

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel**



**Faculté des Sciences Exactes et Informatique**  
**Département de Chimie**

N° d'ordre : .....

N° de séries : .....

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master**

Option

**Chimie Pharmaceutique**

Thème

**Étude comparative de la composition chimique de  
l'huile essentielle de Myrte (*Myrtus communis* L.) de  
différentes régions d'Algérie.**

Réalisé par : **CHERAITIA Roumaissa & DJEBLI Zineb**

Membres de jury :

- |                       |     |              |                     |
|-----------------------|-----|--------------|---------------------|
| • <b>R. AYAD</b>      | MCA | Présidente   | Université de Jijel |
| • <b>Kh. BOUTABET</b> | MAA | Examinatrice | Université de Jijel |
| • <b>H. BOUNAR</b>    | MCB | Encadrante   | Université de Jijel |

**Année universitaire : 2019/2020**



## Remerciements

Au nom de dieu le Miséricordieux

Louange à Allah sans lui rien de toute cela n'aurait pu être, nous tenons à remercier le bon dieu qui nous a orienté au chemin de savoir et les portes de la science.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à nos parents

En outre, nous tenons à remercier vivement notre encadreur **Dr.BOUNAR Hania**, qui a dirigé notre précieux travail avec volonté, sérénité et patience pour développer nos connaissances, nous la remercions pour son grand dévouement avec nous et pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.

Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à chaque enseignant qui nous a donné une information, nous a appris une lettre, et nous a corrigé une faute.

Nous adressons nos sincères remerciements aux membres de jury : Mlle. **R. AYAD** et Mlle. **Kh. BOUTABET** pour l'honneur qu'ils ont accordé en acceptant de juger ce travail.

Et aussi, nos remerciements s'adressent en particulier à tous les enseignants de chimie.

Nous remercions tous qui nous ont soutenu et même ceux qui nous ont gêné car d'eux nous avons puisé notre force pour mieux faire.

## *Dédicace :*

Je dédie ce modeste travail :

A la lune qui brille et éclaire mon chemin obscur, mon guide dans l'aventure de la vie, cher papa **CHERAITIA Rachid**.

A la bougie de ma vie qui se consume pour illuminer les ténèbres par les lueurs de sa flamme ma chère mère **BOUKSOUR Sia**.

Leur présence à mes côtés et leur soutien infini à mon égard a été la plus grande motivation qui me pousse à progresser à tous les niveaux. Quiconque voit notre relation, ne croira jamais qu'il s'agit d'une relation de parents et leurs fille, ils sont plutôt des amis à moi, je rigole avec eux, je voyage avec eux et je les consulte à chaque étape de ma vie en recherchant leur satisfaction sans leur présence dans ma vie après celle du dieu le tout puissant mon existence n'a aucun sens. Tous les mots ne suffisent pas pour les remercier c'est pourquoi je voudrais leur offrir ce mémoire en cadeau.

A mon trésor, mon support, ceux avec qui j'ai grandi mes adorables frères : **Zineddine, Mohammed Amine, Yacine** et **Okba**.

A ma moitié, ma sœur unique : **Firdaous**.

A mes chères amies : **Hadjer** et **Wassila**.

A mes camarades de classe, et à toutes mes amies et tellement sont nombreuse je ne peux pas citer tous leurs noms.

A tous les membres de ma famille.

A tous ceux qui m'aiment, qui croient en moi, et qui me veulent du bien.

*« Ce travail n'est pas la fin d'un cycle, c'est un début d'un long parcours  
Insha'Allah. »*

**CHERAITIA Roumaïssa**

## *Dédicace*

Je dédie mon travail :

A ma mère BOUSRI Zahia (Souad).

A mon père DJEBLI Djamel (Kamel).

A mon oncle BOUSRI Seddik (Ilyas).

A Mr. BOUCHTOUT Mubarak (Lycée Assous Farhat Ben Mahmoud Harraten, Jijel). Il m'a appris le sens de donner ... le sens d'un grand cœur. Le deuxième père était généreux et compatissant. Les mots ne l'épargneront pas, et toutes les langues le trahiront, quoi que je dise de lui, quelques-unes et le moins que je puisse le récompenser en le mentionnant dans tous les chemins.

Bien sûr à ma famille et tout personne qui aide moi avec plaisir et amour.

A mes amies et mes camarades et à tous ceux qui m'ont donné des connaissances avec gentillesse dans tous mes parcours académiques mes enseignants.

**« Mon dévouement n'est pas un manque de parole, mais le silence en présence des grandes, est une beauté. »**

***DJEBLI Zineb***

# Sommaire

<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
-----------------------------------	----------

## Chapitre I.

### Les métabolites secondaires

I. Introduction .....	3
II. Les huiles essentielles.....	4
II.1. Historique .....	5
II.2. Définition.....	5
II.3. Localisation dans les plantes.....	5
II.4. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.....	5
II.5. Composition chimique.....	6
II.6. Domaines d'utilisation des H.E.....	6
II.7. Activités biologiques des huiles essentielles.....	7
II.8. Méthodes d'analyses des huiles essentielles.....	8
II.8.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) .....	8
II.8.2. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM) .....	9
II.9. Contrôle des huiles essentielles.....	10
III. Principales structures chimiques .....	12
III.1. Les terpènes .....	13
III.2. Les composés aromatiques ou les composés phénoliques.....	14
III.3. Composés azotés ou les alcaloïdes.....	15
IV. Les méthodes d'extraction de composés bioactifs.....	18

Introduction .....	18
❖ Méthodes d'extraction.....	20
Expression .....	21
Extractions par solvant.....	22
2.1. Extraction par un solvant volatile.....	22
❖ 2.2. Extraction par solvants fixes.....	23
2.2.1. L'enflourage ou extraction par la graisse froide.....	23
2.2.2. Extraction par macération dans la graisse chaude.....	24
3. Distillation.....	25
3.1. L'hydrodistillation.....	26
3.2. Entraînement à la vapeur d'eau (ou Vapo-hydrodistillation) .....	27
3.3. Distillation à la vapeur directe « générateur séparé » ou « vapodistillation ».....	28
4. Autres procédés d'extraction.....	29
1.    La distillation sèche.....	29
2.    L'hydrodiffusion.....	29
3.    Percolation.....	30
4.    Extraction de fluide supercritique.....	30
5.    Décoction.....	31
6.    Extraction solide-liquide.....	31

## Chapitre II

### Le myrte (*Myrtus communis* L.) :

<b>Introduction .....</b>	<b>37</b>
I. Historique et utilisations traditionnelles .....	37
II. Distribution de la plante .....	39
III. Description botanique .....	40
Systématique.....	40
IV. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>M. communis</i> L. ....	41
V. Activités et effets pharmacologiques.....	43
1. Activité antifongique .....	43
2. Activité antibactérienne .....	43
3. Activité anti-inflammatoire .....	43
4. Activité anticancéreuse .....	44
VI. Le Myrte en Algérie .....	44
1. Utilisations traditionnelles et indications .....	44
2. Composition chimique .....	45

## Chapitre III

### Composition chimique et intérêt thérapeutique du myrte

<b>Introduction .....</b>	<b>48</b>
I. Les composés extraits des feuilles.....	48
I.1. Etude des huiles essentielles.....	48
I.2. La composition chimique .....	49
II. Activité pharmacologique du myrte d'Algérie .....	54

1.	Activité antioxydante .....	54
1.1 .	Méthodes de détermination de l'activité antioxydante .....	54
1.2 .	Evaluation de l'activité antioxydante.....	56
2.	Activité antifongique .....	60
3.	Activité antibactérienne .....	62
III.	Les tests phytochimiques .....	66
<b>Conclusion</b>	.....	<b>70</b>
<b>Conclusion générale</b>	.....	<b>73</b>



## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1</b> : Classification des terpènes.....	13
<b>Tableau I.2</b> : Classification des composés phénoliques.....	14
<b>Tableau I.3</b> : Classification des alcaloïdes.....	16
<b>Tableau I.4</b> : Résumé des différentes méthodes d'extraction des produits naturels.....	32
<b>Tableau II.1</b> : Indications traditionnelles par pays.....	38
<b>Tableau II.2</b> : Classification botanique de <i>Myrtus communis</i> .....	40
<b>Tableau II.3</b> : Pourcentage des composants de l'huile essentielle des feuilles de myrte dans 03 pays.....	42
<b>Tableau III.1</b> : Pourcentage des Rendements Moyens (masse/masse) des huiles essentielles extraites à partir de <i>Myrtus communis</i> L.....	48
<b>Tableau III.2</b> : Le pourcentage des divers composants de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> L. dans neuf différentes régions d'Algérie.....	50
<b>Tableau III.3</b> : Taux d'inhibition des extraits BuOH et AcOEt du DPPH.....	57
<b>Tableau III.4</b> : Résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle de M. communis L. des échantillons collectifs MCI et MCII sur les levures, les dermatophytes et les <i>Aspergillus</i> .....	61
<b>Tableau III.5</b> : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition en (mm) des HE des feuilles de <i>Myrtus communis</i> relatives aux souches microbiennes selon la méthode de diffusion sur disque.....	63
<b>Tableau III.6</b> : Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle avec la méthode de l'aromatogramme (Basaran et Ahmet, 2004).....	65
<b>Tableau III.7</b> : Résultats des tests phytochimiques effectués sur les feuilles du <i>Myrtus communis</i> L.....	66

## Liste des figures

<b>Figure I.1</b> : Vue simplifiée des voies de production de trois grands groupes de composés végétaux bioactifs.....	4
<b>Figure I.2</b> : Schéma de principe d'un appareil chromatographie en phase gazeuse.....	9
<b>Figure I.3</b> : Structure de l'isoprène.....	13
<b>Figure I.4</b> : Le diagramme de flux de l'étude des plantes médicinales et la position des techniques d'extraction (adapté de Farnsworth et al. (1985)).....	20
<b>Figure I.5</b> : Les pays qui produire l'huile essentielle dans le monde (2008). (Adapté de Perfumer & Flavourist, 2009. Un rapport préliminaire sur la production mondiale de certaines huiles essentielles dans certains pays, Vol. 34, janvier 2009.).....	21
<b>Figure I.6</b> : Le déroulement du processus de macération.....	25
<b>Figure I.7</b> : Distillation par entraînement à la vapeur.....	28
<b>Figure I.8</b> : Distillation sèche.....	29
<b>Figure I.9</b> : Appareil de Soxhlet.....	31
<b>Figure II.1</b> : La distribution de la plante.....	39
<b>Figure II.2</b> : La plante et les fleurs du myrte.....	40
<b>Figure II.3</b> : Les baies du myrte.....	40
<b>Figure II.4</b> : Structure du myrtucommulone.....	44
<b>Figure III.1</b> : Localisation des stations d'échantillonnage de <i>Myrtus communis</i> L S1 ;S2 ;S3 ; S4 ; S5 ; S6 ; S7 ; S8 ; S9.....	48
<b>Figure III.2</b> : Taux de rendement pour des huiles essentielles de myrte d'Algerie.....	49
<b>Figure III.3</b> : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	55
<b>Figure III.4</b> : Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait butanolique.....	58
<b>Figure III.5</b> : Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait Acétate d'éthyle.....	59
<b>Figure III.6</b> : Histogramme représentatif du pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait acétate d'éthyle en présence de standard (quercétine).....	59

**Figure III.7** : Histogramme représentatif de % d'inhibition du DPPH par l'extrait n-butanolique en présence de standard (quercétine).....60

**Figure III.8** : Effet de l'huile essentielle des feuilles de *M. communis* extraite durant la floraison sur la croissance des souches bactériennes cliniques par la méthode de diffusion en disque.....64

**Figure III.9** : Effet de l'huile essentielle des feuilles de *M. communis* extraite durant la floraison sur la croissance d'*E. coli* d'origine clinique par la méthode de diffusion en disque.....65

## Liste des abréviations :

**°C** : Degré Celsius.

**µg** : Microgramme.

**µL** : Microlitre.

**Abs** : Absorbance.

**Acétyl-CoA** : Acétyl coenzyme A.

**AcOEt** : Acétate d'éthyle.

**Afssaps** : Agence Française de Sécurité Sanitaire Produit de Santé.

**ANSM** : Agence nationale de sécurité du médicament et de produits de santé.

**BHT** : Butyl-hydroxy-toluène.

**BuOH** : Butanol.

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**cm** : Centimètre.

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse.

**Cycle de TCA** : Cycle d'acide tricarboxylique ou CAC.

**DPPH** : 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl.

**E. coli** : Escherichia coli.

**EAMC** : Extrait acétate d'éthyle de Myrtus communis L.

**EBMC** : Extrait butanolique de Myrtus communis L.

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique /Chlorure de fer (III).

**Fll** : Feuille.

**Fr** : Fruit.

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique.

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Cc** : Acide sulfurique concentré.

**HCl Cc** : Chlorure d'hydrogène concentré.

**HE** : Huile essentielle.

**I<sub>a</sub>** : Indice d'acide.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice 50.

**I<sub>E</sub>** : Indice d'estérification.

**I<sub>p</sub>** : Indice de peroxyde.

**I<sub>S</sub>** : Indice de saponification.

**ISO** : Organisation internationale de normalisation.

**J.C** : Jésus Christ.

**KOH** : Hydroxyde de potassium ou potasse caustique.

**MEP** : La voie du méthylérythritol phosphate.

**MFC** : Concentration minimale fongicide.

**MIC** : Concentration minimale inhibitrice.

**ml** : Millilitre.

**mm** : Millimètre.

**MPa** : Mégapascal.

**NaCl** : Chlorure de sodium.

**NaOH** : Hydroxyde de sodium ou soude caustique.

**NF** : Norme Française.

**nm** : Nanomètre.

**NR** : Non reporté.

**Pr Ae** : Partie aérienne.

**Rc** : Racine.

**RPE** : Résonance paramagnétique électronique.

**RSA** : Radical Scavenger Activity.

**S. aureus** : *Staphylococcus aureus*.

**S-CO<sub>2</sub>** : Le dioxyde de carbone supercritique.

**SM** : Spectrométrie de masse.

**t** : Temps.

**TCM** : Traditionnel Chinese Médecine.

**Tournures de Mg** : Tournures de Magnésium.

**Tr** : Traces.



# Introduction générale

### Introduction générale

Personne n'ignore aujourd'hui la richesse et la diversité des plantes médicinales utilisées par 80 % des habitants de notre planète qui ne se soignent que par les médecines traditionnelles de leur pays, car ils n'ont pas accès à la médecine moderne <sup>[1]</sup>.

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, Saharienne et une flore paléo tropical, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botanique <sup>[2]</sup>. Parmi cette végétation, on trouve les plantes aromatiques utilisées pour l'aromatisation des aliments, les arts culinaires et les vertus médicinales.

Parmi les milliers de plantes médicinales recensées à ce jour, ceux de la famille des Myrtaceae qui comprend trois milles espèces réparties en 48 à 134 genres environ. Ce sont des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles sont présentes dans pratiquement toutes les régions du globe <sup>[3]</sup>.

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne on s'est intéressé aux espèces de la famille des Myrtaceae. La plante sur laquelle a porté notre choix est une espèce de "Myrte".

Notre choix pour cet espèce est justifié par le fait que celle-ci est endémique et riche en huiles essentielles et composés phénoliques notamment les flavonoïdes connus pour leurs activités biologiques diverses.

Ce travail de recherche bibliographique est une contribution qui met en relief les méthodes d'extraction des huiles essentiels et de l'activité biologique du myrte.

La présentation de ce manuel peut être répartie comme suit :

- Le premier chapitre consacré à l'étude bibliographique des métabolites secondaires (terpènes et flavonoïdes) et les huiles essentielles, reporte également une bibliographie sur les méthodes d'extraction.
- Le deuxième chapitre, une présentation botanique de la famille des Myrtaceae, au genre *Myrtus communis*, aux travaux phytochimiques antérieurs relatifs aux métabolites secondaires les plus courants.
- Le troisième chapitre consacré à une étude bibliographique d'une comparaison de compositions chimiques, d'activités biologiques de cette plante dans différentes régions en Algérie.
- Enfin une conclusion générale.



### References

- [1] González, A.G.; Rodriguez Pérez, E. M.; Padrôn, C. H. and Bermejo, J.; *Phytochemical Investigation of Canary Island lichens. Virtual activity, and Pharmacology*. 49-60. **1997**.
- [2] Quezel, P.; Santa. S.; *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S.Paris*. **1963**.
- [3] Djoukeng, J. D.; Abou-Mansour, E.; Tabacchi, R.; Taponjoui A. L.; Bouda, H.; Lontsi, D.; *Antibacterial triterpenes from Syzygium guineense (myrtaceae)*. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3), 283-286. **2005**.



# Chapitre I

## Les métabolites secondaires

**Chapitre I : Les métabolites secondaires****I. Introduction**

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle, au niveau de la plante, est mal connu. Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général : ce sont des métabolites secondaires, n'exerçant pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...). Ces métabolites secondaires peuvent être classés en trois grandes familles : les composés phénoliques, les terpènes, et les alcaloïdes <sup>[1]</sup>.

Chacune de ces familles des composés bioactifs ayant des caractéristiques structurales particulières découlant de la manière dont ils sont construits dans la nature (biosynthèse).

Il existe quatre voies principales pour la synthèse des métabolites ou composés bioactifs:

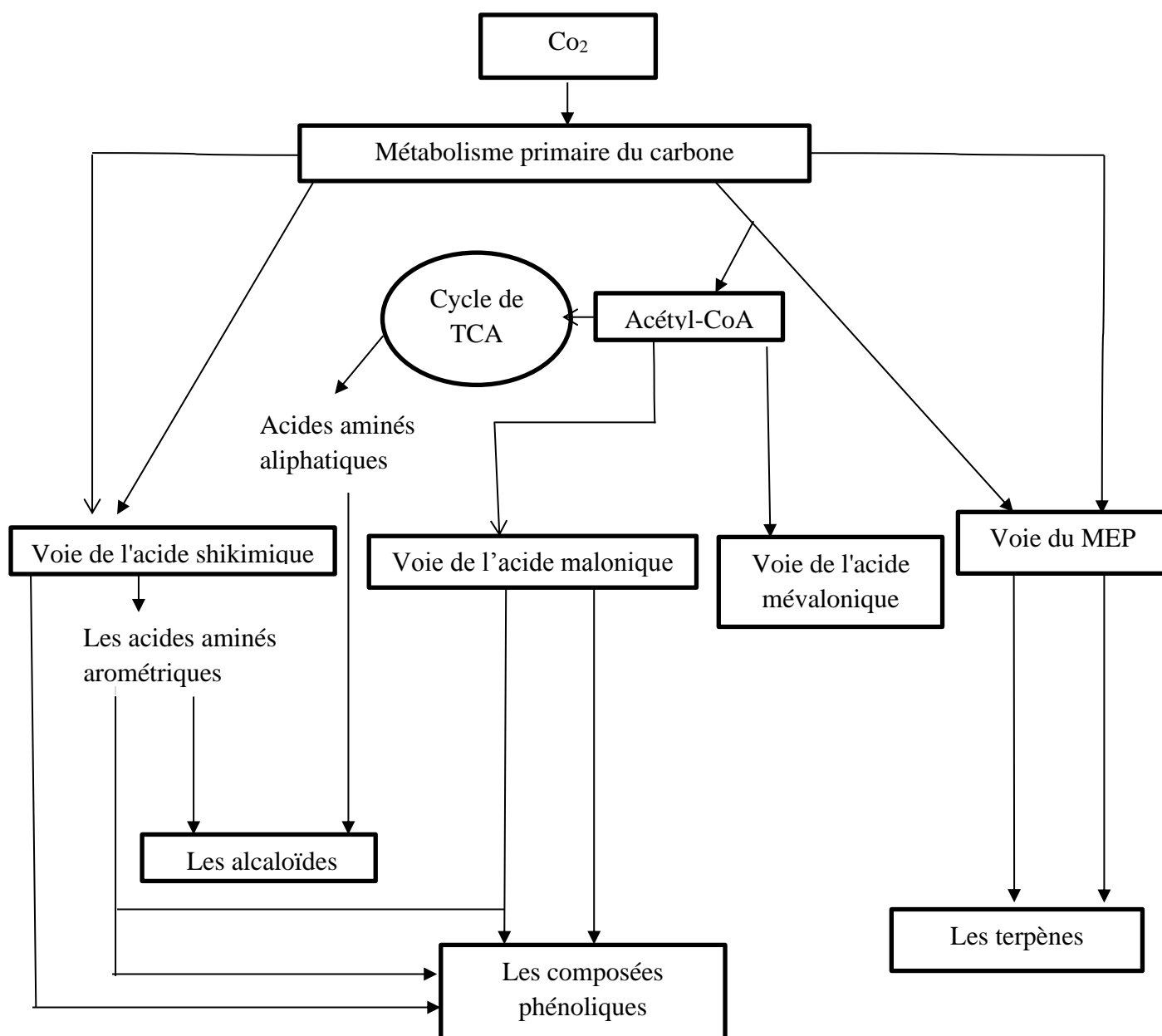
- (1) voie de l'acide shikimique.
- (2) voie de l'acide malonique.
- (3) voie de l'acide mévalonique.
- (4) voie non-mévalonate (MEP).

