/mn	0,26450	0,81	1,55
200	30	0,425	2ml/mn	1,36534	1,06	25,47
400	35	0,425	2ml/mn	0,109915	1,11	0,59
400	50	0,425	2ml/mn	0,22925	0,83	1,65
400	40	feuilles complètes	2ml/mn	0,11684	1,01	3,23
400	40	0,425	4ml/mn	0,02965	1,274	3,28
400	40	0,425	6ml/mn	0,13246	0,482	24,16

Le coefficient k' augmente parallèlement avec la pression, tandis que le broyage fait réduire les valeurs de ce coefficient.

A l'exception du point de 6ml/min, les valeurs de n sont au voisinage de 1, dans ce cas l'équation du modèle peut être écrite comme suit:

$$\frac{\text{massextraite}(t)}{\text{massextraiteà}t=\infty} = 1 - \exp(-k't) \quad (\text{III-3})$$

Cette équation peut être rapprochée à celle proposée par Hong et al.[114], ils l'ont utilisé pour décrire la deuxième phase de l'extraction. Elle est issue de l'expression simplifiée de la solution analytique de l'équation intégrée du bilan de matière basée sur la deuxième loi de Fick.

$$\frac{m(t)}{m_0} = \exp(-k't) \quad (\text{III-4})$$

$m(t)$: la masse du soluté qui reste dans le solide après le temps t correspondant à la fin de l'étape d'extraction rapide.

k' représente le coefficient de transfert de matière globale.

$$k' = \frac{D_s}{L^2} \quad (\text{III-5})$$

D_s : la diffusivité dans la phase solide.

L : longueur caractéristique des particules solide.

Les valeurs de D_s estimés en utilisant l'équation (III-5) sont présentées dans le tableau III-2.

Tableau III-2 : valeurs D_s estimées par l'équation proposé par Hong [114].

P (bar)	T (C)	taille des particules (mm)	$D_s(m^2/s) \times 10^{+10}$
120	50	0,425	0,299
200	40	0,425	0,469
300	40	0,425	1,84
400	40	0,425	3,54
400	30	0,425	13,27
200	30	0,425	68,5
400	35	0,425	55,1
400	50	0,425	11,5
400	40	feuilles complètes	11,3

Malgré que les valeurs des diffusivités dans la phase solide calculées à partir du modèle de Hong [114] sont élevées mais pour la variation de pression ces coefficients sont de même ordre de grandeur que ceux trouvés par Hong et al. en 1999, ces larges déviations par rapport aux valeurs cohérentes avec les phénomènes physiques sont probablement dues à la considération du mode de diffusion pour toutes les périodes d'extraction.

On peut noter que la résistance de transfert de matière interne devient plus faible, en augmentant la pression, ce qui est en accord avec le comportement déjà observé des cinétiques d'extraction en fonction de la pression. Le coefficient D_s estimé pour les deux températures 30 et 50°C est presque identique, mais il est plus important que ceux trouvés aux températures 35 et 40°C. Ce qui pourrait s'expliquer par une limitation diffusionnelle interne dans la zone de 35 à 40°C qui induit une cinétique d'extraction plus lente. Ce résultat est en accord avec la limitation de transfert de matière prédominante déjà suspectée pour la zone de température de 35 à 40°C qui prédit que les divergences des comportements des cinétiques d'extraction sont importantes dans l'étape transitoire et lente de l'extraction.

Aux différents débits, le modèle empirique MEP1 ne peut pas être simulé au modèle proposé par Hong [114] car $n \neq 1$. Cependant les variations de D_s ne peuvent pas avoir de signification physique. Néanmoins ce modèle peut servir pour lisser les courbes des données expérimentales.

III-1.2 Modèle empirique 2 [112]: (MEP2)

Ce modèle représente le rendement d'extraction comme une fonction du temps d'extraction en termes d'isotherme d'adsorption de Langmuir. Le taux spécifique du soluté e (g d'extrait/g de charge sans soluté) est exprimé en fonction du temps par l'équation suivante :

$$e = \frac{e_{\infty} t}{b+t} \quad (\text{III-6})$$

e_{∞} : c'est le taux spécifique d'extraction à t_{∞} .

b : coefficient qui englobe toutes les caractéristiques de la matière végétale.

e_{∞}/b : la pente initiale de la courbe $e=f(t)$.

Dans un premier cas (MEP2) on a fixé la valeur e_{∞} à une valeur de 0.09 qui représente le maximum du taux spécifique obtenu dans toutes les conditions opératoires, puis on a ajusté le coefficient b .

Dans un deuxième cas (MEP 3) les deux paramètres ajustables sont e_{∞} et b .

Dans toutes les conditions opératoires, par rapport au modèle (MEP 2) le modèle (MEP 3) donne des résultats qui concordent mieux avec les résultats expérimentaux avec une déviation moyenne $AAD\%=6,74\%$. Cette déviation peut atteindre $9,07\%$ pour le (MEP 2) tableau III-3, il est clair que l'utilisation d'une valeur commune de e_{∞} pour toutes les conditions opératoires d'extraction ne peut pas être recommandée car la description des données expérimentales sera moins précise.

Les valeurs de e_{∞} obtenues par le modèle MEP3 évoluent de la même manière que celles expérimentales, elles présentent des variations indiquant sa dépendance des conditions opératoires. e_{∞} semble être affecté ainsi par la pression d'extraction la plus faible valeur est obtenue à $P=120\text{bar}$ ceci est dû à la solubilité négligeable de certains composés à faible pression. e_{∞} atteint son maximum à $T=50^{\circ}\text{C}$ et $P=400\text{bar}$ où la solubilité est très élevée.

Le coefficient b diminue en augmentant la pression. Ce modèle empirique représente les matrices végétales sans aucune considération explicite des mécanismes mis en jeu, mais il a l'avantage de sa simplicité et la possibilité de l'interpolation, il est capable d'estimer le temps nécessaire pour extraire la totalité de l'huile existante dans la plante. Par conséquent à cause de la forte solubilité de notre huile dans le SC-CO_2 engendrée par les hautes pressions utilisées, le temps calculé est plus faible que possible ($<40\text{mn}$).

Les valeurs de b trouvées dans notre étude sont de même ordre de grandeur que celles rapportées par Esquivel et al. pour l'extraction par le SC-CO₂ des noix d'olive à [99], Ivana et al. [115], Papamichail et al pour l'extraction par le SC-CO₂ des graines de l'apium graveolens L.[89]. Mais elles sont 10 fois plus faible que celles rapportées par Silva et al.[116]. Les pressions utilisées dans ces travaux variaient de 100 à 300 bar.

Tableau III-3 : valeurs des paramètres e_{∞} ; b des modèles empiriques MEP2, MEP3

P(bar)	T(°C)	Débit (ml/mn)	Taille (μ m)	e_{∞} exp	b MEP2	AAD% MEP2	e_{∞} MEP3	b MEP3	AAD% MEP3
400	40	2	425	0,0804	8,145	10,348	0,0968	10,09	8,677
300	40	2	425	0,0799	11,1	11,588	0,1055	16,5	7,6076
200	40	2	425	0,0681	19,29	10,344	0,0946	21,11	9,7521
120	50	2	425	0,0310	208,9	11,095	0,0529	88,13	7,113
200	30	2	425	0,0604	10,18	6,290	0,0746	5,976	3,202
400	30	2	425	0,0769	4,501	3,454	0,0868	3,766	1,545
400	35	2	425	0,0693	7,382	4,023	0,0875	6,604	4,129
400	50	2	425	0,0901	2,786	5,718	0,1045	4,811	1,408
400	40	2	Feuille complètes	0,0636	13,87	10,127	0,0720	6,18	7,815
400	40	4	425	0,0771	12,87	13,402	0,111	20,88	8,365
400	40	6	425	0,0681	14,55	13,417	0,0862	12,77	14,57

III-1.3 Modèle semi-empirique de Sovova [96]: (MEP4)

Il s'agit d'une lecture préliminaire des courbes d'extractions expérimentales en utilisant des équations simples qui permettent d'estimer les variations des cinétiques d'extraction avec les conditions opératoires. Les deux périodes initiale et finale d'extraction sont représentées par une droite et une courbe exponentielle respectivement. Il décrit le taux spécifique d'extraction e (g d'extrait/g de charge) par deux simples équations mathématiques :

$$\text{Pour la première période : } e = (e_1/t_1) \cdot t = q \cdot y \quad (\text{III-7})$$

q : rapport solvant / charge (g CO₂/ g charge).

y : concentration de l'extrait dans le solvant (g d'extrait/ g CO₂).

e_1, t_1 : le point d'intersection des deux courbes.

$$\text{Pour la deuxième période : } e = x_u - C_1 \exp\left(\frac{-t}{t_i}\right) \quad (\text{III-8})$$

t_i : constante du temps caractéristique de la résistance du transfert de matière interne (mn).

C_1 : constante correspondante à la fraction du soluté à l'intérieur des structures sécrétrices intactes.

x_u : le contenu initial de l'extrait dans la plante.

t_i, C_1, x_u sont les paramètres ajustables du modèle.

Sovova [96] a interprété les variations de t_i conformément aux microstructures de différentes familles de plantes, étant donné que le type de sites sécréteurs est caractéristique pour les familles des plantes. Il a été décrit que pour les plantes de la famille de Lamiaceae caractérisées par des glandes peltées la valeur du temps t_i est comprise entre 20-520 min dans différentes conditions opératoires de pression, température et taille des particules, par contre il est plus faible pour les Astéraceae car la microstructure de cette famille de plante est

caractérisée par des sites sécréteurs sous formes de canaux ou de cavités qui s'ouvrent facilement après une simple rupture [96,110].

Par l'application de l'équation (III-7) de ce modèle semi-empirique, on a évalué l'étendu de la dépendance de la vitesse d'extraction des phénomènes du transport dans la phase solide et cela en suivant la variation de la constante t_i avec les conditions opératoires de l'extraction de l'inule visqueuse par le SC-CO₂. Les temps t_i sont convertis à des diffusivités effectives en utilisant les équations suivantes [96] :

$$D_e = \frac{d_p^2}{60t_i} \quad \text{(III-9)}$$

dans le cas d'une particule sphérique de diamètre d_p .

$$D_e = \frac{\delta_p^2}{12t_i} \quad \text{(III-10)}$$

dans le cas d'une particule d'une épaisseur δ_p .

Dans notre étude $d_p=0,425\text{mm}$, et $\delta_p=0,197\text{mm}$ épaisseur de la feuille.

Sur le tableau (III-4) sont portées les valeurs des paramètres t_i et D_e estimées dans les différentes conditions opératoires, ainsi que les déviations moyennes (AAD%) des courbes calculées par ce modèle par rapport aux courbes d'extractions expérimentales.

Les valeurs de t_i varient entre 4,94 et 19,73 min pour toute la plage des conditions opératoires testées, sauf à la plus faible pression testée ($P=120$ bar) le t_i atteint une valeur très importante égale 61,52 min qui est 12 fois supérieur que celui estimé à la pression 400 bar. Cette valeur est de même ordre de grandeur que les temps caractéristiques trouvés pour les plantes de la famille Lamiacées dont le processus d'extraction par le SC-CO₂ est contrôlé par le transfert de matière interne. Aux faibles pressions le transfert de matière dans la phase solide contrôle le processus d'extraction de l'inule visqueuse par le SC-CO₂. Cette dominance se réduit pour être secondaire en augmentant la pression. Stamenic et al. en 2010 ont décrit que l'exposition

de la matrice végétale au fluide supercritique conduit à des changements dans les propriétés du tissu qui peut être l'objet d'une fluxion dont l'étendu dépend de la structure spécifique de la plante et des conditions opératoires (pression, température). Cette fluxion peut conduire à augmenter la diffusion effective à travers la structure poreuse des particules de la plante [117]. Il a été observé que les valeurs de t_i et de D_e calculés pour les feuilles complètes ne s'éloignent pas de celles calculées pour les feuilles finement broyées (<425 μ m), cette variation n'est pas suffisante pour être cohérente avec les phénomènes physiques qui prédisent que le temps de diffusion interne pour les particules fines est plus faible que celui des feuilles complètes.

La concordance entre les valeurs estimées par le modèle MEP4 et celles expérimentales est satisfaisante, la déviation absolue moyenne est en moyenne égale à 3,92%.

Tableau III-4 : valeurs de la constante du temps caractéristique du T.M interne calculé par le modèle empirique MEP4

P(bar)	T(°C)	Débit (ml/mn)	Taille (μ m)	t_i (mn)	$D_e \cdot 10^{12}$ (m^2/s)	AAD% (MEP4)
400	40	2	425	10,71	4,6847	2,496
300	40	2	425	15,58	3,2203	3,644
200	40	2	425	17,93	2,7983	5,695
120	50	2	425	61,52	0,8155	6,302
200	30	2	425	6,585	7,6251	0,693
400	30	2	425	4,946	10,1442	8,537
400	35	2	425	7,005	7,1625	1,707
400	50	2	425	5,798	8,6536	2,345
400	40	2	Feuille complètes	11,07	3,4523	2,963
400	40	4	425	17,31	2,8985	4,981
400	40	6	425	13,24	3,7895	7,683

L'application des trois modèles qui suivent concernera les données expérimentales des cinétiques d'extraction en fonction de la pression et de la température, l'influence de ces deux paramètres est plus significative que l'influence du débit et de la taille des particules.

III-1.4 Modèle de la diffusion interne : [113]

Ce modèle est issu du bilan de matière dans le solide. Le solide est considéré constitué de particules de forme sphérique de diamètre d_p dans les quelles le soluté est uniformément distribué avec une concentration initiale négligeable dans la phase fluide. Pour un premier cas (modèle diffusion1) seule la résistance à la diffusion interne dans le solide contrôle la vitesse d'extraction avec un coefficient de diffusion constant.

