

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par : Leghouini Amina

Rehal Maroua

Tebiche Feyrouz

Intitulé

**Les huiles essentiels : composition , extraction
et utilisation**

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. Ariech Mounira	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Président
Dr. Guetouache Mourad	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examineur
Dr. Boubaker Hafsa	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examineur

Année universitaire : 2021 /2022

REMERCIEMENTS

Nous remercions tout d'abord DIEU qui m'a donné le courage, la patience et la santé pour suivre et accomplir ce travail.

Ma familles et mes amis: pour me soutien moral et matériel.

Mon encadreur Dr Mounira Ariech maître de conférence à Université de Mohamed Boudiaf M'sila d'avoir accepté de guider mon thème et pour sa patience et son courage pour accomplir mon modeste travail.

Aux membres de jurys, pour avoir accepté d'évaluer notre travail de recherche.

Merci infiniment à ceux qui m'ont aidé de près ou de loin durant ce travail ainsi qu'à l'ensemble des professeurs qui m'ont orientée.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

A le personne le plus chère dans le monde, la lumière de ma vie, la source de tendresse, celle qui a sacrifié et souffert les plus belles années de sa vie pour me voir un jour réussir :

« Mon cher père LEGHOUINI TAYEB»

A celle qui le plus noble qui par son courage a consacré tous ses efforts, et ses moyens pour m'aider à accomplir ce mémoire, et pour me faire réussir

« Ma mère LEGHOUINI BESMA»

**A mon mari qui m'a beaucoup encouragé dans mes études universitaires :
"SAIB AHMAD"**

A mes petits-enfants, la prunelle de mes yeux : LINA , IYAD.

A ma grande mère qui me soutient toujours : NOURI SAADA.

A mes très chères sœurs : DJAMILA, FATIMA, AYA.

A mon très chère frère : AMINE.

Sans oublier mes chères amies : MAHMOUDI RAHIL et LATOUI SAADIYA et mon binômes dans ce travail: MARWA et FAIROUZ.

A mes Chers professeurs surtout mon encadreur Dr MOUNIRA ARIECH et toutes mes amies en 2ème année master promotion 2020/2021.

Amina

DEDICACE

À vous, mon Seigneur, je dédie mon travail afin qu'il soit ne serait-ce qu'un petit enregistrement dans mon journal de travail.

A celui qui a transmis le message et conduit la confiance au Prophète de la Miséricorde et de la Lumière des Mondes, Muhammad, que les prières et la paix de Dieu soient sur lui

A qui je porte son nom avec fierté, A mon support dans ma vie, qui m'a appris m'a supporté et ma dirigé vers la gloire... mon cher père

A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espairs, à mon ange dans la vie, au sourire de la vie et au secret de l'existence, à celui dont la supplication a été le secret de ma réussite à la bien-aimée la plus précieuse, ma mère bien-aimée.

A ma chère grand-mère Kharchi Keltoum.

A mon cher et unique frère, Sidali, sa femme rebiha et sa fille chahd..

À ma chère sœur Yasmina, son mari Abd el Hafid et ses deux filles, Aridj el Jannah et Alaa el Rahmane

Aux cœurs sincères mes sœurs Nesrine, Hind et Hana.

A toutes ma familles

A mes chères amies Kenza , Amina , Soumia, Sabrine, Imane, Safaa, Hasna et Nadjma.

Maroua

DEDICACE

**Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous Avoir a permis
d'exploiter les moyens disponibles à fin de accomplir
ce modeste travail.**

**J'adresse mes plus sincères remerciements à mon encadreur Dr Mounira
Ariech qui m'a encadrée et dirigée avec une grande rigueur scientifique , sa
disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé nous ont
permet de réaliser ce travail.**

**Sans oublier Dr Ahlem Guettouchi qui m'a aussi donner coup de main.
Un grand merci collègue des laboratoires et département de biochimie et
microbiologie et mes amies Samia et Amina.**

**Aussi je dédie ce travail à la famille Tebiche ; surtout ma chère mère
mes frères et mes sœur Nassima ;Malika ;Ourda et tout le monde dans ma
famille de près ou de loin.**

Sommaire

Sommaire

Résumé.....	i
ملخص	ii
Abstract.....	iii
Listes des tableaux.....	iii
Liste des figures.....	iv
Liste des abréviations	v
Introduction.....	1

Chapitre I. Plantes aromatiques et médicinales

I.1. Plantes médicinales	3
I.2. Aromathérapie.....	3
I.3. Plantes aromatiques et médicinales en Algérie.....	3
I.4. Plantes riches en huiles essentiels	4
I.5. Grandes familles des plantes riches en huiles essentiels	5
I.5.1. Famille de lamiacées	5
I.5.2. Famille de Rutaceae	8
I.5.3. Famille de Myrtaceae	12

Chapitre II. Généralités sur les huiles essentielles

II.1. Définition	16
II.2. Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante	16
II.3. Composition chimique des huiles essentielles.....	16
II.3.1. Terpènes.....	17
II.3.2. Composés aromatiques	19
II.4. Biosynthèse des HEs	19
II.4.1. Biosynthèse des terpènes	19
II.4.2. Biosynthèse des phenylpropanoïdes.....	22

Sommaire

II.5.	Activités biologique des huiles essentielles.....	22
II.5.1.	Propriétés antibactériennes.....	22
II.5.2.	Propriétés antifongiques.....	23
II.5.3.	Propriétés antioxydantes.....	24
II.6.	Utilisation des huiles essentiels.....	24
II.7.	Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles.....	25
II.8.	Identification et séparation des huiles essentielles.....	25
II.9.	Principaux domaines d'application des huiles essentiels.....	25
II.9.1.	Aromathérapie.....	25
II.9.2.	Agro-alimentaire.....	26
II.9.3.	Cosmétologie et parfumerie.....	26
II.9.4.	Pharmacie.....	26
II.10.	Toxicité des huiles essentielles.....	27
II.11.	Conservation des huiles essentielles.....	27
Chapitre III. Méthodes d'extraction et analyse des huiles essentiels		
III.1.	Choix de la méthode d'extraction.....	28
III.2.	Méthodes d'extraction des huiles essentiels.....	29
III.2.1.	Extraction par Hydrodistillation.....	29
III.2.2.	Entraînement par la vapeur d'eau.....	30
III.3.	Extraction par solvants organiques.....	31
III.3.1.	Extraction par solvants volatils.....	31
III.3.2.	Extraction par solvants fixe.....	32
III.4.	Extraction à froid ou Expression mécanique.....	32
III.5.	Extraction par le CO2.....	33
III.6.	Hydodistillation par micro- ondes sous vide.....	34
III.7.	Méthodes de séparation et d'identification des huiles essentiels.....	35

Sommaire

III.8.	Techniques de séparation chromatographique	36
III.8.1.	CCM ou chromatographie sur couche mince :	36
III.8.2.	Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).....	37
III.8.3.	Chromatographie liquide	37
III.8.4.	Couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse(CPG/SM).....	39
III.9.	Méthodes d'identification structurale des huiles essentiels.....	39
III.9.1.	Spectroscopie UV	39
III.9.2.	Spectroscopie infrarouge (IR)	41
III.9.3.	La spectroscopie de masse	42
	Conclusion	45
	Références bibliographiques	46

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier les huiles essentielles volatiles et leurs méthodes d'extraction, parmi les méthodes les plus utilisées, on peut citer :

- Extraction par solvant organique.
- Extraction par solvant fixe (Soxhlet).
- Hydrodistillation.

Nous avons également abordé :

- Méthodes de séparation (CCP)
- Techniques d'analyse des huiles essentiels par UV et autres techniques.

Avant cela, nous avons donné des informations importantes sur certaines familles de plantes médicinales aromatiques riches en huiles essentiels volatiles, leurs localisations et leurs caractéristiques, notamment :

- Famille des Lamiacées
- Famille des Rutacées
- famille des Myrtacées

De plus, nous avons discuté de l'importance et des utilisations des huiles essentielles et de leurs propriétés physiques et chimiques, notamment dans le domaine pharmaceutique.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة الزيوت الطيارة الاساسية وطرق استخلاصها ومن بين الطرق والاكثر استعمالا هي :

-الاستخلاص بالمذيبات العضوية

-الاستخلاص بمذيب ثابت (سوكسلت)

- التقطير المائي

تطرقنا ايضا الى :

- طرق الفصل (CCP)

- طرق التحليل للزيوت العطرية بالأشعة فوق البنفسجية وتقنيات أخرى.

وقبل هذا اعطينا معلومات هامة على بعض عائلات النباتات الطبية العطرية الغنية بالزيوت الطيارة واماكن تواجدها

وخصائصها منها :

- عائلة Lamiaceae

- عائلة Rutaceae

-عائلة Myrtacées

بالإضافة الى تطرقنا الى أهمية واستعمالات الزيوت الاساسية والتعرف على خصائصها الفيزيائية والكيميائية خصوصا في الميدان الصيدلاني.

Abstract

The objective of this work is to study volatile essential oils and their extraction methods, among the most used methods are:

- Extraction by organic solvent.
- Extraction by fixed solvent (Soxhlet).
- Hydrodistillation.

We have also removed:

- Separation methods (CCP)
- Techniques of analysis of essential oils by UV and other techniques.

Before that, we have given important information about some families of aromatic medicinal plants rich in volatile essential oils, their locations and their characteristics, including:

- Lamiaceae family
- Rutaceae family
- Myrtaceae family

In addition, we discussed the importance and uses of essential oils and their physical and chemical properties, especially in the pharmaceutical field.

Listes des tableaux

Tableau 1. Activités biologiques de certaines espèces de la famille des Myrtacées..... 15

Tableau 2. Paramètres mise en oeuvre dans les opération d'extraction..... 28

Liste des figures

Figure 1. Les plantes aromatiques et médicinales les plus utilisés	5
Figure 2. Répartition géographique de la famille des Lamiacées dans le monde	6
Figure 3. Les caractéristiques morphologiques d'une lamiacée	7
Figure 4. Répartition géographique de la famille de Rutacées.	10
Figure 5. Les caractéristiques morphologiques d'une Rutacée	11
Figure 6. Diagramme traduire la nouvelle classification des Rutaceae.....	11
Figure 7. Répartition mondiale de la famille de Myrtaceae.....	13
Figure 8. Les caractéristiques morphologique d'une Myrtacée.....	13
Figure 9. Structure chimique de l'Isoprène	17
Figure 10. Structures des monoterpènes cycliques et acycliques.....	18
Figure 11. Quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentiels.	19
Figure 12. Biosynthèse de l'acétoacétylCoA.....	20
Figure 13. Biosynthèse de l'acide mévalonique	20
Figure 14. Schéma globale de la biosynthèse des terpènes par voie de l'acide mévalonique.	21
Figure 15. Schéma global de la biosynthèse des terpènes par voie du éthylérythritol phosphate	21
Figure 16. Exemple de biosynthèse de dérivés du phenylpropane.....	22
Figure 17. Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation	30
Figure 18. Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau	31
Figure 19. Schéma représentatif de l'extraction par pression.....	33
Figure 20. Schéma de principe de l'extraction au CO ₂ supercritique (CO ₂ SC).	34
Figure 21. Principe d'un spectroscope UV-Visible	40
Figure 22. Principe de spectroscope IR	42

Liste des abréviations

HEs: Huiles essentielles

MVA: l'acide mévalonique

l'ATP : Adénosine Triphosphate

PPI3: le pyrophosphate d'isopentén-3-yle

PPI2: le pyrophosphate de diméthylallyle

MEP : voie du méthylérythritol phosphate

UV: ultraviolet-visible

IR : infrarouge

RMN : résonance magnétique nucléaire

SFME : Solvent Free Microwave Extraction

HPLC: chromatographie liquide haute performance

CCM : Chromatographie sur couche mince

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

MS: Spectrométrie de Masse

RPC : chromatographie en rotation de phase

DIF: détecteurs à ionisation de flamme

DSM: détecteurs de spectrométrie de masse

Introduction

Introduction

Depuis longtemps, les populations humaines utilisent les éléments de leur environnement, en particulier les plantes. De nos jours encore et malgré les progrès spectaculaires accomplis dans les domaines scientifiques, une bonne partie de la population mondiale, jusqu'à 80% dans les pays en voie de développement, a recours aux plantes pour se soigner. (Mamadou,2014).

La nature est bien déterminée par ses composants qui assurent la continuité de la vie des espèces : humaine, animale et végétale. Cette dernière a participé à sauvegarder les deux espèces qui le précède. L'homme a investi les espèces végétales en : nutrition, médecine, économique et en produit cosmétique.

La richesse et la diversité des caractéristiques des plantes participantes à la production des huiles essentielles avec des compositions chimiques variées d'une région à l'autre et d'une plante à l'autre dans la même zone et même de même plante des différentes régions. (Rezzag et Zahi,2021)

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y poussent spontanément. A cette grande diversité floristique, s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes. En effet, malgré les progrès réalisés en médecine, plusieurs populations, notamment celles des campagnes et des régions rurales, ont recours aux plantes pour se soigner, soit par inaccessibilité aux médicaments prescrits par la médecine moderne, soit parce que ces plantes ont donné des résultats thérapeutiques très encourageants lors de leur utilisation. Le problème actuel c'est que la flore Algérienne, avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15 % endémiques, reste très peu explorée aussi bien sur le plan pharmacologique que photochimique selon (Zeghib, 2013).

De nombreux composés naturels isolés à partir de plantes ont démontré un large spectre d'activités biologiques. Parmi ces différents types de substances naturelles, les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales ont reçu une attention particulière comme agents naturels à grand potentiel pour la conservation des aliments. En outre, les huiles essentielles se sont avérées avoir divers effets pharmacologiques: comme antispasmodique, carminative, hépatoprotecteur, antiviraux, anticancéreux (Bowles, 2004; Lahlou, 2004) et

antioxydants (Viuda-Martos et al., 2011).

Ce mémoire a été organisé en trois chapitres , le première s'intéresse aux généralités sur les plantes médicinales et plus exactement aromatiques riches en huiles essentielles, et la deuxième partie

concernant les HE (historique, définitions, cadre réglementaire, critères fondamentaux de qualité, leurs activités, leurs toxicités, ainsi que les différentes voies d'administration des HES et leurs effet thérapeutique et pharmacologique).Enfin ,La troisième partie détaille les principales méthodes d'extraction et d'analyses d'HEs pour les utilisés dans leurs différentes domaine d'application.

Chapitre I

Plantes aromatiques et médicinales.

Chapitre I. Plantes aromatiques et médicinales

I.1. Plantes médicinales

On appelle plante médicinale toute plante, dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses renfermant de nombreux principes actifs (plus de 250) qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces principes actifs ont été étudiés et reproduits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments. Les listes de plantes médicinales sont relativement variables d'un pays à l'autre (**IESV, 2015; Boutefnouchet et al., 2020**).

En d'autres termes nous pouvons dire qu'une plante médicinale est une plante dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce, possède des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise. Au Moyen Âge, on parlait de "simples" (**Debuigne, 1974**).

Cependant, dans certains cas, l'utilisation des plantes brutes peut masquer l'effet des métabolites secondaires grâce à leur forte teneur en sucres ou à la faible dose utilisée, ce qui rend la purification et l'identification de ces substances indispensables pour révéler l'effet et mieux comprendre son mécanisme d'action (**Garcia-Gonzalez et al., 2008**).

I.2. Aromathérapie

L'aromathérapie est un terme grec, "Aroma" qui signifie Odeur et "Thérapie" qui signifie Soins (**Pacchioni, 2010**). Au 13^{ème} siècle, il y eut un grand élargissement de la pratique de la distillation des huiles, en extrayant une grande variété d'arômes, alors qu'en 17^{ème} siècle, l'utilisation d'extraits naturels a été abandonnée en raison de la découverte de substances chimiques. L'intérêt pour les HEs a été ravivé en 1928 grâce à René-Maurice Gatte fossé, qui a inventé le terme "Aromathérapie" et a découvert les propriétés curatives de l'HE de la lavande. L'Aromathérapie est l'utilisation des huiles essentielles, essences et hydrolats obtenus à partir des plantes aromatiques, pour un usage médical afin de soigner ou prévenir certaines pathologies. Elle associe donc les actes de se soigner et de se faire plaisir grâce à leur propriétés thérapeutiques et odorantes. En 1990, le livre "L'Aromathérapie Exactement" est publié, et dans lequel Daniel Pénoël et Pierre Franc homme ont rapporté les propriétés médicales de plus de 270 HEs et c'est le point de départ de nombreuses études (**Cimino et al., 2021**).