Alcaloïdes sont produits par des acides aminés aromatiques (proviennent de la voie de l'acide shikimique) et par les acides aminés aliphatiques (proviennent du cycle l'acide tricarboxylique).

Les composés phénoliques sont synthétisés par la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acide malonique.

Les terpènes sont produits par la voie de l'acide malonique et par la voie MEP.

Une illustration simplifiée des trois voies de production est représentée sur la figure I.1.



**Figure I.1** : Vue simplifiée des voies de production de trois grands groupes de composés végétaux bioactifs <sup>[2]</sup>.

## II. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont des produits végétaux naturels très intéressants et possèdent entre autres qualités diverses propriétés biologiques. Le terme « biologique » comprend toutes les activités que ces mélanges de composés volatils (principalement les mono et sesquiterpénoïdes, les benzénoïdes, les phénylpropanoïdes, etc.) exercent sur les humains, les animaux et d'autres plantes <sup>[3-4]</sup>.

## **II.1. Historique**

En médecine traditionnelle, les huiles essentielles ont permis la réalisation de soins. À partir du XIX<sup>e</sup> siècle, plusieurs principes actifs odorants des huiles essentielles furent isolés, d'où leur utilisation spécifique. C'est dans les années 1930 que le chimiste français René Maurice Gattefosse utilisa le terme d' « aromathérapie » pour désigner les pratiques médicales utilisant les huiles essentielles. Faisant des recherches en parfumerie, il constata sur lui-même, après un accident de laboratoire, que l'huile essentielle de lavande avait des propriétés antiseptiques et cicatrisantes [4-5].

## **II.2. Définition**

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air [6].

## **II.3. Localisation dans les plantes**

Les huiles essentielles se trouvent dans toutes les parties du végétal : dans les poils sécréteurs des feuilles ou pétales, les cellules du parenchyme les poches à essences, le bois. La teneur en huiles essentielles d'une plante est très faible : de l'ordre de 1 ‰ à 1 % [7].

## **II.4. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles**

Malgré la différence de constituants des huiles essentielles, ils possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques :

- Elles sont généralement liquides à la température ordinaire.
- Elles sont volatiles et entraînable à la vapeur d'eau.
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle lorsqu'elles viennent d'être préparées.
- Leur densité est généralement inférieure à 1.
- Elles sont peu solubles dans l'eau mais lui communiquent leur odeur.
- Elles sont solubles dans la plupart des solvants organiques et dans les huiles fixes.
- Elles sont sensibles à l'oxydation et donc de conservation limitée.

A partir de ces propriétés que l'on prend des précautions de conservation, dans des flacons de petites tailles, bien bouchés, colorés ou en aluminium et si possible à basse température<sup>[8][9]</sup>.

## **II.5. Composition chimique**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes, contenant de très nombreuses espèces chimiques, identifiables par chromatographie. Il s'agit d'espèces organiques : des terpéniques et des aromatiques (aldéhydes, esters, alcools...) ; l'espèce majoritaire est appelée principe actif. En principe, toutes les parties d'une plante contiennent ces huiles essentielles, mais elles sont souvent majoritairement dans l'une d'elles. La teneur des plantes en huile essentielle est faible de 1 à 3%<sup>[10]</sup>. Les composés volatils ont la propriété de se solubiliser dans les huiles et les graisses et par la même ont reçu empiriquement le nom d'huile. Le terme « huile » soulignant le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances, le terme « essentiel » se comprenant comme la caractéristique principale de la plante.

On regroupe l'huile essentielle en 11 familles de substances chimiques :

- Les esters.
- Les phénols
- Les lactones et coumarines.
- Les cétones.
- Les acides.
- Les aldéhydes aromatiques.
- Les oxydes.
- Les alcools.
- Les aldéhydes aliphatiques.
- Les sesquiterpènes.
- Les monoterpènes<sup>[11]</sup>.

## **II.6. Domaines d'utilisation des HE**

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que :

### **➤ Dans les industries agro-alimentaires**

Les huiles essentielles sont utilisées comme condiments, aromates ou épices. C'est le cas des essences de gingembre, de girofle, de vanille, de basilic, de poivre, de citrus. Les huiles essentielles extraites de citrus, par exemple, trouvent leur utilisation dans la confiserie, les sirops, les biscuiteries. On note leur intégration aussi dans les boissons, les produits laitiers, les soupes, les sauces, les snacks, les boulangeries ainsi que la nutrition animale<sup>[12]</sup>.

**➤ L'industrie de la parfumerie et de la cosmétique**

Utilise fréquemment les huiles essentielles. La cosmétique est le secteur des produits d'hygiène naturels et synthétiques pour consommateurs. Elles sont intégrées dans des analgésiques pour la peau, les produits solaires <sup>[13]</sup>.

On les retrouve aussi dans les préparations pour bains. Intégrées aux huiles de massage, leur teneur ne doit pas dépasser 3 à 4%. Le menthol, par exemple, à trouver une utilisation variée dans les produits tels que les dentifrices, mousses, nettoyantes, aliments, cigarettes et des préparations pharmaceutiques orales. L'huile de menthe poivrée a la troisième saveur mondiale, derrière les saveurs vanille et citron <sup>[13]</sup>.

**➤ La médecine et l'industrie pharmaceutique**

Les propriétés pharmacologiques des HE leur confèrent un pouvoir antiseptique contre les bactéries, champignons et levures, en plus des propriétés bactériostatiques, bactéricides, vermicide, fongicides, antiseptiques, insecticides. Les Huiles essentielles de thym, girofle, lavande, eucalyptus. Le thymol, constituant principal de l'huile essentielle de thym, est 20 fois plus antiseptique que le phénol <sup>[11-14]</sup>. L'huile essentielle de Malaleuka a prouvé cliniquement son action antiseptique, antimicrobienne et antioxydant.

**➤ Dans diverses industries**

Ce sont surtout des industries chimiques qui utilisent des isolats (substances pures isolées des HE) comme matières premières pour la synthèse de principes actifs médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, etc.... <sup>[15]</sup>. Citons ainsi l'utilisation des isolats linalool, D-limonène dans des shampoings et sprays insecticides pour les chats et les chiens.

**II.7. Activités biologiques des huiles essentielles**

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, et en particulier, avec les groupements fonctionnels des composés majoritaires : les phénols (thymol, carvacrol, eugénol), les alcools ( $\alpha$ -terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes et les composés terpéniques et cétoniques. Il est connu depuis l'antiquité que les huiles essentielles présentent des propriétés médicinales nombreuses et variées telles que, les propriétés antiseptiques, antimicrobiennes, antitoxiques, antivenimeuses, anti-oxydantes, antiparasitaires, diurétiques, propriétés anticancéreuses <sup>[16]</sup>.

## II.8. Méthodes d'analyses des huiles essentielles

L'analyse quantitative et qualitative des huiles essentielles fait appel à plusieurs techniques et méthodes. Parmi ces méthodes nous parlons sur les méthodes micro analytiques qui permettent l'identification et le dosage des produits même à l'état de traces. Ces méthodes consistent en l'utilisation des techniques de séparation et d'analyse des structures chimiques.

### II.8.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse CPG est une technique très répandue. Elle possède plusieurs avantages : sensibilité, polyvalence, rapidité de mise au point des analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation, qui augmentent plus son intérêt <sup>[17]</sup>. La technique a été perfectionnée et permet maintenant de séparer les constituants des mélanges très complexes contenant jusqu'à 200 composés <sup>[18]</sup>. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur).

Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules <sup>[19]</sup>.

Pour chacun des composés, deux indices de rétention polaire et apolaire, peuvent être obtenus. Ils sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme étalon d'alcane ou à plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante. Les temps de rétention, bien que spécifiques d'un composé, ont tendance à varier d'une analyse à l'autre, notamment du fait du vieillissement des colonnes. Les indices de rétention sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence (mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature). Toutefois, il est fréquent d'observer des variations, parfois importantes, lorsqu'on compare les indices de rétention obtenus au laboratoire et ceux de la littérature (en particulier sur colonne polaire). C'est pourquoi la comparaison des indices sur deux colonnes de polarité différente est nécessaire.

Malgré tout, ceci ne peut suffire à une bonne identification, sans l'apport du couplage entre la



CPG et une technique d'identification spectroscopique : en général la spectrométrie de masse CPG/SM.

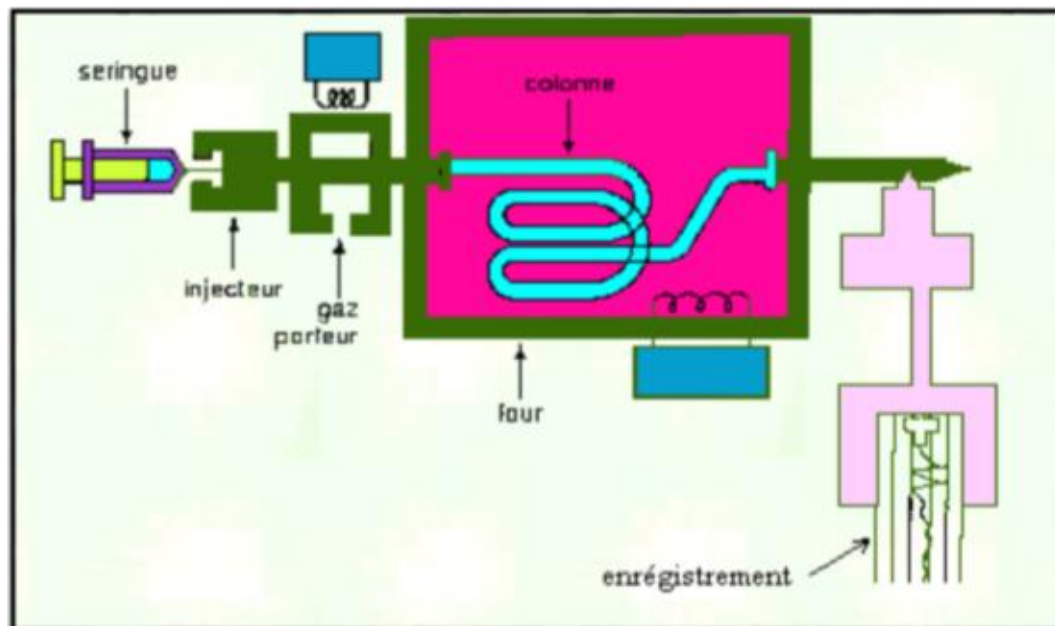


Figure I.2 : Schéma de principe d'un appareil chromatographie en phase gazeuse.

## II.8.2. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par le biais de la SM.

Le but de combiner entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG/SM, après séparation chromatographique, est d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique <sup>[20]</sup>. Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse <sup>[21-22]</sup>. L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (IR) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres <sup>[23]</sup>. Lorsqu'un ou plusieurs constituants de l'huile essentielle

sont inconnus dans les bibliothèques de comparaison et qu'ils ne sont pas décrits dans la littérature. Il est alors nécessaire de les purifier par distillation fractionnée ou par des techniques chromatographiques préparatoires telles la Chromatographie sur Couche Mince (CCM).

L'objectif est d'aboutir à leur identification structurale par les techniques spectroscopiques usuelles : Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN-1H) et du carbone-13 (RMN13C), SM, ... [24].

## **II.9. Contrôle des huiles essentielles**

Selon les recommandations de l'Afssaps, mais également selon les pharmacopées européenne et française, ainsi que selon les normes ISO et NF, les contrôles physicochimiques des huiles essentielles sont nécessaires pour évaluer leur qualité (qualitologie) [5].

La pharmacopée française énonce, pour les HE qui y figurent, un certain nombre de contrôle à effectuer. Les examens pratiqués portent sur :

- Les caractères organoleptiques : aspect, odeur, couleur et goût.
- Les caractères physiques : densité, indice de réfraction, déviation polarimétrique, solubilité dans l'éthanol, point de congélation.
- Certaines caractéristiques chimiques : indice d'acide, indice d'ester, indice de carbonyle...

La connaissance de la composition d'un seul lot d'HE ne saurait définir celle-ci. En effet, la qualité des HE varie selon le moment de la cueillette, le type de terrain, le procédé d'extraction et la conservation [25].

### **• Odeur et saveur des huiles essentielles**

Le test consiste tout simplement à s'assurer que l'odeur et la saveur de l'huile essentielle, en présence d'alcool et de saccharose, correspondent bien à la plante ou à la partie de la plante dont elle est issue.

### **• Indice de réfraction**

La réfraction est le changement de direction subi par un rayon lumineux lorsqu'il passe d'un milieu optique donné (par exemple l'air) à un autre milieu (par exemple un liquide

constitué par une huile essentielle).

L'indice de réfraction n'a pas d'unité. Lorsque la température augmente, l'indice de réfraction diminue. L'appareil le plus couramment utilisé pour mesurer l'indice de réfraction est le réfractomètre d'Abbe ; les indices de réfraction sont déterminés dans l'intervalle 1,300 à 1,700. La détermination de l'indice de réfraction pour une huile essentielle permet seulement de vérifier si elle est conforme aux normes établies. En aucun cas

- **Pouvoir rotatoire d'une huile essentielle  $\alpha_D^t$**

Le pouvoir rotatoire est caractéristique des molécules énantiomères. Une molécule est énantiomère (ou chirale) lorsqu'elle existe sous deux configurations spatiales, différentes et non superposables.

- **Solubilité dans l'éthanol**

Très souvent les huiles essentielles, de caractère lipophile, sont solubles dans les solvants organiques courants. Une composition chimique, riche en terpénoïdes et souvent en molécules polaires, permet la solubilisation des huiles essentielles dans l'éthanol. Cependant, il peut arriver que les molécules polaires en trop faible quantité empêchent la solubilisation dans l'alcool. Lors des différentes analyses ultérieures, il sera toujours possible d'utiliser des solvants moins polaires tels que l'hexane.

- **Indice d'acide  $I_A$**

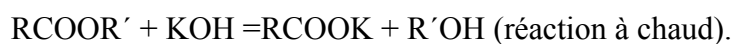
L'indice d'acide  $I_A$  est le nombre de milligrammes (mg) de potasse nécessaire pour neutraliser les acides libres dans 1,00 gramme (g) d'huile essentielle selon la réaction :



Quelques fois, il sera nécessaire de déterminer l'indice d'ester et/ou l'indice de saponification.

- **L'indice d'ester  $I_E$**

Est le nombre de mg de potasse nécessaire pour saponifier les esters présents dans 1,00 g d'huile essentielle, d'après la réaction :



- **L'indice de saponification  $I_S$**

Est le nombre de mg de potasse nécessaire pour neutraliser les acides libres et saponifier les esters présents dans 1,00 g d'huile essentielle, d'après les réactions :



Il existe une relation entre ces trois indices :

$$I_S = I_A + I_E$$

Les indices d'acide, de saponification et d'ester n'ont pas d'unité. Pour la détermination des trois indices, la solution titrée est une solution alcoolique dépotasse. Une huile essentielle peut contenir un ester, et parfois l'acide correspondant qui se forme au cours des phénomènes de vieillissement et d'hydrolyse de l'ester. Dans un premier temps, l'acide libre est dosé pour déterminer  $I_A$ , à la température ambiante, par une solution titrée de potasse alcoolique en présence de phénolphaléine. Dans un deuxième temps, on rajoute un excès connu de solution titrée de potasse alcoolique puis chauffe à ébullition, et enfin pour déterminer  $I_E$ , on dose l'excès non réagi de potasse, en retour, par une solution titrée d'acide chlorhydrique. Un témoin peut être réalisé dans chaque cas. Les solutions titrées de potasse alcoolique sont souvent à 0,1 ou à 0,5 mole/litre.

- **Indice de peroxyde  $I_P$**

La mauvaise conservation d'une huile essentielle, en présence d'air et à température élevée, entraîne le vieillissement en induisant la formation de peroxydes. Les peroxydes sont toxiques et instables à la chaleur. Ils se forment, préférentiellement, au niveau des carbones tertiaires, des carbones en  $\alpha$  d'une double liaison  $\text{C} = \text{C} \dots$

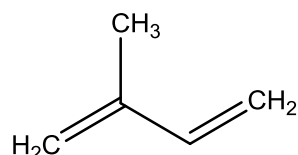
L'indice de peroxyde  $I_P$  est le nombre qui exprime, en milliéquivalents d'oxygène actif, la quantité de peroxyde contenue, dans 1 000 g de substance <sup>[4]</sup>.

### III. Principales structures chimiques

Les composés naturels sont illustrés en thérapeutique et dépassent actuellement 100000 substances identifiées, parmi eux : les terpènes, les flavonoïdes, et les alcaloïdes... etc. Nous citons ici les grands groupes de métabolites secondaires qui sont largement étudiés

### III.1. Les terpènes

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ils ont pour formule de base des multiples de l'isoprène ( $C_5H_8$ )<sub>n</sub> qui est considéré comme l'un des éléments de construction préférés de la nature.



**Figure I.3 :** Structure de l'isoprène

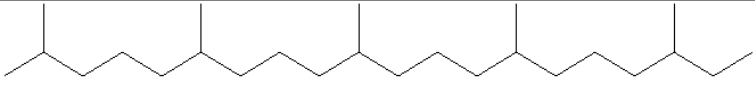
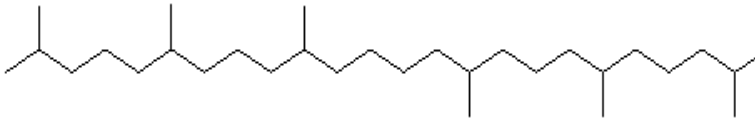
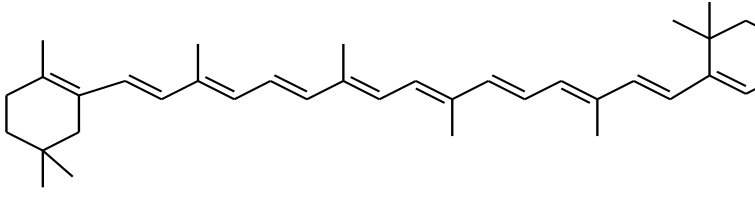
Leur squelette de carbone est constitué d'unités isopréniques reliées entre eux, ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former de cycles.

Les terpènes ont deux propriétés fondamentales :

- leurs sensibilités à la lumière du fait des liaisons conjuguées qui sont caractéristiques de la molécule.
- leurs caractères odoriférants (comme le géranium), cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbone <sup>[7]</sup>.

**Tableau I.1 :** Classification des terpènes <sup>[26-27]</sup>.

La classe	Le nombre de carbone	Squelette de base des structures acycliques
Hémiterpènes	C5	
Monoterpènes	C10	
Sesquiterpènes	C15	
Diterpènes	C20	

<b>Sesterpènes</b>	C25	
<b>Triterpènes</b>	C30	
<b>Tétraterpènes</b>	C40	
<b>Polyterpènes</b>	C5n	$\left( \begin{array}{c} \diagup \\   \\ \diagdown \end{array} \right)_n$

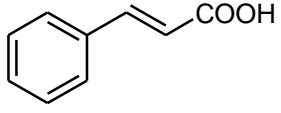
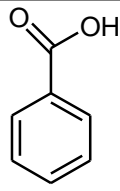
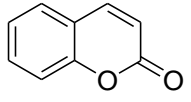
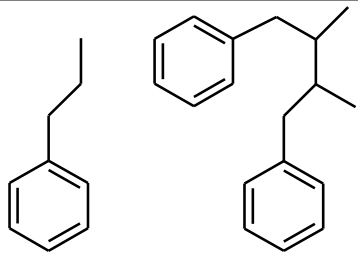
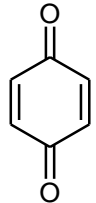
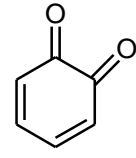
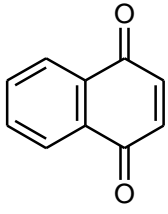
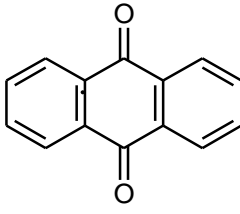
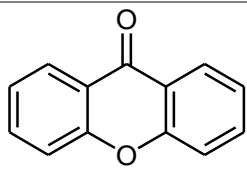
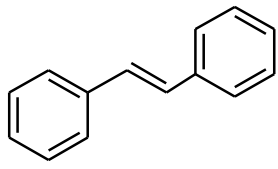
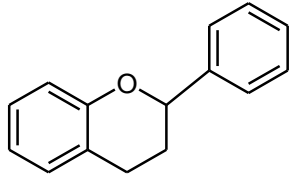
### III.2. Les composés aromatiques ou les composés phénoliques

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un noyau benzénique, liée au moins avec un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside [26].

Dans cette catégorie, on trouve de nombreuses substances : les noyaux simples en C6-C1, les phénylpropanoïdes (C6-C3), les noyaux dérivant de l'extension du phényle propane, en C6-C3-C6, comme les chalcones, les flavones, les flavonols ou les dérivés du flavane ou du flavane-3-ol (catéchines et proanthocyanidines). Cela est récapitulé dans le tableau I.2 présentant les différentes classes de composés phénoliques.

