

N° d'ordre :

N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière : Biochimie

Spécialité : Biochimie

THEME

Les huiles essentielles et leurs propriétés biologiques

Dirigé par:

M lle RAMDANE Farah

Présenté par :

BALI Meriem
BEKKARI Hadda
TLIBA Fatima
TOUANSA Rahma

Année universitaire 2013/2014

A bouquet of pink roses with green leaves is positioned on the left side of the page. The roses are in various stages of bloom, with some fully open and others as buds. The background is white with a faint, decorative border of small squares on the right side.

REMERCIEMENTS

Nous remercions **DIEU** tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la volonté nécessaire pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre gratitude la plus profonde à notre encadreur

M elle RAMDANE Farah : enseignante au sein de notre faculté d'avoir dirigé avec patience et bonne humeur notre travail. Qu'elle trouve ici le témoignage de toutes nos reconnaissances et de nos profondes grâces.

Nous remercions tous les enseignants du département de SNV parmi les : **M lle BAGGAT Inas , Mr : KIRAM Abderrazak et Mme : ADAIKA Aicha**

De même, nous remercions tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de cette étude.

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure1	Provenance des HE en fonction des différentes parties des plantes.	5
Figure2	Biogénèse des constituants chimiques des huiles essentielles.	11
Figure3	Biosynthèse des terpènes.	12
Figure4	Exemples de terpènes acycliques.	13
Figure5	exemples de monoterpènes cycliques.	13
Figure6	Exemples de structures des sesquiterpènes.	14
Figure7	Quelques diterpènes.	15
Figure8	La vanilline.	16
Figure9	Schéma du principe de la technique de l'entraînement à la vapeur.	25
Figure10	Schéma du principe de la technique de l'hydrodistillation.	26
Figure11	L'hydrodiffusion.	27
Figure12	la technique d'extraction par le CO ₂ supercritique.	28
Figure13	montage d'extraction par micro-onde.	28
Figure14	Quelques produits cosmétiques	36
Figure15	Réaction du DPPH ⁺ avec un antioxydant.	41
Figure16	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.	43
Figure17	Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri.	51
Figure18	Illustration de la méthode des microatmosphères.	52
Figure19	Mécanisme d'action de carvacrol sur la membrane cellulaire	60

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Récapitulation des principales huiles essentielles produites et des principaux pays producteurs dans le monde en 2008.	8
Tableau 2	Quelques exemples de terpènes et leurs importances .	14
Tableau 3	Quelques plantes aromatiques et leur huiles essentielles et propriétés biologiques.	17
Tableau4	Structure générale des principaux agents antimicrobiens.	46
Tableau 5	Définition des grandeurs CMI et CMB .	51
Tableau 6	Quelque plantes à huile essentielle et leurs activités biologiques.	61

Liste des abréviations

HE:HuileEssentielle

AFNOR: Association Française de Normalisation

H.E.B.B.D:huile essentielle botaniquement et biochimiquement définie

ISO: International Organization for Standardization

BHA:butylhydroxyanisole

BHT:butylhydroxytoluène

TBHQ:tert-butylhydroquinone

RESALA :Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation

FFA: Les teneurs en acide gras libre

PV: les teneurs en peroxyde

CD:les diènes conjugués

CT:les triènes conjugués

DPPH•:2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl

DPPH-H :1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

CCM : Chromatographie sur couche mince

GC/MS: Chromatographie en phase Gazeuse couplée au Spectroscopie de Masse

GRAS: Generally Recognized As Safe

VINCENT:Méthode de diffusion dans la gélose (agar)

CMI:Concentration minimale inhibitrice

CMB:Concentration minimale bactéricide

MTT:Méthylethiazoldiphenyltetrazolium

CMFC: Concentration Minimale Fongicide

CMFS: Concentration Minimale Fongistatique

TABLEAU DE MATIERE	
Remerciement	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles	
I.1 Historique des huiles essentielles	4
I.2 Généralités.....	4
I.3 Définition.....	5
I.4 Taxonomie des huiles essentielles.	6
I.5 Spécificité biochimique.....	7
I.6 Production mondiale.....	7
I.7 Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.....	8
I.7.1 Caractéristiques physiques.....	8
I.7.2 La composition chimique.....	9
I.7.2.1 Terpénoïdes.....	10
I.7.2.1.1 Monoterpènes (C ₁₀).....	10
I.7.2.1.2 Lessesquiterpènes (C ₁₅).....	12
I.7.2.1.3 Diterpènes.....	12
I.7.2.2 Composés aromatiques.....	14
I.7.2.3 Composés d'origine diverses.....	15
I.8 Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles.....	15
I.8.1 Facteurs intrinsèques.....	15
I.8.2 Facteurs extrinsèques.....	15
I.9 Répartition et localisation.....	16
I.10 Les plantes aromatiques.....	16
I.11 Mode d'action des huiles essentielles.....	19
I.12 Effets physiques et physiologiques des huiles essentielles.....	19
I.13 Conservation des huiles essentielles.....	20

I.14Toxicité des huiles essentielles.....	20
I.14.1Les composés toxiques des huiles essentielles.....	21
I.14.1.1Huiles essentielles possédant des phénols.....	21
I.14.1.2Huiles essentielles possédant des cétones.....	21
Chapitre II : Méthodes d'obtention et analyse des huiles essentielles	
II.1Techniques d'extraction des huiles essentielles.....	23
II.1.1Distillation.....	23
II.1.1.1Extraction à la vapeur de l'eau.....	23
II.1.1.2Hydrodistillation.....	24
II.1.1.3L'hydrodiffusion.....	24
II.1.2 Extraction par fluides supercritiques.....	26
II.1.3 Extraction par micro-ondes.....	26
II.1.4 Extraction par solvant organique.....	27
II.1.5 Extraction par les corps gras.....	27
II.1.6 Extraction à l'eau surchauffée.....	27
II.1.7 Distillation par extraction simultanée (SDE).....	27
II.2 Les méthodes d'analyses des huiles essentielles.....	28
II.2.1 La chromatographie sur couche mince (CCM).....	28
II.2.2 La chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	28
II.2.3 Le couplage CPG/MS.....	29
II.2.4 Chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	29
II.3 L'utilisations des huiles essentielles.....	30
II.3.1 L'utilisation par voie externe.....	30
II.3.2. L'utilisation par voie interne.....	33
II.4 Domaines d'utilisation.....	33
Chapitre III : Activités biologiques des huiles essentielles	
III.1 Généralités.....	36
III.2 Activité antioxydante.....	37
III.2.1Définition d'un antioxydant.....	37
III.2.2Essais de l'activité antioxydante dans les aliments.....	38
III.2.3 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	38

III.3 Activité antimicrobienne	41
III.3.1 Définition d'un antimicrobien.....	42
III.3.2 Essais de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles dans les aliments	43
III.3.3Le chémotype.....	45
III.3.4Une activité antibactérienne liée à la composition chimique.....	45
III.3.5Les actifs antibactériens.....	48
III.3.6Mode d'action des huiles essentielles.....	46
III.3.7 Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	47
III.3.8 Facteurs influençant l'activitéantimicrobienne des huiles essentielles.....	54
III.3.8.1 Dispersion et solubilité des huiles essentielles.....	54
III.3.8.2 Effet du dissolvant et émulsifiant.....	55
III3.8.3 Le choix de la méthode pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	55
III.3.8.4 Matrice biologique.....	56
III.3.8.5 Expression des résultats.....	56
III.3.8.6 Variation de composition des huiles essentielles.....	57
III.3.8.7 Type des microorganismes.....	58
III.4 Antivirale.....	59
III.5 Antiseptique.....	59
III.6 Antidouleurs, antiantalgiques ,analgésique.....	59
III.7 Huiles essentielles stimulantes, toniques et ayant un rôle antidépresseur.....	59
III.8 Huiles essentielles à tropisme gastro-antérique, hépatobilaire et rénale.....	59
III.9 Huiles essentielles à tropisme cardiocirculatoire etlymphatique.....	60
III.10Huiles essentielles à tropisme broncho-pulmonaire et respiratoire.....	60
Conclusion générale.....	64
Résumé.....	67
Références bibliographiques.....	68

Chapitre I

INTRODUCTION

Les médications traditionnelles et l'utilisation des plantes en médecine empirique ont souvent été à l'origine de recherches scientifiques de haut niveau. Dans la plupart des cas, ces recherches aboutissent à la découverte de substances originales présentant un intérêt thérapeutique considérable. La pharmacie industrielle jouit largement de ces molécules isolées, purifiées puis utilisées par la médecine conventionnelle; mais les plantes (source de ces molécules) étaient et sont utilisées avec succès en phytothérapie et en aromathérapie sous diverses formes. Ces médications ont de plus en plus la considération du public et des médecins (**Zhiri A., 2005**).

En effet, le développement des techniques d'analyses chimique a permis de révéler qu'une espèce végétale peut synthétiser des milliers de constituants chimique différents ceux -ci appartiennent à deux types de métabolisme : primaire et secondaire. Le métabolisme secondaire, modelé par le temps et l'évolution, caractérise le profil chimique original de chaque espèce végétale, conduisant à une grande biodiversité moléculaire (**Wichtel M et Anton R., 1999**).

Selon **Hammiche V., (1997)**, connaître une plante ayant des vertus médicinales suppose pouvoir décrire sa morphologie et son anatomie, connaître son origine et son mode d'action, apprécier l'incidence de ceux-ci sur sa qualité, analyser sa composition chimique et les facteurs qui peuvent la faire varier, connaître la structure et les propriétés des principes actifs aussi bien que leur activité pharmacologique, savoir apprécier la qualité par des éléments objectifs et mettre en œuvre des méthodes pour la contrôler et enfin d'appréhender tous les problèmes liés à l'utilisation des plantes et des produits qui sont issus: indication, contre -indication, effets secondaires, interactions médicamenteuses. La pharmacologie utilise ces molécules car elles ont un effet spécifique sur d'autres organismes, parmi ces substances, les huiles essentielles qui caractérisent les plantes aromatiques (**Remmal A et al., 1993**).

Le terme « huile essentielle » a été inventé au 16ième siècle par le médecin Suisse Parascelsus Von HOHENHEIM pour désigner le composé actif d'un remède naturel (**Burt S., 2004**). Les essences ou huiles essentielles sont ce que les plantes produisent de plus précieux.

Depuis les temps les plus reculés, les hommes se sont ingénies à trouver des techniques d'extraction des essences des plantes afin de pouvoir les utiliser pour en faire des médicaments ,des cosmétiques ,des parfums (**Padrini F et Lucheroni C .,1996**).

Ainsi, après la récolte, et suivant la partie de la plante à extrait, le procédé d'extraction mis en œuvre est différents et par conséquent la composition de l'extrait en est affectée (**Garnero J ., 1976**).

INTRODUCTION

Ce qui introduit cette diversité, c'est d'abord la variété des matières premières et ensuite les sensibilités considérables de certains parfums qui n'obligent à employer que des moyens peu violents sans interventions chimiques trop énergiques (**Khelfane F et Yousfi A ., 1987**).

Enfin, l'importance économique que représentent les huiles essentielles de fait leurs propriétés biologique, thérapeutiques, odoriférants, de leur impact au niveau de l'environnement et de leurs multiples utilisations dans diverse industries, suscite un intérêt croissant en biologie en chimie organique (**Hammiche V., 1982**).

I.1. Historique des huiles essentielles

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C (**Baser K., Buchbauer G., 2010**). Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation, etc. L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques. Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice GATTEFOSSE a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (**Besombes C., 2008**).

I.2. Généralités sur Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps comme remèdes contre plusieurs maladies. A titre d'exemple, l'ail, le gingembre, la menthe, le thym, la sauge, le fenugrec, le genévrier, l'origan et l'absinthe sont utilisés comme antiseptiques, anti-inflammatoires, antiparasitaires et pour la stimulation de la digestion et le traitement de plusieurs maladies gastro-intestinales (**Khenaka K., 2011 ; Viegi L.et al., 2003**), grâce à leur richesse en métabolites secondaires (**Wallace R., 2004**) qui représentent une variété très large de composés organiques sans fonction directe dans la croissance et le développement des plantes (**Amlan K.et al., 2010**). Cependant, ils jouent d'autres rôles importants, dans : l'odorat, la protection contre les insectes, les herbivores et les radiations ultra-violettes solaires (**Calsamiglia S.et al., 2007 ; Khenaka K., 2011**). Comme ils ont aussi un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement, telle l'attraction des insectes pollinisateurs (**Greathead H., 2003**) . Plus de 200.000 structures de métabolites secondaires ont été identifiées (**Amlan K., 2010**). Certains de ces métabolites sont utilisés pour la manipulation de la fermentation ruminale, précisément pour la stimulation de la digestion et la réduction des pertes sous forme de méthane et d'ammoniaque. Quatre groupes se sont avérés

intéressants dans ce domaine: les saponines, les tanins, les flavonoïdes et les huiles essentielles (Amlan K .et al., 2010). L'activité de ces substances dépend principalement de leur nature chimique et de leur concentration (Khenaka K., 2011).

I.3. Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés aromatiques des plantes, qui sont extraites par distillation par la vapeur ou des solvants (Smallfield B., 2001). Pour la 8^{ème} édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles sont : « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenu dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. » (Bruneton J., 1993). Les huiles volatiles trouvées dans plus de deux milles plantes et plus de soixante espèces de plantes peuvent être présents dans toutes les parties du plante : fleurs, feuilles, écorces, racines et la présence différente dans la proportion de la plante à l'autre, Les huiles essentielles appelés aussi essences (Bekhechi C., Abdelouahid D., 2010). Généralement se sont des antiseptiques antibactériens vermifuges ou stomachiques. On dénombre environ 600 essences utilisées de nos jours en aromathérapie dont l'essor s'étend dans le domaine médical et touristique (Delille A., 2010).

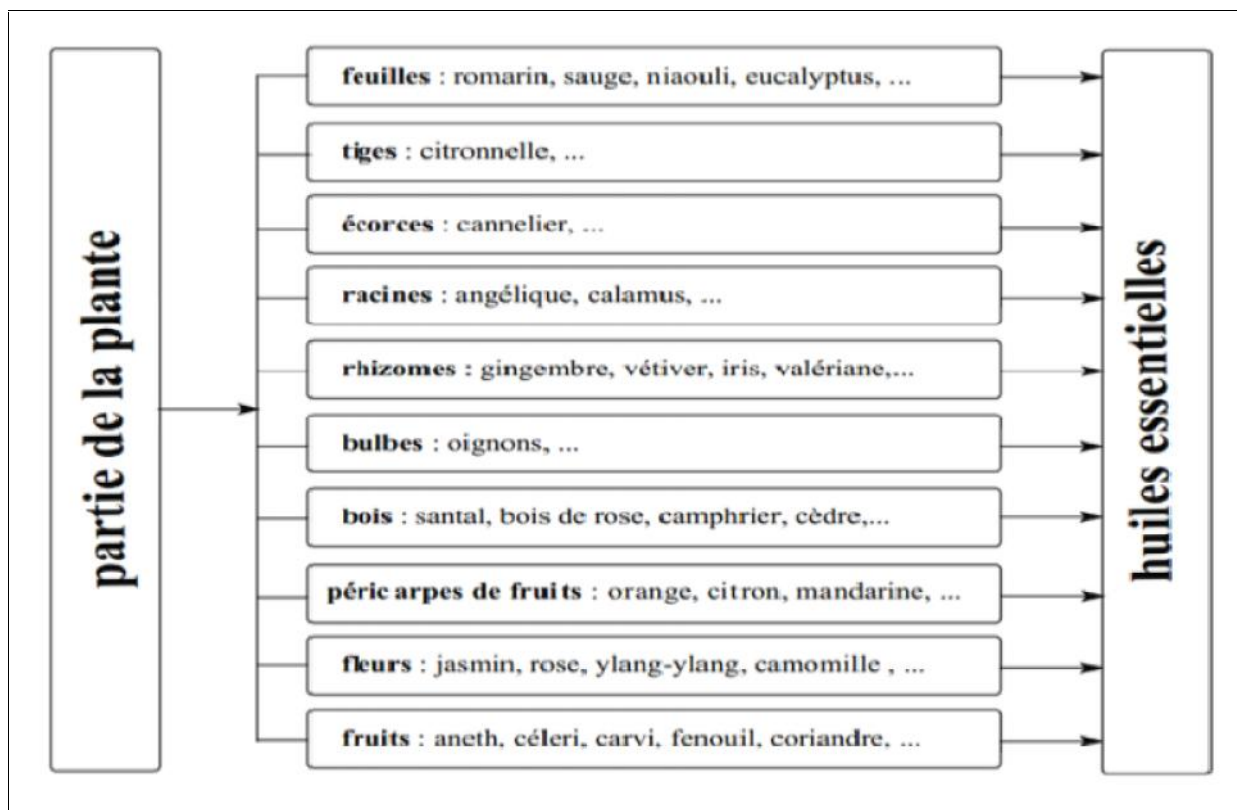


Figure 1: provenance des HE en fonction des différentes parties de plantes (AFNOR., 1996).

Selon la pharmacopée Européenne 7^{ème} édition : « Produit odorant généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. ». Les HE peuvent subir un traitement ultérieur approprié. Elles peuvent être commercialement dénommées comme étant déterpénée, désesquiterpénée, rectifiée ou privée «x».

- L'HE déterpénée est une HE privée, partiellement ou totalement, des hydrocarbures monoterpéniques.

- L'HE déterpénée et désesquiterpénée est une HE privée, partiellement ou totalement, des hydrocarbures mono- et sesquiterpéniques.

- L'HE rectifiée est une HE qui a subi une distillation fractionnée dans le but de supprimer certains constituants ou d'en modifier la teneur.

- L'HE privée de «x» est une HE qui a subi une élimination partielle ou complète d'un ou de plusieurs constituants (**pharmacopée Européenne., 2010**).

