République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Génie des Procédés

Mémoire de Master

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Génie des procédés pharmaceutiques

Thème

Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'Inula Viscosa L.

Présenté par :

MENACER Roumaissa
NABI Hanane

Dirigé par :

Dr. TERKMANE Naila

2019/2020

Remerciements

Avant tout, nous remercie le bon Dieu qui nous a éclairé le chemin et qui nous a donné la volonté, la santé et la patience durant toutes les années d'études et le courage pour réaliser ce travail.

Nous plus vifs remerciements à notre chère promotrice Madame TERKMANE Naila Maitre de conférences à l'université Yahia Farès de Médéa de nous avoir fait l'honneur et le plaisir de diriger ce travail. Elle a su nous guider avec patience, compréhension et rigueur.

Mes remerciements vont aussi aux membres de jury, Dr. Benaissa Faiza et Dr. Turkman Meriem de nous avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail.

Nous remercions également tous les membres de laboratoire de chimie du hall technologique qui nous ont beaucoup aidés à réaliser ce travail.

Aux joyeux de nos vies « nos parents » qui sont la source de notre réussite, on souhaite qu'ils trouvent à travers ce mémoire le faible témoignage de leurs efforts et sacrifices.

En fin, un grand merci pour ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail

***A mes parents**, Sans vous je ne serais pas là, Pour tout votre amour et votre soutien, si précieux, pendant toutes ces années, et encore aujourd'hui, et encore demain, je le sais. ! Pour l'enfance merveilleuse que vous m'avez offerte et à laquelle il me manquait rien. Comment vous dire merci… Avec tout mon amour.*

***A mon mari** pour leur Dévouement, qui a partagé mes souffrances.*

***Mes frères sœurs adorés,** Ayoub, Imene, Anes, Baraa, Zaki et sa petite famille.*

***A ma famille** surtout à mon grand-père que dieu ait son âme et l'emmène au paradis.*

***A ma** deuxième famille*

***A ma sœur de cœur** majda.*

***A mon binôme** Hanane avec qui j'ai partage les bons et les durs moments.*

A tous ceux qui me sont chères

Menacer Roumaissa

Dédicace

***Au** nom du Dieu le clément et le miséricordieux louange à Allah le tout puissant.*

*Je dédie ce modeste travail en signe de respect, reconnaissance et de remerciement **à mes chers parents** Nabi Sofien et Mojbar Naima.*

***Amon mari** Terkmane Bilal et aussi ma belle Selma Terkmane.*

***Ames chères sœurs** Imane, Nessrine, Wafaa et Malak.*

***A** toute ma famille.*

***Amon amie** Roumaissa pour leur solidarité envers moi.*

Nabi Hanane

Résumé

Les huiles essentielles possèdent d'importantes activités antimicrobiennes, ce qui nous a conduits à étudier l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Inula Viscosa L.* L'extraction est effectuée par hydrodistillation à partir des feuilles séchées de cette plante.

Malheureusement, à cause de la crise sanitaire internationale due à l'apparition de la pandémie du corona virus (Covid-19), on n'a pas pu continuer tout le travail.

Mots Clés : Inule visqueuse, Extraction, hydrodistillation, huile essentielle, activité antibactérienne.

Abstract

Essential oils have important antimicrobial activities; in this study we have tested the antimicrobial activity of the essential oil of *Inula Viscosa L.* The extraction is done by hydrodistillation method from the dried leaves of this plant.

Unfortunately, due to the international health crisis due to the outbreak of the corona virus (Covid-19) pandemic, we could not continue all the work.

Key words:*Inula Viscosa L.*, Extraction, Steam distillation, essential oil, antimicrobial activity.

ملخص

للزيوت الأساسية أنشطة مهمة مضادة للميكروبات ، في هذه الدراسة قمنا باختبار النشاط المضاد للميكروبات للزيت العطري لنبتة المقرمان حيث يتم الاستخراج بطريقة التقطير المائي من الأوراق المجففة.

لسوء الحظ ، لم نتمكن من مواصلة كل العمل ، بسبب الأزمة الصحية العالمية بسبب تفشي وباء فيروس كورونا كوفيد-19

الكلمات المفتاحية :.التقطير بالبخار المقرمان. الاستخلاص. الزيوت الاساسية. النشاط المضاد للميكروبات.

Sommaire

Résumé 5
Abstract 5
ملخص 5
Sommaire 6
Liste des tableaux 8
Liste des figures 9
Introduction générale 1
Chapitre I : Plantes médicinales 3
I.1. Généralités 3
I.2. Définition 3
I.3. Histoire des plantes médicinales 4
I.4. Plantes médicinales en Algérie 4
I.5. Utilisation des plantes médicinales 6
I.6. Composantes des plantes médicinales 7
I.7. Métabolites des plantes 9
I.7.1. Métabolites primaires 9
I.7.2. Métabolites secondaires 10
I.8. Inule visqueuse (InulaViscosa L.) 12
I.8.1. Présentation de l'Inule visqueuse 12
I.8.2. Description 13
I.8.3. Etymologie 15
I.8.4. Phénologie de l'Inule visqueuse 15
I.8.4.1. Les feuilles 15
I.8.4.2. Les fleurs 16
I.8.4.3. Le fruit 17
I.8.5. Composition chimique et utilisation de l'Inule visqueuse 17
Chapitre II : Huiles essentielles 19
II.1. Introduction 19
II.2. Définition 19
II.3. Répartition et localisation des huiles essentielles 20
II.4. Composition chimique des huiles essentielles 22
II.5. Procèdes d'extraction des huiles essentielles 23
II.5.1. Entraînement à la vapeur d'eau 24

II.5.2. Expression à froid 25
II.6. Action pharmacologique des huiles essentielles 26
II.7. Utilisation des huiles essentielles 27
II.8. Toxicité des huiles essentielles 28
Chapitre III : Partie expérimentale 29
III.1. Objectif 29
III.2. Matériel et Produits 29
III.3. Détermination du taux d'humidité de l'Inule visqueuse 30
III.4. Extraction de l'huile essentielle d'IV 32
III.4.1. Protocole 1 33
III.4.2. Protocole 2 33
III.4.3. Protocole 3 34
Conclusion : 35
Références Bibliographiques : 54

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Position systématique d'Inule visqueuse……23

Tableau III.1 : Matériel utilisé lors de cette étude...……..……40

Tableau III.2 : Produits utilisé lors de cette étude……..40

Liste des figures

Figure I.1 : Couvert végétal en Algérie ……..13

Figure I.2: Timbres postaux……...13

Figure I.3 : Structure des sucres simples……....17

Figure I.4 : Structure chimique des phospholipides……....18

Figure I.5 : Structure de base d'un acide aminé…….….18

Figure I.6 : Structure chimique de nucléosides……...18

Figure I.7 : Structure chimique d'une molécule de phénol…….19

Figure I.8 : Structure chimique des trapézoïdes…….20

Figure I.9 : Structure chimique de quelques alcaloïdes……..…20

Figure I.10 : Inule visqueuse ……....21

Figure I.11 : tige et feuilles de l'Inule visqueuse…….……..21

Figure I.12: Différents espèces de l'Inule……..22

Figure I.13 : Feuilles de l'Inule visqueuse……....24

Figure I.14 : Fleurs de l'Inule visqueuse……...24

Figure I.15 : Fruit de l'inule visqueuse ……....25

Figure II.1 : Poche sécrétrice schizolysigène de la feuille de Rue……...31

Figure II.2 : Structure chimique de quelques terpènes……..……...32

Figure II.3 : Procédé d'extraction des huiles essentielles de la lavande par entrainement à la vapeur…….35

Figure II.4 : Installation d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles …....35

Figure II.5 : Principe de l'expression à froid ……..36

Figure II.6 : Principe de l'enfleurage…….……..36

Figure II.7 : Principe de l'extraction par solvant …….……...37

Figure III.1 : (a) feuilles fraiches de l'IV, **(b)** feuilles sèches de l'IV…….....41

Figure III.2 : Etuve du laboratoire……..43

Figure III.3 : Comparaison du TH% d'I. Viscosa des différentes wilayas……...44

Figure III.4 : Montage d'hydrodistillation ……..……44

Figure III.5 : Poudre des feuilles d'inule visqueuse…….45

Introduction générale

Introduction générale

Les plantes médicinales et aromatiques demeurent une source inépuisable de substances biologiquement actives. Dans la majorité des pays du Sud, les plantes médicinales constituent une composante fondamentale du système de santé. Face à un cout de la santé galopant et insupportable aux budgets des pays développés ou en développement, on assiste depuis plus d'une décennie à une utilisation plus fréquente des plantes médicinales sous formes simples répondant à des normes de qualité (plantes sèches pour préparer les tisanes, huiles essentielles, teintures officinales, extraits fluides et extraits secs)

Face aux limites thérapeutiques des médicaments chimiques, le développement de la recherche sur les plantes médicinales a été orienté vers l'obtention de phytomédicaments présentés sous diverses formes galéniques simples répondant à une réglementation précise en matière d'évaluation portant sur l'innocuité, l'efficacité thérapeutique et la stabilité **[1]**.

Les huiles essentielles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison, d'une part, de leurs activités antioxydante, antibactérienne et antifongique **[2]**. D'autre part, la plupart des huiles essentielles sont classées dans la liste des substances GRAS, qui les rendent utiles en tant que conservateurs naturels dans les industries agroalimentaires **[3]**. Alors que l'intérêt des polysaccharides ne se limite pas à leurs propriétés rhéologiques, le rôle biologique de certains d'entre eux les désigne comme des molécules à forte valeur ajoutée dans un large champ d'applications (cosmétiques, pharmaceutiques, additifs nutritionnels...).

L'activité antibactérienne d'une huile essentielle est en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) ou ceux susceptibles d'être actifs. Mais, il est probable que cette activité dépend aussi de composés minoritaires qui agissent d'une manière synergique **[4].**

L'objectif de notre travail est d'étudier les propriétés physico-chimiques et l'activité biologique (antimicrobienne) de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des feuilles de la plante médicinale Inule visqueuse (*Inula viscosa L.*).

Ce manuscrit et divisé en deux grandes parties :

- une synthèse bibliographique constituée de deux chapitres présentant des généralités sur les plantes médicinales notamment leur définition, historique, composition ainsi qu'une partie réservée à notre plante étudiée qui est l'inule visqueuse. Dans la 2ème partie de la synthèse bibliographique, on présente des informations détaillées sur les huiles essentielles telles que leur répartition et localisation dans la cellule végétale ainsi que les procédés d'extraction de ces huiles.
- Une partie expérimentale où on présente les différents procédés d'extraction de l'huile essentielle d'Inule visqueuse, mais malheureusement à cause de la pandémie due à l'apparition du virus Covid-19, on n'a pas pu achever notre travail.

On termine ce manuscrit avec une conclusion générale où on va présenter les résultats obtenus ainsi que les perspectives attendus.