L'équation générale du modèle diffusion1 est :

$$\frac{m_{\text{extraite}}(t)}{m_{\infty}} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(\frac{-D_e n^2 \pi^2 t}{r_p^2}\right) \quad (\text{III-11})$$

Le seul paramètre à ajuster est le coefficient de diffusion D_e .

Pour le deuxième cas c'est le modèle diffusion 2 où la vitesse d'extraction est contrôlée par la résistance à la diffusion dans le milieu qui entoure la particule solide et la résistance à la diffusion interne dans le solide.

L'équation générale du modèle diffusion 2 devient :

$$\frac{m_{\text{extraite}}(t)}{m_{\infty}} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6L^2}{q_n^2(q_n^2 + L(L-1))} \exp\left(\frac{-q_n^2 D_e t}{r_p^2}\right) \quad (\text{III-12})$$

Avec q_n représente les solutions de l'équation caractéristique suivante :

$$q_n \cot q_n + L - 1 = 0 \quad (\text{III-13})$$

$$\text{Tel que } L = \frac{r_p k_f}{D_e} \quad (\text{III-14})$$

Les paramètres à ajuster sont le coefficient de diffusion D_e et celui du T.M externe k_f .

D'après les résultats des prédictions mentionnées sur le tableau III-5, il a été observé que l'application du modèle diffusion 2 qui tient compte simultanément du transfert de matière interne et du transfert de matière dans la phase fluide donne des cinétiques d'extraction qui dévie de 9,6% des résultats expérimentaux, tandis que la déviation peut atteindre 17,58% dans

le cas de l'application du modèle diffusion1 qui considère que seule la résistance de transfert de matière dans le solide contrôle les mécanismes de phénomènes de transport.

Tableau III-5. Paramètres de transfert de matière en utilisant le modèle diffusion1 et le modèle diffusion2 à différentes pressions et températures (conditions d'extraction: taille de particule < 425µm, 2 ml CO₂/min).

P (bar)	T (°C)	Modèle diffusion1		Modèle diffusion2			
		D.10 ⁺¹² (m ² /s)	AAD%	D.10 ⁺¹² (m ² /s)	k _f .10 ⁺⁷ (m/s)	AAD%	
200	40	3,02	27,91	11,97	8,45	10,25	
300	40	3,48	19,27	10,65	7,52	13,92	
400	35	8,03	8,68	6,53	4,61	5,48	
400	40	4,61	27,48	10,4	7,34	16,71	
400	50	8,05	4,58	4,31	3,04	1,69	
						ARE:	
							9,61%

Sur les figures III-1, III-2, III-3, III-4 ; on note clairement que les déviations importantes sont focalisées dans la première phase de l'extraction surtout pour le premier modèle, d'autres phénomènes interviennent en début d'extraction. Ces déviations sont réduites avec le deuxième modèle. Cette fois, le modèle sous-estime les valeurs expérimentales. On peut attribuer ces déviations au fait que la solubilité gouverne initialement l'extraction, phénomène non considéré dans ces deux modèles. Par ailleurs les deux modèles décrivent d'une manière satisfaisante la phase lente de l'extraction dominée par la diffusion interne.

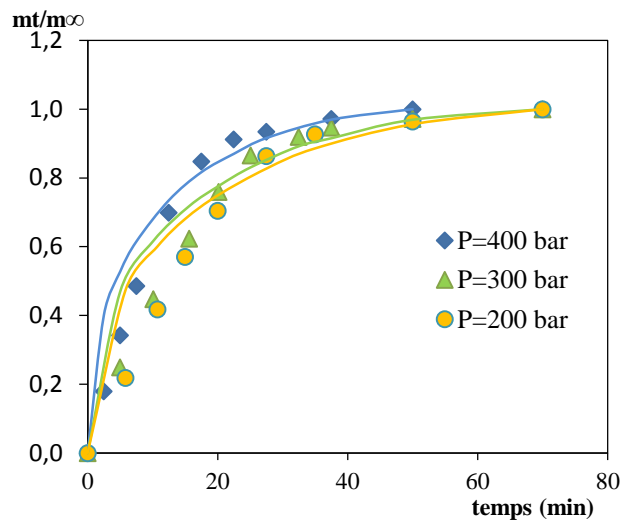


Figure III-1: cinétique d'extraction des feuilles de l'inule visqueuse (2ml/mn, < 425µm). (—) prédiction par le modèle diffusion1.(effet de la pression)

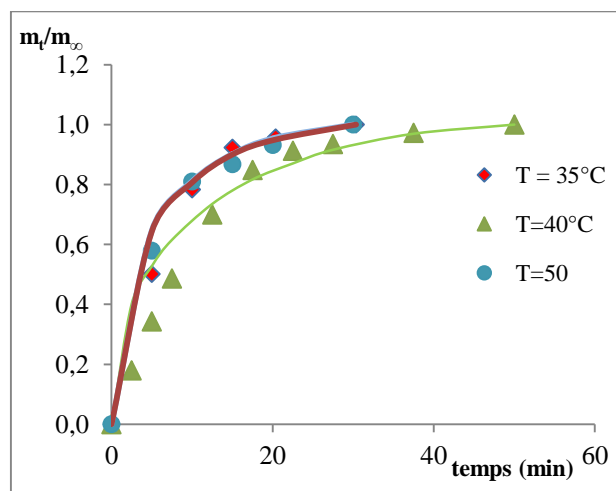


Figure III-2: cinétique d'extraction des feuilles de l'inule visqueuse (2ml/mn, < 425µm). (—) prédiction par le modèle diffusion1(effet de la température).

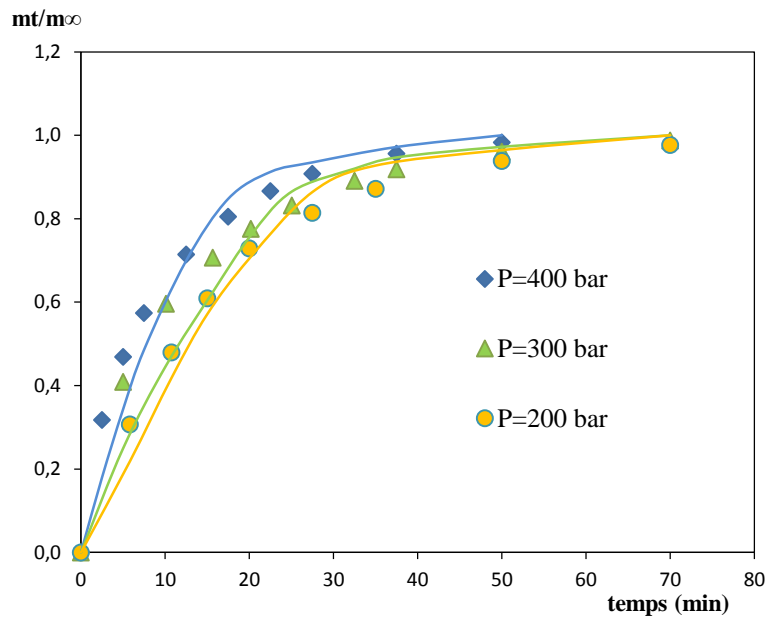


Figure (III-3): cinétique d'extraction des feuilles de l'inule visqueuse (2ml/mn, <425 μm). (—) prédiction par le modèle diffusion2. (effet de la pression).

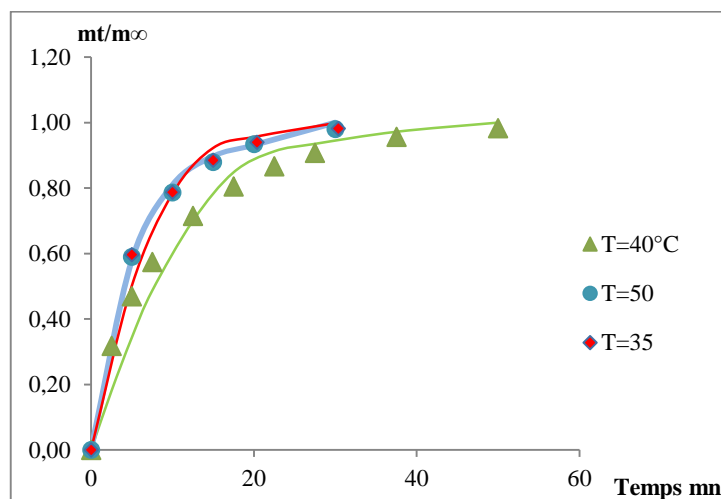


Figure (III-4): cinétique d'extraction des feuilles de l'inule visqueuse (2ml/mn, <425 μm). (—) prédiction par le modèle diffusion2. (effet de la température)

L'examen des valeurs K_f , D sur le tableau III-5 montre leur cohérence avec le phénomène de diffusion dans le solide vu qu'ils sont plus affectés par la température que par la pression.

III-1.5 Modèle de Sovová [100]:

Ce modèle considère que l'extraction est contrôlée par les résistances internes et externes dans les cellules intactes et cassées respectivement. Il repose sur les hypothèses suivantes :

- le processus se fait dans des conditions isothermes et isobares dans lesquelles les propriétés physiques du SC-CO₂ restent constantes durant l'extraction.
- le contenu initial du soluté ainsi que la distribution de la forme et de la taille des particules sont uniformes.
- l'écoulement dans le lit de porosité constante est supposé de type piston ;
- la dispersion axiale ainsi que l'accumulation dans le fluide sont négligeables ;
- le soluté dans la matrice solide se divise en deux fractions, l'une facilement accessible par le solvant est contenue à l'intérieur des cellules dont les parois sont détruites et l'autre se trouvant dans des cellules intactes constituera alors la partie difficilement accessible ;
- le transfert de matière est considéré dans les deux phases solide et fluide.

Le modèle de Sovova [100] considère que le processus d'extraction est divisé en trois périodes (rapide, transitoire et lente). Ce modèle propose trois solutions analytiques différentes pour les trois périodes :

- dans la première qui est à vitesse constante et durant laquelle le soluté facilement accessible est extrait :

quand $q < q_m$:

$$e = qy^*[1 - \exp(-Z)] \quad \text{(III-15)}$$

- dans la deuxième période la diffusion débute et se combine avec l'extraction à partir des cellules cassées :

quand $q_m \leq q < q_n$:

$$e = y^*[q - q_m \exp(z_w - Z)] \quad (\text{III-16})$$

- La dernière période est lente et concerne uniquement les cellules intactes, elle est contrôlée par la diffusion :

quand $q \geq q_n$:

$$e = x_0 - \frac{y^*}{W} \ln \left\{ 1 + \left[\exp\left(\frac{x_0}{y^*}\right) - 1 \right] \exp[W(q_m - q)] \left(\frac{x_k}{x_0}\right) \right\} \quad (\text{III-17})$$

$$q = \frac{m_{CO_2}}{m_{lit}} \quad (\text{III-18})$$

$$\dot{q} = \frac{q}{t} \quad (\text{III-19})$$

q , q_m et q_n représentent respectivement la masse spécifique du solvant SC-CO₂ à un instant t donné et entre le début et la fin de la deuxième période d'extraction.

x_0 : la concentration du soluté dans le solide à l'entrée du lit à $t=0$.

x_0 a été déterminé en utilisant l'asymptote de la courbe de rendement en fonction du temps par la relation suivante :

$$x_0 = \frac{m_{e\infty}}{(m_{charge} - m_{e\infty})} = \frac{Y_{\infty}}{(1 - Y_{\infty})} \quad (\text{III-20})$$

x_k : concentration du soluté difficilement accessible.

y^* : la solubilité du soluté dans le SC-CO₂ est estimée égale à la pente initiale de l'étape rapide de la courbe $m_{ext}=f(m_{CO_2})$.

Les paramètres Z et W sont proportionnelles aux coefficients de transfert de matière dans la phase fluide et dans la phase solide respectivement :

$$Z = \frac{k_f a \rho_f}{\dot{q}(1 - \varepsilon_l) \rho_s} \quad (\text{III-21})$$

$$W = \frac{k_s a}{\dot{q}(1 - \varepsilon_s)} \quad (\text{III-22})$$

$$z_w = \frac{Z.y^*}{W.x_0} \ln\left(\frac{x_0 \cdot \exp[W.(q-q_m)-x_k]}{(x_0-x_k)}\right) \quad (\text{III-23})$$

La surface spécifique des particules sphériques est déterminée par l'expression :

$$a = \frac{6(1-\epsilon_l)}{d_p} \quad (\text{III-24})$$

Les paramètres à ajuster sont : Z , W , x_k , et les coefficients de transfert de matière dans la phase solide et dans la phase fluide k_s , k_f sont estimés à partir des paramètres Z et W .

Pour sa part l'application du modèle de Sovovà BIC (broken and intact cells) permet une prédiction meilleure des courbes cumulatives d'extraction avec une déviation de 8%. Les insuffisances de ce modèle sont clairement visibles surtout dans la première période d'extraction réalisées à haute pression et à haute température figure III-5, III-6 à cause probablement de l'estimation de la solubilité par la pente linéaire qui ne peut pas être assez précise dans ces conditions vu que la solubilité est très fluctuante aux pressions élevées et le soluté ne peut pas être représenté par un pseudo-composé.

La valeur de la solubilité apparente peut dévier de la solubilité thermodynamique dû d'une part à la co-extraction des substances non volatiles et d'autre part aux interactions du soluté avec la matrice végétale [118].

L'amélioration de la description des courbes d'extractions par le modèle de Sovovà nécessite plus de précision lors de l'estimation de la solubilité et du coefficient d'équilibre.

