

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et la Vie
Département de Biologie des Populations et Organismes
Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme de
Master en Science de la Nature et de la Vie
Option : Phytothérapie et Santé

THEME

Evaluation de quelques activités biologiques de
l'huile essentielle de l'inule visqueuse
(Inula viscosa)

Présenté par

**Beldjillali Fatima
Madouni Nora**

Devant le jury composé de :

| | | | |
|------------------|-----|--------------------|---------------|
| Mme Amedjkouh.H. | MAA | Université Blida 1 | Présidente |
| Mme Amara N. | MAA | Université Blida 1 | Examinatrice |
| Mme Faidi H. | MAB | Université Blida 1 | Promotrice |
| Mlle Chebata N. | MAB | Université Blida 1 | Co-Promotrice |

❧ Promotion: 2015-2016 ❧

Remerciement

En premier lieu, je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Ce travail n'aurait pu se faire sans le soutien de mes parents que je remercie de tous cœur pour leurs encouragements.

Un immense merci au personnel du laboratoire de Microbiologie et Physicochimie de l'unité Antibiotical de Saïdal- Médéa et le laboratoire d'Hygiène de la wilaya de Blida.

Mes remerciements les plus profonds vont à ma promotrice Mme Faïdi H et Co-promotrice Mme Chebata N, qui nous devons beaucoup d'estimation et de respect pour l'intérêt qu'elles ont porté à ce travail et leur grande disponibilité à mon égard ainsi que ses judicieux conseils, ses orientations et ses encouragements durant toute la période de formation et de la réalisation de ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements aux membres du jury qui ont été mes professeurs durant mon cycle Mme Amedjkouh et Mme Amara N.

Toutes mes salutations à tous mes collègues de la promotion de master 2016 pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble. Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de mes très vifs remerciements.

Dédicace

À ma famille, et en particulier, à ma mère *Aïcha* pour tout ce qu'elle a fait durant mes années d'étude que j'honneur ce succès, et à mon père *Ali* pour son soutien moral.

À mon frère *Youcef* et mes sœurs *Rahima* et *Ghania*.

À vous *Sabah* qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours.

À mes camarades *Ahlem* et *Fatima*.

À mes cousins et cousines.

À tous mes amis de l'université et d'ailleurs.

À tous ceux qui me sont cher.

Nora

Dédicace

*A celle qui m'attendue avec patience pour les fruits
de sa bonne éducation,*

A ma mère Safia

*A celle qui ma indiqué la bonne voie en me rappelant que
la volonté fait toujours,*

A ma sœur Sabrina,

A toute ma famille.

À tous mes amis de l'université et d'ailleurs.

A tous ceux qui me sont cher.

A tous ceux qu'on crut en mes succès.

FATIMA

Résumé

Ce travail a pour objectif la valorisation d'une espèce médicinale, *Inula viscosa*, par la mise en évidence des propriétés antimicrobienne et antioxydante de son huile essentielle. Cette dernière extraite par hydrodistillation, à partir des feuilles séchées a donné un rendement de 0,12%. L'analyse phytochimique qualitative réalisée sur les feuilles d'*Inula viscosa* a mis en évidence la présence des flavonoïdes, des tanins, des coumarines et des saponosides. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle testée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé a démontré un effet inhibiteur sur les souches de bactériennes notamment *Pseudomonas aeruginosae* et *Staphylococcus aureus* avec des diamètres des zones d'inhibition de 13mm et 15mm, respectivement. Elle a, également, manifesté un effet antifongique particulièrement *Candida dubliniensis* avec une zone d'inhibition de 14mm. Le pouvoir antioxydant a été évalué par la technique de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Les résultats montrent que cette huile essentielle possède une activité antioxydante modérée en comparaison avec le produit de référence l'acide ascorbique.

Mots clés: *Inula viscosa*, huile essentielle, feuilles, activité antioxydante, activité antimicrobienne, hydrodistillation.

Abstract

This work aims to increase the value of medicinal species *Inula viscosa*, by highlighting the antimicrobial and antifungal properties of essential oil. The latter extracted by steam distillation from the dried leaves gave a yield of 0.12%. The qualitative phytochemical analysis performed on the leaves of *Inula viscosa* showed the presence of flavonoids, tannins, coumarins and saponins. The antimicrobial activity of the essential oil tested by diffusion method on agar medium showed an inhibitory effect on bacterial strains including *Pseudomonas aeruginosae* and *Staphylococcus aureus* with diameters of zones of inhibition of 13mm and 15mm, respectively. She, too, expressed antifungal effect particularly *Candida dubliniensis* with a 14mm zone of inhibition. The antioxidant capacity was evaluated by trapping technique of free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). The results show that essential oils have moderate antioxidant activity in comparison with the reference product ascorbic acid.

Keywords: *Inula viscosa*, essential oil, leaves, antioxidant activity, antimicrobial activity, steam distillation.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى زيادة قيمة الأنواع الطبية، الراسن اللزج، من خلال تسليط الضوء على خصائص مضادة للميكروبات والفطريات من الزيت العطري. هذا الأخير المستخرج عن طريق التقطير بالبخار من الأوراق المجففة أعطى العائد 0.12%. وأظهر التحليل الكيميائي النباتي النوعي أجري على أوراق الراسن اللزج وجود مركبات الفلافونويد و العفص والكومارين والصابونين. أظهر نشاط مضادات الميكروبات ان لها تأثير كاج بشكل خاص على السلالات البكتيرية بما في ذلك الزائفة والمكورات العنقودية بأقطار تثبيط 13مم و 15مم على التوالي. ولها أيضا تأثير مضاد للفطريات وخاصة المبيضات ب 14مم. تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة من خلال تقنية DPPH الجذور الحرة (2،2-ثنائي-1-1-picrylhydrazyl). وأظهرت النتائج أن الزيوت العطرية لها نشاط مضاد للأكسدة معتدلة بالمقارنة مع حامض الاسكوربيك.

كلمات البحث: *Inula viscosa* الراسن اللزج، أوراق، الزيت العطري، النشاط المضادة للأكسدة، النشاط المضادة للميكروبات، التقطير بالبخار.

Liste des figures

Liste des figures

| | |
|--|----------|
| Figure 1. Les feuilles <i>d'Inula viscosa</i> | 4 |
| Figure 2. Les fleurs d' <i>Inula viscosa L.</i> | 5 |
| Figure 3. Répartition géographique de l'inule visqueuse..... | 6 |
| Figure 4. Dispositif d'hydrodistillation, le Clevenger..... | 9 |
| Figure 5. Dispositif de d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau..... | 10 |
| Figure 6. Pourcentages de réduction du radical libre (DPPH) par l'HE <i>d'Inula viscosa</i> | 24 |
| Figure 7. Pourcentages de réduction du radical libre (DPPH) par l'Acide Ascorbique..... | 24 |
| Figure 8. Pourcentages de réduction du radical libre (DPPH) par l'HE <i>d'Inula viscosa</i> ainsi que l'Acide Ascorbique..... | 26 |
| Figure 9. Résultats phytochimique..... | Annexe 1 |
| Figure 10. Zones d'inhibition de la croissance microbienne..... | Annexe 2 |

Liste des tableaux

Liste des tableaux

| | |
|--|----------|
| Tableau 1. Les souches microbiennes testées ainsi que leurs références..... | 13 |
| Tableau 2. Différents groupements chimiques retrouvés dans les feuilles <i>d'Inula viscosa</i> | 21 |
| Tableau 3. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle <i>d'Inula viscosa</i> | 22 |
| Tableau 4. Diamètres des zones d'Inhibition de la croissance, bactérienne et fongique, par l'huile essentielle <i>d'Inula viscosa</i> | 23 |
| Tableau 5. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE..... | Annexe 3 |
| Tableau 6. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique..... | Annexe 3 |
| Tableau 7. Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres..... | Annexe 3 |

Liste des abréviations

Liste des abréviations

HE: Huiles Essentielles.

AFNOR: Association Française de Normalisation.

AFSSAPS : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé

ISO : Organisation internationale de normalisation

ATCC: American Type Collection Culture.

DPPH : Radical 2.2 diphényle-1-picrylhydrazyl.

NH₄OH : Ammoniaque.

DO : densité optique.

IC₅₀ : concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres.

PI : pourcentage d'inhibition.

°C : Degré Celsius.

MH: milieu de Mueller Hinton.

SAB : milieu de Sabouraud.

Abs : Absorption.

FeCl₃ : Chlorure de fer.

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

H₂SO₄ : l'acide sulfurique

N : normalité

ZI : Zone d'inhibition.

mg : Milligramme.

g : Gramme.

ml : millilitre.

Table des matières

Table des matières

| | |
|-------------------|---|
| Introduction..... | 1 |
|-------------------|---|

Chapitre 1 : Etude bibliographique.

| | |
|--|----|
| 1.1 Etymologie..... | 3 |
| 1.2. Systématique..... | 3 |
| 1.3. Noms vernaculaire..... | 3 |
| 1.4. Description botanique..... | 4 |
| 1.4. Répartition géographique et écologique..... | 6 |
| 1.5- Composition chimique..... | 7 |
| 1.6. Usage thérapeutique..... | 7 |
| 2. Généralités sur l'huile essentielle..... | 9 |
| 2.1-Définition de l'huile essentielle..... | 9 |
| 2.2. Composition chimique..... | 9 |
| 2.3. Procédés d'extraction..... | 10 |
| 2.4. Domaines d'utilisation..... | 12 |
| 2.5. Activités biologiques..... | 12 |
| 3. Le pouvoir antioxydant..... | 12 |
| 3.1. Les radicaux libres..... | 13 |
| 3.2. Stress antioxydant..... | 13 |
| 3.2. Activité anti bactérienne..... | 13 |

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

| | |
|---|----|
| 1. Matériel | 15 |
| 2. Méthodes..... | 16 |
| 2.1. Test phytochimique (screening chimique)..... | 16 |
| 2.2. Extraction de l'huile essentielle..... | 17 |
| 2.3. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle..... | 18 |
| 2.3.1. Propriétés physiques | 18 |

Table des matières

| | |
|--|----|
| 2.3.2. Propriétés chimiques | 19 |
| 2.4. Evaluation des activités biologiques..... | 21 |
| 2.4.1. Activité antimicrobienne..... | 21 |
| 2.4.2. Activité antioxydante..... | 22 |

Chapitre 3 : Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| 1. Le screening chimique..... | 24 |
| 2. Rendement en huile essentielle..... | 25 |
| 3. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle..... | 25 |
| 4. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle..... | 26 |
| 5. Evaluation de l'activité antioxydante (test au DPPH)..... | 27 |
| 6. Conclusion..... | 31 |
| • Références bibliographiques. | |
| • Annexes. | |

Glossaire

Akène : Fruit sec à une seule graine qui se n'ouvre pas à maturité,

Analgésique : Combat la douleur,

Anthelminthiques : Vermifuge,

Anti-inflammatoires : Soulage des inflammations,

Antioxydant : Prévient l'oxydation et l'altération des tissus,

Antipyrétiques : Lutte contre la fièvre,

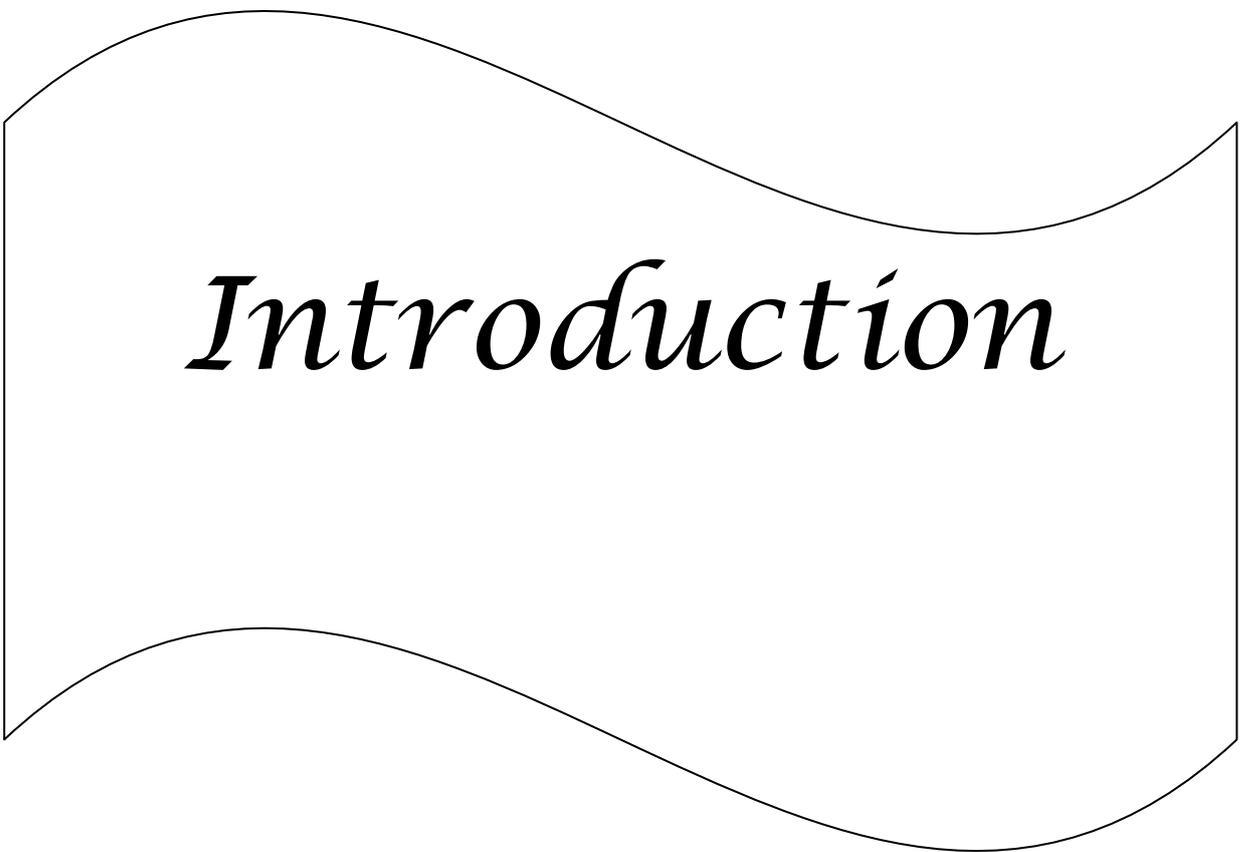
Antiseptique : Détruit les microorganismes responsables des infections,

Astringentes : Renforce les muqueuses et la peau, réduisant ainsi les sécrétions et les saignements,

Emétique : Provoque le vomissement,

Vermifuge : Elimine et évacue les vers intestinaux,

Vulnéraires : Cicatrise les blessures,



Introduction

Introduction générale

Le stress oxydatif est la principale cause initiale de plusieurs maladies: cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, le diabète, et les rhumatismes, maladie de Parkinson et les inflammations gastro-intestinales (**Georgetti et al, 2003; Atawodi, 2005 ; Favier, 2003**).