**Tableau I.2 :** Classification des composés phénoliques.

<b>Squelette carboné</b>	<b>Classe</b>	<b>Structure de base</b>
<b>C6-C1</b>	Acides phénols	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dérivés de l'acide benzoïque.</li> <li>• Dérivés de l'acide cinnamique.</li> </ul>

		 Acide cinnamique	 Acide benzoïque		
<b>C6-C3</b>	Coumarines				
<b>C6-C3</b> <b>(C6-C3) n</b>	Lignanes Lignines				
	Quinones	 p-quinone	 o-quinone	 naphtoquinone	 anthraquinone
<b>C6-C1-C6</b>	Xanthones				
<b>C6-C2-C6</b>	Stilbènes				
<b>C6-C3-C6</b> <b>(C6-C3-C6) n</b>	Flavonoïdes Tannins condensés				

### III.3. Composés azotés ou les alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été introduit par W. MEISNER au début du XIX<sup>e</sup> siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis (de l'arabe

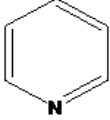
al kaly, la soude et du grec eidos, l'aspect) définis comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte, formé à partir d'un acide aminé, ils existent à l'état de sel [28].

En général, ces composés possèdent au moins un atome d'azote hétérocyclique. Actuellement, la structure chimique d'environ 16 000 alcaloïdes est connue. Environ 20 % des espèces de plantes produisent des alcaloïdes. Ils ont une nature basique, présentant généralement de puissants effets physiologiques. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique. La médecine les emploie le plus souvent à l'état pur et leur véritable valeur ne s'affirme qu'entre les mains du médecin car ils entrent dans la composition de nombreux médicaments comme principe actif. Les plantes les utilisent pour la plupart d'entre eux dans leur système de défense contre les herbivores et les pathogènes car ces composés sont toxiques.

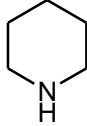
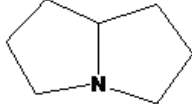
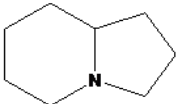
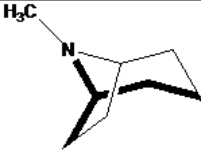
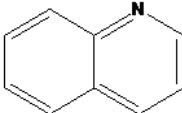
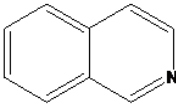
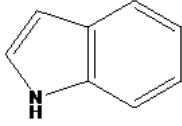
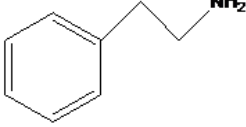
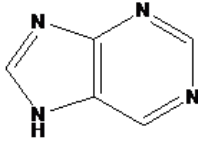
Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes.

- Des phénylalanines : capsaïcine du piment, colchicine du colchique ;
- Des alcaloïdes isoquinoléiques : morphine, éthylmorphine, codéine et papavérine contenues dans l'opium du pavot ; et des alcaloïdes indoliques : ergométrine, ergotamine, ergotoxine de l'ergot des céréales ;
- Des alcaloïdes quinoléiques : tige feuillée de la rue commune ;
- Des alcaloïdes pyridiques et pipéridiques : ricinine du ricin, trigonelline du fenugrec, conine (poison violent) de la ciguë ;
- Des alcaloïdes dérivés du tropane : scopolamine et atropine de la belladone ;
- Des alcaloïdes stéroïdes : racine de vératre, douce-amère ou aconite (aconitine) par exemple.

**Tableau I.3 :** Classification des alcaloïdes.

Types d'alcaloïdes	Groupe d'alcaloïdes	Structure de base
	Pyridines	



	Pipéridines	
	Pyrrolizidines	
	Indolizidines	
	Tropanes	
<b>Les alcaloïdes vrais</b>	Quinolines	
	Iso-quinolines	
	Indole	
<b>Proto-alcaloïdes</b>	Phényléthyl amines	
	<b>Tropolones</b>	
<b>Pseudo-alcaloïdes</b>	Alcaloïdes terpéniques et stéroïdiques	
	Purines	

## IV. Les méthodes d'extraction de composés bioactifs

### Introduction

Compte tenu des grandes variations entre les composés bioactifs et un grand nombre d'espèces végétales, il est nécessaire de construire une procédure standard et intégrée pour obtenir ces composés apportant des avantages pour la santé humaine. Farnsworth et coll. (1985) ont rapporté une approche intégrée montrant la séquence des plantes médicinales à étudiées, qui a commencé à partir de la collecte de noms des usines et s'est terminé à l'industrialisation. Œuvres d'ordre particulier, pour l'étude des plantes médicinales et la position des techniques d'extraction sont représentés par un organigramme sur la Figure I.4.

Il est seulement possible de procéder à une séparation, une identification, et caractérisation des composés bioactifs suivie d'une évaluation appropriée processus d'extraction.

Différentes techniques d'extraction doivent être utilisées dans diverses conditions pour comprendre la sélectivité d'extraction provenant de diverses sources naturelles. Différentes techniques, dont beaucoup restent presque les mêmes pendant des centaines d'années; peut également être utilisé pour extraire les composés bioactifs. Toutes ces techniques ont des objectifs,

- (a) extraire des composés bioactifs ciblés échantillon de plante complexe.
- (b) pour augmenter la sélectivité des méthodes analytiques.
- (c) pour augmenter la sensibilité du test biologique en augmentant la concentration de composés ciblés.
- (d) pour convertir le bioactif composés sous une forme plus appropriée pour la détection et la séparation.
- (e) fournir une méthode solide et reproductible qui est indépendante des variations de la matrice de l'échantillon <sup>[2]</sup>.

#### **Sélection d'espèces végétales :**

- Criblage préliminaire des plantes traditionnellement utilisées.
- Examiner la littérature et les résultats scientifiques.
- Authentification des données pour leur validité et leur exhaustivité.
- Décision concernant la nécessité des tests.

**Evaluation de toxicité :**

- Recueillir des données concernant la toxicité et si vous ne démontrez aucune toxicité, passez à l'étape suivante.
- En l'absence de données sur la toxicité, sélectionner un test approprié pour l'analyse de la toxicité.
- Élaborer et préparer un protocole d'essai biologique pour l'innocuité et la toxicité.

**Préparation d'échantillons végétaux et analyse élémentaire :**

- Collecte d'échantillons de plantes.
- Extraction.
- Analyse des contenus élémentaires.

Utiliser diverses techniques d'extraction  
Comparer la sélectivité et le rendement

**Tests biologiques :**

- Sélection du test biologique approprié.
- Élaborer un protocole pour les tests biologiques.
- Analyser l'activité biologique in-vitro.
- Déterminer le type et le niveau d'activité biologique.

**Isoler les composés actifs :**

- Isolement et caractérisation des composés responsables de l'activité biologique observée.
- Évaluation des composés actifs individuellement et en combinaison avec d'autres pour explorer l'existence d'une activité et / ou d'une synergie d'effet biologique.

**Analyse in-vivo :**

- Utiliser un modèle animal pour l'analyse de la bioactivité des composés actifs.
- Analyser à nouveau la sécurité et la toxicité mais in-vivo.
- Mener des études humaines.



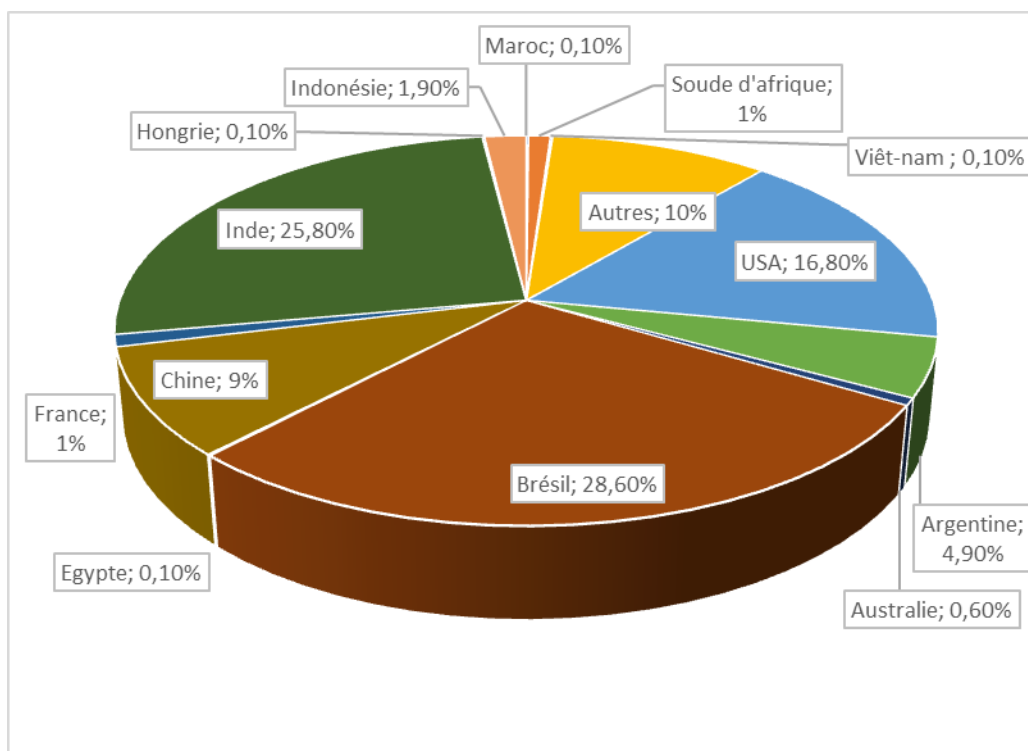
### Commercialisation :

- Élaborer un système d'administration de dose approprié.
- Analyser la rentabilité.
- Production industrielle durable.

**Figure I.4 :** Le diagramme de flux de l'étude des plantes médicinales et la position des techniques d'extraction (adapté de Farnsworth et al. (1985))<sup>[2]</sup>.

### ❖ Méthode d'extraction

Depuis des milliers d'années, les médecines naturelles ont une grande importance. Les produits naturels sont des sources importantes pour les industries pharmaceutiques. Il existe une grande variété de produits naturels avec une large gamme d'applications et est considéré comme une aubaine pour l'étude ayurvédique. De nos jours, l'utilisation de produits naturels bioactifs dans les médicaments est assez faible et diminue de jour en jour. Il est donc très important de développer une méthode efficace d'extraction de produits naturels<sup>[29]</sup>.



**Figure I.5 :** Les pays qui produisent l'huile essentielle dans le monde (2008). (Adapté de Perfumer & Flavourist, 2009. Un rapport préliminaire sur la production mondiale de certaines huiles essentielles dans certains pays, Vol. 34, janvier 2009.)<sup>[3]</sup>.

Les huiles essentielles ou les essences végétales sont ce que les plantes précieuses les plus précieuses.

Il existe différentes méthodes d'obtention de l'huile essentielle parmi ces méthodes nous citons trois principales méthodes :

- Expression.
- Extraction par solvant.
- Distillation.

Pour chaque méthode, il peut y avoir de nombreuses variations et raffinements et l'extraction peut être effectuée sous pression réduite (vide), pression ambiante ou surpression. Le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériau, de la stabilité des composants chimiques et de la spécification du produit<sup>[30]</sup>.

### ➤ 1. Expression

Par expression à froid : ce procédé mécanique est exclusivement réservé aux péricarpes (la peau colorée des fruits ou zeste) des espèces du genre Citrus (agrumes) qui dilacèrent les poches sécrétrices, libérant une émulsion d'HE qui est alors centrifugée pour obtenir l'HE proprement dite<sup>[31]</sup>.

#### **Mode d'obtention**

Les fruits, entiers et lavés au départ, sont soumis à une action abrasive sur la peau grâce à des râpes ou des micro-pics métalliques (picots) de manière à faire éclater les cellules contenant l'huile essentielle. La pulpe est récupérée ; elle est constituée par des déchets solides et un liquide hétérogène constitué par une phase aqueuse (le jus de fruit, qui sera ultérieurement conditionné comme boisson dans l'industrie agroalimentaire) et une phase hydrophobe non miscible (l'huile essentielle). Après centrifugation, les déchets solides sont éliminés, la phase liquide est récupérée. L'huile essentielle est séparée du jus de fruit par un procédé mécanique de décantation à froid. Les industriels de l'agroalimentaire récupèrent successivement le jus de fruit et l'huile essentielle pour des applications différentes<sup>[4]</sup>.

**➤ 2. Extractions par solvant**

La technique générale a été développée précédemment où la plante est utilisée sous la forme divisée : contusée, hachée, concassée ou réduite en copeaux, ou en poudre dans le cas de plantes séchées. Le choix du solvant dépend des paramètres techniques et économiques ainsi que de sa toxicité <sup>[4]</sup>.

Il existe deux types d'extraction par solvant :

**❖ 2.1. Extraction par un solvant volatil**

Malgré ça difficulté d'extraire l'huile essentielles, elle a l'avantage de pouvoir traiter des végétaux présentant un pourcentage infime de principes odorants. Les solvants les plus utilisée, sous réserve de législations restrictives particulières, sont les hydrocarbures aliphatiques : hexane, éther de pétrole, mais aussi propane ou butane liquide (sous pression). Si le benzène est un bon solvant, sa toxicité limite est augmentée avec son utilisation, il n'est plus utilisé pour des raisons de toxicité, de même que le toluène, bien que ces solvants conduisent à un meilleur rendement.

**Mode d'obtention**

Ce mode d'obtention qui conduit aux concrets et absolus est à proscrire pour les huiles essentielles à destination thérapeutiques.

On utilise l'un des solvants mentionnés (les hydrocarbures aliphatiques). On a également recours aux solvants halogènes (dérivés chlorés et fluorés du méthane et de l'éthane) et à l'éthanol, ce dernier étant surtout utilisé pour l'obtention d'absolues et de résinoïdes lavés. Après l'extraction, le solvant est distillé. En fin d'opération, le solvant qui imbibe la masse végétale est récupérer par injection de vapeur d'eau dans celle-ci. Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : Sélectivité (pouvoir solvant à l'égard des constituants odorants) ; stabilité, inerte chimique, température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale, pas trop faible pour éviter les pertes et donc une élévation des coûts ; sécurité de manipulation.

La première phase de ce processus consiste en la digestion des fleurs dans un récipient appelé « digesteur ». La solution obtenue sera distillée, ce qui permettra alors de récupérer, d'une part le solvant, et d'autre part l'essence qui, à ce moment-là, porte le nom d'essence concrète. Ce produit présente des traces de matières étrangères et devra être traité avec un faudra porter

l'alcool à haute température afin de provoquer la concentration des résidus. C'est à ce moment-là que la solution sera appelée extrait. Après une nouvelle distillation, elle deviendra enfin une essence dite absolue.

- L'inconvénient majeur de l'extraction par les solvants est leur manque de sélectivité : de nombreuses substances lipophiles peuvent, de ce fait, se retrouver dans les concrètes (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, certains coumarines) et imposer une purification ultérieures, ainsi, des procédés consécutifs laborieux afin d'obtenir un produit de pureté absolue. Un autre inconvénient réside dans la toxicité des solvants : règles contraignantes d'utilisation, problèmes des résidus dans le produit final <sup>[9]</sup>.

## ❖ 2.2. Extraction par solvants fixes

### 2.2.1. L'enfleurage ou extraction par la graisse froide

Le principe de la méthode est de rendre soluble les principes odorants dans des matières grasses.

Cette technique a été, au départ, utilisée par les Égyptiens puis a été développée à Grasse au XIX<sup>e</sup> siècle. Il semblerait que l'application majeure soit en parfumerie, et ne concerne que les fleurs fragiles, qui gardent l'odeur après la cueillette, mais dont l'hydrodistillation risque de dégrader les molécules odorantes présentes.

#### **Mode d'obtention**

Cette technique consiste à mettre les fleurs en contact avec un corps gras inodore. Le mélange est ensuite épuisé par un solvant organique, puis ce dernier est évaporé. La substance ainsi obtenue à une concentration très élevée et elle est ensuite diluée et traitée avec d'autres solvants qui dissolvent la matière grasse.

Dans la technique traditionnelle, les fleurs sont rangées sur une plaque de verre (50 à 60 cm de côté) recouverte de matière grasse, le tout est placé dans un cadre en bois. Après quelques jours, l'odeur florale diffuse dans la graisse, au lieu de s'échapper dans l'air. Une variante à ce procédé consiste à placer de nombreux châssis (avec une seule plaque de verre mais recouverte de matière grasse sur les deux faces) les uns sur les autres, avec les fleurs disposées sur une seule face. Après un temps de contact plus ou moins long entre la graisse et les fleurs, on rajoute à nouveau des fleurs. L'opération est renouvelée plusieurs fois (tous les jours pour les fleurs de jasmin, tous les trois jours pour les tubéreuses) jusqu'à ce que la

graisse soit saturée du parfum des fleurs. Après environ un mois, cette pommade florale est récupérée puis traitée à l'hexane.

- Cette délicate et coûteuse opération (à cause du prix de la main-d'œuvre) est remplacée souvent par une simple extraction. Et on la réserve à certaines fleurs extrêmement délicates, comme le jasmin, la tubéreuse. La substance ainsi obtenue à une concentration très élevée et elle est ensuite diluée et traitée avec d'autres solvants qui dissolvent la matière grasse [4-9].

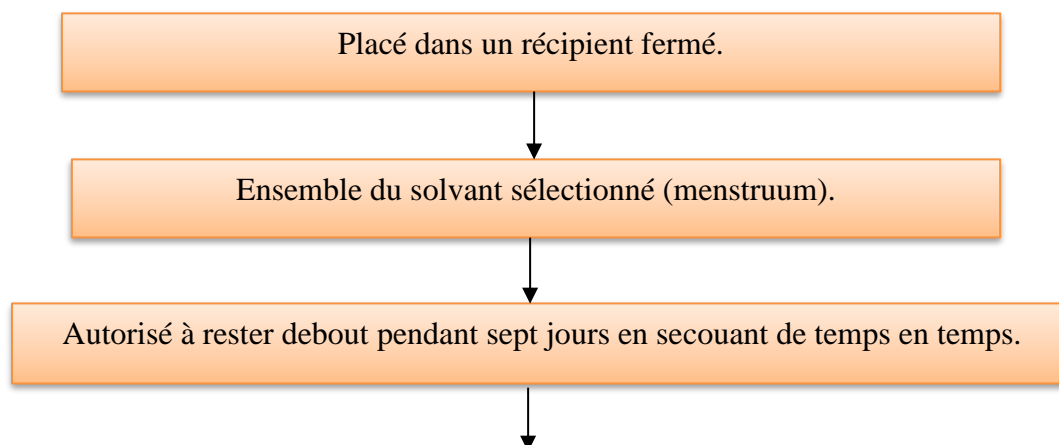
### ❖ 2.2.2. Extraction par macération dans la graisse chaude

Lorsque les fleurs sont peu fragiles à la chaleur (par exemple, les fleurs d'oranger, d'acacia, de mimosa), l'enfleurage à chaud est réalisé vers 60-70 °C, par leur infusion dans des graisses fondues ou des huiles. Cette méthode est plus rapide que celle à température ambiante. Les traitements ultérieurs sont les mêmes que précédemment ; il en sera de même pour les applications. Les extractions avec des solvants organiques, conduisant aux concrètes et aux absolues, peuvent présenter une toxicité pour l'homme, aussi elles seront déconseillées en médecine. Les solvants courants, tels que l'hexane, le benzène, le toluène, le méthanol, l'éthanol, l'acétone, peuvent entraîner des intoxications chroniques, voire aiguës, si des traces de ces solvants résiduels sont présentes dans les produits finis [4].

#### Mode d'obtention

La technique dite de la « digestion » se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras fondu. Le produit obtenu est une pommade florale.

Le lavage de la pommade par un alcool fort aboutit à un extrait alcoolique. L'élimination de l'alcool se fait, comme dans le cas d'enfleurage par concentration sous vide à basse température. On obtient ainsi un « absolu de macération » [4].





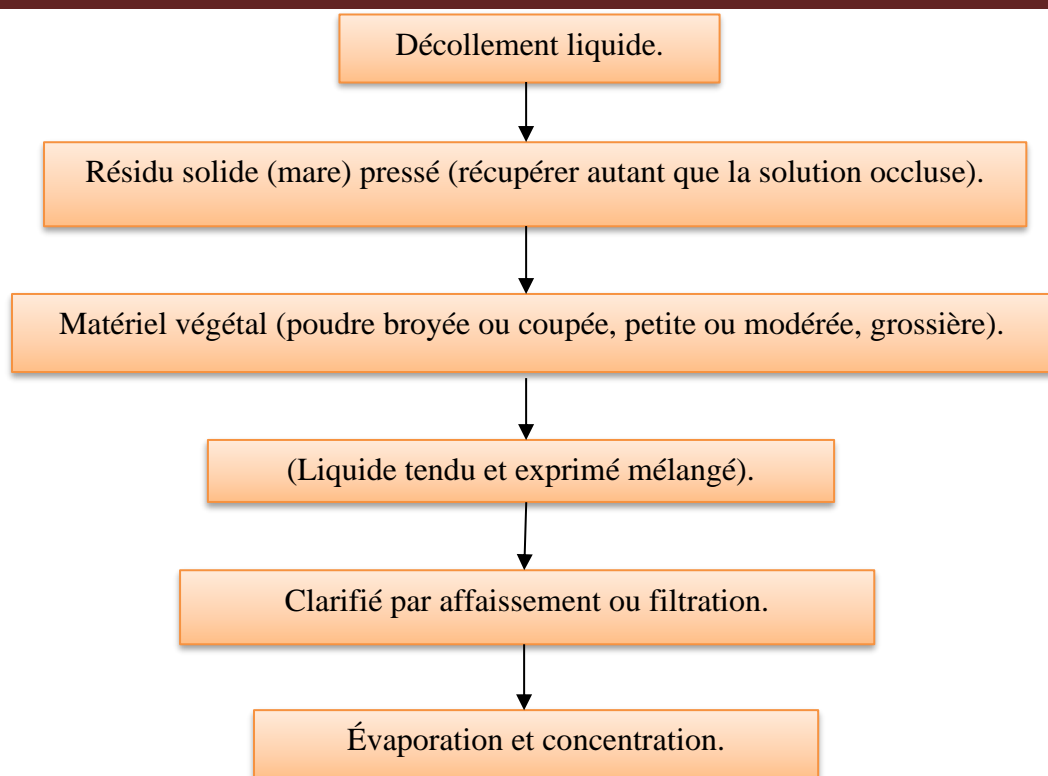


Figure I.6 : Le déroulement du processus de macération <sup>[29]</sup>.