I.3. Plantes aromatiques et médicinales en Algérie

Avec une superficie de 2 381 741 km², l'Algérie est le plus grand pays riverain de la

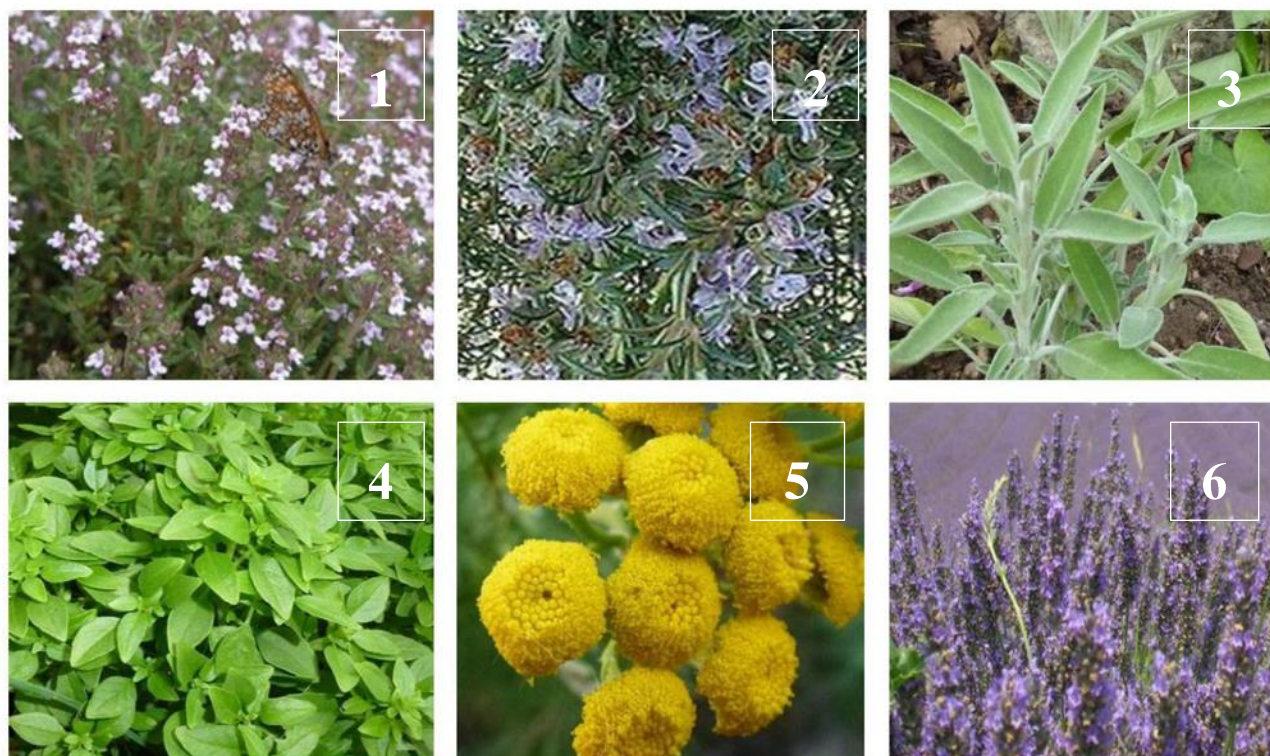
Méditerranée. Il est reconnu par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays. Ce sont des savoir-faire ancestraux transmis de génération en génération chez les populations, le plus souvent rurales. C'est un héritage familial oral, dominant en particulier chez les femmes âgées et illettrées. (Ilbert, *et al*; 2016)

Dans le Hoggar et en absence de médecins, dans certaines contrées isolées, les Touaregs se soignent avec les plantes médicinales et aromatiques dont ils connaissent le secret transmis de père en fils. En Kabylie, lorsqu'il y a de la neige et que les routes sont coupées, les montagnards utilisent des plantes médicinales et aromatiques pour se soigner (fumigation de feuilles d'eucalyptus contre la grippe). Dans la steppe pendant les transhumances, les nomades utilisent l'armoise blanche pour lutter contre les indigestions (Mokkadem, 2004).

La richesse de la flore algérienne est donc incontestable, elle recèle un grand nombre d'espèces classées en fonction de leur degré de rareté : 289 espèces assez rares, 647 espèces rares, 640 espèces très rares, 35 espèces rarissimes et 168 espèces endémiques (FAO, 2012)

I.4. Plantes riches en huiles essentielles

La plupart des végétaux renferment des HE, mais habituellement en quantité infime. Seules les plantes dites « aromatiques » en produisent en quantité suffisante. Ces plantes appartiennent, le plus souvent, aux familles des labiées (lavande, thym, sarriette, sauge, menthe, etc.), des ombellifères (cumin, carvi, anis, fenouil, etc.), des myrtacées (eucalyptus, cajepout, niaouli, etc.), des conifères (pin, cèdre, cyprès, genévrier, etc.), des rutacées ou hespéridées (citron, orange, bergamote, etc.), et des lauracées (cannelle, camphrier, sassafras, etc.) (Balz, 1986)



1.Thym (*Thymus*), 2. Iris (*Iris unguicularis*), 3.Sage (*Salvia officinalis*), 4.Basilic (*Ocimum basilicum*), 5.Tanaisie (*Tanacetum vulgare*), 6.Lavande (*Lavandula angustifolia*)

Figure 1. Les plantes aromatiques et médicinales les plus utilisées .

I.5. Grandes familles des plantes riches en huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont un mélange naturel, aromatique, volatil et complexe de composés produits sous forme de métabolites secondaires liquides par les plantes. Outre leurs fonctions premières de molécules de protection et de signalisation chez les plantes, les HE sont depuis longtemps exploitées par l'homme à des fins thérapeutiques. Jusqu'à présent, plus de 3000 HE sont extraites d'angiospermes principalement de Lamiaceae, Rutaceae, Myrtaceae, Zingiberaceae et Asteraceae familles. (Yeshi et Wangchuk, 2022)

I.5.1. Famille de lamiacées

I.5.1.1. Définition

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles. (Bouhaddouda, 2016).

La famille des Lamiaceae est l'une des premières familles à être distingués par les botanistes, les lamiacées sont des angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des Lamiales. Cette famille comprend environ 260 genres et plus de 6500 espèces (Spichiger et al., 2004).

Ce sont des plantes à fleurs herbacées ou arborescentes très parfumées (Silvant C, 2014). 40% des espèces de la famille des Lamiaceae contiennent des composés qui possèdent des propriétés aromatiques (Versek, 2007). En raison des huiles essentielles (HE) produites dans les glandes, les poils sont répartis sur les organes aériens de la végétation et de la reproduction (Marija et al., 2008).

Un très grand nombre de genres de la famille Lamiaceae sont riches en huiles essentielles, ce qui leur confère une importance économique et thérapeutique mais aussi, en composés phénoliques, tannins, flavonoïdes, iridoïdes glycolysés, quinones, coumarines, terpénoïdes, saponines et dans certains cas, des pyridines et des alcaloïdes pyrrolidiniques (Kuklinski, 2000; Naghibi et al., 2005).

I.5.1.2. Distribution dans le monde

Les Lamiacées comprennent environ 3000 espèces dont l'aire de dispersion est extrêmement étendue, mais avec une prépondérance pour les régions méditerranéennes : Thymus, lavandes, Romarins, qui caractérisent la flore des garrigues. Les Lamiacées sont rares, par contre, dans les régions arctiques et en haute montagne (Guignard et al., 2004). Les Lamiacées sont surtout des plantes méditerranéennes qui au Sahara ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne (Ozanda, 2004/1991).



Figure 2. Répartition géographique de la famille des Lamiacées dans le monde (Tablti et Tahdjerit, 2017)

I.5.1.3. Description botanique de la famille de lamiaceae

Plante herbacées, annuelle ou vivaces aromatiques, des sous-arbrisseaux et rarement des arbres :

• Appareil végétatif.

- Les tiges : sont généralement quadrangulaires.
- Les feuille : généralement simple, opposées et sans stipules.
- Les racines :pivotantes ramifiées. (Quezel et Santa, 1963).

• Appareil reproducteur

- Les inflorescences : groupées autour de l'axe et dans un même plan.
- Les fleurs :sont hermaphrodites zygomorphes.
- La corolle est souvent à deux lèvres, le calice bilabié formé de 5 sépales soudés.
- L'androcée possède 4 étamines dont deux sont longues et deux sont courtes.
- Le gynécée comporte deux carpelles soudés, chacune contenant un ovule.
- Formule florale : $5S+5P+4^E+2C$.
- Le fruit : enveloppé par le calice, il formé par 4 nucules contenant chacune 1 graine peu ou pas d'albuminée. (Abedini, 2013).

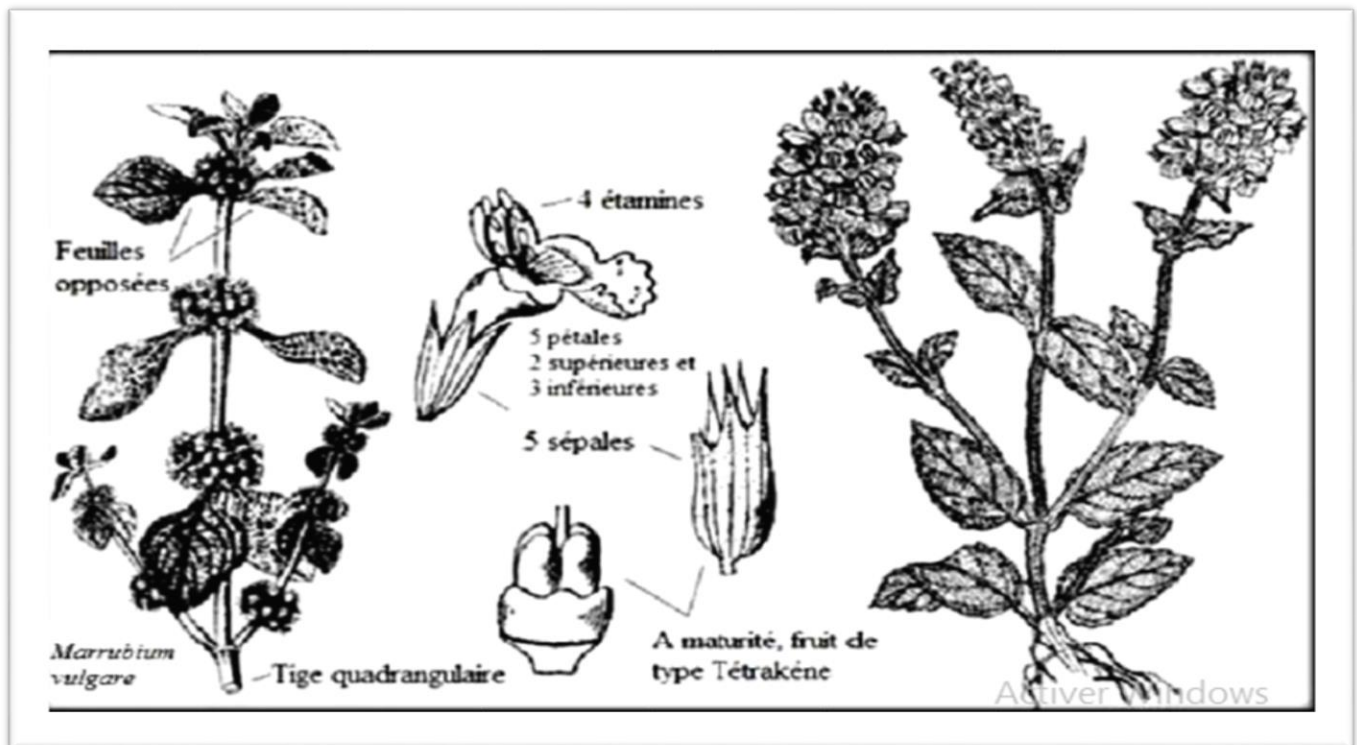


Figure 3. Les caractéristiques morphologiques d'une lamiacée

I.5.1.4. Classification

D'après la nouvelle classification de l'APG 3 (Angiosperms Phylogeny Group 3, 2009) (**Dupont et Guignard, 2012**), la famille des Lamiaceae est classée comme suit:

Règne : Planta

Embranchement: spermaphyte

Sous embranchement : Angiosperme

Classe: Dicotylédone

Sous classe : Gaméopétale

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

I.5.1.5. Utilisation et intérêts Economiques des Lamiacées

Cette famille est l'une des principales sources de légumes et de plantes médicinales dans le monde entier. Les espèces de *Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Coléus* et *Ocimum* sont utilisées comme des légumes, des arômes alimentaires et dans l'industrie du bois. (Plusieurs espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et moderne, comme *Lavandula*, *Teucrium*, *Thymus* et *Salvia* Plusieurs travaux, réalisés in vitro et in vivo, rapportent des résultats intéressants pour certaines molécules antioxydants d'origine végétale telles que les di catéchols, la curcumine, les tri terpènes penta cycliques et les flavonoïdes (Dont la pharmacopée traditionnelle africaine, les plantes de la famille Lamiaceae sont utilisées comme diurétique, anti-syphilitique, anti-diarrhéique, cicatrisante, antiseptique et dans le traitement de nombreuses affections telles que les problèmes intestinaux ou encore le météorisme (ballonnement du ventre, dû à des gaz). (**Stankovic, 2020**).

I.5.2. Famille de Rutaceae

I.5.2.1. Définition

Les rutacées sont des plantes généralement ligneuses et à feuilles en principe composé pennées [Guy,1979]. Ce sont des plantes dicotylédones, généralement connu sous le nom de famille de rue ou de citron "est une famille des usines". Habituellement placée dans le sapindales d'ordre. Les espèces de cette famille ont généralement des fleurs qui se divisent en quatre ou cinq parts. habituellement avec des parfums forts. Elles s'étendent dans la forme et la taille des herbes aux arbustes et aux petits arbres (**Singh, Gurjara,2004**).

Selon L. Watson et M. J. Dalwitz depuis (1992) les rutaceae comprend 900 espèce réparties en 150 genres que l'on distribue en deux sous-famille (Diosmée, Boroniée) et un grand nombre de tribus (ex: en France est répartie en 2genres et 6especies) (Guy,1979). La répartition géographique caractérise asseye bien celles-ci: Les Ruteés, Ruta, Dictamnus sont propres à nos régions tempérées et manquent sous les tropiques; Alors que les diosmeés sont localisés dans les régions désertiques de l'Afrique australe et possèdent le port éricoïde des plantes de cette zone; les Boroniées sont Australienne et ont les feuilles à limbe verticale qui caractérisent beaucoup de plantes de ce continents (Guy,1979). Le genre le plus économiquement dans la famille est le citron qui inclut l'orange , citron, le pamplemousse et la chaux, comme en peut citez les genres suivants:

- **Citrus limon** (citronnier, limon) Le citron est un remède naturel major à une propriété antibactérienne, antiseptique et antioxydant aussi c'est tonique du foie et du pancréas .En gargarismes, il traite les maux de gorge (Bellakhdar,1997).
- **Citrus aurantium** (orange amer) Arbre à fruits orange (10m de haut) il est censé dissiper les maux de tête , calmer les palpitation et faire baisser la fièvre (Pierre Vican et al,1996-2001).
- **Citrus bergamia** (bergamotier) arbre à fruits a l'écorce aromatique (10m de haut) la bergamote est assez peu utilisée en médecine, sauf dans un but de relaxation (Pierre Vican et al ,1996-2001).
- **Ruta graveolens** (rue) Plante aromatique a 1m de haut et 0.5% d'huile essentielle. En Europe, elle sert à soigner des pathologies aussi diverses l'hystérie, la colique les parasites intestinaux et les affections des yeux (Pierre Vican et al,1996 -2001).

I.5.2.2. Distribution

Selon Gausson *et al.* (1982) la famille des Rutacées a une origine les régions tropicales et tempérées notamment Afrique du sud et Australie .

En plus Judd *et al.* (2002), ont montré que les Rutacées sont presque cosmopolites mais surtout tropicales et subtropicales.

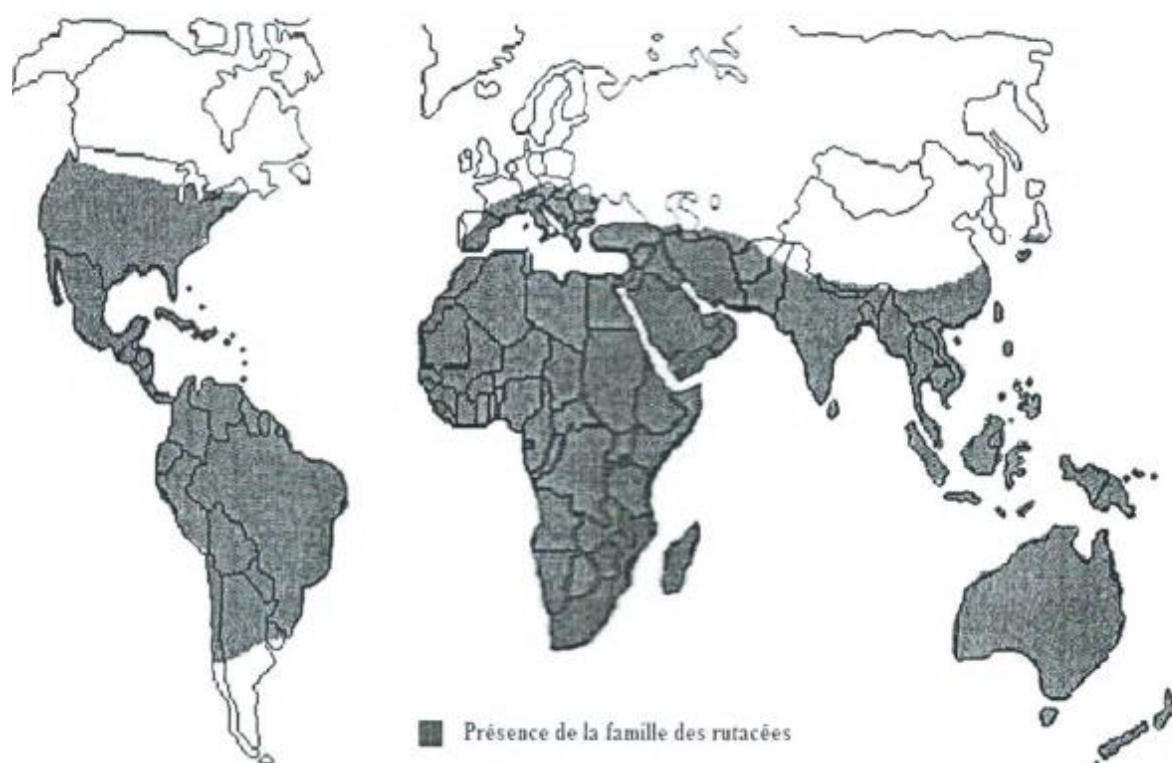


Figure 4. Répartition géographique de la famille de Rutacées (Gausson et al.(1982)).