Le stress oxydant serait également impliqué dans les maladies neurodégénératives, notamment la maladie d'Alzheimer où la mort neuronale qui pourrait être liée à un phénomène d'apoptose impliquant les radicaux libres qui semblent également jouer un rôle non négligeable dans la cancérogenèse, puisque ces espèces peuvent être responsables de mutations dans l'ADN, ce qui constitue un facteur de risque dans l'initiation et le développement du cancer (**Desport et Couratier, 2002**).

Plusieurs antioxydants synthétiques sont utilisés en cosmétiques et dans les huiles végétales (**Guo et al, 2006**). Le gallate de propyle et le butylhydroxyanisole sont des antioxydants phénoliques synthétiques hautement actifs qui agissent en inhibant la chaîne de réactions d'initiation et en réduisant de la peroxydation des acides gras insaturés (**Xiang et al, 2007**). Malgré leur grand pouvoir antioxydant, l'excès de ces antioxydants peut être toxique, responsable de mutagénicité et peut même présenter un danger sur la santé humaine (**Williams., 1994**).

La recherche d'antioxydants naturels comme source alternatives aux antioxydants de synthèse a émergé et l'exploitation des différents métabolites secondaires de la plante à été mis en évidence. Ces substances sont capables de réduire les radicaux libres comme superoxyde, peroxyde, alcoxyde et hydroxyle (**Benhamou et al, 2008**).

De même, plusieurs questions se sont soulevées concernant la sécurité et l'efficacité des produits chimiques utilisés en médecine. En effet, durant les 20 dernières années, il a été prouvé que l'efficacité des antibiotiques a fortement diminué. Les bactéries en sont devenues de plus en plus résistantes. L'usage général des antibiotiques et la prescription à grande échelle parfois inappropriée de ces agents ont entraîné la forte adaptabilité des souches bactériennes et la sélection des souches multi résistantes (**Al-Dissi et al, 2001**).

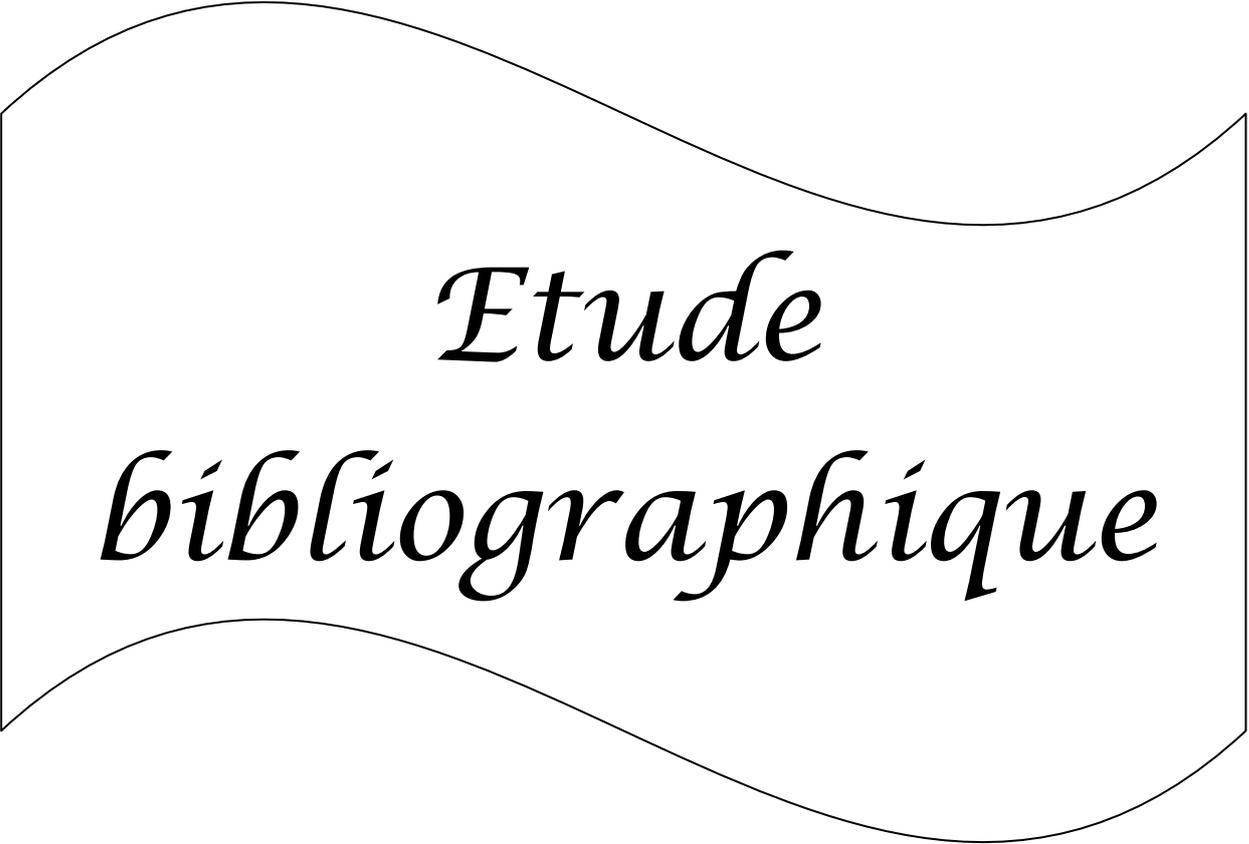
Introduction

De ce fait, le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne et l'oxydation des aliments. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et antioxydant. Ainsi les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (**Bruneton, 1999; Teuscher et al, 2005**). Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses (**Chalchat et al, 1997; Baser et al, 2001**) et pour la protection des aliments contre l'oxydation (**Deans et al, 1994 ; Miguel et al, 2003**).

Des études approfondies sur les composants chimiques des espèces végétales ont conduit à l'identification de plusieurs substances, y compris les huiles essentielles, avec une activité antibactérienne et antioxydante intéressante. Notre choix est porté sur une plante de la famille des Asteraceae : *Inula viscosa*.

L'inule visqueuse est une plante médicinale traditionnelle très utilisée du bassin méditerranéen, à multiples usages, dont les traces sont retrouvées dans de très anciens écrits romains (Pline), hébreux ou arabes. Les inflorescences, les feuilles sont utilisées séchées en tisanes ou des huiles essentielles en sont extraites (**Reeb, 2010**).

L'objectif de notre travail consiste à valoriser *Inula viscosa* sur le plan médicinal, en mettent en évidence l'efficacité de son huile essentielle comme agents antioxydant et antimicrobien.



*Etude
bibliographique*

1. *Inula viscosa* L. (*Dittrichia viscosa* L.)

Inula viscosa appartient à la grande famille des composées, cette famille est l'une des plus distribuées dans le règne végétal et représentée principalement dans les régions tempérées et froides du globe.

Cette grande famille comprend plus de 13 tribus répartis en 1500 genres et 23000 espèces. En Algérie, il en existe 109 genres répartis en 408 espèces. Parmi les genres appartenant à la famille compositae, le genre *Inula* comprend une variété d'environ 90 espèces. Il est largement distribué dans le bassin méditerranéen.(Reeb, 2010).

1.1. Etymologie

Inula viendrait du grec «Inéo» qui signifie «je purge», faisant allusion à une propriété thérapeutique de la plante (**Fauron et Moati, 1983**) d'où le nom d'Aunée visqueuse (**Fournier 1947**).

1.2. Systématique

D'après **Ciccarelli (2007)**, *Inula viscosa* a été rattaché au genre *Dittrichia* (*Dittrichia viscosa*) car elle possède des poils glanduleux sur l'ovaire, ce qui n'est pas le cas des autres espèces du genre *Inula*. **Bock et al. (2015)**, notent que l' inule visqueuse est classée comme suit:

Règne : Plantae.

Embranchement : Spermaphytes.

Classe : Dicotylédones.

Ordre : Astérales.

Famille : Astéracées (Compositae).

Genre : *Dittrichia*.

Espèce : *Dittrichia Viscosa*.

1.3. Noms vernaculaires

- Français : Inule visqueuse. (**LÉGER, 2007**).
- Anglais: Woody fleabane. (**LÉGER, 2007**).
- Arabe: Magramane, Bagramane.
- Berbère: Amagramane ou bayraman.

1.4. Description botanique

Quezel et Santa (1963), décrivent *Inula viscosa* comme étant une plante annuelle herbacée, pérenne ou vivace chez laquelle les branches ligneuses bourgeonnent à chaque printemps (**figure1**).

C'est une plante pouvant atteindre 120 cm de hauteur avec des tiges de 5-10 cm (**Haoui et al, 2011**).

D'après **Kaddem (1990)**, les feuilles sont oblongues, sessiles, alternes, dentées, glanduleuses sur les deux faces et visqueuses, dégagent pendant la phase végétative une forte odeur caractéristique, avec une racine pivotante lignifiée pouvant atteindre 30 cm de long.



Figure 1. Les feuilles d'*Inula viscosa* de la région de Tipaza.

Reeb (2010), mentionne que les fleurs d'*I. viscosa* sont regroupées en capitules, d'environ 10-20 mm de diamètre. Les capitules sont groupés eux-mêmes en pannicule assez dense; ils sont portés par des ramifications nombreuses de la tige principale, l'ensemble ayant une forme grossièrement pyramidale. L'ensemble est rassemblé en inflorescences en longues grappes pyramidales entourées par un involucre de bractées, qui peuvent être en partie membraneuses et ciliées. L'inule porte deux types de fleurs: des fleurs ligulées à pétales soudés en languettes jaunes, qui dépassent assez

Etude bibliographique

franchement l'involucre et se situent à l'extérieur du capitule, et des fleurs tubulées jaune orangé, au centre du capitule et sont caractérisées par une forte odeur rayonnante (**figure 2**). Les étamines sont accolées par leurs anthères. L'ovaire infère, se trouve sous les pièces florales.

Les fruits secs, un peu ovoïdes, sont surmontés par une petite aigrette jaunâtre de soies denticulées.

Inula viscosa fleurit à la fin de l'été et au début de l'automne (**Al-Dissi et al, 2001**)



Figure 2 : Les fleurs d'*Inula viscosa* L.

1.4. Répartition géographique et écologie

Cette espèce est présente dans les Alpes-Maritimes, aux Pyrénées-Orientales (**Bensegueni-tounsi, 2001**), dans certains pays d'Europe comme l'Espagne, la France, l'Italie...etc. (**Al-Dissi et al, 2001**). Elle se trouve aussi dans les pays de l'Asie tels que: La Chine, le Japon, la Corée...etc. Elle est commune dans l'ensemble des pays du Maghreb: la Tunisie, le Maroc et largement répandue dans le nord de l'Algérie et dans tout le pourtour méditerranéen jusqu'au cœur du Sahara. Elle se trouve aussi en Egypte (**Reeb, 2010**).

L'inule visqueuse pousse sur les sols salés, les prairies humides et les bords de cours d'eau, les rocailles, terrains argileux un peu humide et les bords des routes.