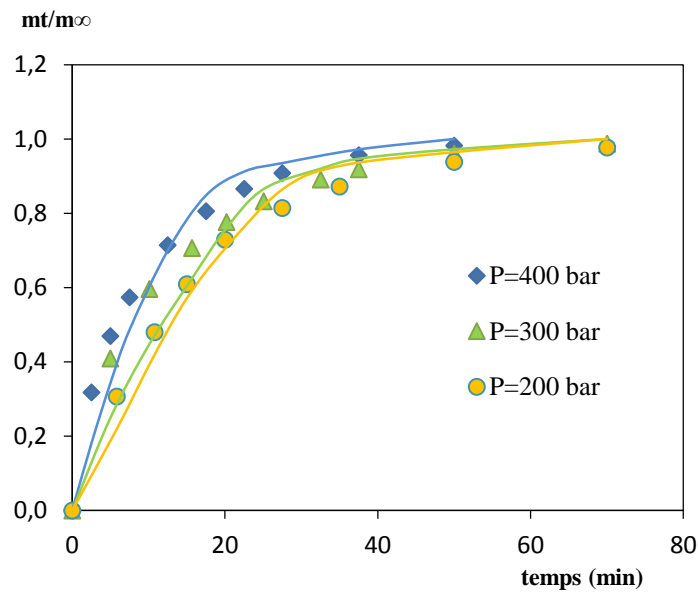


Figure (III-5): cinétique d'extraction des feuilles de l'inule Visqueuse à 2ml(CO₂)/mn, taille 425 µm.
 (—) prédiction par le modèle de Sovovà.(effet de la pression).

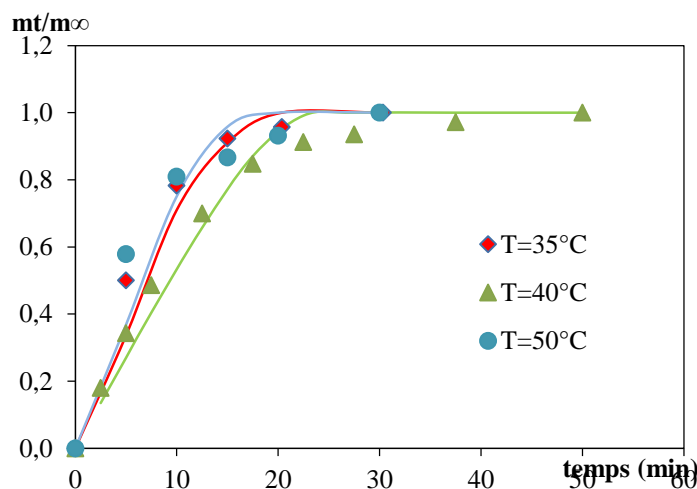


Figure (III-6): cinétique d'extraction des feuilles de l'inule Visqueuse à 2ml(CO₂)/mn, taille <425 µm.
 (—) prédiction par le modèle de Sovovà.(effet de la température)

Les valeurs trouvés par le modèle de Sovovà k_f a et k_s a tableau (III-6) et le modèle de diffusion2 k_f , Dtableau (III-5) présentent les mêmes évolutions en fonction de la pression et de la température. Il en est de même pour les valeurs de x_0 avec le modèle MEP3 tableau (III-3).

Les valeurs de coefficient de transfert de matière dans la phase fluide k_f a ajustées par le modèle de Sovovà varient dans le domaine $(6,43-9,18)10^{-3}$ m/s, ont le même ordre de

grandeur que celles rapportées dans la littérature [89,119,120]. Le coefficient K_f a décroît avec l'augmentation de la pression car la densité augmente et la diffusivité de soluté dans le CO_2 supercritique aussi, mais en parallèle le taux d'extrait s'amplifie par l'augmentation du pouvoir solvant, ce qui indique que la pression a un effet négatif sur le coefficient K_f mais la résistance du transfert de masse externe a un effet négligeable sur le transfert de matière globale. Malgré que l'accroissement de la température puisse provoquer une augmentation du rendement, le coefficient de transfert de matière dans la phase fluide K_f a ne varie pas ce qui indique que c'est l'effet de l'augmentation de la tension de vapeur qui domine. En revanche, le coefficient de matière dans la phase solide augmente à pression élevée engendrant des résistances au transfert de matière interne de plus en plus faibles. Ce qui vient justifier le comportement des cinétiques d'extraction en fonction de la pression où l'effet positif de la pression sur la solubilité a été supposé dominant par rapport à l'effet négatif de la pression sur les interactions entre le solvant et le soluté qui se trouve à l'intérieur du solide. A basses températures (35 et 40°C) $k_{s,a}$ est plus supérieur que celui à 50°C, en revanche la vitesse d'extraction est importante à 50°C car même l'effet de la température est négatif sur le coefficient $k_{s,a}$ mais il est limité sur le coefficient de transfert de matière globale.

Par ce modèle la fraction de l'huile accessible dans les feuilles broyées de l'inule visqueuse f_k est estimé équivalente à 97,6 – 99,2% de l'huile tableau (III-6). Cette valeur indique l'étendu de l'accessibilité de l'huile contenue dans cette plante du à la microstructure perméable et à l'utilisation des fortes pressions. Néanmoins cette large valeur est surestimée puisqu'elle dépend de la méthode choisie pour l'évaluation de la quantité totale d'huile initialement contenue dans le solide (x_0). Cette fraction augmente avec l'augmentation de la température et augmente légèrement dans le domaine de l'accroissement de pression. C'est la même évolution observée pour les valeurs de (x_0) estimées par le modèle MEP3, ces dernières sont légèrement plus importantes que celles estimées par le modèle de Sovovà.

Malgré que ce modèle tienne compte de la localisation du soluté au sein de la matrice solide, néanmoins il néglige les phénomènes de désorptions existants dans cette matrice. Le recours à des informations précises sur cette fraction x_0 et la solubilité du soluté ainsi que la considération des solubilités distinctes des différents constituants de solutés semble être nécessaire pour l'amélioration des prédictions des cinétiques d'extraction par le modèle de Sovovà.

Tableau (III-6). Paramètres de transfert de matière en utilisant le modèle de Sovovà à différentes pressions et températures (conditions d'extraction: taille de particule < 425 μ m, 2ml CO₂/min).

P (Bar)	T (C°)	$y^*.10+3$ (kg/kg)	$x_0.10+2$ (kg/kg)	$x_0.10+2$ (MEP3) (kg/kg)	$x_k 10+3$ (kg/kg)	$(f_k=\frac{x_0-x_k}{x_0})$	$K_{ra}10+3$ (m/s)	$K_{sa}.10+7$ (m/s)	AAD%
400	35	5,2	6,78	7,88	0,16	0,976	6,43	1,99	9,56
400	40	4,7	7,75	8,87	0,095	0,987	6,75	1,96	9,02
400	50	7,5	8,74	9,02	0,075	0,991	6,07	0,79	5,44
300	40	2,9	7,71	7,58	0,023	0,997	8,96	0,83	9,71
200	40	2,6	6,58	7,68	0,048	0,992	9,18	0,18	5,35
									ARE:
									7,70%

Conclusion :

L'applicabilité du modèle de Sovovà a été prouvée sur ce type d'extraction, les simulations par ce modèle sont les plus proches à la réalité. La vitesse de l'extraction est limitée par le transfert de matière interne dans la première période cette limitation est réduite dans la phase lente ou le transfert de matière externe est dominant. L'effet de la résistance au transfert de masse interne se réduit à fortes pression.

Chapitre VI

Potentiel bioactif de l'inule visqueuse

Chapitre IV

Introduction :

L'utilisation continue et incontrôlée des antibiotiques a rendu leur efficacité menacée par l'émergence de la résistance microbienne aux agents chimio thérapeutiques existants [120]. La recherche des nouveaux agents antimicrobiens et antifongiques ainsi que d'autres agents bioactifs ne cesse d'être parmi les premières priorités dans le développement des substances médicamenteuses existantes.

Dans cet axe s'inscrit cette dernière partie de notre étude, nous adoptons de mettre en évidence l'importance pharmacologique de l'inule visqueuse étudiée. Dans un premier volet de la valorisation des potentiels bioactifs de cette plante, nous nous sommes intéressés à la mesure de la teneur des polyphénols présents dans quelques extraits de solvants volatils de la plante provenant d'Alger.

Dans un autre volet, l'effet antibactérien et antifongique ont été visés. Pour cela les résistances de nombreux micro-organismes de gram positif et négatif vis-à-vis de ces extraits ont été mises en évidence.

L'activité antibactérienne a été aussi testée pour les extraits de l'inule visqueuse d'Alger obtenus par le SC- CO₂ et l'eau sub-critique sur les germes suivants : Escherichia Coli ,Staphylococcus Aureus et pseudomonas Aeruginosa.

Pour la plante provenant de Médéa, on a recherché l'effet de ses concrètes issues de l'extraction par solvants volatils sur deux types de germes bactériens (bacillus subtilis, Staphylococcus epidermidis). Nous avons ensuite opté pour l'exploitation in vitro de l'effet antifongique de l'huile essentielle extraite à partir des feuilles de l'inule visqueuse récoltée à

Alger au mois de Mars sur un ensemble des moisissures phytopatogènes (*Botrytis cinerea* et *Microsporum canis*).

IV-1 Dosage des polyphénols :

Les composés phénoliques ont été reconnus comme agents antioxydants, qui ralentissent la dégradation due aux effets de l'oxydation, ils sont utilisés pour la prévention de diverses maladies qui sont principalement associées aux radicaux libres [122]. Il existe trois grandes classes : les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins.

Les teneurs en composés phénoliques totaux dans les extraits ont été évaluées suivant la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu comme décrite dans la littérature [123,124]. Un volume de 0,2 ml d'extrait dilué 100 fois a été ajouté à 1ml de la solution de Folin-Ciocalteu puis mis dans un Erlen Meyer. Ce mélange a été laissé au repos à température ambiante pendant 30 min avant l'addition d'une solution de carbonate de sodium (75 g/L dans l'eau, 400 µl). Après 20minutes d'incubation à 70°C, les absorbances ont été mesurées à 760 nm contre le blanc (cuve remplie d'eau distillée) en utilisant un spectromètre UV visible.

Une courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant l'acide tannique pour le calcul du rendement (R%) en polyphénols présents dans la matière végétale sèche. Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide tannique. L'équation de cette courbe est de la forme :

$$Y = 1,03 * X \quad (IV-1).$$

Y : la densité optique lue.

X : la concentration de l'extrait (g/ml).

Cependant le rendement en polyphénols (R%) est ensuite déterminé par l'équation :

$$R\% = (C.V) / M(1-H) \quad (IV-2).$$

C : concentration de l'extrait dilué $C=100.X$

V : volume total de l'extrait obtenu après distillation sous vide.

M : masse de la matière végétale.

H : taux d'humidité dans la matière végétale.

La teneur en composés phénoliques des extraits de l'inule visqueuse provenant d'Alger obtenus par les différents solvants volatils a été déterminée et les résultats sont résumés dans le Tableau IV.1. Ces teneurs exprimés en rendement (R %) sont de même ordre de grandeurs dans les trois extraits testés (éthanol, méthanol, acétate d'éthyle), toutefois ces trois solvants ont démontré un similaire pouvoir extractif vis-à-vis de ces composés. Ces teneurs élevées font preuve d'une richesse en polyphénols des feuilles de l'inule visqueuse qui peuvent démontrer une activité anti-oxydante. Ce qui a été déjà attribué à ce type de plante par le biais d'un nombre important de travaux publiés [14, 57, 74,75].

Cette activité a été l'objet d'une étude menée par Tremichi et al. en 2014. Ils ont testé l'activité anti-oxydante des extraits de l'inule visqueuse obtenus par des solvants de polarités croissantes. Ils ont trouvé que la plus faible teneur des polyphénols est dans les racines et la plus forte teneur peut se trouver dans les tiges. Les extraits d'acétate d'éthyle pour les racines et d'éther diéthylique pour les fleurs révèlent des plus hauts potentiels anti-oxydants [75].

Tableau IV-1 : teneurs en polyphénols pour les différents extraits de l'inule visqueuse obtenus par l'extraction par les solvants volatils.

solvants	Densité optique moyenne (Y)	Concentration (X) (g/ml).	Rendement (R%)
Ethanol	0,0236	0,0255	46,40
Méthanol	0,061	0,0592	43,44
Acétate d'éthyle	0,0572	0,0555	46,41

IV-2 Evaluation de l'activité antibactérienne :

Dans ce travail, les extraits obtenus par différents solvants volatils, et ceux obtenus par le SC-CO₂ et l'eau sub-critique, ont été soumis à des tests d'évaluation de l'activité antibactérienne. Pour ces tests, plusieurs types de souches bactériennes ont été utilisés, elles proviennent toutes de différents prélèvements cliniques du CHU de Ain Nadja. Ces bactéries sont largement rencontrées dans divers pathologies.

IV-2.1 Mode Opérateur :

On utilise la méthode de diffusion en milieu liquide ou gélosé, appelée aussi méthode Pasteur rapportée par [126]. Elle est dite qualitative car elle permet d'identifier l'existence ou non d'une éventuelle propriété bactéricide.

Elle consiste tout simplement à déposer des disques de papier Whatman (diamètre= 6mm) imprégnés d'extrait sur une géloseensemencée avec la bactérie à étudier, chaque extrait diffuse du disque et il s'établit donc dans la gélose un gradient de concentration d'antibiotique autour de chaque disque, après 48 heures d'incubation à 30°C, les bactéries se colonisent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'agents antibactériens suffisante pour inhiber leur croissance. Il se produit un halo d'inhibition autour de chaque disque ce qui permet de mesurer le diamètre d'inhibition. Les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité:

- ✚ D=0, l'activité inhibitrice est considérée nulle (-),
- ✚ résistant ($D < 6\text{mm}$) ou l'activité inhibitrice est considérée non probable (m).
- ✚ intermédiaire ($6\text{mm} < D < 13\text{mm}$) ou l'activité inhibitrice est très légère (+) quand $7\text{mm} < D < 10\text{mm}$ et peut être légère et probable (++) quand. $10\text{mm} < D < 13\text{mm}$.
- ✚ sensible ($D > 13\text{mm}$) dans ce cas l'activité est significative quand $D > 16\text{mm}$ (+++).

