

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



Université Abbès Laghrou Khenchela
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

*Etudes des huiles essentielles et leurs
activités biologiques*

Présenté par :

Chaouch Fatiha et Laihi Oussama

devant

Jury de soutenance

-Président: Dr. BENSSADA Mustapha MCB. Univ. Abbès Laghrou – Khenchela
-Encadreur: Dr. HABIBATNI Sofiane MCB Univ. Abbès Laghrou – Khenchela
-Examineur: Dr. HAMADA Youcef MAA Univ. Abbès Laghrou -Khenchela

Année universitaire : 2020-2021

DEDICACES

*Au nom du DIEU clément et miséricordieux et que le salut de
DIEU soit sur son prophète MOHAMMED*

Je Dédie ce Modeste travail aux êtres qui me sont les plus chères dans ma vie :

A ma très chère mère, cette fontaine d'amour et de tendresse

Amon cher père qui m'a énormément aide dans ma vie avec ses conseils et sa sagesse.

Et je dédie a ma chère épouse et mes filles « Imen, Eline, Aya et Aroua ».

Pour toute l'aide et le soutien dans tous les moments les plus difficiles.

A mes très chères soeurs « Amira et Sara » pour leur amour.

*A mes chères frères « Imad eddine, Mounir , Mouhcen, Radouane et Med Djaber» Pour
leur amour et patience.*

A tous mes oncles et tantes.

A toute ma famille.

*A mes très chères amies « Sofiane, Toufik, Sifou, Housseem et Wahab » qui ont été mon
ombre toute au long de ce parcours a qui je souhaite une vie pleine de bonheur.*

*A tous mais amies et collègues et tous les étudiants du Faculté des Sciences de la Nature et
de la Vie*

. Et a toute la promotion 2121.

Oussama

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le *DIEU* tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la patience, pour mener au bien et à terme ce travail.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toutes nos reconnaissances.

*Nous adressons toutes nos gratitudee et nos remerciements au Docteur *HABIBATNI Sofiane*, pour avoir accepté l'encadrement scientifique et technique de ce travail, et de l'avoir suivi minutieusement jusqu'à sa fin, et aussi pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions.

* Nous désirions remercier également le Docteur *BENSSADA Mustapha* pour avoir accepté la présidence du jury au l'examen de ce travail et aussi, le Docteur *HAMADA Youcef* Pour avoir accepté la participation à l'examination de ce travail et qui nous ont fourni les outils nécessaires à la réussite de ce sujet.

*Je voudrais tout d'abord remercier le professeur **wahid chaouch** pour les encouragements, et l'exprimer toute nous reconnaissance pour la confiance et le grand soutien, pour le temps qu'elle nous a consacré toute les fois que cela était nécessaire, pour ses conseils précieux qu'elle nous a prodiguée tout le long de notre travail, et pour son aide

Nos grands remerciements aussi à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation à
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

En fin, nous tenons à exprimer notre reconnaissance à ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce projet et à tous mes amis et collègues pour le soutien.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents et le frère wahid pour les encouragements, tendresse, l'affection et le soutien durant mes études : vous étiez toujours là pour m'écouter, me sourire, me réconforter et m'encourager dans les moments de doute... Je souhaite que vous trouverais ici le fruit de vos sacrifices. Que dieu vous bénisse et vous accorde une longue vie pleine de sante et de bonheur.

Mes très chères soeurs ; Assma warda, hayet, souad, yamina, merci pour vos aides, vos encouragements et vos précieux conseils. Que le dieu les protèges et les gardent en bonne santé.

A ma plus belle cousine qui je la considère comme sana soumaie A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin. Tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Fatiha

Liste des abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique

ADP : Acide désoxyribonucléique

AFNOR : Association Française de Normalisation

ARN : Acide ribonucléique

ATPase : Adénosine Triphosphatase

°C : Degré Celsius

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

CO₂ : Dioxyde de carbone

CT : Chémotype

EFS : Extraction de fluide supercritique.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

HE : huile essentielle

ISO : International Standard Organisation

NADPH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

SM : Spectrométrie de masse

UV : Ultra Violet

Liste des figures

Figure1 : La biosynthèse des huiles essentielles	12
Figure 2 : Les composées phénols.....	13
Figure 3 : Les structures des huiles essentielles.....	14
Figure 4 : Les structures des huiles essentielles.....	14
Figure 5 : Les composées monotèrpnols.....	15
Figure 6 : Entraînement à la vapeur d'eau.....	38
Figure 7 : Hydrodifusion.....	39
Figure 8 : Hydrodistillation.....	40
Figure 9 : Extraction on continu.....	41
Figure 10 : Schéma de préparation de l'extrait de rose.....	42
Figure 11 : Les différents types d'extraction par solvants volatifs.....	43
Figure 12 : Le spectre électromagnétique.....	45
Figure 13 : Schéma d'un four micro onde monomode A et multimode B.....	46
Figure 14 : transferts thermiques sous les deux modes de chauffage.....	47
Figure 15 : Frissonnement des dipôles soumis à une irradiation micro-onde.....	49
Figure 16 : L'extraction par solvant assistée par micro onde.....	49
Figure 17 : L'extraction sans solvant assistée par microonde.....	51
Figure 18 : Extraction des huiles essentielles enfleurage.....	53
Figure 19 : Extraction au CO2 supercritique.....	54

Sommaire

REMERCIEMENTS	I
LISTE DES ABREVIATIONS	IV
LISTE DES FIGURES.....	V
TABLE DES MATIERES	VI
Introduction	1
Chapitre I : COMPOSITION ET CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES	
1 – les huiles essentielles.....	3
1.1 – Histoire et Origine.....	3
1.2 – Définition et localisation.....	3
1.3 – Classification	4
1.4- Composition	5
1.4.1- Les composés volatils des huiles essentielles.....	6
1.4.2- Chémotypes	7
1.5- Les facteurs influençant la composition	7
1.6- La variabilité de la composition chimique	8
1.7 - Les constituants des huiles essentielles (biosynthèse)	9
1.8 - Structure de quelques constutians.....	12
2. Rôle d’une huile essentielle dans la plante.....	15
3. Domaine d’utilisation des huiles essentielle.....	16
4. Cadre règlementaire.....	17
Chapitre II Activités biologiques et antimicrobienne des huiles essentielles	
1- Activités biologiques des huiles essentielles.....	19
2- Activités antimicrobienne des huiles essentielles.....	20
2.1- Facteurs déterminants le degré d'activité antimicrobienne.....	22
2-1-1- Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	22
2.1.1.1- Méthode de diffusion en milieu solide.....	22
2.1.1.2- Méthode de dilution en milieu liquide.....	23

2.1.1.3- Dilution en bouillon.....	23
2.1.1.4- Dilution en gélose.....	23
2.2- Activité liée à la composition chimique.....	23
2.3- Le type des microorganismes cible.....	24
2.4- Mode d'action des huiles essentielles.....	25
3- Activité antioxydant des huiles essentielles.....	26
3.1- Différents types des radicaux libres.....	26
3.2- Origine et production des espèces réactives oxygénées.....	27
3.3- Dommages oxydatifs des radicaux libres.....	28
3.4- Moyens de défense contre les radicaux libres.....	28
4- Activité pharmacologiques.....	30
5- Mécanismes d'action des huiles essentielles.....	32
5.1 - Activité inflammatoire	32
5.2- Activité antimicrobienne	33
5.2.1- Activité antibactérienne	33
5.2.2- Activité antifongique.....	34
6. La toxicité des huiles essentielles.....	36
7. Précautions.....	37
 Chapitre III : EXTRACTION ET ANALYSES DES HUILES ESSENTIELLES	
1 – Les techniques d'extraction des huiles essentielles	38
1.1- Entraînement à la vapeur d'eau.....	38
1.2- Hydrodistillation et ses variantes	39
1.3- Expression à froid	40
1.4- Distillation (sèche)	41
1.5- L'extraction par solvants.....	42
1.6- L'extraction assistée par chauffage microonde	43
1.6.1- Les microondes.....	43
1.6.2- Technologie du four à micro onde	45
1.6.3- Le chauffage micro onde	47
1.6.4- L'extraction sans solvant assisté par chauffage microondes	50

1.6.5- Montage d'extraction assistée par micro ondes sous vide pulsé.....	52
1.6.6- L'hydrodistillation assistée par chauffage microonde.....	52
1.7- Enfleurage.....	52
1.8- Extraction au CO ₂ supercritique	53
2-Méthodes de conservation des huiles essentielles.....	55
3- Méthodes d'analyse des huiles essentielles.....	55
Conclusion.....	59
Références bibliographiques.....	61
Résumé	62

INTRODUCTION

Introduction :

L'utilisation des plantes comme source de médicament a été exploitée depuis des millénaires par l'homme, certains produits naturels d'origine végétale sont devenus des alternatives efficaces aux composés chimiques qui ont plusieurs effets indésirables sur la santé (Fernnell *et al.*, 2004).

Ainsi l'utilisation des conservateurs chimiques ajoutés largement dans de nombreux produits alimentaires pour empêcher principalement la croissance des champignons de détérioration et des microbes pathogènes, causent des effets néfastes sur la santé humaine. Par conséquent les consommateurs et les autorités ont accentué la pression sur les fabricants d'aliments pour remplacer les additifs artificiels nocifs par une alternative des substances naturelles plus efficace et non toxique (Burt, 2004).

L'utilisation des plantes pour se soigner vient essentiellement d'une prise de conscience des malades et de leur désir profond de revenir aux produits naturels et efficaces; possédant de nouvelles propriétés pharmacologiques dues à de nouveaux principes actifs et avec des nombreuses activités biologiques pour traiter à la fois plusieurs affections. Dans ce contexte, l'utilisation des composés naturels avec une activité antimicrobienne et antioxydante démontrent un large éventail d'activités biologiques et pharmacologiques et sont considérés comme ayant des effets bénéfiques en nutrition et santé (Gautam *et al.*, 2014).

Cependant cette utilisation demande une confirmation scientifique et des recherches approfondies doivent être menées. En Algérie, comme dans tous les pays du monde, plus de 20 000 plantes aromatiques médicinales sont utilisées en médecine traditionnelle (Meissner, 2004). *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fait partie de ces plantes aromatiques médicinales longtemps oubliées puis redécouvertes.

Les plantes médicinales ont des propriétés curatives en raison de la présence de divers constituants bioactifs importants (tels que les composés phénoliques, flavonoïdes, alcaloïdes, tanins et terpénoïdes). Les huiles essentielles sont l'un des plus importants produits naturels provenant de plantes pour leurs diverses propriétés biologiques à usages médicamenteux (Elshafie *et al.*, 2015).

Les plantes productrices des huiles essentielles ont été utilisées aussi depuis des milliers d'années. L'exploitation de ces métabolites végétaux a commencé au XIXe

siècle, et le plus souvent suivie par la détermination de leur composition chimique et leur activité biologique presque exempts d'effets secondaires. Les principaux avantages de phytothérapie semblent être leur efficacité perçue, la faible incidence d'effets indésirables graves et à leur faible coût (Joseph *et al.*, 2015).

L'objectif général de ce travail est d'étudier les huiles essentielles leur composition chimique, leurs activités biologiques, antibactériennes et antioxydantes.

- Les méthodes d'extraction des huiles essentielles.
- Les méthodes des analyses des huiles essentielles.

CHAPITRE /

Chapitre I : COMPOSITION ET CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES

1. Les huiles essentielles :

1.1. Histoire et origine :

Les utilisations des substances odorantes des plantes sont connues depuis l'Antiquité. Les premiers textes relatant l'utilisation d'*huiles fines* et de parfums sont des papyrus hiéroglyphes égyptiens datant de plus de 2 800 ans. Le papyrus Ebers en Égypte ainsi que les récits d'Hérodote, de Pline et des médecins Dioscoride et Galien montrent que les Égyptiens utilisaient les huiles extraites des plantes, les parfums et les essences de plusieurs plantes aromatiques, auxquels ils recouraient pour la pharmacologie et l'embaumement. Ils connaissaient trois méthodes pour extraire les huiles essentielles, la macération, l'enfleurage et une forme archaïque de distillation.

Les civilisations chinoises et indiennes employaient également les huiles essentielles pour les soins thérapeutiques et cosmétiques : l'empereur Chen Ning rédigea un traité de phytothérapie, et l'on sait qu'en Inde, la médecine ayurvédique et les livres sacrés des *Védas* connaissaient plus de sept cents épices (basilic, cannelle, nard, myrrhe, santal, entre autres) et on utilisait les parfums à des fins liturgiques et thérapeutiques.

Plus généralement la phytothérapie, l'utilisation de substances issues des plantes dans la médecine, est connue de toutes les civilisations. La naissance de l'aromathérapie moderne est due au chimiste René Maurice Gattefossé, dans les années 1920.

1.2. Définition et localisation

L'huile essentielle est définie selon la norme AFNOR NF T 75-006 comme «un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation» (AFNOR, 1980). Des procédés physiques sont utilisés pour séparer et récupérer l'huile essentielle de la phase aqueuse après hydrodistillation, par exemple la décantation en utilisant un solvant plus volatil que l'eau (éther diéthylique, pentane). Les huiles essentielles sont des liquides huileux volatiles, aromatiques, concentrés et hydrophobes qui proviennent de diverses parties de plantes comme les fleurs, bourgeons, graines, feuilles, branches, écorce, bois, fruits et racines. Les huiles essentielles sont généralement des terpénoïdes, responsable de l'arôme et de la saveur associés avec des herbes, des épices et des

parfums, aussi appelées huiles volatiles car ils se répandent facilement dans l'air (Sumonrat *et al.*, 2008).

Les huiles essentielles n'existent que chez les végétaux, elles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes aromatiques (i) Fleurs : oranger, rose, lavande, bouton floral (girofle) ; (ii) Feuilles : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge ; (iii) Fruits : fenouil, anis, épicarpes des Citrus ;(iv) Tiges : citronnelles, (v) Rhizomes et racines : gingembre, vétiver, iris ; (vi) Graines : noix de muscade, coriandre ; (vii) Bois et écorces : cannelle, santal, bois de rose (Leon, 2005 ; Teixeira *et al.*, 2013).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles se font généralement au niveau des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur la surface de la plante (Brunechon, 1987). Les huiles essentielles sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors stockées dans, des cellules à huiles essentielles (*Lauraceae* ou *Zingiberaceae*), des poils sécréteurs (*Lamiaceae*), des poches sécrétrices (*Myrtaceae* ou *Rutaceae*) ou dans des canaux sécréteurs (*Apiaceae* ou *Asteraceae*) (Bruneton, 1999).

Elles peuvent aussi être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes. Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylé hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (Teuscher *et al.*, 2005).

1.3. Classification :

Les huiles essentielles (HE) sont classées usuellement selon la nature chimique des principes actifs majeurs, plus rarement sur le mode d'extraction, ou les effets biologiques. On retient huit classes principales (les carbures sesquiterpéniques et terpéniques, les alcools, les esters et alcools, les aldéhydes, les cétones, les phénols, les éthers et les peroxydes), avec les composants importants suivants :

-
- huiles essentielles riches en carbures terpéniques et sesquiterpéniques (HE de térébenthine (*alpha-pinène, camphène*), HE de genévrier (*alpha-pinène, camphène, cadinène*), HE de citron (*limonène*)) ;
 - huiles essentielles riches en alcools (HE de coriandre (*linalol*), HE de bois de rose (*linalol*), HE de rose (*géraniol*)) ;
 - huiles essentielles mélanges d'esters et d'alcools (HE de lavande (*linalol, acétate de linalyle*), HE de menthe (*menthol, acétate de menthyle*)) ;
 - huiles essentielles riches en aldéhydes (HE de cannelle (*aldéhyde cinnamique*), HE de citronnelle (*citral et citrannal*), HE d'eucalyptus citriodora (*citronellal*)) ;
 - huiles essentielles riches en cétones (HE de carvi (*carvone*), HE de sauge (*thuyone*), HE de thuya (*thuyone*), HE de camphrier (*camphre*)) ;
 - huiles essentielles riches en phénols (HE de thym (*thymol*), HE de sarriette (*carvacrol*), HE d'origan (*thymol et carvacrol*), HE de girofle (*eugénol*)) ;
 - huiles essentielles riches en éthers (HE d'anis vert, de badiane chinoise (*anéthol*), HE de fenouil (*anéthol*), HE d'eucalyptus globulus (*eucalyptol*), HE de cajeput (*eucalyptol*), HE de niaouli) ;
 - huiles essentielles riches en peroxydes (HE de chénopode (*ascaridol*), HE d'Eucalyptus Globulus (*Eucalyptol*)) ;
 - huiles essentielles sulfurées (HE d'ail (*Diallyl Disulfide et Trisulfide*), HE de crucifères et de liliacées).

La plupart des huiles essentielles sont constituées dans leur grande majorité d'un mélange assez complexe de monoterpènes, de sesquiterpènes, d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, d'oxydes, etc. Il y a quelques exceptions : huile essentielle de gaulthérie couchée composée à plus de 99,5 % de salicylate de méthyle (un ester aromatique). (Jean-Pierre Willem, 2002).

1.4. Composition :

Une huile essentielle est un mélange plus ou moins complexe de composés chimiques, généralement liquides à la température ambiante (30 à 40° C). Il a été démontré que les huiles essentielles sont constituées principalement de quatre grands groupes de composés:

- les terpénoïdes (mono et sesquiterpènes principalement) ;

-
- les dérivés benzéniques;
 - les hydrocarbures aliphatiques et,
 - les composés non spécifiques pouvant contenir dans leurs structures des atomes d'azote ou de soufre.

1.4.1. Les composés volatils des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents (Sell, 2006). Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes. Seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, y sont rencontrés soit les monoterpènes (myrcène, P-pinène, γ -terpinène, etc.) et les sesquiterpènes (P-caryophyllène, α -humulène, P-bisabolène, etc.).

Rappelons ici que les terpènes sont des composés issus du couplage de plusieurs unités « isopréniques » (C_5H_8), soit deux unités pour les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) et trois pour les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$). Exceptionnellement, quelques diterpènes ($C_{20}H_{32}$) peuvent se retrouver dans les huiles essentielles (Vila et al., 2002). Plusieurs milliers de composés appartenant à la famille des terpènes ont, à ce jour, été identifiés dans les huiles essentielles (Modzelewska et al., 2005).