Chapitre I
Plantes médicinales

Chapitre I : Plantes médicinales

I.1. Généralités

« Dans la touffeur des forêts primaires, le long des bancs coralliens, sous la terre et au fond des océans, les formes vivantes, innombrables, survivent grâce à leurs armes chimiques. Un arsenal de molécules demeure dissimulé dans notre environnement proche. Cet entrepôt bien fourni a été lentement constitué ; plusieurs milliards d'années ont été nécessaires » **[5]**.

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments. Aujourd'hui encore, une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. De l'aspirine au taxol, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaire végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites **[6]**.

Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne **[7]**.

La valorisation de ces ressources naturelles peut avoir des retombées économiques considérables pour notre pays. Récemment des projets de production des plantes aromatiques et médicinales ont vu le jour et sont essentiellement orientés vers l'exportation des plantes fraiches, d'huiles essentielles et d'huile concrète**[8]**.

I.2. Définition

« Les plantes médicinales sont des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses», cette partie peut consister en racine, écorce, feuille, fleur, fruit ou graine **[9]**.Elle contient, au niveau de ses organes, un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont de drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses **[10].**

L'efficacité des plantes médicinales est douée à cause de métabolites secondaires ou des principes actifs : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les huiles essentielles ... **[11]**

Selon la pharmacopée britannique 2013 : Les plantes médicinales sont principalement des plantes entières, fragmentées ou brisées, des algues, des champignons ou des lichens, non transformés, généralement sous forme séchées mais parfois fraîches. Certains exsudats qui n'ont pas fait l'objet d'un traitement spécifique sont également considérés comme des plantes médicinales. Les médicaments à base de plantes sont précisément définis par le nom scientifique botanique selon le système binominal (genre, espèce variété et auteur **[12]**.

Il existe 2 listes:

-La liste A : «les plantes médicinales utilisées traditionnellement », elle est composée de 365 plantes **[12]**.

- La liste B : «les plantes médicinales utilisées traditionnellement en l'état ou sous forme de préparation dont les effets indésirables potentiels sont supérieurs aux bénéfices thérapeutiques attendus ». Elle est composée de 123 plantes **[12]**.

I.3. Histoire des plantes médicinales

Fleurentin (2007) rapporte qu'au cours du premier siècle, *Dioscoride* référença 609 drogues végétales dans son ouvrage « De matériamédica », connu sous l'appellation « Pharmacognosie » **[13]**.

En 1635, *Louis XIII* crée à Paris le célèbre jardin royal des plantes médicinales riche de plus de 2300 espèces végétales. Au 18èmesiècle, les plantes acquièrent leurs identités telles qu'elles sont connues aujourd'hui, à savoir un double nom indiquant le genre et l'espèce **[14]**.

Toutes les civilisations antiques: mésopotamienne, égyptienne, chinoise, indienne, précolombienne avaient respectivement leurs propres panoplies de remèdes végétaux **[15]**. A ce jour, 20000 à 25000 plantes seraient utilisées dans la pharmacopée humaine. Environ 75%des médicaments auraient une origine végétale dont 25%d'entre eux contiendraient au moins une molécule active d'origine végétale **[16]**.

I.4. Plantes médicinales en Algérie

L'Algérie couvre une surface de 2,381.741 km^2 et c'est le deuxième plus grand pays d'Afrique après le Soudan. Deux chaînes montagneuses importantes, l'Atlas Tellien au Nord et l'Atlas Saharien au Sud, séparent le pays en trois types de milieu qui se distinguent par leur relief et leur morphologie, donnant lieu à une importante diversité biologique **[17]**.

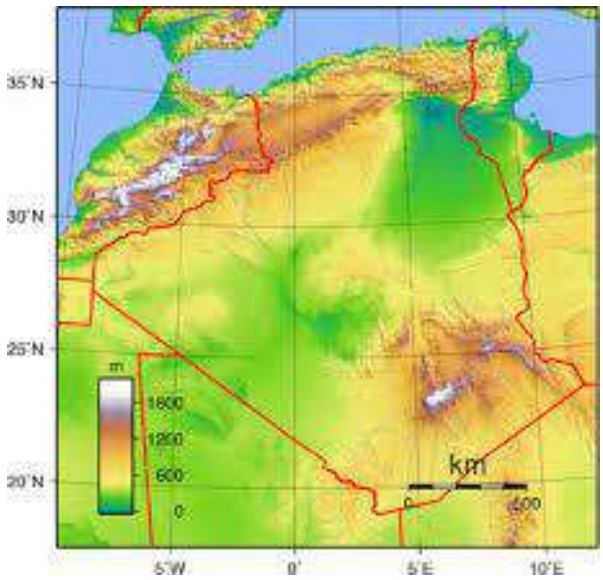


Figure I.1 : Couvert végétal en Algérie

Quant à la grande diversité des plantes médicinales en Algérie et leur usage, une synthèse regroupant toutes ces informations à l'échelle nationale devrait être rapidement entreprise. De tout temps, les plantes médicinales ont eu une grande influence et occupent une place importante dans la vie quotidienne, on peut observer cette influence même sur les timbres postaux **[17].**



Figure I.2: Timbres postaux

L'Algérie de par son climat (méditerranéen, aride) et la nature de ses sols, possède une flore particulièrement riche en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existe à l'état spontané. La valorisation des plantes médicinales et aromatiques est un domaine particulièrement intéressant à développer car c'est une source de produits à haute valeur ajoutée **[18]**.

En effet, l'Algérie constitue aujourd'hui un importateur net de plantes aromatiques et médicinales, elle importe presque la totalité de ses besoins en plantes aromatique, médicinales et huiles essentielles. Aussi, la matière brute de ces plantes est vendue à des prix dérisoires,

par contre que le produit fini est importé à des prix exorbitants. C'est pour cela que l'Algérie devrait rendre le marché des plantes médicinales une filière à part entière profit de son riche potentiel, à l'instar des autres pays du Maghreb **[19]**.

I.5. Utilisation des plantes médicinales

Les plantes médicinales, rarement utilisées à l'état frais, doivent être conservées dans de bonnes conditions. Or, une fois récoltée, la plante se fane et meurt; apparaissent alors des processus de dégradations souvent préjudiciables à l'activité thérapeutique des plantes**[20]**.

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie: en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique **[21]**.

- **En médecine :** L'utilisation médicinale de plantes est une des pratiques thérapeutiques les plus anciennes. Des cas attestés il y a 7000 ans en Chine seront suivis par plusieurs autres tout au long de l'histoire. La découverte du Nouveau Monde, en particulier, avec sa grande richesse naturelle, a eu une forte influence tant sur l'alimentation que sur la pharmacopée humaines. Aujourd'hui, les plantes sont largement utilisées et surtout recommandées par les thérapeutes et les organisations publiques de santé comme l'Organisation mondiale de la santé (OMS). De plus, dans les pays comme la France, le Canada et le Brésil, les médicaments à base de plantes bénéficient d'une autorisation de mise en marché qui donne au consommateur des garanties de qualité et d'innocuité **[22]**.
- **En Agriculture** : Exemple : l'arbre *Azadirachta indica*, qui se développe dans tout le subcontinent indien, est une des plantes médicinales les plus importantes au Bangladesh, de 12 à 18 mètres de hauteur avec un périmètre atteignant jusqu'à 1,8 à 2,4 mètres. Les huiles de cet arbre ont des utilisations dans l'agriculture et dans le contrôle de divers insectes et nématodes **[23]**.
- **En Alimentation, Assaisonnements :** Les épices et les herbes aromatiques utilisées dans l'alimentation sont pour une bonne part responsable des plaisirs de la table considérée comme condiments et aromates. La popularité des épices et herbes aromatiques a été et reste très liée à leurs propriétés organoleptiques **[24]**.

- **En cosmétiques** : Produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène. Certains arbrisseaux sont utilisés comme brosses à dents, vu leur goût ou leur consistance, comme l'*Alchorneacordifolia* **[22].**

Si les plantes sont faciles à utiliser, certaines d'entre elles provoquent également des effets secondaires. Comme tous les médicaments, les plantes médicinales doivent être employées avec précaution. Il est recommandé de n'utiliser une plante que sur les conseils d'un spécialiste ; mal dosé, l'éphédra (*Ephedrasinica*) est très toxique et la consoude (*Symphytum officinale*), une plante qui a connu, jadis, son heure de gloire, peut avoir des effets fatals dans certaines circonstances, toutefois, lorsqu'un traitement à base des plantes est suivi correctement, les risques d'effets secondaires sont fort limités **[25]**.

I.6. Composantes des plantes médicinales

❖ **Principe actif :** C'est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'Homme ou l'animal. Le principe actif est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale. Une drogue végétale en l'état ou sous forme de préparation est considérée comme un principe actif dans sa totalité, que ses composants ayant un effet thérapeutique soient connus ou non **[26]**.

❖ **Les huiles essentielles :** Extraites des plantes par distillation, elles sont largement employées en parfumerie. Ce sont des composés oxygénés, parfois d'origine terpénoïdes et possédant un noyau aromatique. Les huiles essentielles ont de multiples propriétés : elles peuvent être antiseptiques, calmantes, antivirales, anti-inflammatoire.... **[27]**

❖ **Les flavonoïdes :** Présents dans la plus part des plantes, contribuent entre autre à colorer les fruits en jaune ou blanc. Ils ont un important champ d'action. Les flavonoïdes sont antioxydants, maintiennent une bonne circulation, et ont des propriétés anti-inflammatoires et anti virales **[31]**.

❖ **Les alcaloïdes :** Pharmaceutiquement, ils sont très actifs, certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées. Le dérivé de la pervenche de Madagascar traite certains types de cancers tandis que d'autres alcaloïdes comme l'atropine, présente dans la belladone, ont une action directe sur le corps : activité sédative, effets sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) **[27].**

❖ **Substances amères :** Les substances amères forment un groupe très diversifié dont le point commun est l'amertume de leur goût .Cette amertume stimule les sécrétions des glandes

salivaire et la digestion. Les éléments nutritifs étant mieux absorbés, le corps est mieux nourrit et entretenu **[27]**.

❖ **Tanins :** Toutes les plantes contiennent du tanin à un degré plus ou moins élevé, ceux-ci donnent un goût âpre, rendant la plante impropre à la consommation. Certains tanins permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples comme les veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives comme dans la diarrhée ou pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou des brûlures **[27]**.

❖ **Glucosides :** Présents dans de nombreuses plantes médicinales comme la digitale ou le muguet**,** Les glucosides ont une action directe et puissante sur le cœur : ils l'aident à maintenir le rythme cardiaque en cas d'affaiblissement. Ils sont également diurétiques. **[27]**

❖ **Les résines végétales :** sont des exsudats sécrétées par certains végétaux, les conifères essentiellement. Elles ont l'aspect d'un liquide poisseux qui sèche plus ou moins rapidement au contact de l'air. Elles sont souvent fortement odorantes **[28]**.

❖ **Les phénols :** Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique (donnant par synthèse l'aspirine) à des substances plus complexes auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques et peuvent avoir des propriétés antivirales **[27]**.