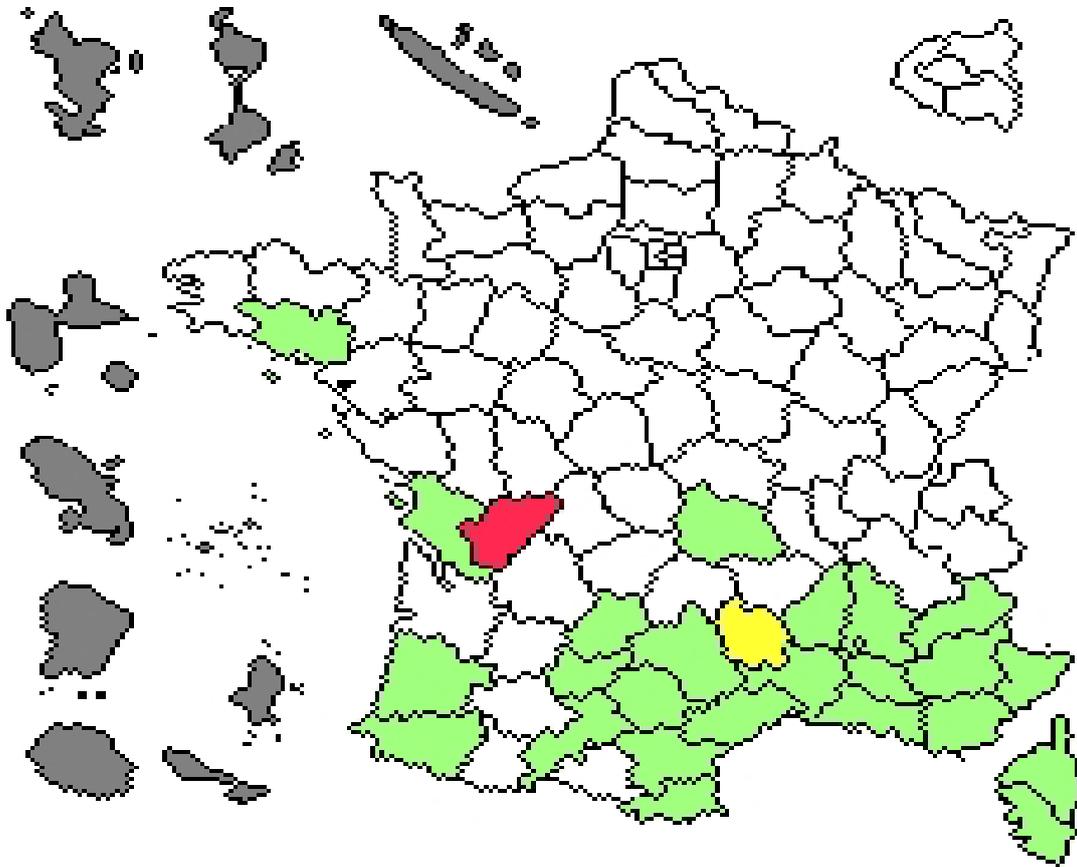


Figure 3 : Répartition géographique de l'inule visqueuse (Bock, 2015).

Légende

-  Zone géographique non renseignée
-  Présent
-  Présence à confirmer
-  Cité par erreur comme présent
-  Présence non signalée

1.5. Composition chimique

Les travaux de **Benayache et al. (1991)**, rapportent que les parties aériennes d'*Inula viscosa* contiennent des Flavonoïdes, des acides sesquiterpéniques et des triterpènes et des esters. Elle est riche en huile essentielle dont les constituants majoritaires sont : γ - terpinène (36,9 %), α -pinène (18 ,9%), β - pinène (8,9 %), p-cymène (7,5 %), limonène (18,9%), β - maaliène (7,4%), β -phellandrène (7,3%), isocomène (6,2 %), 2,5-dimethoxy-p-cymène (21,2%), β -caryophyllène (16,58%), δ - caninène (5,9%) et α -cadinol (4,2%). La plante contient un acide gras (**Remli, 2013**).

1.6. Usages thérapeutiques

Selon **Ulubelen (1987)** et **Cafarchia et al. (1999)**, les parties utilisées d'*Inula viscosa* sont les parties aériennes, feuilles et tiges séchées réduites en poudre ou les feuilles fraîches de la plante.

L'inule visqueuse est une plante médicinale traditionnelle majeure du bassin méditerranéen, à multiples usages, dont on retrouve les traces dans de très anciens écrits romains (Pline), hébreux ou arabes. Les inflorescences, les feuilles sont utilisées séchées en tisanes ou des huiles essentielles en sont extraites (**Reeb, 2010**).

Elle a été utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés anti-inflammatoires, astringentes et vulnérinaires (**Benhammou et al, 2005**). Elle est aussi utilisée comme antiseptique au niveau de l'appareil génital, améliore l'appétit et est aussi antiémétique (**Benguerba, 2008**). Elle possède des propriétés antipyrétiques (**Reeb, 2010**). Elle est connue dans le traitement les troubles gastriques (**Kattouflet al, 2011**).

Il a été rapporté aussi que la poudre d'*Inula viscosa* de la partie aérienne est utilisée dans le traitement des mycoses cutanées (**Benguerba, 2008**). La plante est aussi dotée de propriétés: antioxydante, anti-gale et du pouvoir cicatrisant (**Haoui et al, 2011**).

Dans le Nord de l'Afrique et le pourtour méditerranéen, l'Inule visqueuse occupe une place appréciable dans la médecine traditionnelle. Elle est connue pour ses propriétés anthelminthiques, vermifuge. Elle est largement présente dans la pharmacopée traditionnelle marocaine pour traiter la bronchite, le diabète, les blessures et les troubles gastriques et intestinaux (**Al-Dissi et al, 2001**).

Etude bibliographique

En Algérie, elle était utilisée sous forme de suc de feuilles fraîches, pour arrêter les hémorragies, prévenir les inflammations et activer la cicatrisation. Elle aurait d'autres propriétés encore en usage externe, comme analgésique (contre les céphalées et les douleurs abdominales) et anti rhumatismale (**Kaddem, 1990**).

L'huile essentielle *d'Inula viscosa* peut être utilisée dans le traitement de l'ulcère gastrique et l'extrait aqueux (EA) des feuilles *d'Inula viscosa* est utilisé pour le traitement de l'hypertension artérielle (**Reeb, 2010**).

2. les huiles essentielles (HE)

2.1. Généralités

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal, cependant, elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles: Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae et Piperaceae (**Talbaoui et al, 2012**).

Elles sont très recherchées, car elles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes. Certaines ont des propriétés pharmaceutiques reconnues, d'autres sont utilisées comme bases de parfums ou comme additifs alimentaires (**Marghache et al, 2009**).

Selon **Endrias (2006)**, les essences peuvent être localisées des organes sécréteurs spécialement différenciés et variables suivant les familles botaniques, tels que: les poils sécréteurs des Lamiacées, les poches sécrétrices des Rutacées et les canaux sécréteurs des Conifères. Elles peuvent être, également, retrouvées dans des cellules sécrétrices isolées (cas des Lauracées et Magnoliacées).

Elles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, par exemples: dans les sommités fleuries (menthe, lavande), les feuilles (eucalyptus, laurier), les rhizomes (gingembre), les fruits (agrumes, badiane, anis), les racines (vétiver), les graines (muscades), bien que cela soit moins habituel dans des écorces (cannelier) (**Yahyaoui, 2005**).

2.2. Définition

La norme **AFNOR T75-006 (1998)**, définit l'huile essentielle comme «un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche » (**Bruneton, 1999**).

2.3. Composition chimique

D'après **Teisseire (1991)**, L'étude de la composition chimique des huiles essentielles montre qu'il s'agit d'un mélange complexe et variable de constituants appartenant exclusivement à deux groupes, caractérisés par des origines biosynthétiques distinctes, Les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. On y trouve en

plus, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres.

2.4. Procédés d'extraction

2.4.1. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation est la technique de référence dans l'étude des composés volatiles d'une plante dans le domaine de la recherche. C'est la méthode normée pour l'extraction des huiles essentielles à partir des épices sèches, ainsi que pour leur contrôle de qualités au laboratoire.

Teisseire (1991), indique que cette technique consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, ensuite l'ensemble est porté à ébullition sous pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotrope «eau + huile essentielle». Ce dernier est condensé, refroidi et récupéré dans un essencier ou vase florentin. **(Figure 4)**.

L'huile essentielle étant plus légères que l'eau (sauf quelques rares exceptions) elle surnage au dessus de l'hydrolat cette technique a été appliquée dans des nombreuses travaux **(Lagunez Rivera, 2006)**.

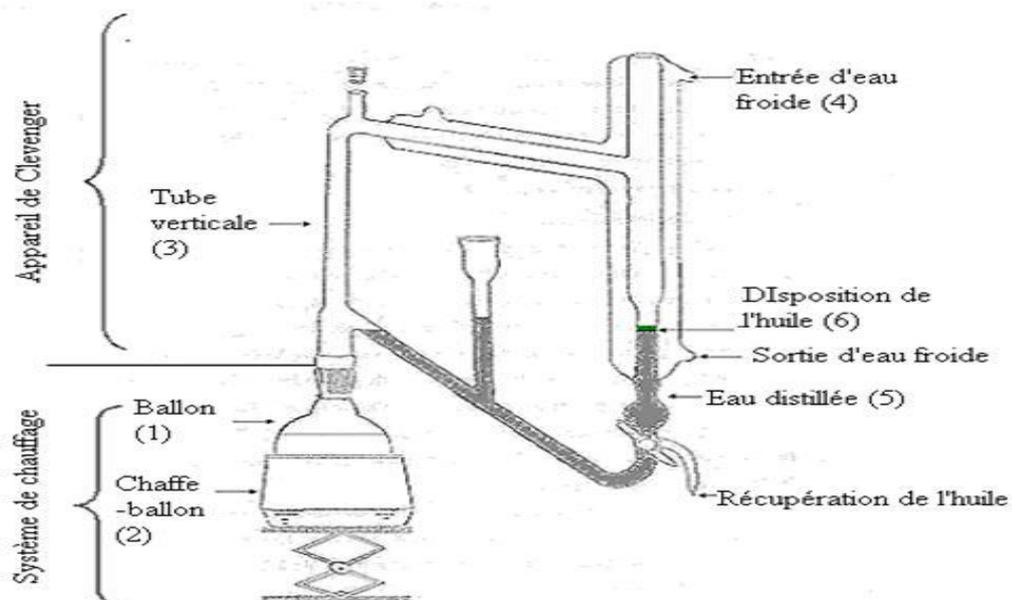


Figure 4. Dispositif de 'hydrodistillation, le cleverger **(Lamamra, 2007)**.

2.4.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable, qui traverse les végétaux et emporte avec elle les molécules aromatiques. La vapeur chargée de l'arôme se condense alors en traversant une cuve réfrigérante pour être récupérée en phase liquide dans un vase florentin (ou essencier) où l'huile essentielle est séparée de l'eau par décantation (Smadja, 2009). (Figure 5).

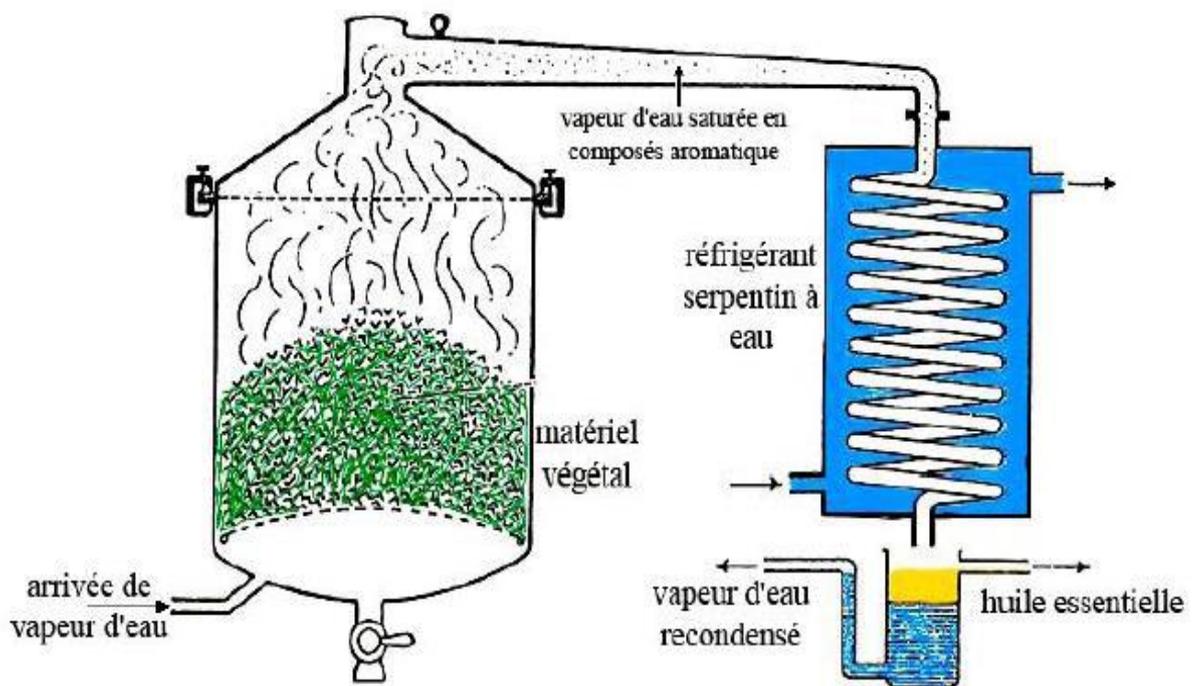


Figure 5. Dispositif de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (El haib, 2011)

2.4.3. Expression à froid

Ce mode d'obtention ne s'applique qu'aux fruits d'agrumes (*Citrus* sp.) par des procédés mécaniques à température ambiante. L'expression à froid consiste à soumettre la substance végétale à une forte pression à l'aide d'une presse hydraulique (Desmares et al, 2008).

2.5. Domaines d'utilisation

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, cosmétique, alimentaire et médicinale (**Grysole, 2004**).

❖ **Domaine agroalimentaire**

En ce qui concerne l'industrie alimentaire, les huiles essentielles sont utilisées pour rehausser le goût des aliments, pour parfumer et colorer. Le nombre de produits augmente et le consommateur recherche d'avantage les produits avec des ingrédients naturels, telle que l'huile essentielle d'orange qui est la plus utilisée dans le monde (**Confédération Suisse, 2009**).