La réactivité des cations intermédiaires obtenus lors du processus biosynthétique des mono- et sesquiterpènes explique l'existence d'un grand nombre de molécules dérivées fonctionnalisées telles que des alcools (géraniol, α -bisabolol), des cétones (menthone, p-vétivone), des aldéhydes (citronellal, sinensal), des esters (acétate d' α -terpinyle, acétate de cédryle), des phénols (thymol), etc.

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropan (Kurkin, 2003). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, etc. (Bruneton, 1999).

Enfin, il existe un nombre non négligeable de composés volatils issus de la dégradation, de terpènes non volatils (c'est le cas par exemple des ionones qui proviennent de l'auto-oxydation des carotènes) et d'acides gras (les petites molécules odorantes, comme par exemple le (3Z)-hexén-1-ol ou le décanal, qui sont obtenues à partir des acides linoléique et oléoléique) (Bruneton, 1999).

1.4.2. Chémotypes :

Au sein d'une même espèce de plante, la composition de l'huile essentielle des divers individus peut présenter des profils chimiques ou chémotypes différents. L'exemple le plus marquant est celui de l'espèce sauvage *Thymus vulgaris* présente dans le sud de la France. Il existe en effet six chémotypes différents pour cette seule espèce. Ces différences sont au niveau de la nature du monoterpène majoritaire de l'huile essentielle qui peut être soit le géraniol, l'ex-terpinéol, le thuyanol-4, le linalool, le carvacrol ou le thymol (Thompson et al., 2003).

Ce polymorphisme chimique existe aussi pour bien d'autres espèces: *Origanum vulgare* (Mockute et al., 2001), *Mentha spicata* (Edris et al., 2003) en sont des exemples. Il est important de noter que des huiles essentielles à chémotypes différents présenteront non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables. Ainsi, la méconnaissance des chémotypes peut parfois être à l'origine d'accidents graves.

L'absinthisme (intoxication à l'absinthe) en est un exemple frappant: *Artemisia absinthium* qui était récolté dans la région parisienne dans le but de confectionner le fameux apéritif contenait l' α -thujone, molécule fortement neurotoxique, comme composé majoritaire à 45%, alors que celle présente dans les régions alpines (d'où, d'ailleurs, la boisson est originaire) ne présentait qu'un taux de 3% en α -thujone. L'alcool préparé avec cette dernière était sans danger pour l'organisme (Franchomme et al., 1990).

1.5. Les facteurs influençant la composition :

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont autant de facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques. Chez la *Mentha piperita* par exemple, les nuits froides favorisent la

formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celle du menthofuranne (Bruneton, 1999).

Les études portant sur la variation de la composition chimique des huiles en fonction du cycle circadien et des saisons sont nombreuses (Assad et al., 1997; Lopes et al., 1997). L'heure de la récolte du matériel végétal ainsi que le moment dans l'année sont en effet des facteurs importants. À titre d'exemple, il a été démontré que, la composition de l'huile essentielle de feuilles à *Ocimum gratissimum*, varie considérablement en fonction de l'heure de la récolte (Vasconcelos et al., 1999).

Outre la composition, ces facteurs peuvent également avoir un impact sur la teneur en huile essentielle. Les Citrus par exemple ont une teneur plus importante en huile essentielle lorsque la température est élevée (Bruneton, 1999). Les fleurs de *Chrysanthemum coronarium* sont plus riches en huile essentielle sous l'effet de fertilisants (Alvarez-Castellanos et al., 2003).

1.6. La variabilité de la composition chimique:

Les compositions chimiques de nombreuses huiles essentielles ont été décrites. Elles varient en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (Delaquis et al., 2002).

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles (Tomi et al., 1995).

Au sein d'une même espèce la composition chimique de l'huile essentielle peut être différente : on parle alors de races chimiques ou de chémotypes. Il s'agit d'un polymorphisme chimique : une espèce peut être homogène au niveau de son caryotype et produire des huiles essentielles de compositions différentes.

Le cas de *Chromolaena odorata* qui présente divers chémotypes, on peut citer ceux de la Côte d'Ivoire (pinène, géijérène et prégeijérène) (Bedi et al., 2001), du Bénin (pinène, prégeijérène, géijérène, pinène et germacrène-D) (Avlessi et al., 2012) de la Chine caryophyllène, -cadinène, α -copaène et oxyde de caryophyllène) et du Cameroun (pinène 10 p-cymène). On peut aussi citer *Ageratum conyzoides* qui présente trois chémotypes : un chémotype à précocène I, un chémotype à précocène I et précocène II, un chémotype à précocène II et à 6-méthoxyagératochromène (Nébié et al., 2004). Kouamé en 2012 a démontré que le rendement en huile essentielle de *Chromolaena odorata* diffère avec la

période et la zone de récolte. Il a également observé un seul et même chemotype sur l'ensemble des 5 sites.

Ce chénotype est dominé par les sesquiterpènes germacrène-D (15,3- 20,0%), géijérène (14,1-16,9%), prégeijérène (10,7-1 β , γ %) et β -caryophyllène (7,5-9,7%) et le monoterpène α -pinène (7,6-10,3%) et identique à celui décrit dans la littérature (Bedi, 2001).

1.7. Les constituants des huiles essentielles (la biosynthèse):

Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes (Buchanan et al., 2000).

La classe des terpénoïdes est la plus variée au niveau structural. Les terpénoïdes, dont 25 000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq carbones, l'isopenténylpyrophosphate.

Les plus petits terpénoïdes sont les hémiterpénoïdes (C₅), qui sont formés d'une seule unité isoprénique. Les autres molécules, appartenant à cette classe, résultent de la condensation de plusieurs isoprènes. Ainsi, les monoterpénoïdes (C₁₀) sont constitués de deux unités isopréniques alors que les sesqui-terpénoïdes (C₁₅) sont formés par l'association de trois isoprènes.

Les mono et les sesquiterpénoïdes sont les plus représentés dans les huiles essentielles. Les phénylpropanoïdes, ou composés phénoliques, sont biosynthétisés à partir des acides aminés aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle.

Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés antibactériennes. L'activité de ces molécules dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées. Une liste, visant à classer les constituants des huiles essentielles en fonction de l'intensité de leur activité, a d'ailleurs été établie (Kalemba, 2003).

Les composés phénoliques, comme le thymol, le carvacrol et l'eugénol, sont, du fait du

caractère acide de leur substituant hydroxyle, les plus actifs. Aussi, il n'est pas étonnant de constater que les huiles essentielles riches en phénols, comme les huiles de thym, de *Corydothymus capitatus* et de *Syzygium aromaticum*, démontrent les plus hautes activités antibactériennes.

Les composés carbonylés, appartenant aux familles chimiques des aldéhydes et des cétones sont également décrits comme très actifs. Le cinnamaldéhyde, principal constituant de l'huile essentielle, et la caravone, qui entre dans la composition de l'huile de menthe poivrée, font partie de ce groupe.

De nombreuses huiles essentielles présentent une forte teneur en alcools. L'huile de *Melaleuca alternifolia* riche en α -terpinéol et en terpinène-4-ol, celle de *Pelargonium aspernum*, est constituée essentiellement de citronellol et de géraniol. Ou encore celle de *Lavandula angustifolia* dominée par le linalol.

Les alcools sont légèrement moins actifs que les composés phénoliques et carbonylés. Leur activité antibactérienne est toute fois plus élevée que celle générée par les éthers, comme le 1,8 cinéole ou l'anéthole, et les molécules hydrocarbonées.

La structure chimique des constituants des huiles essentielles influence directement leur activité. Une étude menée par Ultee et al. en 2002, a mis en évidence l'importance du noyau benzénique, en démontrant le manque d'activité du menthol comparée à celle du carvacrol.

Le rôle fondamental du groupement hydroxyle dans l'action des phénols a également été confirmé (Dorman, 2000 ; Ultee et al., 2002) et sa position relative sur le noyau benzénique influence peu le degré d'activité. Ainsi, le thymol et le carvacrol, qui ne diffèrent que par la position ortho/méta du substituant hydroxyle, présentent une activité comparable sur des souches de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Lambert et al., 2001 ; Ultee et al., 2002). D'autres groupements fonctionnels, comme les acétates, contribuent à accroître l'activité des molécules antibactériennes.

L'acétate de géranyle est plus actif que le géraniol, contre grand nombre de bactéries Gram à positif et à Gram négatif. La nature des groupements alkyles. Ainsi, le limonène, qui est substitué par un groupement isopropylène en position 4, présente une plus haute activité que son homologue le p-cymène, substitué par un groupement isopropyle (Dorman, 2000).

Les interactions entre les constituants des huiles essentielles peuvent également affecter leur activité. Par exemple, l'efficacité des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* est due à la synergie entre les principaux constituants : le carvacrol et le thymol (Lambert et al., 2001). Une autre interaction synergique a été mise en évidence entre le carvacrol et son précurseur, le p-cymène sur *Bacillus cereus*. Le p-cymène semblerait faciliter la pénétration intracellulaire du carvacrol en potentialisant ainsi son action (Ultee et al., 2002).

Des effets antagonistes, conduisant à une réduction de l'activité antibactérienne, ont également été signalés. Ils se produisent généralement entre molécules actives et les composés non oxygénés, qui réduisent leur solubilité et donc leur efficacité. Par exemple, la solubilité du terpinène-4-ol est réduite par le terpinène (Cox et al., 2001).

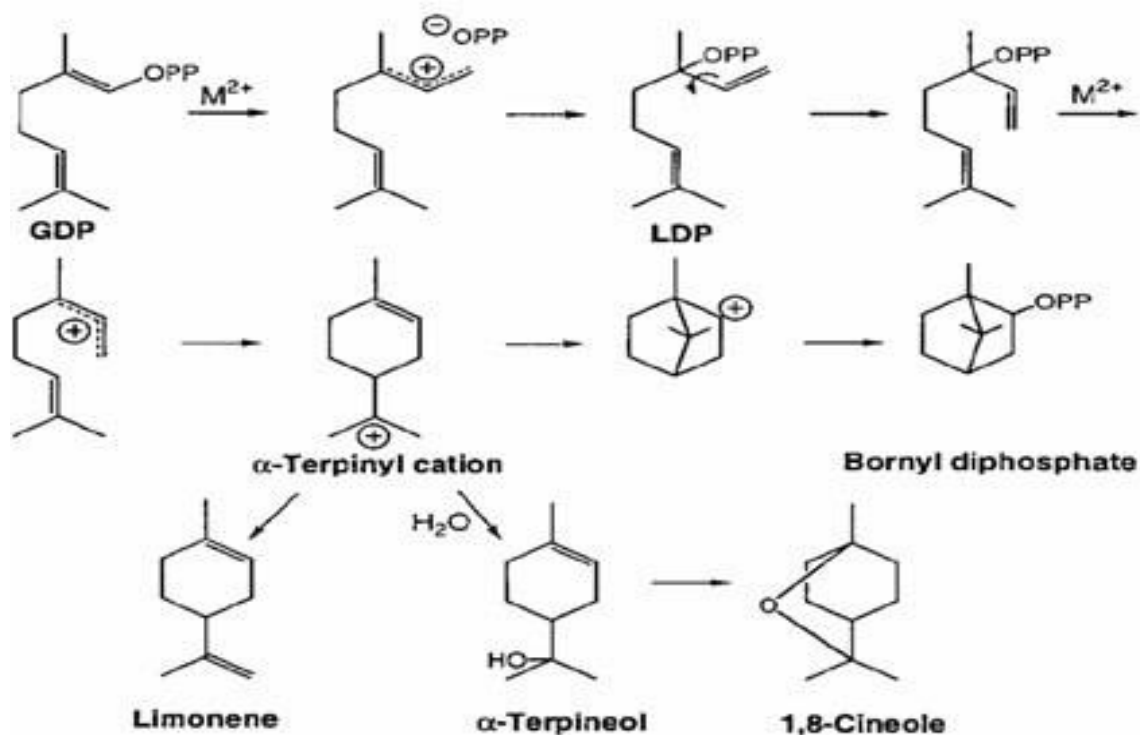


Figure 1 : la biosynthèse des huiles essentielles

1.8. Structure de quelques constituants des huiles essentielles :

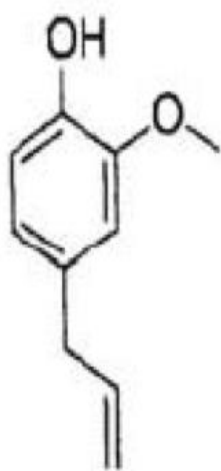
La plupart des constituants des huiles essentielles sont des terpènes. La particularité la plus marquante des terpènes est la présence dans leur structure, du squelette carboné de l'isopentane ou 2- méthylbutane, qui constitue l'unité fondamentale. Ce fait a été remarqué pour la première fois, en 1887 par WALLACH 14, qui l'énonça sous forme de règle isoprénique.

D'après cette règle, les composants des huiles essentielles sont synthétisés au sein de la plante par l'enchaînement "tête à queue" de 2 à 3 motifs isopréniques, unité à cinq atomes de carbone.

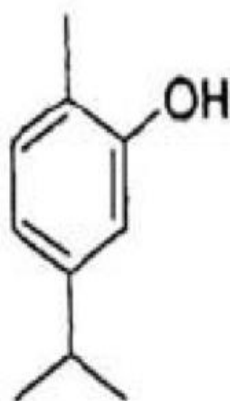
Ceci permet d'établir une classification formelle fondée sur le nombre d'unités isopréniques constitutives. Le classement des terpènes en fonction du nombre d'unités isopréniques, revient à un classement d'après le nombre d'atomes de carbone qu'ils renferment. Ainsi, les monoterpènes sont constitués de 10 atomes de carbone (ou deux unités isopréniques), les sesquiterpènes de 15 atomes de carbone (ou trois unités isopréniques), les diterpènes de vingt atomes de carbone (ou

quatre unités isopréniques), les triterpènes de trente atomes de carbone (ou 6 unités isopréniques), les tétraterpènes de quarante atomes de carbone (ou 8 unités isopréniques), etc. Rappelons que selon l'encyclopédie des terpénoïdes de GLASBY, les di, tri, tétra et polyterpènes, qui ne sont pas des principes volatils, ne sont pas des constituants des huiles essentielles.

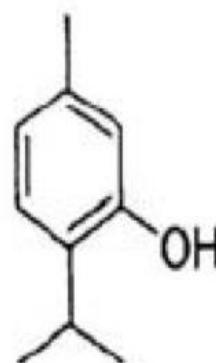
Les terpènes peuvent aussi être classés en fonction du nombre de cycles contenus dans leurs structures. On peut distinguer ainsi, les terpènes acycliques, monocycliques, bicycliques, tri cycliques, etc. L'observation attentive de ces composés, montre une ressemblance structurale entre certains monoterpènes et certains sesquiterpènes, comme par exemple l' α -pinène et l' α -bergamotène, le linalol et le nérolidol, l' α -terpinéol et l' α -bisabolol.



Eugénol

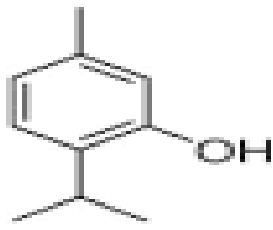


Carvacrol

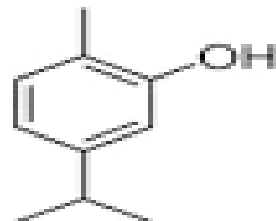


Thymol

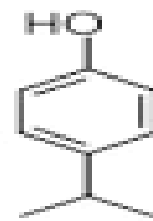
Figure 2 : les composés phénols



Thymol



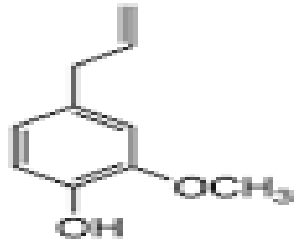
Carvacrol



Australol



Galaccol



Eugénol



Chavicol

Figure 3 : structure des huiles essentielles



Myrcène



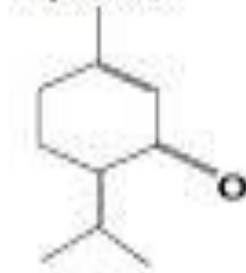
Sabinène



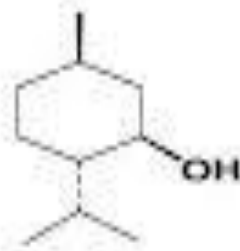
(+)-Camphène



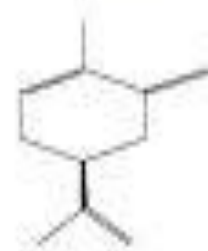
Limonène



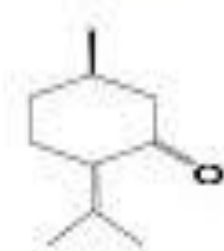
Pipériténone



Menthol



Carvone



Pulegone

Figure 4 : structures des huiles essentielles

MONOTERPENOLS

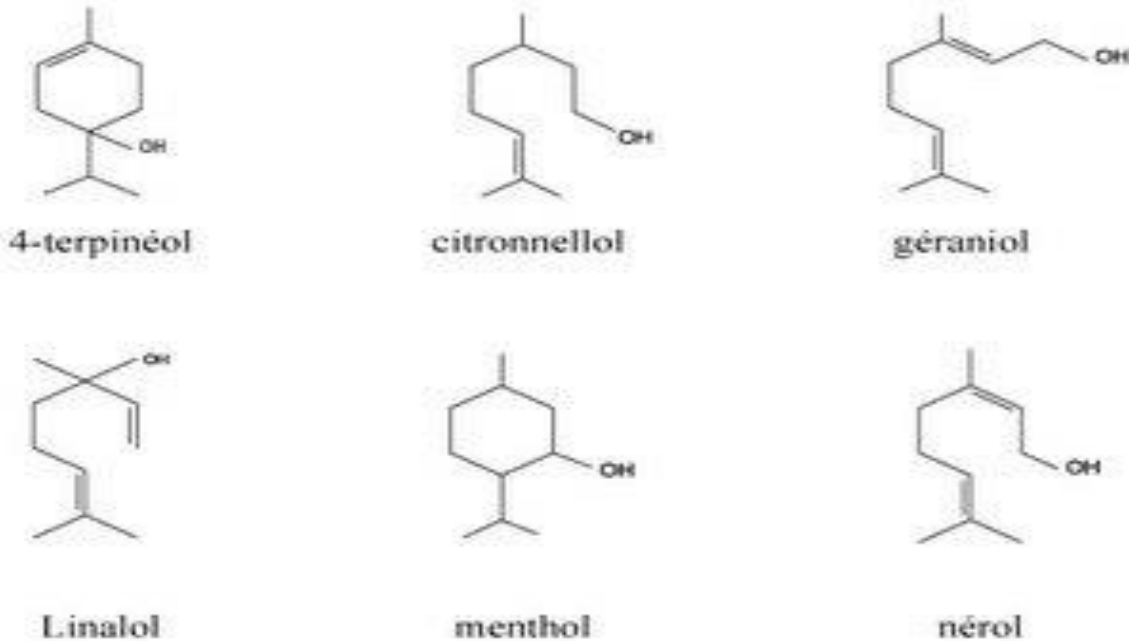


Figure 5 : les composés monoterpénols

2. Rôle d'une huile essentielle dans la plante :

La fonction biologique des huiles essentielles dans la plante est très mal connue et fait encore l'objet d'une controverse. En tant que produits du métabolisme secondaire de la plante, les huiles essentielles, tout comme les di, tri et tétraterpènes sont considérés, comme des substances n'ayant aucun rôle dans les aspects fondamentaux du développement de la plante. Par contre, le rôle de certains mono et sesquiterpènes a été expérimentalement établi aussi bien dans le domaine des interactions végétal-végétal, que dans celui des interactions végétal-animal.

