

Teneur en Polyphénols et Activité Antioxydante des Huiles Essentielles, Hydrolats et Extraits des Feuilles de l'*Inulaviscosa* (L.) Aiton d'Algérie

Ratiba DERRICHE¹, Saida MESSAOUDI, Naima LAHOVAZI et Sarah AMROUCHE

Ecole Nationale Polytechnique, Laboratoire de valorisation des énergies fossiles

10 Avenue Hassen BADI BP182 El-Harrach 16200 Alger Algérie

1ratiba.derriche@g.enp.edu.dz

Résumé -Les huiles essentielles des feuilles d'inule visqueuse, récupérées soient par entraînement à la vapeur d'eau, par hydrodistillation ou par hydrodiffusion, bien que leur rendement soit faible, ont une activité antioxydante qui varie de 35% à 87%, de 20% à 30% et atteint 90% pour les trois procédés respectivement.

Leurs hydrolats possèdent des activités antioxydantes très intéressantes et sont riches en polyphénols, les teneurs obtenues varient de 0,43 à 0,84 mg EAG mg/mL, de 1,64 à 2,99 mg EAG mg/mL, et atteint 1,55 mg EAG mg/mL pour les trois procédés cités respectivement. L'activité antioxydante des hydrolats augmente avec la teneur en polyphénols, elle peut atteindre 85% pour une concentration supérieure à 1 µg EAG/mL, 80% pour une concentration supérieure à 20 µg EAG/mL, et 80% pour une concentration supérieure à 2 µg EAG/mL pour les trois procédés respectivement. Ce fort pouvoir est aussi indiqué par leurs IC₅₀ qui varient de 0,33 à 5,9 µg/mL.

Les essais d'extraction réalisés sur les feuilles de l'inule visqueuse dans un soxhlet ont montré des rendements décroissants selon la polarité du solvant utilisé ainsi que l'activité antioxydante. L'extrait méthanolique possède l'activité antioxydante la plus élevée (IC₅₀ = 5,33 ± 0,58 µg/mL), suivi de l'extrait éthanolique, de l'extrait avec l'acétate d'éthyle, de l'extrait acétonique et de l'extrait à l'hexane (17,03 ± 0,43 µg/mL). Les teneurs en polyphénols suivent la même variation que celle des activités antioxydantes, l'extrait méthanolique est très riche en polyphénols (106,34 ± 1,49 mg EAG/g MS).

Mots clés : *Inulaviscosa*, polyphénols, activité antioxydante, huiles essentielles, hydrolat, extraits.

INTRODUCTION

L'inule visqueuse, appartenant à la famille des astéracées et largement distribué en Algérie, est une plante utilisée en médecine traditionnelle, ses activités thérapeutiques et antiseptiques sont nombreuses. L'étude menée par Seca (2014) a montré que le genre *Inula* était riche en composés sesquiterpéniques [1]. Plusieurs travaux ont mis en évidence ces effets antibiotiques, antifongiques et autres [2]-[7]. L'activité antioxydante des huiles essentielles est rapportée par plusieurs travaux [8] à [14], celles des extraits par [9], [12] et [14] à [22], peu de travaux ont cités les hydrolats [8] et [23].

Dans ce travail, nous aborderons l'activité antioxydante des huiles essentielles obtenues par différents

procédés : entraînement à la vapeur d'eau (EVE), hydrodistillation (HD) et hydrodiffusion (Hdiff), des hydrolats et des extraits récupérés par différents solvants. Peu de travaux citent l'*Inulaviscosa*. La procédure suivie est représentée par la figure 1.

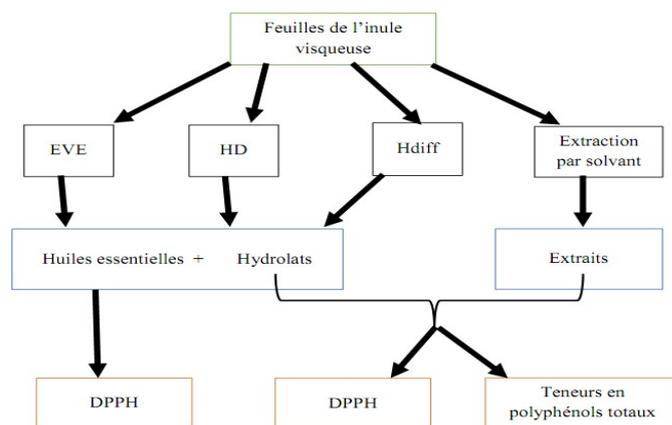


Figure 1: Expériences effectuées dans la présente étude.