Selon AFNOR NF T 75-006 (1998) : «Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques de l'épicarpe de citrus, soit par distillation sèche. L'HE est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ...»

I.4. Taxonomie des huiles essentielles

L'huile essentielle H.E.B.B.D. répond à trois critères fondamentaux:

- l'espèce botanique exacte, en latin pour éviter les confusions,
 - l'organe producteur (feuilles, fleurs, racines, etc...)
 - sa spécificité biochimique, variable selon l'époque et le lieu de rencontre (**Vassart S., 2009**).
 - L'espèce botanique exacte : le nom complet se compose
 - du genre
 - d'une épithète qualitative
- exemple: Lavandula - Vera = lavande vrai
- Spica = aspic
 - hybrida = lavandin (**Vassart S., 2009**).
 - L'organe producteur : O.P.

Lorsque l'huile essentielle est retirée de la plante entière, il n'est pas nécessaire de l'indiquer (ex: Mentha Piperita, Rosmarinus Officinalis),

par contre, pour certaines plantes, l'indication de l'organe producteur est indispensable car l'H.E. obtenue est différente.

- Exemple: l'H.E. Citrus Aurantium Amara (Oranger amer), on aura 3 H.E. différentes suivant la partie de la plante distillée:

- * H.E. Citrus Aurantium Amara op Folium (feuille)
- * H.E. Citrus Aurantium Amara op Flos (fleurs)
- * H.E. Citrus Aurantium Amara op Zestes (écorce) (**Vassart S., 2009**).

I.5. La spécificité biochimique

- C'est peut-être le point le plus important à préciser car suivant le pays, le sol, le climat et l'altitude, une même plante produira des H.E. aux principes curatifs différents.

- Exemple: H.E. Rosmarinus est récoltée au Maroc, en Corse et en Provence

1 plante \Rightarrow 3 H.E. aux composantes différentes:

- Maroc: H.E. Rosmarinus Officinalis 1,8 Cinéol
- Corse: H.E. Rosmariunus Officinalis ABVB
- Provence: H.E. Rosmarinus Officinalis Camphre

3 propriétés différentes:

- Maroc: l'H.E. est expectorante et mucolytique
- Corse: l'H.E. est hépatoprotectrice
- Provence: l'H.E. est cardiotonique mais attention, peut être toxique pour le foie (**Vassart S., 2009**).

I.6. Production mondiale

Plusieurs pays tirent une grande partie de leurs ressources de l'exploitation des plantes à huiles essentielles. On estime aujourd'hui à environ 40 000 le nombre d'espèces aromatiques croissant dans le monde dont 3 000 ont été étudiées et 300 sont exploitées industriellement (**Souza E .et al., 2006**). Plus de 90 % des espèces à étudier et à valoriser poussent dans les pays tropicaux (**Ouamba J., 1991**). Les principales huiles essentielles produites et les principaux pays producteurs sont:

Tableau 1: Récapitulation des principales huiles essentielles produites et des principaux pays producteurs dans le monde en 2008 .

Huiles essentielles	Production (Tonnes)	Principaux pays producteurs
Huiles d'oranges	51000	USA, Brésil, Argentine
Huiles du citron	9200	Argentine, Italie, Espagne
Huiles de l'eucalyptus	40	Chine, Inde, Australie, Afrique du Sud
Huile de la menthe poivrée	3300	Inde, USA, Chine
Huile du clou de girofle	1800	Indonésie, Madagascar
Essence de la citronnelle	1800	Chine, Sri Lanka
Huiles de la menthe verte	1800	USA, Chine
Huiles du bois de cèdre	1650	USA, Chine
Huile du patchouli	1200	Indonésie, Inde
Huile de la lavande	1100	France

(Perfumer ., Flavorist., 2009).

I.7. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

I.7.1. Caractéristiques physiques

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (**Degryse A .et al., 2008**). Elles sont très inflammables et très odorantes, liquides à température ambiante. Exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf les huiles essentielles de sassafras, de girofle et de cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active) (**Bruneton J., 1999; Rhayour K., 2002; Desmares C .et al., 2008**). Leur point d'ébullition varie de 160° à 240°C (**Abdelouhid D., Bekclasi M., 2010**).

Sont très altérables et sensibles a l'oxydation (mais ne rancissent pas) (**Bekhechi C., Abdelouahid D., 2010**).

Elles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol ...) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace gras se persistante (**Bernadet M., 2000**). Les huiles essentielles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau. Entraînables à la vapeur d'eau, elles se retrouvent dans le

protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tendent à se collecter en gouttelettes de grosse taille (Rhayour K., 2002; Benini C., 2007; Benayad N., 2008). Par contre, elles sont solubles dans les solvants organiques usuels (Bruneton J., 1999).

I.7.2. La composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes (Bakkali F. et al., 2008).

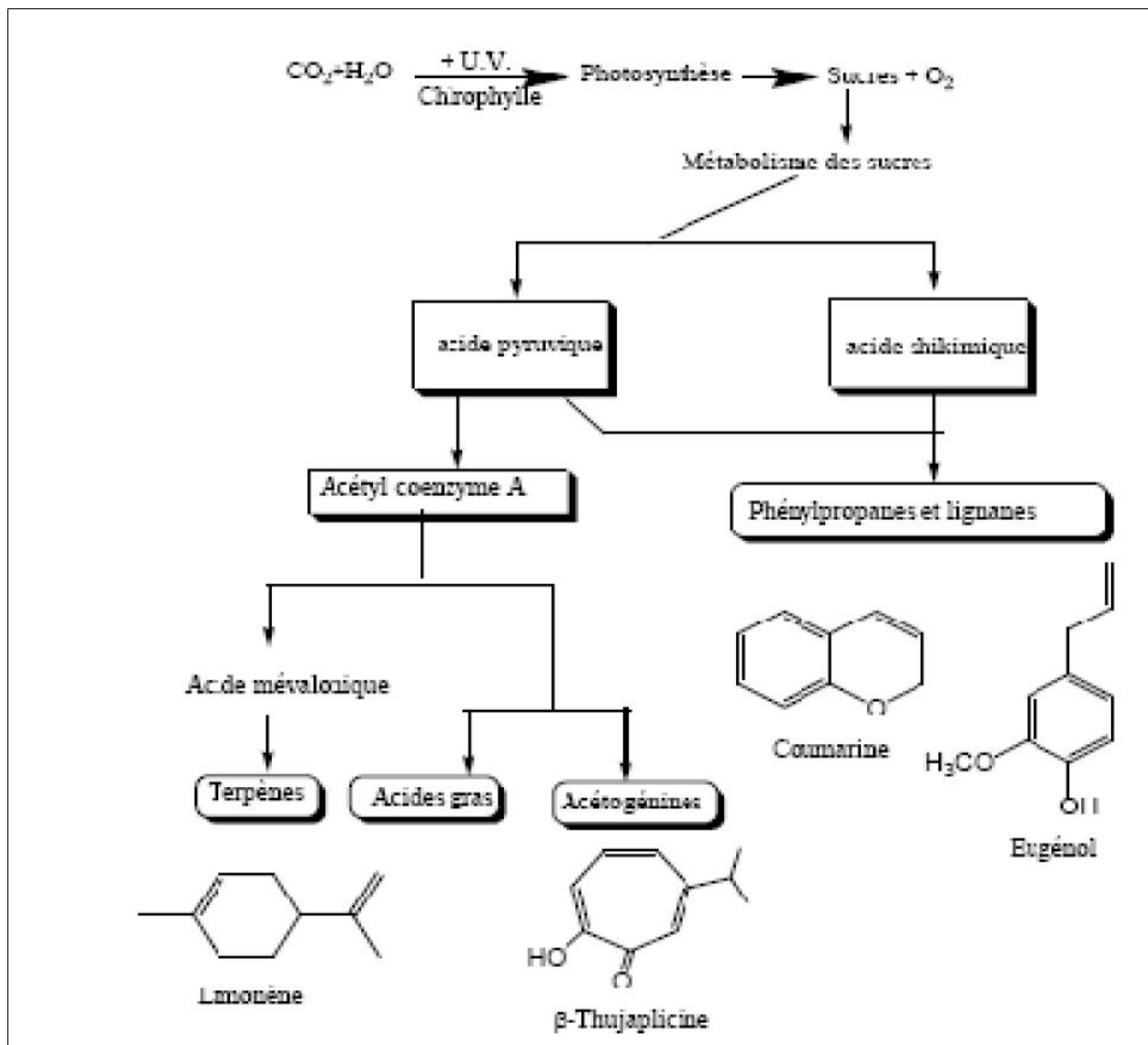


Figure 2 : Biogénèse des constituants chimiques des huiles essentielles (Garneau F., 2001).

Les terpènes peuvent être considérés comme étant des dérivés de l'isoprène d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel ils sont parfois désignés.

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue :

-Les terpènes proprement dits ou monoterpènes (C_{10})

- Les sesquiterpènes (C₁₅)
- Les diterpènes (C₂₀)
- Les triterpènes (C₃₀)
- Les tétra terpènes (C₄₀)
- Les polyterpènes (C₄₀₀₀)

Les stéroïdes rentrent dans le groupe des terpénoïdes et les caroténoïdes sont des tetraterpènes (**Merghem R., 2009**).

I.7.2.1. Terpénoïdes

Dans les huiles essentielles, il s'agit essentiellement des terpènes les moins volatils, c'est-à-dire ceux de masse moléculaire peu élevée : mono- et sesquiterpènes.

Les espèces intermédiaires étant porteuses de fonctions cationiques à réactivité variable, il existe plusieurs milliers de composés décrits (**Bruneton J., 2009**).

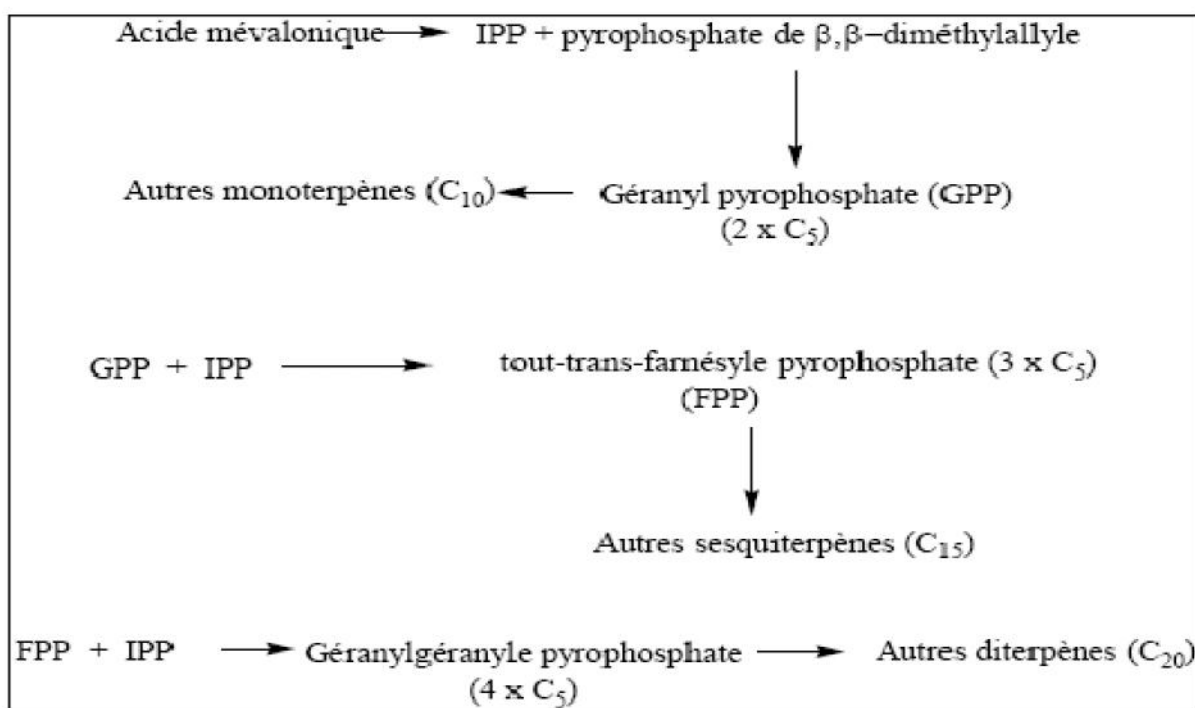


Figure 3: Biosynthèse des terpènes (**Garneau F., 2001**).

I.7.2.1.1. Monoterpènes (C₁₀)

Ce sont des produits généralement odorants obtenus par entraînement à la vapeur d'eau des végétaux entiers ou d'organes de végétaux. Beaucoup de monoterpènes réguliers (C₁₀) se trouvent sous formes cyclisées. Ils constituent une part importante des essentielles. Beaucoup de plantes contenant des huiles essentielles sont utilisées en nature pour leurs propriétés médicinales et en alimentation comme épices ou aromates (**Merghem R., 2009**).

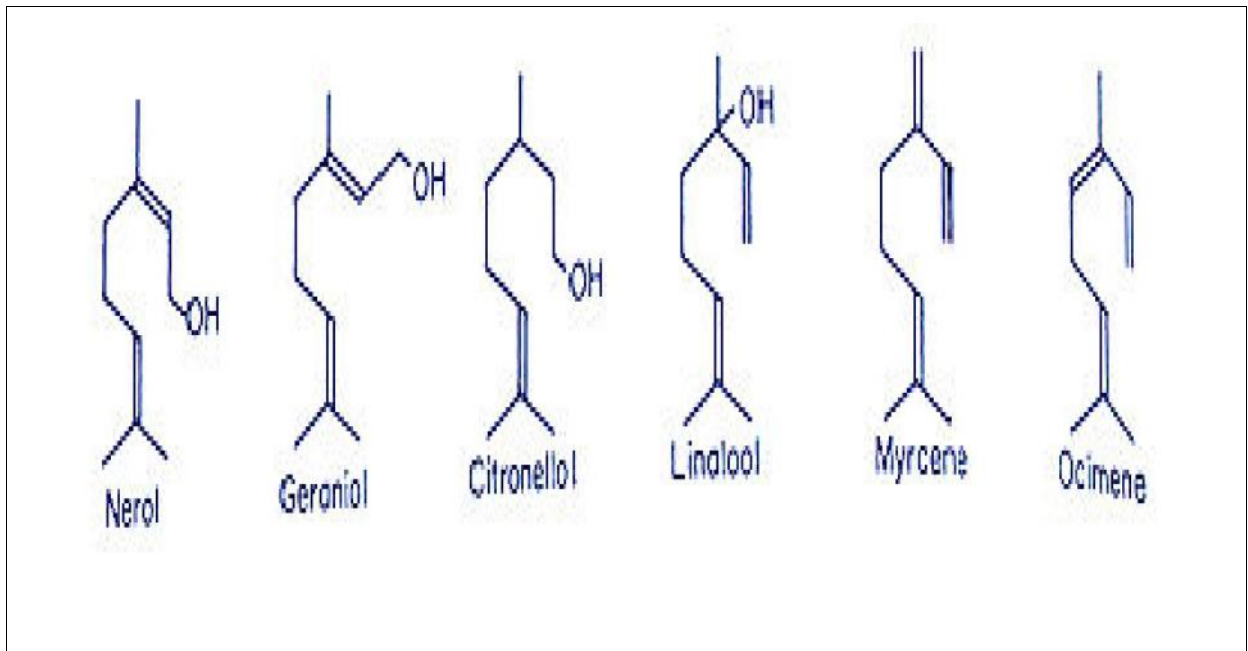


Figure 4 :Exemples de terpènes acycliques (Loomis D., Croteau R., 1980).

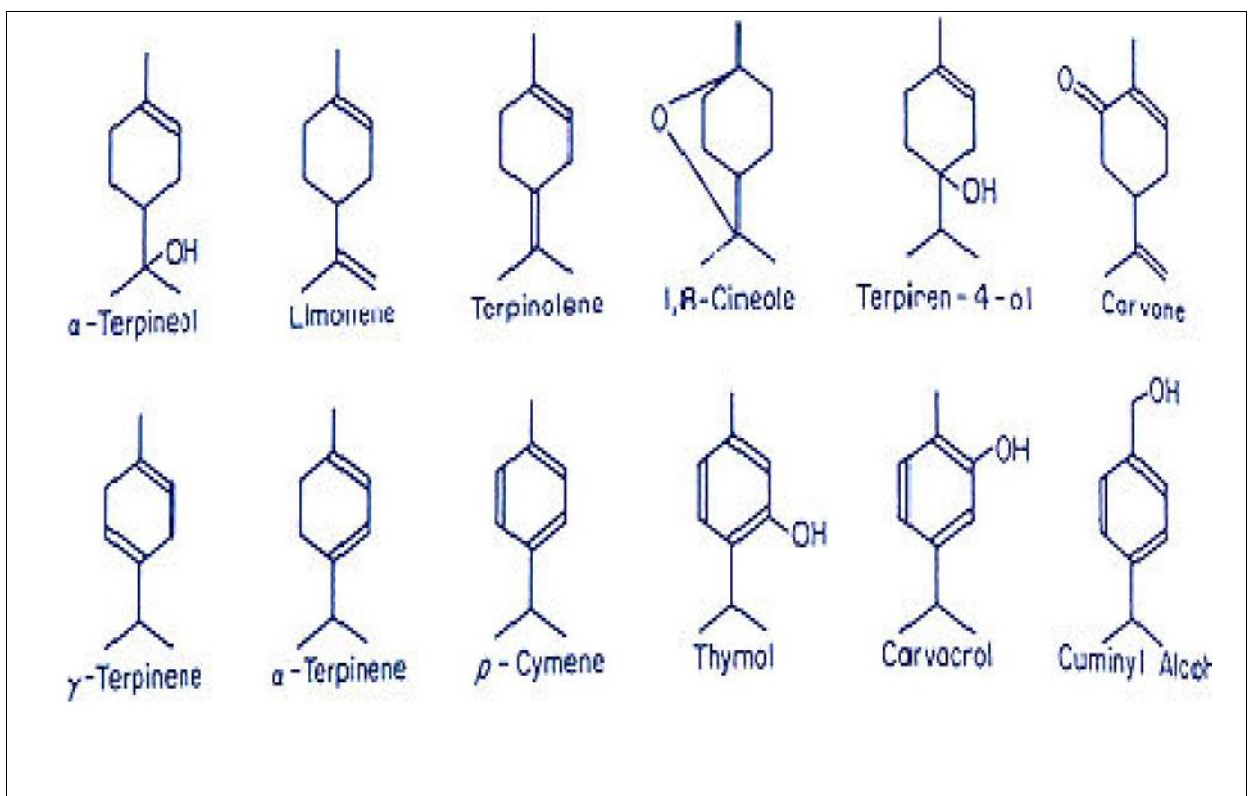


Figure 5: Exemples de monoterpènes cycliques (Loomis D., Croteau R., 1980).