❖ **Domaine cosmétique**

L'utilisation des huiles essentielles comme base dans la fabrication des parfums et des savons constitue une pratique courante depuis des siècles dans la plupart des civilisations. Leur consommation dans ce secteur se caractérise par le besoin d'une très grande variété de produits, de quantités relativement faibles et de prix souvent élevés. La parfumerie technique a également recours aux huiles essentielles pour l'image de propreté à laquelle elles sont associées, mais aussi parfois pour leurs propriétés antiseptiques, come par exemple, la Citronnelle dégage un parfum qui indique au visiteur que l'endroit a été fraîchement lavé (**Elhaib, 2011**).

❖ **Domaine pharmaceutique**

Les HE à utilisations médicinales peuvent être vendues en petits flacons ou sous forme de vaporisateurs, de pastilles, de bonbons. Ces huiles peuvent également être utilisées comme inhalant pour soulager les difficultés respiratoires, comme dentifrice (dans l'eau), ainsi que pour rafraîchir ou soulager la gorge (**Turgeon, 2001**). L'homéopathie et l'aromathérapie sont des exemples courants d'usage des huiles essentielles en médecine douce, et leur popularité s'est accrue d'une façon considérable ces dernières années (**Elhaib, 2011**).

3. Activités biologiques

3.1. Le pouvoir antioxydant

3.1.1. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié, extrêmement instable, donc très réactifs. Par conséquent, leur durée de vie est

généralement très courte, de l'ordre de 10⁻⁴ secondes, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour apparier son électron (**André, 1998; Beckman et Ames, 1998**).

Les radicaux libres semblent jouer un rôle non négligeable dans la cancérogenèse, puisque ces espèces peuvent être responsables de mutations de l'ADN, ce qui constitue un facteur de risque dans l'initiation et le développement du cancer (**Desport et Couratier, 2002**).

3.1.2. Le stress antioxydant

Un antioxydant est toute substance capable de retarder ou d'inhiber l'oxydation des substrats biologiques (**Al-Mamary et al, 2002; Boyd et al, 2003; Karou et al, 2005**). Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (**Vansant, 2004**). Ces antioxydants ont de deux origines, l'une apportée par l'alimentation sous forme de fruits et de légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque. Tandis que l'autre est endogène représentée par des enzymes, tels que les superoxydases dismutases (SOD) et la catalase (rôle de protection), les glutathion peroxydases (GSH-Px) (rôle de détoxification) ou des protéines comme la ferritine, l'albumine...etc. (**Curtay et Robin, 2000**). **Pincemail et Defraigne (2004)**, ajoutent aussi quelques oligo-éléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs importants pour l'activité de certains enzymes antioxydants.

3.2. Activité anti bactérienne

La résistance aux antibiotiques est un problème qui continue à défier le secteur de la santé. La découverte de nouveaux antibiotiques et de nouvelles stratégies thérapeutiques est nécessaires pour relever ce défi. Les progrès dans l'identification de nouvelles sources d'antibiotiques naturels et l'expansion de la diversité chimique des antibiotiques fournissent des pistes chimiques pour les nouveaux médicaments (**Wright et Sutherland, 2007**).

Les antibiotiques à base de plantes représentent une grande source inexploitée de médicaments. Les antibactériens d'origine végétale ont un énorme potentiel thérapeutique. Les infections humaines en particulier celles impliquant des micro-organismes: bactéries, champignons ou virus, provoquent des infections graves dans les

Etude bibliographique

pays tropicaux et subtropicaux du monde. En général, les bactéries ont la capacité génétique à transmettre et à acquérir une résistance à des médicaments, qui sont utilisés comme agents thérapeutiques

(Girish et Satish, 2008).



*Matériel et
méthodes*

Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé sur une période de 3 mois, allant du mois de Mars jusqu'au mois de Mai 2016, au niveau de l'unité Antibiotical de Sidal- Médéa et le laboratoire d'Hygiène de la wilaya de Blida,

1. Matériel

1.1. Matériel Végétal

Les feuilles d'*Inula viscosa* ont été récoltées dans la région de Damous, wilaya de TIPAZA, au mois de mars 2016 durant la période printanière. Cette période correspond au stade feuillaison de la plante. La récolte a été effectuée dans une matinée, ensoleillée où la température variait entre 20 et 22°C.

Après les avoir débarrassé des impuretés et séchées à l'ombre à température ambiante pendant plusieurs jours, les feuilles de l'inule sont réduites en poudre au moyen d'un broyeur électrique puis passées au travers d'un tamis afin de récupérer une poudre fine. La poudre ainsi obtenue est conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des sacs en papier.

1.2. Micro organismes

Les souches microbiennes référencées consistent en trois bactéries et trois souches fongiques. Elles proviennent de l'unité Antibiotical de Sidal –Médéa (**Tableau 1**).

Matériel et méthodes

Tableau 1. Les souches microbiennes testées ainsi que leurs références.

| Souche microbienne | ATCC | Gram | Moreira <i>et al</i> , (2005) |
|----------------------------------|-------|------|---------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 11105 | - | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 6538 | + | Résistante : D < 8mm |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 9027 | - | sensible : 8 mm < D < 14mm |
| <i>Aspergillus bna siliensis</i> | - | | Très sensible : 15mm < D < 19mm |
| <i>Candida dubliniensis</i> | 10231 | | Extrêmement sensible : D > 20mm |
| <i>Candida albicans</i> | - | | |

2. Méthodes

2.1. Test phytochimique (screening chimique)

Ce test qualitatif a pour but de connaître la composition en métabolites secondaires des feuilles d'*Inula viscosa*, basé sur les changements de couleur. Il est effectué, soit sur la poudre, soit sur l'infusé, selon les méthodes décrites par **Ghrib (1988)**.

➤ Préparation de l'infusé

Mettre à infuser 20g de la poudre sèche dans 100ml d'eau distillée bouillante, pendant 15min. L'extrait obtenu est filtré par un papier filtre.

✓ Les tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1ml de l'infusé, 1ml d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl₃ à 10%. L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu vert indique la présence des tanins.

✓ Les saponosides

A 2ml de l'infusé ajouter 3ml d'une solution d'acétate de plomb. L'aspect mousseux de la solution indique la présence des saponosides.

Matériel et méthodes

✓ Les coumarines

Faire bouillir à reflux 2g de poudre dans 20ml d'alcool éthylique pendant 15 min puis filtrer. A 5ml du filtrat, sont rajoutées 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% et quelques gouttes de HCl à 10%. La formation d'un trouble indique la présence des coumarines.

✓ Les glucosides

L'essai effectué consiste à ajouter quelques gouttes de H₂SO₄ à 96% (acide sulfurique) à 2g de poudre végétale. La formation d'une coloration rouge brique qui vire vers le violet indique la présence des glucosides.

✓ Les alcaloïdes

5ml de l'infusé sont rajoutés à 3ml de H₂SO₄ à 96% et 5ml d'une solution d'iodo-mercurate de potassium. L'apparition d'une coloration bleue indique la présence des alcaloïdes.

✓ Les anthocyanines

5ml de l'infusé sont mélangés avec 4ml d'hydroxyle d'ammoniac à 30%. L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthocyanines.

✓ Les flavonoïdes

Introduire 10g de la poudre sèche dans 150ml de HCl à 37%, dilué à 1%. Laisser pendant 24h puis filtrer et procéder au test suivant :

A 10ml du filtrat rajouter 5ml de NH₄OH à 30%, le milieu est ainsi basique. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration jaune dans la partie supérieure du tube à essai.

2.2. Extraction de l'huile essentielle

Le matériel végétal séché est soumis à une hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction de type Clevenger. Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles.

L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale dans un ballon de 1000 ml, auxquels sont ajouté 700ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées en huile essentielle, en traversant le réfrigérant, vont se condenser et s'accumuler dans la burette graduée. L'opération

Matériel et méthodes

d'extraction dure trois heures à partir du début de l'ébullition. Cette opération a été répétée 16 fois.

L'huile ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sodium Anhydre, afin d'éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile essentielle. Cette dernière est conservée dans un flacon opaque bien scellé à température basse (4 C°).

2.3. Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en HE est le rapport entre la masse de l'huile récupérée (M_{HE}) en (g) et la masse de la matière végétale (M_{MV}) sèche utilisée en (g) multiplié par 100 (**Lucchesie, 2005**).

$$R\% = (M_{HE}/M_{MV}) \times 100$$

Avec:

R: Rendement en huile essentielle en pourcentage (%).

M_{HE} : Masse de l'huile recueillie en (g).

M_{MV} : Masse de la matière végétale en (g).

2.4. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle

2.4.1. Propriétés physiques

✓ Indice de réfraction (ISO 280 :1999(75-112))

L'indice de réfraction (**IR**) à la température de référence ($T=20^{\circ}\text{C}$) est mesuré à l'aide d'un réfractomètre, selon le protocole suivant:

Nettoyer soigneusement le prisme du réfractomètre puis mettre quelques gouttes de l'HE sur le prisme, tournez les vis de réglage en regardant dans la lunette jusqu'à l'obtention de deux plages égales, l'une étant sombre, l'autre claire et enfin lire le résultat dans l'échelle qui se trouve au dessous des deux plages.

✓ Densité (AFNOR, 2000)

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile essentielle à 20°C, à la masse d'un volume égale d'eau à 20°C. Elle constitue un point de repère important. Sa valeur permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'HE.

Mode opératoire et calcul :

Nous pesons une fiole vide d'une capacité de 5 ml à l'aide d'une balance. Remplir la fiole avec de l'eau distillée, peser la fiole pleine. Effectuer les mêmes opérations, en remplaçant l'eau par notre HE.

La densité est calculée d'après la formule suivante :

$$D_{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Où :

m_0 : masse en gramme de la fiole vide.

m_1 : masse en gramme de la fiole remplie d'eau.

m_2 : masse en gramme de la fiole remplie d'HE.

2.4.2. Propriétés chimiques

✓ Indice d'acide (AFNOR 2000)

L'Indice d'acide (**Ia**) est le nombre en milligramme de potasse (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres renfermés dans 1g d'HE.

1g d'HE est mélangé à 5ml d'éthanol à 96%, rajouter 5 gouttes de phénophtaléine (indicateur coloré). La solution est introduite dans un erlenmeyer et est titrée par une solution alcoolique de potasse (0,1 N) jusqu'à ce que la solution vire au rose. L'Indice d'acide (**Ia**) est calculé comme suit:

$$Ia = V.C.56, 11/m$$

Où:

Matériel et méthodes

Ia: Indice d'acide.

V : le volume en ml de la solution de KOH utilisée pour le titrage.

C : la concentration en mol / l de la solution de KOH.

m : la masse en gramme de l'HE.

56,11 : masse molaire de KOH.

✓ **Indice d'ester (pharmacopée européenne, 2001)**

L'indice d'ester (**Ie**) est le nombre en milligramme de potasse (KOH), nécessaire pour neutraliser les acides libérés par hydrolyse en milieu basique (saponification) des esters contenus dans 1g d'HE.

Dans un ballon, introduire 1g d'HE et ajouter à l'aide d'une burette 25 ml d'une solution alcoolique de KOH 0,5 N et des fragments de pierre de ponce. Adopter le tube en verre au ballon et le placer sur un bain d'eau bouillante et laisser pendant 15 min. Par la suite, laisser refroidir, démonter le tube et ajouter 20ml d'eau puis 5 gouttes de phénophtaléine. Enfin, titrer l'excès d'hydroxyde de potassium avec la solution d'acide chlorhydrique (HCl).

L'indice d'ester (**Ie**) est calculé selon la formule suivante :

$$\mathbf{Ie = 28,05/m. (V_0 - V_1) - Ia}$$

avec:

V₀: le volume en ml de la solution de HCL (0,1N) mesuré pour l'essai à blanc.

V₁: le volume en ml de la solution de HCL (0,1N) mesuré pour le calcul de **Ie**.

m: la masse en gramme de la prise d'essai.

Ia: indice d'acide.

✓ **Indice de saponification (ISO 3657, 2002)**

L'indice de saponification (**Is**) est le nombre en milligramme de potasse (KOH), nécessaire pour saponifier la matière grasse dans les conditions opératoire spécifiées dans la présente Norme international.

Selon la **pharmacopée européenne (2001)**, Is est calculé à partir de l'indice d'acide et de l'indice d'ester :

$$I_s = I_e + I_a$$

2.5. Evaluation des activités biologiques

2.5.1. Activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne d'une plante peut être réalisée par plusieurs méthodes, parmi ces méthodes la technique utilisée dans notre cas est la diffusion en milieu gélosé « antibiogramme ».

- **Technique de diffusion en milieu gélosé « antibiogramme »**

Le test de sensibilité antibiogramme est avant tout un outil de décision thérapeutique en classant les bactéries : sensibles, intermédiaires ou résistantes (**Caron, 2012**).

Dans cette méthode, des disques de 6mm de papier filtre sont imprégnés d'échantillon puis déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé, en surface d'une suspension bactérienne. La lecture des résultats se fait après incubation à 37°C pendant 18h par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition (DZI) en millimètre de la croissance bactérienne.

- **Préparation des milieux de culture**

Les milieux gélosés solides, Muller Hinton (MH) pour les bactéries et Sabouraud (SAB) pour les levures ont été mis dans un bain Marie. Par la suite, ils ont été coulés dans des boites de Pétri de 9mm de diamètre et laisser à température ambiante sans couvercle jusqu'à solidification.