MATERIELS ET METHODES

A. Matière végétale

L'inule visqueuse a été cueillie en Avril 2015 à El-Harrach à 12 km à l'est d'Alger (latitude : 36°43'0.48"; longitude : 3°9'15.12"). Certains essais sont réalisés avec la plante fraîche et d'autre sèche. Les feuilles ont été séchées à l'ombre à l'abri de la lumière, à température ambiante quasi-constante, égale à 18 ± 1 °C, et utilisées sans subir aucun traitement préliminaire.

B Méthodes analytiques

La teneur en polyphénols totaux (TPT) a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu [24] et est donnée en mg d'équivalent d'acide gallique par g de matière sèche (mg EAG/g MS). L'activité antioxydante (AA) est déterminée en utilisant le test DPPH [25]. L'activité antiradicalaire est calculée à partir de la formule :

$$AA (\%) = \frac{Abs (\text{blanc}) - Abs (\text{échantillon})}{Abs (\text{blanc})}$$

AA : activité antiradicalaire en %.

Abs (blanc) : absorbance du DPPH dissout dans le méthanol.

Abs (échantillon) : absorbance de l'échantillon (huile essentielle, hydrolat ou extrait) dans le méthanol.

Toutes les mesures sont effectuées trois fois, les valeurs de l'activité antioxydante (IC₅₀, AA%) et les teneurs en polyphénols totaux TPT sont exprimées sous la forme : valeur moyenne ± déviation standard.

B. Procédés d'extraction

1) *L'entraînement à la vapeur d'eau* : Les essais sont réalisés en plaçant une masse de feuilles connue (8 à 20g), ayant une humidité évaluée au préalable (19,5 à 79,5%), dans une colonne calorifugée, la vapeur d'eau alimente la colonne par le bas avec un débit moyen (4,5 à 18,4 mL/mn) avec un système de cohobage durant 5h.

2) *L'hydrodistillation* : Les essais sont réalisés en immergant une masse de feuilles connue (23,7 à 36,7g) ayant une humidité évaluée au préalable (21,7 à 74%) dans un volume d'eau (4L) portée à ébullition avec un débit moyen (12 à 18,1mL/mn), les essais sont réalisés avec un système de cohobage durant 5h.

3) *L'hydrodiffusion* : Les essais sont réalisés en plaçant une masse de feuilles connue (10,39g), ayant une humidité évaluée au préalable (21,7%), dans une colonne calorifugée, la vapeur d'eau alimente la colonne par le haut avec un débit moyen de 10,2mL/mn durant 5h.

4) *Extraction par solvants volatils* : Les essais d'extraction sont réalisés dans un soxhlet avec des solvants de différentes polarités (400mL) : méthanol, éthanol, acétone, acétate d'éthyle et hexane. Une masse de 8g a été utilisée pour chaque essai, l'humidité a été mesurée (13 à 17%) et l'extraction a duré 8h.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

A Les huiles essentielles

Bien que les rendements en huiles essentielles soient parfois très faibles (0,44 à 2,15% pour EVE, 0,09 à 0,62% pour HD et 0,28% pour Hdiff.), l'activité antioxydante des huiles essentielles, diluées dans 5mL de méthanol varie de 35% à 87% pour l'entraînement à la vapeur d'eau, de 20% à 30% pour l'hydrodistillation et atteint 90% pour l'hydrodiffusion selon l'état de la plante et de son humidité.

L'activité antioxydante des HE obtenues par hydrodiffusion est nettement supérieure à celle de l'hydrodistillation et de l'entraînement à la vapeur d'eau. En effet, pour une concentration de 260 µg/mL, le taux d'inhibition varie de 5 à 11% pour l'hydrodistillation, de 10 à 17% pour l'entraînement à la vapeur d'eau et atteint 92% pour l'hydrodiffusion.

L'hydrodiffusion paraît intéressante en termes d'activité antioxydante d'autant plus que ce dernier peut être amélioré en

recherchant les conditions opératoires optimales, en effet le débit est un peu faible par rapport aux deux autres procédés.