Dans le domaine des interactions végétal-végétal par exemple, les propriétés fongicides et herbicides des monoterpènes ont été rapportées par EVENARI et FISCHER et celles des hydrocarbures sesquiterpéniques par SPENCER et al.

Dans le domaine des interactions végétal-animal, les travaux de STIP ANOVIC et al. ont montré que les terpénoïdes jouent un rôle dans la résistance des plantes aux insectes. On leur attribue aussi des propriétés antiappétantes, bien que certains soient des attractifs.

Parmi les mono terpènes, les propriétés insecticides et antimicrobiennes de l'a-pinène sont bien connues. La volatilité des huiles essentielles assure leur transport et leur activité à faible concentration, ceci d'autant mieux que la diversité structurale de leurs constituants autorise l'influence sélective d'un organisme à plus ou moins grande distance de la source et élimine toute trace de résistance.

Une mise au point récente de CROTEAU, attribue aux huiles essentielles un rôle de mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur, au profit de la plante.

Les interactions écologiques sus-mentionnées sont gérées, soit par des terpènes individuels ou par un mélange simple de terpènes, soit par une classe de constituants. C'est ainsi que, par l'intermédiaire de leurs constituants riches en doubles liaisons conjuguées, les huiles essentielles absorbent de la lumière et de la chaleur au cours de leur évaporation, régulant ainsi la transpiration de la plante, en limitant la quantité de chaleur qui atteint les tissus végétaux.

3. Domaine d'utilisation des huiles essentielle :

Le champ d'application des huiles essentielles est vaste, mais quatre principaux secteurs de leur utilisation à une échelle industrielle peuvent être retenus :

- le secteur de l'industrie alimentaire ;
- le secteur de l'industrie des parfums et cosmétiques;
- le secteur de l'industrie pharmaceutique;
- et le secteur de l'industrie chimique.

Dans l'alimentation, les huiles essentielles sont utilisées comme aromates ou épices. C'est le cas des essences de girofle, de gingembre, de vanille, de basilic, etc. Les huiles essentielles de différentes espèces du genre Citrus sont utilisées dans la confiserie, les sirops et les biscuiteries.

L'industrie de la parfumerie et de la cosmétologie est le principal débouché des huiles essentielles totales ou de certains de leurs constituants purs. C'est le cas des essences de rose, d'ylang-ylang, de lavande, de vétiver, de jasmin, de patchouli, etc., qui entrent dans la composition des parfums rares.

La médecine et l'industrie pharmaceutique utilisent les huiles essentielles en raison de leurs diverses propriétés: bactériostatiques, bactéricides, vermicides, fongicides, antiseptiques, insecticides, etc.

L'industrie chimique extrait de certaines huiles essentielles des matières premières (isolats) qu'elle transforme en produits chimiques plus élaborés ou directement utilisables pour la synthèse de principes médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes etc. C'est le cas par exemple de l'essence de pin, riche en α -pinène, qui, en plus de son utilisation comme solvant, entre dans la synthèse du camphre (agent plastifiant).

4. Cadre réglementaire :

Le cadre réglementaire qui régule la vente d'huiles essentielles dépend de l'utilisation prévue, et demande de distinguer rigoureusement l'usage qui en est fait : usage thérapeutique dans un médicament, usage dans un complément alimentaire, usage dans un dispositif médical ou encore usage dans un cosmétique. Ainsi, des huiles à destination cosmétique ou de parfumerie ne sont pas soumises aux contrôles sanitaires propres aux produits de consommation, et *a fortiori* aux médicaments.

Une huile achetée en parfumerie ou dans un magasin de cosmétique ne doit donc en aucun cas être utilisée en cuisine ou en auto-médication, car son dosage et ses effets peuvent être dangereux dans cet usage détourné.

En France, certaines entreprises contrevenantes ont fait l'objet de poursuites de la part de l'Agence nationale de sécurité du médicament, notamment pour avoir fait la promotion de l'huile de karanja comme filtre solaire alors que ce produit est un simple parfum et ne bloque aucun rayonnement UV.

Ainsi, le millepertuis, le ginkgo ou le pamplemousse peuvent provoquer une diminution ou une augmentation de l'effet thérapeutique d'autres médicaments par interaction médicamenteuse. De même, l'absinthe ou le thuya peuvent être toxiques pour le système

nerveux, c'est pourquoi en France certaines huiles essentielles ne peuvent être délivrées que par un pharmacien.

Seul un petit nombre de ces usages sont soutenus par des données scientifiques fiables, et les vendeurs prêtent facilement à leurs produits toutes sortes de propriétés imaginaires. Il s'agit pour certains d'une pseudo-médecine n'ayant pas fait les preuves de son efficacité. La principale efficacité clinique reconnue de certaines huiles essentielles est une activité antibactérienne (beaucoup moins forte que celle des antibiotiques et antiseptiques modernes).

Certaines ont également un effet répulsif sur les animaux, en particulier les insectes. Selon l'EHESP, « les huiles essentielles présentent des propriétés intéressantes qui pourraient être utilisées dans la vie courante, sous réserve d'études supplémentaires. Les données concernant une application à l'homme restent ponctuelles, il serait donc intéressant de pousser les recherches dans ce sens.

CHAPITRE II

Chapitre II Activités biologiques et antimicrobienne des huiles essentielles

1. Activités biologiques des huiles essentielles :

Le rôle physiologique des huiles pour le rôle végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et propriétés biologiques. Un effet anti-inflammatoire a été décrit pour les huiles essentielles de *Protium strumosum*, *Protium lewellyni*, *Protium grandifolium* (Siani et al, 1999).

Plus récemment, des études ont montré que les huiles essentielles de *Chromoleana odorata* et de *Mikania cordata*, donnaient des tests d'inhibition positifs sur la lipoxigénase L-1 de soja, modèle de la lipoxigénase humaine (5-LO) impliquée dans les processus de l'inflammation (Bedi et al., 2004).

Ensuite, dans une autre étude, il a été montré que celles de *Chromoleana odorata* présentaient des actions positives sur la fonction Cyclooxygénase de la Prostaglandine H-synthétase (Bedi et al, 2010).

Enfin, les mêmes auteurs ont montré que les huiles essentielles de *Cymbopogon giganteus*, *Ocimum gratissimum*, *Eucalyptus citriodora* avaient des activités inhibitrices sur la cyclooxygénase (Bedi et al, 2003).

Les activités antifongiques de nombreuses huiles essentielles incluant les huiles de thym, de citronnelle, de cannelle et de *Melaleuca alternifolia* (Burt, 2004) ont été décrites. L'efficacité des huiles extraites des achillées, *Achillea fragrantissima* (Barel et al., 1991), *A. terrefolia* (Unlu et al., 2002) et *A. millefolium* (Candan et al., 2003), contre la levure pathogène *Candida albicans*, a également été mise en évidence.

Certaines huiles essentielles présentent des activités anti-tumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'huile essentielle isolée des graines de *Nigella sativa* L., démontre une activité cytotoxique *in vitro* contre différentes lignées tumorales.

In vivo, elle limite la prolifération des métastases hépatiques et retarde la mort des souris

ayant développé la tumeur P815 (Mbarek et al., 2007).

L'huile essentielle de *Melissa officinalis* s'est, quant à elle, révélée efficace contre des cellules de lignées cancéreuses humaines, incluant des cellules leucémiques HL-60 et K562 (De Sousa et al, 2004).

D'autres applications médicales ont fait l'objet d'études. Les travaux réalisés par Oussou (2009), ont prouvé la capacité de l'huile essentielle d'*Ocimum canum* à limiter la formation d'ulcères gastriques induits par l'éthanol. Ceux de Monti et al., (2002) ont montré que les huiles essentielles facilitent la pénétration transdermique de substances médicamenteuses lipophiles, comme l'œstradiol.

Des travaux tentent également d'analyser les effets des huiles essentielles sur le comportement (Umezu, 1999) ou d'évaluer la possibilité de les utiliser dans la lutte contre l'addiction de certaines drogues, comme la nicotine (Zaho et al, 2005).

2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles :

Depuis l'antiquité, les extraits aromatiques de plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme les médicaments et la parfumerie (Heath, 1981). Les huiles essentielles ont été considéré comme agents antimicrobiens les plus efficaces dans ces plantes.

Les qualités microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Toutefois, la première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (Boyle, 1995). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (Burt, 2004).

Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développement des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (Kalemba, 2003 ; Oussou, 2009 ; Avlessi, 2012).

Elles peuvent être bactéricides ou bactériostatiques (Oussou et al., 2009). Leur activité

antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (Sipailiene et al., 2006 ; Oussou, 2009).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la nature de leur paroi cellulaire (Burt, 2004).

Il existe cependant quelques exceptions. Les bactéries Gram à Gram négatif comme *Aeromonas hydrophila* (Wan et al., 1998) et *Campylobacter jejuni* (Wannissorn et al., 2005) ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles. La bactérie reconnue comme la moins sensible à leur effet reste néanmoins les bactéries à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa* (Dorman, 2000).

En fait, cette bactérie possède une résistance intrinsèque aux agents biocides, en relation avec la nature de sa membrane externe. Cette dernière est composée de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes.

En présence d'agents perméabilisant de la membrane externe, des substances inactives contre *Pseudomonas aeruginosa* deviennent actives (Mann et al., 2000). Il semble que cette souche se révèle résistante à un très grand nombre d'huiles essentielles (Hammer et al., 1999 ; Deans et Ritchie, 1989).

La croissance des bactéries, résistantes et multi-résistantes aux antibiotiques, peut être inhibée par certaines huiles essentielles. Oussou en 2009 a étudié les propriétés antibactériennes de quelques huiles essentielles issues de la pharmacopée traditionnelle Ivoirienne, *Ocimum gratissimum*, *O. cimumcanum*, *Xylopi aethiopica*, *Citrus aurantifolia*, *Lippia multiflora*, et *Monanthes caepa*.

Les huiles essentielles de ces plantes se sont révélées efficaces contre les bactéries multi-résistantes notamment les *E. coli* résistants aux céphalosporines de 3ème génération (C3GR), *E. coli* productrice de betalactamases à spectre élargi (BLSE) et staphylocoques dorés résistants à la

méticilline (SARM).

2.1. Facteurs déterminants le degré d'activité des huiles essentielles :

Plusieurs facteurs influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs, tels que la méthode d'évaluation antimicrobienne, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type de microorganisme ciblés et leur éventuelle adaptation aux huiles essentielles.

2.1.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne :

L'examen des données bibliographiques fait apparaître d'emblée la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. Les techniques utilisées ont une grande influence sur les résultats. Ces méthodes utilisées donnent parfois des résultats différents selon les conditions opératoires expérimentales pour chaque manipulateur (Surk, 2003).

L'insolubilité des huiles essentielles dans l'eau et d'une manière générale dans les milieux aqueux largement utilisés en microbiologie, est une des explications de la variété des techniques d'évaluation. Selon la souche microbienne, l'huile essentielle et l'application choisie, divers milieux de culture peuvent être mis en œuvre.

2.1.1.1. Méthode de diffusion en milieu solide :

Cette méthode est aussi appelée méthode de l'aromatogramme, ou technique de l'antibioaromatogramme ou encore méthode de Vincent (Pibri, 2006). La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieuensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien.

Quand la concentration de l'antimicrobien devient très diluée, il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée. Le diamètre de cette zone d'inhibition est corrélée avec la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la combinaison particulière bactérie/antimicrobien, la zone d'inhibition correspond inversement à la CMI de l'essai.

Généralement, plus la zone d'inhibition est petite, plus la concentration d'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance des microorganismes est faible.

2.1.1.2. Méthode de dilution en milieu liquide :

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI, habituellement exprimée en mg/mL ou mg/L).

2.1.1.3. Dilution en bouillon :

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide.

La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 mL (macrodilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration (microdilution).

2.1.1.4. Dilution en gélose :

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de β en β , suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte.

2.2. Activité liée à la composition chimique :

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants. Ainsi, la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant.

L'activité d'une huile essentielle est souvent réduite à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Évalués séparément sous la forme de composés

synthétiques, ils confirment ou infirment l'activité de l'huile essentielle de composition semblable.

Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique. De cette manière, la valeur d'une huile essentielle tient à son « totum », c'est à dire dans l'intégralité de ses composants et non seulement à ses composés majoritaires (Lahlou, 2004). Il est connu que ce sont les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes qui confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés antibactériennes.

L'activité de ces molécules dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarbonée et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les hydrocarbonées.

2.3. Le type des microorganismes cibles :

Un autre paramètre important déterminant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est le type des microorganismes ciblés. En général, les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis à vis des huiles essentielles. Parmi les microorganismes, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* (Gram positif), *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram 16 négatif), *Candida albicans* (Levures) et *Aspergillus niger* (champignons) ont été les plus étudiés.

Les champignons montrent généralement une sensibilité supérieure par rapport aux bactéries et parmi les bactéries, les Gram négatif apparaissent plus résistants que les Gram positif vis-à-vis des huiles essentielles (Cox et al., 2000; Amaral et al., 1998).

Inversement, *Escherichia coli* est plus sensible vis à vis de l'huile de *Melaleuca alternifolia* que *Staphylococcus aureus* (Hayes et al., 1997). De même, certains champignons sont plus résistants vis-à-vis de l'huile de genévrier que les bactéries (Chao et al., 2000).

Enfin, une sensibilité supérieure des bactéries anaérobies a été observée quel que soit les huiles essentielles par rapport à celles vivant en aérobiose (Amaral et al., 1998; Juven et al., 1994).

2.4. Mode d'action des huiles essentielles :

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Carson et al., 2002).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K^+): ce mécanisme a été observé avec l'huile de *Melaleuca alternifolia* sur les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram à négatif (*Escherichia coli*) et levure (*Candida albicans*) in vitro (Cox et al., 2000; Carson et al., 2002).

Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP (Knobloch et al., 1989; Sikkema et al., 1995).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (Wendakoon et Sakaguchi, 1995). Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides.

Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganismes: en général, les bactéries Gram à négatif sont plus résistantes que les Gram à positif grâce à la

structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram à négatif est plus riche en lipo-polysaccharides et en protéines que ceux de Gram négatif qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer.

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaires comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires grâce à leurs groupements fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (Dorman, 2000).

3. Activité antioxydante des huiles essentielles :

Les cellules et tissus humains peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance).

La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dues à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (Walker et al., 1982).

3.1. Différents types de radicaux libres :

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /ou, un pouvoir oxydant fort. Il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe (André., 1998).

Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ($O_2 \cdot^-$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote ($NO \cdot$), le radical peroxyde ($ROO \cdot$) et le radical alkoxyde ($RO \cdot$).

Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces

radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003).

3.2. Origine et production des espèces réactives oxygénées :

La chaîne respiratoire est une source permanente de production des ROS. Selon certains auteurs, environ 1 à 4 % de l'oxygène utilisé par la mitochondrie sont incomplètement réduits et produisent des anions superoxyde, de l'eau oxygénée et éventuellement des radicaux hydroxyles (Favier, 2003).

L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement via les cellules phagocytaires. L'activation de ces cellules immunitaires par des stimuli exogènes ou endogènes s'accompagne d'une accélération de leur consommation d'oxygène avec activation d'une enzyme membranaire, la NADPH oxydase qui catalyse la réduction de cet oxygène en anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$). Ce dernier donne le (H_2O_2) par dismutation. Le $O_2^{\circ-}$ et H_2O_2 participent à la libération d'hypochlorite sous l'influence d'une enzyme leucocytaire, la myéloperoxydase (Bonfont-Rousselot et al., 2002 ; De Moffarts et al., 2005).

A côté de ces sources majeures des ROS, d'autres sources existent. Les sources cytosoliques, constituées essentiellement de peroxyosomes qui constituent une source importante de la production cellulaire de H_2O_2 , la xanthine oxydase qui produit de l' O_2 et H_2O_2 et les enzymes de réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques) (Massion et al., 2002).

A cela, s'ajoute d'autres facteurs qui peuvent contribuer dans la formation des radicaux libres. On peut citer entre autres, les rayonnements UV capables de générer des anions superoxyde ou de l'oxygène singulet, les rayons x ou y sont aussi capables de couper la molécule d'eau en deux radicaux par l'intermédiaire d'agents photo-sensibilisants (Tamer, 2003) les poussières d'amiante et de silice sont des sources des ROS (Favier, 2003).

Les fumées de combustion (cigarettes), la consommation de l'alcool et l'effort physique intense sont aussi des paramètres à ne pas écarter.

Des infections bactériennes ou virales provoquent, elles aussi selon Aourousseau (2002), des phénomènes radicalaires à caractère exponentiel après augmentation de la population des macrophages impliqués dans leur élimination.

3.3. Dommages oxydatifs des radicaux libres :

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles.

La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif ». Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN (Aourousseau, 2002 ; Valko et al., 2006).

Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies. Parmi lesquelles les maladies d'Alzheimer de Parkinson, de Creutzfeldt Jacob et de méningo-céphalites, les maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque (Jha et al., 1995), les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau et le cancer (Ali et al., 2003).