- **Préparation de l'inoculum**

Les suspensions microbiennes ont été réalisées par prélèvements de 3 à 4 colonies isolées d'une culture pure et jeune de 18h pour les bactéries et de 48h pour les levures. Elles sont diluées dans 10ml d'eau physiologique stérile, puis agiter au vortex pour obtenir une suspension légèrement opaque. Par la suite, leurs densités optiques (DO) ont été lues à 625 nm. La densité optique des suspensions est fixée à 0,1, qui représentent l'équivalent de 0.5Mc Farland.

➤ **Ensemencement et dépôts des disques**

Tremper un écouvillon stérile dans les solutions bactériennes et fongiques et étaler les suspensions microbiennes sur les surfaces gélosées.

Des disques stériles de 9 mm de diamètre, imbibés d'huile essentielle, sont déposés sur la surface gélosée. Laisser pendant 30min à température ambiante.

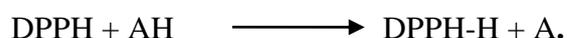
Après diffusion de l'HE dans la gélose les boîtes sont incubées à 37°C, pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les levures.

La lecture s'effectue par la mesure du diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne (ZI) à l'aide d'une règle graduée.

2.5.2. Activité antioxydante

Pour évaluer l'activité antioxydante, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole décrit par **Ammar et al. (2009)**, qui permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de la CI_{50} des substances antioxydantes contenues dans un extrait.

Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H^+ .



Où AH est un composé capable de céder un H^+ au radical DPPH.

• **Mode opératoire**

La solution de DPPH est préparée avec 4mg de DPPH dissout dans 100 ml de méthanol absolu, nous obtenons une solution mère d'une concentration de 0.004%.

En parallèle, nous avons préparé une solution mère de 0.5 g de l'HE dans 1 ml de méthanol. Par la suite des dilutions sont réalisées à différentes concentrations (4mg/ml, 2mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml et 0.125 mg/ml). 1 ml de la solution DPPH est rajouté aux différentes solutions à tester. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min.

Le témoin positif est une solution de l'acide ascorbique (100 mg/ml). Des dilutions sont réalisées à différentes concentrations (4mg/ml, 2mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml et 0.125 mg/ml).

La lecture de l'absorbance des échantillons est faite contre un blanc à 517 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est exprimé par la formule

Suivante (Ammar et al., 2009):

$$I\% = [(Abs_c - Abs_e) / Abs_c] \times 100$$

Avec:

Abs_c : Absorbance du blanc.

Abs_e : Absorbance de l'échantillon testé.

Nous avons déterminé la valeur de la concentration inhibitrice à 50% (CI₅₀) de l'huile essentielle. Elle représente la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH.



*Résultats et
discussion*

1. Le screening chimique

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les feuilles d'*Inula viscosa* sont regroupés dans le tableau 2 :

Tableau 2. Différents groupements chimiques retrouvés dans les feuilles d'*Inula viscosa*

| Substances testées | Réaction |
|--------------------|----------|
| Les tanins | + |
| Les saponosides | + |
| Les coumarines | + |
| Les flavonoïdes | + |
| Les anthocyanines | - |
| L'amidon | - |
| Les glucosides | - |
| Les alcaloïdes | - |

(-): absence; (+): présence

Le tableau 2, nous permet de constater que les feuilles d'*Inula viscosa* renferment les tanins, les saponosides, les coumarines et les flavonoïdes avec absence des alcaloïdes, des glucosides, de l'amidon et des anthocyanines.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Ulubelen et Goun (1986)** et **Benayache (1991)**, qui indiquent la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponosides, des coumarines, en plus d'une vingtaine de molécules sesquiterpéniques et des triterpènes.

2. Rendement en HE

Le rendement en huile essentielle obtenu des feuilles d'*Inula viscosa* est de **0.12%**. Ce résultat est faible comparativement à celui rapporté par **Haoui et al. (2011)** et **Kheyer et al. (2014)**, qui notent des rendements de **0,148%** et **0,22%** respectivement.

Cette différence est due à plusieurs facteurs : l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), la durée de l'éclairage l'espèce végétale, l'organe végétal, le stade de développement, la période de cueillette, la conservation du matériel végétal et la méthode d'extraction. (**Granger et al., 1973 ; Rosua et Granados, 1987; Fournier et al., 1989; Haeckel et Omar, 1993; El-Zakhem, 2003; khajeh et al., 2004; khajeh et al., 2005; Viljoen et al., 2006; Sefidkon et al., 2007**).

3. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 3.

Tableau 3. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle *d'Inula viscosa*.

| | Densité (d ₂₀) | Indice de réfraction à 20°C | Indice d'acide (IA) | Indice d'ester (IE) | Indice de saponification (IS) |
|----------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--|
| HE <i>d'Inula viscosa</i> | 0,803 | 1,501 | 12,34 | 20,97 | 31,33 |

Le tableau 3, montre que l'HE *d'Inula viscosa* présente une densité égale à 0,8 et un indice de réfraction égale à 1,501.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Boumaza (2011)** et **Ben Amor (2013)** qui mentionnent que la densité de l'HE *d'Inula viscosa* varie entre 0,651 et 0,857 et que l'indice de réfraction varie de 1,506 à 1,472.

D'après l'**AFSSAPS (2008)**, les HE sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction supérieur à celui de l'eau à 20°C (1,333) et la plupart dévient la lumière polarisée.

A partir du tableau 3, nous remarquons que l'indice d'acide, l'indice d'ester et l'indice de saponification de l'HE *d'Inula viscosa* montrent des valeurs respectives de 12.34, 20.9 et 31.33.

Ces résultats se rapprochent de ceux obtenus par **Boumaza (2011)**, pour l'HE de l'inule visqueuse et qui note un indice d'ester de 24,31 et un indice de saponification de 30,85. Toutefois, l'indice d'acide est nettement inférieur à celui mentionné par l'auteur (6,54).

D'après le même auteur, le contrôle des propriétés physico-chimiques de l'HE, pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques.

4. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle

Le tableau 4, regroupe les résultats obtenus pour l'effet antimicrobien de l'HE de l'inule.

Tableau 4. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne et fongique obtenus par l'huile essentielle *d'Inula viscosa*.

| Souche microbienne | ZI (mm) |
|----------------------------------|---------|
| <i>Escherichia coli</i> | 10mm |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 15mm |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 13mm |
| <i>Aspergillus bna siliensis</i> | 11mm |
| <i>Candida dubliniensis</i> | 14mm |
| <i>Candida albicans</i> | 10mm |

L'observation du tableau 4, nous permet de constater que l'HE possède un effet inhibiteur sur toutes les souches bactériennes et fongiques. Les diamètres des zones

Résultats et discussion

d'inhibition varient entre 10mm et 15mm pour les bactéries avec 10mm pour *E. coli*, 13mm *P. aeruginosa* et 15mm pour *S. aureus*.

Kheyer et al.(2014), ramènent des valeurs comparables à nos résultats. Ils montrent que cette huile a une activité sur ces souches. *Escherichia coli* (10.5mm), *Pseudomonas aeruginosa* (15,5 mm) et *Staphylococcus aureus* (14mm).

Russel (1991); Burt (2004); Holley et Patel (2005) et De Souza et al. (2005), indiquent que les bactéries à Gram⁺ présentent une plus grande sensibilité, vis-à-vis des HE, par rapport aux bactéries à Gram⁻

D'après **Nikaido (2003)**, la membrane externe des bactéries à Gram⁻, constitue une barrière de perméabilité efficace, grâce aux charges négatives des lipopolysaccharides de surface, qui empêchent la diffusion des molécules hydrophobes. Cependant, les bactéries à Gram⁺ sont moins protégées parce que leur paroi est formée uniquement d'une couche de peptidoglycane qui n'entrave que la diffusion des poids moléculaires à 50 KD (**Hogan et Kolter, 2003; Perry et al., 2004**).

Concernant les souches fongiques, les valeurs varient entre 10mm et 14mm pour les *Candida*. Le diamètre est de 11mm pour *A. brasiliensis*.

5. Evaluation de l'activité antioxydante (test au DPPH)

Les résultats obtenus pour l'activité antioxydante de l'HE en comparaison au produit de référence, l'acide ascorbique sont représentés dans les figures 5 et 6 et les tableaux 5 et 6 (annexe 3).

Résultats et discussion

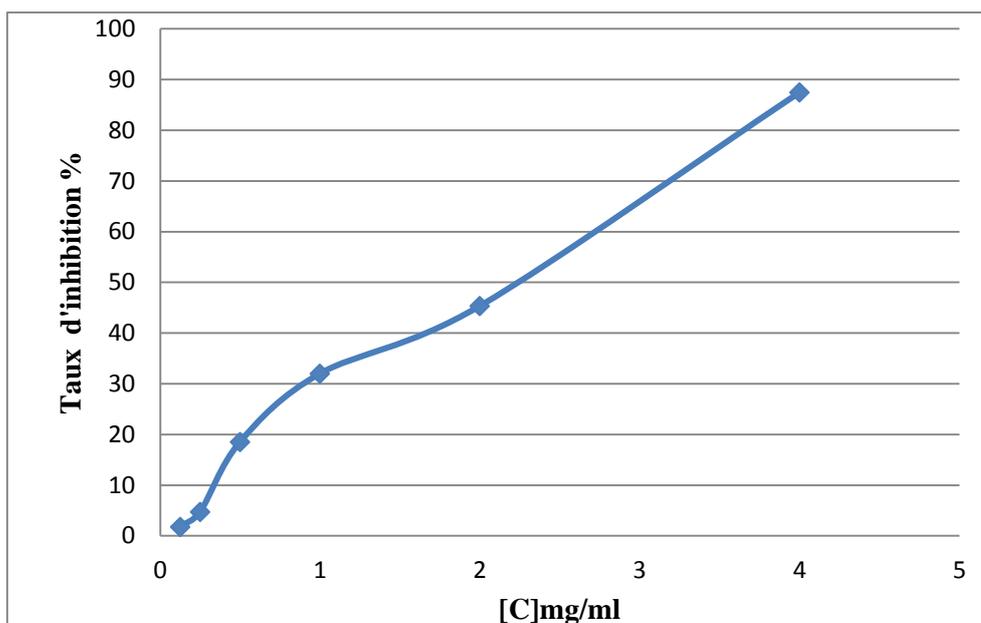


Figure 6. Pourcentages de réduction du radical libre (DPPH) par l'HE *d'Inula viscosa*.

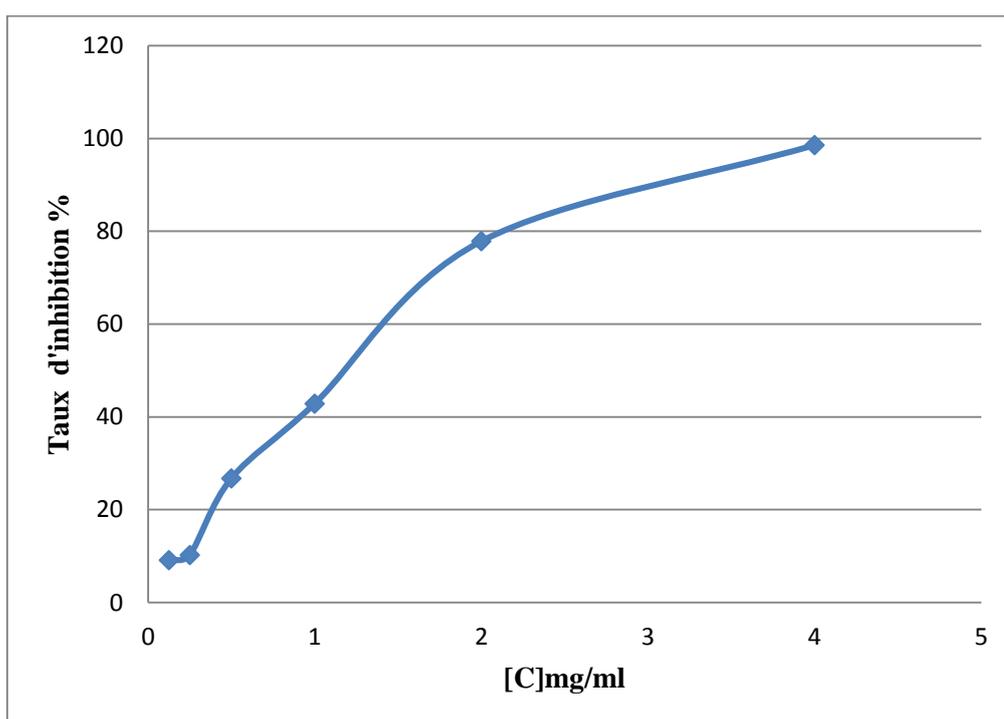


Figure 7. Pourcentages de réduction du radical libre (DPPH) par l'Acide Ascorbique.

D'après les figures 5 et 6, nous remarquons que l'effet antiradicalaire de l'HE est plus faible que celui de l'acide ascorbique. Il atteint 87,85% pour la concentration 4mg/ml de l'HE. Alors que pour la même concentration du produit de référence, l'inhibition du radical libre atteint 98,58%.

Résultats et discussion

Nous pouvons dire que l'HE d'*Inula viscosa* possède une activité antioxydante modérée.

Détermination de la concentration inhibitrice à 50%

La CI 50 a été déterminée pour les deux produits, l'HE et la vitamine C (acide ascorbique). La figure 7 et le tableau 7 (annexe 3), regroupent les résultats.