I.7.2.1.2. Les sesquiterpènes (C₁₅)

Ce sont des hydrocarbures de formule C₁₅H₂₄ (n=3), soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes vrais (en C₁₀H₁₆).

- Composés acycliques : on peut citer le farnésène et le farnésol (alcool correspondant du farnésène, essence de tilleul, baumes du Pérou).
- Composés monocycliques: le zingibérène (du Gingembre) et l'humulène (du Houblon).
- Composés bicycliques : Le cadinène (du goudron de cade : Genévrier du midi).

On peut rattacher sesquiterpènes, en raison de leur structure des lactones comme la santonine (Merghem R., 2009).

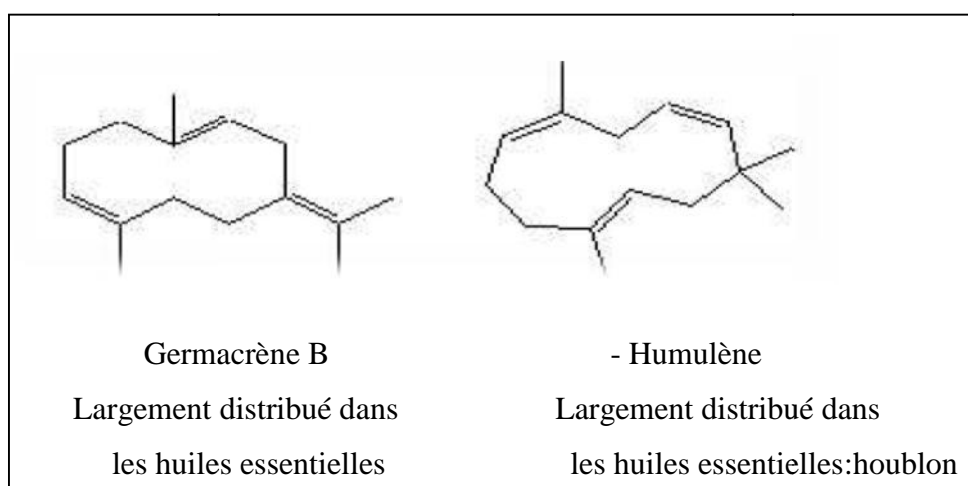


Figure 6: Exemples de structures des sesquiterpènes (Garneau F., 2001).

I.7.2.1.3. Diterpènes

Contiennent 20 atomes de carbone dans leurs squelettes de base. Ils sont composés de quatre unités de l'isoprène. Ils existent dans presque toutes le règne végétal et appartiennent à plus que 20 types structurels (Chemat F. et al., 2007).

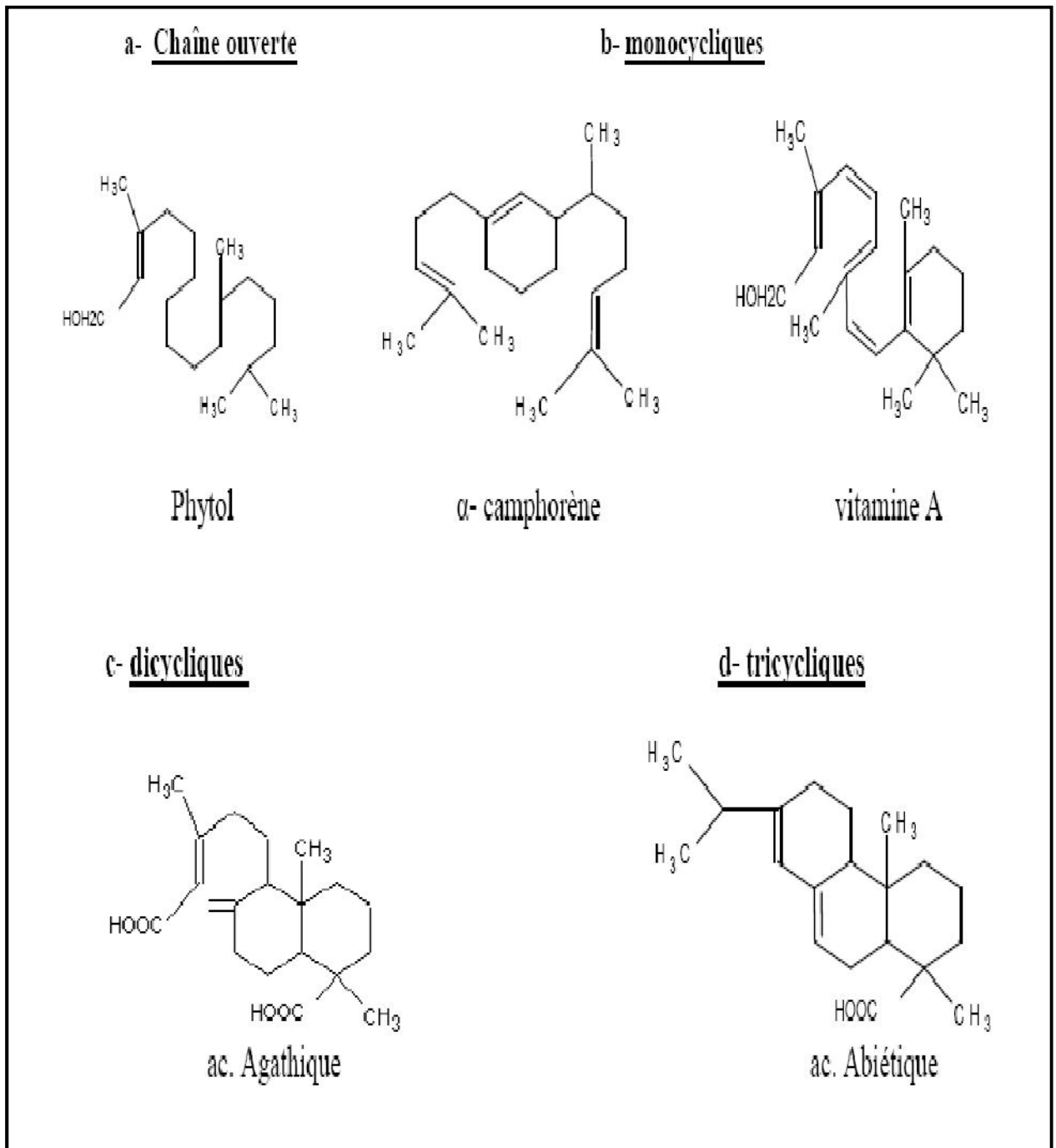


Figure 7: quelques diterpènes (Chemat F.et al., 2007).

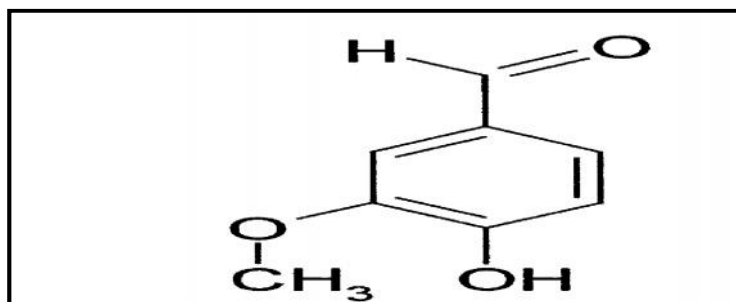
Tableau 2: Quelques exemples de terpènes et leurs importances.

N	Terpène	Exemple	Rôle biologique et/ou emploi
2	Monoterpène	Longanoside (niox vomique)	Joue un rôle capital dans la biosynthèse des alcaloïdes (attire/repousse les insectes lors de la pollinisation)
3	Sesquiterpène	Acide abscissique	Hormone végétale responsable de la chute des feuille et des fruits
4	Diterpène	phytol (persil)	Joue un rôle fondamental dans la constitution de la chlorophylle ,de la vitamine E et K1
6	Triterpènes (comprenant les stéroïdes)	Acide oléanolique (olivier)	Revêtements protecteurs des cellules végétales
8	Tetraterpènes (caroténoïdes)	Lycopène (tomate)	Pigment rouge des fruits ,doté d'excellent pouvoir antioxydant, diminue le risque de certaines maladies cardiaques et le cancer
500 à 5000	Polyterpène	Caoutchouc (Hevéa)	Industrie des pneumatiques ,la chaussure, le textile, le jouet , l'industrie électrique
		Gutta-percha (palaquium)	Utilisé en industrie, et en prothèse dentaire (obturation des cavités)

(Alais C., Linden G., 1997).

I.7.2.2. Composés aromatiques

Dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) , ils sont beaucoup moins fréquents que les précédents .Un noyau aromatique est couplé à une chaîne de trois carbones (**Bruneton J., 1993**).

**Figure 8:** La vanilline (**Bruneton J., 1993**).

I.7.2.3. Composés d'origine diverses

Il existe un nombre non négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issues soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléique et -linoléique en (3-cis hexanol ,decanal , -ionone) (Piochon M., 2008) .

I.8. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui découlent des huiles essentielles peuvent être très différentes (Garnéro J., 1991; Bruneton J., 1999; Benini C., 2007).

I.8.1. Facteurs intrinsèques

Une huile essentielle doit avant tout autre chose être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toutes dénominations trompeuses du matériel végétal (Bruneton J., 1999).

L'influence du stade végétatif (Garnéro J.,1991; Bruneton J., 1999; Stefanini M.*et al.*, 2006; Aprotosoiaie A.*et al.*, 2010), l'organe de la plante (Maffei M., Sacco T., 1987; Barry N., 2001; Stefanini M.*et al.*, 2006; Chowdhury J.*et al.*, 2009), les hybridations, les facteurs de mutation, la polyploïdie (Garnéro J., 1991; Aprotosoiaie A.*et al.*, 2010) et le polymorphisme chimique « chimiotypes ou formes physiologiques » (Garnéro J., 1991; Anton R.,Lobstein A., 2005; Belyagoubi L., 2006).

I.8.2. Facteurs extrinsèques

Les conditions environnementales influencent aussi la composition des huiles essentielles. La température, la quantité de lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée (Bruneton J., 1999; Mohammad S.*et al.*, 2009; Olle M.,Bender I., 2010; Aprotosoiaie A.*et al.*, 2010). Il n'y a pas eu mal des travaux ayant mis en évidence l'influence de l'origine géographique de la matière première (Barry N., 2001; Mohammedi Z., 2006; Marzoukia H.*et al.*, 2009),les conditions culturelles telles que la date de semis, la date de récolte, les traitements phytosanitaires, l'emploi d'engrais, ainsi que les techniques de récolte influencent aussi la composition et le rendement des huiles essentielles (Barry N., 2001; Lahlou M., 2004; Stefanini M.*et al.*, 2006; Benini N., 2007; Aprotosoiaie A.*et al.*, 2010).

I.9. Répartition et localisation

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon Lawrence (**Lawrence B., 1995**). (exemple: famille des labiées odorantes renfermant presque toutes une huiles essentielles) (**Bruneton J., 1993**). Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux (**Abdelouahid D., 2010; Svoboda K., 2000**) : fleurs bien sûr (bergamotier, tubéreuse), mais aussi feuilles (eucalyptus, laurier noble, menthe poivrée) et, bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal blanc), des racines (angélique), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits (aneth, anis, badiane), des graines (muscade). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante (**Svoboda K., 2000 ; Svoboda K., Greenaway R., 2003**). La localisation et le rôle des différents lipides existons chez les végétaux justifient de les étudies sous trois grandes rubriques :

- Lipides de réserve (glycérides)
- Lipides de constitution (phospho et glycolipides)
- Lipides de revêtement (cires) (**Guignard J., 2000**).

I.10. Les plantes aromatiques

Les plantes qui secrètent des essences sont dites « aromatiques » (Fragrance particulière) car elles synthétisent des Essences, grâce à la présence de structures histologiques sécrétrices (**Guilhem J., 2006**).

Tableau 3: Quelques plantes aromatiques et leur huiles essentielles et propriétés biologiques.

Nom commun	Nom scientifique	Partie utilisée	Les HE	Propriétés
Ail	Allium sativum	Bulbes frais	Elle exerce une action importante de vasodilatation sur les artérioles et sur les capillaires	Antiseptique, elle lutte contre les bactéries de l'intestin, des appareils respiratoire et urinaireex
Anis vert	Pimpinella anisum	Fruits	On l'obtient par distillation des fruits, elle a un doux parfum d'épices	Antispasmodique, sédative, stimulant l'appétit et les sécrétions salivaires
Basilic	Ocimum basilicum	Feuilles et fleuries	On l'obtient en distillant les feuilles et les sommités feuilles, le rendement est plus élevé lorsque l'on utilise des plantes cultivées- dans des régions très ensoleillées.	Antiseptique et antiinfectieuse, surtout au niveau intestinal, régulatrice de la digestion, stimulante (attention, concentration, mémoire, tonus intellectuel et équilibre nerveux)
Camomille allemande (matricaire)	Matricaria chamomilla	capitules	Obtenue par distillation des fleurs séchées,	Antispasmodique, antalgique, ,sédative du système nerveux ,digestive ,cholagogue,antiinflammatoire,
Citronnelle	Cymbopogon nardus	feuille	Est un parfum semblable à celui du citron et par une couleur qui rappelle le sherry, utilisée en cuisine .	Vermifuge, antiparasitaire, antispasmodique, emménagogue ,stimulante,

Estragon	Artemisia dracunculus	Feuille et fleuries	Elle ne doit pas contenir moins de 2mg d'essence au kg	Stimulante , digestive, eupeptique stomachique , carminative ,légèrement,antiseptique interne, anticancéreuse.
Fenouil doux	Foeniculum vulgare	fruit	Elle contient également un composé amer (phénicol) en plus de nombreux alcools , terpène et aldéhydes.	Eupeptique, stomachique digestive carminative
Jasmin	Jasminum officinale	fleuries	l'essence la meilleure est celle que l'on obtient, en utilisant de l'éther qui permet de préserver toutes les qualités aromatiques	Légèrement sédative du système nerveux central et périphérique , relaxante , cosmétique et dermatologique, intéressante sur le plan gynécologique , obstétrique et broncho-pulmonaire
Origan	Origanum vulgare	Feuille et fleuries	Obtenue par distillation à la vapeur de la plante entière, elle a une couleur jaune, une saveur un peu amère et une odeur très aromatique.	Antiseptique ,stimule les fonctions hépatique biliaire ,antispasmodique Analgique , stimule les défenses immunitaires.
thym	Thymus vulgaris	Plante entière	Elle contient du thymol du pinène, des résines, et des tanines.	Antiseptique, balsamique expectorante , myorelaxante , digestive , carminative , tonique nerveux cosmétique .

(Fabrocini V., Fabrocini C., 1999).

I.11. Mode d'action des huiles essentielles

Dans la bibliographie scientifique, il n'y pas un grand nombre d'auteurs ayant rapporté le mécanisme d'action des huiles essentielles et leurs composants, et jusqu'à maintenant ils n'ont pas totalement compris le mécanisme. Mais quelques auteurs ont donné plusieurs suppositions selon leurs observations. Le mode d'action des composants volatils des HE se manifeste de différentes manières :

- Á travers une action directe de la molécule sur les micro-organismes pathogènes ou sur le métabolisme (**Vassart S., 2009**).
- Á travers une action indirecte par intervention sur des processus biologiques, modification du terrain local et général (**Vassart S., 2009**).

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 chémoosmotique et une fuite d'ions (K⁺) (**Cox S.et al., 2000; Souza E.et al., 2006**). Des conclusions similaires sont obtenues par d'autres auteurs (**Rhayour K., 2002; Chami F., 2005**).

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 (**Pavel M.et al., 2009**). Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (**Wendakoon C., Sakaguchi M., 1995**). Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de DNA, de RNA, des protéines et des polysaccharides (**Malecky M., 2007**). D'autres auteurs pensaient que l'activité inhibitrice de ces composés serait due à leur affinité avec les groupements SH impliqués dans la division cellulaire (**Rhayour K., 2002**).

I.12. Effets physiques et physiologiques des huiles essentielles

I.12.1. Effets physiologiques

Les huiles essentielles ont des effets anti-appétents, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité et le développement des insectes et acariens. Des travaux récents montrent que les mono terpènes inhibent la cholinestérase (**Keane S., Ryan F., 1999**).

I.12.2. Effets physiques

Les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des arthropodes à corps mous (**Isman B., 2000**).

I.13. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans pour les H.E.C.T par exemple. Seules les essences de *Citrus* se gardent un peu moins longtemps (trois ans). Les huiles essentielles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons. Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante jusque vingt degrés. Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (**norme AFNOR NF T 75-001., 1996**), ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HE (**norme NF 75-002., 1996 ; Raynaud J., 2006**).

I.14. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels. 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 telles que l'aromathérapie (**Smith C. et al., 2000**).