❖ **Les glucosinolates :** ils sont Présent uniquement dans les espèces de la famille des moutardes et des choux, ils sont irritants pour la peau, provoquant des inflammations. Ils sont utilisés en cataplasme sur les articulations douloureuses, les glucosinolates augmentent le flux sanguin dans la zone irritée, favorisant ainsi l'évacuation des toxines **[27]**.

❖ **L'amidon :** est une substance qui fait partie de la famille des sucres, ou glucides. Plus précisément, l'amidon est un *sucre lent* : il est formé de nombreuses molécules de glucoses, accrochées les unes aux autres. Par conséquent, il ne peut pas être utilisé directement par les cellules: il doit d'abord être « découpé », retransformé en petites molécules de glucose : c'est la digestion. L'amidon est produit par les plantes, qui l'utilisent pour stocker des réserves énergétiques, dans les graines, ou dans des organes de réserves, comme les tubercules, par exemple. Les animaux ne produisent pas d'amidon : à la place, ils fabriquent une autre molécule de réserve, le glycogène **[29]**.

❖ **Les mucilages :** Composant physiologique de nature polyosidique présent chez certains végétaux, dans différents organes (le plus souvent des graines), assurant un rôle de

rétention de l'eau. De nature polysaccharidique hétérogène, les mucilages sont constitués exclusivement d'unités d'oses (mucilages neutres) ou comportent également des acides uroniques (mucilages acides). Forte affinité pour l'eau expliquant leurs différents emplois ainsi que ceux des drogues végétales qui les contiennent **[30]**.

I.7. Métabolites des plantes

Les métabolites des végétaux sont des molécules issues du métabolisme. On distingue deux classes principales : Métabolites primaires et secondaires. Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement **[31]**.

I.7.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories: les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques **[32].** Ils ont un rôle essentielle pour la survie et le développent de la cellule de l'organisme (plantes) et possèdent une fonction intrinsèque, se retrouvent dans toutes les espèces **[33].**

- Glucides (sucres et polysaccharides) : source d'énergie, paroi cellulaire.

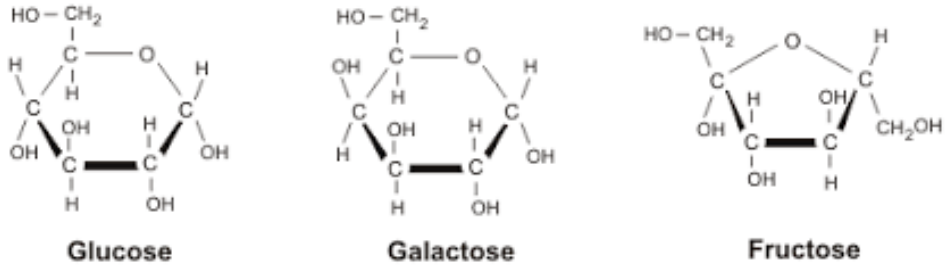


Figure I.3 : Structure des sucres simples

- Lipides : source d'énergie, membranes cellulaire.

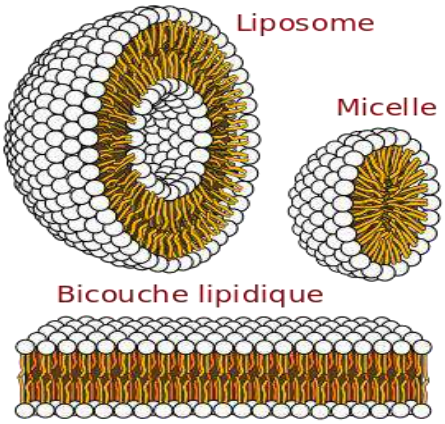


Figure I.4 : Structure chimique des phospholipides

- Acides aminés : construction des protéines

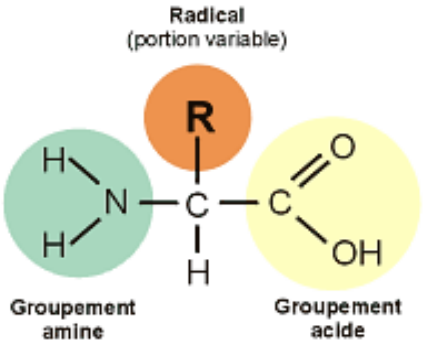


Figure I.5 : Structure de base d'un acide aminé

- Nucléosides, les acides nucléiques et leurs précurseurs biosynthétiques

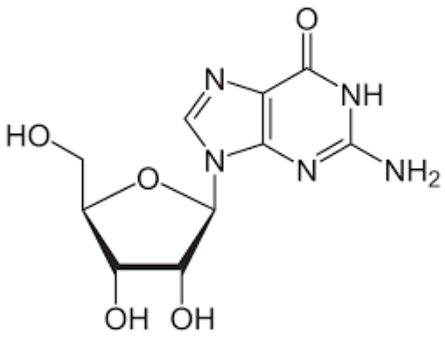


Figure I.6 : Structure chimique de nucléosides

I.7.2. Métabolites secondaires

Un métabolite secondaire est une molécule qui, par exclusion, n'appartient pas au métabolisme primaire. Les métabolites secondaires sont historiquement plus spécifiques aux

plantes, bactéries et champignons, mais on découvre également des métabolismes spécifiques à certains groupes d'animaux **[34]**.

On les retrouve dans des compartiments particuliers ou à des moments précis de la vie. Contrairement aux métabolites primaires, les métabolites secondaires ne participent pas directement au développement de l'organisme (la plante, typiquement). Cependant, ces composés ne sont pas totalement différents des métabolites primaires. En effet, ils dérivent parfois des mêmes voies de biosynthèse et certains, comme la chlorophylle et la lignine ont des fonctions indispensables pour la croissance de la plante, et pourraient donc faire partie des métabolites primaires **[34]**.

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine **[35]**.

- **Composés phénoliques :** ce sont des métabolites secondaires d'un poids moléculaire élevé, largement distribués dans le règne végétal. Les polyphénols (figure I.7) sont des molécules aromatiques constituées d'un groupement phényle (C6) et d'un hydroxyle (-OH) **[34]**.

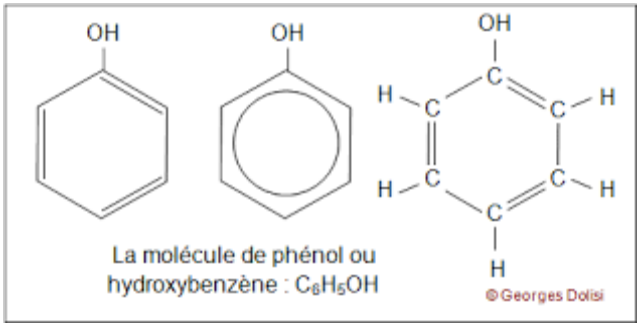


Figure I.7 : Structure chimique d'une molécule de phénol

- **Terpénoïdes :** ce sont des molécules hydrophobes à nombre de carbones multiple de 5, et dont le précurseur est l'isoprène. Ce sont des lipides synthétisés à partir de l'acétyl-CoA. Il existe 20 000 molécules connues avec comme motif commun cette base isoprène.

  Les terpénoïdes (figure I.8) sont stockés dans les vacuoles au niveau des épines, des racines ou encore des feuilles. Leur squelette de carbone est constitué d'unités d'isoprène reliées entre elle. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles **[34]**.

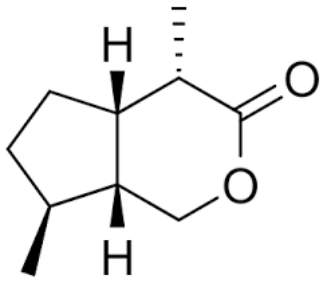


Figure I.8 : Structure chimique des terpénoides

- **Alcaloïdes :** Substance organique, basique (goût amer), azotée, généralement hétérocyclique, d'origine végétale (rarement animale), douée de propriétés physiologiques remarquables (toxiques ou thérapeutiques), telle que la morphine, la nicotine, la cocaïne et la quinine (figure I.9). Il en existe environ 12 000 répertoriés à ce jour; les principaux précurseurs sont des acides aminés simples comme la tyrosine (Tyr), le tryptophane (Trp), l'arginine (Arg) ou la lysine (Lys). Ils sont stockés dans les cellules végétales au niveau des vacuoles. Ils possèdent de nombreuses propriétés pour la plante jouant un rôle de défense et sont également utilisés en médecine et pharmacie **[34]**.

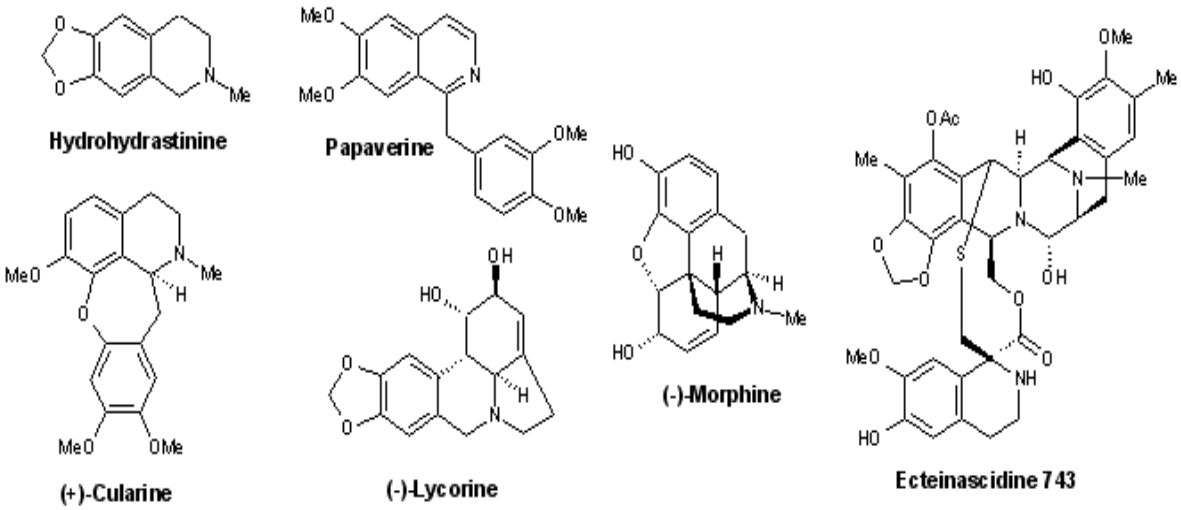


Figure I.9 : Structure chimique de quelques alcaloïdes

I.8. Inule visqueuse (*Inula Viscosa L.*)

I.8.1. Présentation de l'Inule visqueuse

Inula viscosa L. ou l'inule visqueuse (figure I.10) est une plante arbuste, vivace, elle pousse dans les champs «sauvages» dans les alentours du bassin méditerranéen, dans les collines, les zones humides et les bords de la route et apprécie les sols secs et calcaires **[36]**.



Figure I.10 : Inule visqueuse

I.8.2. Description

L'Inule visqueuse est une plante à racine pivotante, toute glanduleuse-visqueuse, à odeur agréable (selon certains, désagréable pour d'autres), ligneuse à sa base (forte racine pivotante lignifiée pouvant atteindre 30 cm de long).