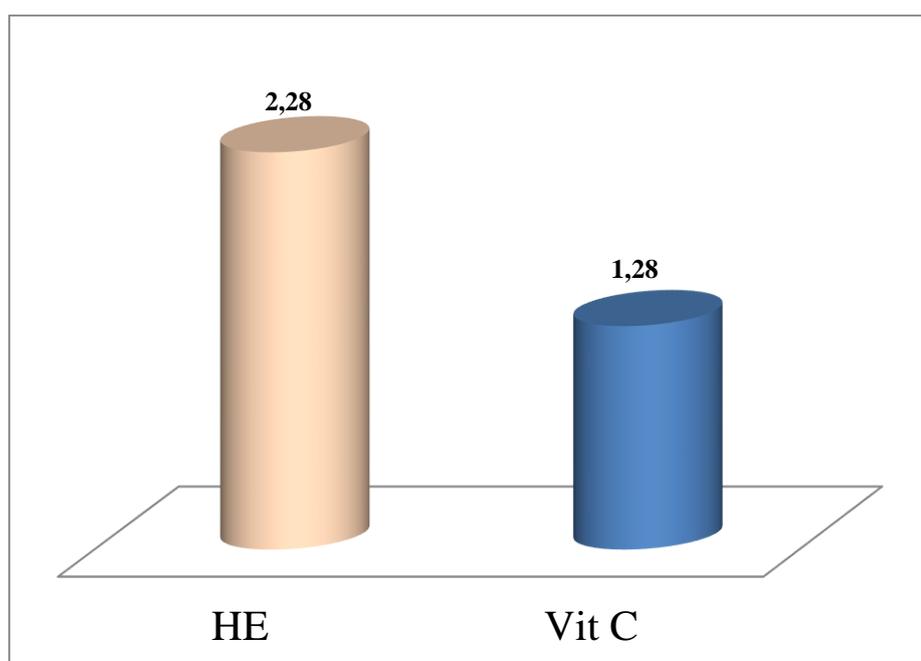


Figure 8. Concentrations inhibitrices à 50% du radical libre (DPPH) de l'HE d'*Inula viscosa* ainsi que l'Acide Ascorbique.

D'après la figure 7, nous constatons que l'HE d'*Inula viscosa* inhibe 50% du DPPH à une CI₅₀ de 2,28mg/ml. Alors que le produit de référence (vitamine C) l'inhibe à une concentration de 1,28mg/ml.

L'activité antiradicalaire manifestée par l'HE est plus faible que celle de l'acide ascorbique.

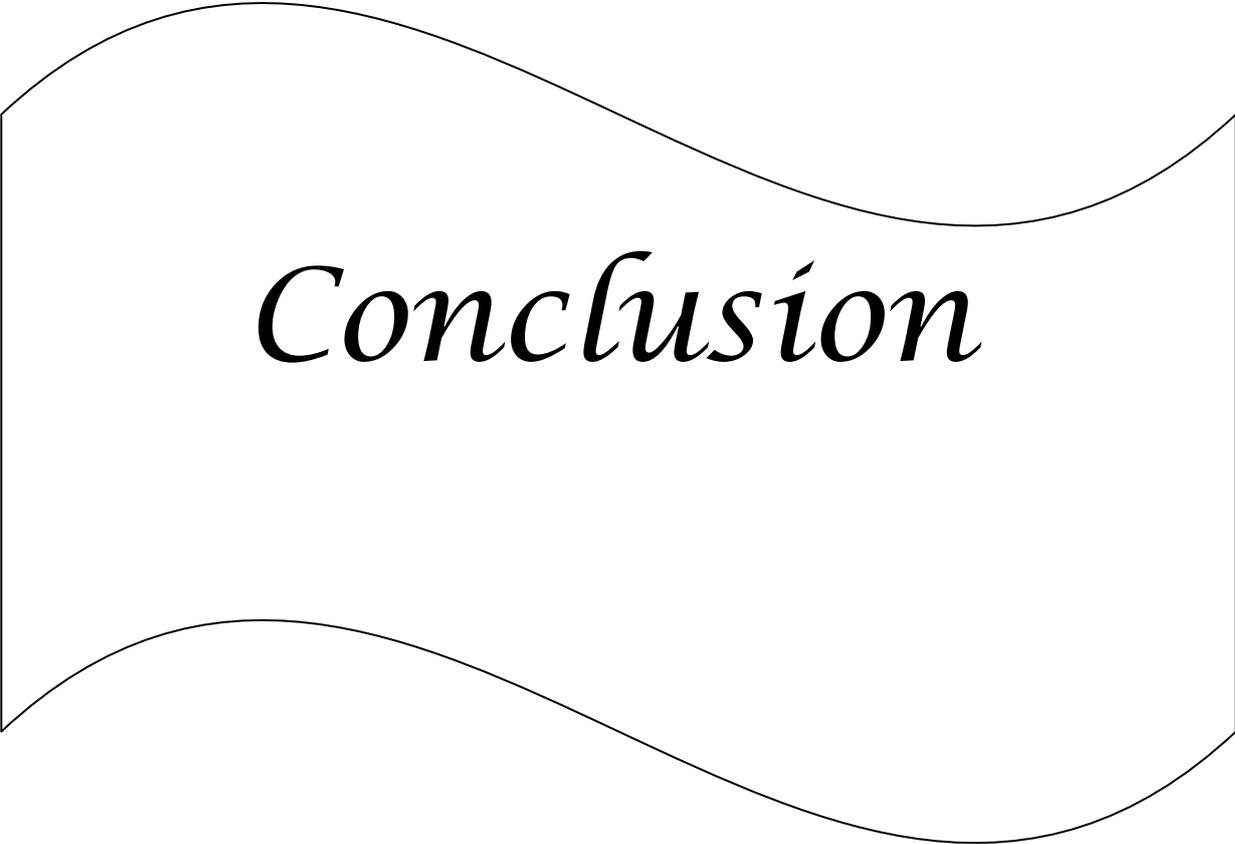
Nos résultats ne concordent pas avec ceux obtenus par **Chahmi et al. (2015)**, qui indiquent que tous les extraits d'*Inula viscosa* montrent un effet antioxydant important et contiennent des niveaux importants de phénols.

Ces mêmes auteurs ont constaté qu'il y avait une corrélation entre le potentiel de l'activité antioxydante et la quantité de composé phénolique dans la plante. Il serait probable que le contenu phénolique soit responsable de l'activité antiradicalaire libre

Résultats et discussion

de l'espèce ce qui suggère que *Inula viscosa* constitue une bonne source de composés naturels antioxydants qui pourraient avoir des avantages pour la santé.

Les travaux d'**Danino et al. (2009)**, ont permis d'isoler et d'identifier plusieurs antioxydants polyphénolique chez *Inula viscosa*.



Conclusion

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antioxydante et antimicrobienne a concerné une plante appartenant à la famille des Astéracées, *Inula viscosa*, employée en Algérie grâce à ses effets thérapeutiques.

L'hydrodistillation, méthode de choix pour l'extraction de l'HE à partir des feuilles nous a permis de montrer que la plante donne un faible rendement (0,12%).

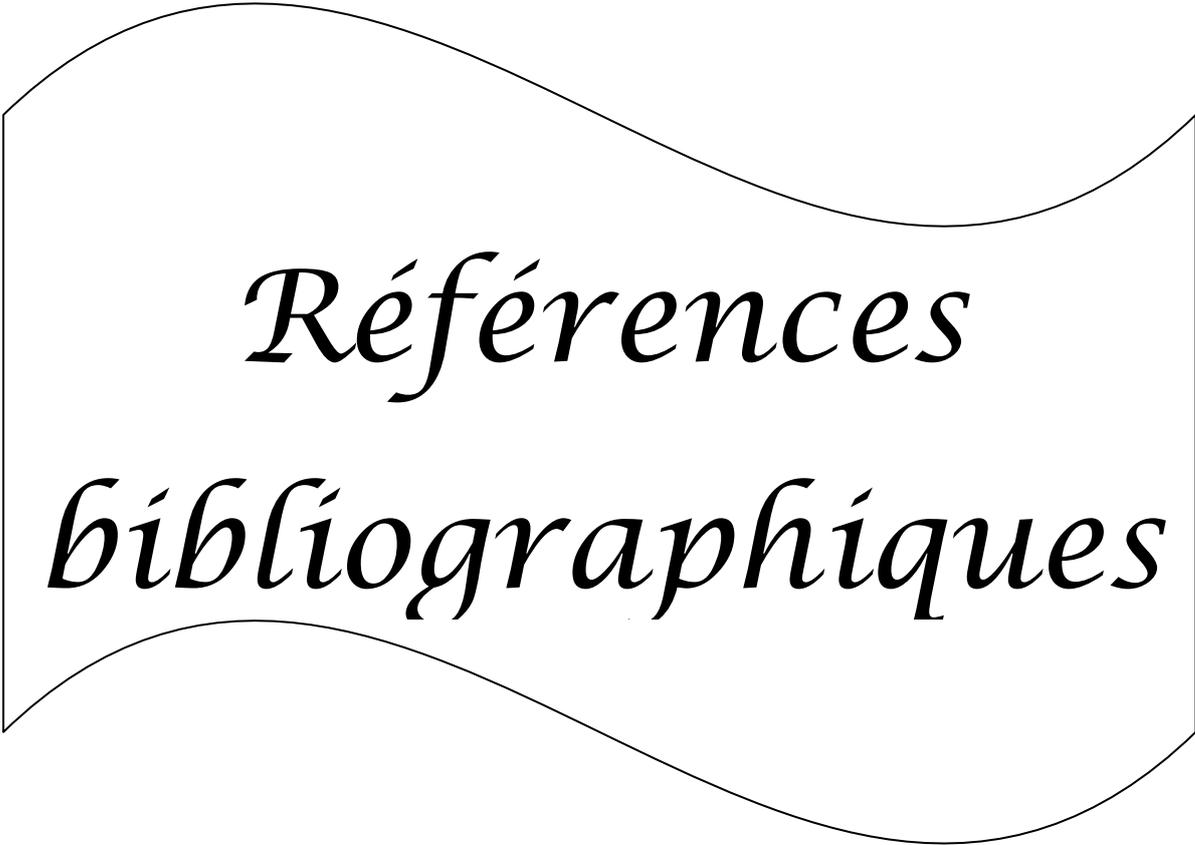
De plus, l'étude phytochimique des feuilles de l'inule visqueuse a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires tels que: les tanins, les saponosides, les coumarines et les flavonoïdes.

Le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH. Les résultats montrent que cette HE possède une activité antioxydante peu importante, comparée à celle de l'acide ascorbique.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobien vis-à-vis 3 bactéries et 3 champignons pathogènes à savoir: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida Albicans*, *Candida dubliniensis* et *Aspergillus bnasiliensis*. Les résultats ont démontré l'effet inhibiteur de l'huile essentielle vis-à-vis des champignons, avec des zones d'inhibition allant de 10mm à 14mm. Aussi, l'effet antibactérien a été constaté, en particulier contre *Pseudomonas aeruginosa* (ZI= 13mm) et *Staphylococcus aureus* (ZI= 15mm).

Il serait intéressant, pour la continuité de ce travail de:

- ✓ Procéder à l'extraction de l'HE par d'autres techniques pour avoir la méthode optimale qui donne le meilleur rendement en huiles essentielles.
- ✓ Réaliser des tests antimicrobiens sur une large gamme de microorganismes.
- ✓ Isoler et identifier les molécule (s) bioactive (s) de l'HE par les techniques chromatographiques et spectrales.
- ✓ Evaluer d'autres activités comme: antidiabétique, anticancéreuses, anti-inflammatoire ... etc.



*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Abdulmajed, K., McGuigan, C., Heard, C. M. (2005). Topical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. *Free Radic. Res.* 39: 491-498.
 - AFNOR. (2000). Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse (Tome 1). Monographies relatives aux huiles essentielles (Tome 2. Volumes 1 et 2).
 - Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B. H., Anwar, S., Basir, A. (2012). DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.). *Toxicol. Ind. Health.* Vol 5: 4879-4887.
 - Al-Dissi, N., Salhab A., Al-Hajj, H. (2001). Effects of *Inula viscosa* leaf extracts on abortion and implantation in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 77: 117-121.
 - Al-Mamary, M., Al-Meeri, A., Al-Haboui, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research.* 22: 1041-1047.
 - Ammar R. B., Bhourri W., Sghaier M. B., Boubaker J., Skandrani I., Neffati A., Bouhlel I., Kilani S., Mariotte A. M., Chekir-Ghedira L., Dijoux-Franca M. G. Đ. and Ghedira K. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food Chem.* 116: 258-264.
 - André, R. (1998). La maladie de parkinson. Ed. Masson. 16-19
 - Aprotosoiaie, A.C., Spac, A.D., Hancianu, M., Miron, A., Tanasescu, V.F., Dorneanu, V., Stanescu, U. (2010). The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *FARMACIA*, 58 (1): 46-54
 - Aşkin Çelik, T. Sultan Aslantürk, Ö. (2010). Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of *Inula viscosa* Leaf Extracts with Allium Test. *Journal of biomedicine and biotechnology*.
 - Atawodi, S.E. (2005). Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology.* 4 (2): 128-133.
-