I.5.2.3. Description botanique de la famille de Rutaceae

Ce sont essentiellement des arbres, des arbustes parfois épineux ou plus rarement des plantes herbacées. La plupart des espèces appartenant à la famille des Rutacées possèdent des feuilles ponctuées de poches sécrétrices et souvent aromatiques visibles à l'œil nu. Ce sont des poches dites schizolysigènes dans lesquelles sont élaborées les huiles essentielles (Chaaibkouri, 2004).

La plupart des plantes de cette famille sont toxiques. Les problèmes posés par les représentants de cette famille est d'ordre dermatologique. En effet, les rutaceae sont riches en furanocoumarines photosensibilisantes, qui sont responsables de manifestations photo toxiques. Le contact avec une plante de cette famille (surtout les agrumes) ou l'un des produits qui en est issu: huile essentielle, produit cosmétique, etc. en présence de soleil, provoque des complications dermiques. (Bounasla,2008)

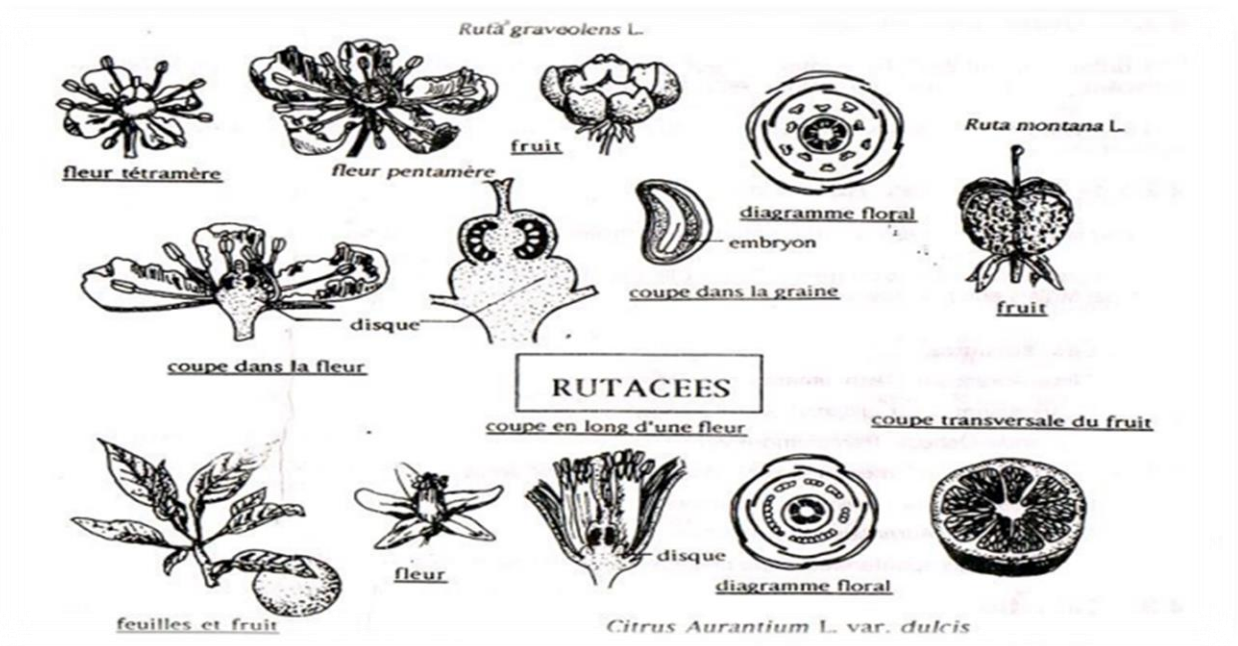


Figure 5. Les caractéristiques morphologiques d'une Rutacée

I.5.2.4. Classification

Règne : plantae.

Sous règne : tracheobionta.

Division : Magnoliophyta.

Sous classe : Rosidae.

Ordre : sapindales.

Famille : Rutaceae.

On distingue aussi la nouvelle classification de Rutaceae comme suite :

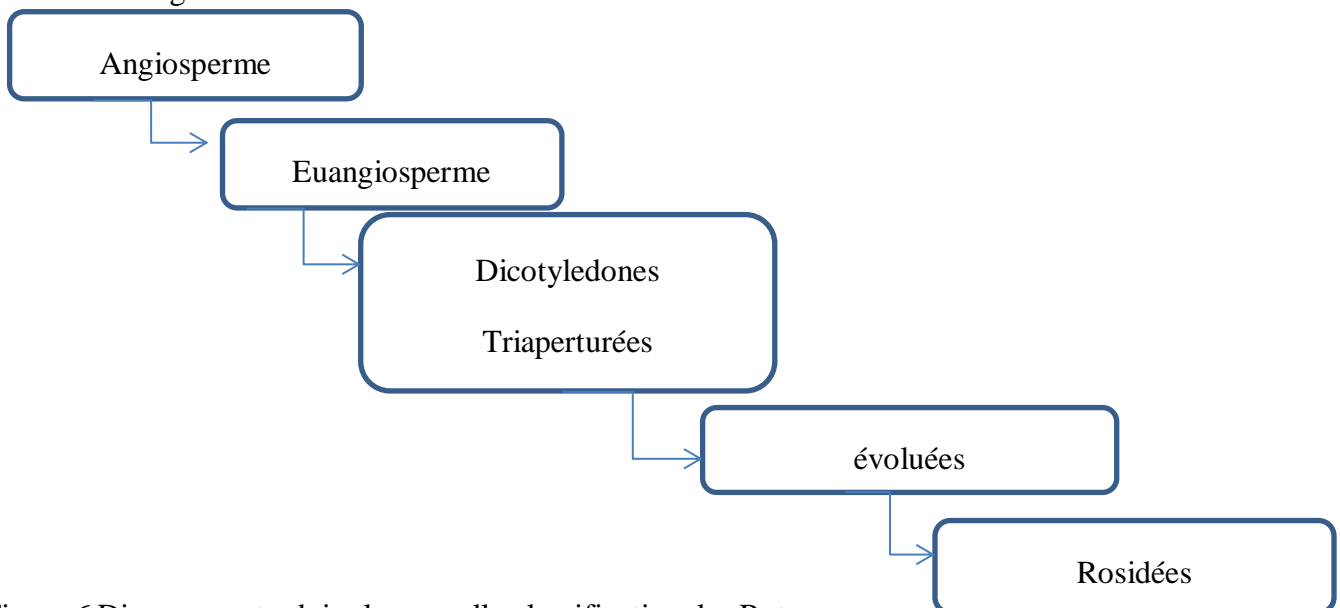


Figure 6. Diagramme traduire la nouvelle classification des Rutaceae

I.5.2.5. Utilisation et intérêts des Rutacées

Selon **Judd et al. (2002)**, les rutacées ont une importance dans plusieurs domaines:

- *Economiques: les résines caractéristiques des rutacées sont inflammables et en conséquence le bois de certaines espèces est utilisé comme carburant ou en torches.
- *Alimentaires: fruits produits essentiellement par les espèces du genre citrus (orange, citron, pamplemousse...) sont consommables
- *Ornementales: la famille contient de nombreux arbres et plantes ornementales.
- *Médicinales et cosmétiques: Citrus (genre des rutacées) est largement utilisé en domaine de la parfumerie.

I.5.3. Famille de Myrtaceae

I.5.3.1. Définition

La Famille des myrtacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 3800 espèces réparties en 133 genres [**Oldrich et al,2005**].

Ce sont des arbustes à feuilles entières et opposées; fleurs axillaires hermaphrodites; 5-mère. Calice cupuliforme. Etamines très nombreuses, insérées avec les pétales au sommet du tube calycinal. Gynécée infère ou semi-infère à 5 carpelles uniloculaires, à ovules nombreux, à placentation axile. Fruit bacciforme bleuâtre, globuleux, de 5-8mm de diamètre [**Quezel et Santa,1963**].

I.5.3.2. Distribution

Ce sont majoritairement des arbustes et des arbres prédominants dans l'hémisphère Sud, principalement en Amérique du Sud, en Asie du Sud-Est, en Afrique, en Inde, en Nouvelle-Calédonie et dans de nombreuses îles du Pacifique jusqu'à Hawaii (**Thornhill et al., 2015**)

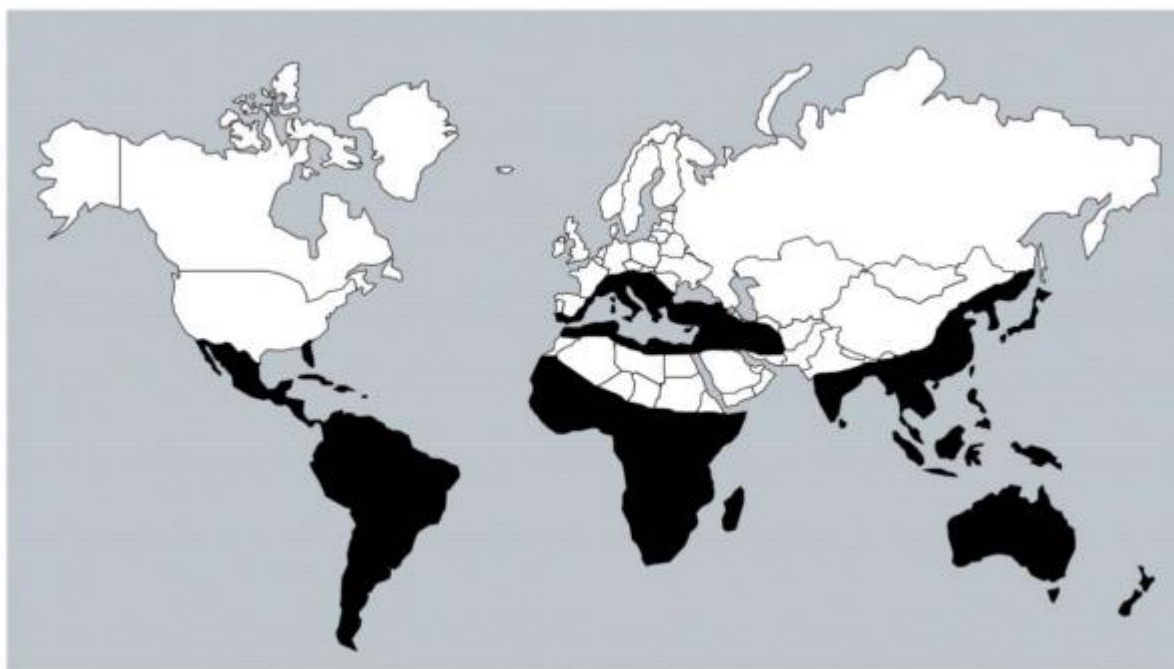


Figure 7. Répartition mondiale de la famille de Myrtaceae (en noir).

Extrait de Grattapaglia et al., 2012

I.5.3.3. Description botanique de la famille de Myrtaceae

En effet, une des caractéristiques des Myrtacées est la présence de poches glandulaires à essence. Ces plantes sont chargées de monoterpènes, 1,8-cinéole, caryophyllène, eugénol et tanins (Vermeulen et Johnston, 2011), ce qui explique leur intérêt en aromathérapie et pour la production d'huile essentielle.

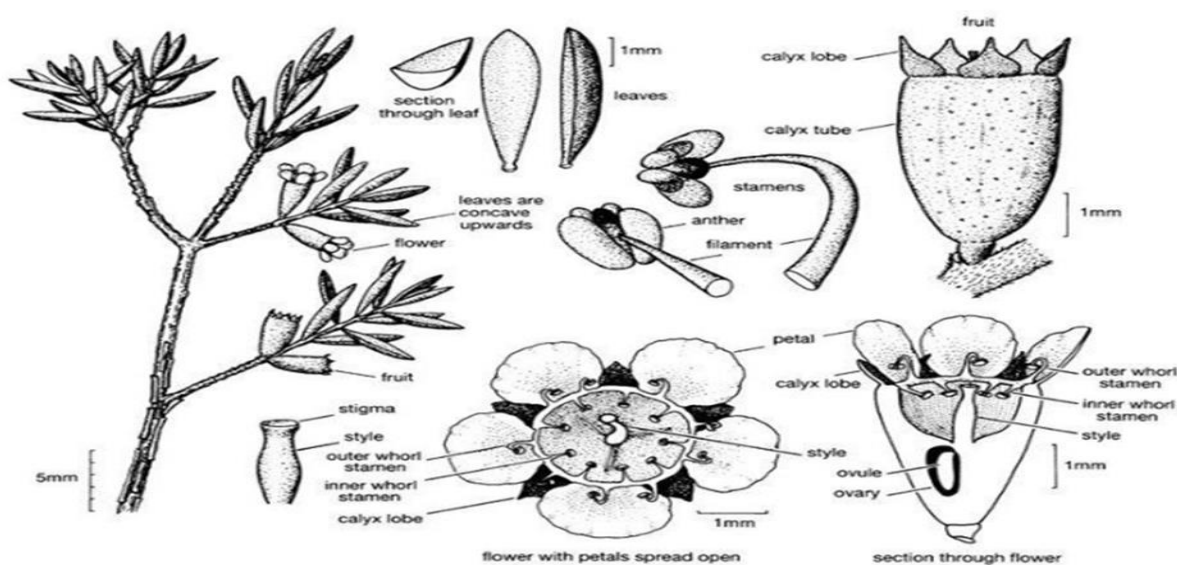


Figure 8. Les caractéristiques morphologique d'une Myrtacée

<https://alchetron.com/Myrtaceae#myrtaceae-3caf1267-7d1a-4d2b-b803-a41173eb7f8-resize-750.gif>

I.5.3.4. Classification

On peut définir la famille des Myrtacées du point de vue botanique selon les divisions suivantes : [Grêté 1965].

Règne :Plantae

Sous-règne: Eucaryotae

Embranchement :Spermaphytae

Sous-embranchement :Angiospermae

Classe: Dicotylédonae

Ordre: Myrtales

Famille :Myrtaceae

I.5.3.5. Utilisation et intérêts des Myrtacées

Beaucoup d'espèces de cette famille possèdent des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle. Dans le tableau I-1 suivant sont cités quelques exemples d'espèces dont les propriétés susdites ont été vérifiées et confirmées suite à différents travaux.

Tableau 1. Activités biologiques de certaines espèces de la famille des Myrtacées

Espèce	Activités biologiques	Références
<i>Cleistocalyx operculatus</i>	anti-inflammatoire antiseptique anti-oxydante antimicrobienne cytotoxique anti-tumorale	(Nguyen <i>et al.</i> ,2009) (Nguyen <i>et al.</i> ,2008) (Chun <i>et al.</i> ,2004)
<i>Melaleuca squarrosa</i>	anti-oxydante	(Morio <i>et al.</i> ,2008)
<i>Leptospermum polygalifolium</i>	antimicrobienne	(Kamarul'Ain <i>et al.</i> ,2003)
<i>Psidium guajava</i>	anti-oxydante anti-hypertensive anti-diarrhique antinociceptive antidiabétique cytotoxique antispasmodique antigenotoxique	(Rosa <i>et al.</i> ,2008)
<i>Syzygium samarangense</i>	Cytotoxique anti-oxydante	(Mario <i>et al.</i> ,2008)
<i>Eucalyptus saligna</i>	antibactérienne	(Cimanga <i>et al.</i> ,2002)
<i>Eucalyptus rostrata</i>	anti-oxydante	(Hideo <i>et al.</i> ,1993)
<i>Eugenia jambos</i>	antipyrétique anti-inflammatoire anti-tumorale	(Ling <i>et al.</i> ,2000)
<i>Eugenia jambolana</i>	Antidiabétique anti-lipidémique	(Bhavna <i>et al.</i> ,2008)

Chapitre II

Généralités sur les huiles essentiels

Chapitre II. Généralités sur les huiles essentielles

II.1. Définition

Une huile essentielle est définie comme le produit obtenu d'une plante ou certaines parties de celui-ci par hydrodistillation, distillation à la vapeur, distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage (par exemple pour les agrumes) (**Rubiolo et al., 2010**).

« Les huiles essentielles sont les substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, contenues dans les plantes » (**Lardry, 2007**)

Les éléments essentiels sont solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau. Ces huiles volatiles sont généralement liquides et incolores à température ambiante. Ils ont une odeur caractéristique, sont généralement liquides à température ambiante et ont une densité inférieure à l'unité, à l'exception de quelques cas (cannelle, saffran et vétiver). Ils ont un indice de réfraction et une activité optique très élevée. Ces huiles volatiles contenues dans les herbes sont responsables des différents parfums que les plantes émettent. Ils sont largement utilisés dans l'industrie cosmétique, la parfumerie et aussi l'aromathérapie et on pense que ces huiles jouent un rôle dans les mécanismes de défense des plantes agissant contre les microorganismes phytopathogènes, de plus, les HE possèdent également des activités antifongiques ou insecticides et dissuasives (**Herman et al., 2019**).

II.2. Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante

Les HEs n'existent quasiment que chez Les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui les composent sont répartis dans une cinquantaine de familles botaniques parmi lesquelles les Lamiacées, les Astéracées, les Rutacées, les Cannabacées, les Lauracées, les Myrtacées et les Zingibéracées. (**Bharet Balouk, 2011**).