Figure I.11 : tige et feuilles de l'Inule visqueuse

La plante peut atteindre 100 cm (les Flores donnent 5 à 10 cm). Les tiges sont frutescentes à la base, dressées en éventail, assez ramifiées et pourvues d'un feuillage dense. Avec l'âge, elles deviennent ligneuses et foncées à la base. Les feuilles (figure I.11) sont alternes, allongées à lancéolées, insérées directement sur la tige pour les caulinaires (sans pétiole, feuilles embrassantes). Elles sont glanduleuses sur les deux faces. La marge est lisse ou dentée et le sommet aigu.

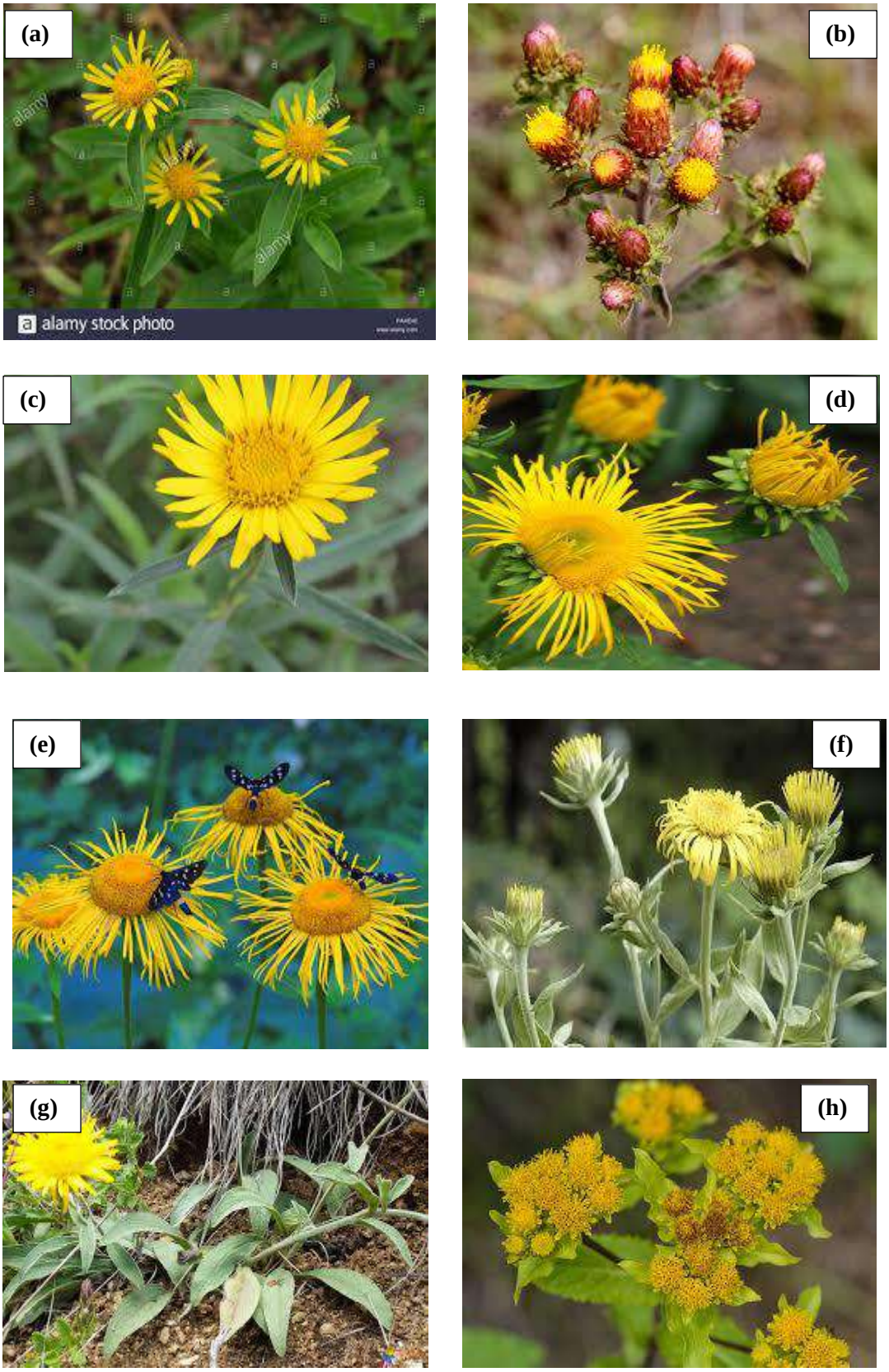


Figure I.12: Différentsespèces de l'Inule:(a) Inula britanica, (b) Inula Conyza, (c) Inula Ensifolia, (d) Inula Graveolents, (e) Inula Helvetica, (f) Inula Helenium, (g) Inula Montana, (h)Inula Bifrons

La plante est collante et très odoriférante, à odeur de camphre, jugée par certains désagréable. Toute la plante est couverte de poils glanduleux qui libèrent une résine odoriférante et collante **[37]**.

Il existe d'autres espèces de l'Inule (figure I.12) tel que : *Inulabritanica, Inulaconyza, Inulaensyfolia*… **[38]**

I.8.3. Etymologie

Inula viendrait du grec : Inéo qui signifie « purger » allusion à une des propriétés thérapeutiques de la plante et *Viscosa* veut dire visqueuse ou aunée visqueuse **[39]**.

Il existe d'autres appellations de l'inule visqueuse :

Nom scientifique : Dittrichiaviscosa (L) Greut : Inulaviscosa Ait **[40]**

Nom vernaculaire : Amagramane, Magramane, Mersitt **[41]**

Nom commun : Inule Visqueuse **[42]**

Nom arabe : El tibek, El tyoun

Nom français : Inule visqueuse, Aunée visqueuse

Nom anglais : Rock Flea-bane

Tableau I.1 : Position systématique d'Inule visqueuse **[43]**

Embranchement	**Spermaphytes**
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous Classe	Gamopétales
Ordre	Campunulales
Famille	Composées
Genre	Inula
Espèce	Viscosa – L – Ait
Synonymie	DittrichiaViscosa L

I.8.4. Phénologie de l'Inule visqueuse

I.8.4.1. Les feuilles



Figure I.13 : Feuilles de l'Inule visqueuse

La plante commence à produire des nouvelles feuilles au mois de mars de taille 1 cm. Ces dernières sont positionnées sur la base inferieur des tiges, occupants bien sûres la places des feuilles sèches de l'année antérieure. A l'arrivé du mois d'avril les feuilles mesurent (1- 5) cm. A la fin de la même période elles sont de (8-10) cm de long et couvrent fortement la moitié de la partie inferieure des tiges (figure I.13). Dans la période de mi -mai une estimation de 60% - 90% des tiges seront couvertes par des nouvelles feuilles, la production des feuilles par la plante se continuera jusqu'à la fin d'octobre (apparition de grandes feuilles vertes). Au mi-novembre seulement 5% des feuilles restent vertes les autres prennent la couleur grisâtre (sénescence foliaire). Pendant l'hiver la totalité des feuille seront grisâtre, mortes et périodiquement seront renouvelées par des nouvelles au prochain mois de mars. **[43]**

I.8.4.2. Les fleurs

Les boutons floraux apparaissent à la fin du mois du juillet (figure I.14). Dans la deuxième décade du mois d'août la plupart des fleurs seront matures, brillantes, Jaune et étendues aussi des nouvelles fleurs seront produites lors du mois d'octobre **[44]**.



Figure I.14 : Fleurs de l'Inule visqueuse

I.8.4.3. Le fruit

Au début du mois d'octobre, il y a l'apparition des premiers fruits avec les akènes et Pappus poilus, ces fruits (figure I.15) sont régulièrement présents jusqu'au mois de novembre. Au-delà de cette période et sous l'action du vent, les graines seront dispersées et le reste de fruit (capsule sèche) persiste sur la tige durant l'hiver **[45].**



Figure I.15 : Fruit de l'inule visqueuse

I.8.5. Composition chimique et utilisation de l'Inule visqueuse

La composition chimique de l'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes fleuries d'Inule visqueuse, a été analysée par chromatographie CG/MS. Parmi les 53 constituants identifiés qui représentent 60% de l'huile, les sesquiterpènes alcooliques fokienol (38.3%) et E-nerolidol (7.1%) sont les principaux composants **[38]**.

L'inule visqueuse est une plante très anciennement et connue, elle a été utilisée au moyen âge jusqu'à nos jours pour ses vertus médicinales variées. Au niveau de l'appareil respiratoire, elle agit comme sédatif de la toux et des spasmes bronchiques, c'est un antiseptique certain de l'arbre respiratoire. Comme c'est le cas pour toutes les plantes aromatiques, l'Inule corrige l'atonie de l'estomac et de l'intestin, elle améliore l'appétit et elle est antiémétique. *Harmonic et Parrissot* ont mis en évidence son action dans le traitement des leucorrhées et sa propriété antiseptique au niveau de l'appareil génital et des voies urinaires **[46]**.
Elle a été utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés anti-inflammatoires, astringentes et vulnéraires **[14]**.

Dans la région méditerranéenne, elle est utilisée pour ses activités: antidiabétiques, elle a des activités antipyrétiques, fortes activités antioxydant, cette plante est utilisée pour traiter les troubles gastroduodénaux et les troubles intestinaux. La médecine traditionnelle a imputé

plusieurs usages de l''Inule visqueuse: anthelminthique, expectorant, diurétique, traitement de la bronchite, tuberculose, anémie et comme un cataplasme pour les maux rhumatismales, anti-viral, antifungique, différentes moisissures, anti-malaria et elle est utilisée pour traiter les blessures des animaux **[47]**.

En Algérie, elle était utilisée sous forme de suc de feuilles fraiches, 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 **[48]**.

L'huile essentielle *d'Inula Viscosa L.* peut être utilisée dans le traitement de l'ulcère gastrique et l'extrait aqueux (EA) des feuilles est utilisé pour le traitement de l'hypertension artérielle **[49]**.

Chapitre II
Huiles essentielles

Chapitre II : Huiles essentielles

II.1. Introduction

Les plantes ont été de tout temps utilisées par l'homme soit dans sa nourriture, comme médicament et parfois même dans ses rites religieux. De même, leurs extraits étaient déjà connus et utilisés par les Egyptiens, les Perses et les Grecs pour leurs propriétés aromatisants et médicinales.

Au début du 16ème siècle, "*Paracelese*" un médecin suisse étudie l'extraction de "l'âme" de végétaux à laquelle on donnera le nom "d'esprit" puis "d'essence" et finalement "d'huile essentielle".

Il Ya environ 500000 plantes sur terre dont environ 10.000 entre elles possèdent des propriétés médicinales. Ainsi, la première firme pharmaceutique et mondiale "Galaxo" étudie chaque semaine 13000 substances chimiques extraites de plantes pour trouver des principes actifs utiles ; ces entreprises pharmaceutiques auront bientôt la possibilité d'étudier environ 2 millions de substances chimiques par semaine.