Dans ces tests on a utilisé deux milieux de culture milieu 11 et le milieu GN. Pour tous ces tests des témoins ont été réalisés avec les mêmes conditions, mais avec des disques imprégnés dans le même solvant dans lequel l'extrait est dissout. La lecture est toujours réalisée par comparaison avec les cultures obtenues dans les boîtes témoins.

Les résultats des aromagrammes obtenus pour les différents extraits sont rassemblés dans les tableaux IV-2, IV-3, IV-4.

Tableau IV-2 Les diamètres de la zone d'inhibition des extraits par solvants volatils de l'inule visqueuse de Médéa récoltée au mois d'Avril:

Extraits	Staphylococcus epidermidis		Bacillus subtilis	
	Milieu GN	Milieu 11	Milieu GN	Milieu 11
Extrait d'éthanol	16,8 (+++)	28,8 (+++)	12,8 (++)	11,2 (++)
Extrait du n-Hexane	17 (+++)	11,8 (++)	21,8 (++)	15,4 (++)
Extrait de l'acétone	17,2 (+++)	12,6 (++)	15,8 (++)	14,2 (++)

Les deux souches de bactéries *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus epidermidis* sont sensibles dans les deux milieux GN à tous les extraits testés : de l'éthanol, de l'acétone et de l'hexane, la sensibilité est intermédiaire pour le *Staphylococcus epidermidis* dans le milieu 11 aux extraits du n-hexane et de l'acétone. Dans le milieu 11, le *Bacillus subtilis* est de sensibilité intermédiaire à l'extrait d'éthanol. Ceci indique qu'il y a une variabilité quantitative et qualitative du contenu en agents antibactériens des trois extraits qui fait que les propriétés inhibitrices soient différentes.

Sur le tableau IV-3, on récapitule les différents diamètres d'inhibition des extraits de solvants volatils de l'inule visqueuse d'Alger sur 19 souches bactériennes de deux types Cocci et BGN .

Tableau IV-3 : Les diamètres de la zone d'inhibition des extraits par solvants volatils de l'inule visqueuse d'Alger récoltée au mois d'Avril:

Micro-organisme	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)				
	Pentane	heptane	Acétate d'éthyle	éthanol	méthanol
COCCI					
Staphylococcus aureus	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)
Streptococcus B	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	20 (+++)	<6 (m)
Streptococcus Pneumoniae	35 (+++)	30 (+++)	30 (+++)	30 (+++)	30 (+++)
Streptococcus D	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	20 (+++)	15 (++)
Streptococcus non groupable	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	20 (+++)	15 (++)
Streptococcus B	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	18 (+++)	<6 (m)
Staph aureus 25923	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	17 (+++)	22 (+++)
BGN					
E.Coli₁	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	19 (+++)	<6 (m)
E.Coli₇	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	19 (+++)	<6 (m)
E.Coli₁₂	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	15 (+++)	<6 (m)
E.Coli₉	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	13 (++)	<6 (m)
E.Coli₄	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)
Morginella morganus	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	19 (+++)	<6 (m)
Klebsiella Pneumoniae₁₃	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	15 (++)	11 (++)
Salmonella Typhi₂₇₄	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	20 (+++)	<6 (m)
Salmonella Typhi₄₈₆₆	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	20 (+++)	<6 (m)
Morginella Morganu₁₉₄	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	15 (++)	15 (++)
E.Coli₂₅₉₂₂	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	15 (++)	<6 (m)
Pseudomonas aeruginosa₂₇₈₅₃	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)	<6 (m)

A la lumière de ces résultats, on peut remarquer que le potentiel inhibiteur des extraits dépend de la nature des solvants utilisés. Il est à relever que le staphylococcus et l'E.coli₄ et le Pseudomonas Aeruginosa₂₇₈₅₃ sont résistants à tous les extraits, cela peut avoir pour cause que tous ces extraits ne contiennent pas l'agent antibactérien qui peut altérer la croissance de ce genre de micro-organisme ou bien le contenu en cet agent n'atteint pas la concentration minimale d'inhibition.

Par contre, tous les extraits peuvent inhiber le Streptococcus Pneumoniae mais le pentane manifeste un pouvoir inhibiteur important vis-à-vis ce type de souche. Ce qui peut conduire à dire que les extraits des solvants volatils ont des compositions distinctes qualitativement et quantitativement.

Parmi les solvants utilisés, l'extrait d'éthanol manifeste une importante gamme de composés possédant une activité antibactérienne intéressante. Tandis que cette activité est plus faible pour le méthanol, le pentane, l'heptane et l'acétate d'éthyle classés dans un ordre décroissant.

Les résultats rassemblés dans le tableau IV-4 montrent que les extraits obtenus par l'eau sub-critique et par le SC-CO₂ revêtent une action inhibitrice sur les germes tests qui résistaient à tous les extraits de solvants volatils dans cette étude (Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus Aureus_{1322A}, E.Coli₂₅₉₂₂).

Seul l'extrait par l'eau sub-critique pourrait être considéré avoir une action inhibitrice significative sur la croissance du germe Staphylococcus Aureus_{1322A}, tandis que l'extrait par le SC-CO₂ reste légèrement actif sur le germe en question. Les deux extraits exercent une action inhibitrice significative sur la croissance des germes E.Coli₂₅₉₂₂ et Pseudomonas Aeruginosa.

Les extraits obtenus par les méthodes innovantes (extraction par le SC-CO₂ et la SBWE) ont réussi d'apporter une amélioration nette des propriétés antibactériennes.

Tableau IV-4 : Les diamètres de la zone d'inhibition des extraits de l'inule visqueuse d'Alger obtenus par l'eau sub-critique et par le SC-CO₂ :

Souches de bactérie	Extrait par l'eau sub-critique (2,15x10 ⁻³ g/ml)	Extrait par le SC-CO ₂ (3,87x10 ⁻³ g/ml)
Pseudomonas Aeruginosa	20mm (+++)	17mm (+++)
Staphylococcus Aureus _{1322A}	24mm (+++)	15mm (++)
E.Coli ₂₅₉₂₂	21mm (+++)	21mm (+++)

IV-3 Evaluation de l'activité antifongique :

IV-3.1 Mode opératoire :

Les tests in vitro de l'effet antifongique de l'huile essentielle extraite à partir des feuilles de l'inule visqueuse récoltée à Alger en mois de Mars ont concerné deux moisissures phytopathogènes (*Botrytis cinerea* et *Microsporum canis*). L'action de ces HEs ; qui ont été solubilisées dans l'éthanol ; a été comparée à divers concentrations (3120, 1560, 780)µg/ml.

La détermination du pouvoir antifongique est évaluée par la technique suivante :

Les quantités d'huile essentielle à trois concentrations sont additionnées à 20ml de PDA stérile. Les mélanges sont coulés sur des boites à Pétri. Un disque de mycélium de 5mm de diamètre de chaque moisissure prélevée du périphérique d'une culture de champignons est inoculé au centre des boites puis incubées à 25°C dans une étuve à l'obscurité pendant une semaine.

Un témoin comportant le solvant (éthanol) additionné à 20ml d'un milieu de culture PDA en surfusion a été réalisé.

La lecture est basée sur la mesure de l'étendue de la pousse fongique. La mesure des diamètres de croissance (D_a) en mm peut se traduire en un pourcentage d'inhibition provoquée par l'huile essentielle par l'application de la formule suivante :

$$I\% = [1 - (D_a/D_b)] 100 \quad (IV-3)$$

D_b : diamètre de croissance du contrôle (mm).

$I\%$: Indice d'inhibition.

Les résultats obtenus de l'effet antifongique de l'huile essentielle choisie sur les 2 souches de moisissures sont illustrés dans le tableau IV-5.

Tableau IV-5 : Les indices antifongiques et les diamètres d'inhibition de la croissance des espèces fongiques par l'huile essentielle de l'inule visqueuse récoltée à Alger en mois 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	57,3	6,1	23,75
Microsporium Canis	1,3	58,75	5,2	35	6,3	21,25

L'activité inhibitrice de l'huile essentielle de l'inule visqueuse est puissante sur le champignon *Botrytis cinerea*, le pourcentage d'inhibition dépasse 50% pour les concentrations 3120 µg/ml et 1560 µg/ml. A ces deux concentrations, les HEs de cette plante ont pu inhibé la croissance mycélienne du champignon *Microsporium Canis* à des pourcentages allant de 35%-58,75% . Pour la concentration 780 µg/ml les deux champignons ont résisté à l'huile essentielle de l'inule visqueuse.

Les CI_{50} (concentration de 50% d'inhibition) et les CI_{90} (concentration de 90% d'inhibition) des HEs de l'inule visqueuse sur le *Microsporium Canis* sont plus importantes que celles sur le *Botrytis Cinerea*, ce qui met en évidence la richesse de la plante en métabolites secondaires ayant le pouvoir d'altérer la croissance mycélienne du champignon *Botrytis cinerea* tableau IV-6.

Tableau IV-6 : Les CI_{50} et les CI_{90} de l'effet antifongique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse récoltée à Alger en mois de Mars.

Souche	CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	CI_{90} ($\mu\text{g/ml}$)
Botrytis Cinerea	1463	4206
Microsporium Canis	2397	10516

En se basant sur la littérature, on peut énumérer les propriétés biologiques mises en évidence par les différentes familles de constituants contenues dans notre plante :

- ✚ Les sesquiterpènes de l'inule visqueuse, sont des molécules à pouvoir fongicide.

Omezzine et al. [126] ont mis en évidence une action antifongique contre deux souches antagonistes (*Trichoderma*) et trois souches phytopathogènes *Fusarium oxysporum* des extraits de trois espèces d'inule par l'hexane, le chloroforme et le méthanol, ils ont trouvé que l'extrait de l'inule visqueuse par le méthanol était le plus actif parmi tous les extraits. Ali-Shtayeh [4] et Cafarchia [16] ont confirmé que les acides sesquiterpéniques seraient des agents anti-dermatophytique potentiels.

- ✚ les flavonoïdes de l'inule visqueuse ont montré leur efficacité comme substances antibactériennes et antifongique [6].

Trois composants flavoniques isolés des parties aériennes de l'inule visqueuse ont été testés en 1999 par Manez et al. [127] «in vivo» sur la souris présentant une dermatite, une action anti-inflammatoire nette a été observée. Cette même propriété en plus de l'effet cicatrisant, a été constatée lors des expériences «in vivo» sur les brûlures de 3ème degré chez le lapin par Hamdi Pacha en 2002 [128]. une action fongicide a été aussi relevée en 1998 dans les travaux de Maoz et Neeman [129] qui ont obtenus avec l'extrait aqueux de l'inule visqueuse l'inhibition nette de la croissance de *Microsporium canis* et *Trychophyton rubrum*.

Conclusion :

Le potentiel inhibiteur des extraits dépend de la nature des solvants utilisés. Les extraits obtenus par les méthodes innovantes (extraction par le SC-CO₂ et la SBWE) ont réussi d'apporter une amélioration nette des propriétés antibactériennes.

Ces résultats, présentent aussi un intérêt pour l'utilisation de l'huile de l'inule visqueuse à des applications en phytosanitaire comme un procédé de lutte biologique basé sur les substances naturelles. Car cette huile peut être une alternative par rapport aux fongicides et bactéricides synthétiques peu biodégradable.

Conclusion

générale

Conclusion générale:

L'objectif principal de cette étude résidait dans la récupération et la valorisation des extraits de l'inule visqueuse ; en effet sous cet aspect la réalisation de ce travail présentait plusieurs intérêts :

- une étude comparative portant tant sur le rendement que sur la qualité des extraits obtenus par les techniques extractives conventionnelles entre autre EVE, HD, l'extraction par solvant volatil ainsi que par d'autres techniques séparatives récentes utilisant les hautes pressions des solvants à l'état sous critique et supercritique, ou l'influence du cycle végétatif de la plante ainsi que son origine a pris une part également.
- une étude des cinétiques de l'extraction de l'inule visqueuse par le SC-CO₂ visant l'impact des différentes conditions opératoires tel que la pression, la température, le débit du SC-CO₂ supercritique, le rapport pondéral solvant/charge, la granulométrie, l'organe de plante, le taux d'humidité. Les résultats permettent de recommander les conditions opératoires les plus appropriées pour ce système.
- une représentation du processus de l'extraction par le SC-CO₂ par plusieurs modèles mathématiques pour prédire le comportement du lit et qui pourrait servir comme guide pour l'extrapolation à grande échelle.

Une recherche bibliographique nous a permis de soulever l'importance de l'inule visqueuse sur le plan médicinale de par ses propriétés antimicrobienne, anti-inflammatoire, antifongique etc. Cette recherche nous a permis également de discerner les facteurs influençant sur la variabilité de la qualité chimique de cette plante tel que : les conditions climatiques et

environnementales, l'organe de la plante, le mode d'extraction etc. Cet état de l'art nous a permis d'aiguiller nos perspectives de travail par rapport à l'utilisation de divers modes extractifs conventionnels et récents pour isoler les extraits de cette plante provenant de deux régions distinctes d'Algérie et pendant ses différentes périodes de maturation.

A cet égard l'examen de nos résultats expérimentaux s'est avérée concluant au regard des comparaisons faites sur l'aspect quantitatif et qualitatif des extraits obtenus. La région de Médéa qui est bien différente de la région d'Alger en termes de nature du climat et d'altitude engendre dans les feuilles de l'inule visqueuse une richesse en huiles essentielles. Ces dernières s'accumulent pendant la période de croissance principale (Mars-Juin) pour atteindre un maximum au mois de Juin, puis décroît continuellement après la floraison (septembre) et jusqu'à la défoliation des feuilles(Décembre).