Les HE peuvent être stockées dans tous les organes : fleurs (rose) feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal). Racines (vétiver), rhizomes (curcuma, gingembre), fruits (anis, badiane) et graines (muscade). (**Benarab, 2021**).

II.3. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont produites par diverses structures différenciées, notamment dont le nombre et les caractéristiques sont très variables. Les huiles essentielles sont localisées dans le cytoplasme de certaines sécrétions cellulaires végétales, qui se trouvent dans un ou plusieurs organes de la plante; à savoir, les poils ou trichomes sécréteurs, les cellules épidermiques, les cellules sécrétoires internes et les poches sécrétoires. Ces huiles sont des mélanges complexes

pouvant contenir plus de 300 composés différents .Ils sont constitués de composés organiques volatils, généralement de bas poids moléculaire inférieur à 300. Leur pression de vapeur à pression atmosphérique et à température ambiante est suffisamment élevée pour qu'ils se retrouvent en partie à l'état de vapeur. Ces composés volatils appartiennent à différentes classes chimiques: alcools, éthers ou oxydes, aldéhydes, cétones, esters, amines, amides, phénols, hétérocycles, et principalement les terpènes. Les alcools, aldéhydes et cétones offrent une grande variété de notes aromatiques, telles que les notes fruitées ((E) -nérolidol), florales (linalool), agrumes (limonène), à base de plantes (γ -sélinène), etc. En outre, les composants des huiles essentielles appartiennent principalement à la grande majorité de la famille des terpènes. Plusieurs milliers de composés appartenant à la famille des terpènes ont jusqu'à présent été identifiés dans les huiles essentielles, comme les dérivés fonctionnalisés d'alcools (géraniol, α bisabolol), les cétones (menthone, p-vétivone) des aldéhydes (citronellal, sinensal), des esters (acétate de γ -tépinyle, acétate de cédryle) et des phénols (thymol) (Dhifi et al., 2016).

Il a été démontré que les huiles essentielles sont constituées principalement par :

II.3.1. Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par l'agglomération de plusieurs isoprènes (figure 10: isoprène). Dans les plantes aromatiques médicinales on trouve souvent une famille d'arôme constituée d'une grande partie de ces terpènes. Ces terpènes possèdent généralement des propriétés biologiques importantes telles que des propriétés fongicides ou insecticides. (Aouina,2019)

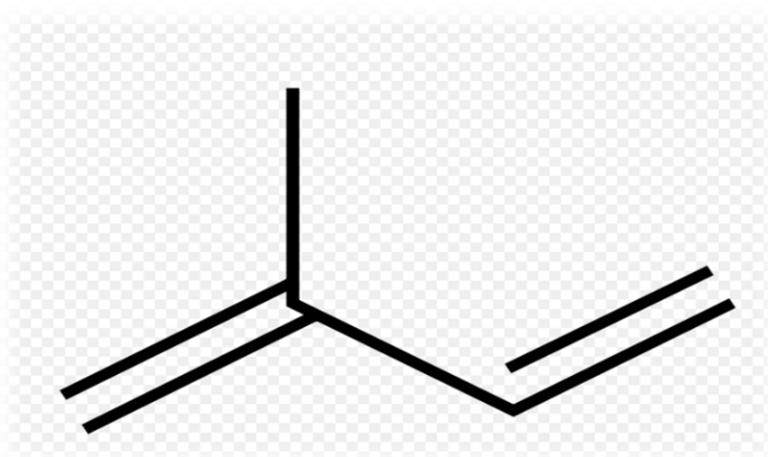


Figure 9. Structure chimique de l'Isoprène

Les terpènes peuvent être classés selon leur nombre de motifs isoprènes ainsi que leurs arrangements :

II.3.1.1. Mono terpènes

Les constituants les plus simples de la série des terpènes, comportent deux unités isoprène (C₅H₈), dont les principaux se trouvent dans l'HE (90%). Ils peuvent être bicycliques, monocyclique ou acycliques.

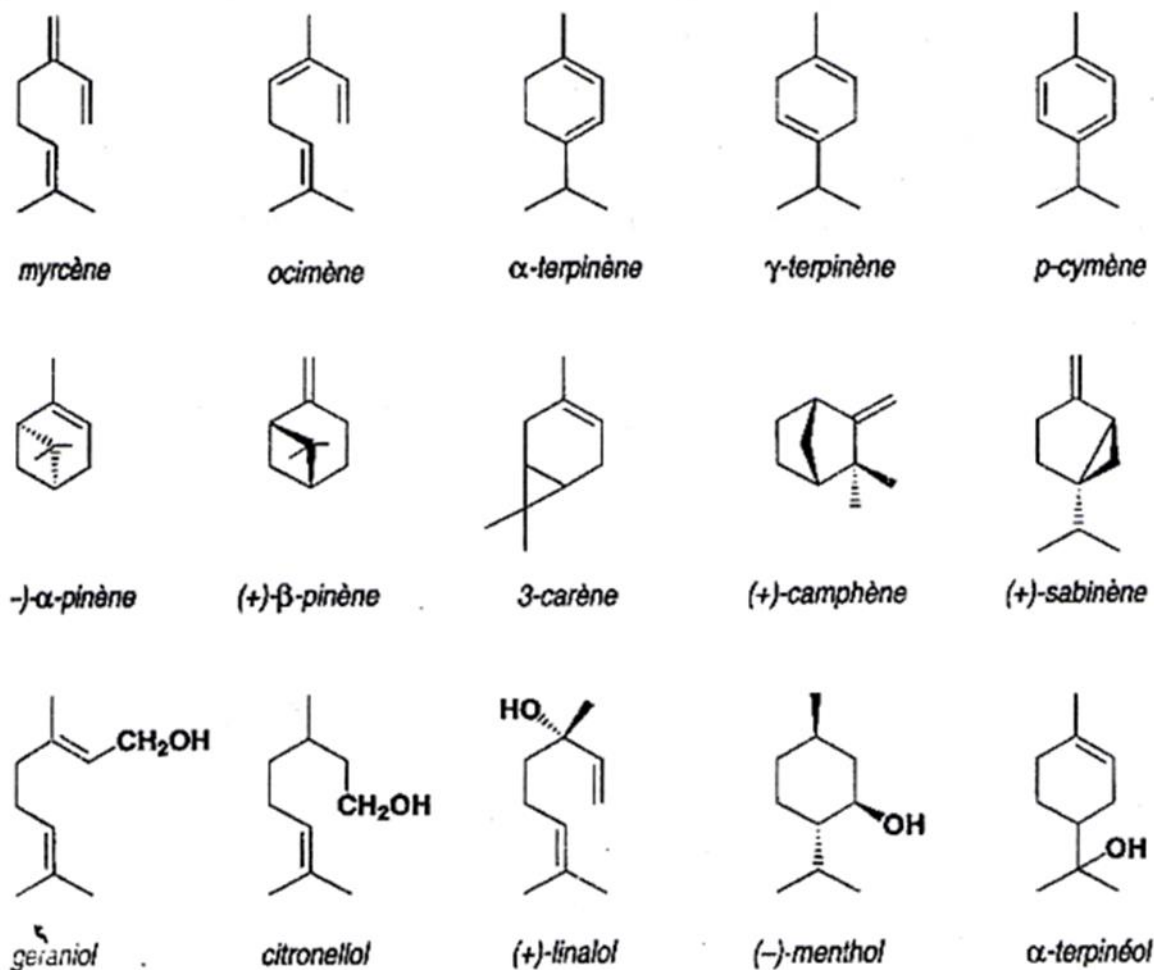


Figure 10. Structures des monoterpènes cycliques et acycliques (Bruneton, 1999)

II.3.1.2. Sesquiterpènes

Sont les dérivés hydrocarbures en (C₁₅H₂₂) qui comportent trois unités isoprènes. Ils se trouvent sous deux formes, hydrocarbures et oxygénés tels que les aldéhydes et les acides, présents dans la nature. Ainsi, ces composés constituent la classe la plus diversifiée des terpènes et ils se trouvent dans de nombreuses catégories structurales, polycycliques, tricycliques, bicycliques, monocycliques, acycliques.

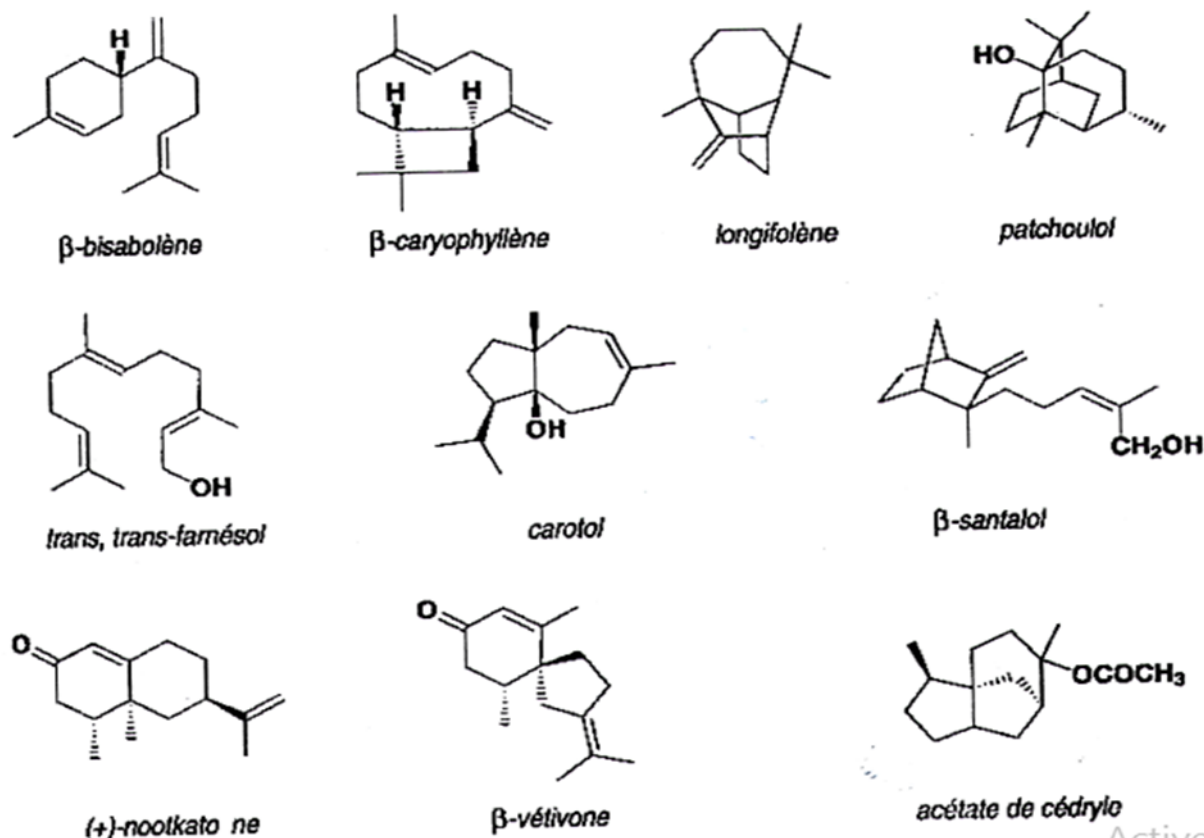


Figure 11. Quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles. (Bruneton, 1999)

II.3.2. Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des allyles- et des propénylphénols, parfois des aldéhydes. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C6-C1) comme la vanilline ou comme l'athranilate de méthyle. (Bekhechi et Abdelouahid, 2014).

II.4. Biosynthèse des HEs

La biosynthèse des constituants des HE emprunte deux voies utilisant comme intermédiaire soit l'acide mévalonique soit l'acide shikimique respectivement pour les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes (Singh et al., 1990).

II.4.1. Biosynthèse des terpènes

La biosynthèse des terpènes prend son origine au niveau de l'acétylcoenzyme A (CH₃COSCoA) produit de la glycolyse (catabolisme des sucres). L'étude des mécanismes réactionnels régissant la biosynthèse des terpènes a montré l'existence de plusieurs étapes. La première étape est une condensation de type claisen, entre deux molécules acétylCoA, conduisant à l'acétoacétylCoA (Sallé, 1991).

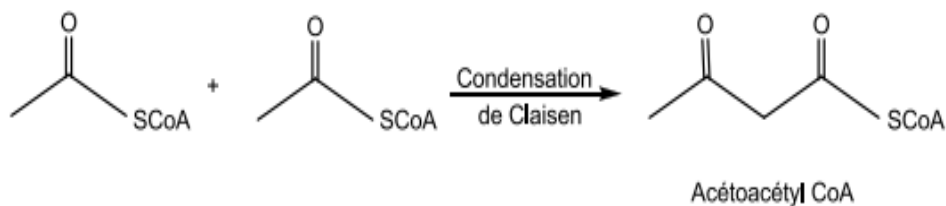


Figure 12. Biosynthèse de l'acétoacétylCoA (Sallé, 1991)

La deuxième étape est une réaction d'aldolisation entre une 3ème molécule d'acétylCoA et l'acétoacétylCoA. Après hydrolyse et réduction par le NADPH (Nicotine Adénine Dinucléotide Phosphate), l'acide mévalonique se forme (Duval, 2007).

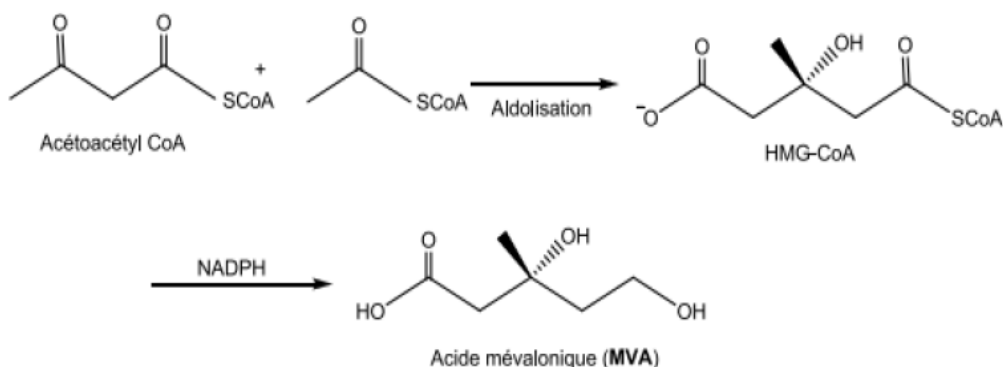


Figure 13. Biosynthèse de l'acide mévalonique (Duval, 2007)

La déshydratation et la décarboxylation de l'acide mévalonique (MVA) par élimination concertée après sa pyrophosphorylation par l'ATP (Adénosine Triphosphate), permettent d'aboutir aux deux intermédiaires en Cs, bio-précurseurs des terpènes : le pyrophosphate d'isopentén-3-yle (PPI3) en équilibre, par simple transfert de proton, avec le pyrophosphate de diméthylallyle (PPI2). La condensation d'une autre unité de PPI3 sur le pyrophosphate de géranyle donne le pyrophosphate de farnésyle, précurseur de tous les sesquiterpènes. Selon ce processus, le squalène (triterpène) est obtenu, ainsi que les autres terpénoïdes. La (figure 03) représente la biosynthèse des terpénoïdes (Duval, 2007).

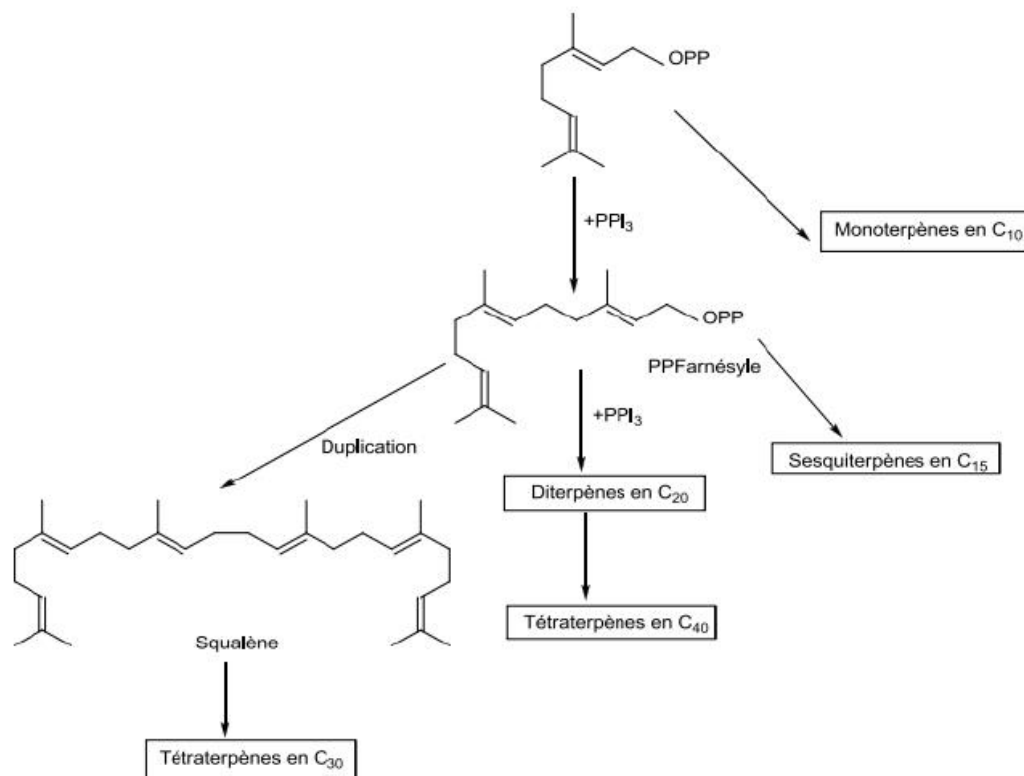


Figure 14. Schéma globale de la biosynthèse des terpènes par voie de l'acide mévalonique. (Duval, 2007)

La seconde voie, voie du méthylérythritol phosphate (MEP) ou encore nommée voie non mévalonique, est spécifique aux végétaux et se fait au niveau des plastides. Elle commence par la condensation d'une unité pyruvate (C3) avec une unité de glycéraldéhyde 3-phosphate (C3) et conduit au méthylérythritol phosphate, un composé intermédiaire en C5. Plusieurs étapes enzymatiques conduisent ensuite à la synthèse de PPI3. Cette voie n'a été mise en évidence qu'à la fin des années 90, mais elle s'est rapidement avérée être la voie majoritaire pour la biosynthèse de la majeure partie des terpènes (Figure 14).