C. Hydrolats

L'activité antioxydante des hydrolats récupérés lors des extractions des huiles essentielles, pour chacun des procédés, et les teneurs en polyphénols sont données dans le tableau I.

TABLEAU I
TENEURS EN POLYPHENOLS DES HYDROLATS DE L'INULE VISQUEUSE

procédé	TPT (mg EAG/gMS)	TPT (mg EAG/mL)	IC ₅₀ (µg EAG/mL)
HD	388,00 ± 40,56	1,64 ± 0,17	4,50 ± 0,50
EVE	291,02 ± 33,42	0,84 ± 0,10	0,33 ± 0,11
Hdiff	314,71 ± 92,29	1,55 ± 0,46	0,90 ± 0,10

L'examen du tableau I montre que les hydrolats de l'inule visqueuse sont riches en polyphénols. Cette constatation a déjà été faite pour l'hydrolat de l'inule visqueuse du Portugal rapportée par[8] qui ont trouvé une teneur en polyphénols de 14,3 ± 0,6 mg EAG/mL. Nous constatons que l'hydrodistillation donne des teneurs en polyphénols plus élevées, ceci peut être expliqué par le fait que les feuilles sont en contact direct avec l'eau ce qui permet une bonne solubilisation des polyphénols.

L'activité antioxydante des hydrolats peut atteindre 80% pour l'HD pour une concentration > 20 µg EAG/mL, 85% pour l'EVE pour une concentration > 1 µg EAG/mL et 80% pour l'Hdiff pour une concentration > 2 µg EAG/mL comme le montrent les figures 1 à 3. Ceci indique le fort pouvoir antioxydant des hydrolats que nous pouvons associer aux teneurs élevées en polyphénols. Les IC₅₀ des hydrolats, confirment bien que les hydrolats possèdent des activités antioxydantes élevées. Comparée à l'inule visqueuse du Portugal, l'inule algérienne est meilleure en terme d'activité antioxydante, en effet l'IC₅₀ obtenu dans l'étude[8] est de 4,0 ± 0,0 µg/mL.

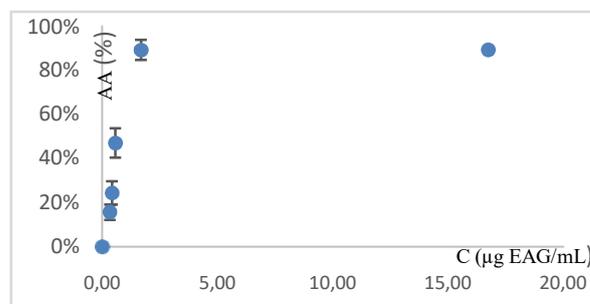


Fig. 1 : AA (%) de l'hydrolat obtenus par HD en fonction de la concentration en polyphénols

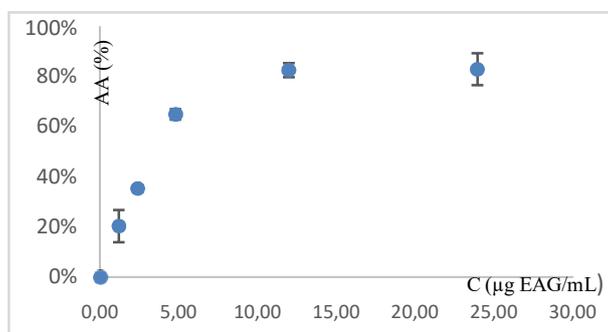


Fig. 2:AA (%) de l'hydrolat obtenus par EVE en fonction de la concentration en polyphénols

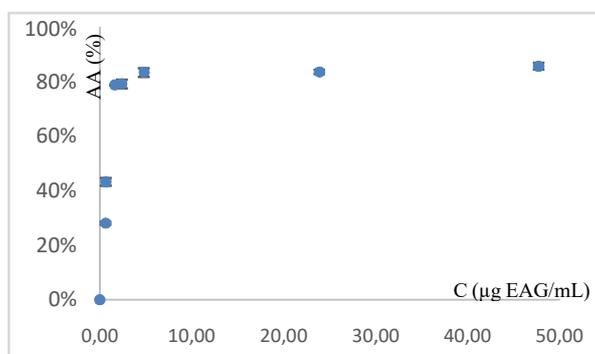


Fig. 3:AA (%) de l'hydrolat obtenus par Hdiffen fonction de la concentration en polyphénols.