3.4. Moyens de défense contre les radicaux libres :

Un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration qui est capable de prévenir, de retarder et de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules.

Les systèmes de lutte contre les ERO sont classés dans trois catégories : la prévention à temps plein (la prévention passive), la détoxification active suite à une attaque oxydante et la détoxification passive (Viro, 2004).

***Prévention à plein temps :** Ce type est un système qui agit en permanence pour but de prévenir la surproduction de radicaux libres de l'oxygène en inactivant les molécules endogènes (Fe, Cu) ou exogènes (quinone) susceptibles de les générer. Par exemple, la liaison de la transferrine (protéine chélatrice) avec deux atomes de fer ferrique par molécule à pH

physiologique rend ce métal incapable d'être impliqué dans les mécanismes d'oxydoréduction générateurs de radicaux libres.

***Détoxification active suite à une attaque oxydante :** Ce système de défense repose principalement sur 3 enzymes (Valko et al., 2006).

- Super oxyde dismutase (SOD) :

Dans l'être humain, il y a 3 isoformes des SOD à cofacteurs métallique (Cu, Zn-SOD, Mn-SOD) et sont localisés dans le cytoplasme et la mitochondrie (Landis et Tower, 2005).

- Catalase :

Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes (Valko et al., 2006). Elle permet de convertir deux molécules de H₂O₂ en H₂O et O₂.

- Glutathion peroxydase :

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Valko et al., 2006).

*** Détoxification passive :** Elle permet la réduction des radicaux oxygénés qui ont pu passer les deux premières lignes de la défense. Elle inclut tous les antioxydants non enzymatiques capables de neutraliser seulement un radical libre par molécule tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, l'albumine, l'acide urique, les polyamines, l'acide lipoïque (Valko et al., 2006).

La vitamine E est considérée comme le principal antioxydant attaché à la membrane utilisé par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique (Pryor, 2000 ; Valko et al., 2006). Durant la réaction antioxydante, l' α -tocophérol est converti en radical α -tocophérol beaucoup plus stable en perdant un hydrogène arraché par une espèce radicalaire (radical peroxyde) : vitamine C, caroténoïdes, acide lipoïque, albumine et composés phénoliques.

4. Activités pharmacologiques :

Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (Maruyama et al., 2005).

Plusieurs études ont, par exemple, mis en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* (Koh et al., 2002; Caldefie-Chézet et al., 2004; Caldefie-Chézet et al., 2006) et de son composé principal, l'*α*-terpinéol (Hart et al., 2000).

Les composés actifs agissent en empêchant la libération d'histamine ou en réduisant la production de médiateurs de l'inflammation. Un autre exemple, l'huile essentielle de géranium (Maruyama et al., 2005) ainsi que le linalol et son acétate (Peana et al., 2002) ont montré une activité anti-inflammatoire sur des œdèmes de pattes de souris induit par le carraghénane.

Les huiles essentielles représentent donc une nouvelle option dans le traitement des maladies inflammatoires. Le potentiel thérapeutique très varié des huiles essentielles a attiré, ces dernières années, l'attention de chercheurs quant à leur possible activité contre le cancer. De ce fait, les huiles essentielles et leurs constituants volatils font dorénavant l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (Edris, 2007).

Les huiles essentielles agissent au niveau de la prévention du cancer ainsi qu'au niveau de sa suppression. Il est bien connu que certains aliments, comme l'ail ou le curcuma, sont de bonnes sources d'agents anticancéreux utiles pour prévenir l'apparition de cancer (Béliveau et al., 2006).

Certains de ces aliments contiennent des composés volatils dont l'activité chimiopréventive a été mise en évidence. L'huile essentielle d'ail, par exemple, est une bonne source de composés sulfurés reconnus pour leur effet préventif contre le cancer. Le diallyl sulfide, diallyl disulfide et le diallyl trisulfide en sont des exemples.

Ces composés activent, chez le rat, les enzymes intervenant dans le processus de detoxification hépatique de phase 1 (désagrégation des liaisons chimiques qui relient les toxines

carcinogènes les unes aux autres) et de phase II (liaisons des toxines libérées à des enzymes détoxifiantes telle la glutathione S-transférase).

Un autre exemple est la myristicine, un allylbenzène présent dans certaines huiles essentielles, spécialement celle de noix de muscade (*Myristica fragrans*). Cette molécule est connue pour activer la glutathione S-transférase chez la souris (Ahmad et al., 1997) et inhiber la carcinogénèse induite par le benzo(a)pyrène au niveau des poumons de la souris .

Récemment, il a été découvert que la myristicine induit l'apoptose des neuroblastomes (SK-N-SH) chez l'humain. Il existe d'autres composés volatils qui ont montré une activité cytotoxique contre diverses lignées cellulaires cancéreuses (gliomes, cancer du côlon, du poumon, du foie, du sein, etc.) (Edris, 2007). Le géraniol, un alcool monoterpénique très fréquent dans les huiles essentielles, diminue la résistance des cellules cancéreuses du côlon (TC118) envers le 5-fluorouracil, un agent anticancéreux.

De ce fait, le géraniol potentialise l'effet inhibiteur de la croissance tumorale du 5-fluorouracil. L'huile essentielle de sapin baumier et un de ses composés, l'a-humulène, ont montré une activité anticancéreuse significative sur plusieurs lignées cellulaires ainsi qu'une faible toxicité envers les cellules saines (Legault et al., 2003).

L'activité anticancéreuse du d-limonène, le composé principal des huiles essentielles de Citrus a été prouvée à plusieurs reprises, en particulier au niveau du cancer de l'estomac et du foie. Un dernier exemple est l'a-bisabolol. L'activité antigliomale de cet alcool sesquiterpénique présent en grande majorité dans l'huile essentielle de camomille (*Matricaria*) a récemment été mise en évidence.

Pour terminer, certaines études ont mis en évidence l'activité cytotoxique d'huiles essentielles dans leur ensemble. En voici quelques exemples: l'huile essentielle de *Comptonia peregrina* (Sylvestre et al., 2007), *Myrica gale* (Sylvestre et al., 2005), *Melissa officinalis* (De Sousa et al., 2004), *Malaleuca alemifolia* (Calcabrini et al., 2004), *Crotons flavens* (Sylvestre et al., 2005) et

Artemisia annua (Li et al., 2004).

5. MECANISMES D’ACTION DES HUILES ESSENTIELLES :

5.1. Activité anti-inflammatoire :

L’inflammation est une réponse physiopathologique de la blessure, d’une infection ou d’une destruction caractérisée par la chaleur, la rougeur, la douleur et le gonflement. L’inflammation est une réaction normale de corps pour se protéger des lésions causées par des traumatismes physiques, agents chimiques ou microbes pathogènes.

C’est la réponse de l’organisme pour inactiver ou détruire les organismes envahisseurs, pour éliminer les irritants. Elle est déclenchée par la libération de médiateurs chimiques des tissus lésés et migration des cellules. Les médicaments les plus couramment utilisés pour la gestion d’affections inflammatoires sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), qui ont plusieurs effets indésirables en particulier l’irritation gastrique conduisant à la formation d’ulcères gastriques.

Les recherches approfondies sur les différentes espèces de plantes et leurs principes actifs thérapeutiques utilisés dans le traitement de la goutte, de l’arthrite et de la fièvre ont aboutis à la mise en évidence de nouveaux composés ayant des activités anti- inflammatoires significatives (Joseph *et al.*, 2015).

Un effet anti-inflammatoire a été décrit pour de nombreuses huiles essentielles, tels que celles de : *Protium strumosum*, *Protium lewellyni*, *Protium grandifolium* (Siani *et al.*, 1999). L’huile essentielle des racines de *Carlina acanthifolia* est capable d’inhiber l’inflammation induite par une injection de carraghénane chez le rat.

Les familles biochimiques à action anti-inflammatoire et/ou antalgique qui constituent les composés de différentes huiles essentielles sont : les Aldéhydes monoterpéniques, les Esters terpéniques, les Sesquiterpènes et les Monoterpènes, l’Eugénol (phénol aromatique), l’Eucalyptol (oxyde terpénique) ou 1,8 cinéole, Alcools terpéniques (Sesquiterpénols,

Monoterpénols), les Cétones terpéniques, les Phénol méthyl-éthers.

5.2. Activité antimicrobienne :

5.2.1. Activité antibactérienne :

L'utilisation des antibiotiques pour lutter contre des micro-organismes pathogènes est limitée en raison de leurs effets cancérigènes, leur toxicité aiguë et leur danger potentiel pour l'environnement en plus du problème de résistance bactérienne à cette classe thérapeutique. Plus récemment, la prévalence de la résistance aux antimicrobiens a incité les chercheurs à rechercher de nouvelles molécules antimicrobiennes pour inhiber les diverses bactéries pathogènes humaines.

À cet égard, l'exploitation des huiles essentielles pour contrôler l'épidémie des bactéries pathogènes peut être utile pour lutter contre diverses maladies infectieuses.

L'impact antimicrobien des huiles essentielles et de leurs composants chimiques est démontré par plusieurs études.

L'action des huiles essentielles s'exerce sur un large spectre de bactéries, incluant les bactéries à Gram positives et les bactéries à Gram négatives. La structure de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positives les rend toutefois plus sensibles à l'action des huiles essentielles. La structure de la paroi cellulaire des bactéries Gram négatives les rend moins sensibles à l'action des huiles essentielles.

La présence d'une membrane plasmique hydrophile externe chez les Gram négatives empêche la pénétration intracellulaire des molécules hydrophobes composant la majorité des huiles essentielles. Cette caractéristique confère aux bactéries négatives une résistance à l'huile et même aux antibiotiques (Lewis et Ausubel, 2006).

La composition chimique des extraits de plantes peut être influencée par de multiples facteurs, incluant l'espèce à laquelle appartient la plante prélevée, le matériel végétal (feuilles,

fleurs, rameaux, fruits) utilisé pour produire les extraits, ainsi que le procédé employé pour réaliser l'extraction. La combinaison de ces divers paramètres semble être une explication aux différences d'activité antibactérienne observées entre les huiles essentielles (Burt *et al.*, 2004).

Dans l'ensemble, le mécanisme d'action antibactérien est favorisé par une série de réactions biochimiques dans la cellule bactérienne, qui dépendent du type et des caractéristiques des constituants chimiques présents dans l'huile essentielle. Les constituants chimiques de l'huile essentielle ont une propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne.

Les molécules oxygénées, qui entrent dans la composition des huiles essentielles, sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées, connues pour leurs faibles propriétés antibactériennes. L'activité antibactérienne de ces molécules dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels.

Parmi les composés de l'huile essentielle les phénols, sont, du fait du caractère acide de leur substituant hydroxyle, décrits comme les composés les plus actifs. Les composés carbonylés, avec des groupements aldéhydiques ou cétoniques, et les alcools sont également reconnus pour leurs propriétés antibactériennes (Kalembe et Kunicka, 2003).

Les composants actifs de l'huile essentielle du Romarin tel que le cinéole, le camphre et l' α -pinène, agissent sur plusieurs sites de la cellule bactérienne. Des cellules bactériennes traitées avec la fraction oxygénée de l'huile essentielle de *Quercus infectoria* est également endommagée. Le matériel intracellulaire forme des agrégats, qui présentent un aspect vacuolaire, due à une modification de la perméabilité membranaire qui conduit à une perte des éléments cytoplasmiques.

5.2.2. Activité antifongique :

Les huiles essentielles constituent une source potentielle pour des nouveaux médicaments antifongiques, soit sous leur forme pure soit sous forme de dérivés des composés originaux pour une optimisation thérapeutique plus efficace et plus sûre. Les huiles essentielles ou leurs composés actifs sont également employés comme agents antifongiques dans les industries agro-alimentaires (Zambonelli *et al.*, 2004).

L'eugénol est un composé antifongique efficace qui cause des dommages permanents aux cellules des levures tels que *Candida albicans*, et des champignons : *Aspergillus ochraceus*, *A. versicolor*, *A. niger*, *A. fumigates*, *Trichoderma viride* et *P. funiculosum*.

Papajani *et al.* (2015) ont rapporté l'activité antifongique de l'huile essentielle de romarin sur les dermatophytes tels que : *Epidermophyton floccosum*, *Arthroderma cajetani*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis*, *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton tonsurans*, et des champignons phytopathogènes tels que *Botrytis cinerea* et *Pleomorphomonas oryzae*.

Les composés phénoliques des huiles essentielles modifient la perméabilité cellulaire fongique en interagissant avec les protéines de la membrane. Cela provoque la déformation de la structure cellulaire, et perturbe la fonctionnalité aboutissant alors à la perte des macromolécules conduisant à une inhibition de la croissance fongique.

D'autre part, la pectine composée essentiel des parois des cellules végétales nécessaire à l'adhésion cellulaire, est hydrolysée par les pectinases fongiques. Il semblerait que les composés phénoliques des HE joueraient un rôle inhibiteur de celles-ci.

L'exposition des cellules fongiques à l'huile essentielle conduit généralement, à la coagulation des composants cellulaires dus à des dommages irréversibles de la membrane cellulaire. Chez la levure, l'huile essentielle établit un potentiel membranaire en perturbant la production d'ATP, ce qui conduit à la lyse cellulaire.

Les huiles essentielles ont la capacité de pénétrer et de perturber la paroi cellulaire des champignons et des membranes cytoplasmiques grâce à un processus de perméabilisation, ce qui conduit à la désintégration des membranes mitochondriales. Ceci est causé par des altérations dans le flux. Cela peut aussi endommager les lipides, les protéines et les acides nucléiques contenus dans les cellules infectées par les champignons pathogènes (Arnal-Schnebel *et al.*, 2004).

Les huiles essentielles pourraient également perturber la dépolarisation de la membrane mitochondriale en agissant sur les canaux d'ions, surtout les ions du Ca^{2+} , pompes à protons et pools d'ATP qui amène vers une diminution du potentiel membranaire. Ce changement dans la fluidité des membranes peut causer une perte d'électrolytes par la perturbation des voies de cytochrome C, des métabolismes des protéines et des concentrations d'ions du calcium. Par conséquent, cette modification de la perméabilité des membranes mitochondriales internes et

externes peut entraîner l'apoptose des cellules conduisant à la mort cellulaire.

6. La toxicité des huiles essentielles :

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire, tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie.

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde (Smith et al., 2000) ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines (Naganuma et al., 198)).

D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique. Les cétones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux [Franchomme et al, 1990]. Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers (Homburger et al., 1968).

C'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzènes ou de propénylbenzènes comme le safrole (Sassafras), l'estragole (*Artemisia dracunculoides*), le β -asarone (*Acorus calamus*) et le méthyl-eugénol. Des chercheurs ont mis en évidence l'activité hépatocarcinogénique de ces composés chez les rongeurs (Wiseman et al., 1987).

Le safrole et l'estragole, par exemple, sont métabolisés par les microsomes au niveau du foie des rats et des souris en dérivés hydroxylés puis en esters sulfuriques électrophiles qui eux sont capables d'interagir avec les acides nucléiques et les protéines [Kim et al., 1999]. Toutefois, ces résultats sont controversés car il existe des différences chez l'homme dans le processus de métabolisation de ces composés. Le safrole, par exemple, est métabolisé chez l'humain en dihydroxysafrole et trihydroxysafrole non cancérigènes (Franchomme et al., 1990).

De plus, tout dépend de la dose administrée lors des expériences et bien souvent la dose absorbée par l'animal est loin de correspondre à celle qu'un homme est susceptible d'ingérer par jour (Guba, 2001).

7. Précautions :

L'ingestion d'huile essentielle peut entraîner une intoxication sévère, notamment chez les enfants pour lesquels le risque accidentel est plus élevé. Cette intoxication peut survenir avec de petites quantités et le risque est plus élevé en cas d'antécédent d'épilepsie ou de convulsions.

Les symptômes les plus fréquemment rencontrés sont neurologiques, respiratoires et digestifs. Les principaux symptômes neurologiques sont des crises convulsives, une agitation ou au contraire une somnolence, des signes semblables à l'ébriété, des troubles de l'équilibre ou des hallucinations.

Des signes respiratoires peuvent survenir, tels qu'une toux persistante ou une irritation de la gorge, ainsi que des signes digestifs comme des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements et des diarrhées.

L'ANSM indique que « Les huiles essentielles ne doivent pas être utilisées de façon prolongée (au-delà de quelques jours) sans avis médical. ». Et dans tous les cas, elles ne doivent jamais être ingérées pures, car elles présentent un risque important pour les muqueuses ainsi que pour le foie. Selon le pharmacien Jacques Fleurentin, « Une cuillère à café d'huiles essentielles, c'est directement les urgences. C'est tout le temps par gouttes. Toujours.

CHAPITRE III

1. Les techniques d'extraction des huiles essentielles :

1.1. Entraînement à la vapeur d'eau :

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter.

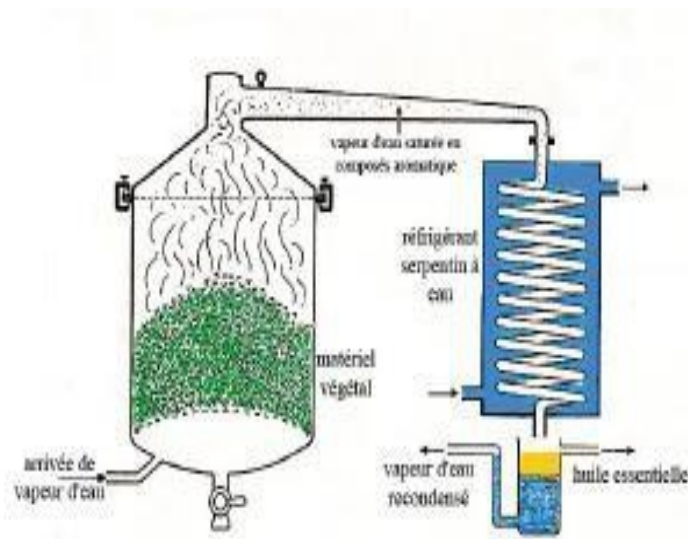


Figure 6 : Entraînement à la vapeur d'eau.

De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique.

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur (Figure 6).