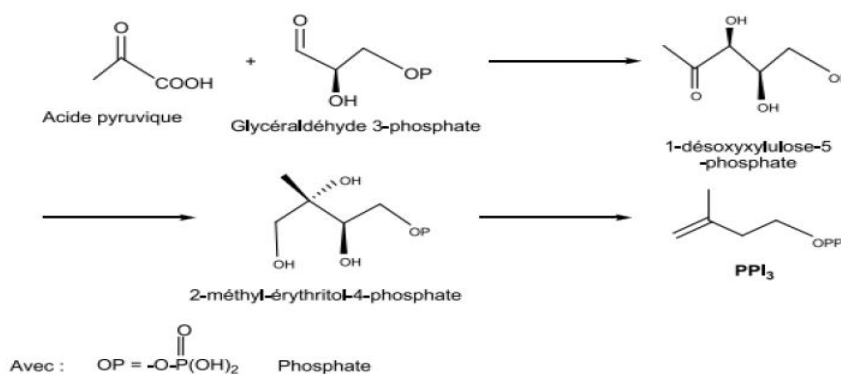


Figure 15. Schéma global de la biosynthèse des terpènes par voie du éthylérythritol phosphate (Duval, 2007)

II.4.2. Biosynthèse des phenylpropanoïdes

La biosynthèse des dérivés du phénylpropane se fait par l'intermédiaire de l'acide shikimique qui représente le principal mode d'accumulation des phénols dans les plantes. Cette voie fait intervenir une série de réactions et représente le chemin biosynthétique des acides aminés aromatiques (phénylalanine, tryptophane, tyrosine), l'acide est obtenu par condensation de l'acide pyruvique activé par phosphorylation sur un sucre phosphorylé. L'addition d'une deuxième molécule d'acide pyruvique activé fournit l'acide préphénique qui par déshydratation et décarboxylation donne l'acide phénylpyruvique. Cet acide aromatique se transforme en phénylalanine, acide aminé aromatique, qui est à l'origine du métabolisme des composés aromatiques. (La figure 15) illustre les principales étapes de la formation des dérivés aromatiques : Exemple de l'acide cinnamique" (Hahlbrock et Scheel, 1989).

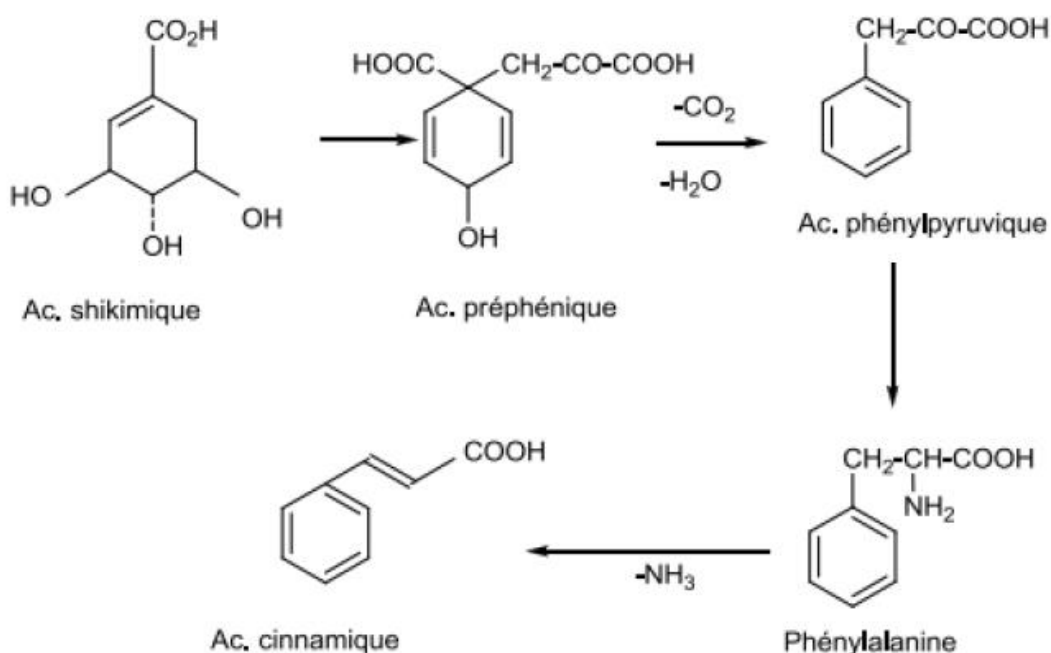


Figure 16. Exemple de biosynthèse de dérivés du phénylpropane (Hahlbrock et Scheel, 1989)

II.5. Activités biologique des huiles essentielles

II.5.1. Propriétés antibactériennes

Les HEs les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux Labiatae : origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont d'autant de plantes aromatiques à HE riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous, reconnu

pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol et l'eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et, alimentaires. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : E-coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Clostridium spp, Helicobacter pylori (**Pauli, 2001**).

II.5.2. Propriétés antifongiques

Comme nous l'avons vu précédemment la bibliographie est très riche en études portant sur l'activité antifongique in vitro. Et à partir de là il est assez aisé de corréler cette activité à une utilisation clinique.

L'huile essentielle de Citrus aurantium var amara a été testée sur 60 patients atteints de dermatophytie à Tinea corporis, cruris ou pedis. Trois formulations ont été examinées :

- F1 qui consiste en une émulsion à 25% d'huile essentielle, appliquée 3 fois par jour.
- F2 qui est une solution alcoolique à 20% appliquée trois fois par jour
- F3, l'huile essentielle pure appliquée une fois par jour

L'émulsion à 25% élimine les signes d'infection chez 80% des patients en 1 à 2 semaines et en 2 à 3 semaines chez les 20% restant. La solution alcoolique donne 50% de guérison en 1 à 2 semaines, 80% au bout de 2 à 3 semaines et 100% au bout de 4 semaines.

L'huile essentielle pure traite 33.3% des malades au bout d'une semaine et les 67 autres pourcents en 2 à 3 semaines (**Ramadan et al.,1996**)

L'huile essentielle de Melaleuca alternifolia en crème à 5% d'HE avec 2% d'hydrochloride de butenafine. Soigne en 16 semaines 80 % de patients atteints d'onychomycose interdigitales ô combien difficiles à traiter. (**Satchell et al.,2002**)

Une autre huile essentielle, celle de Eucalyptus pauciflora est très active comme antifongique est très active comme antifongique notamment contre Epidermophyton floccosum, Microsporum canis, Microsporum nanum, Microsporum gypseum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum et Trichophyton violaceum ; bref les germes fongiques

les plus courant. Cette huile essentielle en application locale, trois fois par jour et à la concentration de 1% vol/vol, soigne 60% des patients au bout de trois semaines et améliore l'état des 40% restants. (**Shahi et al.,2000**)

II.5.3. Propriétés antioxydantes

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (**Richard F., 1992**).

Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes de propriétés selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto-catalytique de l'oxydation (Multon, 2002). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène (**Madhavi et al., 1996**).

Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (**Caillet et Lacroix, 2007**).

II.6. Utilisation des huiles essentielles

Les HE peuvent être utilisées :

- en thérapeutique ;
- en parfumerie ;
- en liquoristerie ;
- en esthétique et cosmétique ;
- en hygiène (désinfection des locaux par exemple) ;
- en cuisine (pour aromatiser certains plats). (**Lardry,2007**)

II.7. Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont employées pour :

- Leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums ;
- Des propriétés antiseptiques pour les poumons et les reins ou comme bain de bouche ;
- Dépuratives, cicatrisantes, analgésiques et anti-inflammatoires ;
- Des activités antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires et antihelminthiques; et aussi des propriétés antioxydantes;
- Un effet anesthésiant pour soigner les douleurs rhumatismales;
- Action stimulante sur l'utérus, effet abortif en cas d'intoxication ;
- Action sur le système nerveux central, en exerçant des effets sédatif, relaxant et déstressant ;
- Effet anticancéreux, en stimulant l'apoptose des cellules tumorales (**Daniel, 2006; Hüsnü et Buchbauer, 2010**).

II.8. Identification et séparation des huiles essentielles

La classe d'un composé est toujours connue par sa réponse aux tests de coloration à sa solubilité et par les caractéristiques du spectre ultraviolet. L'identification complète à l'intérieur de la classe dépend de la détermination d'autres propriétés ensuite compléter ces données avec de littérature les propriétés comprennent le point de fusion (pour les solides) le point d'ébullition (pour les liquides) et enfin à la mobilité ou le temps de la rétention relative. Cependant, les données informatives dans une substance naturelle sont également ces caractères spectrales UV-visibles, IR et RMN. (**Neche, 2019**)

II.9. Principaux domaines d'application des huiles essentiels

En raison de leurs diverses propriétés, les huiles essentielles sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie par leurs pouvoirs antiseptique, analgésique, antispasmodique, apéritif, antidiabétique..., en alimentation par leur activité anti-oxydante et leur effet aromatisant, en parfumerie et en cosmétique par leur propriété odoriférante (**Ouis, 2015**)

II.9.1. Aromathérapie

L'aromathérapie est une forme de médecine alternative dans laquelle les H Es ont une

grande importance car elles induisent de nombreux effets curatifs. Ainsi elles s'utilisent de plus en plus dans diverses spécialités médicales telles que : la podologie, l'acupuncture, la masso-kinésithérapie, l'ostéopathie, la rhumatologie ainsi que dans l'esthétique **(Ouis, 2015)**.

II.9.2. Agro-alimentaire

En vertu de leurs propriétés antiseptiques et aromatisants, les HEs sont employées quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, laurier, thym,...). Elles sont également très prisées en liquoristerie (boissons anisées, kummel) et en confiserie (bonbons, chocolat,...). Leur pouvoir antioxydant leur permet de conserver les aliments en évitant les moisissures, conservation du smen par exemple par le thym et le romarin. **(Ouis, 2015)**.

II.9.3. Cosmétologie et parfumerie

Les HEs sont recherchées dans l'industrie des parfumes et des cosmétiques en raison de leur propriétés odoriférantes. L'industrie de la parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celles de rose, de jasmin, de violette, de verveine.... Les HEs sont aussi consommées en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques : les dentifrices, les shampoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les savons, etc. ... **(Ouis, 2015)**.

II.9.4. Pharmacie

Les essences issues des plantes sont utilisées en grande partie dans la préparation d'infusion (menthe, verveine, thym, ...) et sous forme de préparations galéniques. Plus de 40% de médicaments sont à base de composants actifs de plantes, par exemples gastralgine est un digestif anti-acide qui se compose d'HEs de carvi.

De même, elles permettent par leurs propriétés aromatisants de masquer l'odeur désagréable de médicaments absorbés par voie orale. Aussi beaucoup de médicaments vendus en pharmacie sont à base d'HEs comme par exemple les collyres, les crèmes, les élixirs,.. **(Ouis,2015)**

II.10. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances puissantes et très actives. Elles représentent une source inépuisable de remèdes naturels. Néanmoins, il est important de souligner que l'automédication fréquente et abusive surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe par les essences est nocif. Elle engendre des effets secondaires plus ou moins néfastes dans l'organisme (allergies, coma, épilepsie, etc...) Principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques) (Da Silva, 2010)

II.11. Conservation des huiles essentielles

A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière, les huiles essentielles doivent être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement (Valnet, 1984; Salle et Pelletier, 1991).

Chapitre III

Les méthodes d'extraction et
analyse des huiles essentielles

Chapitre III. Méthodes d'extraction et analyse des huiles essentiels

III.1. Choix de la méthode d'extraction

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte (Fernandez et Cabrol-Bass, 2007).

Tableau 2. Paramètres mise en oeuvre dans les opération d'extraction. (Peyron, 1992).

Techniques	Propriétés	Produits fabriqués
Evaporation Déshydratation - Séchage Concentration de miscella (S/pres. atm. ou réduite) Concentration de jus de fruits	Volatilité	Résinoïdes, concrètes Oléorésines
Distillation Rectification (S/pres. atm. ou réduite) Distillation sèche		Isolats, déterpénés Huile empyreumatique
Co-distillation Avec eau (S/pres. atm. ou en surpression) Hydrodistillation et à vapeur humide Vapeur sèche Avec un autre fluide (S/pres. atm. ou réduite) Alcool Polyols		Huiles essentielles Eaux aromatisées Alcoolats Distillats moléculaires
Extraction liquide / solide Solvant conservé : Corps gras Alcool Solvant éliminé: Fluide liquide Fluide liquéfié (ou supercritique)	Solubilité	Pommade Infusion – Teinture Concrète, résinoïde
Extraction liquide / liquide Discontinue Continue		Essences déterpénées

<i>Cristallisation</i> après concentration partielle et refroidissement		Menthol – Anéthol
<i>Broyage – tamisage</i>	Formes et taille des particules	Huiles essentielles d'agrumes
<i>Expression – Filtration</i>		
<i>Glaçage – Filtration</i>		
<i>Séparation au moyen de membranes</i>		
<i>Séparation chromatographique</i> <i>Décoloration</i>	Adsorption	Huiles essentielles Absolues

III.2. Méthodes d'extraction des huiles essentiels

III.2.1.Extraction par Hydrodistillation

Elle est de loin le procédé le plus répandu, car il convient à la majorité des plantes c'est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité.

Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique, et comme les HE sont insolubles dans l'eau mais soluble dans la vapeur, lorsqu'on envoie de la vapeur d'eau sur la plante, elle se charge au passage des huiles (**Fasty, 2007**).

La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotrope. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures.

Ainsi le mélange azéotrope « eau + huile essentielle » distille à une température égale 100°C à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées, la vapeur d'eau ainsi restée de ces essences est envoyée dans un compartiment pour y refroidir. Là, la vapeur redevint donc liquide et les

huiles s'en désolidarisent (elles flottent à la surface). On les récupère alors par décantation (Franchomme, 1990).

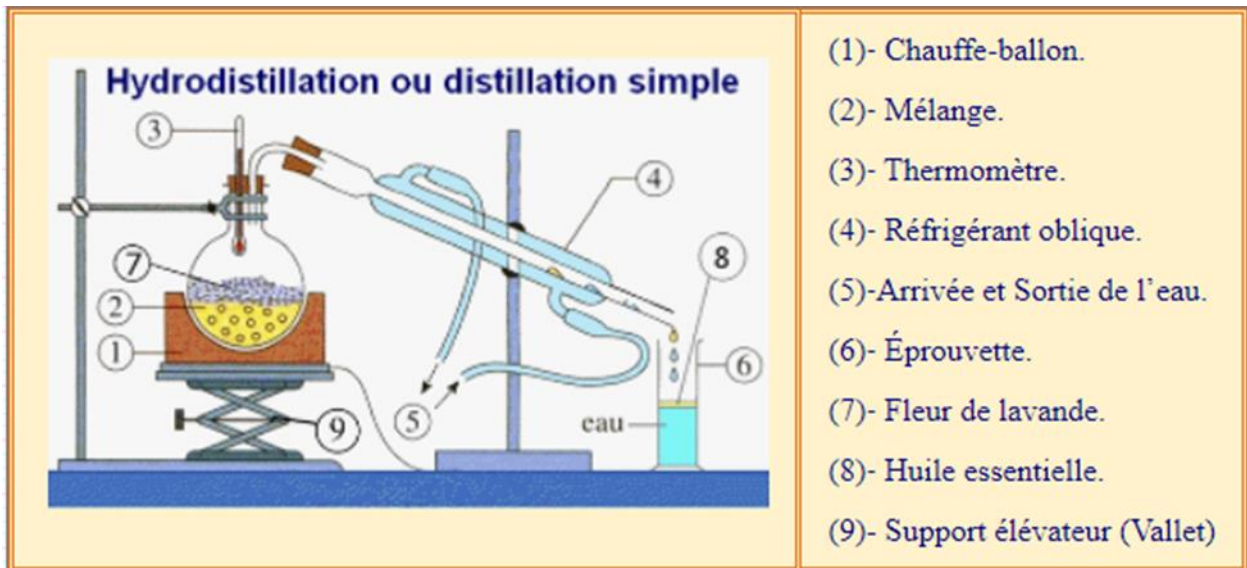


Figure 17. Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation

<https://guy-chaumeton.pagesperso-orange.fr/2dtp02chc.htm>

III.2.2. Entraînement par la vapeur d'eau

C'est le procédé le plus ancien et le plus approprié pour extraire l'essence des plantes. C'est aussi la seule méthode de distillation recommandée par la Pharmacopée française car elle minimise les modifications d'hydrolyse (en particulier les esters). Le distillateur ou distillateur est utilisé pour l'extraction quantitative et qualitative des huiles essentielles. L'ancien distillateur ne séparait pas les plantes de l'eau, ce qui faisait que les plantes cuisaient et produisaient des huiles essentielles à l'odeur de "brûlé". Dans les distillateurs récents, l'eau et les plantes aromatiques sont soit séparées par une grille dans une même cuve, soit placées dans deux cuves différentes.