L'huile essentielle de l'inule visqueuse issue de EVE et HD est majoritairement composée de l'acide isocostique 56,81% et 28,88% respectivement. Tandis que par le SC-CO₂ et l'eau sous critique les extraits sont dominés par le tomentosin.

Du début de croissance vers la floraison jusqu'à la fin du cycle de vie de cette plante, il existe une variabilité de composés chimiques identifiés.

Nous avons opté pour l'extraction par le SC-CO₂ qui a l'avantage d'être une technologie verte performante et qui permet une rapide extraction des solutés des matrices végétales. De l'exploitation de l'ensemble des résultats obtenus par ce type d'extraction sur la gamme de conditions opératoires il ressort que :

- L'extraction par le SC-CO₂ de l'inule visqueuse passe par trois étapes : rapide, transitoire et lente.
- Il est recommandé de réduire la taille des particules solide pour augmenter l'aire interfaciale et par la suite le rendement.

- Les débits faibles permettent des temps longs de résidence du SC-CO₂ favorisant ainsi une meilleure extraction du soluté à partir de la matière végétale.
- Un bon rendement est à haute pression avec une faible sélectivité, ce rendement s'affaiblit à basse pression avec une bonne sélectivité.
- Pour la température, on peut évoquer que le rendement ait été perturbé par la possibilité de l'effet compétitif de la masse volumique et la pression de vapeur du soluté.
- le soluté extrait des fleurs pendant la phase rapide de l'extraction par le SC-CO₂ est plus important en quantité que celui extrait des feuilles, le séchage et la pression d'extraction peuvent affecter le taux de cette fraction.
- Le taux d'humidité ainsi que le mode de séchage peut affecter simultanément le rendement et la qualité des extraits.

Nous avons adopté trois approches simplifiées pour mener à bien la modélisation des cinétiques d'extraction de l'inule visqueuse par le SC-CO₂. Une approche empirique a révélé une bonne concordance entre les courbes cinétiques calculées et celles expérimentales, mais devant la contrainte de l'ambiguïté des phénomènes mis en jeu, leur intérêt résidait dans le fait de pouvoir les utiliser comme un outil de lissage des courbes des données expérimentales.

Par ailleurs, grâce aux estimations du temps caractéristique du transfert de matière interne par le modèle semi-empirique de Sovovà, on a dévoilé la dépendance de la vitesse d'extraction des phénomènes de transfert dans la phase solide. L'effet de la résistance au transfert de masse interne se réduit à fortes pressions.

La stratégie de la modélisation adoptée a consisté à effectuer une deuxième approche utilisant deux modèles basés sur le transfert de matière à l'intérieur du solide qui présentent des insuffisances flagrantes surtout dans l'étape rapide limitée par la solubilité qui n'a pas été mis en compte par ces modèles. L'applicabilité du modèle de Sovovà a été prouvée sur ce type d'extraction, les simulations par ce modèle sont les plus proches à la réalité. Cela est dû au fait que contrairement aux autres modèles, celui-ci tient compte en plus de la distribution non uniforme du soluté dans la phase solide ainsi que les deux types de transfert de matière externe et interne. La procédure de calcul adoptée a consisté à effectuer la régression des coefficients de transfert de matière dans la phase solide k_{sa} et dans la phase fluide k_{fa} ainsi que la fraction x_k .

Les dosages des polyphénols ont montré une richesse en polyphénols des feuilles de l'inule visqueuse qui peuvent démontrer une activité anti-oxydante

L'inule visqueuse révèle un pouvoir antifongique contre les moisissures *Botrytis cinerea* et *Microsporum canis*, et un potentiel antibactérien contre les deux bactéries *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus epidermidis*. Cette efficacité présente une alternative par rapport aux fongicides et antibiotiques synthétiques peu biodégradables.

Le potentiel inhibiteur des extraits dépend de la nature des solvants utilisés. Les extraits obtenus par les méthodes innovantes (extraction par le SC-CO₂ et la SBWE) ont réussi d'apporter une amélioration nette des propriétés antibactériennes.

A l'issue de tous ces résultats ce travail pourrait être poursuivi sur un certain nombre de pistes d'investigations qui méritent d'être étudiées :

- le fractionnement des extraits obtenus par le SC-CO₂ de cette plante pour pouvoir dévoiler une corrélation possible de la composition avec le potentiel bioactif et qui pourra être une future voie pour l'isolation des composés intéressants.

- la valorisation des extraits obtenus par des tests sur d'autres activités pharmacologiques (anticancéreuse par exemple) en vue de déboucher sur l'utilisation pratique de ces extraits assurant ainsi le passage de la médecine traditionnelle à la médecine moderne.
- modéliser les cinétiques d'extraction des méthodes innovantes par des modèles mathématiques qui prennent en considération la microstructure des particules solides et les solubilités distinctes des composés extraits, l'équilibre multiconstituants (composé mineurs, composé majeurs) semble être la clé de la solution du problème de co-extraction dans l'examen des cinétiques d'extraction, surtout dans sa phase rapide qui est décisive dans les applications industrielles.

Bibliographie

Bibliographie :

- 1- Cronquist, A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press. New York.
- 2- Verpoorte, R., Van der Heijden, R., Memelink, J. (2000). Engineering the plant cell factory for secondary metabolite production. *Transgenic research*, 9(4-5): 323-343.
- 3- Fabricant, D. S., & Farnsworth, N. R. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental health perspectives*. 109(Suppl 1): 69-75.
- 4- Ali-Shtayeh, M.S., Yaghmour, Y.R., Salem, K., Al-Nuri, M.A. (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J. Ethnopharmacol.* 60: 265-271.
- 5- Hernandez, V., Recio, M.D.C., Manez, S., Giner, M.R., Rios, J.L. (2007). Effects of naturally occurring dihydro-flavonols from *Inula Viscosa* on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism. *Life science. J.* 81: 480-488.
- 6- Maoz, M., Neeman, I. (2000). Effect of *Inula viscosa* extract on chitin synthesis in dermatophytes and *Candida albicans*. *J. Ethnopharmacol.* 71: 479-482.
- 7- Lauro, L., Rolih, C. (1990). Observation and research on an extract of *Inula viscosa*. *Bollettino Societa Italiana Biological Sperimentale.* 66: 829-834.
- 8- Alarcon De La Lastra, C., Lopez, A., Motilva, V. (1993). Gastroprotection and prostaglandin E₂ generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. *Planta Medica*, 59: 497-501.
- 9- Cristea, D., Bateau, I., Vilarem, G. (2003). Identification and quantitative HPLC analysis of the main flavonoids present in weld (*Reseda luteola* L.). *Dyes and Pigments*, 57(3): 267-272.
- 10- Recep, K., Emine, T., & Gökhan, E. (2014). Dyeing Properties and Analysis by Rp-Hplc-Dad of Silk Fabrics Dyed with Madder (*Rubia tinctorum* L.). *J Textile Sci Eng.* 4(154): 2-7.
- 11- Perez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A., Emin Duru, M., Harmandar, M., Garcia Vallejo, M.C. (1996). Composition of the Volatile Oil from the Aerial Parts of *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Flavor Fragra. J.* 11: 349-351.
- 12- Blanc, M.C., Bradessi, P., Gonçalves, M.J., Salguiero, L., Casanova, J. (2006). Essential oil of *Dittrichia Viscosa* ssp. *viscosa*: analysis by ¹³C-NMR and antimicrobial activity. *Flavor Fragra. J.* 21: 324-332.
- 13- Miguel, G., Faleiro, L., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., & Casanova, J. (2008). Susceptibility of *Helicobacter pylori* to essential oil of *Dittrichia viscosa* subsp. *revoluta*. *Phytotherapy Research*, 22(2), 259-263.
- 14- Albano, S. M., Lima, A. S., Miguel, M. G., Pedro, L. G., Barroso, J. G., & Figueiredo, A. C. (2012). Antioxidant, anti-5-lipoxygenase and antiacetylcholinesterase activities of essential oils and decoction waters of some aromatic plants. *Rec. Nat. Prod.* 6(1), 35-48.
- 15- Camacho, A., Fernandez, A., Fernandez, C., Altarejos, J. (2000). Compositions of essential oil of *Dittrichia Viscosa*. *Eppos.* 29 : 3-8.
- 16- Cafarchia, C., Delaurentis, N., Millilio, M.A., Losacco V, Puccini, V. (2002). Antifungal activity of essential oils from the leaves and flowers of *Inula viscosa* (Asteraceae) by Apulian region. *Parasitologia.* J.44:153-156
- 17- Pokorný J, Korczak J. (2001). Preparation of natural antioxidants. In: Pokorný J, Yanishlieva N, Gordon M, editors. *Antioxidants in food: practical application*. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited. P 311-341.

-
- 18- Cohen, Y., Wang, W., Ben-Daniel, B. H., & Ben-Daniel, Y. (2006). Extracts of *Inula viscosa* control downy mildew of grapes caused by *Plasmopara viticola*. *Phytopathology*. 96(4): 417-424.
 - 19- Cafarchia, C., Delaurentis, N., Millilio, M. A., Losacco, V., Puccini, V. (2001). Fungistatic activity of a sesquiterpene lactone (Tomentosin) isolated from fresh *Inula viscosa* (Asteraceae) flowers from the pulgia region. *Parasitologia*. 43(3): 117-121.
 - 20- Wang, W., B.H. Ben-Daniel & Y. Cohen (2004). Control of plant diseases by extracts of *Inula viscosa*. *Phytopathology* 94: 1042-1047.
 - 21- Fontana, G., La Rocca, S., Passannanti, S., & Pia Paternostro, M. (2007). Sesquiterpene compounds from *Inula viscosa*. *Natural product research*. 21(9): 824-827.
 - 22- Hernández, V., Recio, M. C., Máñez, S., Giner, R. M., Ríos, J. L. (2007). Effects of naturally occurring dihydroflavonols from *Inula viscosa* on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism. *Life Sciences*. 81: 480-488.
 - 23- Máñez, S., Hernández, V., Giner, R. M., Ríos, J. L., & Recio, M. D. C. (2007). Inhibition of pro-inflammatory enzymes by inuviscolide, a sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*. *Fitoterapia*. 78(4): 329-331.
 - 24- Mamoci, E., Cavoski, I., Simeone, V., Mondelli, D., Al-Bitar, L., & Caboni, P. (2011). Chemical composition and in vitro activity of plant extracts from *Ferula communis* and *Dittrichia viscosa* against postharvest fungi. *Molecules*. 16(3) : 2609-2625.
 - 25- Mamoci, E., Cavoski, I., Andres, M. F., Díaz, C. E., & Gonzalez-Coloma, A. (2012). Chemical characterization of the aphid antifeedant extracts from *Dittrichia viscosa* and *Ferula communis*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 43: 101-107.
 - 26- Gedye, R., Smith, F., Westaway, K., Ali, H., Baldisera, L., Laberge, L., & Rousell, J. (1986). The use of microwave ovens for rapid organic synthesis. *Tetrahedron letters*. 27(3): 279-282.
 - 27- Lucchesi, M. E., Chemat, F. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*. 1043: 323-327.
 - 28- Golmakani, M., Rezaei, K. (2008). Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food chemistry*. 109: 925-930.
 - 29- Rovio, S., Hartonen, K., Holm, Y., Hiltunen, R., Riekkola, M. L. (1999). Extraction of clove using pressurized hot water. *Flavour Fragrance J* 14:399-404.
 - 30- Luque de Castro, M. D., Jiméñez-Carmona, M. M., Fernáandez-Pèrez, V. (1999). Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants. *Trends in analytical chemistry* 18: 11- 19.
 - 31- Ramos L, Kristenson EM, Brinkman UAT. (2002). Current use of pressurized liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. *J Chromatography A*. 975: 3-29.
 - 32- Smith RM. (2002). Extractions with superheated water. *J Chromatogr A* 975:31-46.
 - 33- Basile, A., Jiménez-Carmona, M. M., & Clifford, A. A. (1998). Extraction of rosemary by superheated water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46(12) : 5205-5209.
 - 34- Lumia, G. (2002). Utilisation du CO₂ supercritique comme solvant de substitution. *Techniques de l'Ingénieur*. IN-5: 1-6.
 - 35- Mukhopadhyay, M. (2000). Natural extracts using supercritical carbon dioxide. CRC press. Boca Raton, FL.
 - 36- Jessop, P. G. 1998. Homogeneously-catalyzed syntheses in supercritical fluids. *Topics in Catalysis* 5: 95-103.