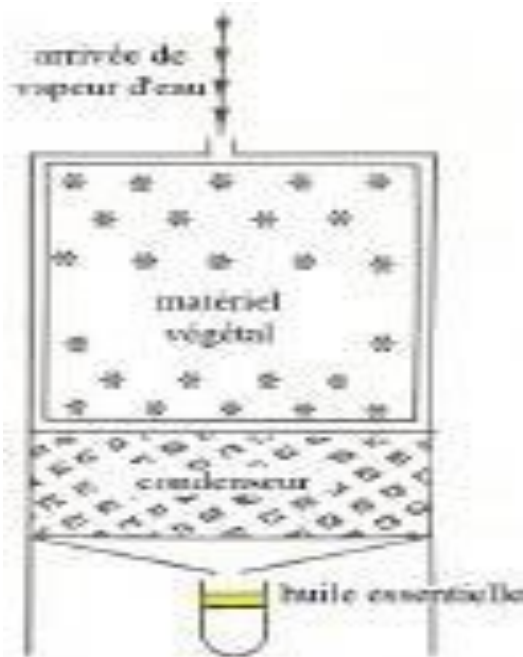


Figure 7 : Hydrodiffusion

Dans le cas de l'hydrodiffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

1.2. Hydrodistillation et ses variantes :

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. 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 (Figure 8).

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.

- La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage (cohobage) de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation.

- La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter.
- Afin de traiter des matières premières pour lesquelles il est difficile d'extraire l'huile essentielle ou pour les essences difficilement entraînaibles, l'hydrodistillation à pression réduite représente une bonne alternative. Cette technique est en outre utilisée pour le santal, legirofle ou les rhizomes de vétyver, de gingembre et d'iris.

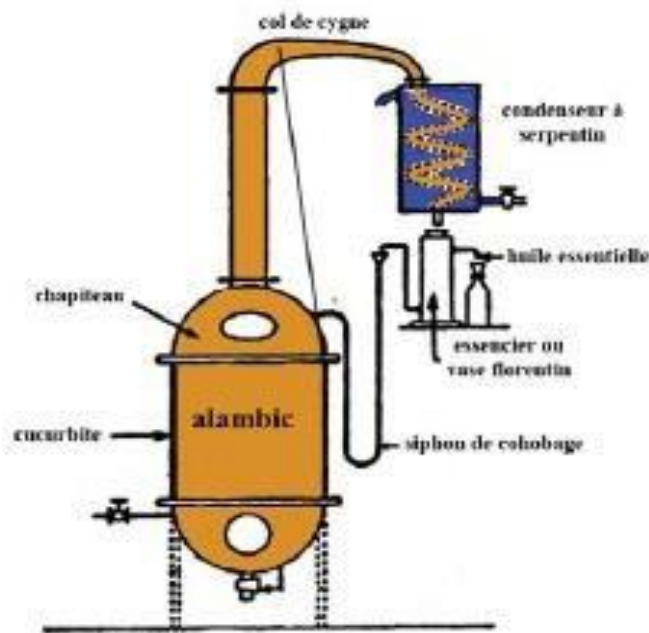


Figure 8 : L'hydrodistillation

- La turbodistillation est un procédé d'hydrodistillation accélérée en discontinue. Cette technique est prédestinée aux matières premières végétales difficiles à traiter (les racines, les ligneux ou les graines, exemple : badiane de Chine ou les graines de céleri).
- Elle représente une alternative à des hydrodistillations de longue durée. Le réacteur contenant la matière végétale est équipé d'une turbine qui permet d'une part, la dilacération des matières végétales, d'autre part, une agitation turbulente, d'où un meilleur coefficient de transfert thermique et une augmentation de la surface de vaporisation.

1.3. Expression à froid :

Les huiles essentielles de fruits d'hespéridés ou encore d'agrumes ont une très grande

importance dans l'industrie des parfums et des cosmétiques. Cependant ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. C'est pourquoi, spécifiquement pour cette catégorie de matière première, est utilisé un procédé totalement différent d'une distillation classique, qui est l'expression à froid. Le principe de cette technique est basé sur la rupture ou la dilacération des parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits et sur la pression du contenu de ces sacs sur les parois.

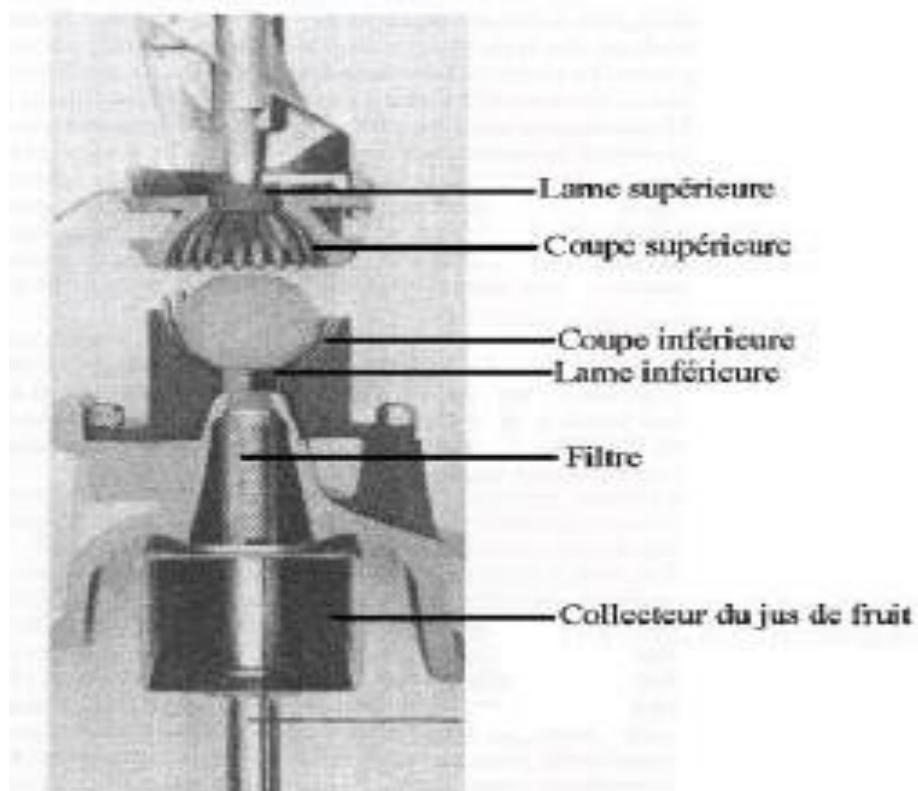


Figure 9 : L'extraction on continu.

1.4. Distillation « sèche » :

La distillation « sèche », aussi appelée distillation destructive, est utilisée pour la séparation des produits chimiques liquides contenus dans des matériaux solides. On peut ainsi obtenir, à partir du bois, par calcination, de la créosote (mélange de phénols), de l'alcool méthylique et de nombreux autres produits.

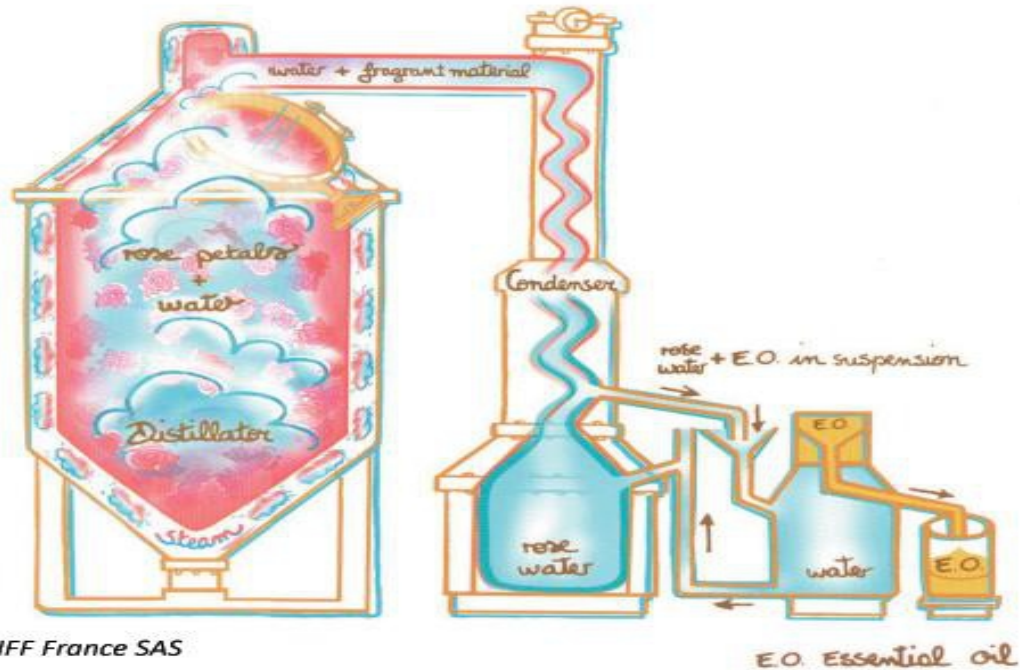


Figure 10 : Schéma de préparation de l'extrait de rose.

1.5. L'extraction par solvants :

La technique d'extraction par solvant, consiste à placer dans un extracteur 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.
- L'intervention de solvants organiques qui peut entraîner des risques d'artéfacts et des possibilités de contamination de l'échantillon par des impuretés parfois difficile à éliminer.
- Le choix du solvant : le méthanol, l'éthanol, l'éther de pétrole ou encore le dichlorométhane.

- Cette technique d'extraction a été récemment combinée aux micro-ondes et aux ultra-sons.

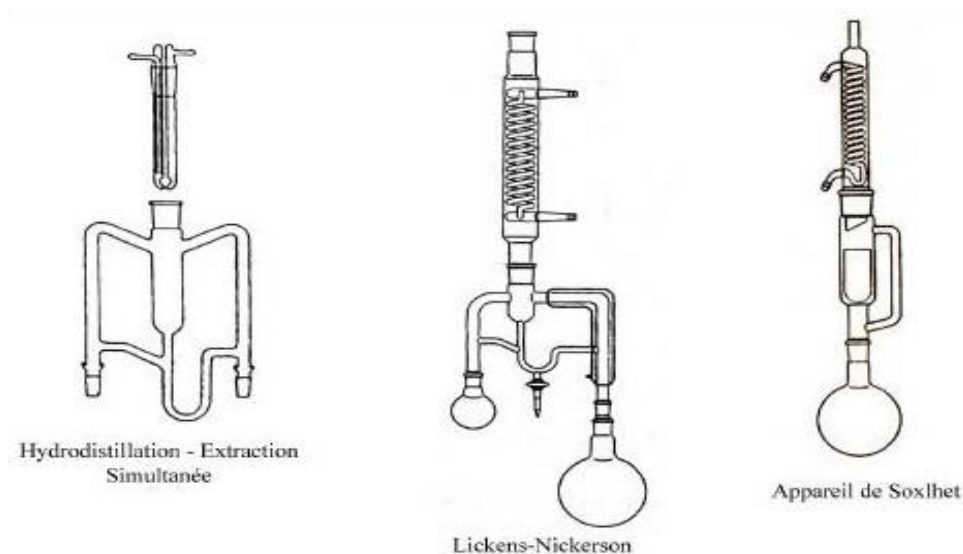


Figure 11 : Les différents types d'extraction par solvants volatils.

L'extraction par solvant organique volatil reste très pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone.

1.6. L'extraction assistée par chauffage micro-ondes :

L'extraction par micro-ondes regroupe différents procédés parmi lesquels :

- L'extraction par solvant assistée par chauffage micro-ondes.
- Hydrodistillation assistée par chauffage micro-ondes sous vide.
- Extraction sans solvant assistée par chauffage micro-ondes (extraction des plantes fraîches)

Il existe divers exemples d'applications de cette technique à l'extraction de certains organes végétaux : épices de *Cuminum cyminum* L. et *Zanthoxylum bungeanum* L. par Wang et col. en 2006, fruits de *Xilopia* par Stashenko et col. en 2004, hysope, sariette, marjolaine, sauge (*Salvia officinalis*) et thym par Collin en 1991, feuilles de *Lippia sidoïdes* par Craveiro et col. en 1989, menthe poivrée et persil commun par Pare et col. en 1989.

L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation (ramenée à quelques minutes) et d'incrémenter le rendement d'extrait. Cependant l'irradiation d'un volume important pose des problèmes techniques.

1.6.1. Les micro-ondes :

Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques couvrant les gammes des ondes décimétriques UHF, centimétriques SHF et millimétriques EHF (Figure 12).

Dans le spectre électromagnétique, les micro-ondes occupent une bande de fréquence de trois décades de 300 GHz à 300 MHz. Les longueurs d'ondes associées s'étalent de 1 millimètre à 1 mètre. La fréquence la plus utilisée est de 2450 MHz correspondant à la fréquence de la majorité des magnétrons des fours micro-ondes de cuisine ayant une puissance de 600 à 1000 Watts et une longueur d'onde dans l'air de 12,2 cm.

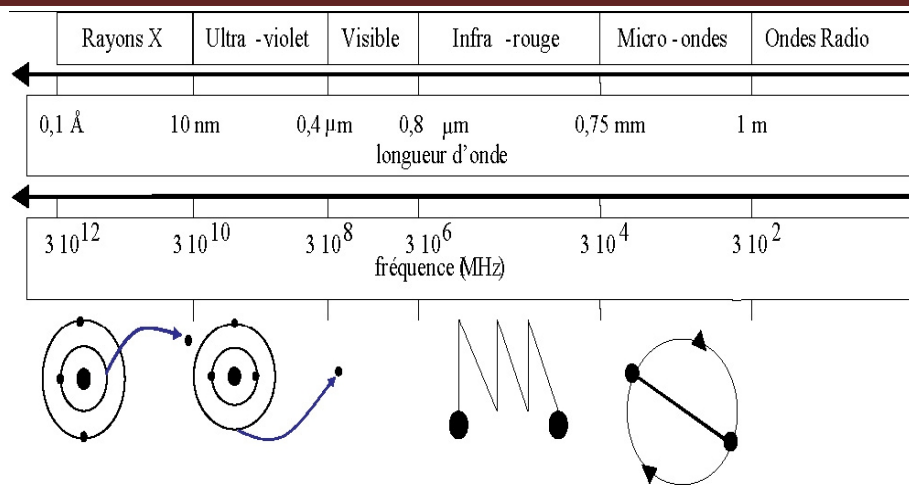


Figure 12 : Le spectre électromagnétique.

Les applications de ces ondes sont nombreuses et très diverses :

- La détection électromagnétique ou radar,
- La poursuite des satellites,
- La mesure des dimensions d'un objet en cavités résonnantes,
- L'évaluation de la température par radiométrie,
- La mesure de l'humidité d'un matériau par le biais de ses caractéristiques,
- La télévision et les télécommunications par liaisons hertziennes et spatiales.

1.6.2. Technologie du four à micro-ondes :

Un four à micro-ondes est constitué de trois éléments principaux (Figure 13):

- Le générateur micro-ondes,
- Le guide d'onde,
- La cavité micro-ondes.

Les micro-ondes de forte puissance sont produites par des tubes à vide dont le plus habituel est le magnétron : il s'agit d'une diode thermoïonique composée d'une cathode chauffée qui émet des électrons et d'une anode polarisée positivement par rapport à la cathode pour attirer.

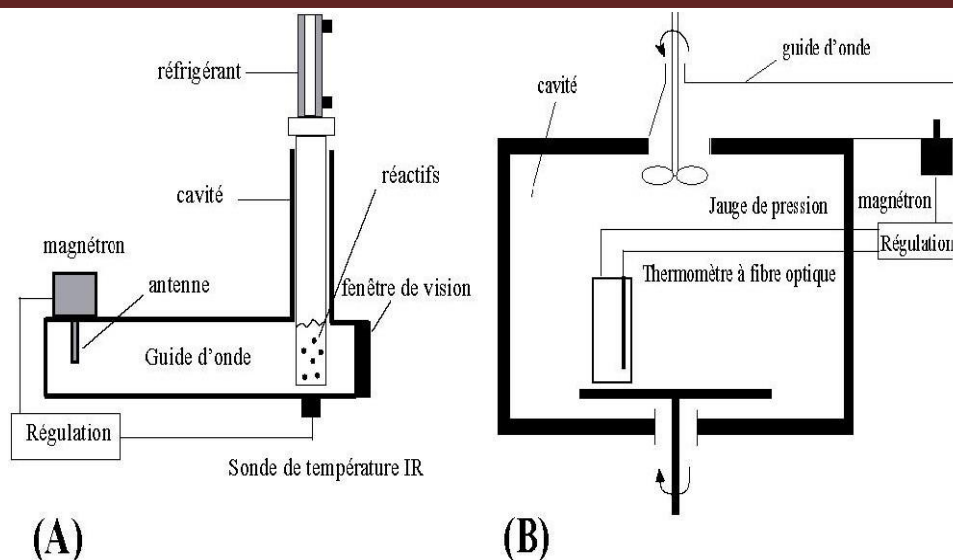


Figure 13 : Schéma d'un four micro-ondes monomode (A) et multimode (B).

Les électrons par le champ électrique continu. Ce champ à haute tension est produit par une alimentation électrique à 50 Hz à partir du secteur redressé. Le guide d'onde permet de convoier et de guider les ondes émises par le magnétron. Le guide est généralement un tube métallique ou un conducteur cylindrique dont la section droite est limitée par un contour fermé pouvant contenir d'autres contours.

Sa génératrice sera choisie comme axe de propagation. Deux modes de propagation peuvent exister : le mode TM (transverse magnétique), ou bien, le mode TE (transverse électrique).

L'applicateur est une cavité fermée qui doit assurer le transfert au matériau à traiter de l'énergie électromagnétique provenant du magnétron. Deux grandes catégories d'applicateurs existent :

- Les applicateurs monomodes
- Les applicateurs multimodes.

Un applicateur est dit monomode lorsque ses dimensions géométriques sont choisies de telle sorte qu'à la fréquence de travail, il n'existe qu'une configuration de champ. L'énergie électromagnétique emprisonnée se réfléchit sur les parois et donne lieu à des ondes stationnaires. Ce type d'applicateur permet ainsi le contrôle précis du champ électrique, il est cependant réservé aux matériaux de petit volume.

L'applicateur multimode consiste en une cavité suffisamment grande afin qu'il existe plusieurs types de configurations de champ. Le champ électrique n'y est pas stable comme dans une cavité monomode et sa distribution varie. On préfère donc utiliser des applicateurs multimodes pour le traitement des volumes importants, et des matériaux dont les paramètres électriques et magnétiques varient peu.