(Bouguerra, et al 2021)

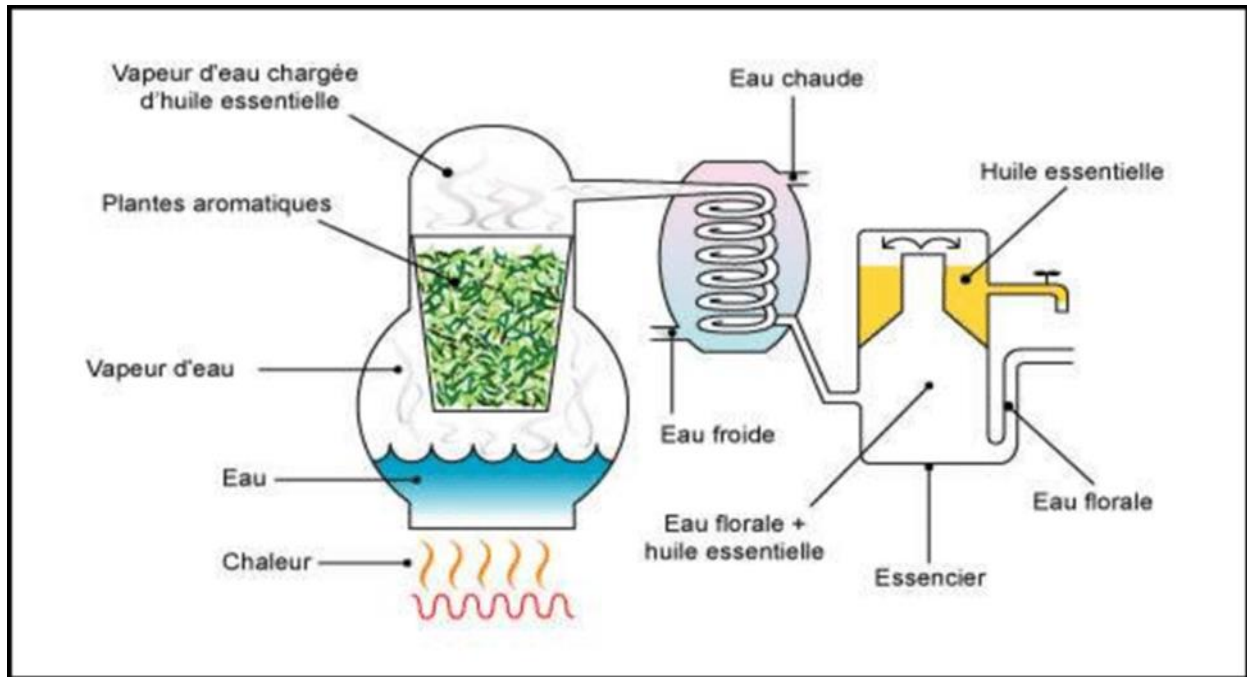


Figure 18. Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau (Goudjil, 2016)

III.3. Extraction par solvants organiques

III.3.1. Extraction par solvants volatils

Cette extraction implique l'utilisation des solvants pour éliminer les produits odorants. Le même solvant est ensuite utilisé pour la concentration par distillation ou précipitation. On sépare donc l'hydrolat obtenu par distillation de l'extrait de l'alcoolate, et le produit odorant apparaît avec le solvant. Une fois le solvant évaporé, des produits de résine, des onguents et du béton sont obtenus. Le premier solvant est l'éthanol, puis l'éther. Plus tard, le disulfure de carbone, le benzène, l'éther de pétrole, les solvants chlorés et fluorés ont été utilisés.

- Le benzène: dans le cas des produits utilisés en parfumerie.
- L'hexane : pour l'ensemble des produits floraux frais.
- Les cétones et les solvants chlorés notamment dans le cas des épices.
- Les alcools (le méthanol et l'éthanol): pour l'extraction des cacao, des vanilles.
- L'eau : dans le cas des thés et cafés avec utilisation des solvants chlorés quand il s'agit d'éliminer les alcaloïdes. un solvant volatil et la matière végétale à traiter.

Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée

et glacée pour en extraire les cires végétales. Après une dernière concentration, on obtient une « absolue ». Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de l'eau ou de la vapeur d'eau.

Cependant, cette technique présente certains inconvénients qu'il convient de noter. En effet, l'utilisation de solvants organiques entraîne des risques d'artefacts et la possibilité d'échantillons contaminés par des impuretés parfois difficiles à éliminer. Le choix du solvant d'extraction s'avérera très délicat. L'originalité et le principe de cette technologie est que la vapeur d'eau avec les molécules aromatiques de l'hydrodistillation rencontre la vapeur de solvant, de sorte que les composés aromatiques sont extraits de la phase aqueuse dans la phase organique. Le passage des deux phases dans la section de réfrigération permettra aux deux phases de se condenser et de se séparer dans la section en U de l'appareil. La conception du procédé assure la récupération de deux phases. La SDE est actuellement une technologie largement utilisée pour extraire des molécules aromatiques d'origine végétale, mais elle est également utilisée dans l'industrie agroalimentaire pour déterminer qualitativement et quantitativement les molécules aromatiques présentes dans certains aliments. Récemment, la SDE a été réalisée dans les conditions suivantes Réduire le stress, ce qui permet de réduire les phénomènes d'origine humaine, comme le montrent les recherches sur l'acétate d'allyle. (Mnayer,2014)

III.3.2. Extraction par solvants fixe

L'extraction par l'appareil de Soxhlet consiste à faire passer à travers la matière à traiter contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant de solvant toujours neuf puisque distillé à chaque cycle (Lucchesi,2005).

Cette technique est loin d'être exclusive aux molécules aromatiques d'origine végétale. Elle est fréquemment utilisée pour l'extraction de lipides, ou de diverses autres catégories de molécules. De plus, cette technique d'extraction a été récemment combinée aux micro-ondes et aux ultrasons.

III.4. Extraction à froid ou Expression mécanique

Ce procédé est dédié à divers fruits ou plantes, comme les agrumes (oranges, citrons, mandarines...). Les huiles essentielles de ces fruits sont contenues dans les petites glandes de la peau (l'écorce). La méthode peut se faire sans chauffage : elle implique l'utilisation d'une presse hydraulique pour placer le matériel végétal sous haute pression. (Figure 19) Cela se fait à l'aide de machines complexes.

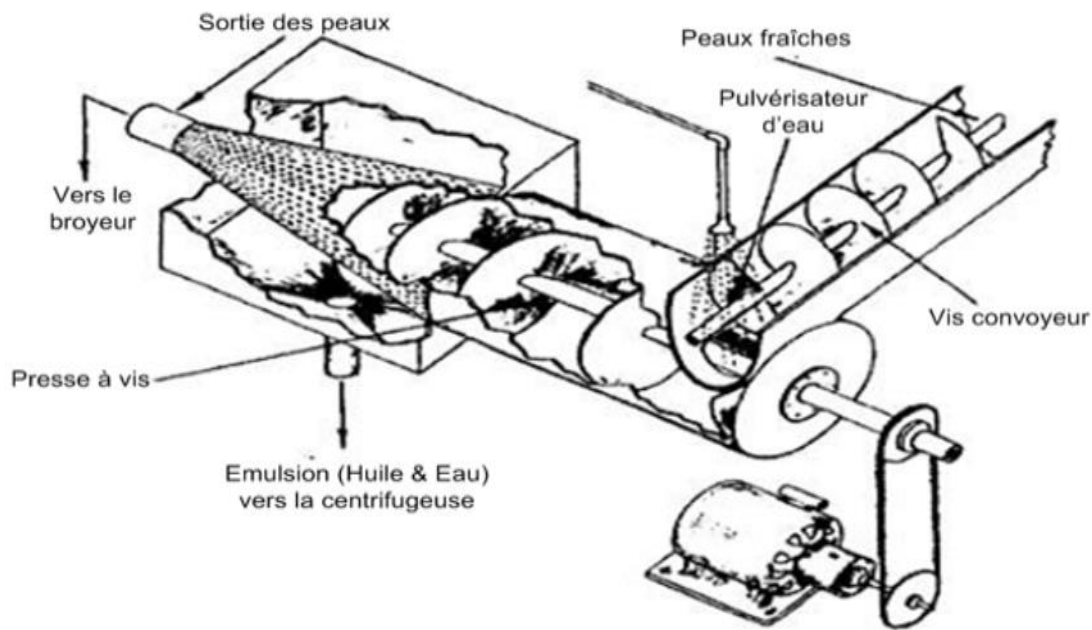


Figure 19. Schéma représentatif de l'extraction par pression (Bousbia,2011)

L'extraction par pression à froid de fruits entiers (c'est-à-dire jus et pulpe) consiste à classer les plantes selon leur taille, puis à les presser à froid sans chauffage (**Figure 19**) pour libérer les huiles essentielles des plantes. Celui-ci remonte à la surface du jus qui est séparé par centrifugation. L'extraction de l'écorce consiste à retirer l'écorce et à la broyer, puis à la frotter sur un appareil équipé d'un embout métallique pour briser le sac d'huile contenant l'essence végétale (**Boudilmi,2019**)

III.5. Extraction par le CO₂

L'originalité de cette technologie repose sur le solvant utilisé : le CO₂ en phase supercritique. L'extraction consiste à comprimer le dioxyde de carbone à une pression et une température supérieures à son point critique ($P = 72,8$ bars et $T = 31,1$ °C) . A l'état supercritique, le CO₂ n'est ni liquide ni gazeux, ce qui lui confère une excellente capacité d'extraction et peut être ajusté à volonté en ajustant la température de traitement. Les fluides supercritiques comme le CO₂ sont de bons solvants à l'état supercritique et de mauvais solvants à l'état gazeux . Les avantages de ce procédé sont les suivants :

- Le CO₂ est totalement inerte chimiquement, il est naturel, non toxique et peu coûteux ;

- En fin de cycle, la séparation entre le solvant d'extraction et le soluté pour obtenir l'extrait est facile (simple détente qui ramène le CO₂ à l'état gazeux), avec une récupération quasi-totale et peu coûteuse ;

L'extraction des huiles essentielles par le CO₂ supercritique fournit des huiles de très bonne qualité et en temps d'extraction relativement court par rapport aux méthodes classiques (Alloun,2018).

Cependant l'installation industrielle de ce procédé reste onéreuse, et l'appareillage est encore envahissant. En bref, il n'y a pas de meilleur processus que d'autres processus. Selon l'usine ou partie d'usine, chaque méthode a ses propres instructions, le contrôle d'utilisation du produit obtenu et les aspects économiques tout aussi importants L'avantage de cette technologie est qu'elle combine les caractéristiques du gaz et du liquide lors du processus d'extraction, minimisant ainsi les processus de dégradation possibles tels que l'oxydation ou la séparation. Cela est dû à la réduction du temps d'extraction (Piochon 2008) L'extension de l'utilisation des fluides supercritiques à l'extraction liquide-liquide et à la chromatographie augmente la possibilité que ces processus soient déjà importants .

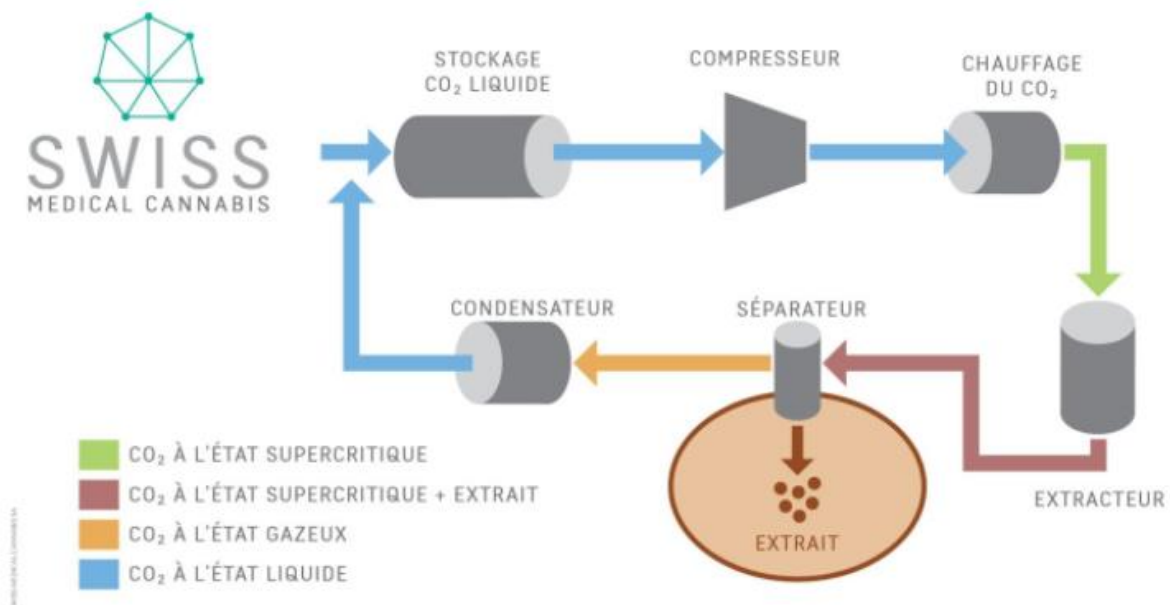


Figure 20. Schéma de principe de l'extraction au CO₂ supercritique (CO₂SC). (Danielski et al.2006)

III.6. Hydodistillation par micro- ondes sous vide

L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Solvent Free Microwave Extraction ou SFME) a été conçue pour des applications en laboratoire pour l'extraction d'huiles

essentielles de plantes aromatiques (**Chemat et al., 2004**). Cette technologie est une combinaison de chauffage micro-ondes et d'une distillation à la pression atmosphérique. Basée sur un principe relativement simple, cette méthode consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes, sans ajout de solvant organique ou d'eau. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante, permet la rupture des glandes renfermant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par le végétal. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, par la suite facilement séparable par simple décantation. D'un point de vue qualitatif et quantitatif, le procédé SFME semble être plus compétitif et économique que les méthodes classiques telles que l'hydrodistillation ou l'entraînement à la vapeur (**Lucchesi et al., 2004^a, Lucchesi et al., 2004^b**).

La composition de l'huile essentielle obtenue par ce procédé est bien souvent semblable à celle obtenue avec un procédé d'entraînement à la vapeur traditionnel. Toutefois, une plus grande proportion de composés oxygénés est généralement observée dans les huiles essentielles extraites par microondes.

Ceci est dû à la faible quantité d'eau présente dans le système et à la rapidité du processus de chauffage. Ainsi, les dégradations thermiques et hydrolytiques des composés oxygénés sont limitées (**Bendahou et al., 2007, Lucchesi et al., 2007**) Cette technique présente donc beaucoup d'avantages: technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées (**Lucchesi et al., 2004^a**).

III.7. Méthodes de séparation et d'identification des huiles essentiels

Pour l'analyse des huiles essentielles, ou du moins pour leur analyse chimique, de nombreuses techniques ont vu le jour durant la seconde moitié du siècle précédent. On peut alors distinguer les techniques de séparation des composants chimique des techniques de détection en proposant la classification suivante :

- Techniques chromatographiques de séparation :

- CCM
- HPLC
- CPG
- SFC
 - Techniques d'analyse sans séparation/fragmentation :
- UV
- IR
- MS
 - Techniques de couplage
- CPG-MS
- CPG-UV
- HPLC-CPG
- HPLC-MS
- CPG-IRTF
- SFC-CPG (**Benazzouz,2011**)

III.8. Techniques de séparation chromatographique

III.8.1. CCM ou chromatographie sur couche mince :

Il s'agit de la première et plus utilisée des techniques chromatographiques, elle fournit des informations simples quant aux caractères physicochimiques des composants d'un mélange. De nombreuses pharmacopées préconisent l'utilisation de cette technique vu sa simplicité pour la caractérisation des huiles essentielles en test de routine. Les fondements de la CCM appliquée aux huiles essentielles ont été établis par Stahl en 1969(**Stahl,1996^a**)(**Stahl,1996^b**) et par Geiss en 1987(**Geiss,1987**) qui ont étudié un nombre conséquent de métabolites secondaires de plantes aromatiques notamment. Puis en 2003 Shema et Fried (**Shema et Fried,2003**) ont publié le « Manuel de la CCM ». D'autres approches de la CCM ont donné naissance à la CCM haute performance puis à la CCM en surpression et à la chromatographie en rotation de phase (RPC) qui sont des techniques de flux forcé. Cependant cette technique est à indiquer pour la détermination rapide des différentes voies et/ou familles chimiques présentes dans une huile essentielle donnée. Pour donner un exemple Prasad I (1947) a réussi à isoler des hydrocarbures

sesquiterpenique en utilisant des couches imprégnées de nitrate d'argent et de perchlorate d'argent. Saritas est allé encore plus loin en isolant individuellement ces sesquiterpènes en 2000 (**Handbook of essential oils, 2010**).

III.8.2. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. La CPG est la technique usuelle dans l'analyse des huiles essentielles. Elle permet d'opérer la séparation de composés volatils de mélanges très complexes et une analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit (**Arpino et al., 1995**).