-
- 37- Mukhopadhyay, M. (2000). Natural extracts using supercritical carbon dioxide. CRC press. Boca Raton, FL.
 - 38- Huston, C. K., & Ji, H. (1991). Optimization of the analytical supercritical fluid extraction of cloves via an on-column interface to an ion trap GC/MS system. *Journal of agricultural and food chemistry*. 39(7): 1229-1233.
 - 39- França L.F., Reber G., Meireles M.A., Machado N.T., Brunner G. (1999). Supercritical extraction of carotenoids and lipids from buriti (*Mauritia flexuosa*), a fruit from the Amazon region. *Journal of Supercritical Fluids*. 14: 247-256.
 - 40- De Lucas A., de la Ossa E.M., Rincon J., Blanco M.A., Gracia I. (2002). Supercritical fluid extraction of tocopherol concentrates from olive tree leaves. *Journal of Supercritical Fluids*. 22 : 221-228.
 - 41- Moldao-Martins M., Palavra A., Beiro da Costa M.L., Bernardo-Gil M.G. (2000). Supercritical CO₂ extraction of *Thymus zygis* L. subsp. *sylvestris* aroma. *Journal of Supercritical Fluids*. 18 : 25-34.
 - 42- Mc Hugh, M.A., Krukoni, V.J. (1994). *Supercritical fluids extraction : Principales and practice*, 2nd ed. Butterworth-Heinemann, Boston.
 - 43- Marongiu, B., Piras, A., Pani, F., Porcedda, S., Ballero, M. (2003). Extraction, Separation and isolation of essential oils from natural matrices by Supercritical CO₂. *Flavor Fragra. J.* 18: 505-509.
 - 44- Fauron, R., Moatti, R., Donadieu, Y. (1984). *Guide pratique de phytothérapie*. Ed Maloine. Paris.
 - 45- Pelser, P.B., A.H. Kennedy, E.J. Tepe, J.B. Shidler, B. Nordenstam, J.W. Kadereit & L.E. Watson (2010). Patterns and causes of incongruence between plastid and nuclear Senecioneae (Asteraceae) phylogenies. *American Journal of Botany* 97: 856-873.
 - 46- Anderberg, A.A. (1991). Taxonomy and phylogeny of the tribe Inulaeae (Asteraceae). *Plant Systematics and evolution*. 176:75-123.
 - 47- Yu, S., Nai-Shen, B., Bing-Nan, Z. (1996). Kaurane glycosides from *Inula Britannica*. *Phytochemistry*. 42 :783-786.
 - 48- Quézel, P., Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Paris. Ed. CNRS, 2.
 - 49- Parolin, P., Ion Scotta, M., Bresch, C. (2014). Biology of *Dittrichia viscosa*, a Mediterranean ruderal plant. *International Journal of experiments*. 83 :251-262.
 - 50- Stavrianakou, S., Liakoura, V., Levizou, E., Karageorgou, P., Delis, C., Liakopoulos, G., Karabourniotis, G., Manetas, G., Manetas, Y., (2005). Allelopathic effects of water-soluble leaf epicuticular material from *Dittrichia viscosa* on seed germination of crops and weeds. *Allelopathy Journal*. 14: 35-41.
 - 51- Benayache, S., Benayache, F., Dendougui, H., & Jay, M. (1991). Les flavonoïdes d'*Inula viscosa* L. *Plantes médicinales et phytothérapie*. 25 (4) : 170-176.
 - 52- Nikolakaki, A., Christodoulakis, N.S. (2004). Leaf structure and cytochemical investigation of secretory tissues in *Inula viscosa*. *Botanical Journal of the Linnean society*. 144 (4): 437-448.
 - 53- Stavrianakou, S., Liakopoulos, G., Karabourniotis, G. (2006). Boron deficiency effects on growth, photosynthesis and relative concentrations of phenolics of *Dittrichia viscosa* (Asteraceae). *Environmental and Experimental Botany*. 56 : 293-300.
 - 54- Abraham Fahn. (1988). Secretory tissues in vascular plants. *New Phytol journal*. 108: 229-257.
 - 55- Omezzine, F., Rinez, A., A. Ladhari, M. Farooq & R. Haouala (2011). Allelopathic potential of *Inula viscosa* against crops and weeds. *International Journal of Agriculture and Biology*. 13: 841-849.

-
- 56- Karamenderes, C., Zeybek, U. (2000). Composition of the Essential Oils of *Inula viscosa*, *I. graveolens* and *I. helenium* subsp. *turcoracemosa*. Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University. 33: 1-5.
- 57- Gianfranco, F., Salvatore, L.R., Salvatore, P., Maria P.P. (2007). Sesquiterpene compounds from *Inula viscosa*. Natural Product Research. 21: 824- 827
- 58- Danino, O., Gottlieb, H. E., Grossman, S., Bergman, M. (2009). Antioxidant activity of 1,3-dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscosa*. Food research international. 42(9): 1273-1280.
- 59- Seca, A., Grigore, A., Pinto, D., Silva, A. (2014). The genus *Inula* and their metabolites; from ethnopharmacological to medicinal uses. Journal of ethnopharmacology. 154: 286-310.
- 60- Rozenblat, S., Grossman, S., Bergman, M., Gottlieb, H., Cohen, Y., Dovrat, S. (2008). Induction of G2/M arrest and apoptosis by sesquiterpene lactones in human melanoma cell lines. Biochemical Pharmacology. 75: 369–382.
- 61- Al-Qudah, M.A., Al-Jaber, H.I., Mayyas, A.S., Abu-Orabi, S.T., Abuzarga, M.H. (2010). Chemical compositions of essential oil from the Jordanian Medicinal plant *Dittrichia viscosa*. Jordan Journal of Chemistry. 5: 343-348.
- 62- Grande, M., Torres, P., Piera, F., & Bellido, I. S. (1992). Triterpenoids from *Dittrichia viscosa*. Phytochemistry. 31(5): 1826-1828.
- 63- Cum, G.; Spadaro, A.; Gallo, R. (2001). *Inula viscosa* (L.) Aiton. Parte I: Un secolo di ricerche chimiche. *Essenze e derivati agrumari*. 71(3): 151-169.
- 64- Grande M., Piera F., Cuenca A., Torres P. & Bellido S. (1985). Flavonoids from *Inula viscosa*. *Planta Medica*. 5 : 414-419.
- 65- Zhang, W.Y., Lee, J.-J., Kim, I.S., Kim, Y., Park, J.S., Myung, C.-S. (2010). 7-O-Methylaromadendrin stimulates glucose uptake and improves insulin resistance in vitro. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 33: 1494–1499.
- 66- Talib, W.H., Zarga, M.H.A., Mahasneh, A.M. (2012). Antiproliferative, antimicrobial and apoptosis inducing effect of compounds isolated from *Inula viscosa*. *Molecules journal*. 17: 3291–3303.
- 67- Fournier, P. (1947-1948). *Plantes Médicinales et Vénéneuses de France*. 3 vols. Ed Paul Lechevalier. Paris.
- 68- Ulubelen, A., Öksüz, S., Gören, N. (1987). Sesquiterpene acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry journal*. 26: 1223–1224.
- 69- Chiarlo, B. (1968). Sui costituenti dell'*Inula viscosa* Ait. Contenuto in azuleni dell'olio essenziale. *Boll. Chim. Farm.* 107(6): 370-382.
- 70- De Laurentis, N., Lossaco, V., Millilo, M.A., Lai, O. (2002). Chemical investigations of volatile constituents of *Inula viscosa* (L.) Aiton (Asteraceae) from different areas of Apulia, Southern Italy. *Delpinoa*. 44: 115-119.
- 71- Al-Qura'n, S. (2009). Ethnopharmacological survey of wild medicinal plants in Showbak, Jordan. *J. Ethnopharmacol.* 123(1): 45-50.
- 72- DAISIE. (2010). Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe, <http://www.europealiens.org>.
- 73- Amin, S., Kaloo, Z. A., Singh, S., Altaf, T. (2013). Medicinal Importance of Genus *Inula*-A Review. *Int J Cur Res Rev*. 5(02): 20-26.
- 74- Al-Dissi, N. M., Salhab, A. S., & Al-Hajj, H. A. (2001). Effects of *Inula viscosa* leaf extracts on abortion and implantation in rats. *Journal of ethnopharmacology*. 77(1): 117-121.
- 75- Schinella, G. R., Tournier, H. A., Prieto, J. M., De Buschiazzo, P. M., Riós, J. L. (2002). Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life sciences*. 70(9): 1023-1033.

-
- 76- Trimech, I., Weiss, E. K., Chedea, V. S., Marin, D., Detsi, A., Ioannou, E., Roussis, V., Kefalas, P. (2014). Evaluation of Anti-oxidant and Acetylcholinesterase Activity and Identification of Polyphenolics of the Invasive Weed *Dittrichia viscosa*. *Phytochemical Analysis*. 25 (5) :421-428.
- 77- Merghoub, N, Benbacer, L., Amzazi, S., Morjani, H., Elmzibri, M. (2009). Cytotoxic effect of some Moroccan medicinal plant extracts on human cervical cell lines. *Journal of Medicinal Research*. 3(12): 1045-1050.
- 78- Nawafleh, E., Irshedat, M., Bataineh, T., Muhaidat, R., Al-Qudah, M., Alomary, A. (2012). The effects of *Inula viscosa* extract on corrosion of copper in NaOH solution. *Research Journal of Chemical Sciences*. 2(9) : 37-41.
- 79- Haoui, I., Derriche, R., Madani, L., Oukali, Z. (2011). Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula Viscosa* (L). *Arabian Journal of Chemistry*. Doi: 10.1016/J.arabjc.2011.05.005.
- 80- Madani,L., Derriche,R., Haoui.I-E .,(2014). Essential oil of Algerian *Inula Viscosa* leaves. *Journal of essential oil bearing plants*.17 (1): 164-168.
- 81- Reverchon.E. (1997). Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. *Journal of Supercritical fluids*. 10: 1-37.
- 82- Reverchon, E., De Marco, I. (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *Journal of Supercritical fluids*. 38: 146-166.
- 83- Meletiyou-Christou, M.S., Banilas, G.P., Diamantoglou, S. (1998). Seasonal trends in energy contents and storage substances of the Mediterranean species *Dittrichia viscosa* and *Thymelaea tartonraira*. *Environmental and Experimental Botany* 39: 21-32.
- 84- Salgin,U., Döker,O., Calimli,A. (2006).extraction of sunflower oil with supercritical CO₂ : Experimental and modeling.*Journal of supercritical Fluids* 38:326-331.
- 85- Zhang,S., Zu,Y-G., Luo,M., Liu,W., Li,J., Efferth,T. (2010) .Supercritical carbon dioxide extraction of seed oil from yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.) and its anti-oxidant activity. *Bioresource Technology*.101: 2537-2544.
- 86- Aleksovski, S., Sovova, H., Poposka F.A., Kulevanova, S., Ristic, M. (1999). Comparison of essential oils obtained from *Mentha piperita* L. using supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation. *Acta Pharm*. 49:51-57.
- 87- Roj, E., Skowronski, B. (2006). Modeling of hop extraction under supercritical conditions. *Przemysl Chemiczny*. 85 : 1140-1141.
- 88- Pourmortazavi, S.M., Hajimirsadeghi, S.S. (2007). Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of Chromatography A*. 1163: 2–24.
- 89- Wu, W. and Hou, Y. (2001).Mathematical modeling of extraction of egg yolk oil with supercritical CO₂, *J. Supercrit Fluids*. 19: 149-159.
- 90- Papamichail, I., Louli, V., Magoulas, K. (2000). Supercritical Fluid extraction of celery seed oil, *J. Supercrit Fluids*. 18: 213-226.
- 91- Lu, T., Gasper, F., Mariott, R., Mellor, S., Watkinson,C., Al-Duri,B., Seville, J., Santos, R., (2007). Extraction of borage seed oil by compressed CO₂: Effect of extraction parameters and modelling. *Supercritical fluid J*. 41:68-73
- 92- Ozkal, S.G, Yener, M.E, Baymdirli, L. (2005). Mass transfer modelling of kernel oil extraction with supercritical carbon dioxide, *Supercritical fluid J*. 35: 119-127.
- 93- Hawthorne, S. B., Grabanski, C. B., Martin, E., Miller, D. J. (2000). Comparisons of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix. *Journal of Chromatography A*. 892(1): 421-433.
- 94- Weathers, R. M., Beckholt, D. A., Lavella, A. L., Danielson, N. D. (1999). Comparison of acetals as in situ modifiers for the supercritical fluid extraction of β -carotene from

-
- paprika with carbon dioxide. *Journal of liquid chromatography & related technologies*. 22(2): 241-252.
- 95- Miller, K.G., Poole, C.F., Chichila, T.M.P. (1995). Solvent-assisted supercritical fluid extraction for the isolation of semi volatile flavor compounds from the cinnamons of commerce and their separation by series-coupled column gas chromatography. 18(8): 461-471.
- 96- King, M.B., Bott, (1993). Extraction of natural products using near critical solvents. Chapman and Hall. T.R.Eds.springer Science & Business Media. 981-987.
- 97- Sovová, H. (2012). Modeling the supercritical fluid extraction of essential oils from plant materials. *Journal of Chromatography A*.1250: 27-33.
- 98- Bartle, K. D., Clifford, A. A., Hawthorne, S. B., Langenfeld, J. J., Miller, D. J., Robinson, R. (1990). A model for dynamic extraction using a supercritical fluid. *The Journal of Supercritical Fluids*. 3(3): 143-149.
- 99- Reverchon, E., Donsi, G., Sesti Osseo, L. (1993). Modeling of supercritical fluid extraction from herbaceous matrices. *Industrial & engineering chemistry research*. 32(11) : 2721-2726.
- 100- Esquivel, M. M., Bernardo-Gil, M. G., King, M. B. (1999). Mathematical models for supercritical extraction of olive husk oil. *The Journal of Supercritical Fluids*. 16(1): 43-58.
- 101- Sovová, H. (1994). Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂.I.Modelling of extraction curves. *Chem Eng Sci*. 49: 409-414.
- 102- Reverchon, E. (1996). Mathematical modeling of supercritical extraction of sage oil. *AIChE Journal*. 42(6): 1765-1771.
- 103- Bulley, N. R., Fattori, M., Meisen, A., Moyls, L. (1984). Supercritical fluid extraction of vegetable oil seeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 61(8): 1362-1365.
- 104- Goto, M., Roy, B. C., Kodama, A., Hirose, T. (1998). Modeling Supercritical Fluid Extraction Process Involving Solute-Solid Interaction. *Journal of chemical engineering of Japan*. 31(2): 171-177.
- 105- Reverchon, E., Marrone, C. (1997). Supercritical extraction of clove bud essential oil: isolation and mathematical modeling. *Chemical Engineering Science*. 52(20): 3421-3428.
- 106- Goodarznia, I., Eikani, M. H. (1998). Supercritical carbon dioxide extraction of essential oils: Modeling and simulation. *Chem. Eng. Sci*. 53:1387-1395.
- 107- Reverchon, E., Marrone, C. (2001). Modeling and simulation of the supercritical CO₂ extraction of vegetable oils. *J. Supercrit. Fluids*.19: 161-175.
- 108- Carvalho, R. H. R., Galvao, E. L., Barros, J. A. C., Conceicao, M. M., Souza, E. M. B. D. (2012). Extraction fatty acid profile and antioxidant activity of sesame extract (*Sesamum Indicum* L.). *Braz. J. Chem. Eng*. 29 (2): 409-420.
- 109- Coelho, J. P., Cristino, A. F., Matos, P. G., Rauter, A. P., Nobre, B. P., Mendes, R. L., Palavra, A. F. (2012). Extraction of volatile oil from aromatic plants with supercritical carbon dioxide: experiments and modeling.*Molecules*. 17(9): 10550-10573.
- 110- Stamenić, M., Zizovic, I., Orlović, A., & Skala, D. (2008). Mathematical modelling of essential oil SFE on the micro-scale—Classification of plant material. *The Journal of Supercritical Fluids*. 46(3): 285-292.
- 111- Zizovic, I., Stamenić, M., Orlović, A., & Skala, D. (2007). Supercritical carbon dioxide extraction of essential oils from plants with secretory ducts: Mathematical modelling on the micro-scale. *The journal of supercritical fluids*.39(3) : 338-346.
- 112- Filho, C.A., MB, S., Macedo, E.A. (2003). Tracer diffusion coefficients of citral and D-limonene in supercritical carbon dioxide. *Fluid Phase Equilibria*. 204: 65-73.