Références bibliographiques

- Baser, K. H., Tümen, G., Tabanca, N., Demirci, F. (2001). Composition and antibacterial activity of the essential oils from *Satureja wiedemanniana* (Lallem.). *Velen. Z. Naturforsch*, 56c: 731-738.
 - Beckman, K. B. and Ames, B. N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* (78): 574-581.
 - Ben Amor, N. (2013). Extraction et valorisation des huiles essentielles d'*Inula viscosa*. Master académique en chimie appliquée .Université de Ouargla, faculté des sciences et la technologie et science de la matière, département science de la matière : 27p.
 - Benalia, Y. (2008). Valorisation des ressources végétales steppiques par l'étude des huiles essentielles. Cas : *Marrubium deserti* De Noé. Mémoire de Magistère, Département de biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif. Cité par Lamamra.
 - Benayache, S., Banayache, F., Dendoughi, H., JAY, M. (1991). Les Flavonoïdes de *Inula viscosa* L. *Plantes médicinales et phytothérapie*. Tome 25, n° 4 : 170-176.
 - Benchohra, H.A., Hamel,L., Bendemerred, F.Z., Benchohra,M. (2011). Composition chimique de l'huile essentielle de l'*Inula viscosa*. *ScienceLib*. Edition mersenne: Vol. 3:1-7.
 - Benguerba, A. (2008). Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *Inula crithmoides* L. Thèse de magister. Université Mentouri-Constantine, faculté des sciences exactes, département de chimie.
 - Benhammou, N., Atik bekkara, F. (2005). Contribution à l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Inula viscosa*.pp :9.
 - Benhamou, N., Bekkar, FA., Panovska, TK. (2008). Les activités antioxydantes et antimicrobiennes du *lentisque pistachier* et *atlantica pistacia* extraits. *Afr.J Pharm Pharmacol*, vol 2 :22-28.
 - Bensegueni-tounsi, L. (2001). Etude in vitro de l'effet antibactérien et antifongique de *Inula viscosa*, *lawsonia*, *inermis*, *Asphodeluse*, *Microcarpus*, *Aloe vera*, *Juniperus oxycedrus*. Thèse de magister. Université de Constantine, faculté des sciences, département vétérinaire.pp :65.
-

Références bibliographiques

- Bock, B. (2015). fiche de Flore de *Dittrichia viscosa* subsp. *Viscosa*. *Tela botanica* vol 3 :pp 6.
 - Bortolomeazzi, R., Sebastianutto, N., Toniolo, R., Pizzariello, A. (2007). Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chem.* 100: 1481-1489.
 - Bouabdallah, A. (2014). Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europea sylvestris*). Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen. pp : 78.
 - Boumaza Djamilia. (2011). Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *Inula viscosa*, *Rosmarinus officinalis* de la région d'Oran, thèse de magister. Chimie organique. Université d'Oran. pp : 62.
 - Boyd, B., Ford, C., Koepke Michael, C., Gary, K., Horn, E., McAnalley, S. et McAnalley, B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glyco. Science & Nutrition.* 4(6):7p.
 - Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie « Phytochimie Plantes » médicinales 3 eme éd, Tec et Doc, Paris: 484-540.
 - Bssaibis, F., Gmira, N., Meziane, M. (2009). Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter, *Microbiol. Ind. San et Environn, Vol 3: 44-55.*
 - Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology,* 94: 223-253.
 - Cafarchia, C., Laurentism, DE., Mililloma- puccimi, Y. (1999). Recherche of antifungal activity of flowers and leaves of *Inula viscosa*. *Parasitologia,* pp. 82.
 - Caron, F. (2012). Antimicrobial susceptibility testing: A four facets tool for the clinician. *Journal des Anti-infectieux,* 14 (4): 168-174.
 - Celikel, N., Kavas, G. (2008). Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. *Czech Journal of Food Sciences,* 26 (3): 174-181.
-

Références bibliographiques

- Chahmi, N., Anissi, J., EL Hassouni, M. (2015). Les activités antioxydantes et teneur en phénol totale de viscose inula extraits choisis parmi trois régions du Maroc. *Asian Pacific. Journal of tropical biomedecine*, Vol.5 (3): 228-233.
 - Chalchat, J.K., Carry, L. P., Menut, C., Lamaty, G., Malhuret, R., Chopineau, J. (1997). Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 9: 67-75.
 - Ciccarelli, D., Garbari, F., Pagni, A. (2007). Glandular hairs of the Ovary: a helpful character for Asteroideae (Asteraceae) taxonomy? *Ann. Bot. Fennici*, 44: 1-7.
 - Curtay, J.P, et Robin J.M. (2000) .Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info. Centre d'étude et de développement de la nutrithérapie. In Lamamra.*
 - Danino, O., Gottlieb, H. E., Grossman, S., Bergman, M. (2009). Antioxidant activity of 1, 3-dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscose*. *Food Research International*, 42: 1273-1280.
 - De Souza, E.L., Stamford, T.L.M., Lima, E.O., Trajano, V.N. and Filho, J.M.B. (2005). Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 48(4): 559-566.
 - Deans, G.C., Noble, C.R., Mac Pherson, A., Penzes, L., Imre, G.S. and Hofecker, G. (1994). *Skalicky Ageing Series*, vol 4, Facultas Press, Vienna. p. 173.
 - Desmares, C., Laurent, A., Delerme C. (2008). *Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles: Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles.* Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), France.
 - Desport, J.C. et Couratier, P. (2002) .Stress oxydant et maladies neurodégénératives. *Nutrition clinique et métabolisme.* 16: 253-259.
 - El Haib, A. (2011). *Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques.* Thèse, Doctorat De l'Université de Toulouse. 158p.
 - El Zakhem, M. (2003). *Effets antifongiques des huiles essentielles extraites de l'Origanum syriacum L. et de Salvia libanotica Boiss et Gaill contre les*
-

Références bibliographiques

Candida : *albicans*, *holmii*, et *famata*. Mémoire de Diplôme d'Études Approfondies (DEA) en Agroalimentaire et Assurance-Qualité. Institut National Agronomique Paris-Grignon (INA-PG).

- El Zakhem, M. (2003). Effets antifongiques des huiles essentielles extraites de l'*Origanum syriacum* L. et de *Salvia libanotica* Boiss et Gaill contre les *Candida* : *albicans*, *holmii*, et *famata*. Mémoire de Diplôme d'Études Approfondies (DEA) en Agroalimentaire et Assurance-Qualité. Institut National Agronomique Paris-Grignon (INA-PG). In Lamamra.
 - Endrias, A. (2006). Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à l'*Hibiscus sabdarifJa* L. et à l'*Artemisia annua*. Thèse N° 2340, Docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse.
 - Fauron, R., Moati, R., Donadieu, Y. (1983). Guide pratique de phytothérapie. Ed. Maloine. pp: 811.
 - Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 108-115.
 - Flück, H. (1942). Nos plantes médicinales. Traduit par Weitzel R., librairie Payot, Lausanne, pp. 8-14.
 - Fournier, G., Habib, J., Reguigui, A., Safta, F., Guetari, S., Chemli, R. (1989). Etude de divers échantillons d'huile essentielle de *Rosmarinus* de Tunisie. Plantes médicinales et phytothérapies, XXIII (3): 180-185.
 - Fournier, P. (1947). Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. Ed. Lechevalier. Tome 1 : 176-178.
 - Georgetti, S.R., Casagrande, R., Di Mambro, V.M., Azzolini Ana ECS. And Fonseca Maria J.V. (2003). Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. AAPS Pharma.Sci.5 (2): 5p.
 - Girish, H., Satish, S. (2008). Antibacterial Activity of Important Medicinal Plants on Human Pathogenic Bacteria-a Comparative Analysis. *World Appl Sci J*, 5 (3): 267-271.
 - Grande, M., Piera, F., Cuenca, A., Torres, P., Bellido, I.S. (1985). *Flavonoids from inula viscosa*. *Journal: Planta Medica*.
-

Références bibliographiques

- Granger, M.M.R., Passet, J., Arbousset, G. (1973). L'essence de *Rosmarinus officinalis*, influence du mode de traitement du matériel végétal. *Parf. Cosm. Sav. France* 3(3) : 133-137.
 - Grysole, J. (2004). La commercialisation des huiles essentielles. *Manuel pratique des huiles essentielles : de la plante à la commercialisation* : 139-141.
 - Guo, L., Xie, M. Y., Yan, A. P., Wan, Y. Q., & Wu, Y. M. (2006). Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC-MS *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386(6): 1881-1887.
 - Haoui, I.E., Derriche, R., Madani, L., Oukali, Z. (2011). Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry*. in press.
 - Hernandez Ochoa L.R. (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse. *In Lamamra*.
 - Hogan, D., Kolter L. (2003). Why are bacteria refractory to antimicrobials? *Current Opinion in Microbiology*, 5: 472-477.
 - Holley, R.A., Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*. 22 (4): 273–292.
 - ISO 280 :1999 (75-112) : Huiles essentielles - Détermination de l'indice de réfraction.
 - ISO 3657: (2002) : Huile essentielle de patchouli (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.).
 - Kaddem, S. (1990). Les plantes médicinales en Algérie. 3^{ème} CIMT : 87.
 - Karou, D., Dicko, M. H., Simporé, J., Yameogo, S., Sanon, S. and Traore, A.S. (2005). Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 106: 119-133.
 - Kattouf1, J., Belmoukhtar, M., Harnafi, H., Mekhfi, H., Ziyat, A., Aziz1, M., Bnouham, M., Legssyer, A. (2009). Effet antihypertenseur des feuilles d'*Inula viscosa*. *Pharmacognosie*. 7: 309–312.
 - Khajeh, M., Yamini Y., Bahramifar N., Sefidkon F. and Pirmoradei M.R. (2005). Comparison of essential oil composition of *Ferula assafoetida* obtained
-

Références bibliographiques

by supercritical carbon dioxide extraction and hydrosistillation methods. *Food Chemistry*, 91: 639-644.

- Khajeh, M., Yamini, Y., Sefidkon, F., Bahramifar, N. (2004). Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, 86: 587-591.
 - Kheyer, N. Dahia Meridia, Kamel Belhamel. (2014). Etude de l'activité antibacterienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian journal of natural products*, 2: 18-26.
 - Lagunez Rivera, L. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de Doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse. France. In Lamamra.
 - Lamamra, M. (2007). Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L) parl. et de *Filipendula hexapetala gibb*. Thèse de magister. Université Ferhat Abbas-Setif. Option : Valorisation des ressources végétales. pp :75.
 - Léger, J. (2007). fiche de Flore de *Dittrichia viscosa* subsp. *Viscosa*. *Tela botanica* vol 3: 3.
 - Marghache, S., Hamza, M., Tabti, B. (2009). Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. De Tlemcen, Algérie. *Afrique SCIENCE* 05(1): 67 – 81.
 - Miguel, M.G., Figueiredo, C., Costa, M.M., Martins, D., Duarte, J., Barroso, J. G, Pedro, L.G. (2003). Effect of the volatile constituents isolated from *Thymus albicans*, *T. mastichina*, *T. carnosus* and *T. capiata* in sunflower oil. *Nahrung Food*, 47 (6): 397-402.
 - Moffarts, B., Kirschvink, N., Pincemail, J., Lekeux, P. (2005). Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Animale. Médecine. Vétérinaire*. 149: 1-9.
 - Moreira, MR., Ponce, AG., del Val CE, Roura, SI. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogène. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 38: 565-570.
-

Références bibliographiques

- Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. Vol 67(4): 593-656.
 - Norme ISO 4720 : 2002, Huiles essentielles-Nomenclature.
 - Perry, J.J., Staley, J.T., Lory, S. (2004). Microbiologie. Cours et questions de révision. Ed. Dunod. *In* Lamamra.
 - Pibiri, M. C. (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse doctorat, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne.pp :161.
 - Pincemail, J. et Defraigne J.O. (2004). Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène, Symposium « antioxydant et alimentation » institut Danone. 16 :233-239.
 - Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Centre national de la recherche scientifique .Tome 2 : 218-940.
 - Ranga, R. R., Tiwari, A. K., Prabhakar, R. P., Suresh, B. K., Ali, A. Z., Madhusudana, K., Madhusudana, R. J. (2009). New furanoflavonoids, intestinal alpha-glucosidase inhibitory and free-radical (DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic roots extract of *Derris indica* (Lam.). *Bioorg. Med. Chem.* 17: 5170-5175.
 - Reeb, C. (2010). Plantes mellifères l'inule visqueuse. *Abeilles & Fleurs* 720:19-20.
 - Remli, B. (2013). Extraction des flavonoïdes de la plante *Inula viscosa*, de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne. Mémoire de Magister en chimie. Université d'Oran : 77p.
 - Rosua, J. L., Granados, A.G. (1987). Analyse des huiles essentielles d'espèces du genre *Rosmarinus* L. et leur intérêt en tant que caractère taxonomique. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, XXI(2): 138-143.
 - Russel, A. D. (1991). Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics: food additives and pharmaceutical preservatives. *Journal of Applied Bacteriology*, 71(3): 191-201.
 - Sefidkon, F., Abbasi, K., Jamzad, Z., Ahmadi, S. (2007). The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* jamzad. *Food chemistry*, 100: 1054-1058.
-