La CPG est aussi une méthode d'analyse. En effet, les temps de rétention peuvent donner une information sur la nature des molécules et les aires des pics fournissent une quantification relative. Depuis peu de temps, la quantification relative par CPG est remise en cause. En effet, l'utilisation des détecteurs les plus répandus à ionisation de flamme (DIF) et/ou de spectrométrie de masse (DSM), ne donnent pas un facteur de réponse unique. Pour certaines familles de composés chimiques, il peut y avoir une erreur relative pouvant atteindre 60%. En effet, le squelette et surtout la composition élémentaire des constituants organiques influent sur le facteur de réponse. Ainsi des méthodes de quantification réelle avec étalons interne et externe qui sont quasiment les seuls utilisés aujourd'hui et développées pour répondre aux exigences de la pharmacie, la cosmétique, l'agro-alimentaire et surtout le domaine de la recherche scientifique (**Bicchi et al., 2008**).

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 plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température programmé (indice de rétention) (**Lawrencet, 2000**).

III.8.3. Chromatographie liquide

En raison de place prépondérante de la CPG dans l'analyse des huiles essentielles, la chromatographie liquide n'est le plus souvent utilisée que pour des étapes préparatoires ou

semi-préparatoires. Ou à la limite pour l'isolation individuelle d'un composé en vue de son étude structurale. (Benazzouz,2011)

III.8.3.1. HPLC ou chromatographie liquide haute performance :

L'échantillon à analyser est poussé par une phase mobile dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie. Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire. La fine granulométrie de la phase stationnaire permet une meilleure séparation des composants. En effet, pour un même volume de phase stationnaire la surface d'échange augmente si les «grains » qui la composent sont de diamètre plus petit. Les pics obtenus sont plus étroits donc la résolution est améliorée (les pics sont bien séparés, on peut donc bien les différencier), le seuil de détection est également plus bas (des pics étroits et hauts sont plus faciles à isoler du bruit de fond que des pics larges et bas). La combinaison de ces attributs - rapidité et résolution élevées - conduit à l'appellation « haute performance ». (Benazzouz,2011)

Les solvants utilisés sont des combinaisons miscibles d'eau et de divers liquides organiques (alcools, acétonitrile, dichlorométhane...). Souvent, la composition de la phase mobile est modifiée au cours de l'analyse, c'est le mode dit « gradient » ou « élution graduée » (en opposition au mode « isocratique », pour lequel la composition de la phase mobile reste la même tout au long de l'analyse). Par exemple, sur une colonne apolaire, en utilisant un mélange eau/méthanol comme phase mobile, les composants les plus hydrophobes sont élués avec une concentration élevée en méthanol alors que les composants plus hydrophiles sont élués préférentiellement avec une concentration faible en méthanol. Selon la nature de la phase stationnaire, on commencera par une concentration élevée en méthanol ou le contraire. (Kubeczka,2010)

III.8.3.2. HPLC et huiles essentielles :

L'utilisation de la HPLC dans le domaine des huiles essentielles a été délaissée en faveur de la CPG aux résultats probants. Cependant l'analyse par HPLC a un certain nombre d'avantages, notamment lors de la recherche de composés thermolabiles c'est-à-dire difficiles à analyser par CPG. La principale limitation de cette technique réside dans la méthodologie d'analyse des terpénoïdes qui nécessitent un facteur de rétention se trouvant dans un intervalle étroit. D'où l'utilisation le plus souvent de colonne à gel de silice, du n-pentane comme phase

mobile, d'une température faible (-15°C en général) et d'un système de détection UV à 220 nm. Dans ces conditions-là, la majorité des hydrocarbures mono et sesquiterpénoïdes peuvent être séparés et analysés. (Nishii *et al.*, 1997)

III.8.4. Couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

D'un point de vue analytique, d'importants progrès ont été réalisés en couplant la CPG avec des appareils tels que le spectromètre de masse (SM). La CPG couplée à la SM est la technique de routine la plus utilisée pour l'analyse des huiles essentielles. Le principe de la spectrométrie de masse consiste à bombarder à l'aide d'électrons une molécule qui sera fragmentée; les différents fragments obtenus, chargés positivement, constituent le spectre de masse de cette molécule. Très souvent, le spectre de masse est caractéristique d'une molécule donnée et, en théorie, il est donc possible d'identifier un composé en comparant son spectre à ceux de composés de référence, contenu dans des bibliothèques de spectres informatisées commerciales (Adams, 2001).

Dans la pratique, l'utilisation conjointe de la spectrométrie de masse (utilisation conjointe de banques laboratoire et littérature) et des indices de rétention calculés sur deux colonnes de polarité différente en CPG, permet, en général l'identification d'un grand nombre de constituants dans les mélanges complexes tels que les huiles essentielles (Liang *et al.*, 2004; Senatore *et al.*, 2004).

III.9. Méthodes d'identification structurelle des huiles essentielles

III.9.1. Spectroscopie UV

La spectroscopie ultraviolet-visible ou spectrométrie ultraviolet-visible est une technique de spectroscopie mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine des ultraviolet (200 nm – 400 nm), du visible, et jusqu'au proche infrarouge (750 nm - 1 400 nm). Soumises à un rayonnement dans cette gamme de longueurs d'onde, les molécules

subissent une transition électronique. Cette technique est complémentaire de la spectroscopie de fluorescence en ce sens que la fluorescence met en jeu des transitions depuis l'état excité jusqu'à l'état fondamental alors que la spectroscopie d'absorption traite des transitions entre état fondamental et état excité. **(benazzouz,2011)**.

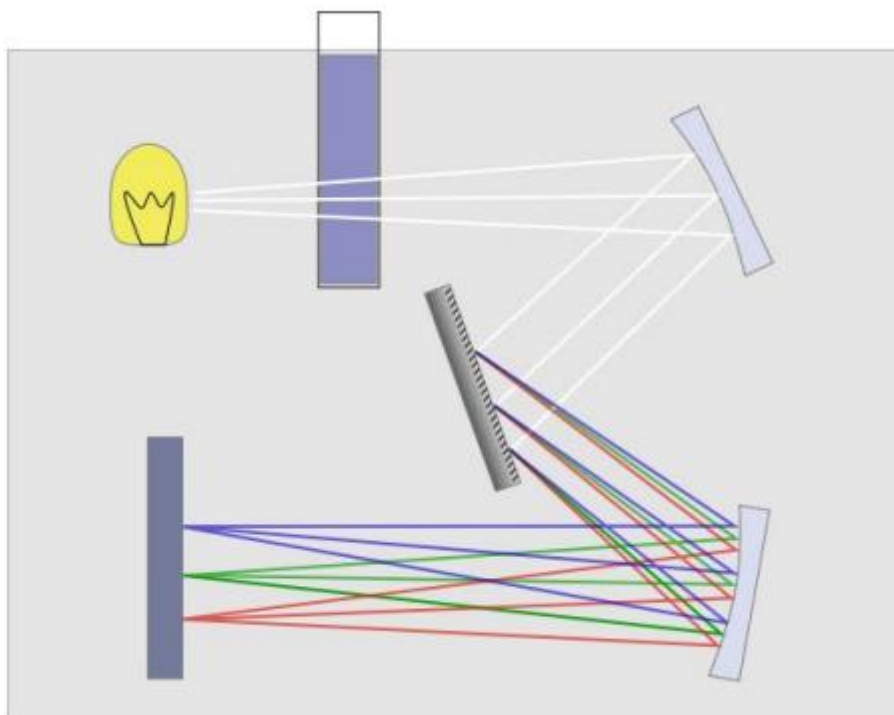


Figure 21. Principe d'un spectroscope UV-Visible **(Benazzouz,2011)**

III.9.1.1. Application aux huiles essentielles :

L'utilisation de cette technique pour l'analyse des huiles essentielles est assez restreinte dans la mesure où l'on ne peut pas obtenir d'information sur un composé chimique individuellement. Mais néanmoins pour la recherche des furanocoumarines, responsables de photodermatoses dans les huiles essentielles d'Hespérides , il s'agit d'une méthode à privilégier. Elle est recommandée par la Pharmacopée Européenne pour l'analyse de l'huile essentielle de citron vert. **(Benazzouz,2011)**

III.9.2. Spectroscopie infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge exploite le fait que les molécules possèdent des fréquences spécifiques pour lesquelles elles tournent ou vibrent en correspondance avec des niveaux d'énergie discrets (modes vibratoires). Ces fréquences de résonance sont déterminées par la forme des surfaces d'énergie potentielle, les masses atomiques et par le couplage vibronique associé. Afin qu'un mode vibrationnel dans une molécule soit actif dans l'infrarouge, il doit être associé à des modifications du dipôle permanent. En particulier, dans les approximations de Born-Oppenheimer et harmonique, lorsque le hamiltonien moléculaire correspondant à l'état fondamental électronique peut être approximé par un oscillateur harmonique au voisinage de la géométrie moléculaire d'équilibre, les fréquences de résonance sont déterminées par les modes normaux correspondant à la surface d'énergie potentielle de l'état fondamental électronique moléculaire. Néanmoins, les fréquences de résonance peuvent être dans une première approche liées à la force de la liaison, et aux masses atomiques de terminaison. Donc, la fréquence des vibrations peut être associée à une liaison particulière. Les molécules diatomiques n'ont qu'une seule liaison, qui peut être étirée. Les molécules les plus complexes ont beaucoup de liaisons, et les vibrations peuvent être conjuguées, ce qui conduit à des absorptions infrarouges à des fréquences caractéristiques qui peuvent être liées à des groupes chimiques. Ainsi par exemple, les atomes d'un groupe CH₂, que l'on trouve communément dans les composés organiques peut vibrer de six manières différentes : étirements (stretching) symétriques et antisymétriques, cisaillement (scissoring), bascule (rocking), agitation hors du plan (wagging) et torsion (twisting) : **(Bellanato et Hidalgo, 1971)**

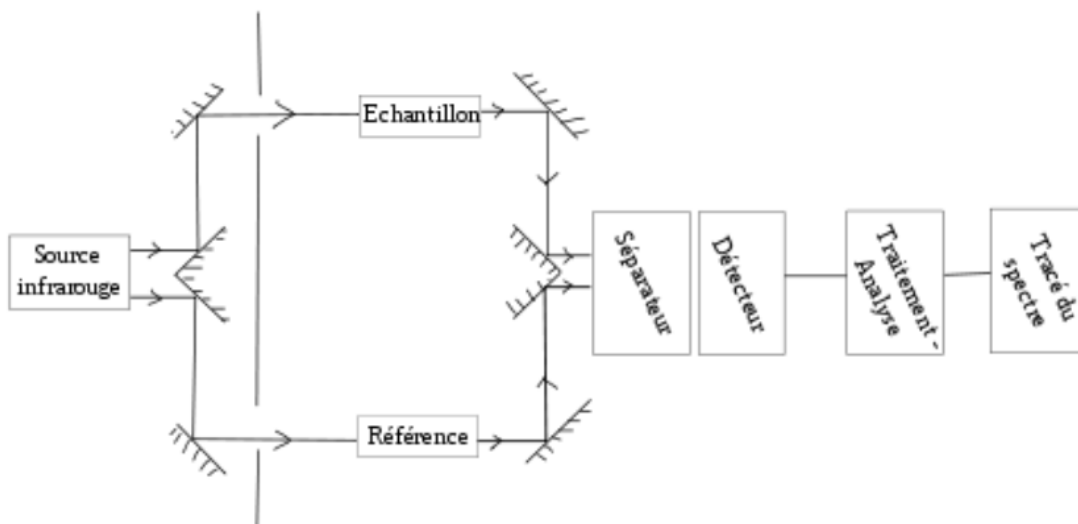


Figure 22. Principe de spectroscopie IR (Benazzouz,2011)

III.9.2.1. Application d'IR aux huiles essentielles

En dépit des faibles sensibilité et sélectivité de cette méthode dans le cas de mélanges à composants nombreux, en 1971 deux cents huiles essentielles ont été analysées pour la publication de « Infrared analysis of essential oils » qui est la référence du genre dans ce domaine (Bellanato et Hidalgo,1971) Seule, la spectroscopie infrarouge classique ne permet pas de mesures quantitatives.

Ceci étant dit pour la IR classique, les nouvelles techniques telles que la spectroscopie infrarouge à réflexion atténuée ou la NIR-FT remnan spectroscopy , ouvrent une nouvelle voie d'analyse des huiles essentielles puisque l'on peut identifier les composants des huiles essentielles en utilisant des références spectrographiques de composés chimiques purs.

L'avantage certain de ces techniques réside dans la facilité de contrôle de qualité des HE avec en prime la possibilité de quantifier et analyser les composants d'une HE In-Situ, c'est-à-dire sur du matériel végétal vivant (sans isolation préalable). (Benazzouz,2011)

III.9.3.La spectroscopie de masse

La spectrométrie de masse (mass spectrometry ou MS) est une technique physique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse, et de caractériser leur structure chimique.

Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge (m/z).

Le spectromètre de masse est souvent couplé avec un système de chromatographie en phase gazeuse, et cette association, d'une méthode séparative et d'une méthode d'identification, permet d'étudier des mélanges complexes à l'état de traces (quelques nanogrammes de mélange).

Le principe de la spectrométrie de masse est le suivant :

Un composé organique introduit dans le spectromètre de masse est ionisé par bombardement électronique à 70 eV. L'ion ainsi obtenu, appelé ion moléculaire, permet la détermination de la masse molaire du composé.

Il peut y avoir des ruptures des liaisons chimiques au sein de l'ion moléculaire, formant ainsi des ions fragments caractéristiques puisque cette dissociation éventuelle ne se fait pas au hasard mais selon des mécanismes bien déterminés.

Ces ions fragments sont ensuite séparés en fonction de leur rapport masse/charge par l'application d'un champ magnétique et/ou électrique, puis collectés par un détecteur.

L'ensemble de ces ions fragments constitue le spectre de masse dont la lecture permet l'identification de la structure moléculaire. **(Schultze et al.,1986-2010)**

III.9.3.1. Application aux huiles essentielles :

Il s'agit de la technique phare pour la détermination des structures moléculaires de composés isolés. Un spectre de masse d'huile essentielle montre toujours des ions moléculaires correspondant aux terpénoïdes avec un rapport M/Z de 136,148,152 et 154. Et par des techniques de focalisation sans séparation préalable on observe les ions métastables de composés tels que l'anéthol, le fenchone, le borneol et le cineol.. Et une variante consiste en l'introduction directe d'une partie de la plante à HE (0.1-0.2mg) qui libère par chauffage les composés volatils détectés classiquement. **(Kubeczka,1989)**

CONCLUSION

Conclusion

Dans le domaine de la recherche biologique, beaucoup d'efforts ont été réalisés ces dernières années pour la recherche de nouveaux traitements à base de plantes.

Cette recherche vise à avoir une vision globale des propriétés et des usages des plantes médicinales, qui sont actuellement une référence pour les soins des personnes et à essayer d'éviter tout ce qui est chimique. A cet effet, nous avons étudié les huiles essentielles extraites d'herbes médicinales et leurs propriétés chimiques et physiques et les méthodes d'extraction modernes qui facilitent la voie aux chercheurs et aux spécialistes du domaine est dans le but d'exploiter tous leurs bienfaits et de diffuser le bénéfice et comment utiliser ces huiles dans le domaine médical et pharmaceutique plus qu'avant pour réduire les effets secondaires de tout ce qui est chimique et aussi bien l'arrive à des rendements de production de mieux en mieux .

Ces substances naturelles ont un grand intérêt dans la recherche pharmacologiques pour trouver des alternatifs aux antibiotiques. Actuellement, les produits naturels sont utilisés aussi dans des préparations alimentaires principalement comme aromatisants et par les industries cosmétiques et pharmaceutiques, par exemple les parfums et les additifs et dans la sécurité alimentaires (la phytopathologie) ,et des activité antimicrobiennes , antibactérienne ,antifongique ,anticancéreuse et antioxydant.

En second lieu beaucoup de scientifiques, dans le monde entier ont effectués des recherches sur les huiles essentielles pour leur trouver des activités pharmacobiologiques. Rien que dans notre recherche qui consiste en une mise à jour bibliographique des dernières recherches d'applications thérapeutiques possibles.

Néanmoins, sans oublier qu'il y a des dangers toxicologiques aux huiles essentielles, elles ne doivent donc pas être utilisées sans précaution et sans connaissance préalable. Surtout pour les enfants et les femmes enceintes, ainsi que ceux qui ont une faible immunité et une insuffisance hépatique et rénale.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Adams RP.**, 2001. Identification of essential oils components by gas chromatography / quadrupole mass spectroscopy. 4th ed. Allured Publ.Corp., Carol stream, IL. P:445.
- Alloun Kahina**,(2018) .ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE ; EL HARRACH–ALGER.
- Aouina, M., & LAKHDARI,S.** (2019). *Biologie des huiles essentielles de la famille des Lamiaceae* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- APG** : Angiosperms Phylogeny Group. III (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plantes: APG III. Bot. J. Linn. Soc.;161: 105-121.
- Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P.**, 1995. Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Ed Masson, Paris.
- Balz R.**,(1986) Les huiles essentielles. Éditions Crest, Eygluy-L'escoulin.
- Bekhechi, C., abdelouahid, D.** (2010).*les huiles essentielles*. Office des publications universitaires.
- Bellanato, J. and A. Hidalgo**, 1971. Infrared Analysis of Essential Oils. London: Heyden& Son Ltd.
- Bellakhdar J.**,(1997) la pharmacopée Marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis press. Paris
- Bernard, I.W., Edward, J.K.** (2008), Food chemisty 107, p. 813-819.
- Bowles EJ.**, (2004). The chemistry of aromatherapeutic oils.. 3rd Ed. Crows Nest, NSW: Allen & Unwin Academic.
- Benarab, H.** (2021). Effets des huiles essentielles de l'Armoise blanche (*Artemisia herbaalba* Asso.), l'Eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) et le Harmel (*Peganum harmala* L.) sur la germination des graines des adventices des cultures. Thèse de doctorat. Univ. Stif, p.16.
- Benazzouz, M. A.** (2011). *Les huiles essentielles, importance et potentialités: Mise à jour bibliographique des dernieres recherche sur leurs, emplois et toxicité, et analyse de la composition des huiles essentielles de quinze plantes des plus consommés au Maroc* (Doctoral dissertation).