### ➤ 3. Distillation

La distillation à la vapeur ou à l'eau est sans doute la méthode la plus fréquemment utilisée pour extraire l'huile essentielle des plantes. L'histoire de la distillation à la vapeur et l'intérêt de longue date de l'humanité pour l'extraction des composants volatils parfumés et utiles des plantes en témoignent. Les usines de distillation de conception variable abondent dans le monde entier. Alors que dans certains pays en développement des méthodes traditionnelles et parfois plutôt primitives sont encore utilisées, les huiles essentielles produites sont souvent de haute qualité. Les pays industrialisés utilisent des équipements technologiquement plus évolués et complexes, assistés par ordinateur pour l'analyse en cours du produit final. Ces deux modes très différents de production commerciale d'huiles essentielles fournissent des huiles d'excellente qualité. L'un dépend des compétences et de l'expérience, l'autre d'une technologie supérieure et d'un équipement coûteux. Il convient de garder à l'esprit que les conseils d'un expert en distillation sont une condition préalable à la production d'huiles de qualité supérieure <sup>[3]</sup>.

La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile et elle se fonde sur la caractéristique que possèdent ces composantes qui peuvent être facilement transportées par les particules de vapeur d'eau en mouvement.

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation, à l'exception des huiles essentielles d'hespéridés (citron, orange, etc.) et l'huile de cade

La vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles, une quantité suffisante de vapeur permet largement l'isolement des essences de plante. Il existe trois grands modes de distillation :

### **3.1. L'hydrodistillation**

L'hydrodistillation ou entraînement par la vapeur est la technique la plus ancienne, elle est généralement mise en œuvre sur des parties de plante fraîche (fleurs et feuilles) mais peut aussi traiter des racines pulvérisées (iris, costus) <sup>[32]</sup>.

Selon l'Agence nationale de sécurité du médicament et de produits de santé (ANSM), l'entraînement à la vapeur d'eau correspond à la vaporisation d'une substance peu ou pas miscible à l'eau. La matière première est mise en présence d'eau portée à ébullition ou de vapeur d'eau dans un alambic. La vapeur d'eau entraîne la vaporisation de l'HE qui est condensée dans le réfrigérant pour être récupérée en phase liquide dans un vase florentin (ou essencier), où l'HE est séparée de l'eau par décantation. En général, l'HE de densité inférieure à un surnage peut être séparée avec la partie inférieure de l'eau distillée aromatique (rose, oranger, etc.) dont la composition chimique n'est évidemment pas la même. On appelle « eau aromatique » (à ne pas confondre avec « eau aromatisée ») ou « hydrolat » ou « eau distillée florale » le distillat aqueux qui subsiste après l'entraînement à la vapeur d'eau, une fois la séparation de l'HE effectuée <sup>[31]</sup>.

#### **Mode d'obtention**

Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé [turbodistillation]) dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité <sup>[9]</sup>.

- Le seul avantage de l'hydrodistillation est que le coût de la conception des alambics et de l'équipement à tendance à être extrêmement faible, des condenseurs et du séparateur d'huile est simple afin qu'ils puissent fonctionner et être maintenus dans des endroits très éloignés <sup>[30]</sup>.

### 3.2. Entraînement à la vapeur d'eau (ou Vapo-hydrodistillation)

#### Définition

La distillation à la vapeur d'eau est incontestablement la méthode la plus fréquemment utilisée pour extraire l'huile essentielle des plantes.

Chemise à vapeur ou serpentín à vapeur fermé ou ouvert. L'entraînement à la vapeur d'eau produit de la vapeur humide saturée à la pression régnant dans le récipient, qui est généralement la pression atmosphérique. Dans cette configuration, contrairement à la distillation d'eau, seule la vapeur entre en contact avec le matériel végétal <sup>[33]</sup>.

#### Mode d'obtention

Le matériel végétal, dans ce cas se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic. La partie inférieure de celui-ci est remplie d'eau. Le niveau de cette dernière doit permettre d'éviter tout contact entre l'eau et la plante.

Les particules de vapeur d'eau, se dirigeant vers le haut, font éclater les cellules contenant l'essence et entraînent avec elle les molécules odorantes. La vapeur passe ensuite à travers un récipient réfrigérant où la température diminue, provoquant le détachement des molécules huileuses des particules de vapeur, qui se condense en eau. L'huile et l'eau se séparent du fait de leur poids spécifique différent : l'huile flottera sur l'eau car elle est plus légère.

A travers un robinet, on fait couler le distillat qui contiendra les composants hydrosolubles de l'essence (eau aromatique) et l'on obtient ainsi l'huile essentielle pure <sup>[9]</sup>.

La distillation de l'eau et de la vapeur peut prendre un certain temps pour atteindre la température de fonctionnement car le matériel végétal doit être chauffé uniquement avec de la vapeur saturée. Cela peut provoquer une condensation précoce et un mouillage du matériel végétal.

- En raison des limites de pression qui peuvent s'accumuler dans le récipient de charge, l'entraînement à la vapeur d'eau (vapo-hydrodistillation) n'aura qu'un effet limité sur l'extraction des matières à haut point d'ébullition des matières végétales. Cependant, il y a moins de possibilité d'hydrolyse qu'avec la distillation d'eau. L'entraînement à la vapeur d'eau présente un autre avantage par rapport à la distillation à la vapeur car il y a moins de produits décomposés au cours du processus en raison de moins de risques

de séchage du matériel végétal. Cependant, l'entraînement à la vapeur d'eau prendra beaucoup plus de temps. Elle peut produire de très bons résultats sous pression réduite. L'entraînement à la vapeur d'eau est beaucoup moins cher à installer que les installations de distillation à la vapeur et se prête aux alambics portables qui peuvent être transportés d'un endroit à l'autre <sup>[33]</sup>.

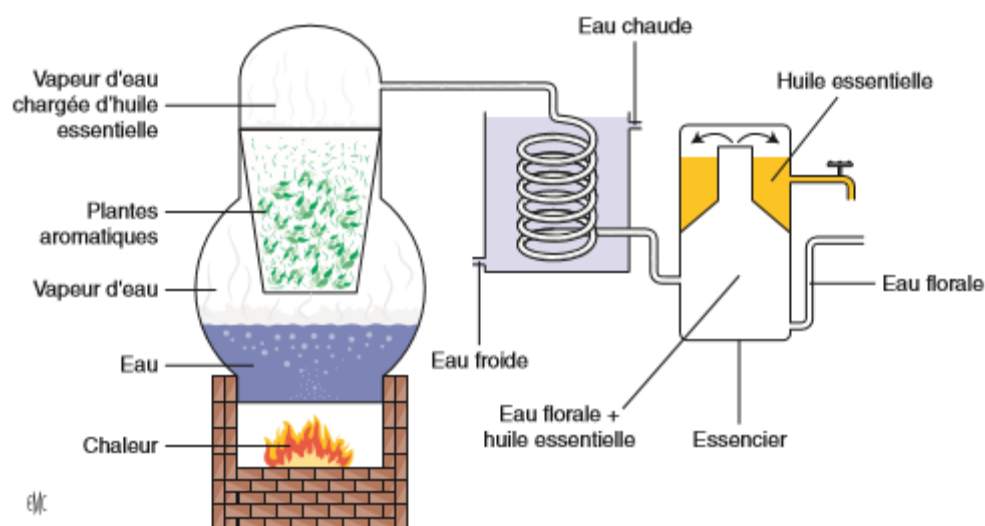


Figure I.7 : Distillation par entraînement à la vapeur <sup>[31]</sup>.

### 3.3. Distillation à la vapeur directe « générateur séparé » ou « vapodistillation »

Cette méthode ressemble à celle décrite précédemment sauf que cette fois il n'y a pas d'eau au fond de l'alambic. La vapeur saturée ou surchauffée à pression généralement supérieure à la pression atmosphérique est introduite au fond de l'alambic par un système de conduite et travers la masse végétale de bas en haut. La vapeur provient d'une chaudière indépendante.

- Les huiles essentielles obtenues par distillation ne représentent jamais exactement l'arôme et le parfum existants naturellement dans la plante.

L'extraction deuxième technique d'obtention des extraits aromatiques, peut permettre de résoudre certains problèmes de la distillation.

- La distillation reste toujours la méthode la plus économique pour extraire l'huile essentielle du matériel végétal aromatique. Le principal avantage de la distillation est qu'elle peut généralement être réalisée avec un équipement très simple, proche du lieu de production de l'usine <sup>[30]</sup>.

## ➤ 4. Autres procédés d'extraction

### 1. La distillation sèche

Cette distillation est réalisée, de préférence, sur le bois ou les écorces. Elle n'utilise pas l'eau ou la vapeur d'eau ajoutée au végétal, contrairement à l'entraînement par la vapeur ou l'hydrodistillation. La distillation sèche conduit à un distillat ayant souvent l'apparence d'un goudron (liquide visqueux noirâtre). Ce mode de distillation est très peu utilisé. Des critiques sur l'éventuelle cancérogénicité de ce goudron ont conduit les industriels à raffiner l'huile, par des distillations fractionnées, afin d'éliminer les produits toxiques. L'huile essentielle de cade et celle d'écorce de bouleau sont utilisées en dermopharmacie, principalement sur le cuir chevelu <sup>[4]</sup>.

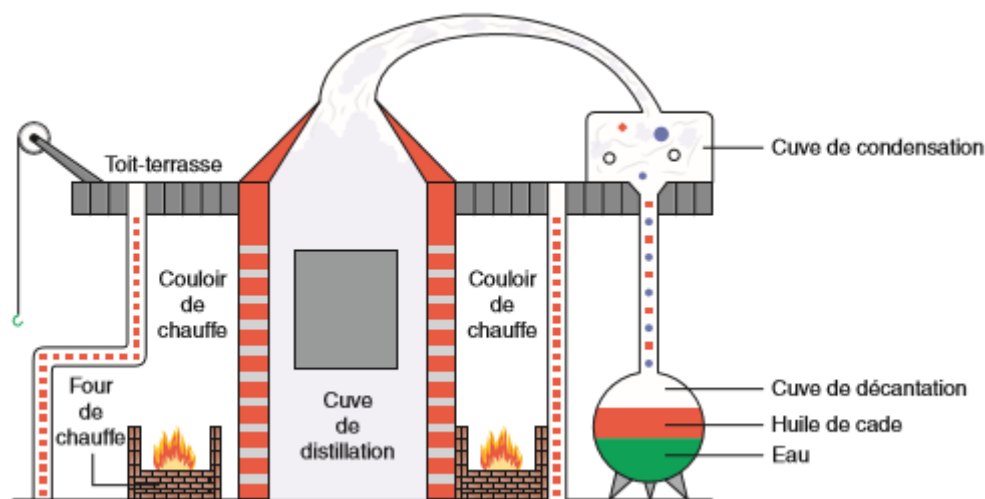


Figure I.8 : Distillation sèche <sup>[31]</sup>.

### 2. L'hydrodiffusion

Le principe de l'hydrodiffusion consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, du haut vers le bas à travers le végétal disposé sur une grille à l'intérieur d'un parallélépipède métallique, ce qui permet une meilleure répartition de la charge. L'huile essentielle s'écoule vers un collecteur permettant un équilibrage de pression.

La composition des produits obtenus est qualitativement sensiblement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie <sup>[25]</sup>.

### 3. Percolation

Il s'agit d'un déplacement continu vers le bas du solvant à travers le lit du matériau médicamenteux brut pour obtenir l'extrait. Il est le plus souvent utilisé pour extraire des principes actifs dans la préparation de teintures et d'extraits fluides. C'est une méthode de courte macération successive ou processus des déplacements. Un percolateur (un vaisseau étroit en forme de cône ouvert aux deux extrémités) est généralement utilisé <sup>[29]</sup>.

#### Mode d'obtention

Etape 01 : Réduction de la taille: le médicament à extraire est soumis à un degré approprié de réduction de la taille, généralement de la poudre grossière à la poudre fine.

Etape 02 : Imbibition: Pendant l'imbibition, le médicament en poudre est humidifié avec une quantité appropriée de solvant et laissé reposer pendant quatre heures dans un récipient bien fermé.

Etape 03 : Emballage: Après imbibition, le médicament humidifié est uniformément emballé dans un percolateur.

Etape 04 : Macération: Après avoir emballé suffisamment de menstruations est ajouté pour saturer le matériau. Le percolateur est laissé reposer pendant 24-25 heures pour macérer le médicament.

Etape 05 : Percolation: Le robinet inférieur est ouvert et le liquide qui y est recueilli peut s'égoutter lentement à un rythme contrôlé jusqu'à ce que le 3/4 du volume du produit fini soit obtenu <sup>[29]</sup>.

- La percolation est plus efficace que la macération car il s'agit d'un processus continu dans lequel le solvant saturé est constamment remplacé par du solvant frais <sup>[34]</sup>.

### 4. Extraction de fluide supercritique

L'extraction de fluide supercritique représente une technique alternative à l'extraction liquide solide conventionnelle avec une consommation de solvant et une température de travail plus faibles. C'est une forme d'extraction liquide où la phase solvant liquide habituelle a été remplacée par un fluide supercritique, une substance qui est au-dessus de son point critique. Parmi une grande variété de fluides supercritiques, le dioxyde de carbone est essentiellement le seul solvant d'extraction supercritique pratique utilisé en raison de sa température critique (31,1°C) et de sa pression (73,8 bar / 7,38 MPa) relativement <sup>[29]</sup>.

## 5. Décoction

L'extrait de décoction contient une grande quantité d'impuretés hydrosolubles. La décoction ne peut pas être utilisée pour l'extraction de composants thermolabiles ou volatils [34].

## 6. Extraction solide-liquide

La méthode d'extraction en discontinu consiste à mettre l'échantillon solide, sous une forme très finement divisée, en présence du solvant à température ambiante ou à la température d'ébullition du solvant, pendant un temps plus ou moins long, et sous agitation. Le principal inconvénient est qu'il faut, à la fin de l'essai, séparer les parties solide et liquide, soit par centrifugation, soit par filtration. Sur le plan industriel ou au laboratoire, les méthodes en continu avec les appareils de Soxhlet et de Kumagawa seront privilégiées, car l'échantillon solide est renfermé dans une cartouche poreuse cartonnée. L'appareil de Soxhlet (figure I.9) se compose de trois parties : le solvant en 1 contenu dans le ballon en 2, l'extracteur en 4 et le réfrigérant en 9, avec une entrée en 10 et une sortie en 11 de l'eau de refroidissement. La cartouche en papier-filtre.

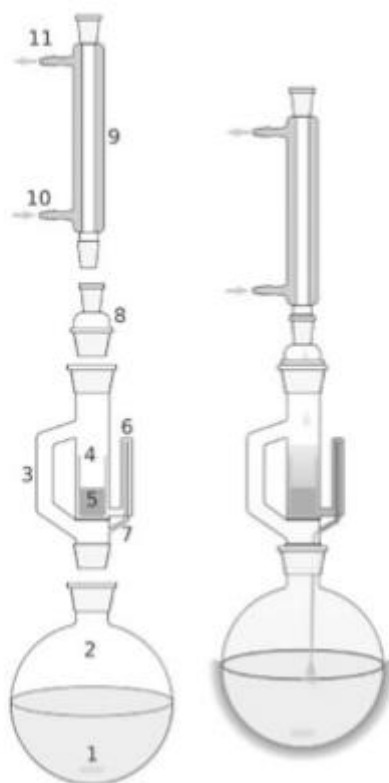


Figure I.9 : Appareil de Soxhlet [4].

➤ Le tableau suivant résume les différentes méthodes d'extraction naturelle :

**Tableau I.4** : Résumé des différentes méthodes d'extraction des produits naturels [32].

Méthode	Solvant	Température	Pression	Temps	Volume de solvant organique consommé	Polarité des produits naturels extraits
Macération	Eau, solvants aqueux et non aqueux	Température ambiante	Atmosphérique	Long	Large	Dépend de l'extraction du solvant
Percolation	Eau, solvant aqueux et non aqueux	Température ambiante, parfois sous chaleur	Atmosphérique	Long	Large	Dépend de l'extraction du solvant
Décoction	Eau	Sous la chaleur	Atmosphérique	Modérer	Aucun	Composés polaires
Extraction de reflux	Solvants aqueux et non aqueux	Sous la chaleur	Atmosphérique	Modérer	Modérer	Dépend de l'extraction du solvant
Extraction de Soxhlet	Solvants organiques	Sous la chaleur	Atmosphérique	Long	Modérer	Dépend de l'extraction du solvant
Extraction de liquide sous pression	Eau, solvants aqueux et non aqueux	Sous la chaleur	Haut	Court	Petit	Dépend de l'extraction du solvant
Extraction de fluide supercritique	Fluide supercritique (généralement S-CO <sub>2</sub> ), parfois avec	Température ambiante proche	Haut	Court	Aucun ou petit	Composés polaires non polaires à modérés



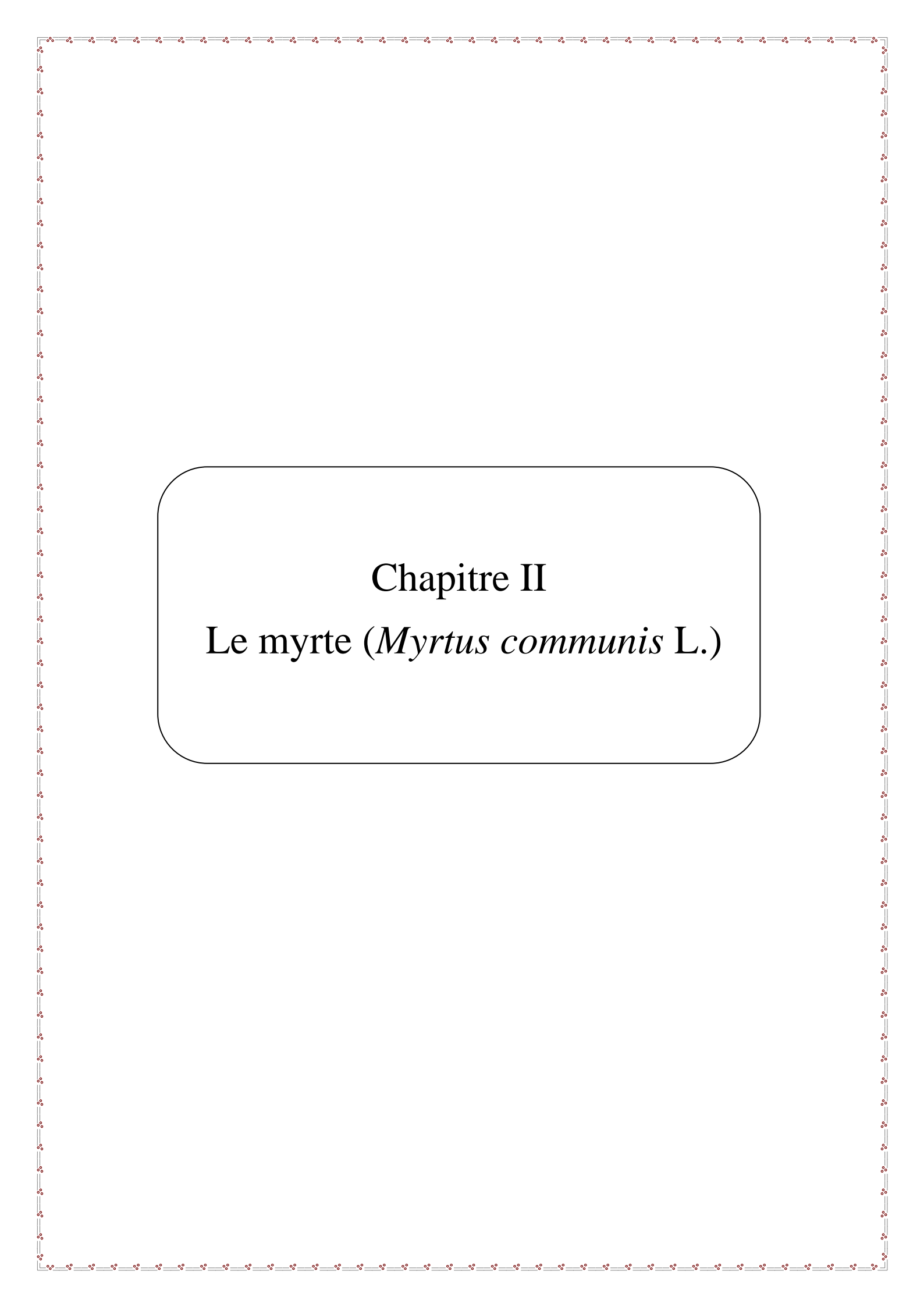
	modificateur					
Extraction assistée par ultrasons	Eau, solvant aqueux et non aqueux	Température ambiante ou sous chaleur	Atmosphérique	Court	Modérer	Dépend de l'extraction du solvant
Extraction assistée par micro-ondes	Eau, solvant aqueux et non aqueux	Température ambiante	Atmosphérique	Court	Aucun ou modérer	Dépend de l'extraction du solvant
Extraction de champ électrique pulsé	Eau, solvant aqueux et non aqueux	Température ambiante ou sous chaleur	Atmosphérique	Court	Modérer	Dépend de l'extraction du solvant
Extraction assistée par enzyme	Eau, solvant aqueux et non aqueux	Température ambiante ou chaleur après traitement enzymatique	Atmosphérique	Modérer	Modérer	Dépend de l'extraction du solvant