D. Extraits obtenus par extraction dans un Soxhlet

Les résultats : IC₅₀ et TPT sont regroupés dans le tableau II.

TABLEAU II
ACTIVITÉS ANTIOXYDANTES REPRÉSENTÉES PAR IC₅₀ ET TENEURS EN POLYPHÉNOLS DES EXTRAITS DE L'INULE VISQUEUSE.

Extrait	IC ₅₀ (µg/ mL)	Polyphénols totaux (mg AGE/ g MS)
Méthanol	5,33 ± 0,58	106,34 ± 1,49
Éthanol	17,67 ± 2,08	70,79 ± 1,20
Acétate d'éthyle	22,00 ± 2,00	64,32 ± 1,28
Acétone	30,00 ± 5,00	51,25 ± 0,71
Hexane	790,00 ± 10,00	17,03 ± 0,43

Les résultats du test DPPH montrent que l'extrait méthanolique possède l'activitéantioxydante la plus élevée; l'hexane a montré la plus faible AA.

Nous remarquons que les teneurs en polyphénols suivent la même variation que celle des activités antioxydantes, l'extrait méthanolique est très riche en polyphénols, une variation linéaire est observée pour les solvants polaires fig. 4.

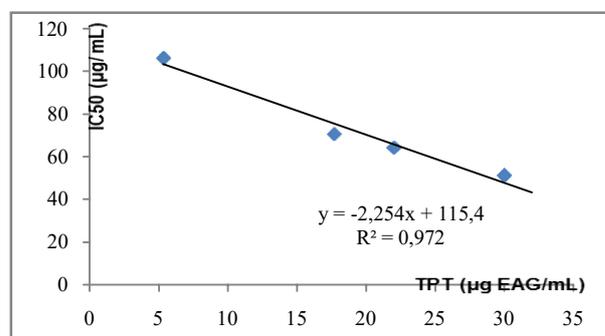


Fig.4 : variation de l'IC₅₀ avec la teneur en polyphénols des différents solvants polaires utilisés

Il a été rapporté que la majorité des polyphénols sont classé comme antioxydants hydrophiles [26], [27]. Le méthanol était le solvant le plus efficace pour l'extraction des composés antioxydants notamment des polyphénols. Cela peut être dû à la meilleure solvation des antioxydants suite aux interactions (liaisons hydrogènes) entre les sites polaires des antioxydants et le méthanol. L'éthanol est moins efficace que le méthanol dans l'extraction des antioxydants bien que leurs polarités sont voisines. Ceci peut être dû à une solvation plus faible probablement à cause du radical éthyle qui est plus long que le méthyl présent dans le méthanol. L'acétate d'éthyle donne des teneurs en polyphénols et des AA comparables à celles de l'éthanol et supérieures à celles de l'acétone, On déduit donc que les polyphénols de l'inule visqueuse sont très solubles dans l'acétate d'éthyle, ce qui confie à ses extraits une AA importante. L'extrait acétonique enregistre une AA et une TPT relativement faible ceci indique que le pouvoir solvant de l'acétone est moins efficace, cela peut être expliqué par le fait que l'acétone est un récepteur de protons tandis que les autres solvants sont aussi des donneurs. L'hexane, étant un solvant apolaire, il a extrait une faible quantité de polyphénols, par conséquent, l'activité antiradicalaire de son extrait est la plus faible. Nous déduisons à partir de ces résultats que l'activité antioxydante corrèle positivement avec la teneur en polyphénols et même les rendements. Les valeurs de IC₅₀ trouvées sont comparables à celle rapportées dans le tableau III. La TPT de l'extrait méthanolique est supérieure à celle obtenue par [22] et la TPT de l'extrait avec l'acétate est inférieure à celle rapportée par [23].