L'application des huiles essentielles dans différents domaines ; vétérinaire, médecine, cosmétique a fait l'objet de nombreuses recherches. A titre d'exemple citons, la Rue Ruta graveolens (une espèce végétale appartenant à la famille des Rutacée) qui est hypotensif, et antispasmodique, en cosmétique elle est employée comme teinture et parfum dans l'industrie. Dans le domaine agroalimentaire nous avons : la menthe, le thym, l'origan, le romarin et le laurier qui sont très utilisés comme condiments, aromatisants et antioxydants retardant l'altération des aliments grâce aux : composés phénoliques, l'acide rosmarinique et le carvacrole respectivement présents dans le romarin et l'origan **[50].**

II.2. Définition

Les huiles essentielles sont synthétisées par des plantes aromatiques, elles sont des mélanges naturels complexes des métabolites secondaires volatiles, sous forme liquide, incolores ou jaune pâle, odorantes et non grasses [**51].**

L'huile essentielle est définit selon la norme AFNOR NF T 75-006 comme «un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit

par hydrodistillation». Des procédés physiques sont utilisés pour séparer et récupérer l'huile essentielle de la phase aqueuse après hydrodistillation, par exemple la décantation en utilisant un solvant plus volatil que l'eau (éther diéthylique, pentane). Les huiles essentielles sont des liquides huileux volatiles, aromatiques, concentrés et hydrophobes qui proviennent de diverses parties de plantes comme les fleurs, bourgeons, graines, feuilles, branches, écorce, bois, fruits et racines. Les huiles essentielles sont généralement des terpénoïdes, responsable de l'arôme et de la saveur associés avec des herbes, des épices et des parfums, aussi appelées huiles volatiles car ils se répandent facilement dans l'air **[52]**.

Les essences sont divisées en trois classes :

- Essences concrètes: elles sont obtenues par extraction à l'aide d'un solvant, à partir de substances végétales fraîches ;
- Essences absolues : résultent de l'extraction à basse température des concrètes ;
- Résinoïdes : ils sont obtenus par extraction à l'aide de solvants à partir de substances végétales desséchées, de résines, de gommes, gomme-résine ou de baume.

Les huiles essentielles (H.E) sont des molécules actives impliquées dans les mécanismes de défense des plantes, elles sont issues du métabolisme secondaire. Elles ne participent pas directement à la croissance des plantes, mais pour leur fournir une protection naturelle contre les attaques de microbes et les insectes. Une partie de ces métabolites secondaires se concentre dans les sacs oléifères, qui sont des poches sécrétrices des huiles essentielles. Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie. Les huiles essentielles contenues telles quelles dans les plantes sont des composés oxygénés, parfois d'origine terpénoïde et possédant un noyau aromatique. **[53]**

II.3. Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs qui sont répartis dans un nombre limité de familles. Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs bien sûr (bergamotier, tubéreuse…), mais aussi feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier …) et bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal …), des racines (vétier), des rhizomes (curcuma, gingembre …), des fruits (tout épices, anis, badiane …), des grains (Muscade…). La composition de ces huiles essentielles peut varier selon leur localisation.

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associes à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante :

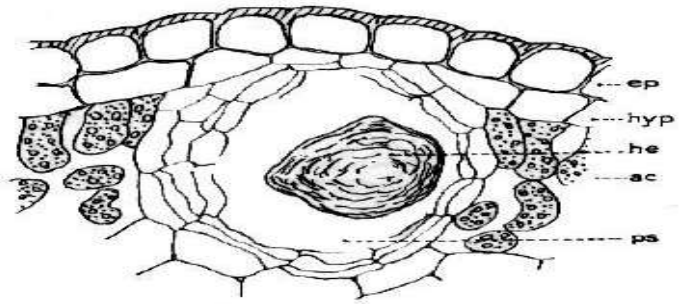
- Cellules à huiles essentielles des lauraceae ou des zingiberaceae ;
- Poiles sécréteurs des lamiaceae ;
- Poches sécrétrices des myrtaceae ou des rutaceae ;
- Canaux sécréteurs des apiaceae ou des asteraceae. **[54]**

Dans la même plante, elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes ; la composition des essences peut alors varier d'un organe à l'autre par exemple les huiles essentielles des fleurs de feuilles et de fruits de divers citrus **[55].** La teneur en huile essentielle varie aussi suivant le climat notamment dans les pays chauds où la teneur en essence et la plus élevée**.**

La teneur d'une drogue en huile essentielle est généralement faible, de l'ordre de 1%. Il existe cependant quelques excipients, par exemple le clou de girofle qui renferme plus de 15% d'essences**.**

Nous distinguons, du point de vue localisation :

- Les essences préformées : sont élaborées dans des cellules localisées le plus souvent dans des organes sécréteurs tel que : les poils sécréteurs, cellules sécrétrices internes, poches sécrétrices (eucalyptus et citrus) et les canaux sécréteurs.
- Les essences non préformées : ce sont des produits aldéhydiques se forment après hydrolyse enzymatique. Exemple : amande amère.



Poche sécrétrice schizolysigène de la feuille de Rue
ep : épiderme ; *hyp* : hypoderme ;
he : huile essentielle ;
ac : cellules chlorophylliennes.

Figure II.1 : Poche sécrétrice schizolysigène de la feuille de Rue

II.4. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges souvent très complexes de molécules organiques, elles sont classées en trois catégories:

- Les essences hydrocarburées (essence de térébanthine, de citron etc…): ces essences sont riches en terpènes, elles sont les plus nombreuses et constituent les pellicules cireuses qui recouvrent parfois les feuilles, les fleurs et les semences. Ces composés sont assez difficilement entrainables à la vapeur d'eau, on distingue les hydrocarbures aromatiques, monoterpéniques ($C_{10}H_{16}$) et sesquiterpéniques ($C_{15}H_{24}$) et quelque fois des hydrocarbures saturés (héptane, octane, nonane, etc….).
- Les essences oxygénées (essence de rose, de menthe etc…): ce sont généralement toutes les essences solides à l'intérieur de ce groupe. On rencontre des alcools aliphatiques et cycliques, saturés et insaturés, des phénols, des éthers- oxydes, des aldéhydes, des cétones, des esters, des acides, des aldéhydes-phénoles et des lactones.
- Les essences sulfurées et azotées: ces essences prennent naissance au cours de la distillation des parties de plantes qui renferment des substances albuminoïdes (crucifères, liliacées). Il existe d'autres corps qui entrent en faible proportion dans la constitution de certaines huiles essentielles: acides organiques, flavonoïdes, coumarines volatiles, etc... **[50].**

La composition chimique d'une huile essentielle est assez complexe. On y trouve généralement de nombreux constituants ceux-ci appartiennent principalement à deux groupes chimiques :

- **Composés terpéniques** : (figure II.2). Les terpénoides constituent un vaste groupe de métabolisme secondaire de structure diverse, important dans de nombreuses interactins biotiques. Sont formés d'unités isopréniques (en C5)(ils répondent à la formule brute (C5H8)n[8], et comprennent les monoterpènes en (C10), les sesquiterpènes(C15), les diterpènes (C20) et les triterpènes en (C30). ils ont la même origine métabolique. Ces terpènes peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques, une HE est un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. parmi ces composés oxygénés, on peut noter la présence d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, de cétones, d'éther-oxydes et de carbures. La composition chimique des HE varie encore de façon appréciable avec le milieu et la période de la végétation. Elle peut aussi être modifiée au cours de l'extraction ou durant la conservation **[56].**

- **Composés aromatiques dérivés de phénylepropane** : Certaines huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques plus particulièrement des composés phénylpropanoïdes dont la biogenèse est différente de celle des terpènes, parmi les divers composés aromatiques dérivés du phénylpropane et présents dans les huiles essentielles ,on peut citer : l'acide de l'aldéhyde cinnamiques (essence de cannelle) et l'eugénol (essence de girofle). En faible proportion :
  - des acides organique de faible poids moléculaire ; ex : acide acétique.
  - des cétones de faible PM.
  - des coumarines volatiles**.**

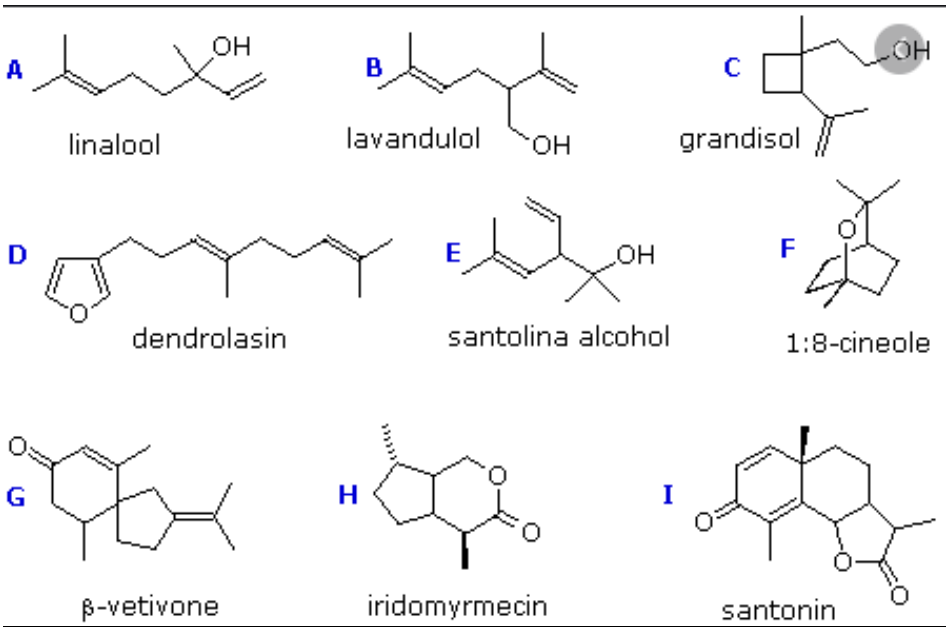


Figure II.2 : Structure chimique de quelques terpènes

La composition d'une essence varie en fonction du plusieurs paramètres notamment, la phase de développement de la plante, facteurs de l'environnement (température, humidité, composition du sol…) et le procédé d'extraction**.**

II.5. Procèdes d'extraction des huiles essentielles

Parmi les divers procédés d'extraction des huiles essentielles, deux seulement sont admis par la pharmacopée française (ainsi que par l'AFNOR et l'ISO) :

- L'entraînement à la vapeur d'eau ;
- L'expression à froid du péricarpe frais de certains citrus

II.5.1. Entraînement à la vapeur d'eau

Cette technique date de l'Egypte ancienne. Elle consiste à extraire les parfums des plantes (huiles parfumées ou huiles essentielles) par de la vapeur d'eau **[57]**. L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille (Figure II.3). Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile **[58].** Une variante de cette méthode est l'hydrodistillation (Drogue émise directement dans l'eau et portée à ébullition, figure II.4)