## Références

- [1] Guignard, J. L.; & Cosson, L.; et Henry, M.; *Abrégé de phytochimie*. **1985**.
- [2] Azmir, J.; Zaidul, I. S. M.; Rahman, M. M.; Sharif, K. M.; Mohamed, A.; Sahena, F.; Omar, A. K. M.; *Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. Journal of food engineering*. 117(4), 426-436. **2013**.
- [3] Başer, K. H. C.; & Buchbauer, G.; *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. **2010**.
- [4] Kaloustian, J.; & Hadji-Minaglou, F.; *La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie; Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée*. Springer. **2012**.
- [5] René M.; *Aromathérapie – Les Huiles Essentielles hormones végétales*, Compagnie, Paris, France. 187p. **1937**.
- [6] Padrini, F.; & Lucheroni, M. T.; *Le grand livre des huiles essentielles. Éditions de Vecchi*. **2003**.
- [7] Charpentier, B.; Hamon-Lorleac'h, F.; Harlay, A., & Ridoux, L.; *Guide du préparateur en pharmacie*. Elsevier Masson. **2008**.
- [8] Roux, D., & Catier, O.; *Botanique, pharmacognosie, phytothérapie*. Wolters Kluwer France. **2007**.
- [9] Bekhechi, C.; & Abdelouahid, D.; *Les huiles essentielles. Office des publications universitaires*. **2010**.
- [10] B. Berigaud.; « *Aromathérapie* ». Edit. Pardes. **2002**.
- [11] A. Loit.; A. Goris.; « *Pharmacie galénique* ». Edit. Masson. **1942**.
- [12] Chaker El Kalamouni, *Thèse sur : Caractérisations chimiques et biologique*
- [13] Alessandra Moro Buronzo, *grande guide des huiles essentielles santé beauté Marocaine : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires*
- [14] *étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne*, aout p 19-20.; **2008**.
- [15]. AFNOR.; *Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles »*, AFNOR. Paris. 57p. **1986**.
- [16] Boussaid M.; Ben Fadhel N.; Ben M'hamed M.; *Structure of vegetation in Northern and Central Tunisia and Protective Measures*. *J. Mediter*, 38: 295-302. **1998**.
- [17] Rouessac F.; Rouessac A.; Brooks S.; *Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques*, Ed. John Wiley and Sons, p.31. **2007**.

- [18] Cserhati T.; Forgacs E.; *Chromatography in food science and technology*, CRC Press, p.1. **1999**.
- [19] Scimeca D.; *Les plantes du bonheur*, Ed. Alpen, p.12-17. **2007**.
- [20] De Maack F.; Sablier M.; *Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Bases documentaires, Techniques d'analyse*. **1994**.
- [21] Bruneton J.; *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris **1999**.
- [22] Desjobert J. M.; Bianchini A.; Tommy P.; Costa J.; Bernardini A. F.; *Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. Analysis***1997**.; 25 (6) : 13-16.
- [23] Paolini J.; *Caractérisation des huiles essentielles par CPG/IR, CPG/SM-(ie et ic) et RMN du carbone-13 de cistus albidus et de deux asteraceae endemiques de corse : eupatorium cannabinum subsp. corsicum et doricum corsicum. Thèse de doctorat*. **2005**.
- [24] Kurkin V.A.; *Chem. Nat. Compd.* 39,123. **2003**.
- [25] Abdelouahid, D.; Bekhechi, C.; *Les huiles essentielles. Offices des publications universitaires*. **2014**.
- [26] Bruneton, J.; *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Paris. Tec & Doc/Lavoisier. **2009**.
- [27] Vandermoten, S.; Cusson, M.; Francis, F.; Haubruge, E.; *La biosynthèse des isoprénoides chez les pucerons: une cible potentielle de nouveaux bio-insecticides?. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 12(4). **2008**.
- [28] Jean, B.; *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier. **2009**.
- [29] Komal, P.; Namrata, P.; Dr. Pradnya, I.; *Techniques Adopted for Extraction of Natural Products, Extraction Methods: Maceration, Percolation, Soxhlet Extraction, Turbo distillation, Supercritical Fluid Extraction. International Journal of Advanced Research in Chemical Science (IJARCS)*, 6(4), pp.1-12. DOI: [http://dx.doi.org / 10.20431/ 2349-0403.0604001](http://dx.doi.org/10.20431/2349-0403.0604001). **2019**.
- [30] Douglas, M.; Heyes, J.; & Smallfield, B.; *Herbs, spices and essential oils: post-harvest operations in developing countries. UNIDO and FAO*. **2005**.
- [31] Anton, L.; Mulon, L.; *Huiles essentielles et cosmétiques « bio »*. 9(9), 50-120. **2017**.
- [32] Martini, MC. *Parfums.EMC - Cosmétologie et Dermatologie esthétique*,6(6), 50-120. **2014**.
- [33] Hunter, M.; *Essential oils: art, agriculture, science, industry and entrepreneurship*. Nova Science Publishers, Incorporated. **2010**.

[34] Zhang, Q. W.; Lin, L. G.; & Ye, W. C.; *Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. Chinese medicine.* 13(1), 20. **2018.**



Chapitre II  
Le myrte (*Myrtus communis* L.)

## Introduction

Le myrte commun, *Myrtus communis*, est un arbuste typique et vivace du pourtour méditerranéen qui est bien ancré dans la culture et les croyances des peuples qui bordent la grande bleue. En plus de ces croyances, on lui prête depuis longtemps des propriétés médicinales. Le myrte appartient à la famille des myrtacées, comme l'eucalyptus, le giroflier, le niaouli, et l'arbre de thé. Ces espèces sont largement décrites comme possédant des propriétés pharmacologiques, et il n'est donc pas surprenant que l'on ait prêté au myrte tant de vertus. Et se rencontrant principalement en France, en Espagne, en Tunisie, en Maroc, en Algérie et Balkans et en Yougoslavie. Il peut également être trouvé comme plante cultivée dans les jardins dans les autres pays. Différentes parties de la plante trouvent diverses utilisations ; une huile essentielle est obtenue par distillation à la vapeur d'eau de feuilles et de fleurs fraîches, utilisée pour aromatiser les denrées alimentaires (viande, sauces, etc.) et comme matière première en parfumerie. Ses feuilles, fruits, fleurs et racines sont recommandés en médecine traditionnelle [1-2-3-4].

### I. Historique et utilisations traditionnelles

Le nom myrte provient de mot grec Myrtos ce qui signifie parfum. As ou Mersin ou Rihan chez les Arabes ou Tarihant ou Tchilmoun (fruits) chez les Berbères et les Touaregs, c'est une plante à odeur aromatique à la famille de myrtaceae [5-6].

La plante était connue depuis l'antiquité ,où les scientifiques ont trouvés ses branches dans les tombes pharaoniques et sont venue parmi de nombreuses prescriptions des papyrus pharaoniques pour le traitement de l'épilepsie, de la cystite et de la régulation de l'urine, les Romains le connaissaient et les Grecs pour les gloires et les victoires, les musulmans l'ont utilisé et l'utilisent encore dans certains pays pour décorer les tombes pendant les fêtes, Dioscorides décrits : la préparation de son huile et prescrit un extrait en vin pour les infections des poumons et de la vessie [7].

Maintenant, plusieurs pays utilisent le myrte pour le traitement traditionnellement comme Turquie, Tunisie, Maroc, Sardaigne, Italie, Iran et l'Algérie.

Le Tableau suivant, résume les différentes indications en fonction de leur pays d'origine, de la forme et de la voie d'utilisation.

Tableau II.1 : Indications traditionnelles par pays <sup>[1]</sup>.

PAYS	INDICATIONS	PARTIE UTILISÉE	FORME	VOIE	Nb DE PERS INTERROGÉS	PROPORTION D'UTILISATEURS
TURQUIE <sup>(8)</sup>	paralysie douleur, diabète	Fll	HE	cutanée, orale	98	<b>0.33</b>
TURQUIE <sup>(9)</sup>	Affection de la prostate	Fll	décoction	orale	162	<b>0.1</b>
TURQUIE <sup>(10)</sup>	incontinence, infection de la vessie	Fll ET Fr	décoction et infusion	orale	252	<b>0.11</b>
TUNISIE <sup>(11)</sup>	douleur dentaire	Fll	décoction	orale	150	<b>0.02</b>
IRAN <sup>(12)</sup>	herpès, problème gynécologique, tonique de l'estomac, douleur musculaire et articulaire	Fll ET Rc	décoction concentrée	NR	23	<b>0.13</b>
ALGERIE <sup>(13)</sup>	hypertension, diabète	Pr Ae	infusion et décoction	orale	83	<b>0.19</b>
SARDAIGNE <sup>(14)</sup>	toux catarrhale	Fll	infusion	orale	203	<b>0.14</b>
ITALIE <sup>(15)</sup>	Décongestionnant	NR	décoction	ophtalmique	NR	<b>NR</b>
SARDAIGNE <sup>(16)</sup>	Traitement de la peau et des plaies en vétérinaire	NR	NR	cutanée	NR	<b>NR</b>
MAROC <sup>(17)</sup>	hypertension, diabète	NR	infusion et décoction	orale	NR	<b>NR</b>
MAROC <sup>(18)</sup>	maux d'estomac et purgatif/fièvre/assouplir les	Fll	décoction et infusion	orale et inhalation	NR	<b>NR</b>

	cheveux/maladie cardiaque respiratoire et hépatique					
MAROC <sup>(19)</sup>	Diabète, antiseptique, astringent, traitements des troubles intestinaux, anti-diarrhéique et soins capillaires	FII	NR	NR	NR	NR

**II. Distribution de la plante**

Cette espèce est distribuée spontanément dans toutes les régions circum-méditerranéennes, puisqu'elle s'étend de Macaronésie (Açores et Madère) à la zone iranotouranienne (montagnes de l'Alborz, du Zagros et région de Kerman en Iran), et même, peut-être, en Asie (en Afghanistan voire au Pakistan). La distribution horizontale très large de cette espèce peut être expliquée par le résultat de l'interaction des variations de différents facteurs du milieu, incluant les effets de l'altitude et la latitude, et la variabilité génétique au sein des populations de l'espèce en pleine évolution [20].



**Figure II.1 :** La distribution de la plante [21].



### III. Description botanique

Le myrte est un arbuste de 2 à 3 mètre, à feuilles opposées, ovales- lancéolées aiguës, entières, coriaces, persistantes, longues de 3cm ; larges de 1cm, à nervation pennée. Fleurs blanches de 10 à 15 mm de long, axillaire solitaires longuement pédonculées, odorantes ; calices à tube soudé à l'ovaire, à 5 lobes étalés, 5 pétales ; étamines nombreuses ; 1 style, à stigmate simple, ovaire infère. Les fruits ovoïdes de la grosseur d'un pois chiche, à peine charnue, d'un noir bleuâtre à graines peu nombreuses <sup>[6]</sup>.



Figure II.2 : La plante et les fleurs du myrte.



Figure II.3 : Les baies du myrte.

### Systematique

La classification de cette espèce est définie comme suit :

Tableau II.2 : Classification botanique de *Myrtus communis* <sup>[22]</sup>.

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Class	Eudicots
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtacées

Genre	Myrtus
Espèce	<i>Myrtus communis</i> L.

#### IV. Composition chimique de l'huile essentielle de *M. communis*

##### L. :

Les composés majoritaires des huiles essentielles de feuilles de myrte sont le 1,8-cinéole, l' $\alpha$ -pinène, le limonène, le linalol et parfois l'acétate de myrtényle. Ces huiles essentielles d'origines diverses ont été classées en deux groupes en fonction de leur teneur en  $\alpha$ -pinène: supérieure à 50% (Corse et Tunisie), inférieure à 35% (Maroc, Liban, Yougoslavie). Une autre classification de ces huiles essentielles, basée sur la présence à une teneur appréciable ou à l'absence d'acétate de myrtényle.

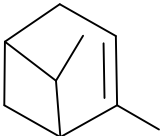
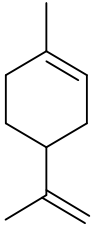
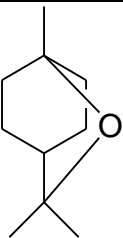
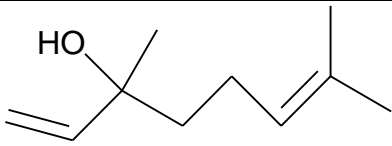
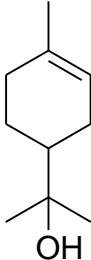
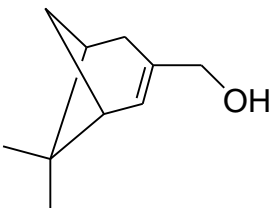
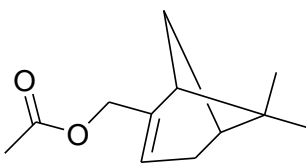
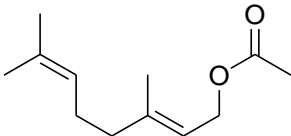
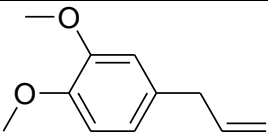
Nous distinguons les compositions suivantes :

- les huiles essentielles ne contenant pas d'acétate de myrtényle sont caractérisées soit par des teneurs appréciables en  $\alpha$ -pinène et en 1,8-cinéole, en provenance de Corse, et de Sardaigne, soit par des teneurs appréciables en 1,8-cinéole,  $\alpha$ -pinène et limonène localisées en provenance d'Italie continentale, de Sardaigne, et d'Iran.

- les huiles essentielles riches en acétate de myrtényle proviennent d'Espagne, du Portugal et de l'île grecque de Zakynthos <sup>[4]</sup>.

Dans le tableau suivant, nous avons essayé de résumer la composition chimique d'une huile essentielle de feuilles de myrte pour 3 pays.

Tableau II.3 : pourcentage des composants de l'huile essentielle des feuilles de myrte dans 03 pays <sup>[4]</sup>.

Composant	Formule	Pourcentage %		
		Maroc	Balkans	Tunisie
$\alpha$ -pinène		20- 28	8-25	47-57
Limonène		8 -15	8-15	6-11
Cinéole		23-36	18-29	15-25
Linalol		1,5-5	7-19	2-4
$\alpha$ -terpinéol		2-5	1-4	1,0 - 3,0
Myrténol		Au minimum 0,3	Au minimum 0,3	Au maximum 0,5
Acétate de myrtényle		13-25	13-21	Au maximum 0,5
Acétate de géranyle		1,5-3	1-4	1,5 - 3,0
Méthyleugénol		Au maximum 1,5	Au maximum 1,5	Au maximum 1,0

Par ailleurs, d'autres compositions contenant des teneurs appréciables en 1,8-cinéole,  $\alpha$ - pinène, limonène et acétate de myrtényle, sont décrites en Albanie, en Yougoslavie, en Croatie, et en Turquie. Les échantillons du Liban, et de l'île de Chypre se caractérisent par un pourcentage plus important en 1,8-cinéole. Enfin, la composition d'un échantillon atypique contenant de l'acétate de linalyle, du limonène, et de l' $\alpha$ -pinène a été décrite en Grèce [23].

## V. Activités et effets pharmacologiques

### 1. Activité antifongique

Les déficits immunitaires constitutionnels font référence à différents types d'infections fongiques cutanées, muqueuses ou viscérales. Les agents pathogènes fongiques sont des organismes eucaryotes, difficile à distinguer des cellules du système immunitaire. L'incidence croissante des infections fongiques a poussé à rechercher de nouveaux agents antifongiques qui sont moins toxiques et moins générateurs de résistance que les antifongiques de synthèse. Les huiles essentielles constituent une source intéressante pour la recherche de nouveaux agents antifongiques, particulièrement par les études de synergie avec les drogues de synthèse. L'huile essentielle de *Myrtus communis* est connue pour son action désinfectante et antiseptique [23].

### 2. Activité antibactérienne :

Les problèmes concernant l'utilisation d'antibiotiques classiques, y compris la résistance aux antimicrobiens, les problèmes environnementaux, les effets secondaires et des coûts élevés, ont renforcé une tendance à remplacer les antimicrobiens synthétiques par d'autres agents naturels.

Les propriétés antibactériennes des huiles essentielles de myrte et des autres extraits contre les bactéries pathogènes ont été signalées dans de nombreuses études et ont obtenu des résultats prometteurs [1].

### 3. Activité anti-inflammatoire

Les propriétés anti-inflammatoires et analgésiques de l'huile essentielle de *Myrtus communis* ont été évaluées «in vivo» [1].

#### 4. Activité anticancéreuse

Un élément chimique important retrouvé dans le myrte est le myrtucommulone A, qui est un acylphloroglucinol à l'origine de son action-antibactérienne, anti-inflammatoire et anticancéreuse. Cet acylphloroglucinol est également pour grande partie responsable de l'action anti-acnéique du myrte <sup>[1]</sup>.

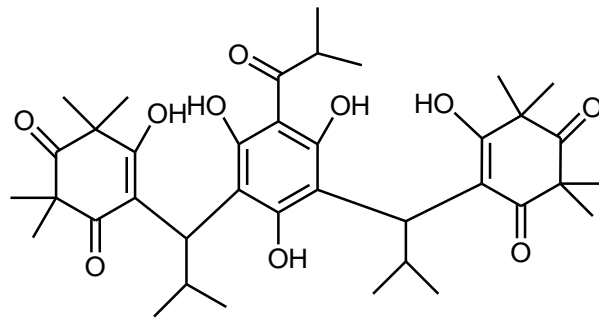


Figure II.4 : Structure du myrtucommulone

➤ Et d'autres effets comme

L'effet antiviral, effet anti-radicalaire, effet hépato-protecteur, effet anti-aphte et effet anxiolytique <sup>[23]</sup>.

### Le Myrte en Algérie

#### 1. Utilisations traditionnelles et indications

Le myrte commun occupe une place importante dans l'histoire, il était réputé pour son action antiseptique. Hippocrate (médecin grec, vers 377 av. J.C.) utilisait ses baies contre les métrorragies. Dioscoride et Pline (médecins latins du 1er siècle ap. JC) indiquaient de nombreuses applications médicales. Ainsi, les feuilles écrasées s'appliquaient sur les ulcères. La poudre de feuilles est utilisée pour préparer, un cérat contre les panaris et les maladies des ongles, et administrée contre les pertes séminales et les sueurs cardiaques. Les fleurs sont utilisées pour faire noircir les cheveux. Les fruits verts ou desséchés s'employaient contre les hémorragies; bouillis dans le vin comme vulnéraire et astringent externe. Le suc des baies était utilisé comme stomachique et diurétique. Les graines sont employées contre les affections osseuses.

En Algérie, les feuilles de *Myrtus communis* L. sont utilisées comme remède contre

les affections des voies respiratoires. Les préparations à base de plantes sont préconisées contre les bronchites, les sinusites, les otites, les diarrhées et les hémorroïdes. Les fruits constituent un remède contre la dysenterie, l'entérite et les hémorragies. Le myrte est connu en Algérie pour ses propriétés anti-inflammatoires et hypoglycémiantes [23].

### **Composition chimique**

Concernant le myrte d'Algérie, la composition chimique de l'huile essentielle est décrite dans huit publications. Ainsi, l'huile essentielle provenant du Centre algérien contient comme composés majoritaires le 1,8-cinéole (15,8%) et le limonène (8,7%), avec une faible teneur en  $\alpha$ -pinène (2,9%). Dans un autre échantillon provenant du Centre d'Algérie, l' $\alpha$ -pinène présente une teneur plus élevée (18,9%) de la composition, accompagné du 1,8-cinéole, (26,2%) et du limonène (11,1%). Une composition atypique a été décrite dans un autre échantillon provenant toujours du Centre algérien, dont les composés majoritaires sont représentés par le 1,8-cinéole (46,98%) accompagné du cis-geraniol (25,18%).