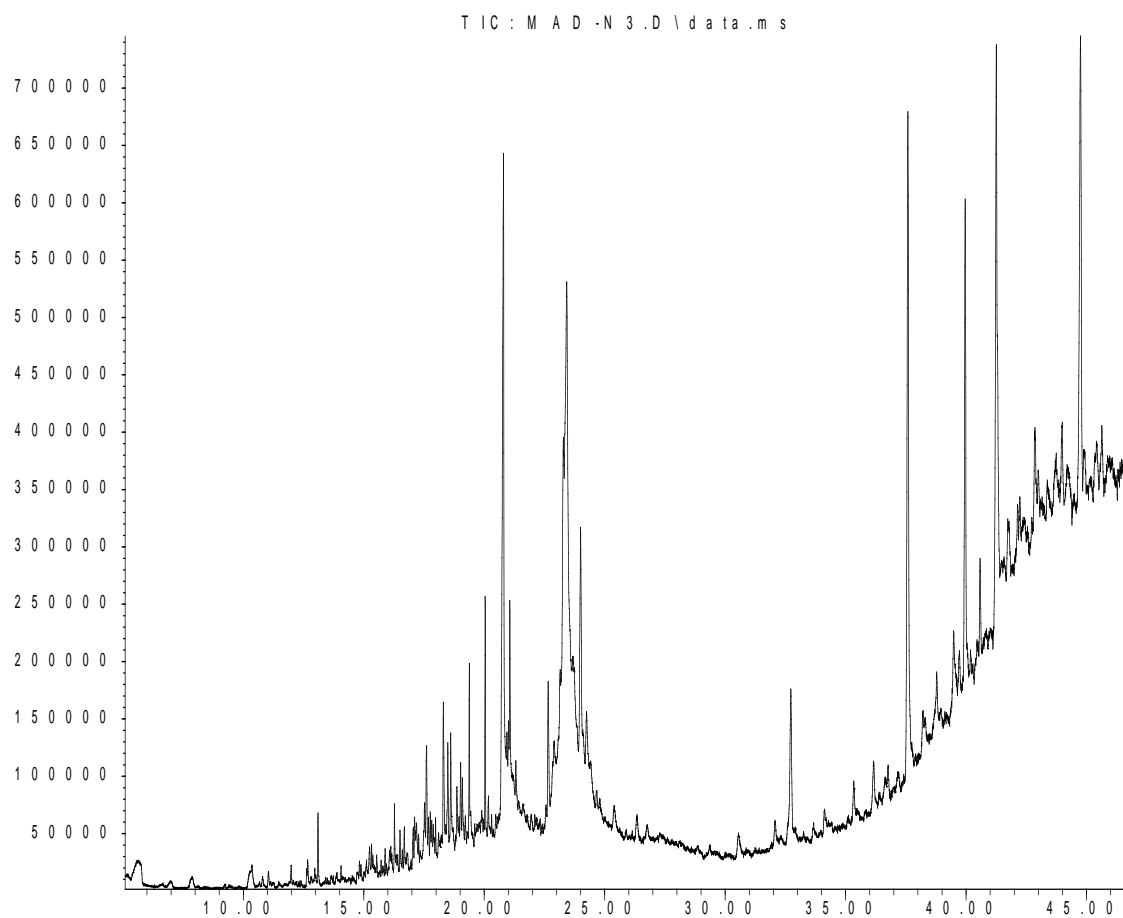
-
- 113- Naik, S. N., Lentz, H., Maheshwari, R. C. (1989). Extraction of perfumes and flavours from plant materials with liquid carbon dioxide under liquid—vapor equilibrium conditions. *Fluid Phase Equilibria*. 49: 115-126.
- 114- Crank, J. (1976). *The mathematics of diffusion*, 3rd Ed. Clarendon press, Oxford, London.
- 115- Hong, I. K., Rho, S. W., Lee, K. S., Lee, W. H., Yoo, K. P. (1990). Modeling of soybean oil bed extraction with supercritical carbon dioxide. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 7(1): 40-46.
- 116- Pfaf-Šovljanski, I. I., Grujić, O. S., Peruničić, M. B., Cvetković, I. M., Zeković, Z. P. (2005). Supercritical carbon dioxide hop extraction. *Acta periodica technologica*. 36: 111-122.
- 117- Silva, C. F., Mendes, M. F., Pessoa, F. L. P., Queiroz, E. M. (2008). Supercritical carbon dioxide extraction of macadamia (*Macadamia integrifolia*) nut oil: experiments and modeling. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 25(1) : 175-181.
- 118- Stamenic, M., Zizovic, I., Eggers, R., Jaeger, P., Heinrich, H., RóJ, E., Skala, D. (2010). Swelling of plant material in supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*. 52(1): 125-133.
- 119- Sovovà, H. (2012). Apparent solubility of natural products extracted with near-critical carbon dioxide. *American journal of analytical chemistry*. 3: 958-965.
- 120- Rodriguez, V.M.R., Rosa, P.I. V., Marques, M.O.M., Petenate, A.J., Meireles, M.A.A. (2003). Supercritical extraction of essential oil from Aniseed (*Pimpinella anisum* L.) using CO₂ : Solubility, Kinetics and composition data. *J Agric Food Chem*. 51: 1518-1523.
- 121- Bensebia, O., Barth, D., Bensebia, B., Dahmani, A. (2009). Supercritical CO₂ extraction of rosemary: Effect of extraction parameters and modeling. *The Journal of Supercrit Fluids*. 49: 161-166.
- 122- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*. 12(4): 564-582.
- 123- Rawat, S., Bhatt, I.D., Rawal, A.S. (2011). Total phenolic compounds and antioxidant potential of *Hedychium spicatum* Buch. Ham. ex D. Don in west Himalaya, India. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24(4): 574–579.
- 124- Zrira, S., Benjilali, B., Elmrani, A. (2005). Chemical Composition of the Sawdust Oil of Moroccan *Tetraclinis articulate* (Vahl). *Journal of Essential Oil Research*. 17: 96- 97
- 125- Lamia, A., Moktar, H. (2003). Fermentative decolorization of olive mill wastewater by *Lactobacillus plantarum*. *Process Biochemistry*. 39(1): 59-65.
- 126- Bendjilali, B., Tantaoui, E., Ayade, A. (1986). Méthodes d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé Plantes médicinales et phytothérapie .Tome 20 n°2 :155-167.
- 127- Omezzine, F., Remadi, M.D, Rinez, A. (2011). In vitro assessment of *Inula* spp. organic extracts for their antifungal activity against some pathogenic and antagonistic fungi. *African Journal of Microbiology Research*. 5(2): 3527-3531.
- 128- Manez, S., del Carmen Recio, M., Gil, I., Gómez, C., Giner, R. M., Waterman, P. G., Ríos, J. L. (1999). A Glycosyl Analogue of Diacylglycerol and Other Antiinflammatory.
- 129- Hamdi Pacha, Y., Belkhiri, A., Benazzouz, M., Benhamza, L., & Bensegueni, L. (2002). Evaluation de l'activité cicatrisante suite à des brûlures expérimentales de quelques plantes algériennes. *Revue Méd. Pharm. Afri*. 16 : 1-7.

130- Maoz, M., Neeman, I. (1998). Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. Letters in applied microbiology. 26 : 61-63.

Annexes

Chromatogramme de l'extrait obtenu par le SC-CO₂ (40°C , 400bar, 2ml/min, feuilles de l'IV sèches H=13% ; d_p=425µm)