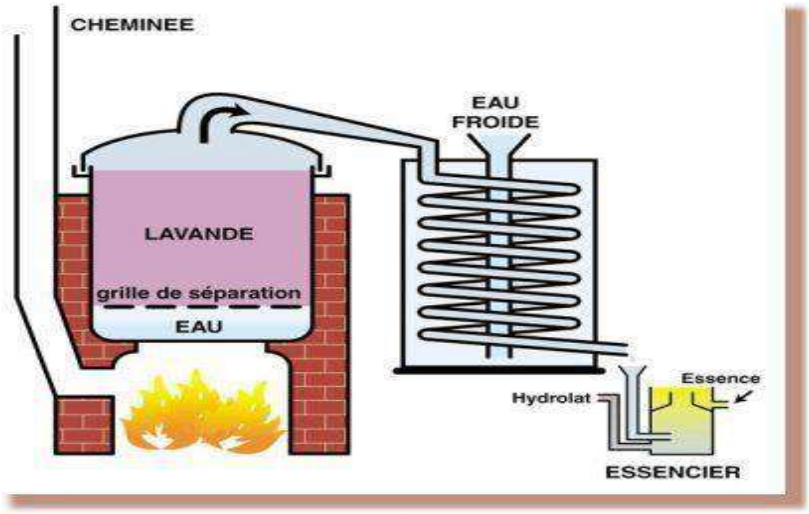


Figure II.3 : Procédé d'extraction des huiles essentielles de la lavande par entrainement à la vapeur

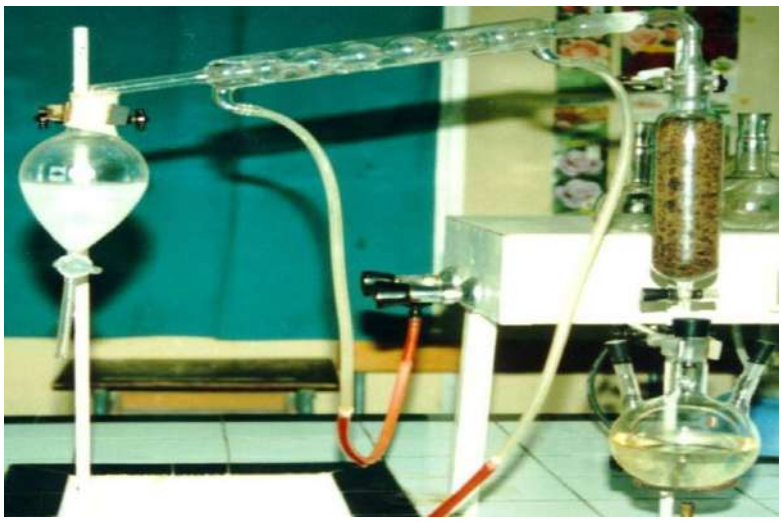


Figure II.4 : Installation d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles

II.5.2. Expression à froid

L'essence, altérable par entraînement à la vapeur d'eau, est ici extraite du péricarpe frais d'agrumes par différents modes d'expression (figure II.5). Dans l'industrie, on procède aujourd'hui par des scarifications mécaniques et entraînement de l'huile essentielle par un courant d'eau. L'essence est séparée par décantation comme précédemment.

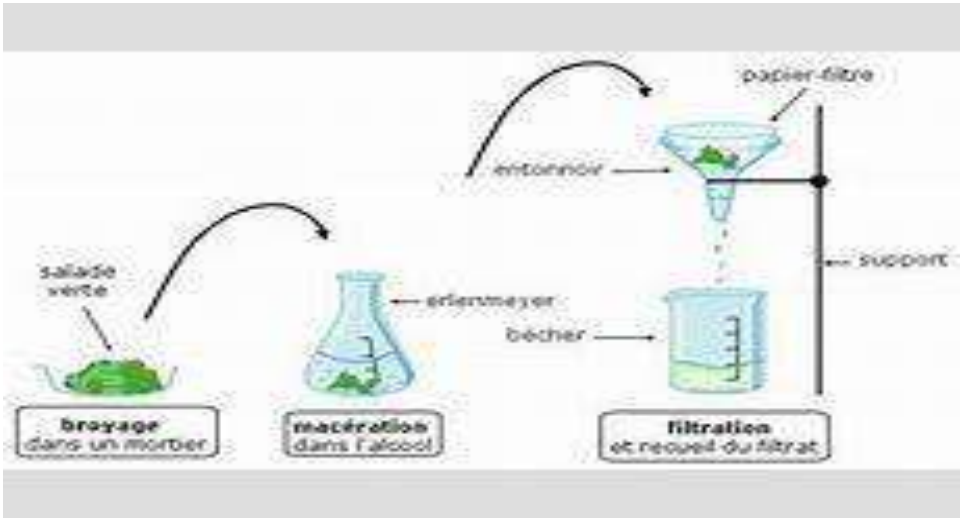


Figure II.5 : Principe de l'expression à froid

Il existe d'autres procédés d'extraction tel que :

- l'enfleurage : les organes fragiles (fleurs d'oranger, pétales de rose) sont mis en contact à la température ambiante a avec un corps gras qui se sature en essence au

bout de quelque jours.la pommade obtenue est épuisée par l'alcool absolu. L'alcool est ensuite évaporé sous vide.

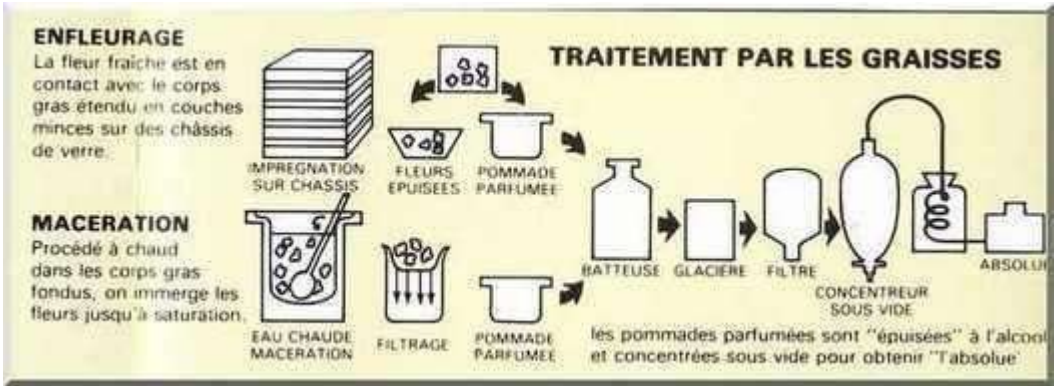


Figure II.6 : Principe de l'enfleurage

- Extraction directe par les solvants organiques volatils.

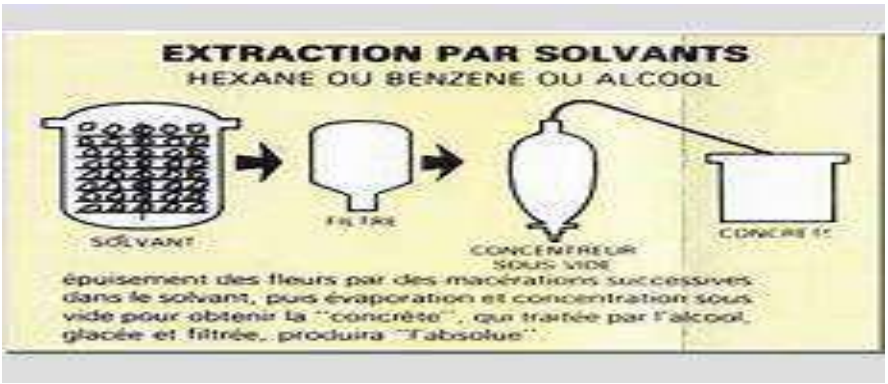


Figure II.7 : Principe de l'extraction par solvant

II.6. Action pharmacologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En aromathérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanalaires ou au niveau de la microflore vaginale et d'origine fongique contre les dermatophytes. Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires, telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite.

Plusieurs études ont mis en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* et de son composé principal, l'α-terpinéol. Les composés actifs agissent en empêchant la libération d'histamine ou en réduisant la production de médiateurs de l'inflammation. Un autre exemple : l'huile essentielle de géranium ainsi que le linalol et son

acétate ont montré une activité anti-inflammatoire sur des oedèmes de pattes de souris induit par le carraghénane. Les huiles essentielles représentent donc une nouvelle option dans le traitement des maladies inflammatoires **[59]**.

Il n'existe pas de réglementation spécifique aux HE en ce qui concerne leur utilisation dans les médicaments. Les spécialités pharmaceutiques à base d'HE répondent à la définition du médicament à base de plantes : « Les médicaments à base de plantes sont des médicaments dont les principes actifs sont exclusivement des drogues végétales et/ou des préparations à base de drogue(s) végétale(s) » **[60]**.

Les huiles essentielles sont utilisées soit comme :

- Aromatisant pour masquer l'odeur désagréable des médicaments destinés à la voie orale.
- Pour l'isolement de certains constituants (eugénol, anéthol, pinènes…)
- En Aromathérapie : une thérapeutique qui utilise les huiles essentielles pour traiter un certains nombres d'états pathologiques **[61]**.

II.7. Utilisation des huiles essentielles

Elles sont utilisées dans certains médicaments, en parfumerie, en phytothérapie ou comme agent de saveur dans l'alimentation. Il faut distinguer l'activité de l'huile essentielle et celle de la plante infusée. Il existe souvent un seuil, au-delà duquel, elles peuvent devenir toxiques.

L'utilisation des plantes et des huiles est contrôlée par le code de la santé publique. Depuis plusieurs années les huiles essentielles ont envahi de nombreux produits de la vie courante. On les retrouve de plus en plus en tant qu'arômes alimentaires comme exhausteur de goûts (café, thé, tabac, vin, yaourt, plats cuisinés,..). La cosmétique et principalement la bio-cosmétique est également un secteur qui utilise de plus en plus d'huiles essentielles on les retrouve dans de nombreux produits comme : savons, shampoings, gel-douches, crèmes,… Les HE servent par exemple comme produits phyto-sanitaires pour combattre dans les cultures végétales les infections fongiques, bactériennes ou virales. Elles apportent des solutions en agriculture biologique, réduisant les effets néfastes des pesticides de synthèse comme la pollution ou le développement de résistances **[62]**.

En raison de leurs diverses propriétés, les huiles essentielles sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels

comme en pharmacie par leurs pouvoirs, antispasmodique, antidiabétique, analgésique, apéritif, antiseptique…, en alimentation par leur activité antioxydante et leur effet aromatisant, en parfumerie et en cosmétique par leur propriété odoriférante **[58]**.

Il existe différents modes d'utilisation : la voie cutanée diluée, la voie cutanée pure, l'inhalation humide, l'inhalation sèche, la voie orale, la voie rectale et la voie vaginale. Il faut bien faire attention de respecter le mode d'utilisation adéquate à chaque huile essentielle. En effet, certaines huiles ne se diffusent pas, d'autres ne s'avalent pas et d'autres ne peuvent être utilisées par voie cutanée. Cela est très souvent dû aux différents composants chimiques de l'huile essentielle **[59]**.