La composition de ces échantillons diffère de celle reportée pour les trois échantillons du Centre d'Algérie, dominée par l' $\alpha$ -pinène (46,9%, 44,6%, 30,6%) et le 1,8-cinéole (25,2%, 25,5%, 32,1%). Deux autres échantillons isolés des plantes cueillies dans le Nord Est algérien (région de Gouraya) ont été décrits avec des teneurs respectives en  $\alpha$ -pinène (39,3%, 33,3%) et en 1,8-cinéole (33,4%, 42,4%).

Récemment, Ben Ghnya et al. 2013 ont décrit une population de dix échantillons dont l'origine est indéterminée, contenant les mêmes composés majoritaires décrits ci-dessus:  $\alpha$ -pinène (jusqu'à 45,4%), et 1,8-cinéole (jusqu'à 35,7%).

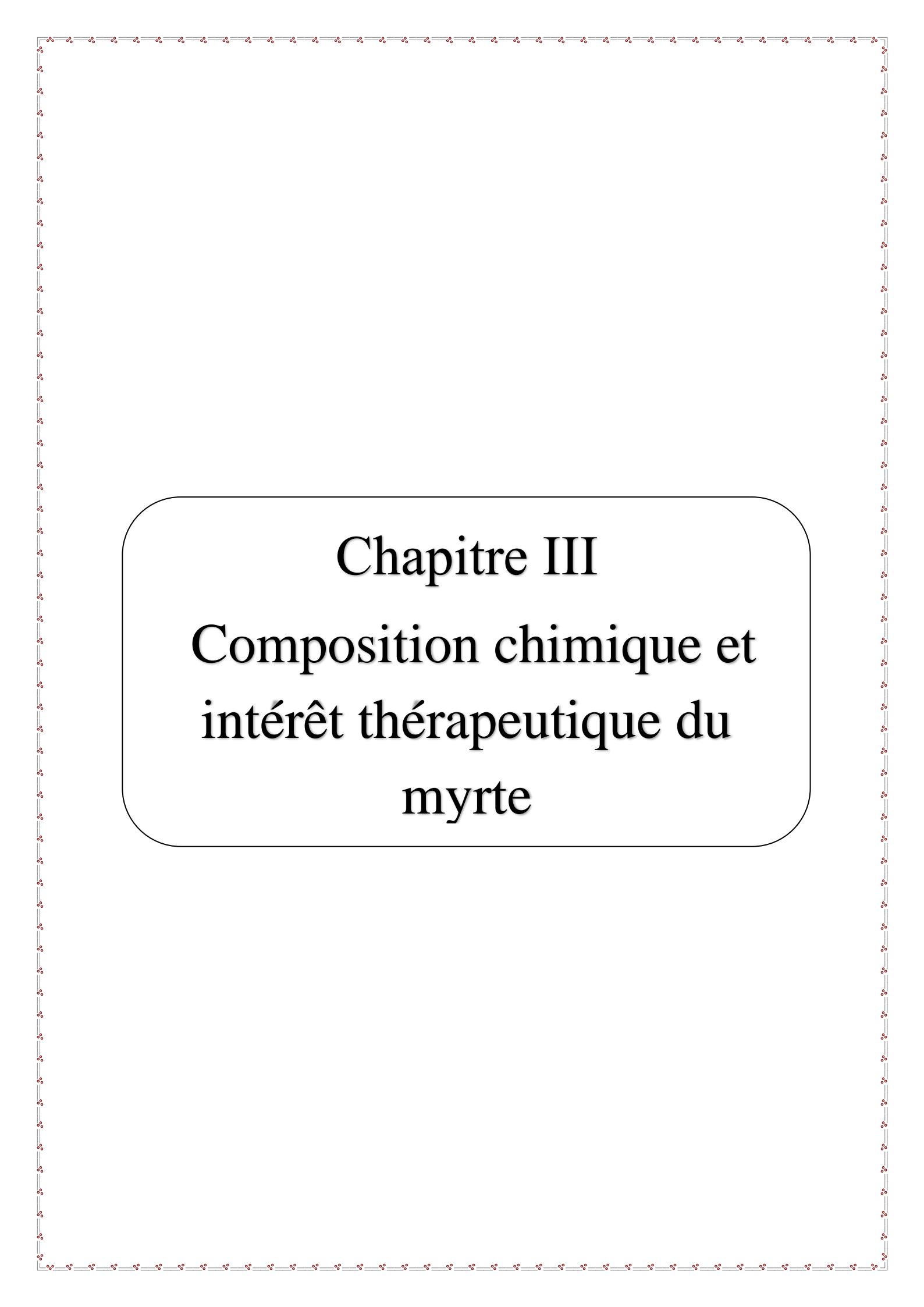
Ainsi, il ressort des données de la littérature que l'huile essentielle de feuilles de *Myrtus communis* d'Afrique du Nord présente deux types de composition chimique, caractérisés par la présence ou l'absence d'acétate de myrtényle, l' $\alpha$ -pinène et/ou le 1,8-cinéole étant les produits majoritaires. Cependant, peu d'études ont été menées en Algérie, ne permettant pas de conclure à une homogénéité ou à une éventuelle variabilité de la composition chimique [23].

**Référence :**

- [1] DECENDIT, M. A. *Myrtus communis* L. en Corse et en Méditerranée: De sa composition chimique jusqu'à ses utilisations.(thèse de doctorat, Université Victor Segalen Bordeaux 2). **2016.**
- [2] Amensour, M.; Sendra, E.; Abrini, J.; Bouhdid, S.; Pérez-Alvarez, J. A.; & Fernández-López, J.; *Total phenolic content and antioxidant activity of myrtle (Myrtus communis) extracts. Natural Product Communications*, 4(6), 1934578X0900400616. **2009.**
- [3] Chalchat, J. C., Garry, R. P., & Michet, A.; *Essential oils of myrtle (Myrtus communis L.) of the Mediterranean littoral. Journal of essential oil Research*, 10(6), 613-617. **1998.**
- [4] *Huile essentielle de myrte; Pharmacopée française août 2013.*
- [5] Baba Aïssa, F.; *ENCYCLOPÉDIE DES PLANTES UTILES. Alger. Algérie : EDAS. 2000.*
- [6] Beloued, A.; *Plantes médicinales d'Algérie. Offices des publications universitaires. 2005.*
- [7] Sumbul, S.; Ahmad, M.; A., Asif, M.; & Akhtar, M.; *Myrtus communis* Linn.-A review. **2011.**
- [8] Gürdal, B.; Kültür Ş.; *An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris. Muğla, Turkey. Journal of Ethnopharmacology* 146, p113–126. **2013.**
- [9] Bulut, G.; Tuzlaci, E. *An ethnobotanical study of medicinal plants in Turgutlu. Manisa, Turkey. Journal of Ethnopharmacology* 149, p633–647. **2013.**
- [10] Sargin S.; Akçicek, E.; Selvi, S.; *An ethnobotanical study of medicinal plants used by the local people of Alaşehir (Manisa) in Turkey. Journal of Ethnopharmacology* 150, p860–874 **2013.**
- [11] Leto, C.; Tuttolomondo, T.; La Bella, S.; Licata, M. *Ethnobotanical study in the Madonie Regional Park. Central Sicily, Italy. Medicinal use of wild shrub and herbaceous plant species. Journal of Ethnopharmacology* 146, p90–112. **2013.**
- [12] Mosaddegh, M.; Naghibi, F.; Moazzeni, H.; Pirani, A.; Esmaeili, S.; *Ethnobotanical survey of herbal remedies traditionally used in Kohghiluyeh va Boyer Ahmad province of Iran. Journal of Ethnopharmacology* 141, p80– 95. **2012.**
- [13] Boudjelal, A.; Henchiri, C.; Sari, M.; Sarri, D.; Hendel, N.; Benkhaled, A.; Ruberto, G.; *Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (NorthAlgeria): An ethnopharmacology survey. Journal of Ethnopharmacology* 148, p395–402. **2013.**
- [14] Bruni, A.; Ballero, M.; Poli F.; *Quantitative ethnopharmacological study of the Campidano Valley and Urzulei district, Sardinia, Italy. Journal of Ethnopharmacology* 57, p97–124. **1997.**

- [15] De Feo, V.; Senatore, F.; *Medicinal plants and phytotherapy in the Amalfitan Coast, Salerno Province, Campania, Southern Italy. Journal of Ethnopharmacology* 39, p39-51. **1993.**
- [16] Atzei, A.D.; Orioni, S.; Sotgiu, R.; *Contributo alla conoscenza degli usi etnobotanici nella Gallura (Sardegna). Bollettino della Societa Sarda di Scienze Naturali* 28, p137-177 **1991.**
- [17] Tahraoui, A.; El-Hilaly, J.; Israili, Z.H.; Lyoussi, B. *Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco, Errachidia province. Journal of Ethnopharmacology* 110, p105-117 **2007.**
- [18] Lahsissene, H. Kahouadji, A. Tijane, M. Hseini. S. *Catalogue des Plantes Médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). Revue de Botanique, Nouvelle série N° 186\_2, 2009.*
- [19] Ziyat, A.; Legssyer, A.; Mekhfi, H.; Dassouli, A.; Serhrouchni, M.; Benjelloun. W.; *Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. Journal of Ethnopharmacology* 58, p45-54. **1997.**
- [20] Wahid, N.; *Perspectives de la valorisation de l'usage et de la culture du Myrtus communis L. au Maroc. Phytothérapie*, 11(4), 237-243. **2013.**
- [21] AMINA, C.; *Caractérisations chimiques et physico-chimiques des extraits hydrosolubles du myrte (Myrtus communis) (Doctoral dissertation, Université Badji Mokhtar-Annaba). 2014.*
- [22] ACHOURI I.; BELILET K.; *Contribution à l'étude des activités biologiques des huiles essentielles des feuilles du Myrtus communis L. (Rihan)de la région de Tlemcen. Mémoire de Master 2 : En Biologie biochimie Appliquée. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen* 1 ,64 p **2018.**
- [23] Bouzabata, A.; *contribution a l'étude d'une plante médicinale et aromatique myrtus communis l (thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie) Récupéré de l'archive de HAL Id: tel-01493134 <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01493134>. 2015.*





# Chapitre III

## Composition chimique et intérêt thérapeutique du myrte

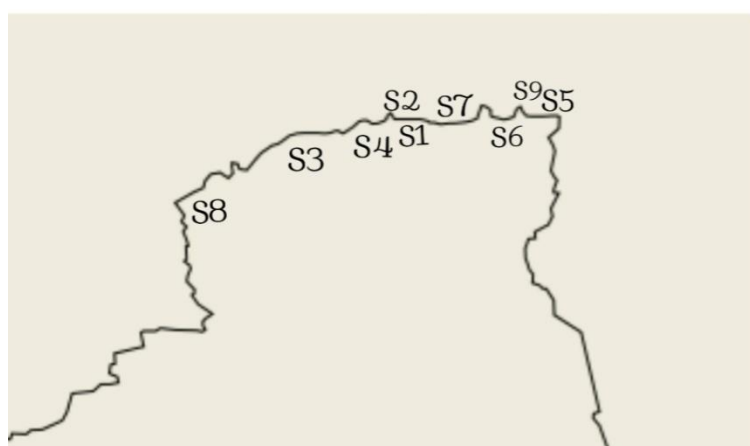
## Introduction

Comme beaucoup d'espèces de la famille des Myrtacées, le myrte est riche en nombreux composés chimiques. Dans cette partie nous décrivons la composition chimique de *myrtus communis*, car il fait l'objet d'un grand nombre de recherches et semble avoir un grand intérêt d'un point de vue thérapeutique.

Dans un second temps, on a fait une étude bibliographique sur l'activité pharmacologique de cette plante et également les tests phytochimiques des feuilles de *Myrtus communis*.

### I. Les composés extraits des feuilles

Pour cette étude, les feuilles de myrte ont été cueillies dans neuf stations (S1-S9) réparties sur l'ensemble de l'Algérie (Figure III.1) <sup>[1]</sup>.



**Figure III.1** : Localisation des stations d'échantillonnage de *Myrtus communis* L S1 ; S2 ; S3 ; S4 ; S5 ; S6 ; S7 ; S8 ; S9.

#### I.1. Etude des huiles essentielles

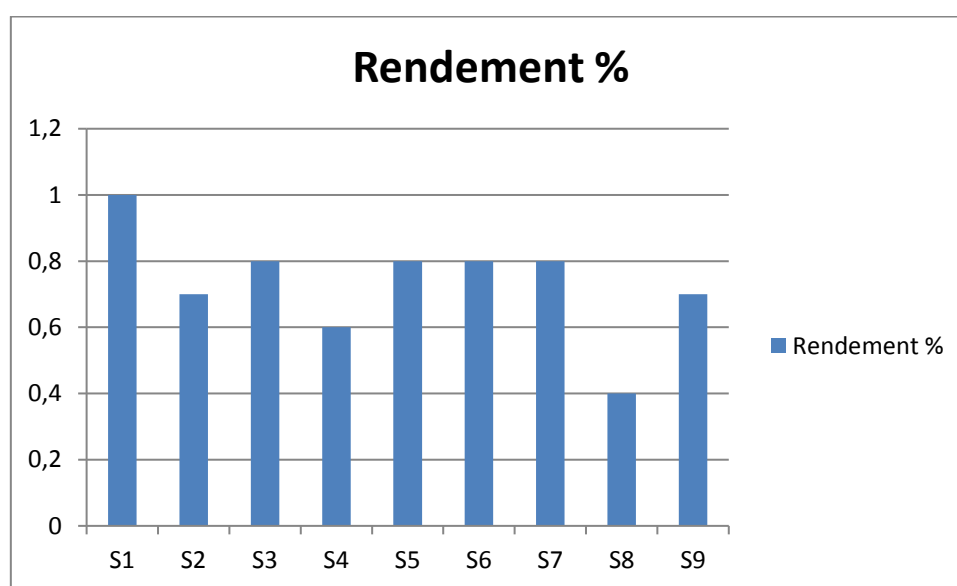
Les huiles essentielles de myrte ont été préparées par hydrodistillation des feuilles issues des neuf stations (S1-S9). Les rendements d'extraction sont compris entre 0,4 et 1%.

Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau III.1** : Pourcentage des Rendements Moyens (masse/masse) des huiles essentielles extraites à partir de *Myrtus communis* L <sup>[1]</sup>.

Station	Rendement %	Ecart Type
Tademaït (tizi Ouzou) (S1)	1,0	0,2
Bainem (Alger) (S2)	0,7	0,3

Hammam Righa (Ain defla) (S3)	0,8	0,2
Mouzaia (blida) (S4)	0,6	0,1
Bouhadjar (taref) (S5)	0,8	0,3
Skikda (S6)	0,8	0,1
Jijel (S7)	0,8	0,2
Nedroma (Tlemcen) (S8)	0,4	0,2
Seraidi (Annaba) (S9)	0,7	0,1



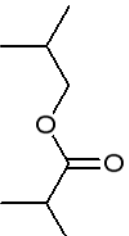
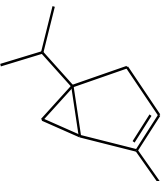
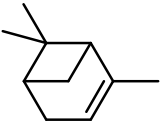
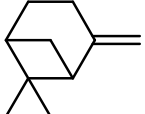
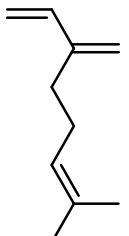
**Figure III.2 :** taux de rendement pour des huiles essentielles de myrte d'Algérie.

Cette variation du rendement s'explique par la variation des facteurs extrinsèques de ces stations étudiées. Il s'agit de l'incidence des facteurs de l'environnement englobant la température moyenne et l'humidité relative.

## I.2. La composition chimique

L'analyse des 9 huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (CPG/SM) a permis d'identifier 26 composés (Tableau III.2).

**Tableau III.2:** le pourcentage des divers composants de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. dans neuf différentes régions d'Algérie <sup>[1]</sup>.

Composant	Formule	Pourcentage %								
		Tizi Ouzou (S1)	Alger (S2)	Ain dafla (S3)	Bida (S4)	Taref (S5)	Skikda (S6)	Jijel (S7)	Tlemcen (S8)	Annaba (S9)
(1) Isobutyrate disobutyle		[0,1 - 0,3]	[0,1-0,6]	[Tr-0,6]	[1,7-1,3]	[0,0- 0,3]	[0,5-0,6]	[0,1 - 0,3]	0,1	[0,1 - 0,2]
(2) $\alpha$ - thujène		Tr	[Tr-0,2]	[0,1 - 0,2]	[0,2-0,3]	[1,0-0,7]	0,4	[0,1 - 0,2]	Tr	[0,4 - 0,6]
(3) $\alpha$ - pinène		[37,7-47,3]	[59,2-30,3]	[34,2-38,5]	[27,4-38,1]	[44,2-49,0]	[45,0-47,9]	[32,8- 47,9]	[28,7 -44,9]	[47,4-49,0]
(4) $\beta$ - pinène		[0,3- 0,5]	[0,3- 0,6]	0,2	0,1	[0,3-0,4]	[0,3-0,4]	[0,4 -0,5]	[0,3 -0,5]	[0,3 -0,4]
(5) Mycène		[0,1-0,2]	0,1	[0,3- 0,7]	[0,1-0,2]	[0,3-0,5]	[0,0-0,1]	0,1	0,1	0







- D'un point de vue qualitatif, les échantillons de l'ensemble des stations présentent une composition chimique homogène.

Ces composés se répartissent en 9 monoterpènes hydrocarbonés (2-5, 8, 9, 10,12-13), 9 monoterpènes oxygénés (11,14-21), 2 sesquiterpènes hydrocarbonés (22,23), 2 sesquiterpènes oxygénés (25,26) et 4 composés oxygénés non terpéniques (1, 6, 7, 24).

- D'un point de vue quantitatif, les composés majoritaires sont l' $\alpha$ -pinène (3) (27,4-59,2,0%) associé au 1,8-cinéole (11) (6,1- 31,3%). Une légère variation quantitative de ces deux composés majoritaires est observée d'une station à l'autre. Suivi dans une moindre proportion par le limonène (10) (24,3 à 24,3%), le p-cymène (9) (0,1 à 3,2%) et le  $\delta$ -3-carène (8) (0,2 à 1,6%).

## II. Activité pharmacologique du myrte d'Algérie

### 1. Activité antioxydante

Les antioxydants sont définis comme étant des substances qui peuvent retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs. Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposées, elles incluent le bêta-carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E, etc. ...

Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres.

#### 1.1. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

Il existe une grande diversité de méthodes physico-chimiques pour évaluer l'activité antioxydante des extraits naturels. Plusieurs méthodes s'intéressent à l'analyse des étapes distinctes du processus d'oxydation comme par exemple la mesure :

- a) Affaiblissement du substrat, et /ou la consommation de l'oxygène au cours de l'oxydation.
- b) La formation des produits d'oxydation.
- c) La capacité à piéger les Radicaux libres en différentes phases.

Citons quelques méthodes connues :

- ✓ Test DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl).



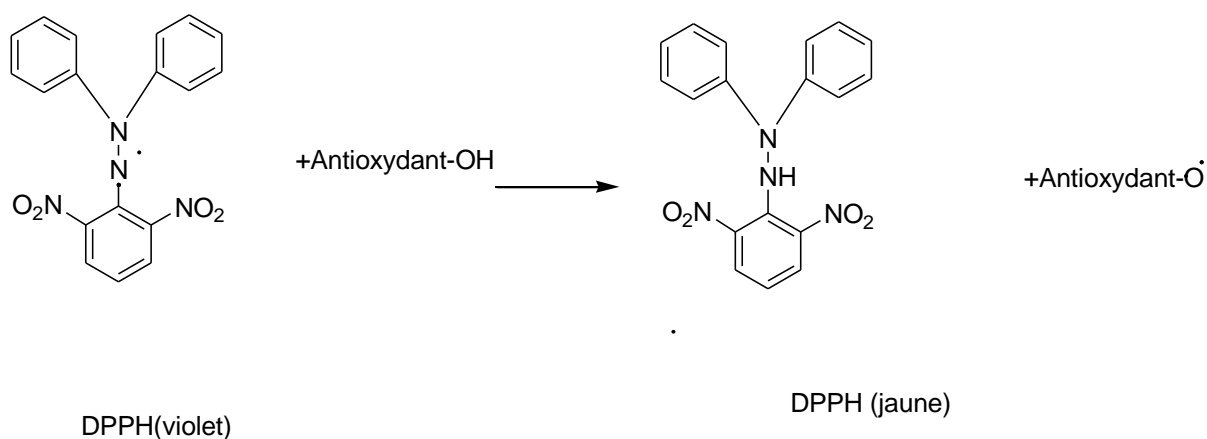
- ✓ Détermination de l'indice de peroxyde ( $I_p$ ).
- ✓ Méthode par résonance paramagnétique électronique (RPE) [2].

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester [3-4-5].

De point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH• est recommandé pour des composés contenant SH-, NH- et OH- groupes. Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Le test est largement utilisé au niveau de l'évolution des extraits hydrophiles en provenance de thé vert, des jus de fruits et de raisins, pépins et pulpes, très riches en composés phénoliques [6-7-8].

Le potentiel antiradicalaire d'une substance peut être évalué à l'aide d'une méthode colorimétrique en utilisant des radicaux de substitution tels que le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl appelé DPPH.