La toxicocinétique des huiles essentielles est difficile à établir. En effet, si l'on peut étudier et décrire les effets biologiques et/ou pharmacologiques d'un monoterpène ou sesquiterpène pur, il est difficile de parler de la pharmacologie, pharmacocinétique ou de métabolisme d'une huile essentielle, c'est-à-dire d'un mélange d'un certain composé (**Académie nationale de pharmacie., 1997**). Les principales toxicités et effets indésirables des composants aromatiques sont dues à certaines de leurs propriétés : Propriétés : allergisantes, neurotoxiques, hépatotoxiques, néphrotoxiques, carcinogéniques, vésicant et nécrosant, photosensibilisantes. On connaît assez mal la toxicité lors de prise chronique d'huile essentielle pour le traitement de terrains par exemple, raison pour laquelle on ne peut vous recommander que d'administrer des cures espacées de fenêtres thérapeutiques. Par contre, la toxicité aiguë des huiles essentielles est mieux connue. Ainsi, l'administration de 2 gr de menthol (extrait d'huile essentielle Menthe) est mortel et 10 gr d'eucalyptol peut également entraîner la mort (**Vassart S., 2009**). Il est donc indispensable que les huiles essentielles soient délivrées par des pharmaciens sur prescription médicale en toute connaissance de cause

et en tout cas, on ne devrait plus délivrer en vente libre que des huiles essentielles particulièrement diluées pour éviter tout accident (Vassart S., 2009).

I.14.1. Les composés toxiques des huiles essentielles

I.14.1.1. Huiles essentielles possédant des phénols : feuilles de Cannelle, écorce de Cannelle, Thym, Sarriette des montagnes. Elles causent l'irritation pour les muqueuses, dermocaustiques, hépatotoxiques et excitantes à hautes doses (Michel E., 2011)

I.14.1.2. Huiles essentielles possédant des cétones : Sauge officinale, Menthe poivrée et thuya. Elles sont abortives, neurotoxiques, stupéfiantes et épiléptisantes.

-Huiles essentielles possédant des cétones : Hélichryse italienne, les cétones sont des cétones ayant une dangerosité légèrement moindre, ce qui n'empêche la possibilité d'effets indésirables.

-Huiles essentielles possédant du linalol : Bois de rose, thym à linalol. Elles causent d'allergie cutanée chez les sujets hypersensibles et chez les allergiques.

-Huiles essentielles possédant des aldéhydes : Eucalyptus citronnée, Litsée citronnée. Elles sont dermocaustiques, irritantes pour les muqueuses, très irritantes pour l'œil.

-Huiles essentielles possédant des aldéhydes aromatiques : écorce de cannelle. Elle est dermocaustique, irritante pour la muqueuse, allergisante et hypertensive.

-Huiles essentielles possédant des lactones : Racines d'angéliques, Laurier noble, Aunée et Bois de massoia. Elles sont allergisantes, neurotoxiques à dose élevée et anticoagulantes.

-Huiles essentielles possédant des coumarines : Zestes d'agrumes, Angélique. Elles sont des photosensibilisantes, fluidifiantes sanguines.

-Huiles essentielles possédant des phtalides : Livèche et Céleri principalement. Elles causent des photosensibilisations et des risques dermocaustiques s'ils sont utilisés purs sur la peau.

-Huiles essentielles possédant des composés soufrés : Carvi, Oignon et Ail. Elles sont dermocaustiques, révulsives, irritantes pour les muqueuses.

-Huiles essentielles possédant des composés azotés : Grain mandarinier. Elles causent des dépressions sur le système nerveux, diminution d'activité motrice et inhibition du réflexe.

-Huiles essentielles possédant des composés bi-fonctionnelles soufre et azote : Comme Moutarde noire. Elles sont neurotoxiques et dermocaustiques (Michel E., 2011).

Chapitre II

II.1. Techniques d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares, et précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes (**Bakkali F., 2007**).

Il ya Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graine, feuilles, ramilles) (**Piochon M., 2008**).

II.1.1. Distillation :

Il existe Trois différents procédés utilisant le principe de la distillation (**Piochon M., 2008**) sont possibles :

II.1.1.1. Extraction à la vapeur de l'eau

C'est le processus le plus répandu , les végétaux sont déposés sur une grille à travers laquelle circule de la vapeur d'eau. Celle-ci entraîne avec elle les molécules parfumées qu'elle enlève aux plantes. La solution obtenue circule dans un serpentin ou elle se condense en refroidissant (figure 9). L'HE étant plus légère que l'eau, elle reste en surface. La distillation se fait lentement, sous basse température et basse pression, avec de l'eau de source non calcaire (**Degryse A.et al., 2008**).

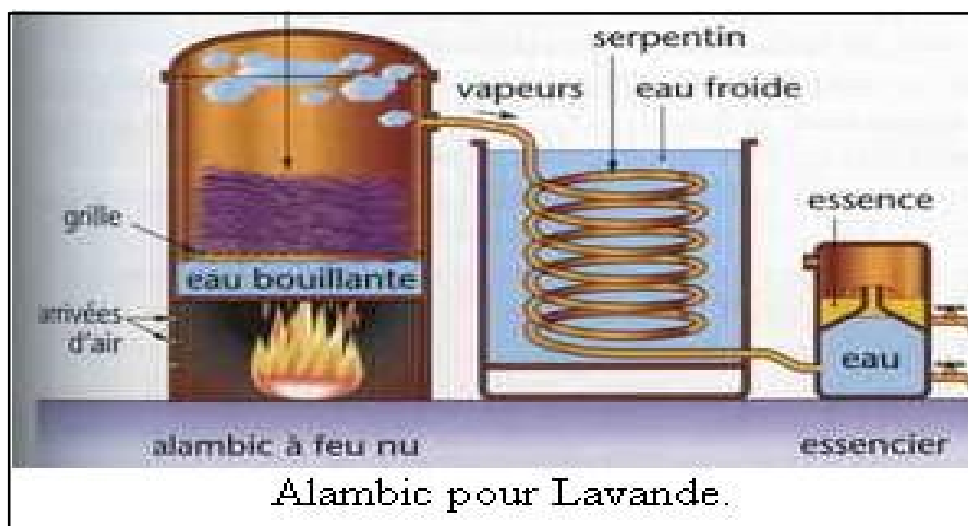


Figure 9 : Schéma du principe de la technique de l'entraînement à la vapeur (**Lucchesi M., 2005**).

II.1.1.2. Hydrodistillation

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (figure 10). Trois distillations ont été réalisées par ébullition une heure trente de 200 g de matériel végétal frais avec un litre d'eau dans un ballon de 2 litres surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. Le rendement en huile essentielle a été déterminé par rapport à la matière sèche (**Clevenger J., 1928**).

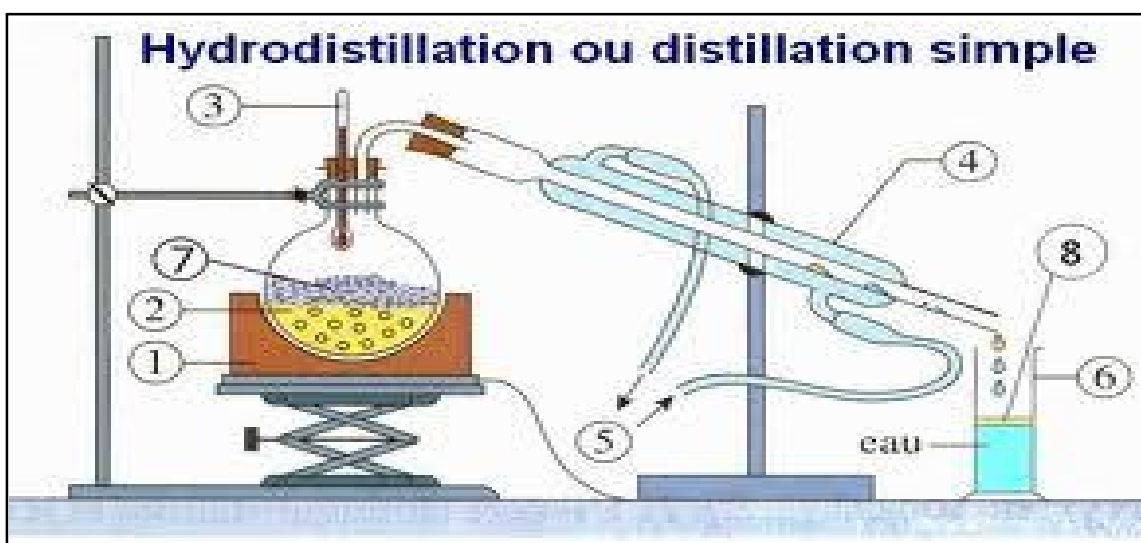


Figure10 : Schéma du principe de la technique de l'hydrodistillation (**Lucchesi M., 2005**).

1-chauffe ballon

2-Ballon

3-Thermomètre

4-Réfrigérant

5-Entrée et sortie d'eau

6-Erlenmeyer

7-Matière à extraire l'essence

8-La couche d' H.E

II.1.1.3. L'hydrodiffusion

Cette technique; relativement récent, consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale (figure 11). L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'huile essentielle obtenue avec ce procédé contient des composés non volatils ce qui lui vaut une appellation spéciale: «essence de percolation» (**Bader A., 2011**).

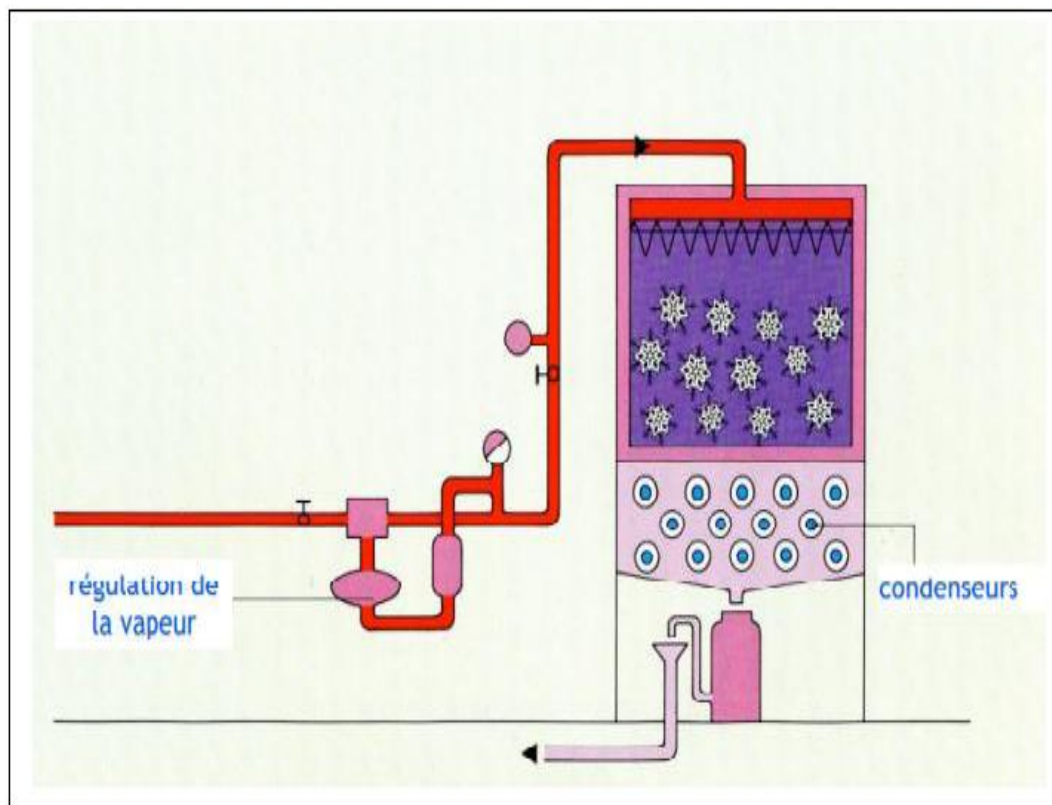


Figure11 : L'hydrodiffusion (Smadja J., 2009).

II.1.2. Extraction par fluides supercritiques

Les fluides supercritiques ont des propriétés différentes de celles d'un gaz ou d'un liquide, comprises entre les deux (figure 12). Ils ont ainsi une viscosité proche de celle d'un gaz, une densité proche de celle du liquide avec un pouvoir de diffusivité très élevé par rapport au fluide liquide, ce qui facilite leur pénétration dans des milieux poreux. Les conditions d'obtention du CO₂ supercritique sont assez faciles à atteindre (303°K, 73,8 bar) alors que pour l'eau puisqu'il faut atteindre une température de 374,2°C et surtout une pression de 218 bar (Reverchon E., De Marco I., 2006).

Le principal avantage de cette technique est celui de combiner les caractéristiques des gaz et des liquides pendant le processus d'extraction (Pourmortazavi S., hajimirsadeghi S., 2007).

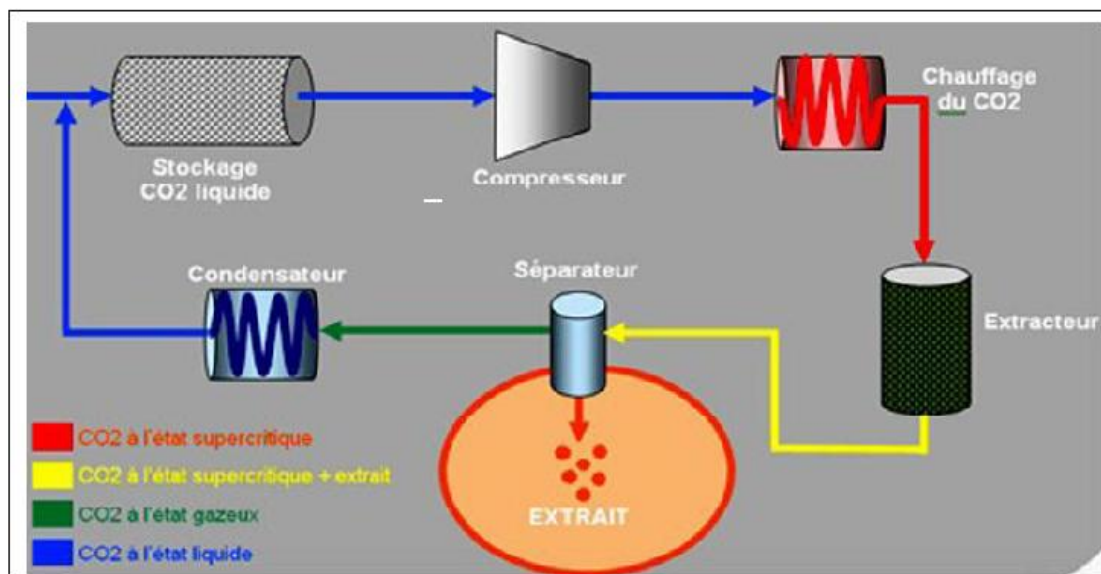


Figure 12: la technique d'extraction par le CO2 supercritique (Agkerman A., 1996; Pourmortazavi S., 2007).

II.1.3. Extraction par micro-ondes

Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle (figure13). Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (température plus basse) (Mengal P. *et al.*, 1993; Lucchesi M. *et al.*, 2004).

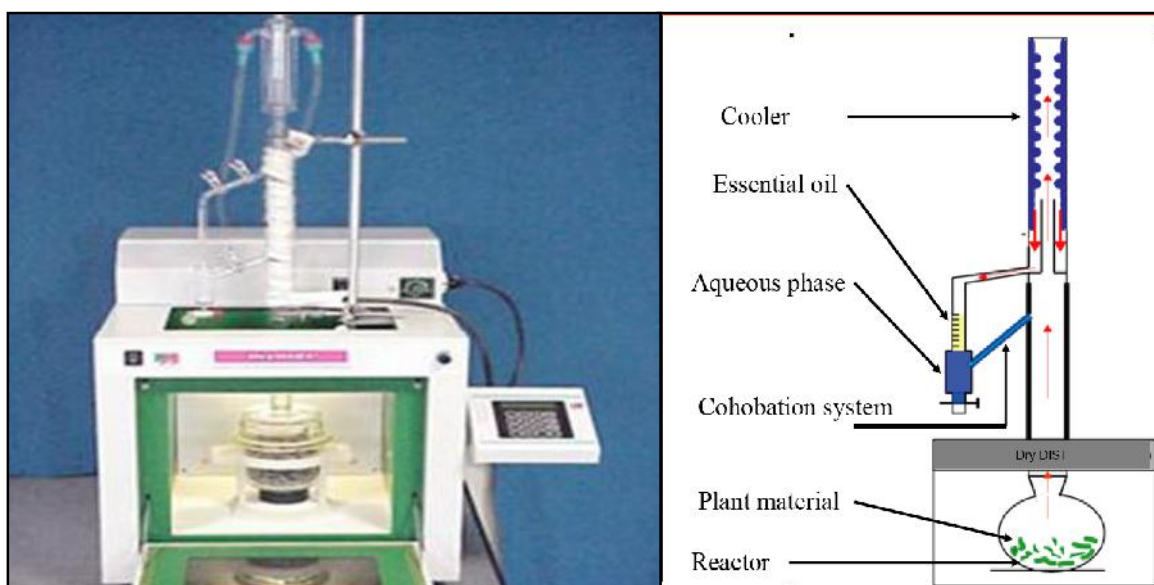


Figure13 : montage d'extraction par micro-onde (El Haib A., 2011).

II.1.4. Extraction par solvant organique

L'extraction directe des plantes par des solvants organiques entraîne divers constituants avec les huiles essentielles. L'extrait récupéré est appelé concrète, il contient des pigments, des matières grasses et d'autres composés. Le traitement à froid de la concrète par l'alcool absolu, et la distillation fractionnée, permettent d'obtenir, la phase dite «absolue» qui contient la majeure partie des composés volatils (**Bernard et al., 1988**).

II.1.5. Extraction par les corps gras

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite (**Kabera J., 2004**).