II.8. Toxicité des huiles essentielles

Il faut savoir que les huiles essentielles, bien que produits issues de plantes, peuvent présenter une certaine toxicité. Il faudra donc toujours bien expliquer au patient qu'il est important de respecter scrupuleusement les voies d'administration, les posologies, les durées de traitement, les contre-indications de chaque huile essentielle **[59]**.

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle–ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise. Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle –ci est utilisée en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation. Les huiles essentielles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées.

Selon *Englebin* (2011), les huiles essentielles sont des substances très puissantes et très actives, c'est la puissance concentrée de la plante aromatique, il ne faut donc jamais exagérer les doses, quel que soit la voie d'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée. *Paracelse* a dit : « rien ni poison, tout est poison, tout dépend de la dose », il faut également savoir qu'une période trop prolongée provoque l'inversion des effets et /ou l'apparition d'effets secondaires indésirables **[53]**.

Chapitre III
partie expérimentale

Chapitre III : Partie expérimentale

III.1. Objectif

Ce travail a pour objectif l'extraction de l'huile essentielle d'Inule visqueuse (*Inula Viscosa L.*) ainsi que l'étude de son activité antimicrobienne.

L'ensemble des manipulations a été réalisé au niveau du laboratoire de chimie 03 du Hall technologie de l'université "Yahia Farès" de Médéa.

Notre expérimentation a été réalisée en 2 parties :

- La première partie consiste en l'extraction de l'huile essentielle à partir des feuilles d'Inule visqueuse (IV).
- La deuxième partie a pour but l'étude de l'activité antimicrobienne de l(huile essentielle (HE) d'I.V.

Malheureusement, à cause de la crise sanitaire internationale due à l'apparition de la pandémie du corona virus (Covid-19), on n'a pas pu achever ce travail.

III.2. Matériel et Produits

Le matériel et les produits utilisés lors de ce travail sont résumés dans les tableaux III.1 et III.2 respectivement.

Tableau III.1 : Matériel utilisé lors de cette étude

Matériels	Fournisseurs
Balance	Adventurer (OHAUS)
Etuve	Niive
Installation de distillation	/

Tableau III.2: Produits utilisés lors de cette étude

Nom	Formule générale	M (g/mol)	Pureté (%)	Fournisseurs
Chlorure de sodium	NaCl	58.5	1	Sigma-Aldrich
Ether de pétrole	/	/	/	/
Sulfate de sodium	Na_2SO_4	142	/	Sigma-Aldrich

Matière végétale :

Les feuilles d'Inule visqueuse ont été récoltées de la région d'Ouamri, wilaya de Médéa, au mois de mars 2019. Une fois récoltée, la plante a été séchée à l'abri de la lumière et à température (T°) ambiante pendant 4 à 7 jours (figure III.1).

La plante utilisée dans cette étude a été identifiée au niveau de laboratoire d'analyse de jardin d'essai « Hamma » à Alger.



Figure III.1 : **(a)** feuilles fraiches de l'IV, **(b)** feuilles sèches de l'IV

III.3. Détermination du taux d'humidité de l'Inule visqueuse

La détermination du taux d'humidité est réalisée selon le protocole décrit ci-dessous

Un échantillon de masse initiale m_0=40.7g des feuilles fraiches d'I. Visqueuse a été étalé sur un plateau, puis introduit dans l'étuve à 105°C pendant 24h (figure III.2). Après

refroidissement dans un dessiccateur contenant du gel de silice, la masse des feuilles sèches a été mesurée « m_1».

La détermination du taux d'humidité TH% se fait par le calcul de la différence de masse avant et après le séchage selon la formule suivante :

$$TH\ (\%) = \frac{m_0 - m_1}{m_0} * 100 \quad \text{.....} \quad \text{(III.1)}$$

Avec :

m_0 : la masse initiale de la plante fraiche (g).

m_1 : la masse finale de la plante sèche (g).

TH% : pourcentage du taux d'humidité.



Figure III.2 : Etuve du laboratoire

Après le séchage, la masse finale obtenue des feuilles sèches de l'Inule visqueuse est de 9.18 g. Le calcul du taux d'humidité en utilisant l'expression III.1 donne une valeur de 77.44%.

Le résultat d'analyse de notre échantillon a révélé que la teneur de l'humidité des feuilles d'Inule Visqueuse est très importante, elle est de 77,44 %. Cela signifie que la majeure partie de la plante est constituée d'eau. Cette valeur du taux d'humidité est inférieure à celle obtenue de l'Inule visqueuse cultivée à Ain Defla (79.5%) **[63]**, Et supérieure au taux d'humidité de l'Inule visqueuse originaire de Draa ElMizan (70.9%) **[64]**.

Cette différence peut être liée aux facteurs climatiques du milieu, la position géographique ainsi que la période de la récolte, etc.…

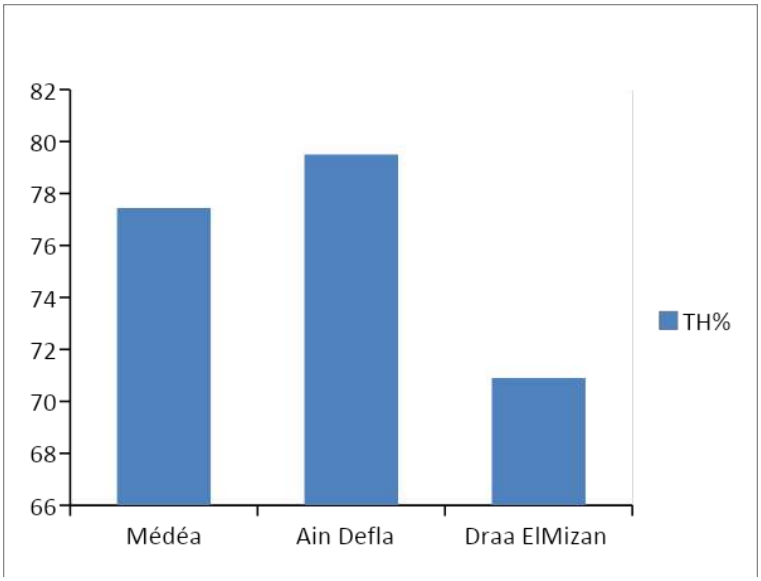


Figure III.3: Comparaison du TH% d'I. Viscosa des différentes wilayas

III.4. Extraction de l'huile essentielle d'IV

L'extraction de l'huile essentielle d'Inule visqueuse a été réalisée en utilisant une simple installation d'hydrodistillation (figure III.4).



Figure III.4 : Montage d'hydrodistillation

Afin d'augmenter le rendement d'extraction en HE, trois protocoles d'extraction ont été utilisés :

III.4.1. Protocole 1

Ce protocole est basé sur l'utilisation des feuilles sèches intacte d'inule visqueuse (sans broyage). Dans un ballon de distillation de 1L, on introduit 50g de matière végétale et 500 mL d'eau distillée. Le mélange est porté sous ébullition. Après un certain temps, la vapeur chargée en huile essentielle traverse le réfrigérant, puis elle est condensée et récupérée dans une ampoule à décanter .Ce processus prend 3 à 4 heures.

On ajoute au distillat qui se trouve dans l'ampoule à décanter 1 g de NaCl et on agite bien le mélange puis on le laisse se décanter. Deux phases apparaissent dans l'ampoule à décanter : une phase dense c'est l'hydrolat et une phase légère c'est l'huile essentielle. On récupère l'HE par séparation physique. Afin d'éliminer totalement l'eau de l'HE, on ajoute une quantité de sulfate de sodium Na_2SO_4. La quantité de l'HE obtenu est très petite et on n'a pas pu récupérer une quantité suffisante pour l'étude antibactérienne. C'est pour cette raison on a passé au protocole 2.

III.4.2. Protocole 2

Les feuilles de l'inule visqueuse sont couvertes de poils glanduleux qui libèrent une résine odoriférante et collante, ce qui rend le contacte avec l'eau un peu difficile. Pour éviter ce problème, on procède au broyage des feuilles sèches de l'Inule visqueuse. Ce protocole est basé sur les mêmes étapes que le protocole 1, sauf dans ce cas-là on utilise 50g de la poudre des feuilles dans 500mL d'eau distillée.

A la fin de l'extraction on a rencontré le même problème que le protocole 1, il y avait une fuite de vapeur dans l'installation et on n'a pas pu récupérer une quantité d'HE suffisante pour notre étude.



Figure III.5 : Poudre des feuilles d'inule visqueuse

III.4.3. Protocole 3

Ce protocole est basé au début sur une macération à froid de nos feuilles fraiches d'Inule visqueuse dont le but de permettre à l'eau de pénétrer dans la matrice végétale.

Au début, on a pris 50g d'IV dans 500mL de l'eau distillée, le mélange est laissé au réfrigérateur pendant 24h à la température de 4°C, puis après on réalise l'extraction par hydrodistillation en suivant les mêmes étapes citées dans le protocole 1. Malheureusement à cause de la fuite de la vapeur dans le montage d'hydrodistillation, on n'a pas pu récupérer l'huile essentielle de l'Inule visqueuse.

Conclusion générale

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques, Cependant, l'utilisation potentielle de plantes supérieures comme source de nouveaux médicaments sont encore mal explorés. Un petit pourcentage seulement a été étudié phytochimiquement et de même du point de vue de leurs propriétés pharmacologiques; c'est environ 5000 espèces seulement qui ont été étudiées à des fins médicaux.

L'inule visqueuse est une plante très utilisée dans la région méditerranéenne pour ces activités antidiabétique, antipyrétique et anti-inflammatoire. L'objectif de notre travail était d'extraire l'huile essentielle d'inule visqueuse par hydrodistillation et d'étudier l'activité antibactérienne de cette l'huile et de la comparer avec des études ont était faites auparavant en Algérie, Maroc, Tunisie et en Egypte.

Malheureusement, la propagation de la pandémie du Covid-19 nous a empêchés d'achever notre travail en bonnes conditions.

Références Bibiliographiques

Références Bibliographiques

[1] Chemli R., « Plantes médicinales et aromatiques de la flore de Tunisie, Heywood V.H. (ed.) , Skoula M. (ed.) . Identification of wild food and non-food plants of the Mediterranean region", Cahiers Options Méditerranéennes; n. 23, 1997, pages 119- 125

[2] Dung N.T., Kim J.M., Kang S.C., "Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of Cleistocalyx operculatus (Roxb.) Merr and Perry buds", Food and Chemical Toxicology 46, 2008, 3632-3639.

[3] Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A., Rasooli I., "Chemical and biological characteristics of Cuminum cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils", Food Chem., 102, 2007, 898-904.

[4] Sanchez M., Larrauri, J.A., Soura_calixto, F., "A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols", journal of the science of food and agriculture, 76 (1998), 270-27.