En effet, à température ambiante et en solution, le radical DPPH• présente une coloration violette intense. Son passage à la forme non radicalaire, après saturation de ses couches électroniques s'accompagne d'une disparition de la coloration violette.



**Figure III.3 :** Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

Par cette méthode, on considère que l'activité antioxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piègeurs des radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la réduction du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration dans la solution initiale qui devient jaune pâle. L'avancement de la réaction est suivi par spectrophotométrie à 517 nm.

## 1.2. Evaluation de l'activité antioxydante

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, deux approches sont appliquées : d'une part, la détermination de la réduction relative du radical DPPH<sup>•</sup> à un temps de référence ou la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH<sup>•</sup> et d'autre part, le suivi de la cinétique de la réduction.

Dans la première approche, l'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité anti-radicalaire en pourcentage %RSA (Radical Scavenger Activity), où l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant est reliée avec l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle) à un temps t :

$$\text{Inhibition du DPPH (\%)} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs t}) / \text{Abs contrôle} \times 100\%$$

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C), les antioxydants synthétiques BHT (butyl-hydroxy-toluène) ou le Trolox® (acide-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E.

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur de la CI<sub>50</sub>, sachant que l'IC<sub>50</sub> est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH<sup>•</sup>.

Selon les mesures effectuées sur les deux extraits butanolique et acétate d'éthyle de la plante *Myrtus communis* L. récolte de la région de Sidi Maarouf, à l'Est de la wilaya de Jijel. On calcule le pourcentage d'inhibition de DPPH selon la formule indiquée précédemment.

Les pourcentages d'inhibition sont présentés dans le tableau III.3.

**Tableau III.3 :** Taux d'inhibition des extraits BuOH et AcOEt du DPPH.

Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	1	10	50	100	200	500
% d'inhibition EBMC	35,58	50,72	65,24	92,63	94,29	94,91
% d'inhibition EAMC	0,72	46,57	71,36	92,42	94,91	95,33

**Extrait butanolique :****Détermination de l'IC<sub>50</sub>**

La détermination de l'IC<sub>50</sub> à partir du graphe (Figure III.4) à la concentration correspondante à 50% d'inhibition, ou bien, on peut la calculer à partir de l'équation du graphe suivant :

$$y = 18,567x + 14,625$$

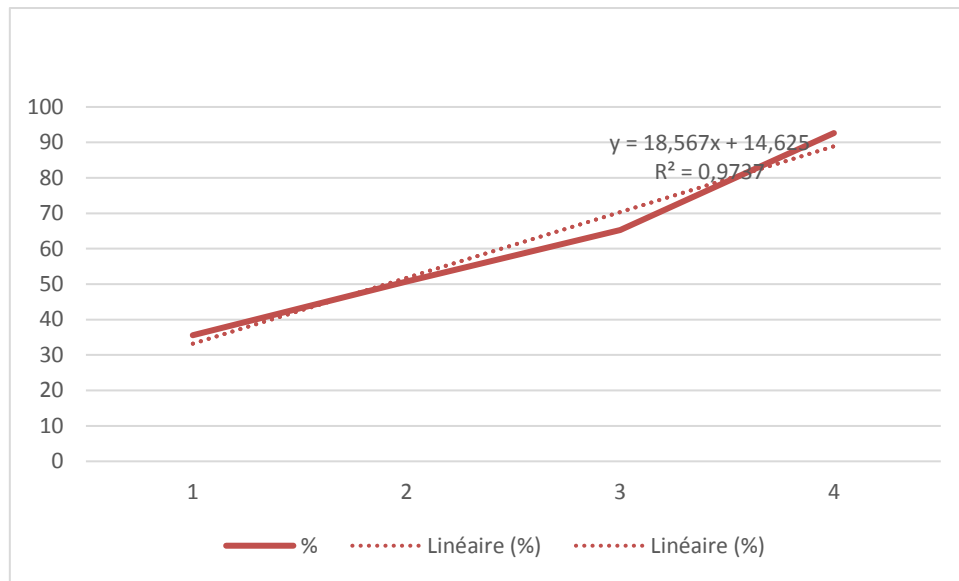
Alors pour  $y = 50\%$  l'IC<sub>50</sub> sera comme suite :

$$50 = 18,567x + 14,625$$

$$\text{Donc : } x = (50 - 14,25) / 18,567$$

$$\text{Donc : } \text{IC}_{50} = 1,90526 \text{ mg/ml.}$$

$$\text{IC}_{50} = 1905,26 \mu\text{g/ml}$$



**Figure III.4 :** Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait butanolique.

### Extrait d'Acétate d'éthyle :

#### Détermination d'IC<sub>50</sub>

L'IC<sub>50</sub> se détermine à partir de l'équation du graphe (Figure III.5) de la même manière :

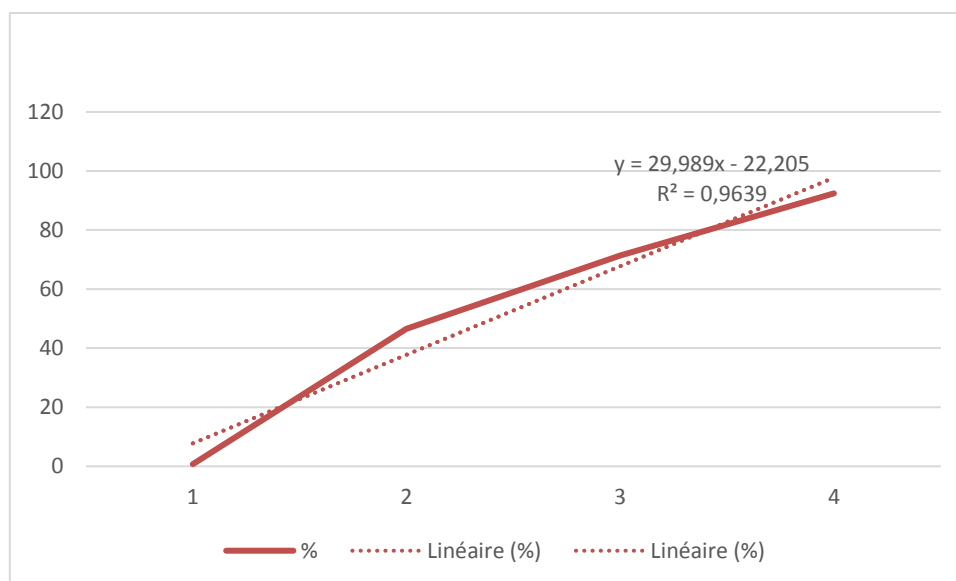
$$y = 29,989x - 22,205$$

Alors pour  $y = 50 \%$  l'IC<sub>50</sub> sera comme suite :

$$50 = 29,989x - 22,205$$

$$\text{Donc : } x = (50 + 22,205) / 29,989 = 2,407716 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Donc : IC}_{50} = 2407,716 \text{ } \mu\text{g/ml.}$$

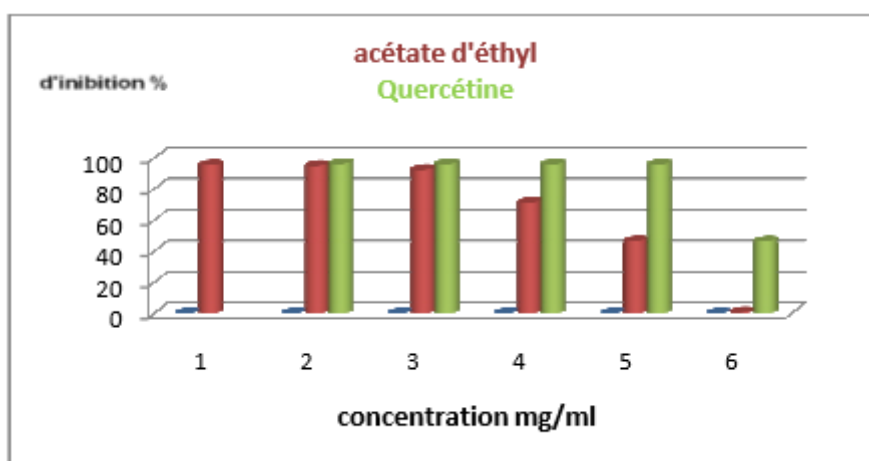


**Figure III.5 :** Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait Acétate d'éthyle.

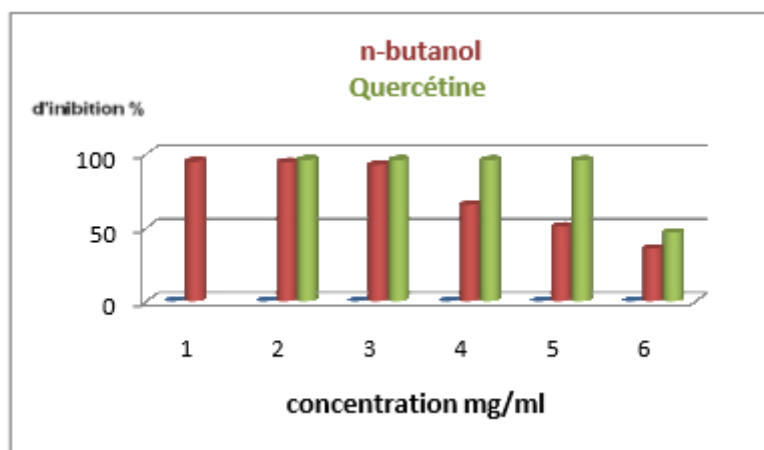
Une concentration de 2407,716  $\mu\text{g/ml}$  de l'extrait d'acétate d'éthyle, et de 1905,26  $\mu\text{g/ml}$  de l'extrait butanolique inhibe 50% de DPPH\*.

L' $\text{IC}_{50}$  de l'extrait d'acétate d'éthyle (2407,716  $\mu\text{g/ml}$ ) est plus grande que celle de l'extrait butanolique (1905,26 $\mu\text{g/ml}$ ), montrant que ce dernier possède une meilleure activité anti-radicalaire meilleure que celle de la vitamine E (25  $\mu\text{g/ml}$ ) et de celle de la quercétine (12  $\mu\text{g/ml}$ ).

Ces résultats, on permet de conclure que ces extraits possèdent une assez bonne activité antioxydante [2].



**Figure III.6 :** Histogramme représentatif du pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait acétate d'éthyle en présence de standard (quercétine).



**Figure III.7** : Histogramme représentatif de % d'inhibition du DPPH par l'extrait n-butanolique en présence de standard (quercétine).

## 2. Activité antifongique

L'activité antifongique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* a été testée sur 16 souches de champignons incluant des levures, des dermatophytes et des *Aspergillus*. Les concentrations minimales inhibitrices (MIC) et les concentrations minimales fongicides (MFC), sont présentées dans le **Tableau III.4**. Les deux échantillons ont montré des degrés variables d'inhibition avec des concentrations minimales inhibitrices de 0,64 à 2,5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Nous constatons une meilleure inhibition de la croissance de la levure *Cryptococcus neoformans* aussi bien sous l'effet de l'échantillon (MCI) que celui de l'échantillon (MCII) (CMI = 0,64  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Nous constatons également que les dermatophytes représentés particulièrement par *Microsporum canis* FF1, *Trichophyton rubrum* CECT 2794 et *Epidermophyton floccosum* FF9 se sont révélés sensibles à l'action de l'huile essentielle de *M. communis* des deux échantillons (CMI 0,64  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Au contraire, les quatre autres souches de dermatophytes, et les trois *Aspergillus sp.* testés ont montré une résistance vis-à-vis des échantillons testés, avec des CMI de 1,25 à 5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

Au regard de ces résultats, l'huile essentielle de *M. communis* a montré un effet antifongique plus prononcé vis-à-vis des dermatophytes et la levure *C. neoformans*, pour les deux échantillons MCI et MCII. Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices sont inférieures à celles décrites dans la littérature. En effet, l'huile essentielle du myrte d'Iran (1,8-cinéole 36,1%,  $\alpha$ -pinène 22,5%, linalol 8,4%) testé sur 9 souches de *Candida* et 8 souches d'*Aspergillus* a montré des CMI(s) qui varient de 8 à 16  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . De même, un autre échantillon d'huile essentielle de *M. communis* d'Iran ( $\alpha$ -pinène 29,1%, limonène 21,5%, 1,8-

cinéole 17,9%, linalol 10,4%) est capable de tuer *Candida albicans*, avec une concentration minimale létale évaluée à 4 µL/mL.

**Tableau III.4 :** Résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *M. communis* L. des échantillons collectifs MCI et MCII sur les levures, les dermatophytes et les *Aspergillus*.

Souches	MCI		MCII		Fluconazole		Amphotéricine B	
	CMI <sup>†</sup>	CMF <sup>†</sup>	CMI <sup>†</sup>	CMF <sup>†</sup>	CMI <sup>††</sup>	CMF <sup>††</sup>	CMI <sup>††</sup>	CMF <sup>††</sup>
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	2,5	2,5	2,5	2,5	1	>128	N. T	N. T
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 13803	2,5	2,5	2,5	2,5	4	>128	N.T	N.T
<i>Candida krusei</i> H9	2,5	2,5	2,5	2,5	64	64-128	N.T	N.T
<i>Candida guilliermondii</i> MAT23	2,5	2,5	1,25	1,25	8	8	N.T	N.T
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 90018	2,5	5	2,5	5-10	<1	<1	N.T	N.T
<i>Cryptococcus neoformans</i> CECT 1078	0,64	0,64 -1,25	0,64	0,64	16	128	N.T	N.T
<i>Epidermophyton floccosum</i> FF9	0,64	0,64	0,64	0,64	16	16	N.T	N.T
<i>Microsporium canis</i> FF1	0,64	0,64	0,64	0,64	128	128	N.T	N.T
<i>Microsporium gypseum</i> CECT 2905	1,25	1,25	1,25	1,25	128	>128	N.T	N.T
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> FF7	1,25	1,25	1,25	1,25	16-32	32-64	N.T	N.T

Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale CECT 2958	1,25	1,25	1,25	1,25	128	≥128	N.T	N.T
Trichophyton rubrum CECT 2794	0,64	0,64	0,64	0,64	16	64	N.T	N.T
Trichophyton verrucosum CECT 2992	1,25	1,25	1,25	1,25	>128	>128	N.T	N.T
Aspergillus niger ATCC16404	2,5	>10	2,5	>10	N. T	N.T	1-2	4
Aspergillus fumigatus ATCC 46645	2,5	>10	2,5	>10	N.T	N.T	2	4
Aspergillus flavus F44	5	>10	5	>10	N.T	N.T	2	8

CMI : concentration minimale inhibitrice, MLC: concentration minimale létale

CMI<sup>†</sup> et CMF<sup>†</sup> ont été déterminées selon la méthode de la macrodilution et exprimé en  $\mu\text{L.mL}^{-1}$

CMI<sup>††</sup> et CMF<sup>††</sup> ont été déterminées selon la méthode de la macrodilution et exprimé en  $\mu\text{g.mL}^{-1}$

N.T: Non testé. <sup>(1)</sup>

### 3. Activité antibactérienne

#### 1. Effet antibactérien de l'huile essentielle de *M. communis* sur la croissance des bactéries pathogènes d'origine clinique

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des feuilles de myrte a été décrite aussi bien sur les bactéries que sur les champignons. Elle est variable selon la composition chimique, les méthodes utilisées et les souches étudiées.

L'activité de l'huile essentielle de myrte sur les bactéries gram positives et négatives a été décrite dans divers travaux. Les bactéries gram positive se sont révélées plus sensibles que les bactéries gram négatives. Nous citerons quelques exemples de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de myrte, de plusieurs origines et ayant des profils chimiques différents.

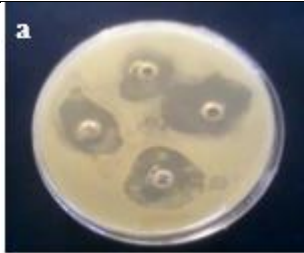
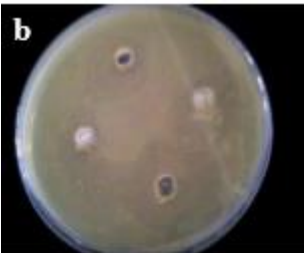





### ➤ Méthode de diffusion sur disque

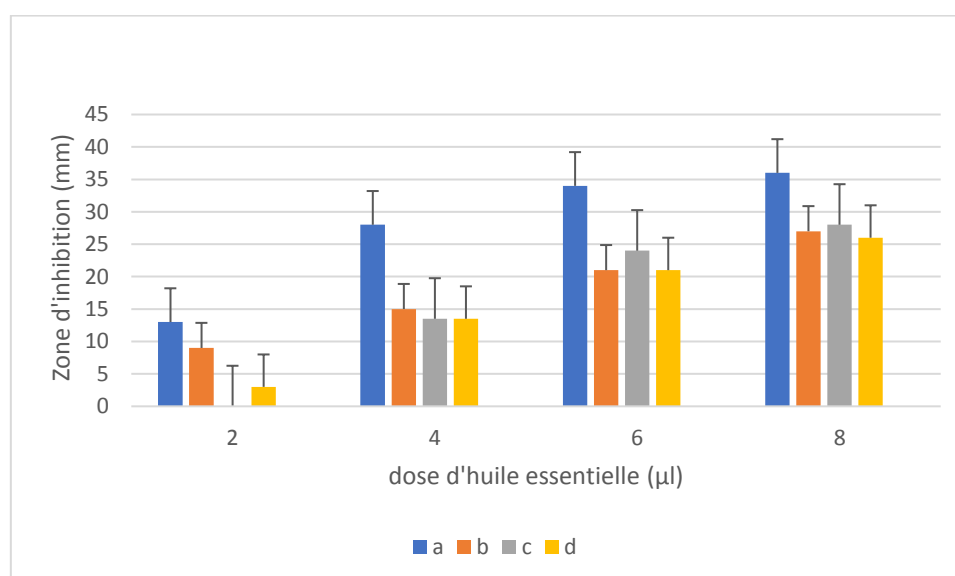
#### Principe

L'aromatogramme permet un choix judicieux, en adaptant la prescription d'essences à chaque syndrome infectieux. Comme l'antibiogramme, l'aromatogramme révèle aussi des sensibilités à certaines essences, dont le pouvoir antiseptique est totalement insoupçonné. A titre d'exemple, on peut citer les résultats d'un échantillon d'huile essentielle récolté de la forêt de Bissa (Chlef) et testé sur les souches résumées au tableau suivant ont été testés selon la méthode de diffusion sur disque. Différentes concentrations de l'HE (2, 4, 6 et 8  $\mu$ L par disque) ont été testées pour *S. aureus*, *Salmonella sp.*, *Proteus sp.* Et *Klebsiella sp.* et des concentrations de l'ordre de 5, 10, 15 et 20  $\mu$ L pour *E. coli*.

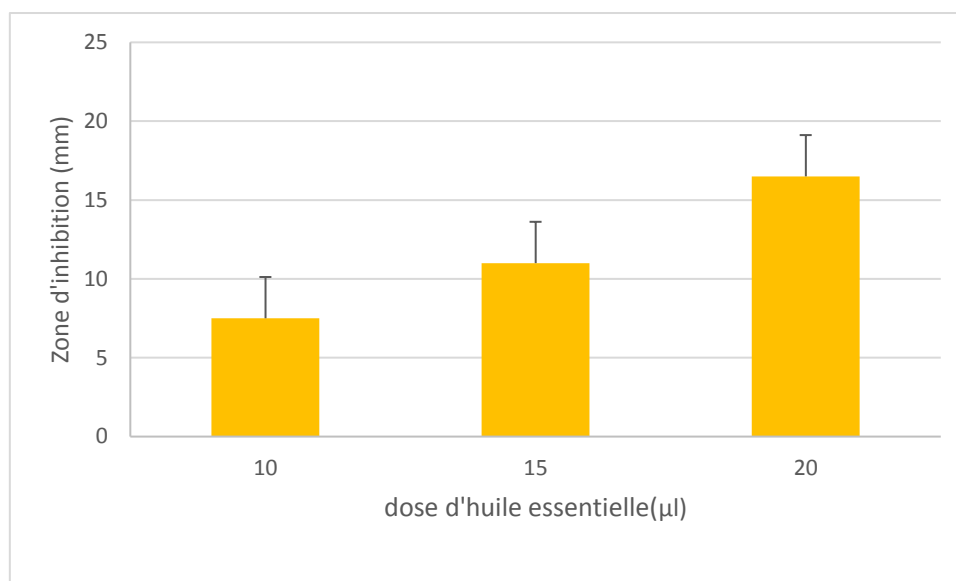
**Tableau III.5 :** moyennes des diamètres des zones d'inhibition en (mm) des HE des feuilles de *Myrtus communis* relatives aux souches microbiennes selon la méthode de diffusion sur disque.

La souche	Type de bactérie	La concentration ( $\mu$ L/disque)	Zone d'inhibition (mm)	Aromatogramme
(a) <i>S.aureus</i>	Gram +	2 4 6 8	12,67 28 34 36,67	
(b) <i>Salmonella sp.</i>	Gram -	2 4 6 8	9,33 15 21 27,67	
(c) <i>Proteus sp.</i>	Gram -	2 4 6 8	Aucune inhibition 13,5 24 28	

(d) <i>Klebsiella sp.</i>	Gram -	2	2,67	
		4	13,5	
		6	21	
		8	26,67	
(e) <i>E. coli</i>	Gram -	8	Aucune inhibition	
		10	7,5	
		15	11	
		20	16,5	



**Figure III.8 :** Effet de l'huile essentielle des feuilles de *M. communis* extraite durant la floraison sur la croissance des souches bactériennes cliniques par la méthode de diffusion en disque.