II.1.6. Extraction à l'eau surchauffée

Ce mode d'extraction utilise l'eau surchauffée à une température entre 125 et 175°C sous pression. Il utilise de l'eau désoxygénée qui traverse une cellule où se trouve la matière végétale. Ce procédé utilisé avec du romarin donne un rendement plus élevé en composés oxygénés que l'entraînement à la vapeur (**Bekhechi C., 2010**).

II.1.7. Distillation par extraction simultanée (SDE)

L'extraction par distillation simultanée est extraction liquide-liquide qui est menée dans un appareil de Likens et Nikerson modifié. Son principe est le suivant: les composés volatils entraînés à la vapeur d'eau sont extraits par des vapeurs de solvants que l'on condense ensuite dans un réfrigérant puis on recycle en contenu le solvant. Cet appareillage, initialement conçu pour l'étude de la bière, a par la suite été étendu à un grand nombre d'arômes (**Bekhechi C., 2010**).

II.2. Les méthodes d'analyses des huiles essentielles

La séparation des composants d'un mélange constitue une étape essentielle pour entreprendre une étude, les techniques de séparation utilisées en biochimie et en biologie, basées sur le comportement des macromolécules en solution, sont très diversifiées (**Sine J., 2003**). L'utilisation de techniques chromatographique autorise une bonne séparation des substances en mélange dans les essences et les corps lipophiles non volatils, voir même préfractionnement des monoterpènes et des sesquiterpènes (**Bruneton J., 1999**).

La chromatographie est une technique de séparation basée sur une partition des molécules à séparer entre deux phases non miscible (**Caude M., Jardy A., 1993**), l'une fixe dite phase stationnaire et l'autre en mouvement dite mobile. Pour chaque type, la proportion de molécules dans la phase stationnaire et mobile dépend des forces d'interactions relatives entre la phase stationnaire et les molécules (**Prats M., 2002**).

II.2.1. La chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est la plus simple méthode chromatographique qualitative (**Sine J., 2003**) mais beaucoup moins performante, cette méthode qualitative qui repose sur des phénomènes d'adsorption peut être utilisé en routine pour le contrôle de qualité des huiles essentielles (**Bruneton J., 1999**). La phase stationnaire forme une couche sur un support inerte (plaque de verre ou d'aluminium). La phase mobile migre de bas en haut par capillarité. Chaque molécule est caractérisée par son rapport frontal (RF), qui est le rapport de la distance parcourue par le soluté à la distance parcourue par le solvant (**Stahl E., 1975; Bounias M., 1983**).

II.2.2. La chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Cette méthode d'analyse par séparation permet de séparer des mélanges gazeux, complexes susceptible d'être vaporisés par chauffage sans décomposition (**Tranchant J., 1996**), par une suite continue d'équilibres s'établissant entre une phase mobile gazeuse et une phase stationnaire liquide (CPG gaz-liquide), ou parfois solide, placée à l'intérieur d'une colonne (CPG gaz-solide) (**Hamon M.et al., 1990; Mahuzier G.et al., 1999**).

Le gaz vecteur est le gaz qui véhicule les solutés (**Audigie C. et al., 1995**). La CPG est considérée comme la méthode la mieux adaptée à l'analyse des huiles. Elle permet une évaluation qualitative et quantitative de la composition chimique des huiles essentielles (**Bruneton J., 1999**).

II.2.3. Le couplage CPG/MS

La spectrométrie de masse permet d'identifier et de doser une substance ou un élément à l'aide de la mesure du rapport masse/charge d'ions issus de l'échantillon (**Audigie C. et al., 1995; Constartin E. et al., 1996; Botter R. et al., 1996; Boukhari A., 1999**). Elle est considérée comme une technique d'analyse extrêmement puissante pour la caractérisation structurale des molécules organiques (**Mortagne B., 2000**). Le couplage CPG/MS permet d'associer la puissance séparative de la chromatographie et la sensibilité et sélectivité de la détection par spectrométrie de masse à partir d'une quantité minime d'échantillon (du mg au pg) (**Demaack F., Sablier M., 1994; Hamon M. et al., 1990**). Dès 1980, le couplage chromatographique avec la spectrométrie de masse a été maîtrisé totalement (**Sablier M., 1997**).

Si la chromatographie permet à elle seule de séparer correctement les différents constituants d'un mélange, il est néanmoins délicat de se livrer à une interprétation structurale permettant une identification certaine, car les paramètres déduits de la rétention sélective des solutés au travers de la colonne sont souvent lourds à manier et, dans la plupart des cas, peu reliés aux édifices moléculaires organiques (**Demaack F., Sablier M., 1994**).

II.2.4. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Cette technique de séparation permet l'analyse de très faible quantité de molécules non volatiles, thermosensible ou de polarité élevée (**Mahuzier G. et al., 1999**). Elle est efficace pour s'assurer de l'authenticité des huiles essentielles de citrus ou pour doser les huiles essentielles de lavande ou d'estragon (**Bruneton J., 1999**). Elle se caractérise par la grande diversité des phénomènes (adsorption, exclusion diffusion, ionique et phase inversée ... etc.) (**Audigie C. et al., 1995; Mahuzier G. et al., 1999**). La HPLC comporte une (ou des) pompe (s) qui propulse l'éluant (la phase mobile) dans une colonne analytique dont la phase stationnaire est très fine. L'injection de l'échantillon à analyser est pratiquée en introduisant un faible volume de produit (quelques μl) dans l'éluant sous pression. Après leur séparation, les différents

constituants de l'échantillon sont détectés en sortie de la colonne. Un calculateur assure l'acquisition et le traitement des données (**Audigie C. et al., 1995**).

II.3. L'utilisations des huiles essentielles

Les huiles essentielles à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui l'utilisation autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. Beaucoup de travaux sont réalisés dans ce sens, du fait l'importance incontestable des huiles essentielles dans divers secteur économique, comme par exemple, l'industrie de la parfumerie et de la cosmétique, l'industrie alimentaire, l'industrie pharmaceutique et plus particulièrement, la branche de l'aromathérapie qui utilise leurs propriétés et fongicides (**Bakkali F. et al., 2008**).

On distingue deux grandes voies d'administration: la voie externe, par inhalation, par l'absorption épidermique, bain, et la voie interne. Le contacte des essences avec les délicates muqueuses digestives peut être irritant, en outre, les dosages doivent être établis avec soin afin d'éviter le risque d'intoxication aigue ou chronique. Le dosage des essences administrées par voie interne est en moyenne de 3 gouttes par prise (mélangées dans une cuillerée de miel vierge) pour un total maximum par jour oscillant entre 5 et 20 gouttes, selon les essences utilisées, à prendre avant ou pendant les repas (**Padrini F et Lucheroni M., 1996**).

Les huiles essentielles peuvent s'utiliser à l'état pur en diffusion atmosphérique, par voie cutanée ou par voie orale (**Sophie C., 2012**).

II.3.1. L'utilisation par voie externe

Les essences naturelles sont des substances très puissantes qui doivent être utilisées selon des indications très précises. Avant les employer, il faut les diluer dans une huile neutre car elles peuvent irriter la peau (**Encyclopédie., 2001**).

La voie externe est préférable car elle est plus sûre et plus commode. En outre, avec une application locale, les essences pénètrent immédiatement à travers la peau et agissent directement sur les organes se trouvant dans la zone située sous la peau. La dose journalière est de 10 gouttes (**Padrini F., Lucheroni M., 1996**).

Il existe de nombreuses voies d'utilisation des huiles essentielles. Les plus connues sont le bain aromatique, le massage, le bain de bouche (**Telphon T., 2003**).

II.3.1.1. La voie cutanée

Il est préférable de diluer les huiles essentielles dans une huile végétale avant toute application sur la peau. L'application peut se faire par massage ou friction sur une partie ou l'ensemble du corps. Les huiles ont un fort pouvoir de pénétration. Elles passent la barrière de l'épiderme pour se retrouver dans le sang et agir sur les organes. En général, la dose maximale est : 30ml d'huile essentielle pour 100ml d'huile végétale , soit une préparation à 30%; on utilise au maximum 10 à 15 gouttes par jour, en massage, de cette préparation (**Sophie C., 2012**).

II.3.1.2. Compresse

Dans un bol d'eau chaude ou froide selon les besoins, versez 5 à 8 gouttes d'essence. Utilisez de l'eau chaude pour les douleurs musculaires et de l'eau froide pour les foulures, les fièvres, migraines. Les compresses aux essences peuvent atténuer la douleur ou les gonflements (**Padrini F., Lucheroni M., 1996**).

II.3.1.3. Dans le bain

Les huiles essentielles ne sont pas solubles dans l'eau, c'est pourquoi il est important de les diluer dans une base pour le bain ou dans un gel douche avant de les ajouter à l'eau du bain (**Sophie C., 2012**).

II.3.1.4. Massage

Pour un massage, on ajoute une ou plusieurs essences à l'huile de base qui servira de véhicule pour les essences sur la peau, les diluera pour éviter des phénomènes d'irritation et permettra des mouvements de massage plus déliés. Les huiles de base devront avoir une grande affinité avec la peau tels que les huiles végétales (l'huile de germe de blé, l'huile d'amande douce, l'huile de noisette, l'huile d'olive). Les pourcentages de dilution sont les suivants : le contenu d'huile essentielle dans un mélange devrait osciller entre 1 et 3%, selon le type de troubles (**Padrini F., Lucheroni M., 1996**).

II.3.1.5. Evaporation

Versez 3 ou 4 gouttes d'essences dans un diffuseur, constitué d'une source de chaleur (petite lampe ou bougie) sur laquelle se trouve une coupelle avec un peu d'eau. Sous l'effet de la chaleur, l'eau s'évapore et l'essence se volatilise. On peut également verser quelques gouttes d'essence dans un humidificateur prévu à cet effet ou dans un nébuliser de spray. La nébulisation d'essence dans l'atmosphère a un pouvoir antiseptique puissant et elle est particulièrement recommandée dans les chambres des malades pour purifier l'air (**Padrini F., Lucheroni M., 1996**).

II.3.1.6. Fumigations et inhalations

Ajoutez de 5 à 8 gouttes d'essence dans une petite cuvette d'eau bouillante et respirez en les vapeurs après vous être recouvert la tête d'une serviette de bain. Cette méthode est très efficace pour le traitement des affections des voies respiratoires (**Padrini F., Lucheroni M., 1996**).

II.3.1.7. En diffusion

Dans un diffuseur d'arôme, versez 10 gouttes d'huiles essentielles et laissez-le branché 20 minutes environ en répétant l'opération plusieurs fois dans la journée (**Sophie C., 2012**).

II.3.1.8. Friction

Ajoutez 2 ou 3 gouttes d'essence diluées dans une base alcoolisée que l'on frictionnera sur la région cutanée correspondant à l'organe touché (par exemple sur la thorax pour une toux, une bronchite), jusqu'à ce que cette partie soit réchauffée (**Padrini F., Lucheroni M., 1996**).

II.3.1.9. Rinçages et gargarismes

Ajoutez 2 ou 3 gouttes d'essence dans un verre d'eau bouillie pour des rinçages ou des gargarismes en cas d'inflammation des muqueuses de la bouche ou de la gorge (**Padrini F., Lucheroni M., 1996**).

II.3.2. L'utilisation par voie interne

II.3.2.1. La voie orale

La prescription par voie orale reste limitée, et dépasse rarement 1 ou 2 gouttes par prise et 6 gouttes par jour. En général, on dépose la goutte d'huile essentielle conseillée sur un comprimé neutre, dans une gélule vide, ou dans une cuillère à café de miel (Sophie C., 2012).

II.4. Domaines d'utilisation

II.4.1. phytothérapie

Les HE sont largement utilisées pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisantes dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries (Sourai P., 1989 ;Kato T.et al., 1990 ;Schwartz R.et al., 1992).

La listerine qui est une solution constituée d'HE de thymol et d'eucalyptol possède une grande activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire (Kato T.et al., 1990).

II.4.2. En pharmacie

L'importance des plantes aromatiques est indiscutable. Leur contenu en essence et la nature chimique des constituants de celle-ci leur confèrent de grandes perspectives d'application. Ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médical et pharmaceutique Valnet J., 1984 .

II.4.3. Parfumerie et cosmétologie

L'utilisation des HE dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable (Maruzzella J., 1962;Roulier G., 1992; Vargas I.et al., 1999).



Figure14 :Quelques produites cosmetiques (Samadja J., 2009).

II.4.4. Dans les industries alimentaires

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes utilisés dans l'assaisonnement des aliments a été reconnu depuis longtemps .C'est pour cela, que l'on pense de plus en plus à les utiliser dans la conservation des denrées alimentaires,sans pour autant en dénaturer le goût puisque ces aromates entrent dans la composition des préparation alimentaires .C'est ainsi que l'on trouve le laurier dans certaines conserves et dans le miso qui est un met japonais traditionnel (Kurita N.,koïke S., 1982).

Les thym peut être utilisé dans diverses préparations alimentaire comme le smen (margarine) par exemple (Ismâïli M., 1983; Banquour N., 1984). Busta et Foegeding en 1983, ont eux aussi étudié la conservation alimentaire par les épices, les aromates et les HE qui sont aux aliments pour rehausser le goût et qui ont aussi un effet antimicrobien empêchant les contamination alimentaires de se développer .En effet, tous les secteurs alimentaires sont consommateurs:alcools, boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, produit carnés, sauces, soupes, produits de boulangerie, sans oublier la nutrition animale (Bruneton J., 1999).

Chapitre III

III.1. Généralités

Depuis l'antiquité, les plantes aromatiques furent utilisées le plus souvent par les parfumeries. Cependant, durant ces dernières décennies, elles sont devenues sources d'antioxydants naturels et d'agents antimicrobiens, les huiles essentielles quant à elles, ainsi que les extraits aromatiques ont été utilisées pour leurs propriétés antiseptiques. Dans l'Égypte ancienne, les techniques de l'embaumement utilisant les résines aromatiques, ainsi que l'HE, produisaient une inhibition puis une destruction de tous les microorganismes présents, en assurant une conservation pratiquement infinie du corps. Dans les vieux ouvrages de médecine, les résines aromatiques ou l'HE étaient les principes actifs qu'on peut retrouver dans les différentes drogues végétales ayant des propriétés antiseptiques significatives. Dans les ouvrages les plus récents, l'utilisation des huiles essentielles dans l'aromathérapie laisse entrevoir une perspective d'alternative aux médicaments de synthèse. Les plantes aromatiques possèdent plusieurs activités biologiques, parmi lesquelles on peut citer les activités suivantes:

- * Fongistatique
- * Insecticide
- * Nématicide
- * Herbicide
- * Bactériostatique
- * Antioxydante

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens. Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques. Le thymol est très irritant, astringent et caustique. Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires. Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Lamiacées : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc...L'HE de thym d'Espagne (*Thymus capitatus*) est souvent rapportée comme étant parmi les huiles les plus actives. Dans notre étude, nous n'allons nous intéresser qu'à deux activités biologiques : les activités antioxydantes et antibactériennes (EL Kalamouni C., 2010).

Les vertus des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises. De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche ont porté sur les activités antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles des plantes aromatiques (**EL Kalamouni C., 2010**).

III.2. Activité antioxydante

III.2.1. Définition d'un antioxydant

Le progrès de l'oxydation a comme conséquence la détérioration complète des aliments. La dégradation oxydative des constituants de nature lipidique de nos aliments présente des inconvénients à la fois aux plans organoleptique, nutritionnel, fonctionnel, économique et hygiénique (**Alais C. et al., 2008; Bouguerra A., 2012**). La lutte contre l'oxydation des lipides représente donc un enjeu considérable pour les industriels alimentaires. Pour supprimer ou ralentir l'oxydation des lipides, deux voies sont envisageables : tenter de réduire les facteurs favorables à cette oxydation et/ou trouver un réactif qui ralentit l'oxydation : c'est le rôle de l'antioxydant (**Jeantet R. et al., 2006**).

Ce dernier est défini comme une substance qui, à de faibles concentrations comparées à celles des substrats oxydables, prévient significativement ou retarde l'initiation du processus d'oxydation (**Beirão A., Bernardo-Gil M., 2006**). L'anhydride sulfureux et ses combinaisons minérales ont été utilisés comme premiers antioxydants, mais ces composés possèdent un caractère fortement allergisant (**Portes E., 2008**).

On trouve aussi d'autres composés comme le gallate de propyle, le gallate d'octyle, le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT) et le tert-butylhydroquinone (TBHQ). Le plus grand avantage de ces derniers est lié à leur coût bas d'une part, leurs propriétés chimiques et technologiques bien étudiées, qui satisfont dans la plupart des cas la demande des producteurs d'autre part. En revanche, le BHA et le BTH ont été avérés cancérogènes. Le TBHQ a été interdit au Japon, au Canada et en Europe. De même, le BHA a été également éliminé de la liste des composés Generally Recognized As Safe (GRAS). Par conséquent, il y a grand intérêt mondial pour la recherche de nouvelles sources d'antioxydants, naturelles et sûres (**Bouguerra A., 2012**).

III.2.2. Essais de l'activité antioxydante dans les aliments

Quelques récentes publications ont rapporté que certaines huiles essentielles sont plus efficaces que quelques antioxydants synthétiques. Les effets antioxydants d'huiles essentielles et d'extraits des plantes sont dus principalement à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique. Des études de l'équipe du Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit...) où l'application par vaporisation en l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation, ont étudié les activités antioxydantes de combinaison des extraits de plantes de thym, origan, marjolaine et sauge avec l'acide citrique en saindoux stockés à 75°C. Ils ont trouvé une efficacité synergique de l'acide citrique avec les extraits de thym (Himed., 2011).