TABLEAU III
VALEURS DE IC₅₀ ET DE TPT TROUVÉES PAR LES TRAVAUX ANTÉRIEURS

Solvant	IC ₅₀ ()	TPT (mg EAG/ gMS)	référence
Méthanol	4,27	62,61	[22]
Éthanol	18	84.85±1.38	[23]
Acétate d'éthyle	28	103.71±2.78	

CONCLUSION

Les huiles essentielles récupérées obtenues par EVE ou HD ont montré une activité antioxydante moyenne comparée aux autres plantes des astéracées par contre celle récupérée par Hdif., elle a une AA plus élevée pouvant atteindre un taux d'inhibition de 90% pour une concentration de 260 µg/mL. Les hydrolats des trois procédés sont riches en polyphénols, leur AA est fonction de la teneur en polyphénols. Les extraits récupérés par les solvants volatils polaires présentent également une bonne AA celle-ci varie linéairement avec la TPT. Le meilleur solvant est le méthanol. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec les hydrolats.

REFERENCES

- [1] M.L.A.Seca, A. Grigore, D.C.G.A. Pinto, A.M.S. Silva, "The genus *Inula* and their metabolites: From ethnopharmacological to medicinal uses." *Journal of Ethnopharmacology*. Vol.154, pp.286-310, 2014.
- [2] P.Parolin, M. IonScotta, C. Bresch, "Biology of *Dittrichia viscosa*, a Mediterranean ruderal plant: a review". *FYTON*. Vol.83, pp. 251-262, 2014.
- [3] N. DeLaurentis, V. Losacco, M.A. Milillo, M. Lai, "Chemical investigations of volatile constituents of *Inulaviscosa* (L.) Aiton (Asteraceae) from different areas of Apulia, Southern Italy." *Delpinoa*. vol.44, pp.115-119, 2002.
- [4] L.Laura, C. Rolih, "Observations and research on an extract of *Inulaviscosa* Ait." *Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*. Vol.66, pp.829-834, 1990.
- [5] M. Akkawi, I. Abbasi, S. Jaber, Q. Aburemeleh, A. Naseredin, P. Lutgen, "Investigation of Traditional Palestinian Medicinal Plant *Inulaviscosa* as Potential Anti-malarial Agent". *Br. J. Pharmacol. Toxicol.* Vol.5(5), pp.156-162, 2014.
- [6] S. Franco-Mican, J. Casro, M. "Campos. Preliminary study of the parasitic complex associated with *Dittrichia viscosa* in Andalusia (Spain)". *IOBC/WPRS Bulletin*. Vol.53, pp.139-143, 2010.
- [7] E. Nawafleh, M. Irshadat, T. Bateineh, R. Muhaidat, M. Al-Qudah, A. Alomary. "The effects of *Inulaviscosa* Extract on corrosion of copper in NaOH Solution". *Res. J. Chem. Sci.* vol.2(9), pp.37-41, 2012.
- [8] S. M. Albano, A. S. Lima, M. G. Miguel, L. G. Pedro, J. G. Barroso, A. C. Figueiredo, "Antioxidant, Anti-5-lipoxygenase and Antiacetylcholinesterase Activities of Essential Oils and Decoction Waters of Some Aromatic Plants". *Rec. Nat. Prod.* Vol.6 (1), pp.35-48, 2012.
- [9] F. Candan, M. Unlu, B. Tepe, D. Daferera, M. Polissiou, A. Sokmen, H.A. Akpulat, "Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae)". *J Ethnopharmacol.* Vol.87(2-3), pp.215-20, 2003.
- [10] L. Riahi, H. Chograni, M. Elferchichi, Y. Zaouali, A. Zoghli, A. Mliki. "Variations in Tunisian wormwood essential oil profiles and phenolic content between leaves and flowers and their effects on antioxidant activities". *Industrial Crops and Products*, Vol.46, pp.290-296, 2013.
- [11] A. G. Pirbaloutia, M. Firoznejad, L. Crakerb, M. Akbarzadeh. "Essential oil compositions, antibacterial and antioxidant activities of various populations of *Artemisia chamaemelifolia* at two phenological stages". *Rev Bras Farmacogn.* vol.23, pp.861-869, 2013.
- [12] B. Bozin, N. Mimica-Dukic, M. Bogavac, L. Suvajdzic, N. Simin, I. Samojlik, M. Coulais. "Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Properties of *Achillea collina* Becker ex Heimerls. I. and *A. pannonica* Scheele Essential oils". *Molecules*, vol.13, pp.2058-2068, 2008.