- Bendahou M., Muselli A., Grignon-Dubois M., Benyoucef M., Desjobert JM., Bernardini JF., Costa J.**, 2007. Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chem.* 106:132-139.
- Bhar, H., Balouk cne, A.** (2011). Les plantes romantiques et médicinales. L'espace marocain N68, p.26-28.
- Bhavna, S., Chandrajeet, B., Partha, R.** (2008), *Food and chemical Toxicology* 46, p. 2376-2383 .
- Bicchi C., Liberto E., Matteodo M., Sgorbini B., Mondello L., d'Acompara Zellner B., Costa R., Rubiolo P.**, 2008. Quantitative analysis of essential oils: à complex task. *Flavour Fragr. J.* 23 : 382-391.
- Boudilmi, I., Boudilmi, S** (2021). *Substances Naturelles Végétales Et Activités Biologiques D'une Lamiaceae* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).
- Boudilmi I., et Mehoulas Y.**(2019), Huile essentielle de figue de barbarie (*Opuntia ficus indica*); UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA.
- Bouguerra Nourelhouda, AGGOUNE Asma ,SAADI Rania.**(2021). Etude Comparative des méthodes d'extraction des huiles Essentielle dans les plantes. Diss. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA.
- Bounasla, Y. et Kouidri A.** (2008). *UTILISATION DES RUTACEAE DANS LA LUTTE ANTI-BACTERIENNE* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- Bousbia, N.** (2011). *Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires* (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).
- Boutefnouchet S., Champy P., Girard C., Grovel O., Hennebelle T., Poupon E. et Seguin E.** (2020). Pharmacognosie: Obtention et propriétés des substances actives médicamenteuses d'origine naturelle. Elsevier Health Sciences. 504p.
- Bruneton J.**(1993) .Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinale. Paris, Lavoisier, Technique et documentation.
- Bruneton J.**, 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Ed. Paris: Tec& Doc Lavoisier. Paris, 1120 p.
- Caillet S., Lacroix M.**, 2007. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et

leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (*RESALA*).
P :1- 8.

Chaaib kouri F., (2004). *Investigation phytochimique d'une brosse à dent africaine Zanthoxylum zanthoxyloides (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. Fagara zanthoxyloides L.) (Rutaceae)*. Thèse de doctorat. Université de Lausanne. France, 200 p.

Chemat F., Lucchesi ME., Smadja J., 2004. Solvent-free microwave extraction of volatile natural substances. *Brevet Américain*, US 2004/0187340 A1.

Chun, L.Y., Jian,W. L., Dong, Z.W., Yan, H.L., Feng, Q. (2004),*Pharmacological Research* 50, p. 505-510.

Cimanga,K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., Bruyne,T.D., Hermans, N., Totté, J.,Pieters, L., Vlietinck, A.J. (2002), *Journal of Ethnopharmacology* 79, p. 213-220.

Cimino C., Maurel O-M., Musumeci T., Bonaccorso A., Drago F., Souto E- M-B. and Carbone C. (2021). Essential oils: pharmaceutical applications and encapsulation strategies into lipid-based delivery systems. *Pharmaceutics* .13(3) : 327.

Da Silva F., (2010). *Utilisation des huiles essentielles en infectiologie ORL*. Thèse de Doctorat, Pharmacie, Université Henri Poincare - Nancy 1, 6 ; 26 ; 29 ; 45p.

Daniel M. *Medicinal Plants: chemistry and properties*; 2006.Ed: SCIENCE PUBLISHERS.
P: 59,77.

Danielski L., Campos L., Bresciani L., Hense H., Yunes RA., Ferreira S. (2006) – Marigold (*Calendula officinalis L.*) oleoresin : Solubility in SC-CO₂ and composition profile, *Chemical Engineering and Processing*.

Debuigne G.,(1974) .*Larousse des plantes qui guérissent*, Ed. Larousse.

Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., et Mnif, W. (2016). Caractérisation chimique des huiles essentielles et investigation de certaines activités biologiques: un examen critique. *Médicaments* 3 (4): 25-31.

Dupont F. and Guignard J.L. (2012). *Abrégés de pharmacie. Botanique: les familles de plantes*. 15 ème édition.

Duval, D. (2007) «Cours de chimie organique», Université de Nice-Sophia Antipolis, , à consulter sur: http://www.unice.fr/chim-org/data/terpenes_def.pdf.

Fadi, Z. (2011). *le romarin, Rosmarinus Officinalis," le bon procédé d'extraction pour un effet thérapeutique optimal''* (Doctoral dissertation).

FAO (2012). *L'état des ressources génétiques forestières mondiales. Rapport national Algérie.* Rome : FAO. <http://www.fao.org/3/a-i3825e/i3825e0.pdf>.

Fasty D., 2007. Ma bible des huiles essentielles. Leduc Editions. P :20.

Franchomme P., Péroël D., 1990. L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. P:445.

Garcia-Gonzalez R., Lopez S., Fernandez M., Gonzalez J.S., 2008. Dose-response effects of Rheum officinale root and Frangula alnus bark on ruminal methane production in vitro. *Animal Feed Science and Technology.* 145 : 319–334.

Gausсен H., Ozenda P. et Leroy J.F.(1982). *Précis de botanique, végétaux supérieurs. Tome II,* Ed. Masson, Paris, 600p

Goudjil Bilal, Mohamed. (2016). "Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques." *UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA FACULTE.*

Grattapaglia, D., Vaillancourt, R.E., Shepherd, M., Thumma, B.R., Foley, W., Külheim, C., Potts, B.M., and Myburg, A.A. (2012). Progress in Myrtaceae genetics and genomics: Eucalyptus as the pivotal genus. *Tree Genet. Genomes* 8, 463–508.

Grété, P. (1965), Précis de botanique, Systématique des angiospermes Tome II ; 2ème édition révisée , Faculté de Pharmacie de Paris – Masson , p. 429.

Guignard, J.-L., Dupont, F. (2004). *Botanique systématique moléculaire*, 13ed MASSON, Belgique, p234-237.

Guy Deysson, (1979) organisation et classification des plantes vasculaires. Tome(2), deuxième partie systématique; SEDES, paris. pp. 326-329-331.

Hahlbrock, K.; Scheel, D. «Physiologie et biologie moléculaire du métabolisme phénylpropanoïde w, *Revue annuelle de physiologie végétale et biologie moléculaire* 1989, 40, 347-369.

Handbook of essential oils : science, technology, and applications / K. Hüsnü Can Baser, Gerhard Buchbauer.2010 p p12.

Herman, RA, Ayepa, E., Shittu, S., Fometu, SS et Wang, J. (2019). Huiles essentielles et leurs applications - Une mini revue. *Advances in Nutrition & Food Science* , 4 (4), 1-13.

Hideo, O., Akio, M., Yasuko, Y., Mitsuru, N., Yoshimasa, T. (1993), *Phytochemistry* 33, p. 557-561.

Husnu can baser K., Buchbauer G., 2010. Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Application. Ed: CRC PRESS, TAYLOR & FRANCIS., P: 121.

Ilbert, H., Hoxha, V., Sahi, L., Courivaud, A., & Chailan, C. (2016). Le marché des plantes aromatiques et médicinales: Analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie.

Institut Européen des substances végétales. (2017). Les plantes médicinales. YIESVLIP-RV04. 51p.

Jean- Claude laberche, (1999), biologie végétale 2eme edition Dunod, paris, 2004-55,56,57.

Judd W.S., Cambeil C.S., Kellogg E.A. et Stevens P. (2002), *Botanique systématique une perspective phylogénétique* 1^{er} édition. Ed De Boeck, Paris, 540 p.

Kamarul'Ain, M., Nigel, B.P., Rex, T. W. (2003), *Phytochemistry* 64, p. 1285-1293.

Kubeczka, K.H., 1981b. Application of HPLC for the separation of fl avour compounds. In *Flavour* 81, P. Schreier (ed.), pp. 345–359. Berlin, New York: Walter de Gruyter & Co. In handbook of EO from K. Hüsni Can Bas,er Gerhard Buchbauer 2010 by Taylor and Francis Group, LLC.

Kubeczka, K.H., 1989. Studies on complex mixtures: Combined separation techniques versus unprocessed sample analysis. Handbook of essential oils : science, technology, and applications / K. Hüsni Can Baser, Gerhard Buchbauer.2010 .

Lahlou M., (2004). Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour .Fragr. J* .19, 159–165.

Lardry, J. M., & Haberkorn, V. (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, la revue*, 7(61), 14-17.

Lawrencet Brian M., 2000. Essential oils: from agriculture to chemistry. *J.Aromatherapy*. 10: 82-98.

Liang YZ., Xieb P., Chan K., 2004. Quality control of herbal medicines. *J. Chromatogr. B*,

812: 53-70.

Ling, L.Y., Chih, Y.L., Kun, Y.Y. (2000), Cancer letters 157, p. 65-75.

Lucchesi M. E.,(2005) Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, Université de La Réunion: thèse.

Lucchesi ME., Chemat F., Smadja J., 2004a. Solvent free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. *J. Chromatogr. A.* 1043: 323-327

Lucchesi ME., Chemat F., Smadja J., 2004b. An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices», *Flavour. Fragr. J.* 19: 134-138

Lucchesi ME., Smadja J., Bradshaw S., Louw W., Chemat F., 2007. Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *J. Food .Engineer.* 79 :1079- 1086.

Madhavi DL., Deshpande SS., Salunkhe DK., 1996. Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. P: 65.

Mamadou, R.S. (2014), Etude phytochimique, activités antiradicalaire, antibactérienne et antifongique d'extraits de *Sebastiania chamaelea* (L.) Müll. Arg. Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie,. 37: p. 10-17.

Mario, J.S., Seiji, A., Satoshi, T., Yang, H., Kurt, A.R., Margaret, J.B., Roberto, R.G., Nguyen, T.D., Vivek, K.B., Jung, I.Y., Sun, C.K. (2009), Food and chemical Toxicology 47, p. 449-453.

Mnayer Dima,(2014), Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants, Thèse Présentée pour obtenir le grade de Docteur en Sciences de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse SPECIALITE .

Mokkedem O. (2004). Les plantes médicinales et aromatiques en Algérie : situation et perspectives. In : *Actes du séminaire international sur le développement du secteur des plantes aromatiques et médicinales dans le bassin méditerranéen, Djerba, 1-3 juin 2004.* IRA-ICARDA, ARS-USDA. p. 28-36.

Morio, Y., Hideyuk, I., Kyoko, M., Tsutomu, H., Shoko, T., Yoshiaki, A., Takashi, Y. (2008),Phytochemistry 69, p. 3062-3069.

- Neche, Z.**, (2019). *Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de Mélissa officinalis* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- Nguyen, T.D., Jung, M.K., Sun, C.K.** (2008), *Food and chemical Toxicology* 46, p. 3632-3639.
- Nishii, Y., T. Yoshida, and Y. Tanabe**, 1997. Enantiomeric resolution of a germacrene-D derivative by chiral high-performance liquid chromatography. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 61: 547-548.
- Oldrich, L., Klejdus, B., Ladislav, K., Michaela, D., Khaled, A., Vlastimil, K., Richard, H.** (2005), *Biochemical systematics and Ecology* 33, p. 983-992.
- Ouis, N.** (2015). *Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, des fenouils et de persil*. Diss. Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger.
- Ozenda, P.** (1991, 2004). *Flore et végétation du Sahara*. 3ème Ed. CNRS Edition, Paris. P.399.
- Pacchioni I.** (2010). *Aromathérapie : 150 vrai/faux sur les huiles essentielles*. Editions du Rocher, Monaco. 136p.
- Pauli A.**, 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int. J. Aromather.* 11 : 126-133.
- Pierre Vican et al.**, (1996, 2001) Larousse des plantes médicinales 2nd édition copyright © Dorling kindersley limited, Londres page: 246-85-190.
- Quezel, P., Santa, S. (1963)**, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ; Tome II, CNRS, Paris.
- Ramadan, W., B. Mourad, S. Ibrahim, and F. Sonbol**, 1996. Oil of bitter orange: New topical antifungal agent. *Int. J. Dermatol.*, 35: 448-449.
- Rezzag, S., & ZAH, S.** (2021). ETUDE STATISTIQUE SUR L'INFLUENCE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES SUR L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANT (Doctoral dissertation, university ghardaia).
- Richard F.**, 1992. Manuel des corps gras, Paris, Ed: Lavoisier, Tec.&Doc. P :1228-1242.
- Rosa, M.P.G., Sylvia, M., Rosario, V.S.** (2008), *Journal of Ethnopharmacology* 117, p. 1-27.
- Rubiolo, P., Sgorbini, B., Liberto, E., Cordero, C., & Bicchi, C.** (2010). Huiles essentielles et volatils : préparation et analyse d'échantillons. Une critique. *Journal des saveurs et parfums* , 25 (5), 282-290.

Ryma, L.,(2016). *Valorisation des huiles essentielles et des extraits de Satureja calamintha nepeta: activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide* (Doctoral dissertation, Université BADJI Mokhtar Annaba).

Salle J.L. et Pelletier J. (1991) - Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche, pp.19-45.

Sallé J.L., 1991. « Les huiles essentielles; Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie ». Edition Frison- Roche, Paris, 21 P.

Satchell, A.C., A. Saurajen, C. Bell, and R. StC. Barnetson, 2002a. Treatment of dandruff with 5% tea tree oil shampoo. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 47: 852–855.

Schultze W., Lange G., et Heinrich G.(1986).Analysis of dried plant material directly introduced into a mass spectrometer. (Part I of investigations on medicinal plants by massspectrometry).In *Handbook of essential oils : science, technology, and applications* K. Hüsnü Can Baser, Gerhard Buchbauer.2010.

Senatore F., Arnold NA., Piozzi F., 2004. Chemical composition of the essential oil of *Salvia multicaulis* Vahl. var. *simplicifolia* Boiss. growing wild in Lebanon. *J. Chromatogr. A.* 1052 : 237-240.

Shahi, S.K., A.C. Shukla, A.K. Bajaj, et al., 2000. Broad spectrum herbal therapy against superficial fungal infections. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, 13: 60–64.

Shema, J. and B., Fried 2003 (eds). *Handbook of Thin-Layer Chromatography*, 3rd ed. , New York: Marcel Dekker.

Singh S.R., Jackai L.E.N., Dos Santos J.H.R. et Adalla C.B., 1990. Insect pests of cowpeas. In “Singh S.R. (eds), *Insect Pests of Tropical Food Legums*”. John Wiley and sons, Chichester, p.p. 43-89.

Singh, Gurjaran (2004).*systematique d'usine: une approche intégrée*. Enfield, New Hampshire: éditeurs de la science.pp.438-440-ISBN 1-57808-342-7.

Stahl, E., (1969^a). thermo micro procedure for rapid extraction and direct application in thin-layer chromatography. *Analyst*, 723–727.

Stahl, E. (ed.), (1969^b). *Thin-Layer Chromatography.. A Laboratory Handbook*, 2nd

ed. Berlin: Springer.

Stankovic, M. (2020). *Lamiaceae species biology, Ecology and practical uses*, Serbia, p.10.54.

Tabti, M.-E., tahdjerit, O. (2017). *étude taxonomique de quelques populations de Salvia verbenaca ssp. Euverbenaca et ssp.clandestina (Lamiaceae) du golfe de Bejaia et de la vallée de la Soummam. Mémoire de l'obtention du diplôme master on taxo-génétique végétale et évolution.univ. Bejaia.*

Thornhill, A.H., Ho, S.Y.W., Külheim, C., and Crisp, M.D. (2015). Interpreting the modern distribution of Myrtaceae using a dated molecular phylogeny. *Mol. Phylogenet. Evol.* 93, 29–43.

Toure, D. (2015). *Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire* (Doctoral dissertation, Université Felix Houphoet Boigny, Côte d'Ivoire).

Valnet J. (1984) - *Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes*. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544.

Vermeulen F, johnston MD L. (2011). *Plants, homeopathic and medicinal uses from a botanic family perspective*. Volume 3. Glasgow: Saltire Books : pp. p. 729-745.

Viuda Martos M., Mohamady MA., Fernández López J., Abd El Razik KA., Omer EA., Pérez Alvarez JA., Sendra E., (2011). In vitro antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control.* 22: 1715-1722.

Yeshi, K., & Wangchuk, P. (2022). Les huiles essentielles et leurs molécules bioactives en santé. Dans *Biomolécules à base de plantes dans les applications de soins de santé* (pp. 215 237). Presse académique.

Zeghib, A.; Laggoune, S.; Kabouche, A.; Semra, Z.; Smati, F.; Touzani, R.; Kabouche, Z. (2013). Composition, antibacterial and antioxidant activity of the essential oil of *Thymus numidicus* Poiret from Constantine (Algeria). *Der Pharmacia Letter.*, 5, 206-21.

Site Web:

<https://alchetron.com/Myrtaceae#myrtaceae-3caf1267-7d1a-4d2b-b803-a41173eb7f8-resize-750.gif> Updated on Jun 17, 2020

<https://guy-chaumeton.pagesperso-orange.fr/2dtp02chc.htm>.