Une étude a été conçue pour comparer l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Centella asiatica* et celle du BHA. Les teneurs en acide gras libre (FFA), les teneurs en peroxyde (PV), les teneurs en iode, les diènes conjugués (Cd) et les triènes conjugués (Ct) sont déterminés pour surveiller l'activité antioxydante de l'huile essentielle et du BHA dans l'huile de tournesol. L'huile essentielle a montré une activité antioxydante forte en interdisant l'augmentation des paramètres oxydants mentionnés ci-dessus (Bouguerra A., 2012).

Récemment, une autre étude a été réalisée pour essayer la formulation des margarines de table additionnées d'huiles essentielles de *Citrus limon*, en vue de les exploiter et de les substituer à un additif synthétique: le Tocoblend. L'évaluation de la stabilité oxydative est réalisée par les tests de Rancimat et Schaal, les résultats obtenus ont montré que les margarines à huiles essentielles de *Citrus limon* étaient plus résistantes que celle au Tocoblend vis-à-vis de l'oxydation forcée (Himed., 2011).

III.2.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agent antioxydant (huile essentielle). Selon la bibliographie, les méthodes les plus utilisées sont celles de la réduction du 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH•), de l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique, de la chélation des métaux et de blanchiment du β -carotène dans l'acide linoléique (Bouguerra A., 2012).

La mesure de l'inhibition de la peroxydation d'acide linoléique est une méthode efficace pour l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles. Cette activité est déterminée par le pourcentage d'inhibition de la peroxydation d'acide linoléique. Cette méthode est utilisée par beaucoup des auteurs pour évaluer le potentiel antioxydant des huiles essentielles. La méthode de chélation des métaux est employée pour déterminer la puissance de réduction des huiles essentielles où les réductants (huiles essentielles) ramènent le complexe de Fe³⁺/ferricyanide [FeCl₃/K₃Fe (NC)₆] à la forme (Fe²⁺) ferreuse. Par conséquent, selon la puissance de réduction des huiles essentielles, la couleur jaune de la solution d'essai change en vert ou en bleu. Cette méthode a été utilisée par beaucoup d'auteurs pour déterminer la puissance de réduction des huiles essentielles. Le blanchiment du β -carotène dans l'acide linoléique et de la réduction de DPPH• sont des méthodes efficaces, simples, reproductibles et rapides pour évaluer les propriétés antioxydantes des huiles essentielles. L'analyse de balayage de DPPH• est fréquemment utilisée pour la détermination de l'activité antioxydante des huiles essentielles (Bouguerra A., 2012). 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) est un radical organique stable, coloré et centré sur l'azote (Blois M., 1958). Le maximum de son absorption se situe vers 515 nm dans le méthanol et l'éthanol (Portes E., 2008). Les antioxydants donneurs d'atome H (RH) sont capables de réduire DPPH•, ce qui conduit au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH-H) et au radical R•. Le DPPH• a une couleur violette ou rouge pourpre mais cette couleur disparaît lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux (figure15) (Hubert J., 2006).

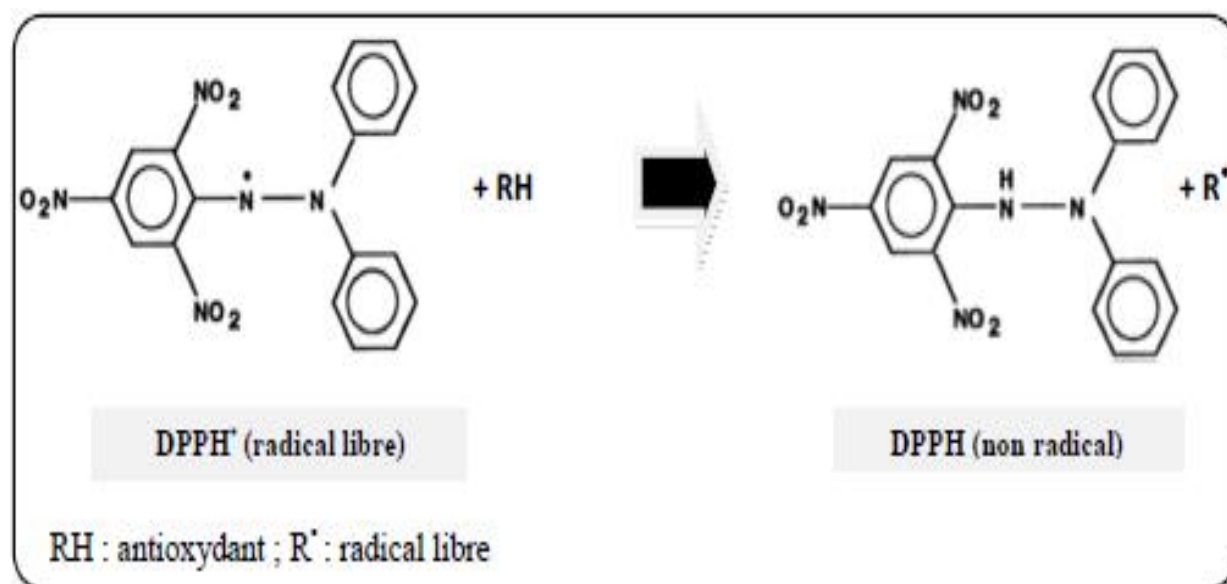


Figure15 : Réaction du DPPH*avec un antioxydant (Bouguerra A., 2012).

Le rapport DPPH•/antioxydant doit être adapté à la stoechiométrie du composé (nombre de radicaux réduits par molécule d'antioxydant) et le DPPH• doit être en excès. Ce test, largement utilisé, est rapide et facile à réaliser ; il permet de comparer un grand nombre de composés ou un seul composé à plusieurs dilutions. De plus, contrairement aux autres tests, les conditions utilisées (solvants organiques et faible température) évitent l'autooxydation des molécules testées. Le test du DPPH• permet aussi de déterminer un paramètre cinétique : la constante de vitesse du premier transfert d'atome H, et un paramètre statique : la stoechiométrie. Ces paramètres définissent l'activité antioxydante intrinsèque des molécules testées. Les résultats peuvent être exprimés en pourcentage de réduction de DPPH•, pour une concentration en extrait donné et un temps donné. Le test de réduction du DPPH• permet aussi de calculer la CE50. La valeur CE50 est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la réduction de 50% du DPPH•. Ce test peut se faire sur Chromatographie sur couche mince ; les extraits à tester sont déposés sur des CCM de gel de silice GF254 en aluminium et développés dans des systèmes appropriés. Après le séchage, les CCM sont giclées avec une solution méthanolique à 2mg/ml de DPPH•. Les activités antiradicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune blanc sur fond violet (**Bouguerra A., 2012**).

Ce test a été utilisé par beaucoup d'auteurs pour évaluer le potentiel antioxydant d'huiles essentielles. Cependant, le test de réduction au DPPH• peut poser des difficultés d'interprétation lorsque les composés testés possèdent une bande d'absorption dans le visible vers 515 nm, interférant avec celle du DPPH•. Le test avec l'ABTS+• est alors recommandé car on peut interpréter les résultats sur la bande à 734 ou 815 nm, n'interférant plus avec celle du composé testé, tandis que le DPPH• ne possède pas d'autres bandes d'absorption à plus grande longueur d'onde. De plus, ce radical est instable à la lumière et son absorbance à 515 nm décroît sans l'intervention d'un quelconque antioxydant ; c'est pourquoi les tests réalisés avec le DPPH• doivent impérativement se faire à l'obscurité (**Portes E., 2008**). Les cellules utilisent de nombreuses stratégies anti-oxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène. La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire. Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques (**Bouguerra A., 2012**).

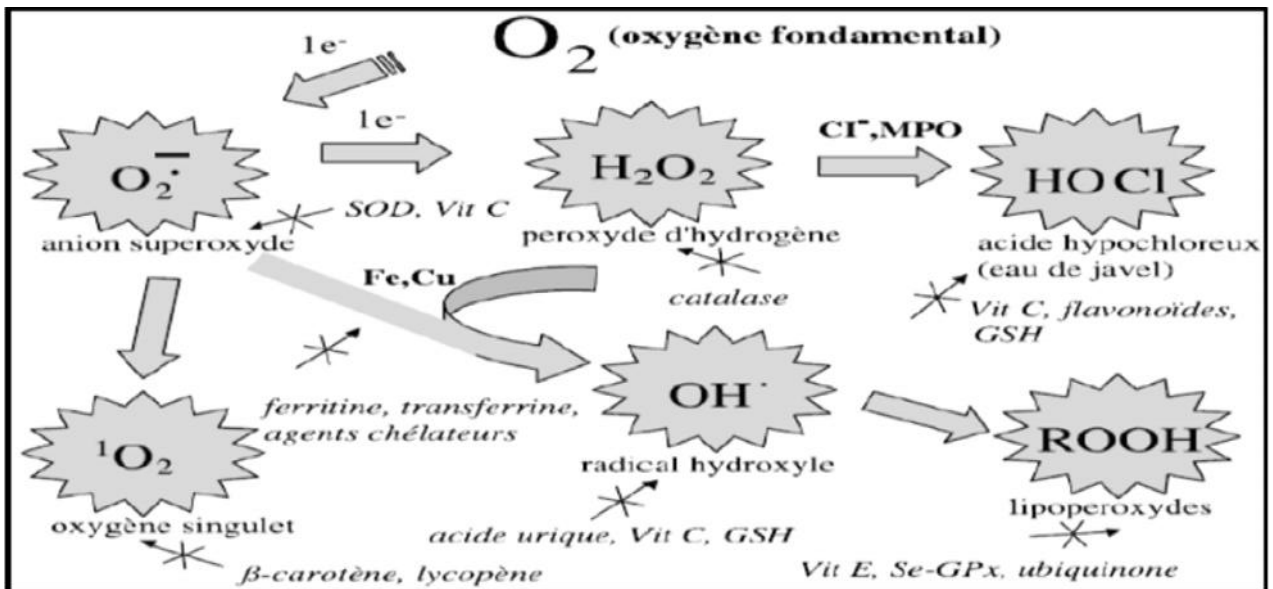


Figure16 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Bouguerra A., 2012).

III.3. Activité antimicrobienne

Avec la généralisation, à la fin des années 1940, de l'utilisation des antibiotiques, les médecins ont commencé à vaincre les maladies infectieuses qui ravageaient l'humanité depuis si longtemps. Mais, ensuite, à la fin des années 1980 et dans les années 1990, les antibiotiques ont commencé à ne plus être salués comme le miracle qu'ils avaient semblé être 40 ans plus tôt. Pourtant, dès 1945, le bactériologiste britannique Alexander Fleming a lancé un avertissement dans un article publié dans le New York Times. Il craignait qu'un mauvais usage de la pénicilline ne conduise à sélectionner et à propager des formes mutantes de bactéries résistantes au médicament. Il avait raison, ses paroles étaient prémonitoires : de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques. En fait, un mauvais usage des antibiotiques sélectionne les bactéries résistantes, tandis que les souches résistantes sélectionnées chez un individu – qui ne tombe pas forcément malade lui-même peuvent se transmettre à d'autres (Zhiri A., 2006).

La personne touchée peut alors développer une forme de maladie contre laquelle les antibiotiques deviennent inefficaces. Par ailleurs, la généralisation d'une utilisation excessive des antibiotiques à large spectre semble également avoir favorisé un nouveau problème. Elle est souvent la cause d'une infection secondaire par des levures, en particulier par *Candida albicans*. Une autre conséquence de l'utilisation des antibiotiques est l'apparition de salmonelloses. Les personnes sous antibiotique au moment où elles consomment de la viande ou du lait contaminé se trouvent prises de fortes diarrhées dues à une salmonelle résistante

aux antibiotiques. Sous la pression sélective du médicament, la salmonelle s'est suffisamment développée pour déclencher une gastroentérite et, dans certains cas, une infection sanguine susceptible d'entraîner la mort (**Zhiri A., 2006**).

La plupart des gens ayant ingéré les mêmes aliments contaminés mais qui n'étaient pas sous antibiotique ne sont pas affectés. Il semble donc important de trouver une alternative à l'utilisation des antibiotiques. Les études montrent que les huiles essentielles pourraient bien constituer une candidature particulièrement crédible. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est connue de façon empirique depuis l'antiquité. Des études expérimentales ont été entreprises en France dès 1885. En 1888, Cadeac et Meunier publient leurs recherches dans les Annales de l'Institut Pasteur. De nombreuses études in vitro ont été réalisées par des médecins et des pharmaciens avec des résultats concluants. Dans son livre Antiseptiques essentiels publié en 1938, René-Maurice Gattefossé, le père de l'aromathérapie, décrit déjà la considérable avancée de la recherche dans ce domaine. Depuis, de nombreux travaux, essentiellement de laboratoire, sont venus renforcer ces résultats, expliquer les modes d'actions de certains de leurs composants (**Zhiri A., 2006**).

III.3.1. Définition d'un antimicrobien

La qualité microbiologique des aliments constitue l'une des bases essentielles de leur aptitude à satisfaire aussi bien la sécurité des consommateurs que la conservation des aliments. Un aliment, exposé à la détérioration par les bactéries et les moisissures peut voir diminuer ses caractéristiques sensorielle, nutritive et sanitaire. L'essor de la chimie a permis l'apparition de nouvelles substances antimicrobiennes. Ces dernières sont définies comme étant des substances utilisées pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antibactériens et antifongiques. Ces substances synthétiques ont été employées couramment. Cependant, en raison du souci croissant des consommateurs aux denrées contenant de tels additifs chimiques, la recherche des additifs naturels, particulièrement d'origine végétale, a notamment augmenté ces dernières années. Par conséquent, le développement des produits naturels possédant une activité antibactérienne s'avère nécessaire et utile. Les huiles essentielles sont connues pour posséder l'activité antimicrobienne et certaines sont classées comme des substances sûres et pourraient donc être employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants (**Bouguerra A., 2012**).

III.3.2. Essais de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles dans les aliments

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles ont été employées pendant des milléniums pour fournir des saveurs caractéristiques pour les aliments et les boissons (**Baydar H.et al., 2004**). En plus de la saveur contribuée aux aliments, beaucoup de plantes aromatiques et leurs huiles essentielles montrent une activité antimicrobienne et pourraient empêcher la croissance des microorganismes d'altération et pathogènes, améliorant de ce fait la sécurité alimentaire (**Bouguerra A., 2012**).

La plupart des publications ont confirmé la possibilité d'employer les huiles essentielles dans les aliments pour prolonger la durée de conservation des aliments (**Bagamboula C.et al., 2004**). Par exemple l'origan, le romarin, la sauge et le thym sont les assaisonnements typiques particulièrement dans la région méditerranéenne. Ces herbes ont un statut de *GRAS* donné par Food and Drug Administration (2006), signifiant qu'elles sont généralement sûres et sans danger pour la consommation humaine. Parmi le groupe diversifié des constituants chimiques des huiles essentielles, le carvacrol, qui exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire. Il y est rajouté pour améliorer le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires (**Bouguerra A., 2012**). Plusieurs travaux ont montré que les huiles essentielles de thym, d'origan, de cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires (**Bilgrami K.et al., 1992**). Dans certains cas, les concentrations des huiles essentielles nécessaires pour inhiber les micro-organismes dans un aliment dépassent celles *in vitro*.

Quand un extrait est mélangé dans un aliment, l'effet antimicrobien est réduit par la réaction ou interaction avec les composants des aliments. Une disponibilité d'éléments nutritifs est plus élevée dans les aliments une fois comparée au bouillon ou à l'agar synthétique ce qui permet à quelques bactéries de devenir capables de réparer plus rapidement les dommages cellulaires provoqués par des composés d'huiles essentielles. Des huiles essentielles d'eugénol, de clou de girofle, d'origan et du thym se sont avérées efficaces à un niveau de 5-10µl/g pour *Listeria monocytogenes* dans des produits à base de viande La teneur en graisse semble réduire nettement l'action d'huiles essentielles dans des produits à base (**Bouguerra A., 2012**) .de viande. Par exemple, l'huile essentielle de la menthe n'était pas efficace dans les produits avec un taux élevé de graisse .Plusieurs huiles essentielles des plantes aromatiques ont totalement empêché le développement fongique sur des grains de

maïs (Montes-Belmont R., Convajal M., 1998) et sur des grains de riz (Bouguerra A., 2012).

L'application des huiles essentielles comme substances antimicrobiennes dans les aliments est souvent découragée en raison de la perte potentielle d'action antimicrobienne due à leur volatilité et lipophilicité. Une alternative serait d'examiner les aliments qui n'exigent pas l'incorporation directe d'huile essentielle, par exemple la décontamination des légumes frais (Bagamboula C. *et al.*, 2004). ont proposé d'incorporer les huiles aux produits qui ont déjà une saveur forte, ou employer les composants les plus actifs au lieu de l'huile essentielle entière. Ceci réduirait les changements des propriétés organoleptiques, tout en maintenant l'activité antimicrobienne. Peu de conservateurs contenant des huiles essentielles sont déjà disponibles dans le commerce. Le « DMC Base Natural » est un conservateur produit par DOMCA S.A., AlhendIn, Granada, Spain et comporte 50% des huiles essentielles du romarin, de la sauge et du citron (Bouguerra A., 2012).

Les « Protecta One » et « Protecta Two » sont des mélanges d'extraits d'herbes produits par Bavaria Corp. Apopka, FL, USA et sont classés comme des additifs alimentaires GRAS aux USA (Burt S., 2004). Il est recommandé d'appliquer les huiles essentielles ou leurs composés en tant qu'élément d'un système d'obstacle et de les employer comme composant antimicrobien avec d'autres techniques de conservation, par exemple en combinaison avec la température et le pH réduits ; d'employer une combinaison synergique d'huiles essentielles et de leurs composés (Bagamboula C. *et al.*, 2004), de ce fait permettant de diminuer leurs concentrations et de réduire au minimum des effets sensoriels défavorables. À cet égard, beaucoup de combinaisons avec d'autres composés (antimicrobiens) ont été examinées. La nisine, un agent antimicrobien, qui n'a pas une activité contre des bactéries Gram-, combinée avec le carvacrol ou le thymol a montré un effet synergique sur la viabilité des cellules de *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*. D'ailleurs, des effets synergiques ont été rapportés entre l'HE de la cannelle et le benzoate de sodium ou le sorbate de potassium et entre l'HE de l'*Origanum vulgare* L. et l'acide citrique dans de la viande contre *Staphylococcus aureus* (Bouguerra A., 2012).