**Figure III.9 :** Effet de l'huile essentielle des feuilles de *M. communis* extraite durant la floraison sur la croissance d'*E. coli* d'origine clinique par la méthode de diffusion en disque.

La lecture des zones d'inhibition (**Tableau III.6**) a été faite selon Basaran et Ahmet (2004).

**Tableau III.6 :** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle avec la méthode de l'aromatogramme (Basaran et Ahmet, 2004).

Diamètre des zones d'inhibition	< 8 mm	8 – 13 mm	> 14 mm
Activité de l'HE	Inactive	Activité intermédiaire	Activité supérieure

Pour des doses d'huile essentielle testées (2-8 μl/disque), les zones d'inhibition mesurées étaient de (12,67-36,67 mm) pour *S. aureus*, *Salmonella sp.* (9,33-27,67 mm) et (2,67-26,67 mm) pour *Klebsiella sp.* Alors qu'aucune inhibition n'a été observée pour *Proteus sp.* Et *E. coli* aux plus petites doses (2 μl et 5 μl/disque, respectivement). Les zones d'inhibition signalées pour ces derniers étaient de (13,67-28,33 mm avec des doses allant de 4 à 8 μl/disque) pour *Proteus sp.* et (7,33-16,67 mm avec des doses allant de 10-20 μl/disque) pour *E. coli*.

Des résultats comparables ont été rapportés par Cherrat et al. (2014). A une dose de 20 μl d'HE/disque (HE dissoute dans 3% de l'éthanol absolu), la croissance de *S. aureus* a été



fortement inhibée (24.2 mm) comparativement à celle d'E. coli (7.4 -10.8 mm) et de Salmonella senftenberg (11.7 mm) [9].





### III. Les tests phytochimiques






Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante par les réactions qualitatives de caractérisation.





Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les feuilles de plante étudiée *Myrtus communis* L. récoltée à la région de Jijel épuisés par l'eau, l'éthanol et l'acide sulfurique sont regroupés dans le tableau III.7 [2].

**Tableau III.7 :** Résultats des tests phytochimiques effectués sur les feuilles du *Myrtus communis* L [2].

La classe recherchée	Tests	Réactions	Photographié des résultats
Flavonoides	<b>Test de Wilstater:</b> Extrait m étherique + HCl Cc.et Mg	Coloration rouge	
	<b>Test de Wilstater modifié:</b> Extrait chloroformique + Alcool Isoamylique	Coloration rouge	

	<b>Test de Bate Smih:</b> Extrait méthanolique + HCl Cc. Baine marie 30 Min	Coloration rouge	
Quinones	Extrait etherique + NaOH	L'absence de colorations jaune, rouge ou violet.	
anthraquinone	Extrait méthanolique et eau distillée + KOH	L'absence de la coloration rouge	
tanins	Extrait méthanolique + gélatine à 1%	Brun verdâtre (tanin catéchiques)	

	Extrait méthanolique + gélatine salé (gélatine à 1% +NaCl à 10%)	Brun verdâtre (tanin catéchiques)	
	Extrait méthanolique + Fe Cl 3	Bleu noire (tanin gallique)	
Anthocyanes	Extrait methanolque + HCl Cc. (Incubation 30 min)	Réaction négative	
saponoside	Agitation	Réaction négative	
Alcaloïdes	Extrait méthanolique + Mayer	Réaction négative	

coumarines	2 g de matériel végétal+10 ml de CHCl <sub>3</sub> (chauffage) CCM à 365 nm	Réaction négative	
stérols et triterpènes	<b>Test de Salkawski:</b> Extrait chloroformique + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (incliné à 45°)	Coloration rouge (Stérols insaturés).	
	<b>Test de Libermann-Burschard:</b> Extrait chloroformique +H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Cc. (pendant 1 h)	bleu-vert (Stéroïdes). rouge-violet à rose (triterpène).	
	Extrait chloroformique + Acide pécrique	Coloration orange (stéroïdes lactonique).	

La mise en évidence des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de feuilles est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge intense en contact avec les tournures de Mg.

Le criblage phytochimique des quinones a montré que l'espèce étudié *Myrtus communis* L. ne contient pas des quinones.

Le réactif KOH utilisé pour la détection des Anthraquinones a démontré que toutes les feuilles de *Myrtus communis* L. ne contiennent pas des anthraquinones.

Les tanins sont présents avec une intensité importante dans l'extrait méthanoliques. Sa présence est confirmée par une réaction positive avec la solution de chlorure ferrique en donnant une coloration bleu verdâtre dans les feuilles, il s'agit donc des tanins catéchiques.

Les tests phytochimiques réalisés montrent l'absence des anthocyanes et les saponosides dans les feuilles de *Myrtus communis* L.

L'absence totale des alcaloïdes dans les feuilles de *Myrtus communis* L.

L'apparition d'une fluorescence sous une lumière ultra-violet indique la présence des coumarines uniquement dans les tiges mais à une faible intensité.

Le test positif des stérols et triterpènes montre leurs présence dans les plante avec une apparition d'un anneau rouge brun et une couche surnageant de couleur verte.

Les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques de *Myrtus communis* L. ont démontré la présence des flavonoïdes, des tanins et des coumarines ce qui est comparable aux résultats obtenus par celle de la plante de Jijel.

De même les tests phytochimiques réalisés ont montré également que les feuilles de *Myrtus communis* L. contiennent des tanins, des flavonoïdes et des huiles volatiles.

## **Conclusion**

La diversité de composition chimique de *Myrtus communis* est grande tout autour de l'Algérie. Dans cette grande diversité, le myrte d'Algérie n'apparaît pas comme particulièrement singulier par sa composition chimique en huile essentielle de feuilles. L'huile d'Algérie présente l'avantage d'être de composition et de rendement homogène. Ces huiles de feuilles se caractérisent par une forte concentration en  $\alpha$ -pinène (jusqu'à 60%), une teneur en 1,8-cinéol de l'ordre de 30% et d'un peu de limonène (environ 10%).



## Référence :

- [1] Bouzabata, A., *Contribution a l'étude d'une plante médicinale et aromatique myrtus communis l ( thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie) Récupéré de l'archive de HAL Id: tel-01493134 <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01493134>. 2015.*
- [2] Merabet, CH., *Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de l'espèce: Myrtus communis L. Mémoire de Master 2: Métabolisme secondaire et molécules bioactives. Université des Frères Mentouri Constantine. 68 p 2015.*
- [3] Tabart J.; Kevers C.; Pincemail J.; Defraigne J.; Dommes J. *Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. Food Chemistry, 113, 1226-1233 2009.*
- [4] de Gaulejac Saint-Cricq, Provost N.; Vivas N. *Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 425-431. 1999.*
- [5] Hua Li, Xiaoyu Wang, Peihong Li, Yong Li, Hua Wang. *Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (Vitis vinifera) Seed Powder Assessed by Different Methods. Journal of Food and Drug Analysis, 16 (6), 67-73. 2008.*
- [6] Salah N.; Miller N.J.; Paganga G.; Tijburg L.; Bolwell, G.P.; Rice-Evans C.A. *Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. Archives of Biochemistry and Biophysics, 339-346. 1995.*
- [7] Yi-Zhong Cai, Mei Sun, Jie Xing, Qiong Luo, Harold Corke. *Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. Life Sciences, 78(25), 2872-2888. 2006.*
- [8] Hatzidimitriou EF.; Nenadis, N.; Tsimidou, M.Z.; *Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions. Food Chemistry, . 105, 1504-1511 2007.*
- [9] Henna, A.; *Extraction et étude de l'activité biologique des huiles essentielles du Myrte (Myrtus communis L.). Thèse de doctorat. Université de Mostaganem. 2016.*

# Conclusion

### Conclusion générale

Le myrte est donc un arbrisseau qui mesure entre 1 et 3 mètres. Son feuillage est persistant et ses fleurs sont blanches, elles donneront des baies bleu-noirâtres. A partir de ces baies, sont produites des liqueurs riches en composés phénoliques. Le myrte possède également un grand nombre de structures sécrétoires qui renferment son huile essentielle.

Nous montrons dans cette thèse que d'un point de vue chimique, l'huile essentielle de myrte se caractérise par une structure homogène dans différentes régions d'Algérie. Ces huiles sont riches en  $\alpha$ -pinène et en 1,8-cinéol et d'un peu de limonène.

La répartition statistique des compositions, montre qu'il n'existe pas de relation entre la composition chimique et le lieu de récolte. La variabilité est donc indépendante des conditions pédoclimatiques.

L'évaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle nous a montré :

Les bactéries Gram - testées (*Salmonella sp.*, *Proteus sp.* et *Klebsiella sp.*) présentent une sensibilité croissante avec l'augmentation du volume d'HE testé.

*E. coli* est plus résistante et nécessite l'addition de volumes supérieurs (5 à 20  $\mu$ L).

*S. aureus*, bactérie Gram+, s'est montré la plus sensible (36,67 mm/8  $\mu$ L vs 16,67/20  $\mu$ L).

On effectuant les tests phytochimiques, On peut conclure que les feuilles étaient particulièrement riches en tanins et flavonoïdes.

Les *myrtus communis*, qui se révèlent importants dans la recherche de l'intérêt thérapeutique du myrte, n'ont pas été recherchés dans le fruit de myrte d'Algérie.

# Lexique

### Lexiques

**Alcaloïde** : molécule cyclique comportant un atome d'azote ce qui la rend basique.

**Antibactérien** : qui s'oppose au développement des bactéries.

**Antibiotique** : qui s'oppose au développement de certains micro-organismes, ou les détruit.

**Antifongique** : ce dit d'un médicament qui agit contre les infections provoqué par champignons ou les levures parasites.

**Anti-infectieuse** : une substance permettant de lutter contre l'infection.

**Anti-inflammatoire** : qui fait dégonfler et diminuer l'irritation.

**Antiparasitaire** : on dit parasiticide un produit chimique capable de détruire les parasites.

**Antiseptique** : sont des substances ayant pour détruire les germes pathogènes.

**Aromathérapie** : l'utilisation des huiles essentielles obtenue grâce à divers procédés d'extraction.

**Ayurvêda** : est une forme de médecine traditionnelle non conventionnelle originaire de l'Inde également pratiquée dans d'autres parties du monde reste le plus ancien à ce jour traditions vivantes. Avec base philosophique, expérientielle et expérimentale solide.

**Centrifugation** : La centrifugation est un procédé de séparation des composés d'un mélange en fonction de leur différence de densité en les soumettant à une force centrifuge. Le mélange à séparer peut être constitué soit de deux phases liquides, soit de particules solides en suspension dans un fluide. L'appareil utilisé est une machine tournante à grande vitesse appelée centrifugeuse. Cette technique ne fait pas partie des opérations unitaires en génie des procédés.

**Composé thermolabile** : En parlant d'une substance qui subit des modifications ou qui perd de ses propriétés lorsque se produit une élévation de température comme les protéines complexes (toxines et autres).

**Concrète** : La concrète est un extrait végétal solide ou semi-solide, à odeur caractéristique, obtenu à partir de la matière première fraîche par extraction au moyen de solvant non aqueux (par exemple, l'hexane), suivie de l'élimination du solvant par un procédé physique, le plus

souvent par volatilisation. Elle a l'aspect d'une cire opaque ou d'une pâte à modeler parfumée.

**Coumarine** : molécule aromatique hétérocyclique oxygéné de formule 1-benzopyran-2-one, isomère de la chromone. C'est le squelette de base des molécules de la famille des coumarines.

**Cycle de TCA** : Le cycle TCA est une voie centrale dans le métabolisme de sucres, lipides et acides aminés, Les enquêtes originales du cycle TCA s'est déroulé dans le cadre de l'oxydation métabolisme, et il est souvent présenté dans une perspective simpliste d'une voie cyclique oxydant constamment l'acétyl fraction d'acétyl-CoA en CO<sub>2</sub>, générant du NADH et FADH<sub>2</sub>, qui alimente en électrons la chaîne respiratoire.

**Flavonoïdes** : molécule appartenant à la famille des polyphénols (constitués de plusieurs groupes phénols).

**Infusion** : action de faire macérer une plante aromatique dans un liquide bouillon.

**L'absolue** : est le produit obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par extraction à l'éthanol, à température ambiante. L'alcool est éliminé par distillation. Tous les termes définis, plus haut, correspondent à des produits qui entrent dans les domaines de la parfumerie, de la cosmétique et de la pharmacie. Pour l'agroalimentaire, on utilisera les termes d'épices et d'arômes qui sont des drogues à huiles essentielles utilisées pour leurs caractères organoleptiques.

**Myrtacées** : famille de plantes dicotylédones faisant partie de l'ordre des astérales.

**Radicaux libres** : Les radicaux libres sont définis comme des molécules ayant un électron non apparié, ce qui leur confère une grande instabilité et une forte réactivité (Gilbert, 2000). Les radicaux libres d'oxygène sont le superoxyde, hydroxyle, peroxyde (RO<sub>2</sub>•), alcoxy (RO•) et hydroperoxyde (HO<sub>2</sub>•). L'oxyde nitrique et le dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>•) sont deux radicaux libres de l'azote.

**Volatil** : Qui tend à s'évaporer facilement.

# Annexe

## Annexe :

### La méthode de diffusion sur disque :

#### Choix des bactéries :

Les bactéries étudiées sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 h à 37°C. des bactéries à Gram+ (*S. aureus*) et des bactéries à Gram- (*Salmonella sp.*, *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.* et *E. coli*) ont été testées.

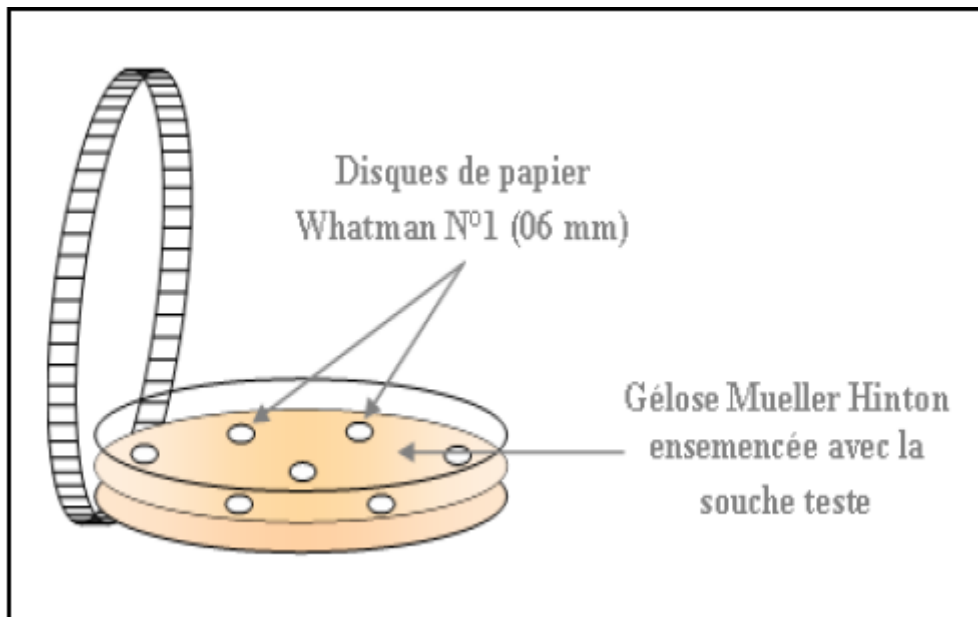
#### Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure des bactéries sur milieu d'isolement (gélose nutritive) ayant au maximum 24h, on racle à l'aide d'une pipette pasteur scellée quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Ensuite, on décharge la pipette pasteur dans 10 mL d'eau physiologique stérile et on homogénéise la suspension bactérienne ; son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland qui correspond à 108 UFC/mL, puis diluer pour obtenir un inoculum à 106UFC/mL .

On a utilisé la méthode de l'antibiogramme par diffusion à partir de disques imprégnés d'HE (2, 4, 6 et 8 µL par disque) ont été testées pour *S. aureus*, *Salmonella sp.*, *Proteus sp.* Et *Klebsiella sp.* et des concentrations de l'ordre de 5, 10, 15 et 20 µL pour *E. coli* . Les milieux coulés en boîte de Pétri sontensemencés par écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne de 106 UFC/mL. Un volume correspondant à 10 µL d'HE est déposé sur des disques de papier Whatman stériles de 6 mm de diamètre. En parallèle, des témoins sont utilisés afin de vérifier la croissance des différentes souches. Les boîtes de Pétri sont maintenues pendant 30 min à une température de 25-30 °C et sont ensuite incubées à 37°C/24 h. L'activité antibactérienne est appréciée par la mesure, à l'aide d'une règle, des diamètres des zones claires (mm) qui se forment autour des disques (Ø du disque est inclus).





## **Résumé:**

L'extraction des huiles essentielles (HE) des feuilles *Myrtus communis* L., récolté de différentes régions nord de l'Algérie a été réalisée par hydrodistillation et le rendement était variable en fonction de la région. La composition chimique des HE extraites a été déterminée par l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse (CG) et du couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/MS). La comparaison de résultats obtenus ont permis de conclure l'homogénéité de la composition chimique des HE de feuilles de myrte pour toutes ces régions ; l'huile essentielle d'Algérie, est riches en  $\alpha$ -pinène et en 1,8-cinéol.

L'HE extraite durant la floraison possédait un pouvoir antimicrobien remarquable.

Les bactéries Gram - testées (*Salmonella sp.*, *Proteus sp.* et *Klebsiella sp.*) présentent une sensibilité croissante avec l'augmentation du volume d'HE testé. *E. coli* est plus résistante et nécessite l'addition de volumes supérieurs (5 à 20  $\mu$ L). *S. aureus*, bactérie Gram+, s'est montré la plus sensible (36,67 mm/8  $\mu$ L vs 16,67/20  $\mu$ L).

Le test du pouvoir antioxydant a également permis de valider l'action du myrte sur les radicaux libres DPPH (90%).

**Mots clés :** *Myrtus communis* L.- huile essentielle - composition chimique - activité antimicrobienne – antifongique - antioxydant.

## **Summary:**

The extraction of essential oils from *Myrtus communis* L. leaves, harvested from different regions in northern Algeria was carried out by hydrodistillation and the yield was variable depending on the region. The chemical composition of the extracted EOs was determined by the use of coupling gas chromatography (GC) and mass spectrometry (GC / MS). The comparison of the results obtained allowed to conclude the homogeneity of the chemical composition of the EO of myrtle leaves for all these regions; Algerian essential oil is rich in  $\alpha$ -pinene and 1,8-cineol.

The EO extracted during flowering possessed remarkable ability of antimicrobial power.

Gram- tested bacteria (*Salmonella sp.*, *Proteus sp.* And *Klebsiella sp.*) Show increasing sensitivity with increasing volume of EO tested. *E. coli* is more resistant and requires the addition of larger volumes (5 to 20  $\mu$ L). *S. aureus*, Gram + bacteria, was shown to be the most sensitive (36.67 mm / 8  $\mu$ L vs 16.67 / 20  $\mu$ L).

The antioxidant power test also validated the action of myrtle on free radicals DPPH (90%).

**Key words:** *Myrtus communis* L.- essential oil – chemical composition - antimicrobial activity – antifongic - antioxydant.

## **ملخص:**

تم استخلاص الزيوت الأساسية من أوراق *Myrtus communis* L. ، التي تم حصادها من مناطق مختلفة في شمال الجزائر عن طريق التقطير وكان المردود متغيراً حسب المنطقة. تم تحديد التركيبة الكيميائية للزيوت المستخرجة من خلال استخدام كروماتوجرافيا الغاز / قياس الطيف الكتلي (GC / MS). سمحت مقارنة النتائج التي تم الحصول عليها باستنتاج تجانس التركيبة الكيميائية للزيوت الأساسية لأوراق الأس لجميع هذه المناطق؛ الزيت العطري الجزائري غني بـ  $\alpha$ -pinene و 1,8-cinéole. يمتلك الزيت الأساسي المستخرج أثناء الإزهار قدرة ملحوظة في التصدي للميكروبات.

البكتيريا المختبرة - Gram (*Proteus sp.* ، *Klebsiella sp.* و *Salmonella sp.*) تظهر حساسية متزايدة مع زيادة حجم الزيوت الذي تم اختبارها. تعتبر *E. coli* أكثر مقاومة وتتطلب إضافة كميات أكبر (من 5 إلى 20 ميكرو لتر). وقد تبين أن بكتيريا *S. aureus* ، Gram + هي الأكثر حساسية (36.67 ملم / 8 ميكرو لتر مقابل 16.67 / 20 ميكرو لتر) أثبت اختبار الطاقة المضادة للأوكسدة أيضاً صحة تأثير الأس على الجذور الحرة DPPH (90%)

**الكلمات المفتاحية :** *Myrtus communis* L. – الزيت الأساسي – التركيبة الكيميائية – مضادات الميكروبات – المضادة للفطريات – المضادة للأوكسدة .