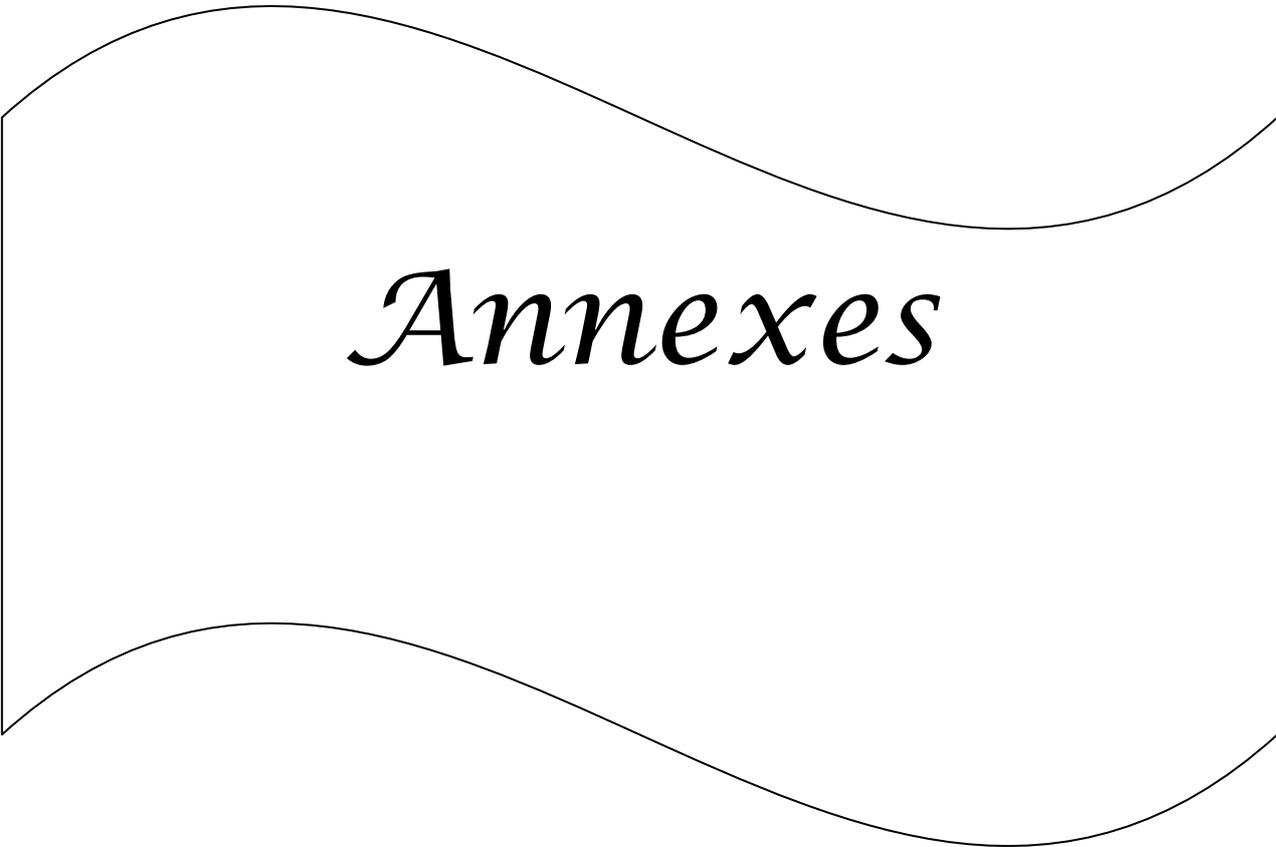
Références bibliographiques

- Smadja, J. (2009). Les Huiles Essentielles. Colloque GP3A - Tananarive 2-3 juillet.
 - Souza, E.L., Stamford, T.L.M., Lima, E.O., Trajano, V.N., Filho, J.M.B. (2005). Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 48(4): 559-566.
 - Talbaoui, A., Jamaly, N., Aneb, M., Il Idrissi, A., Bouksaim, M., Gmouh, S., Amzazi, S., El Moussaouiti, M., Benjouad, A. Et Bakri, Y. (2012). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol 6 (31): 4593-4600.
 - Teisseire, P.J. (1991). Chimie des substances odorantes. Tec & Doc. Lavoisier. Paris. pp :480.
 - Teuscher, E., Anton, R. et Lobstein, A. (2005). plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc éditions, Paris. *In* Lamamra.
 - Turgeon, M. (2001). Profil des produits forestiers première transformation : huiles essentielles. Ministère des Ressources naturelles, Secteur des forêts, Direction du développement de l'industrie des produits forestiers. Québec.
 - Ulubelen, A., Goun, S. (1986). Sesquiterpene acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry*. vol 26 n° 4: 1223-1224.
 - Vansant, G. (2004). Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.
 - Viljoen, A.M., Denirci, B., Baser, K.H.C., Potgieter, C.J., Edwards, T.J. (2006). Micro distillation and essential oil chemistry. A useful tool for detecting hybridisation in *Plectranthus* (Lamiaceae). *South African Journal of Botany*, 72: 99-104.
 - Williams, G M. (1994). Interventive prophylaxis of liver cancer. *European Journal of Cancer Prevention*, 3: 89-99.
 - Wright, G.D., Sutherland, A.D. (2007). New strategies for combating multidrug-resistant bacteria. *Trends mol med.*, 13 (6): 260-267.
 - Xiang, Q., Gao, Y., Xu, Y. H. (2007). Capillary electrophoresis-amperometric determination of antioxidant propyl gallate and butylated hydroxyanisole in foods. *Analytical Science*, 23(6): 713-717.
-

Références bibliographiques

- Yahyaoui, N. (2005). Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Menthe Spicata L* sur *Rhyzoperlhu dominicu (F.)* (Coleoptera, Bostrychidae) et *Triboium confusm(Duv.)* (Coleoptera, Tenebrionidae).Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie,INA, El-Harrach.Sité par kesbi.





Annexes

Annexes

Annexe1

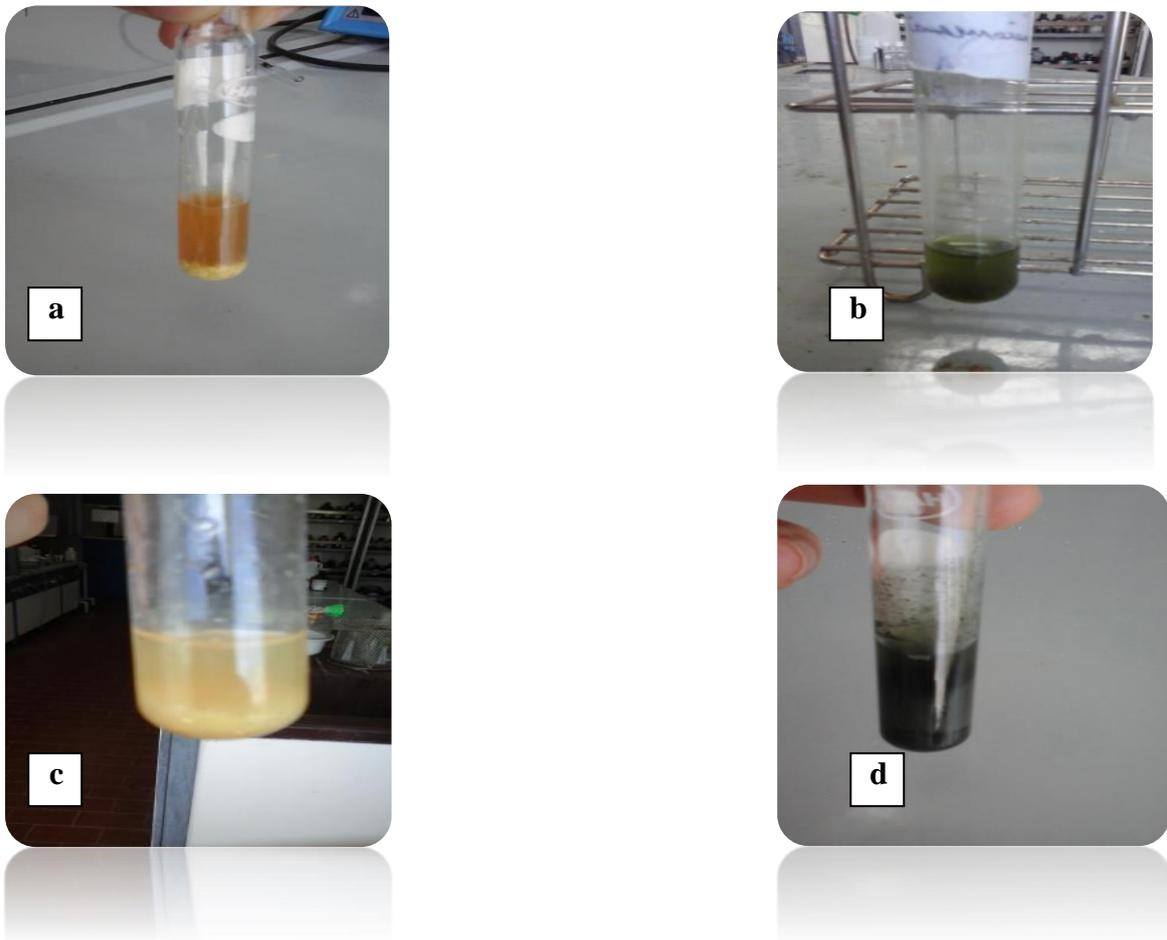


Figure 09. Résultats du screening chimique :

a :les saponosides, **b** :les coumarines, **c** : les flavonoides, **d** : Les tanins .

Annexes

Annexe 2

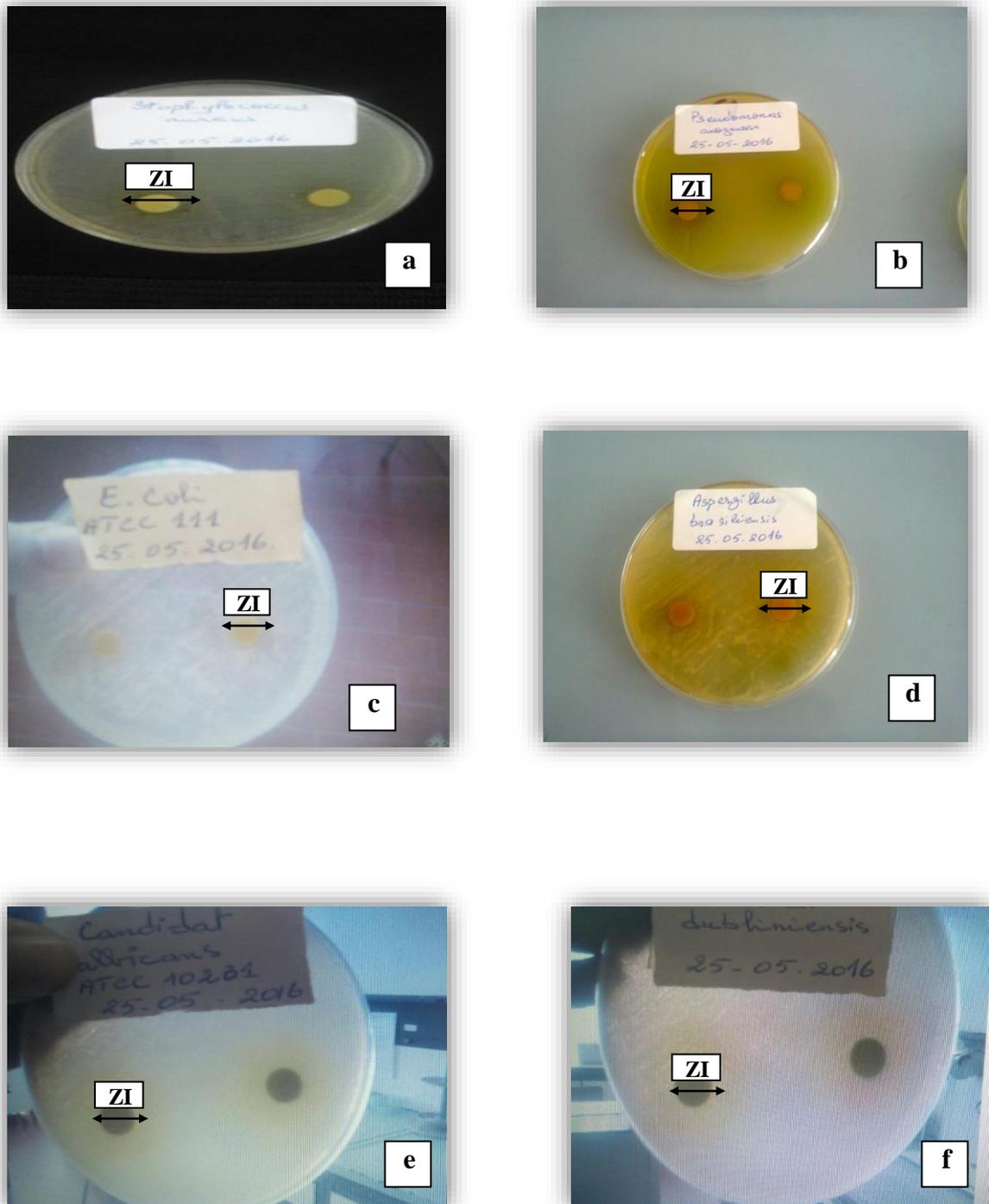


Figure 10. Zones d'inhibition de la croissance microbienne,

a: *Staphylococcus aureus*; **b:** *Pseudomonas aeruginosa*; **c :** *Escherichia coli* ;
d : *Aspergillus brasiliensis*; **e :** *Candida albicans*; **f :** *Candida dubliniensis*.

Annexes

Annexe 3

Tableau 5. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE.

| [HE] mg/ml | 4 | 2 | 1 | 0,5 | 0,25 | 0,125 |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| AA% | 87,4841866 | 45,3487391 | 32,0148436 | 18,5460066 | 4,73981614 | 1,79640719 |

Tableau 6. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

| [Ac Ascorbique] mg/ml | 4 | 2 | 1 | 0,5 | 0,25 | 0,125 |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| AA% | 98,58 | 77,86 | 42,86 | 26,74 | 10,23 | 9,18 |

Tableau 7. Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres.

| | |
|---------------------------|------|
| IC ₅₀ de l'HE | 2,28 |
| IC ₅₀ de Vit C | 1,28 |