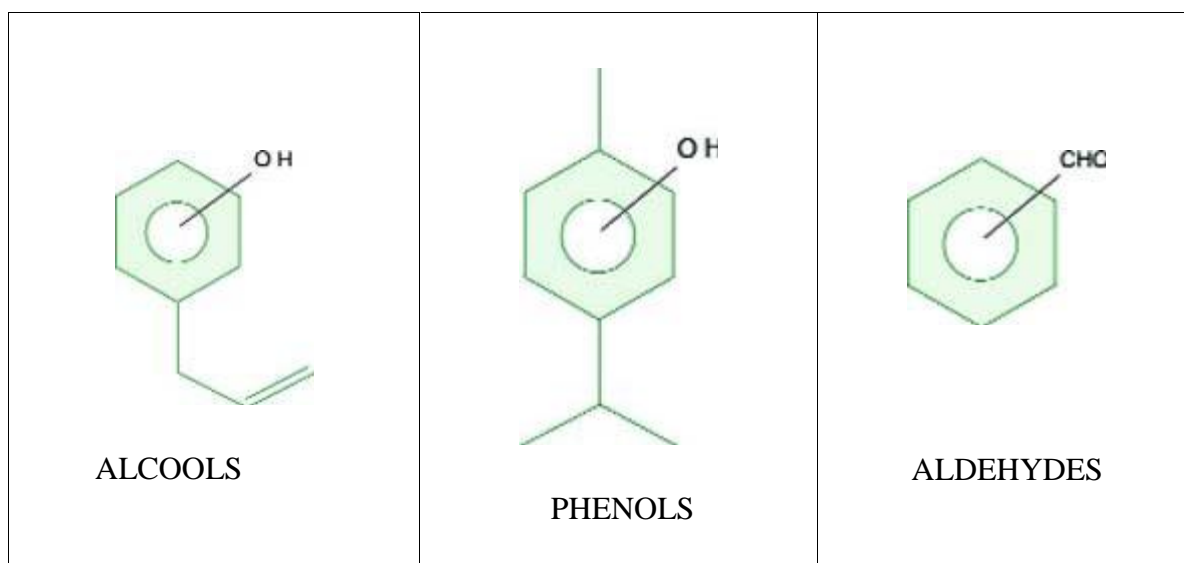
III.3.3. Le chémotype

Le chémotype, également appelé chimiotype, permet de définir la ou les molécules biologiquement actives majoritairement présentes dans l'huile essentielle. Associé à la dénomination latine, la précision du chémotype permet la compréhension précise du mode d'action des huiles essentielles. Une huile essentielle contient souvent 50 à 100 molécules biochimiques différentes. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse permet d'identifier et de quantifier chacune de ces molécules et ainsi d'obtenir la composition précise des huiles essentielles (Zhiri A., 2006).

III.3.4. Une activité antibactérienne liée à la composition chimique

Lorsque l'on parle d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets : une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique. Le plus souvent l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides. Plusieurs études ont ainsi montré l'apparition de fuites d'ions potassium dans des cellules microbiennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) en contact avec de l'huile essentielle d'arbre à thé (*tea tree*). Cette fuite de potassium est la toute première preuve de l'existence de lésions irréversibles au niveau de la membrane de la bactérie. Le thymol, le carvacrol, des composants actifs d'huiles essentielles, rendent perméable la membrane des bactéries, un effet précurseur de leur mort (Zhiri A., 2006).

Les huiles essentielles ont donc bien des propriétés bactéricides. L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs et à leurs effets synergiques (Zhiri A., 2006).

Tableau4: Structure générale des principaux agents antimicrobiens

(Dorman H., Deans S., 2000).

III.3.5. Les actifs antibactériens

Les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols : thymol, carvacrol et eugénol. Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation. Le thymol et l'eugénol sont responsables des activités fongicides et bactéricides des huiles essentielles qui en contiennent. La molécule de thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches et, parmi elles, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, sur lesquelles elle provoque des fuites d'ions potassium. Par contre, elle n'est pas active sur *Pseudomonas aeruginosa*. Les alcools avec 10 atomes de carbone (ou monoterpénols) viennent immédiatement après les phénols, en terme d'activité, avec le géraniol, linalool, thujanol, myrcénol, terpinéol, menthol et pipéritol pour les plus connus. Molécules à large spectre, elles sont utiles dans de nombreuses infections bactériennes. Les aldéhydes sont également quelque peu bactéricides. Les plus couramment utilisés sont le néral et le géraniol (des citrals), le citronnellal et le cuminal (Zhiri A., 2006).

III.3.6. Mode d'action des huiles essentielles

Dans la bibliographie scientifique, il n'y pas un grand nombre d'auteurs ayant rapporté le mécanisme d'action des huiles essentielles et leurs composants, et jusqu'à maintenant ils n'ont pas totalement compris le mécanisme. Mais quelques auteurs ont donné plusieurs suppositions selon leurs observations. Du fait de la variabilité quantitative et qualitative 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 (Bajpai V., Kang S., 2010).

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 chémoosmotique et une fuite d'ions (K⁺) (Cox S.*et al.*, 2000). Des conclusions similaires sont obtenues par d'autres auteurs. 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. Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée. Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de DNA, de RNA, des protéines et des polysaccharide. D'autres auteurs pensaient que l'activité inhibitrice de ces composés serait due à leur affinité avec les groupements SH impliqués dans la division cellulaire (Bouguerra A., 2012).

III.3.7. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

L'examen des données bibliographiques fait apparaître d'emblée la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentielles. Ces différentes techniques sont répertoriées et décrites dans des livres (Ahmad *et al.*, 2006; Baser & Buchbauer, 2010), des mémoires de Magister et thèses de Doctorat (Rhayour, 2002; Benzeggouta, 2005; Pibiri, 2006; Malecky, 2007; kechkar, 2008). ainsi que dans différentes publications (Caldefie-Chezet *et al.*, 2003; Baydar *et al.*, 2004; Burt, 2004; Chang *et al.*, 2008a, b; Oussou *et al.*, 2008; Derwich *et al.*, 2009; Derwich *et al.*, 2010). Ces aperçus édités prouvent qu'il n'y a pas une seule méthode qui est employée par tous les pour déterminer quelle est la meilleure méthode pour des analyses *in vitro* (Bouguerra A., 2012).

III.3.7.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

Les différents protocoles peuvent être classés selon le milieu dans lequel se fait la diffusion de l'huile essentielle et selon la nature du contact de l'huile essentielle avec le germe. La majorité de chercheurs ont employé une des trois analyses suivantes : diffusion sur disque, dilution d'agar et dilution de bouillon (**Bouguerra A., 2012**). Ces méthodes sont relativement rapides, peu coûteuses et n'exigent pas l'équipement de laboratoire sophistiqué ; cependant, elles ne sont pas sans inconvénients (**Wilkinson J., 2006**).

III.3.7.2. Méthode de l'aromatogramme

En plus de l'appellation méthode de l'aromatogramme (**Zhiri A., 2006**), elle est appelée aussi technique de l'antibioaromatogramme ,méthode de VINCENT,méthode de diffusion dans la gélose (agar) (**Bouguerra A., 2012**). Elle est particulièrement adaptée à l'étude de l'action antibactérienne. Elle permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis à vis de l'huile essentielle donnée. Elle peut être aussi adaptée pour tester d'autres agents antimicrobiens (**Wilkinson J., 2006**). La méthode de l'aromatogramme consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé convenable (10-25mL), déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Des disques en papier filtre, papier buvard ou Wattman (6-8mm), préalablement imprégnés de quantités connues d'HE (5-30 μ L), sont alors placés en surface de la gélose (**Wilkinson J., 2006; kechkar M., 2008**).

Généralement, les micro-organismes seront classés susceptibles, intermédiaires ou résistants, selon le diamètre de la zone d'inhibition Une autre technique de diffusion sans disque, elle consiste en l'aménagement d'une cavité dans la gélose. Cette cavité est ensuite remplie d'un volume donné d'huile essentielle qui va diffuser dans la gélose, et on procède, après incubation, à la mesure du diamètre d'inhibition comme dans la technique précédente (**Wilkinson J., 2006**).

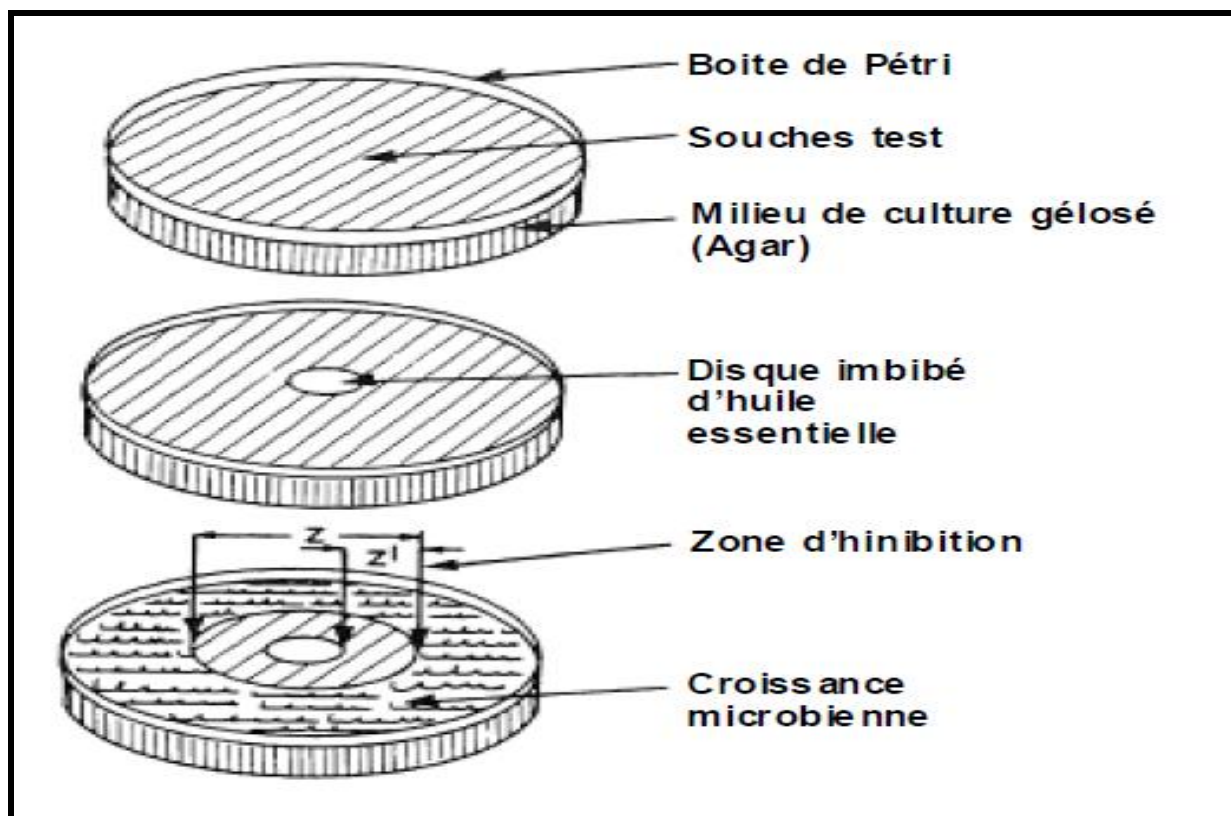


Figure 17: Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri (Marie C., 2006).

III.3.7.3.Méthode de microatmosphères

Dans cette méthode, les disques imprégnés par l'huile essentielle sont déposés au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience (couvercle en bas), cette méthode est appelée « Méthode de microatmosphères ». Le disque n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. Il se produit une évaporation des substances volatiles et on lit après incubation, la croissance des germes ou l'inhibition de leur croissance. Cette méthode est rarement citée car les auteurs qui se sont penchés spécifiquement sur l'activité de la phase vapeur sont encore peu nombreux (Bouguerra A., 2012).

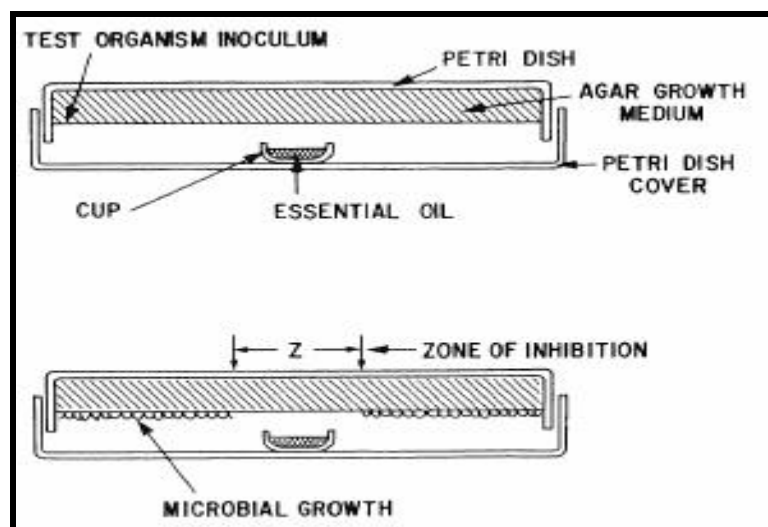


Figure18: Illustration de la méthode des microatmosphères (Marie C., 2006).

III.3.7.4. Méthode de dilution

La méthode par dilution a pour but d'évaluer des concentrations minimales inhibitrices. Elle consiste à déterminer la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, nécessaire pour inhiber la croissance d'un microorganisme (Derwich E.*et al.*, 2010). L'efficacité de l'huile essentielle testée est évaluée par la mesure de 2 concentrations : la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB). Ces concentrations nous permettent de connaître la nature de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle : bactériostatique ou bactéricide. On ne dispose pas de définition officielle de ces grandeurs, les définitions données (tableau 5) sont celles utilisées dans les études scientifiques. Elles sont donc susceptibles de varier d'un auteur à un autre (Bouguerra A., 2012).

III.3.7.4.1. Méthode de dilution d'agar

La méthode de dilution d'agar est plus économique que celle qui se pratique sur milieu liquide, parce qu'elle a beaucoup d'avantages : un grand nombre de souches peuvent être testées immédiatement, la contamination est facilement détectée et le milieu peut contenir des matériaux opaques. Elle consiste à réaliser des dilutions des huiles essentielles, et les incorporer dans le milieu gélosé fondu et refroidi à 45°C, et à tester sur ce milieu les souches bactériennes à étudier (Benzeggouta N., 2005; Wilkinson J., 2006 ;Traoré M., 2006).

Ces dernières sont ensemencées à la surface, soit en stries avec une anse calibrée (Benzeggouta N., 2005), soit en point avec des micropipettes (Mayachiew P., Devahastin S., 2008).

Cette méthode est utilisée comme un indicateur de l'activité antibactérienne, en plus de la recherche de la valeur réelle lorsque c'est possible. Dans la littérature, les études publiées sur la dilution d'agar pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de plante aromatiques ou de leurs huiles essentielles ont employé différents dissolvants pour incorporer les extraits dans le milieu (Bouguerra A., 2012).

Tableau 5 : Définition des grandeurs CMI et CMB (Bouguerra A., 2011).

Termes	Définition	Références
CMI	Plus faible concentration d'huile essentielle inhibant toute croissance visible à l'oeil nu après 16 à 20 heures d'incubation à 37°C. Les microorganismes restent cependant viables.	Hammer et al. (1999); De Billerbeck et al. (2002); Bassole et al. (2002); Oussou et al. (2008); Yang et al. (2009).
	Concentration minimale d'huile essentielle qui produit une réduction de plus de 90% de la croissance des colonies microbiennes et est déterminée par la méthode de densité optique.	Ponce et al. (2003); Phattayakorn & Wanchaitanawong (2009).
	Plus basse concentration requise pour l'inhibition complète des microorganismes d'essai jusqu'à 48 heures d'incubation	Wan et al. (1998); Canillac & Mourey (2001)

CMB	Concentration minimale d'huile essentielle nécessaire pour détruire l'inoculum initial après incubation en conditions standards et les microorganismes ne sont plus viables	Ponce et al. (2003); Klaric et al. (2006); Derwich et al. (2010).
	Plus basse concentration à laquelle aucune croissance n'est observée après incubation pendant 5 jours.	Mayachiew & Devahastin (2008)
Bactériostatique	Concentration pour laquelle les bactéries ont échoué à se développer en bouillon, mais elles peuvent se développer quand elles sontensemencées en absence de l'huile essentielle	Smith-Palmer et al. (1998)
Bactéricide	Concentration pour laquelle les bactéries ne se développent pas en bouillon et ont échoué pour se développer quand elles sontensemencées en absence de l'huile essentielle	Smith-Palmer et al. (1998)

III.3.7.4.2. Méthode de dilution de bouillon

La méthode de dilution en bouillon est utilisée aussi pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices. Une gamme de dilution de l'huile essentielle est additionnée à une série de tubes contenant un milieu de culture liquide, de composition convenable. Après inoculation des espèces microbiennes étudiées et incubation dans les mêmes conditions, la concentration minimale inhibitrice est indiquée par le tube de la dilution à partir de laquelle aucune croissance microbienne n'est constatée. C'est-à-dire qu'aucune turbidité ou trouble n'est observé dans le milieu (**kechkar M., 2008**). Des méthodes de micro-bouillon ont été également développées, utilisant des microplaques et de ce fait réduisant le volume de l'extrait requis (**Del-Vechio-Vieira G.et al., 2009**). Une mesure de turbidité ou une utilisation d'un indicateur de viabilité des microorganismes permettent la détermination des concentrations minimales inhibitrice « resazurine, methylthiazoldiphenyltetrazolium (MTT) » (**Bouguerra A., 2012**). Les méthodes de microplaques nécessitent moins de temps et de moyens que d'autres méthodes (**Wilkinson J., 2006**).