1.6.3. Le chauffage micro-ondes :

Le transfert de chaleur sous chauffage micro-ondes est complètement inversé par rapport au chauffage conventionnel. Le transfert de chaleur classique se transmet de l'extérieur vers l'intérieur du récipient.

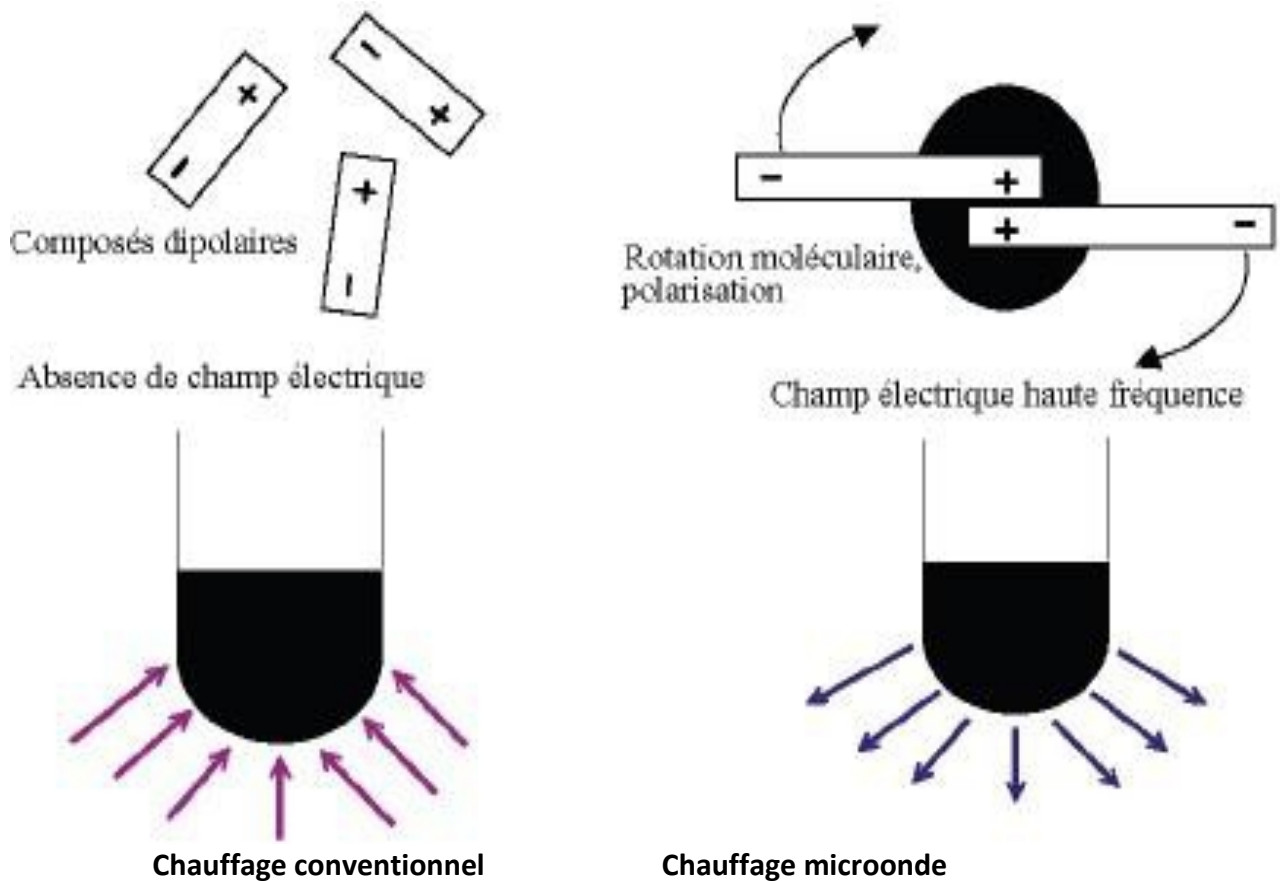


Figure 14 : Transferts thermiques sous les deux modes de chauffage.

Sous chauffage micro-ondes, le volume traité devient lui même source de chaleur. On parle de dégagement de la chaleur de l'intérieur vers l'extérieur du récipient. La paroi externe du réacteur est plus froide que le milieu du réacteur dans le cas du chauffage micro-ondes, et inversement pour le cas du chauffage conventionnel par double enveloppe, plaque chauffante et flamme. C'est un mode de chauffage instantané en volume et non en surface. Les phénomènes thermiques de conduction et de convection ne jouent plus qu'un rôle secondaire d'équilibrage de la température. Des surchauffes locales peuvent également se produire.

Le mécanisme du chauffage diélectrique repose sur le fait que les molécules polaires, telles que l'eau, ont des extrémités négatives et positives : ce sont des dipôles. En l'absence de champ électrique, les dipôles d'un milieu diélectrique se trouvent orientés au hasard sous l'effet de l'agitation thermique du milieu. Sous l'effet d'un champ électrique continu, les molécules tendent à s'orienter dans la direction du champ électrique. Plus le champ électrique est intense, moins l'agitation thermique qui tend à désorganiser l'alignement a d'importance.

Lorsque toutes les molécules sont orientées, il apparaît un moment dipolaire global induit. Sous l'effet d'un champ électrique alternatif de fréquence f , les dipôles s'orientent dans la direction du champ sur une demi alternance, se désorientent lorsque le champ s'annule et se réorientent dans l'autre sens pendant la seconde demi alternance : c'est la rotation dipolaire. L'énergie électrique est convertie en énergie cinétique par la rotation des dipôles.

L'énergie cinétique est transformée partiellement en chaleur : l'alignement des dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par les forces d'interactions entre molécules (les forces de liaison par pont hydrogène et les forces de liaisons de Van der Waals).

Ces forces peuvent être assimilées à des forces de frottement internes qui existent dans les contacts solide-solide. Elles s'opposent ainsi à la libre rotation des molécules. De la friction produite, naît le dégagement de chaleur. La dissipation d'énergie par le produit peut être maximale si la fréquence du champ électrique est égale à la fréquence de relaxation.

Le phénomène de relaxation correspond à l'apparition d'un déphasage entre l'oscillation du champ électrique et celui des dipôles. Les fréquences micro-ondes étant imposées, l'échauffement d'un produit avec une efficacité maximale est exceptionnel. Dans ce cas, une grande partie des molécules soumises à l'action du champ micro-ondes ne tourne pas avec le changement alternatif du champ mais frissonne comme le montre la figure 15.

Outre l'extraction aromatique des composés aromatiques d'origine végétale, il existe

actuellement diverses méthodes assistées par microondes :

- Extraction de minerais,
- Décontamination des sols

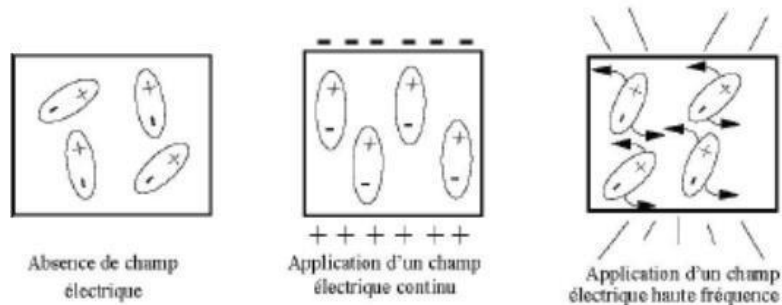


Figure 15 : Frissonnement des dipôles soumis à une irradiation micro-ondes.

Ganzler et coll. en 1986, en Hongrie furent les premiers à présenter une technique d'extraction par solvant assistée par micro-ondes en vue d'une analyse chromatographique. Cette technique se présentait comme beaucoup plus efficace qu'une méthode conventionnelle et permettait de réduire les temps d'extraction et donc les dépenses en énergie.

La figure 16 représente un montage pour l'extraction par solvant assistée par chauffage microonde en continu.

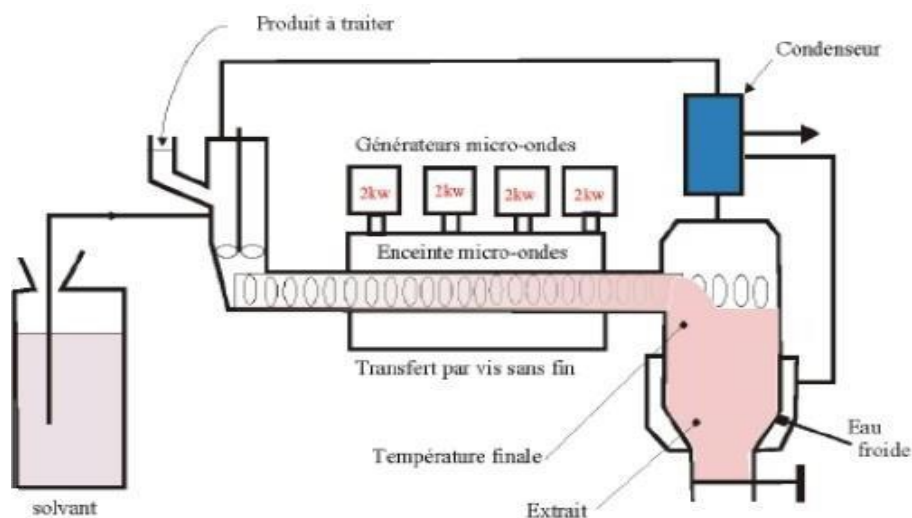


Figure 16 : L'extraction par solvant assistée par micro-ondes.

1.6.4. L'extraction sans solvant assistée par chauffage microondes :

En 1989, Craveiro et coll. proposaient une technique originale d'extraction de l'huile

essentielle de *Lippia sidoides* par chauffage microondes sans solvant en utilisant un compresseur à air. L'huile essentielle extraite en 5 minutes sous chauffage micro-ondes était présentée comme qualitativement identique à celle obtenue par entraînement à la vapeur en 90minutes.

Le système proposé est inspiré du procédé l'entraînement à la vapeur classique. Il se compose en fait de trois parties : Un compresseur envoyant de l'air dans le ballon où se trouve la matière végétale placé dans un four microondes (Figure 17).

Ce ballon est soumis aux radiations micro-ondes. La vapeur d'eau saturée en molécules volatiles est ensuite entraînée vers un second ballon de récupération plongé dans de la glace et situé à l'extérieur du four à micro-ondes.

L'eau ainsi que les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle sont donc condensées dans ce ballon extérieur. L'extraction de l'huile essentielle se fait à l'aide du dichlorométhane.

- La distillation sèche des alchimistes : XIII^{ème} siècle
- L'hydrodistillation de type Clevenger : **1928**
- L'extraction par micro-ondes : **1986**

Basée sur un principe relativement simple, l'extraction sans solvant assistée par microondes consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant organique. 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 la matière végétale. 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.

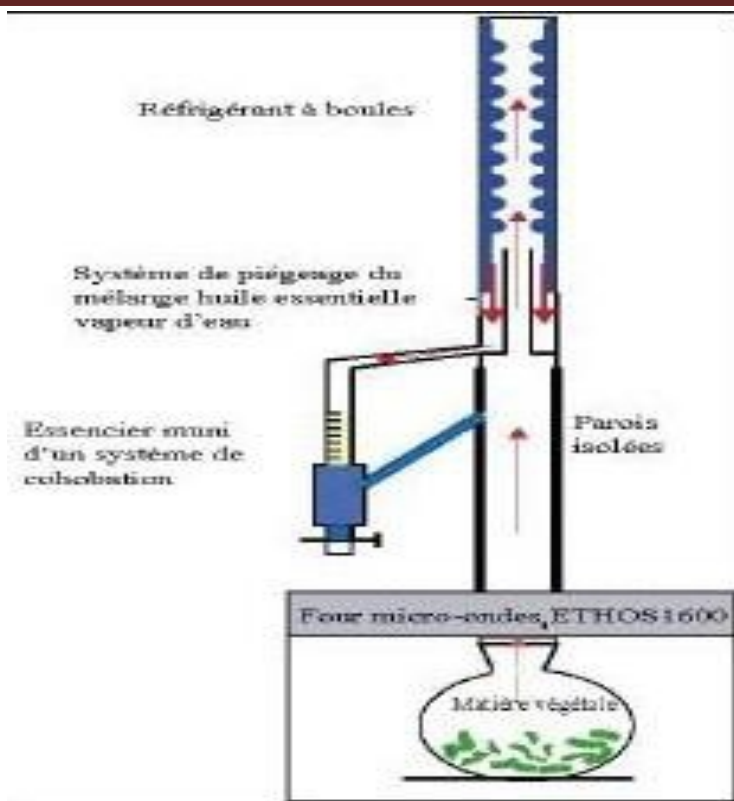


Figure 17 : L'extraction sans solvant assistée par microonde

Ce système proposé par Marie Lucchesi représente l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes avec un système de cohobation assurant un taux d'humidité constant du matériel végétal au cours de l'extraction. Il est signalé aussi que les rendements identiques à ceux obtenus en hydrodistillation classique. L'application de cette méthode a concernée Trois plantes aromatiques (basilic, thym, menthe).

Le protocole expérimental: 250g de feuillage frais sont introduits sans ajout d'eau ni de solvant organique dans un réacteur de type ballon d'une contenance de 2 litres placé dans la cavité multimode du four micro-ondes Milestone ETHOS 1600.

La durée de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes de végétaux frais peut être fixée après observation de la quantité d'huile essentielle extraite au cours du temps. Grâce au système de cohobation, le taux d'humidité au sein du ballon est quasiment le même tout au long de l'extraction. L'huile essentielle obtenue est séparée de l'eau par simple décantation. L'huile essentielle est au préalable placée sur desséchant de type sulfate de magnésium ($MgSO_4$), afin d'éliminer toute trace éventuelle d'eau, puis est pesée afin de calculer le rendement de l'extraction par rapport à la masse de matériel végétal frais.

Les huiles essentielles sont conservées au réfrigérateur à l'abri de la lumière et à une température de 4°C.

1.6.6. L'hydrodistillation assistée par chauffage micro-onde :

L'hydrodistillation assistée par micro-ondes sous pression réduite, a été élaborée et brevetée par la société Archmiex dans les années 1990. Cette technique d'extraction, dont l'origine est l'hydrodistillation classique, est basée sur l'utilisation conjointe des microondes et d'un vide pulsé. Le matériel végétal à traiter frais ou sec (auquel cas on lui rajoute une quantité d'eau requise) est soumis durant une période un vide pulsé qui permet l'entraînement azéotropique des substances volatiles à une température inférieure à 100°C.

Cette opération peut être répétée plusieurs fois selon le rendement souhaité. Les avantages présentés par cette technique sont nombreux tant au niveau économique qu'au niveau qualitatif.

- Hydrodistillation assistée par micro-ondes sous pression réduite serait dix fois plus rapide que l'hydrodistillation pour un rendement équivalent et un extrait de composition identique.

1.7. Enfleurage :

C'est une méthode complexe, elle n'est plus utilisée sauf pour les fleurs. Celles-ci sont étalées délicatement sur des plaques grasses qui absorberont tout le parfum. Les corps gras vont, ensuite, être épuisés par un solvant. Une fois l'arôme des fleurs absorbé, les fleurs sont remplacées par d'autres fraîches, et ceci jusqu'à saturation du corps gras. Au bout de 24 heures, le corps gras et les H.E sont séparés (Moro-Buronzo, 2008).

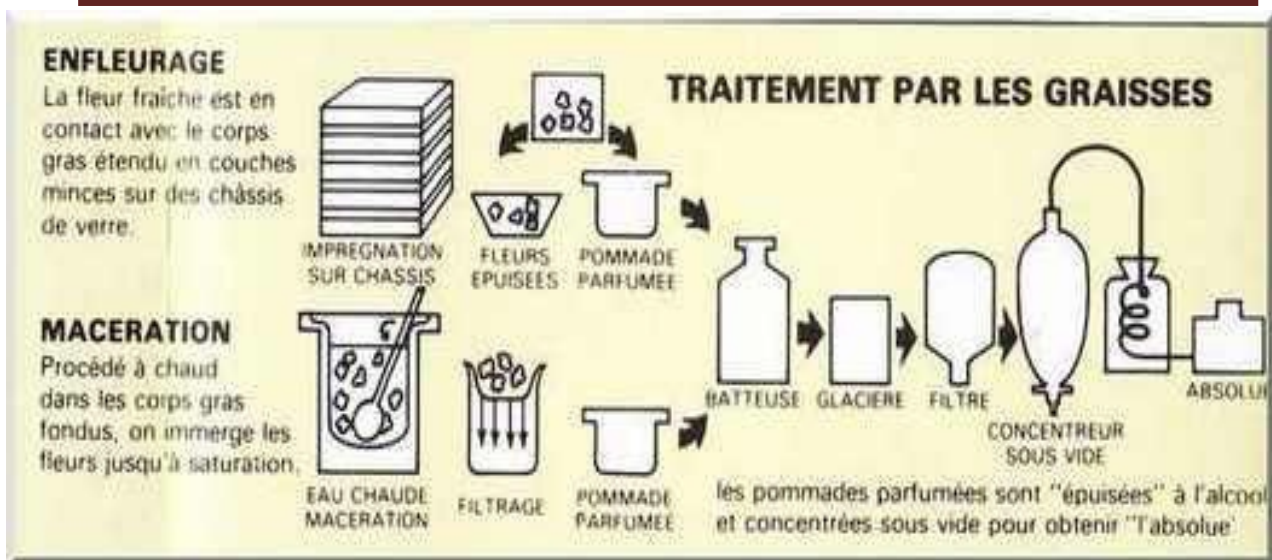


Figure18 : extraction des huiles essentielles par Enfleurage.

1.8. Extraction au CO₂ supercritique :

L'extraction de fluide supercritique (EFS) est un processus consistant à séparer une composante de l'autre en utilisant les fluides supercritiques au lieu d'un solvant d'extraction.

Cette méthode est utilisée pour l'extraction des huiles essentielles, dont 90 % l'extraction est exécutée avec le dioxyde de carbone (CO₂) pour plusieurs raisons pratiques. Outre une pression critique relativement faible (74 bars) une température de 32C°, le CO₂ est relativement non toxique, ininflammable, non corrosif, sans danger, disponible en grande pureté à un coût relativement faible et s'élimine facilement de l'huile (Rozzi *et al.*, 2002).