[5] Pierre P., François C., « Le magasin du bon Dieu les extraordinaires richesses thérapeutiques des plantes et des animaux », (2001), Le grand livre du mois.

[6] Hostettmann K., Poteratt O., Wolfender J-L., « The potential of higer plants as a Sourse of New Drugs". Chimia 52 (1998), 10-17.

[7] Ahmad F. A, « Plantes médicinales et aromatiques dans le monde arabe. L'agriculture et la fabrication de plantes médicinales dans le monde arabe », Institution arabe pour les études et publication, 1995, p : 2-22.

[8] Laama H., « Etude de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Petroselinum Sativum* de la région d'Ain Defla », Master En Génie des procédés, Université Djilali Bounaama Khemis Miliana, (2015).

[9] Dillemann G., « Revue d'Histoire de la Pharmacie », (1991), p : 36-288 .

[10] Omar A, Mohammed El haykle M., "Plantes médicinales et aromatiques » deuxième édition, installation connaissance D'Alexandrie, (1993), p:13-134.

[11] Zbalah H., Belarbi Y., « Effet de séchage des plantes médicinales de la famille des lamiacées (Romarin) sur l'activité antibactérienne », Master en biologie, Université abdelhamin Ibn Badis-Mostaganem, 2018.

[12] Merad F., Mahiout T., « Contribution à l'étude de conformité des drogues pour tisanes vendues en officines », Doctorat en Pharmacie, Université Mouloud Mammeri, 2019.

[13] Bruneton J., « Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. Lavoisier », 4ème édition, (2009), TEC & DOC, Paris, p : 80

[14] Rekkal M., Maachou O., « Contribution à l'Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'Inula viscosa », Master en Biologie, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, 2016.

[15] Mekkiou. R, « Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires du genre Genista (fabaceae : *G. saharae*, *G. ferox*) », thèse de Doctorat, Université Constantine, 2005.

[16] Fouche J.G, Marquet A., Hambuckers A., « Les plantes médicinales, de la plante au médicament. Observatoire du monde des plantes», (2000), édition. Sart-tilman, Liege.

[17] Belbache H., « Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora* DESF », Mémoire de Magister en Science en Chimie organique Option phytochimie, Université Mentouri Constantine, page 10.

[18] http://www.geoecotrop.be/uploads/publications/pub_341_13.pdf (dernière consultation09/2020)

[19] Adouane S., « Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région médicinale des Aurès », Mémoire de magistère en sciences agronomiques, Université Mohamed Khider – Biskra, 2015/2016.

[20] Aidoud A., Sammoudi R., « Plantes Médicinales Anti-rhumatismales du Sahara Algérien », Master, Immunobiologie approfondie, Université 8 Mai 1945 Guelma, 2016.

[21] https://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/bitstream/123456789/12399/1/S.%20Baatouche.pdf

(Dernière consultation : 09/2020).

[22] Hamdi I., Belkacem F., « Evaluation de l'activité antifongique des extraits aqueux et méthanolique d'une plante endémique de la wilaya d'Adrar contre la maladie de Bayoud : Fusariose », Master, Université d'Adrar, 2017.

[23] Hita H., Belai I., « Evaluation De L'activité Antioxydante De La Plante Médicinale Moltkia Ciliata « Forssk Maire » », Master en Génie chimique, Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued, 2018, p : 11.

[24] Mehani M., « Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus camendulensis* dans la région de Ouargla », Thèse de Doctorat en Biologie, Université Kasdimerbah, Ouargla, 2015.

[25] https://www.ecoledesherbes.org/2015/05/06/approche-de-la-phytoth%C3%A9rapie/

(Dernière consultation : 09/2020).

[26] Jean-Yves Chabrier, Epinal (88), Doctorat en Pharmacie, Cinales et formes plantes médicinales et formes d'utilisation en Phytothérapie, Université Henri Poincare-Nancy 1, 2010.

[27] https://www.ecoledesherbes.org/2015/03/14/les-%C3%A9l%C3%A9ments-actifs-de-plantes/ (Dernière consultation : 25/07/20)

[28] https://fr.wikipedia.org/wiki/R%C3%A9sine_(v%C3%A9g%C3%A9tale) (dernière consultation : 25/07/20)

[29] https://fr.vikidia.org/wiki/Amidon (dernière consultation: 25/07/20)

[30] https://dictionnaire.acadpharm.org/w/Mucilage (dernière consultation : 25/07/20)

[31] Haslam E., « Polyphenol complexation. In "polyphenolic phenomena"", Chap. 2, Ed. Scalbert A. INRA (Paris), 1993, p: 23-31.

[32] Koné D., « Enquête ethnobotanique de six plantes médicinale maliennes – extraction, identification d'alcaloïdes – caractérisation, quantification de polyphénols, Etude de leur activité antioxydant, Thèse de doctorat, Université de Lorraine, 2008-2009.

[33] Iwu, M-M., "The ethnobotanical approach to drug discovery: strengths and limitations", Advances in Photomedicine, 1 (2002), 309-320.

[34] http://fsesnv.univ-biskra.dz/images/stories/cours_bio/les%20substances%20dorigine%20vgtales.pdf (Dernière consultation: 27/07/20)

[35] Krief S., « Métabolites secondaires des plantes et comportement animal », Thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle, (2003).

[36] Baytop, T., "Therapy with Medicinal Plants in Turkey", Istambul University Press, Istambul, 1984.

[37] https://fr.wikipedia.org/wiki/Inule_visqueuse (dernière consultation le : 01/09/2020)

[38] Boumaza D., « Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *InulaViscosa*, *Rosmarinus officinalis* de la région d'Oran », Mémoire de Magister en chimie, Université d'Oran, 2011.

[39] Fauron R., Moatti R., Donadieu Y., « La phytothérapie. Les thérapeutiques différentes. » Ed. Moloine, (1983), p245.

[40] Bartels A, « Guide des plantes du bassin méditerranéen ». Ed Eugenulmer, Paris, (1997), p172.

[41] Quezel P., Santa S., « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ». Editions du centre national de la recherche scientifique. (1963), Tome 2.

[42] Bonnier G., « La Grande Flore » .Ed Beline (1990), p517.

[43] P .Leroux. Lamene, R. Fritz, « pestic.Sc », 36,(1992).P261,

[44] Parolin P., Ion Scotta M., Bresch C. "Notes on the phenology of *Dittrichia viscosa*". Journal of Mediterranean Ecology, 12 (2013), 27-35.

[45] Parolin P., Ion Scotta M., Bresch C, "Biology of *Dittrichia viscosa*, a Mediterranean ruderal plant: a review", International of Experimental Botany, 83 (2014), 251-262

[46] Bock B., «Dittirichia viscosa Subs p. viscosa», Article Tela -Botanica.6, 2-3(2015).

[47] Boukemaya F., Messaoudi F., « Etude phytochimique de la plante *Inula viscosa (L) Ait* (Asteraceae) et évaluation des activités insecticide et antimicrobienne de son extrait éthanolique brut », Mémoire de Master, Université M'hamed Bougara de Boumerdés, 2016.

[48] Beldjillali F., Madouni N., « Evaluation de quelques activités biologique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse (*Inula Viscosa*) », Master en science de la nature et de la vie, Université Blida 1, 2016.

[49] Reeb C., « Plantes mellifères l'inule visqueuse », Abeilles et Fleurs, 720 (2010),19-20.

[50] https://agronomie.info/fr/historique-des-huiles-essentielles-2/?utm_source=rss&utm_medium=rss&utm_campaign=historique-des-huiles-essentielles-2 (Dernière consultation septembre 2020).

[51] Dalal M., Oumhani S., « Etude de l'activité antibactérienne d 'Artemisia herba alba de la région (El-kantara) en vue de son utilisation comme bioconservateur dans le lait cru de vache », Mémoire de Master en Sciences de la nature et de la vie Spécialité Microbiologie appliquée, Université de Biskra, 2019.

[52] Bouzid D., « Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON », Thèse de Doctorat en Sciences, filière Biologie, Spécialité Microbiologie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 2018.

[53] Benine R., Redouani k. «Extraction et caractérisation physicochimique et biologique des huiles essentielles extraites à partir d'une plante médicinale (Mentha aquatica L.) de la région d'El oued », Mémoire de Master en Sciences Biologiques, Spécialité Biochimie Appliquée, Université Echahid Hamma Lakhdar D'el-Oued, 2018-2019, P 6.

[54] Merzougui I., Tadj H., « Etude de l'effet antibactérien et antioxydant d'Ammoides verticillata De la région de Tlemcen », Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Agronomie Option Technologie des Industries Agro-Alimentaires, Université Abou-Bakr Belkaïd – Tlemcen, 2012, PP 6-7.

[55] http://dspace.univ-msila.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/10266/chapitre1.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Dans%20une%20m%C3%AAme%20plante%2C%20elles,Paris%20et%20Hurabielle%2C%201981) (Dernière consultation : 09/2020).

[56] http://e-biblio.univ-mosta.dz/bitstream/handle/123456789/8389/MCHI52.pdf?sequence=1&isAllowed=y%20page%205 (Dernière consultation : 09/020)

[57] Benabdallah H., « Techniques d'extraction, de purification et de conservation », Polycopié du cours en master1 analyses biochimique, Université Ferhat Abbas de Sétif, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 2016, P13.

[58] Baziza M., « Extraction D'huile Essentielle De L'espèce Végétale *Salvia Officinalis L.* Par Hydrodistillation : Caractérisation Physicochimique Et Modélisation Paramétrique », Mémoire de Master, Université Badji Mokhtar-Annaba, Département de Génie des Procédés, Option Génie Chimique, 2017.

[59] Vangelder V., « L'aromathérapie dans la prise en charge des troubles de Santé Mineurs Chez L'adulte A L'officine », Thèse de Doctorat en pharmacie, Université de Lille 2, faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille, 2017.

[60] «Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles », Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles, Direction de l'Evaluation de la Publicité, des Produits Cosmétiques et Biocides - Catherine Desmares Département de l'évaluation des produits cosmétiques, biocides et de tatouage - Anne Laurent, Céline Delerme, 2018, P6.

[61] Sahraoui, « Les huiles Essentielles », Laboratoire de pharmacognosie, UN1901, 2014-2015.

[62] Benouali D., « Extraction et identification des huiles essentielles », Polycopie Cours Module : Séparation et analyse des biomolécules master 2 contrôle de qualité, Université Des Sciences Et De La Technologie D'Oran «Mohamed Boudiaf» Faculté de chimie, Département de chimie physiques, 2016.

[63] Bel kacem kourmi Z., Djazairi F-Z., « Contribution à l'étude des polyphénols et l'huiles essentielles des plantes médicinales « *Inula viscosa* » et « Rosmarinus officinales » et évaluations de leurs activités antimicrobiennes », Mémoire de Master, Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana, 2016.

[64] Kheyar N., « Contribution à l'étude de l'activité antioxydant et antibactérienne des huiles essentielles *d'Inula viscosaL.*, *Salvia officinalis L.* et *Laurus nobilis L.* », Mémoire de Magister en Biologie, Université A. Mira de Bejaia Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie, 2009.