- [13] B. Bakchiche, A. Gherib, A. Smail, G. Custodia, M. Graca. "Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils". *Industrial Crops and Products*, vol.46, pp.85-96, 2013.
- [14] F. Ayoughi, M. Barzegar, M.A. Sahari, H. Naghdibadi. "Chemical Compositions of Essential Oils of *Artemisia dracunculus* L. and Endemic *Matricaria chamomilla* L. and an Evaluation of their Antioxidant Effects". *J. Agr. Sci. Tech.*, vol.13, pp.79-88, 2011.
- [15] M. Juan-Badaturige, S. Habtemariam, C. Jackson, M.J. Thomas. "Antioxidant principles of *Tanacetum vulgare* L. aerial parts". *Nat Prod Commun.*, vol.4 (11), pp.1561-1564, 2009.
- [16] M. Mazandarani, M. Ghafourian, A. Khorrali. "Ethnopharmacology, Antibacterial and Antioxidant Activity of *Dittrichia graveolens* (L.) W. Greuter. Which Has Been Used as Remedies Antirheumatic, Anti-inflammation and Antiinfection against Leishmaniasis in the Traditional Medicine of Gorgan, Iran". *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences*, vol.1(4), pp.125-129, 2014.
- [17] M. Vanessa, M. Munhoz, R. Longhini, J. R.P. Souza, J.C. Zequi, E.V.S. Leite Mello, G. C. Lopes, J. C.P. Mello. "Extraction of flavonoids from *Tagetes patula*: process optimization and screening for biological activity". *Rev Bras Farmacogn.* vol.24, pp.576-583, 2014.
- [18] O. Kenny, T.J. Smyth, D. Walsh, C. T. Kelleher, C.M. Hewage, N.P. Brunton. "Investigating the potential of under-utilised plants from the Asteraceae family as a source of natural antimicrobial and antioxidant extract". *Food Chemistry*, vol.161, pp.79-86, 2014.
- [19] I. Stanislavjeviu, S. Stojičević, D. Veličković, V. Veljković, Lazium. "Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Echinacea purpurea* (L.) Extracts Obtained by Classical and Ultrasound Extraction". *Chinese Journal of Chemical Engineering*, vol.17(3), pp.478-483, 2009.
- [20] R. Baranauskienė, R. Kazernavici, M. Pukalskienė, R. Mazdzierien, P.R. Venskutonis. "Agrorefinery of *Tanacetum vulgare* L. into valuable products and evaluation of their antioxidant properties and phytochemical composition". *Industrial Crops and Products*, vol.60, pp.113-122, 2014.
- [21] F. Irda, N. Evelyne, R. Komar. "In vitro antioxidant activities, total flavonoid, phenolic and carotenoid content from various extracts of four species asteraceae herb". *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol.7(4), pp.192-197, 2015.
- [22] R. Derriche, A. Bouaziz, H. Salhi, I. Sehali, "Extraction des polyphénols et activité anti-oxydante des extraits et huiles essentielles de *Inule visqueuse*" 2013 in *Récents Progrès en Génie des Procédés*, Numéro 104. ISSN: 1775-335X ; ISBN: 978-2-910239-78-7, Ed. SFGP, Paris, France.
- [23] N. Chahmi, J. Anissi, S. Jennan, A. Farah, K. Sendide, M. El Hassouni, "Antioxidant activities and total phenol content of *Inulaviscosa* extracts selected from three regions of Morocco". *Asian Pac J Trop Biomed.* Vol.5(3), pp.228-233, 2015.
- [24] H.B. Li, K.W. Cheng, C.C. Wong, K.W. Fan, F. Chen, Y. Jiang, "Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae". *Food Chemistry*, vol. 102, pp.771-776, 2007.
- [25] F. Que, L. Mao, X. Pan, "Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds". *Food Research International* vol.39, pp.581-587, 2006.
- [26] D. Huang, B. Ou, M. Hampsch-Woodill, J.A. Flanagan, E.K. Deemer, "Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated beta-cyclodextrin as the solubility enhancer". *J Agric Food Chem.* Vol. 50, pp.1815-1821, 2002.
- [27] X. Wu, G.R. Beecher, J.M. Holden, D.B. Haytowitz, S.E. Gebhardt, R.L. Prior. "Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States". *J Agric Food Chem.* Vol.52, pp.4026-4037, 2004.