Le seul inconvénient du CO₂ est son manque de polarité pour l'extraction des composés polaires (Pourmortazavi *et al.*, 2007). Il a été constaté que des extraits préparés par EFS a produit une activité antioxydante plus élevée que les extraits préparés par d'autres méthodes (Fadel *et al.*, 1999).

Cette méthode d'extraction produit un meilleur rendement, un coefficient de diffusion plus élevé et une plus faible viscosité. Beaucoup d'huiles essentielles qui ne peuvent pas être extraites par distillation à la vapeur peuvent être obtenues par extraction au dioxyde de carbone.

Néanmoins, cette technique est très coûteuse en raison du prix de l'équipement. L'huile supercritique s'est avéré pour être de qualité supérieure, avec les meilleurs résultats d'activités (Capuzzo *et al.*, 2013).

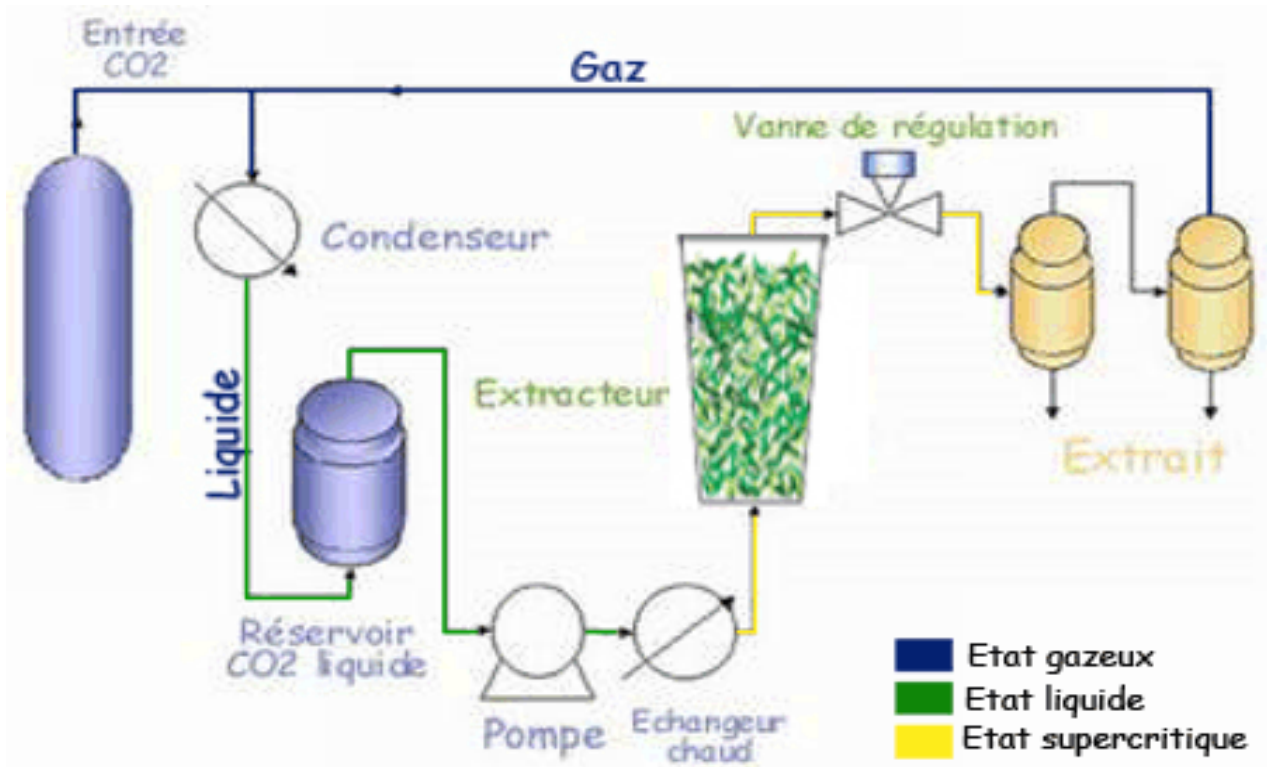


Figure19 : Extraction au CO₂ supercritique

2. Méthodes de conservation des huiles essentielles :

La conservation des huiles essentielles s'avère très délicate. Selon LOBSTEIN et al. une huile essentielle ne dépasse pas une année, sans subir d'importantes modifications physico-chimiques. Une meilleure préservation de sa qualité nécessite le respect de certaines règles élémentaires de stockage: conservation sous atmosphère d'azote, utilisation de flacons de faibles volumes, emploi de flacons en verres brun, en aluminium ou en acier inoxydable, stockage à basse température. Dans certains cas, la déterpénation partielle d'une huile essentielle permet de rallonger sa durée de vie. L'un des moyens le plus efficace pour protéger une huile essentielle est d'y ajouter des substances capables d'interférer avec les réactions oxydantes.

C'est le cas de l'acide citrique, employé pour la conservation des huiles essentielles utilisées dans l'alimentation et du sel dipotassique de l'éthylène diamine tétracétique (EDTA) pour celles non utilisées dans l'alimentation.

Les antioxydants les plus couramment employés sont ceux qui réagissent avec les radicaux libres: dérivés phénoliques, butylhydroxytoluène (BHT), butylhydroxyanisole (BHA) et les esters de l'acide gallique.

Outre l'emploi d'anti-oxydants bien connus tels que les vitamines C et E, les polyphénols et les acides phénoliques, la pectine, la proline et les hydrolysats de protéines, des recherches sont en cours pour la mise en évidence des propriétés anti-oxydantes des extraits de romarin, de mousse de chêne et de fèves de soja. D'autres moyens de protection, comme la protection anodique activée et la stabilisation par les rayons gamma, sont également à l'étude.

3. Méthodes d'analyse des huiles essentielles :

Il faut distinguer les méthodes analytiques anciennes de détermination des indices d'iode, d'acide, d'ester, de peroxyde, de carbonyle, de saponification, etc., proposées dans le recueil de normes, publiées par l'Association Française de Normalisation (AFNOR) et les normes internationales de l'International Standard Organisation (ISO). Ce sont des méthodes d'analyse globale, qui renseignent sur la composition chimique de l'huile essentielle.

A ces méthodes chimiques d'analyse, il faut ajouter les informations apportées par les mesures physiques d'indice de réfraction, de densité et de pouvoir rotatoire. Ces caractéristiques physicochimiques constituent des références utiles, des points de comparaison qui servent de

critère de qualité dans les transactions sur le marché.

Les méthodes modernes d'analyse permettent de trouver la composition centésimale d'une huile essentielle. Cependant une huile essentielle peut contenir plus d'une centaine de constituants dont les concentrations individuelles peuvent être supérieures au seuil de détection de l'appareil utilisé. Il n'est donc pas possible d'identifier tous les constituants.

La chromatographie en phase gazeuse sur des colonnes capillaires, utilisant un détecteur à ionisation de flamme, est devenue la norme minimale de l'appareillage analytique. Dans ce cas, la séparation s'effectue suivant les temps de rétention des constituants et on arrive à identifier entre 50 à 70 % des pics observés, correspondant à 90-95 % en masse de l'échantillon.

Cette méthode analytique offre également la possibilité de doser un constituant donné dans l'huile essentielle. L'inconvénient majeur de cette technique provient du fait que certaines valeurs des temps de rétention sont proches et prêtent à confusion dans l'interprétation des résultats. C'est pour cela qu'on procède toujours au calcul des indices de KOVATS, après analyse de l'huile essentielle sur deux colonnes de polarités différentes (l'une est apolaire et l'autre polaire).

La détermination de ces indices est basée sur la rétention spécifique et le nombre d'atomes de carbone des composés d'une série de paraffines homologues. La chromatographie en phase gazeuse peut également être couplée à la spectrométrie de masse et apporter des informations qualitatives et quantitatives. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse en espace de tête (analyse de la phase gazeuse en équilibre avec l'échantillon) est aussi une méthode adaptée à l'étude des principes volatils des plantes aromatiques.

Son principe est basé sur le fait que les substances volatiles peuvent être piégées à basse température ou par adsorption sur un polymère hydrophobe. Libérées par chauffage ou par désorption, elles sont volatilisées et étudiées par chromatographie en phase gazeuse. Cette méthode donne une huile essentielle dont la composition chimique est très proche de celle du mélange initialement présent dans la plante et permet d'apprécier les dégradations intervenues au cours de l'hydrodistillation.

L'identification des constituants d'une huile essentielle peut également être faite selon la méthode de CASANOVA et CORTICHIATO OI.

Cette méthode consiste à enregistrer le spectre de carbone 13 de l'huile essentielle et à repérer les pics correspondants à un composé donné, puis à l'identifier, par comparaison de son

spectre de carbone 13 avec les composés de référence d'une banque de données. Pour l'étude fine d'une huile essentielle, il est utile de procéder d'abord à un pré-fractionnement, soit par des procédés chimiques ou physiques (distillation ou méthodes chromatographiques).

En effet, il est possible de réaliser des transformations chimiques sélectives, destinées à éliminer, partiellement ou totalement un constituant ou groupe de constituants. C'est le cas par exemple, des composés carbonylés extraits par la méthode de la combinaison bisulfite ou des composés insaturés isolés sous forme de composés d'addition.

Dans le but d'isoler un produit pur ou d'éliminer certains produits malodorants ou irritants de l'huile essentielle, on utilise des procédés physiques tels que la distillation. On obtient des fractions de profil déterminé et l'on parle alors dans ce cas, comme dans celui de la méthode chimique d'une huile essentielle "déterpénée", "désesquiterpénée", "rectifiée". De tels exemples sont donnés dans la littérature: citons celui de l'isolement du (-)-citronellol par distillation fractionnée.

Ces procédés (chimique et physique) sont utilisés dans le but de valoriser une huile essentielle, en la débarrassant de ses constituants malodorants par exemple ou pour faciliter son analyse par la chromatographie en phase gazeuse.

Les méthodes chromatographiques (chromatographies préparative, sur couche mince, sur 25 colonne et d'exclusion sur gel) sont également utilisées, dans le but soit d'isoler un composant pur de l'huile essentielle, soit pour fractionner les constituants de celle-ci, par groupe: hydrocarbures, dérivés oxygénés, etc.

À cet effet, on emploie des systèmes d'éluants peu polaires. Selon LAWRENCE, les hydrocarbures saturés sont mieux résolus sur des plaques préparatives imprégnées avec une solution de AgNO₃ que par chromatographie en phase gazeuse. Le sabinène et le (3-pinène ont été fractionnés de cette façon, en utilisant une solution de AgNO₃ 6,25 %. Les isomères cis/trans d'alcools monoterpéniques (nérol et géraniol) ont également été fractionnés d'une façon similaire, en utilisant une solution de AgNO₃ 3 %. En chromatographie sur couche mince on utilise comme révélateurs, une lampe UV ou des réactifs chimiques: vanilline sulfurique, trichlorure d'antimoine ou dinitrophénylhydrazine.

Les méthodes chromatographiques usuelles sont souvent associées à la chromatographie en phase gazeuse. Par exemple BAMBAIOTTI et al. d'une part et KARA WY A et al., d'autre part, ont utilisé la combinaison chromatographie préparative et chromatographie en phase gazeuse,

respectivement pour le fractionnement des constituants des huiles essentielles de *Pinus mugo* et de *Citrus aurantium* (zeste de citron).

Cependant il a été constaté l'altération ou la formation d'artéfacts au niveau de l'huile essentielle, au cours de la chromatographie, même sur des supports désactivés, telle que par exemple l'isomérisation de l' α -terpinène et de l' α -phellandrène en p-cymène, l'isomérisation du sabinène en α -thujène, en α et p-terpinène, limonène, p-phellandrène et terpinolène. COSCIA a rapporté que cette isomérisation peut être évitée en utilisant une solution de soude 0,1 N au lieu de l'eau distillée pour la préparation des plaques. L'on a aussi eu recours à la chromatographie sur colonne sous pression d'azote ou à la distillation sous pression réduite, procédés par lesquels les altérations sus-mentionnées peuvent être minimisées.

Pour l'identification d'un composé pur, les méthodes chromatographiques, les procédés physiques et chimiques peuvent être complétés par les méthodes spectrales: IR, UV, RMN ^{13}C et ^1H . De nos jours les progrès de l'instrumentation, notamment l'association de la chromatographie en phase gazeuse avec la chromatographie en phase liquide à haute performance (CPO / HPLC) ou avec la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (CPO / IRTF) permettent la séparation, la quantification et l'identification des mélanges les plus complexes.

Conclusion :

L'utilisation des produits naturels dans la sécurité alimentaires et dans la phytothérapie, présentent un large éventail d'activités biologiques et pharmacologiques. Actuellement, les produits naturels sont utilisés dans des préparations alimentaires principalement comme aromatisants et par les industries cosmétiques et pharmaceutiques, comme parfums et additifs. Ces substances naturelles ont été suggérées dans les denrées alimentaires parce qu'ils ont des propriétés antimicrobiennes importantes contre les bactéries et les champignons et même une activité antioxydante.

Ainsi que l'utilisation des différents conservateurs pour assurer que les aliments manufacturés demeurent sécuritaires et intacte, tandis que les conservateurs chimiques ont des activités cancérogènes potentielles, et une toxicité résiduelle.

Le problème d'utilisation des médicaments synthétique pose aussi un problème de santé comme le problème de résistance microbienne, et les effets indésirables de ces médicaments chimique nocif pour l'homme. Les chercheurs se sont trouvés, alors face à la recherche et la découverte d'autres agents d'origine naturelles dotés d'activités biologiques avec moins d'effets néfastes sur la santé humaine.

Ce travail a pour objectif d'étudier les huiles essentielles, ses activités biologiques, composition, mécanismes d'action et domaine d'utilisation.

Les huiles essentielles présentent un grand intérêt médical, pharmaceutique, même Cosmétique et en agroalimentaire.

Afin d'étendre nos connaissances sur l'efficacité des produits bioactifs naturels et explorer leur application, les recherches doivent se concentrer sur les questions suivantes :

- L'identification de chaque constituant de cette HE et exploiter l'action inhibitrice de chaque constituant identifié in vitro ainsi in vivo.
- Étude de la relation structure-activité des composés isolés avec leur spécificité biologique respective.
- Mener des analyses phytochimiques et biologiques comparatives sur les constituants chimiques isolés présents dans l'espèce sélectionnée d' Helichrysum aux composés chimiques existantes isolés du genre.
- l'élucidation mécanismes moléculaire de la cellule par lesquels le micro-organisme réagir

contre les produits bioactifs naturels ; la définition des effets de matrice sur l'efficacité antimicrobienne d'un produit naturel bioactif en combinaison avec d'autres obstacles.

- l'utilisation de technologies émergentes en combinaison avec des produits naturels, qui peuvent agir en synergie pour la prévention de la prolifération microbienne ; la détermination d'autres activités biologiques des produits naturels, par exemple, celles relatives à l'antioxydant et le potentiel anticancéreux et l'identification des mécanismes possibles d'action.
- la compréhension des attitudes des consommateurs et de la perception de la qualité. En outre, il faudrait mettre davantage l'accent sur les dosages de la prévalence des microorganismes pathogènes en relation avec l'utilisation d'antimicrobiens naturels au cours des différentes étapes de la production dans l'industrie.

L'huile essentielle d'orange (extraite de la peau d'orange par pression à froid) est la première huile essentielle mondiale. En 2015, elle était produite à hauteur de 51 000 tonnes, principalement au Brésil et en Floride pour 90 % de leur production.

En deuxième place se trouve l'huile essentielle de menthe « des champs » (*Mentha arvensis*) avec 32 000 tonnes, soit 29,1 % de la production mondiale.

En troisième position, on retrouve le citron (*Citrus limonum* ; 9 200 tonnes ; 8,4 %), puis l'eucalyptus (*Eucalyptus globulus* et *Eucalyptus radiata* ; 4 000 tonnes ; 3,6 %), la menthe poivrée (*Mentha piperita* ; 3 300 tonnes ; 3 %) et la citronnelle (*Cymbopogon winterianus* ; 1 800 tonnes ; 1,6 %). Les trois huiles essentielles les plus vendues dans le monde représentent près de 90 % de ce volume total.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- AFNOR, 1980. Huile essentielle, recueil des normes françaises. NFT 75-006. Paris: AFNOR.
- Ahmad, H.; Tijerina, M.T.; Tobola, A.S. 1997. Preferential overexpression of a class MU glutathione S-transferase subunit in mouse liver by myristicin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 236, 825-828.
- Alekshun M.N & Levy S.B., 2007.- Molecular mechanism of antibacterial multidrug resistance. *Cell.* 128: 1037-1050
- Ali S.S., Kasoju N., Luthra A., Singh A., Sharanabasava H., Sahu A. & Bora U., 2008.- Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International Journal*, 41: 1–15.
- Alvaez-Castellanos, P.P.; Pascual-Viilalobos, M.J. 2003. Effect of fertilizer on yield and composition of flowerhead essential oil of *Chrysanthemum caronarium* (Asteraceae) cultivated in Spain. *Ind. Crops Prod.* 17, 77-81.
- Amaral J.A., Ekins A., Richards S.R. & Knowles R., 1998. - Effect of Selected Monoterpenes on Methane Oxidation, Denitrification, and Aerobic Metabolism by Bacteria in Pure Culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 520-525.
- André R. 1998.- La maladie de parkinson. Ed. Masson. 16-19.
- Arousseau B. 2002.- Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA. *Product of Animal.* 15- 67
- Assad, Y.O.H.; Torto, B.; HassanaH, A.; Njagi, P.G.N.; Bashir, N.H.H.; Mahamat, H. 1997. Seasonal variation in the essential oil composition of *Commiphora quadricincta* and its effect on the maturation of immature adults of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Phytochemistry* 44, 833-841.
- Avlessi F., Alitonou G.A., Djenontin T S., Tchobo F., Yèhouénu B., Menut C. & Sohounhloué D., 2012.- Chemical composition and Biological activities of the Essential oil extracted from the Fresh leaves of *Chromolaena odorata* (L. Robinson) growing in Benin. *ISCA Journal of Biological Sciences*, 1(3): 7-13.
- Barel S., Segal R. & Yashphe J., 1991. - The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*. *Journal of Ethnopharmacology.* 33: 187-191.
- Bedi G., Tonzibo Z.F., Chopard C. & N'Guessan Y.T., 2004.- Etude des effets antidouleurs des huiles essentielles de *Chromolaena odorata* et de *Mikania cordata*, par action sur la Lipoxygénase L-1 de soja. *Physical Chemical News.* 15: 124-127.
- Béliveau, R.; Gingras, D. 2005. Les aliments contre le cancer. Édition du Trécarré. Outremont. 213p.
- Bonnefond-Rousselot D., Peynet J., Beaudoux J.L., Terond P., Legrand A. Delattre J. 2002.- Stress oxydant, Nutrition clinique et métabolisme. 16: 260-267.
- Boyle W., 1955. - Spices and essential oils as perspectives. *American Perfumer Essential Oil Review.* 66: 25-28.

- Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales. 2eme édition. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 915 p.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. Int. J. Food Microbiol. 94, 223-253.
- Buchanan B.B., Grisse W., Jones R.L., 2000. - Biochemistry & Molecular Biology of plants. American Society of plant Physiologists: Rockville, MA, p 1367.
- Calcabrini, A.; Stringaro, A.; Toccaceli, L; Meschini, S.; Marra, M.; Colone, M.; Salvatore, G.; Mondello, F.; Arancia, G.; Molinari, A. 2004. Terpinen-4-ol, the main component of *Melaleuca aitemifolia* (tea tree) oil inhibits the in vitro growth of human melanoma cells. J. invest. Dermatol. 122, 349-360.
- Caldefie-Chézet, F.; Fusillier, C; Jarde, T.; Laroye H.; Damez, M.; Vasson, M.P. 2006. Potential anti-inflammatory effects of *Malaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes. Phytother. Res. 20, 364-370.
- Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokemen A. & Akpulat H.A., 2003.- Antioxydant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achilla millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). Journal of Ethnopharmacology. 87: 215-220.
- Carson, C.F.; Cookson, B.D.; Farrelly, H.D.; Riley, T.V. 2002. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. J. Antimicrob. Chemother. 35, 421-424.
- Chao S.C., Young D.G. & Oberg C.J., 2000. - Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. Journal of Essential Oil Research 12: 639-649.
- Cox S.D., Man C.M0, Markham J.L., 2001.- Interaction between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. Journal of Applied Microbiology. 91: 492-497.
- Davidson P.M., 1997.- Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: M. P. Doyle, L. R. Beuchat and T. J. Montville (eds.) ASM, Washington. Food Microbiology. 520-556 p.
- De Moffarts B., Kirschvink N., Pincemail J. & Lekeux P. 2005.- Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. Animale. Médecine. Vétérinaire. 149: 1-9.
- Delaquis P.J., Stanich K., Girard B. & Mazza G. 2002.- Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. International Journal of Food Microbiology, 74:101-109.
- Deans, S.G.; Svoboda, K.P. 1989. Antimicrobial activity of summer savory essential oil and its constituents. J. Hortic. Sci. 64, 205-210.
- De Sousa, A.; Alviano, A.; Blank, A.; Alves, P.; Alviano, C; Gattass, C. 2004. *Melissa officinalis* L essential oil: antitumoral and antioxidant activities. J. Pharm. Pharmacol. 56, 677-681.
- Dorman H.J. & Deans S.G., 2000.- Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. 88: 308-316.
- Edris, A.E. 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. Phytother. Res. 21, 308-323.

- Edris, A.E.; Shalaby, A.; Fadel, H. 2003. Evaluation of a chemotype of spearmint (*Mentha spicata*) growing in Siwa Oasis, Egypt. *Eur. Food Technol.* 218, 74-78.
- Elshafie H.S., Mancini E., Sakr S., et al. 2015. Antifungal Activity of Some Constituents of *Origanum vulgare* L. Essential Oil against Postharvest Disease of Peach Fruit. *Journal of Medicinal Food.*18(8):929-934.
- Fadel H., Marx F., El-Sawy A., El-Gorab A. 1999. Effect of extraction techniques on the chemical composition and antioxidant activity of *Eucalyptus camaldulensis* var. *brevirostris* leaf oils. 208:212-216.
- Favier A., 2003.- Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* 108-115.
- Fernnell C.W., Lindsey K.L., McGaw L.J., et al., 2004. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: Pharmacology screening and toxicology. **Journal of Ethnopharmacology.** 94:205-217.
- Franchomme, P.; Pénoël, D. 1990. L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. 445 p.
- Franchomme, P.; Pénoël, D. 1990. L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. 445 p.
- Gautam N., Mantha A.K. and Mittal S. 2014. Essential oils and their constituents as anticancer agents: a mechanistic view. **BioMed Research International.**1-23.
- Guba, R. 2001. Toxicity myths - essential oils and their carcinogenic potential. *Int. J. Aromather.* 11, 76-83.
- Homburger, F.; Boger, E. 1968. The carcinogenicity of essential oils, flavors and spices: A review. *Cancer Res.* 28, 2372-2374.
- Hammer K.A., Carson C.F. & Riley T.V., 1999.- Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology.* 86: 985–990.
- Hart, P.H.; Brand, C; Carson, CF.; Riley, T.V.; Prager, R.H.; Finlay-Jones, J.J. 2000. Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Malaleuca altemifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *inflamm. Res.* 49, 619-626.
- Hayes A.J., Leach D.N., Markham J.L., & Markovic B.J., 1997.- In vitro cytotoxicity of Australian tea tree oil using human cell lines. *Essential Oil Research.* 9: 575-582.
- Heath H.B., 1981. *Source Book of Flavours.* Westport: Avi, pp.890.
- Jha P, Flather M, Lonn E, Farkouh M & Yusuf S., 1995.- The antioxidant vitamins and cardiovascular disease. A critical review of epidemiologic and clinical trial data. *Annals of Internal Medicine.* 11:860-72.
- Joseph M.N., Regina A.O., Alexander K.N., Dorothy Y.M., Phyllis G.A., 2015. Medicinal plants used to treat TB in Ghana. **International Journal of Mycobacteriology.**4:116-23.
- Juven B.J., Kanner J., Schved F., & Weisslowicz H., 1994.- Factors That Interact with the Antibacterial Action of Thyme Essential Oil and Its Active Constituents. *Journal of Applied*

Bacteriology, 76: 626-631.

- Kalembe, D.; Kunicka, A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10, 813-829.
- Koh, K.J.; Pearce, A.L.; Marshman, G.; Finlay-Jones, J.J.; Hart, P.H. 2002. Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation, *Br. J. Dermatol.* 147,1212-1217.
- Knobloch K., Pauli A., Iberl B., Weigand H. & Weis N., 1989.- Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research* 1: 119-128.
- Lahlou M., 2004.- Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research.* 18 : 435-448.
- Lambert R.J., Skandamis P.N., Coote P.J. & Nychas. 2001.- A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91: 453-462.
- Landis G.N. & Tower J., 2005.- Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of Ageing and Development.* 126: 365–379.
- Leon R. H. O. 2005. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France.
- Legault, J.; Dahl, W.; Debiton, E.; Pichette, A.; Madelmont, J.C. 2003. Antitumor activity of balsamfir oil: Production of reactive oxygen species induced by a-humulene as possible mechanism of action. *Planta Med.* 69, 402-407.
- Lewis K., Ausubel F.M. 2006. Prospects for plant derived antibacterials. **National Biotechnology.** 24:1504-1507.
- Li, Y.; Li, M.; Wang, L.; Jiang, Z.; Li, W.; Li, H. 2004. Induction of apoptosis of cultured hepatocarcinoma cell by essential oil of *Artemisia annul* L. *Sichuan Da ue Xue Bao Yi Xue Ban* (article en chinois). 35, 337-339 (Résumé en anglais disponible sur www.pubmed.org).
- Lopes, N.P.; Kato, M.J.; Aguiar Andrade, H.; Soares Maia, J.G.; Yoshida, M. 1997. Orcadian and seasonal variation in the essential oil from *Virola surinamensis* leaves, *Phytochemistry* 46, 689-693.
- Mann C.M., Cox S.D. & Markham J.L., 2000.-The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributrs to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree oil). *Letters in Applied Microbiology*, 30: 294-297.
- Massion P., Preise R.J.C. & Balligand J.L. 2002.- Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères. *Reactive nitrogen species : deleterious or not. Nutrition clinique et métabolisme.* 16: 248-252.
- Maruyama, N.; Sekimoto, N.; Ishibashi, H. 2005. Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *J. inflamm*, 2,1-11.
- Mbarek L.A., Mouse H.A., Elabbadi N., Bensalah M., Gamouh A., Aboufatima R0., Benharref A., Chait A., Kamal M., Dalal A., Ziad A., 2007.- Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research.* 40: 839-847.

- Meissner O. 2004. Editorial: The traditional healer as part of the primary health care team **South African Medical Journal**. 94:901-902.
- Mockute, D.; Bernotiene, G.; Judzentiene, A. 2001. The essential oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* growing wild in Vilnius district (Lithuania). *Phytochemistry* 57, 65-69.
- Modzelewska, A.; Sur, S.; Kumar, K.S.; Khan, S.R. 2005. Sesquiterpenes: Natural products that decrease cancer growth. *Curr. Med.Chem.- Anti-cancer Agents* 5,477-499.
- Bruneton, J. 1999. *Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales*. 2eme édition. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 915 p.
- Monti D., Chetoni P., Burgalassi S., Najarro M0, Saetton M.F. & Boldrini E., 2002.- Effect of different terpene-containing essential oils on permeation of estradiol through hairless mouse skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 237: 209-214.
- Naganuma, M.; Hirose, S.; Nakayama, Y.; Nakajima, K.; Someya, T. 1985. A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res.* 278, 31-36.
- Nébié R.H.C., Yaméogo R.T, Bélanger A. & Sib F.S., 2004.- Composition chimique des huiles essentielles d'*Ageratum conyzoides* du Burkina Faso. *Comptes Rendu de Chimie* 7: 1019–1022.
- O.M.S, 2002.- Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et potentiel. N° 4. 6 p.
- Oussou K.R., 2009. –Etude chimique et activité biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, 241p.
- Paena, A.T.; D'Aquila, P.S.; Panin, F.; Pippia, P.; Moretti, M.D.L. 2002. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine* 9, 721-726.
- Pibiri P., 2005.- Assainissement microbiologique de l'air et de systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat : Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit, EPFL (Suisse). 161p.
- Pourmortazavi S.M. and Hajimirsadeghi S.S. 2007. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. **Journal of Chromatography A**. 1163:2-24.
- Pryor W.A., 2000.- Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials, *Free Radical Biology.and Medicine*, 28: 141–164.
- Rozzi N.L., Phippen W., Simon J.E., Singh R.K. 2002. Supercritical fluid extraction of essential oil components from lemon-scented botanicals. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**.35:319-324
- Sell, C.S. 2003. *A Fragrant Introduction to Terpenoid Chemistry*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. 410 p.
- Sell, C.S. 2006. *The Chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer*. 2nd edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. 329 p.
- Siani A.C., Ramos M.F, Menezes-de-Lima O.J.R., Ribeiro-dos-Santos R., Fernadez-Ferreira E., Soares R.O., Rosas E.C., Susunaga G.S., Guimarae A.C., Zoghbi M.G. & Henriques M.G.C., 1999.- Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from leaves and resin of

Protium. *Journal of Ethnopharmacology*. 66: 57-69.

- Sikkema J., De Bont J.A.M. & Poolman B., 1995.- Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews* 59: 201-222.
- Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskiene R. & Sarkinas A. 2006.- Antimicrobial Activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*. 18: 698-703.
- Smith, C.K.; Moore, C.A.; Alahi, E.N.; Smart, Â.T.; Hotchkiss, S.A. 2000. Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 168,189-99.
- Sumonrat C., Suphitchaya C. and Tipparat H. 2008. Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical *Citrus* spp. against food-related microorganisms. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 30(1):125-131.
- Surk K.I. & Nielsen P.V., 2003. - Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal Applied Microbiology*; 99: 665-674.
- Sylvestre, M.; Legault, J.; Dufour, D.; Pichette, A. 2005. Chemical composition and anticancer activity of leaf essential oil of *Myrica gale* L *Phytomedicine* 12, 299-304.
- Sylvestre, M.; Pichette, A.; Lavoie, S.; Longtin, A.; Legault, J. 2007. Composition and cytotoxic activity of the leaf essential oil of *Comptonia peregrina*: L *Phytother. Res.* 6, 536-540.
- Teixeira B., Marques A., Ramos C. 2013. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*. 43: 587-595.
- Thompson, J.D.; Chalchat, J.C.; Michet, A.; Linhart, Y.B.; Ehlers, B. 2003. Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *J. Chem. Ecol.* 29, 859-880.
- Tomi.; Fothergill A.W.; Rinaldi, M.G. 1995. Comparative evaluation of macrodilution and alamar colorimetric microdilution broth methods for antifungal susceptibility testing of yeast isolates. *J. Clin. Microbiol.* 33, 2660-2664.
- Tucker A.O., Maciarello M.J., Charles D.J., Simon J.E. 1997. Volatile leaf oil of the curry Plant [*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don subsp. *italicum*] and dwarf curry plant [subsp. *Microphyllum* (Willd.) Nyman] in the North American herb trade. *Journal of Essential Oil Research*. 9:583-585.
- Ultee A., Bennik M.H & Moezelaar R. 2002.- The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 68: 1561-1568.
- Umezu T., 1999.- Anticonflict effects of plant-derived essential oils. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 64: 35-40.
- Unlu M., Daferera D., Donmez E., Polissiou M., Tepe B. & Sokmen A., 2002.- Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achilla setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*. 83: 117-121.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D & Mazur M. 2007.- Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 39: 44-48.

- Vasconcelos Silva, M.G.; Craveiro, A.A.; Abreu Matos, F.J.; Machado, M.I.L.; Alencar, J.W. 1999. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum*. *Fitoterapia* 70, 32-34.
- Virot S., 2004.- Les petites protéines de stress et leur rôle dans la mort cellulaire. Etude de leur fonction chaperon à travers l'exemple de la mutation R1 β 0G de l' α -crystalline. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon 1.
- Walker J.E.M, Saraste M.J, Runswick and N.J.Gay., 1982.- Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *The Embo Journal*, 1(8): 945-51.
- Wannissorn B., Jarikasem S., Siriwangachai T., Thubthimthed S., 2005.- Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*. 76: 233-236.
- Wendakoon C.N. & Sakaguchi M., 1995.- Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food Protection* 58: 280-283.
- Wiseman, R.W.; Miller, E.C.; Liem, A. 1987. Structure-activity studies of the hepatocarcinogenicities of alkenylbenzene derivatives related to estragole and safrole on administration to preweanling male C57BL/6J x C3H/HeJ FI mice.

Résumé

Principales étapes prévues Pour atteindre les objectifs fixés, les grandes étapes de mémoire seront les suivantes:

1-Extraction des métabolites secondaires à partir du sous-produit d'huile essentielle pour chaque plante par macération et par extraction à solvant accélérée (ASE) en utilisant des solvants organique à différentes polarités (cyclohexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et méthanol). Les extraits correspondants sont obtenus après évaporation à sec des solvants (sans résidu de solvant). Cette étape est nécessaire pour séparer les molécules en fonction de la polarité. Pour l'application agroalimentaire, s' il y a un extrait ou une molécule intéressante, on optimisera son extraction par la suite avec un solvant et un procédé adéquat.

2-Screening des activités biologiques et des familles chimiques des différents extraits. Cette étape permet de sélectionner les extraits ayants les meilleures activités.

L'utilisation de technologies émergentes en combinaison avec des produits naturels, qui peuvent agir en synergie pour la prévention de la prolifération microbienne ; la détermination d'autres activités biologiques des produits naturels, par exemple, celles relatives à l'antioxydant et le potentiel anticancéreux et l'identification des mécanismes possibles d'action.

L'utilisation des produits naturels dans la sécurité alimentaires et dans la phytothérapie, présentent un large éventail d'activités biologiques et pharmacologiques.

Abstract

Main stages planned To achieve the objectives set, the main stages of memory will be as follows:

1-Extraction of secondary metabolites from essential oil by-product for each plant by maceration and accelerated solvent extraction (ESA) using organic solvents with different polarities (cyclohexane, dichloromethane, ethyl acetate and methanol) . The corresponding extracts are obtained after evaporation of the solvents to dryness (without solvent residue). This step is necessary to separate molecules based on polarity. For food application, if there is an extract or an interesting molecule, its extraction will be optimized subsequently with a solvent and a suitable process.

2-Screening of the biological activities and chemical families of the different extracts. This step allows you to select the extracts with the best activities.

The use of emerging technologies in combination with natural products, which can act in synergy for the prevention of microbial proliferation; the determination of other biological activities of natural products, for example, those relating to the antioxidant and anticancer potential and the identification of possible mechanisms of action.

The use of natural products in food safety and in herbal medicine, exhibit a wide range of biological and pharmacological activities.

ملخص

المراحل الرئيسية المخطط لها لتحقيق الأهداف المحددة ، ستكون المراحل الرئيسية للذاكرة على النحو التالي:

1- استخلاص المستقلبات الثانوية من منتج ثانوي من الزيوت العطرية لكل نبات عن طريق النقع واستخلاص المذيبات المعجل (ESA) باستخدام المذيبات العضوية ذات الأقطاب المختلفة (الهكسان الحلقي ، ثنائي كلورو ميثان ، أسيتات الإيثيل والميثانول). يتم الحصول على المستخلصات المقابلة بعد تبخير المذيبات حتى تجف (بدون بقايا مذيب). هذه الخطوة ضرورية لفصل الجزيئات على أساس القطبية. بالنسبة لتطبيق الطعام ، إذا كان هناك مستخلص أو جزيء مثير للاهتمام ، فسيتم تحسين استخلاصه لاحقاً باستخدام مذيب وعملية مناسبة.

2- غربلة الأنشطة البيولوجية والعائلات الكيميائية للمستخلصات المختلفة. تتيح لك هذه الخطوة تحديد المقطعات التي تحتوي على أفضل الأنشطة.

استخدام التقنيات الناشئة جنباً إلى جنب مع المنتجات الطبيعية ، والتي يمكن أن تعمل في تآزر لمنع انتشار الميكروبات ؛ تحديد الأنشطة البيولوجية الأخرى للمنتجات الطبيعية ، على سبيل المثال ، تلك المتعلقة بمضادات الأكسدة ومضادات السرطان المحتملة وتحديد آليات العمل الممكنة.

يُظهر استخدام المنتجات الطبيعية في سلامة الأغذية وفي طب الأعشاب مجموعة واسعة من الأنشطة البيولوجية والدوائية.