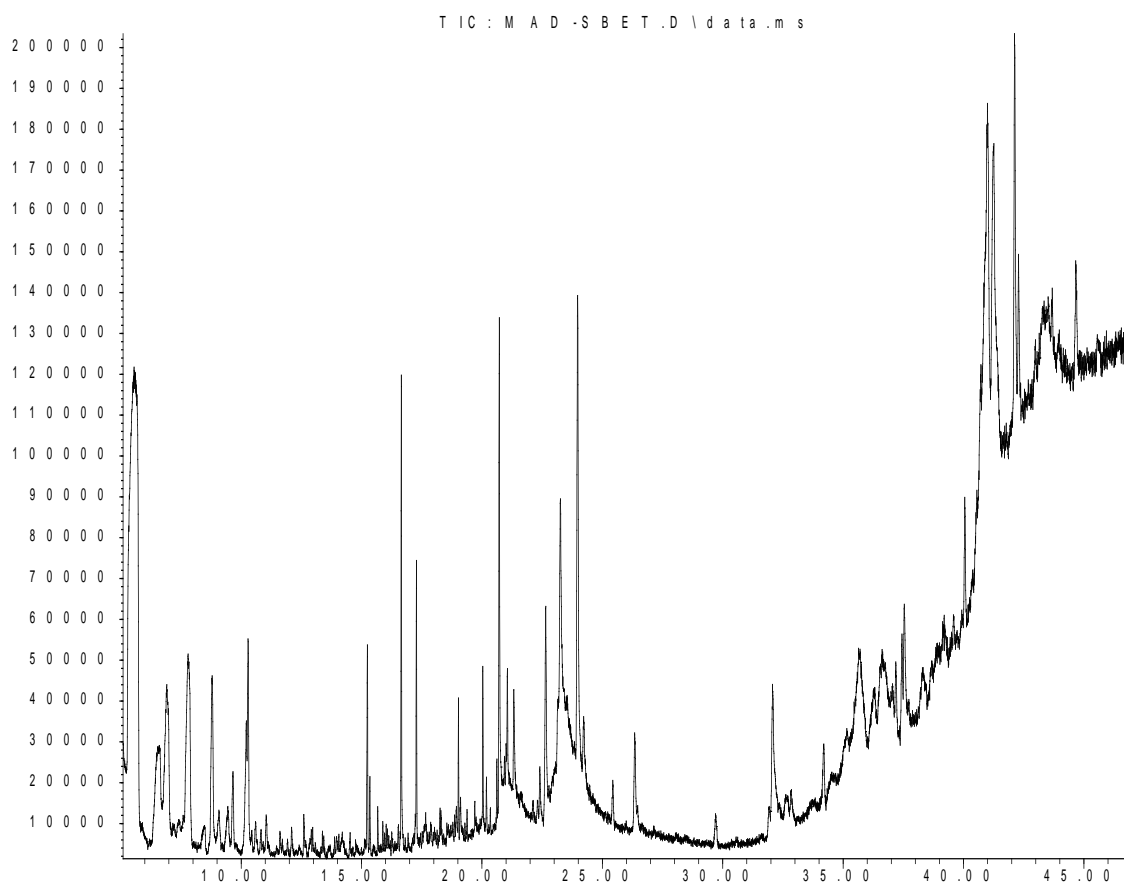
Abundance

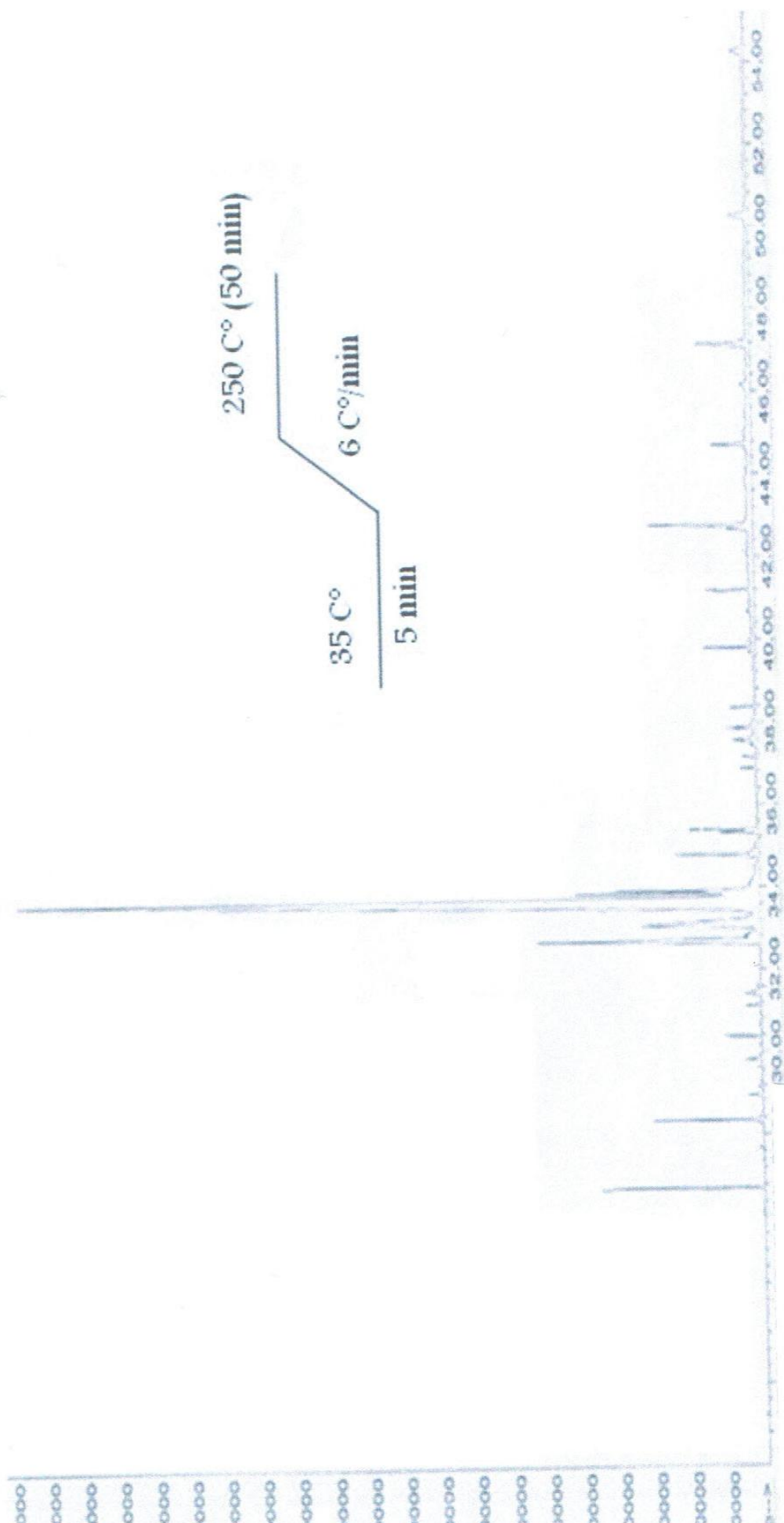


Time -->

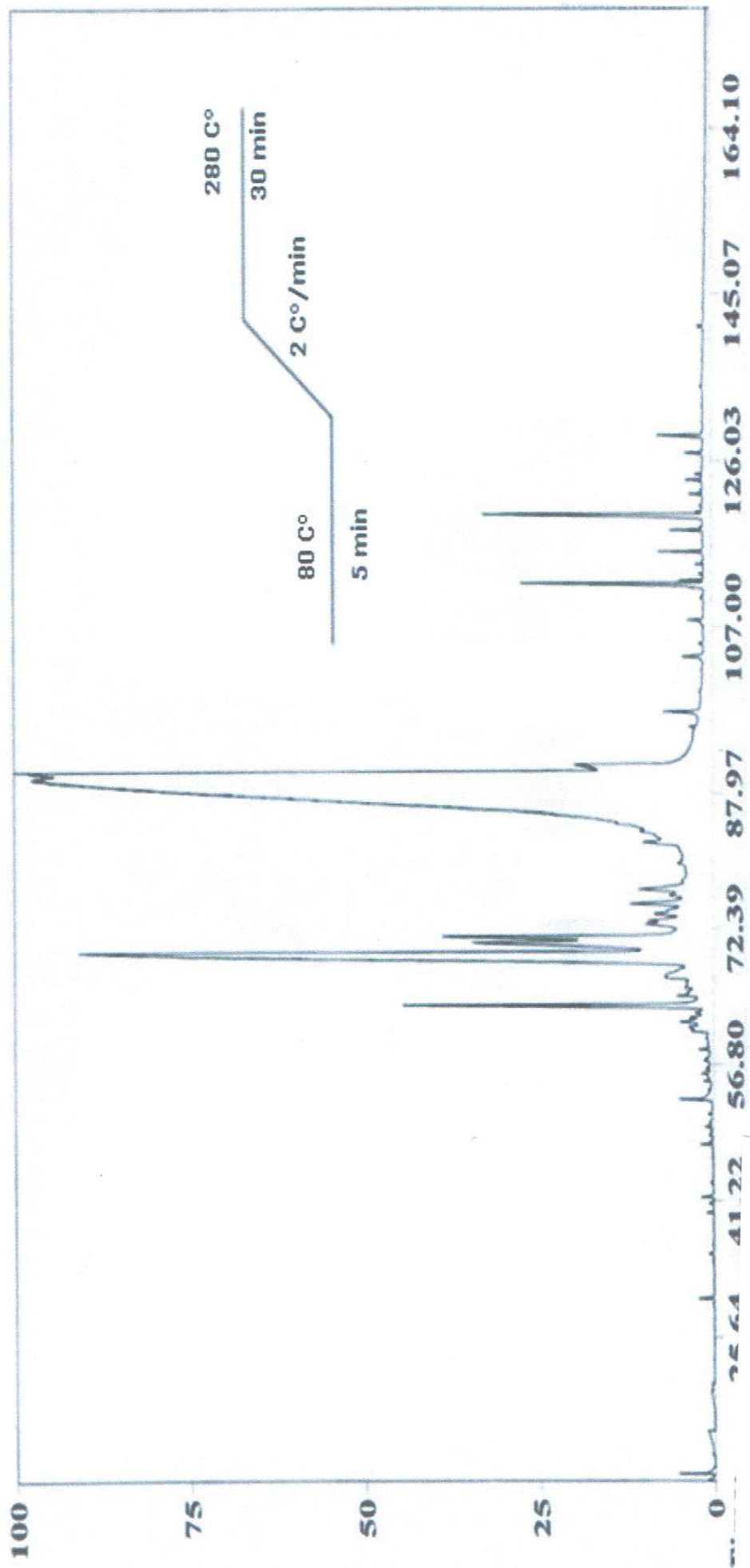
Chromatogramme de l'extrait obtenu par le SBETH (125°C, 80bar, 2ml/min, feuilles de l'I.V sèches H=13% ; d_p=425µm)

Abundance

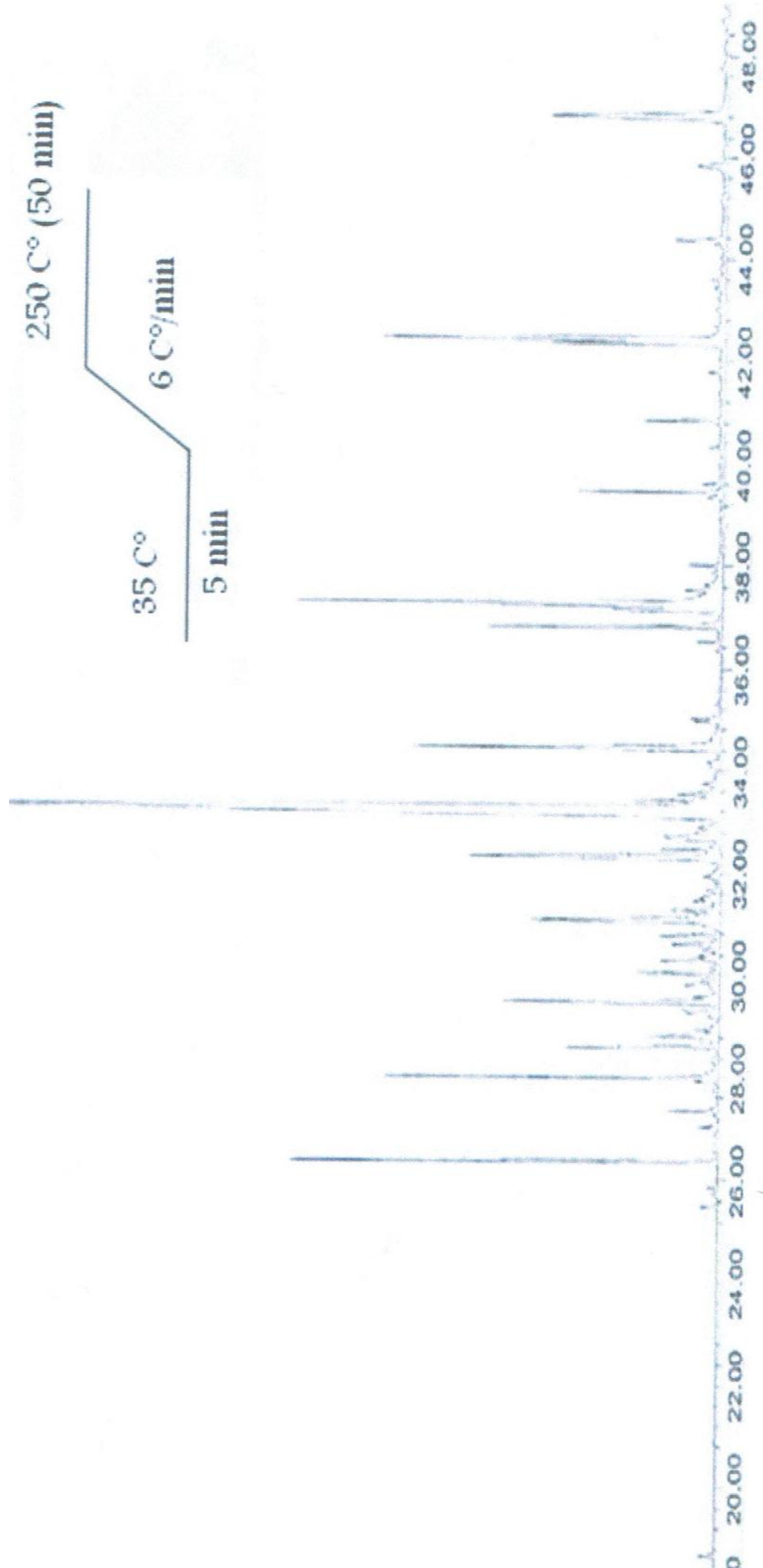




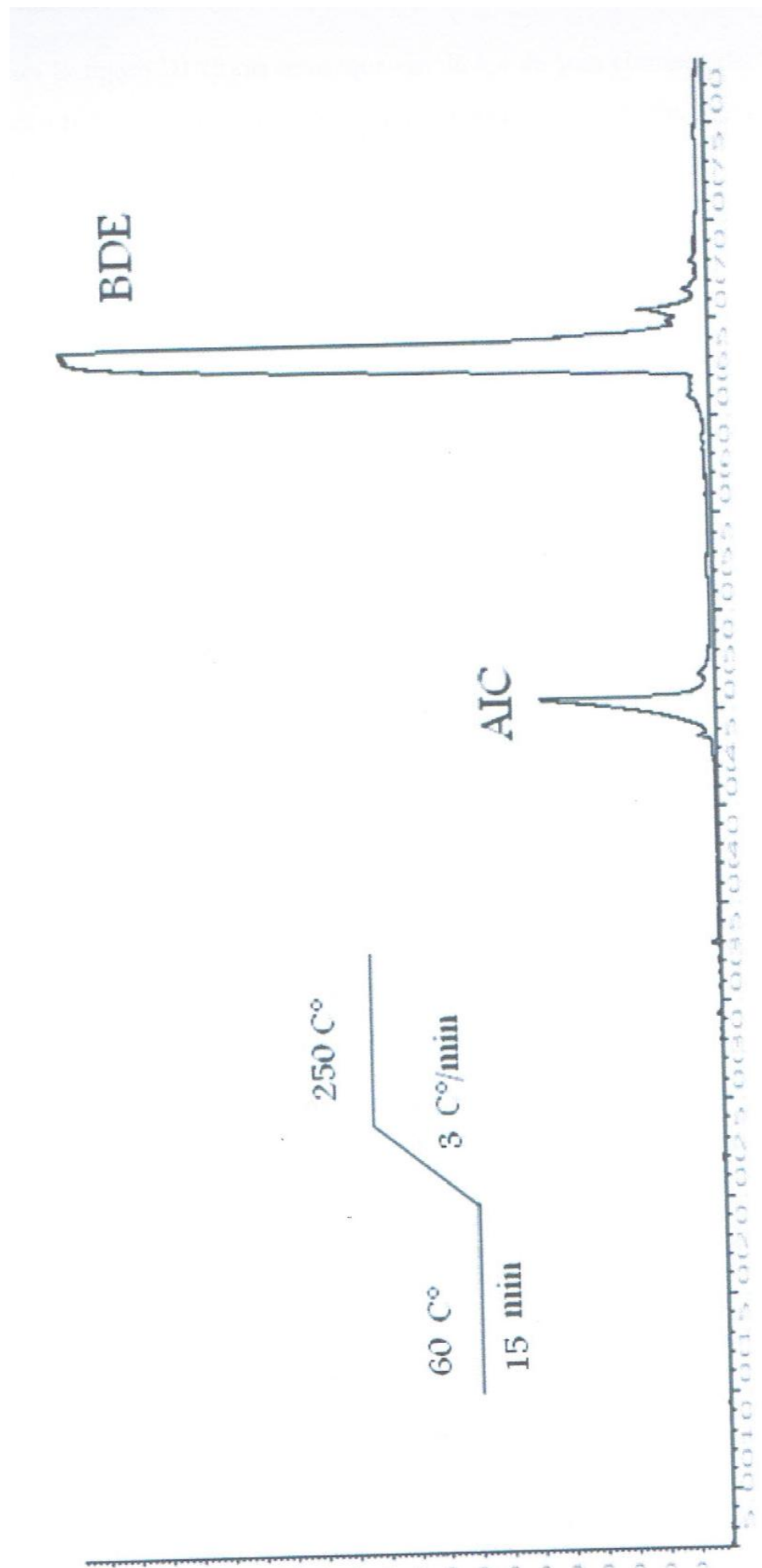
: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par EVE, Lot de Mars.



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



Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par HD, Lot de Mars.



--- 111 44 ; Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue par EVE, lot de Juin.