III.3.7.4.3. Evaluation de l'activité antifongique

En général, les méthodes d'évaluation de l'activité antifongique sont rapides, moins coûteuses et facile à réaliser. L'activité contre les mycètes filamenteux peut être évaluée par la méthode de diffusion et de la dilution avec les mêmes inconvénients et avantages pour les analyses antibactériennes (**Wilkinson J., 2006**). L'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles peut être effectuée par la méthode de microatmosphères (**Bajpai V.,Kang S., 2010**).

Dans la méthode de dilution d'agar, l'huile essentielle à tester est incorporée à l'agar et alors un disque mycélien activement grandissant est placé au centre de la boîte de Pétri. La croissance radiale du mycète après un temps approprié, selon les caractéristiques de croissance du mycète, est alors mesurée et comparée aux échantillons témoins (**Wilkinson J., 2006**). Alternativement une suspension fongique de cellules peut être inoculée sur le milieu de culture et les concentrations minimales sont déterminées (**Derwich E.et al., 2010**).

III.3.7.4.4. Bioautographie sur CCM

Dans cette technique, la séparation des huiles essentielles en fraction et l'identification de la bioactivité sont réalisées simultanément. Dans cette méthode, la CCM est réalisée pour des huiles essentielles entières ou leurs fractions (Wilkinson J.,2006). La CCM développée est alors pulvérisée avec une suspension bactérienne ou fongique ou recouverte avec l'agar semé par les microorganismes. La dernière méthode a été, en particulier, employée pour déterminer l'activité des huiles essentielles contre des levures telles que *Candida albicans* et des moisissures pathogènes (Bouguerra A., 2012). Après incubation, on observe les zones d'inhibition (avec ou sans indicateurs de viabilité des microorganismes) autour de ces composés qui indiqueraient l'existence des activités antibactérienne et antifongique. Tandis que cette méthode a l'avantage de combiner la séparation des constituants des huiles essentielles et l'identification simultanée de la bioactivité de ces fractions, elle n'est pas appropriée pour la détection de l'activité d'un produit mélange entre deux composés ou plus. De plus, les résultats seront affectés par la panne ou le changement de composés pendant la phase de fractionnement (Wilkinson J., 2006). Il y a eu beaucoup de publications ayant appliqué cette méthode pour étudier l'activité antimicrobienne des huiles essentielles (Bouguerra A., 2012).

III.3.8. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les résultats concordants des différentes études permettent de conclure à l'existence d'une activité antibactérienne et antifongique *in vitro* des huiles essentielles. Cette activité, qui entraîne l'inhibition de la croissance, voire la destruction des cellules microbiennes, a été relativement bien étudiée par de nombreuses publications et les auteurs s'accordent sur les résultats obtenus. En revanche, ces résultats obtenus, que se soit au niveau antibactérien ou antifongique, dépendent de plusieurs facteurs. L'activité biologique d'une huile essentielle ne serait pas la même, ce qui rend l'évaluation des activités biologiques difficiles (Bouguerra A., 2012).

III.3.8.1. Dispersion et solubilité des huiles essentielles

Généralement, les huiles essentielles sont médiocrement solubles dans l'eau, et ceci pose beaucoup de problèmes pour étudier leurs propriétés biologiques. Ceci a été confirmé par Griffin (2000) qui ont démontré que beaucoup de terpénoïdes, ayant une solubilité médiocre dans l'eau, n'ont pas répanu dans les milieux aqueux et par conséquent les huiles essentielles riches en ces terpénoïdes ont donné des résultats « faux » dans ces analyses. Afin

de surmonter ces problèmes, beaucoup d'auteurs ont recommandé l'utilisation de divers dissolvants dans la dilution d'huiles essentielles telles que l'hexane (**Del-Vechio-Vieir G.et al., 2009**), l'acétone, l'alcool, l'éthylène-glycol, l'éther isobutylique, l'éthanol, le méthanol et le DMSO (**Ahmed S., Abdelgaleil S., 2005**) et l'emploi d'un émulsifiant comme le Tween 20 ou le Tween 80 dans des pourcentages différents (**Bouguerra A., 2012**).

III.3 .8.2. Effet du dissolvant et émulsifiant

Les dissolvants les plus utilisés dans le laboratoire sont toxiques aux microorganismes et par conséquent influencent les activités biologiques étudiées (**Bouguerra A., 2012**). D'autre part les interactions entre les agents émulsifiants et les constituants des huiles essentielles représentent un facteur important pour la mesure de leur activité antimicrobienne car les agents utilisés pour la solubilisation et la dispersion des huiles essentielles dans le milieu de culture bactérien peuvent diminuer l'activité antimicrobienne. C'est le cas pour le Tween-80, solvant qui neutralise les groupes fonctionnels phénoliques et réduit leur activité antimicrobienne (**Inouye S.et al., 2000**). Le choix de dissolvant adéquate (ou du détergent) est indispensable avant d'envisager un essai biologique d'une huile essentielle. D'autres auteurs ont proposé l'utilisation de 0.2% de l'agar (**Satrani B.et al., 2007**). Dans ce cas, la CMI et la CMB trouvées pour différentes espèces bactériennes en présence de l'agar étaient sensiblement inférieures à ceux observées en présence du Tween 80 ou de l'éthanol (**Bouguerra A., 2012**).

III.3.8.3. Le choix de la méthode pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne

Une des difficultés pour les chercheurs dans ce secteur est l'absence d'une méthode normalisée pour examiner les activités biologiques des huiles essentielles (**Wilkinson J., 2006**). L'insolubilité des huiles essentielles dans les milieux utilisés en microbiologie, explique la variété des techniques employées. L'analyse fine des méthodes montre des variations de protocole. En plus de l'insolubilité des huiles essentielles, d'autres facteurs, tels que le volume de l'extrait placé sur le disque, l'épaisseur de la couche d'agar, l'emploi ou non de dissolvant, l'utilisation de différents milieux de culture, les durées d'incubations, etc., varient considérablement entre les études (**Inouye S.et al., 2000**). L'emploi de ces différentes méthodes peut donc induire des biais dans la comparaison des résultats des différentes études (**Degryse A.et al., 2008**). (**Inouye S.et al., 2000**) ont étudié l'activité antifongique de plusieurs huiles essentielles et ont prouvé que les valeurs des concentrations minimales inhibitrice peuvent être calculées par une gamme de méthodes. Ils ont prouvé aussi que ces concentrations trouvées par des analyses qui sont faites dans des conditions fermées (boîtes de

Pétri scellées), étaient inférieures à celles ayant été réalisées par des analyses dans les conditions ouvertes (**Bouguerra A., 2012**).

III.3.8.4. Matrice biologique

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles sont différentes en fonction de la matrice à laquelle elles sont ajoutées, ou du fait du contact avec les macromolécules comme les lipides ou les protéines qui protègent les bactéries de l'action des huiles essentielles. Ainsi les huiles essentielles diluées dans la phase lipidique des aliments seront moins efficaces sur des bactéries de la phase aqueuse (**Mejlholm O., Dalgaard S., 2002**). Généralement les concentrations des huiles essentielles et leurs composés nécessaires pour empêcher la croissance microbienne sont plus élevées dans les aliments que dans des milieux de culture. Ce serait dû aux interactions entre les composés phénoliques et la matrice de l'aliment. Le repartitionnement des composants antibactériens hydrophobes d'huile essentielle dans les composés graisses de la nourriture peut les empêcher d'entrer en contact avec les bactéries dans les régions hydrophiles dans les aliments (**Bouguerra A., 2012**).

III.3.8.5. Expression des résultats

La plupart des méthodes utilisées ont été critiquées par plusieurs auteurs. Ces critiques ont été basées sur la discordance observée dans les résultats obtenus concernant l'étude de la zone d'inhibition et l'étude de l'inhibition de la croissance à différentes concentrations d'huiles essentielles. Les notions de CMI, CMB, CMFS et CMFC ne sont pas définies de façon précise et universelle, les auteurs ont exprimé les résultats avec différentes unités. Ces concentrations peuvent être exprimées en $\mu\text{g/ml}$, en $\mu\text{l/ml}$ ou en % (vol/vol) (**Bouguerra A., 2012**), ce qui rend la comparaison des résultats entre eux difficile. L'action des composés volatils d'huiles essentielles sur la croissance fongique a été démontrée et a des implications importantes pour le criblage de l'activité antifongique. De ce fait, les résultats des activités antifongiques des huiles essentielles dépendront non seulement du contact direct mais également de la présence et la concentration des composés volatils (**Wilkinson J., 2006**).

III.3.8.6. Variation de composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes des dizaines ou des centaines de composés qui ne peuvent pas agir comme prévus dans l'essai bactériologique. La plupart des publications ne citent pas, souvent, la composition exacte d'huile essentielle étudiée, à cause du manque de l'accès au placement ou à l'équipement pour réaliser la GC-MS et d'autres analyses chimiques des extraits (**Wilkinson J., 2006**). L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (**Lahlou M., 2004**) et les effets synergiques entre les composants. Ainsi la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant (**Bouguerra A., 2011**). Il est possible de distinguer différents chémotypes au sein d'une même famille botanique de plantes. La composition exacte des huiles étudiées n'est pas toujours précisée dans les articles et on peut supposer que les différences de composition induites par la zone de provenance de l'huile peuvent influencer sur son activité (**Degryse A. et al., 2008**). Le type et la structure moléculaire des composants actifs présents dans les huiles essentielles sont les principaux facteurs modifiant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles (**Bouguerra A., 2012**).

Ainsi in vitro, une activité antimicrobienne plus élevée des terpènes oxygénés en comparaison des terpènes hydrocarbures a été observée. Les composants oxygénés purs ont aussi montré une activité supérieure par rapport aux huiles essentielles dans lesquelles ils se trouvent (**Cox S. et al., 2001**). L'activité des huiles essentielles 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. Certaines études ont montré que l'activité des huiles essentielles est supérieure à celle de ses composés majoritaires testés séparément (**Lahlou M., 2004**).

III.3.8.7. Type des microorganismes

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. Les champignons montrent généralement une sensibilité supérieure par rapport aux bactéries et parmi les bactéries, les Gram – apparaissent plus résistants que les Gram + vis-à-vis des huiles essentielles (Cox S.*et al.*, 2000). Plusieurs travaux notamment ceux de Ahmad *et al.* (2006b); Derwich E.*et al.* (2010) et ,ont confirmé la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-), peut être expliqué par la présence de la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif, elle représente en effet une barrière capable de diminuer la perméabilité des composés hydrophobes (Bouguerra A., 2012), Cependant, les molécules à faible poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent traverser cette barrière (Dorman H., Deans S., 2000) .

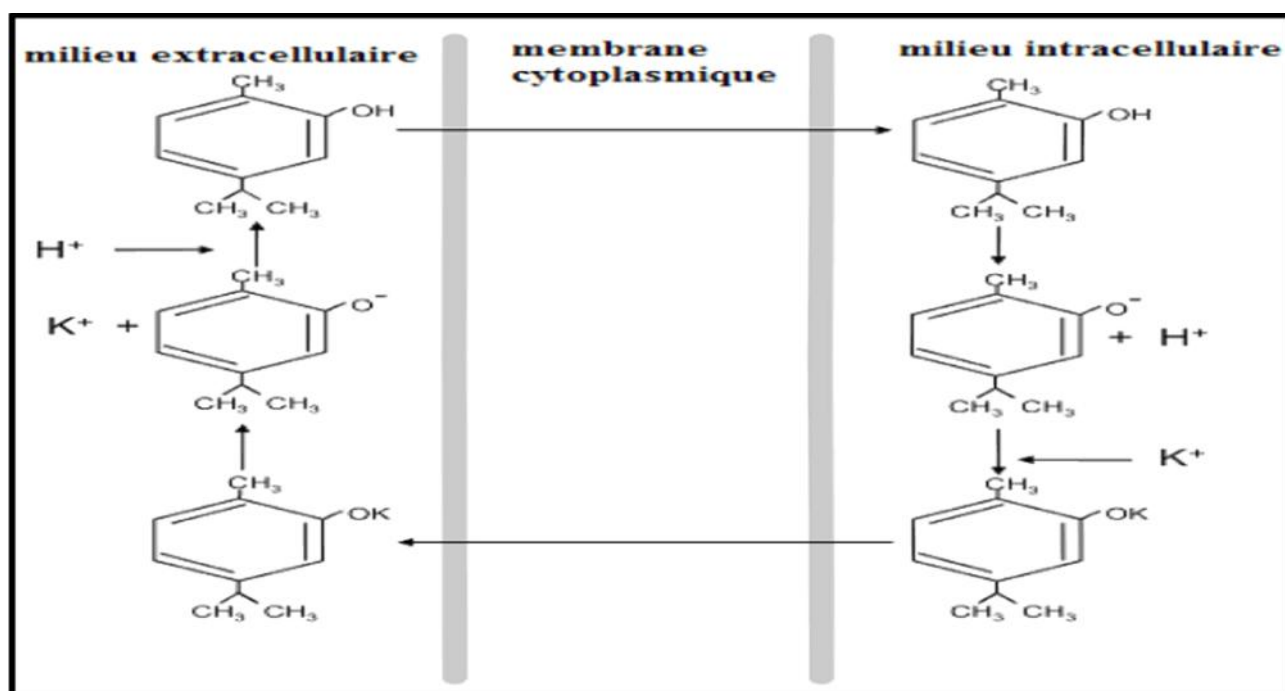


Figure 19 : Mécanisme d'action de carvacrol sur la membrane cellulaire (Bouguerra A., 2012).

III.4. Antivirale

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles aujourd'hui, les HE constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques. Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites (**Benayad N., 2008**).

III.5. Antiseptique

Les aldéhydes et les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes (**Benayad N., 2008**). Un bon nombre d'huiles essentielles possèdent des propriétés antiseptiques et antibactériennes, au niveau pulmonaire et/ou intestinale et /ou rénal. On les emploie dans le cadre d'une thérapie et d'une prophylaxie des maladies infectieuses (grippe, bronchie, pneumonie, typhus et paratyphoïde, cystite, urétrite), les essences agissent au niveau des tissus des organes atteints et sont éliminées par les poumons, les intestins ou les reins (**Fabrocini V., Fabrocini C., 1999**).

III.6. Antidouleurs, antianalgésiques, analgésiques

On les utilise comme antalgiques et analgésiques au niveau général (antispasmodiques, antinévralgiques, antirhumatismales, luttant contre la goutte ou l'arthrite ...) ou au niveau local : contusions, entorses, foulures, mal de tête, coliques, dysménorrhée ... (**Fabrocini V., Fabrocini C., 1999**).

III.7. Huiles essentielles stimulantes, toniques et ayant un rôle antidépresseur

Elles agissent au niveau du système nerveux et neurovégétatif et s'avèrent utiles en cas d'anxiété, de panique, de tension et de faiblesse nerveuse, d'apathie, d'état de choc, de stress, d'excitabilité, d'irritabilité et d'insomnie (**Fabrocini V., Fabrocini C., 1999**).

III.8. Huiles essentielles à tropisme gastro-antérique, hépatobiliaire et rénale

Elles agissent comme des stimulants des carminatifs, des cholagogues, des cholérétiques, des dépuratifs, diurétiques laxatifs, stomachiques. Elles sont utiles en cas de gastrite, de colite, d'entérite, de diarrhée, de constipation, de nausée, de vomissements, de mal des transports, d'indigestion, d'ulcère, de parasitoses intestinales, d'intoxications alimentaires (**Fabrocini V., Fabrocini C., 1999**).

III.9. Huiles essentielles à tropisme cardiocirculatoire et lymphatique

Elles sont utilisées pour améliorer la circulation sanguine et lymphatique et s'avèrent utiles en cas d'anémie, d'hypertension, d'érythisme cardio-vasculaire, d'angine de poitrine, de palpitations, de stase veineuse et lymphatique, d'oedème, d'hémorroïdes, d'engelures, de veines variqueuses, et d'hypotension (**Fabrocini V., Fabrocini C., 1999**).

III.10. Huiles essentielles à tropisme broncho-pulmonaire et respiratoire

Elles ont un rôle analgésiques antipyrétique, balsamique et expectorant : elles sont efficaces dans la prophylaxie des maladies infectieuses respiratoires et dans le soin des affections, des voies supérieures aériennes, maladies bronchiques, pulmonaires et broncho-pulmonaires, de l'emphysème et de la toux...(**Fabrocini V., Fabrocini C., 1999**).

Tableau 6: Quelques plantes à huile essentielle et leurs activités biologiques

Propriétés Biologiques Les Plantes	Antiseptique	Antidouleurs, antiantalgiques, ,analgésiques (antipasmodiques, antinévralgiques ,antirhumatismales)	HE stimulantes, toniques et ayant un rôle antidépresseur	HE tropismegastr o-antérique, hépatobilaire et rénale	H E à tropisme cardiocirculato ire et lymphatique	H E à tropisme broncho-pulmonaire et respiratoire analgési ques antipyrétique
ail	X		X	X	X	X
basilic	X	X	X			X
cajeput	X			X		X
canphre	X		X		X	
cannelle de ceylan	X	X		X		
Citron	X	X	X	X	X	X
estragon	X	X	X	X		
eucalyptus	X	X				X
genièvre	X	X	X	X	X	
Gèranium	X	X	X			
girofle de Zanzibar	X	X	X	X		
Hysope	X	X		X		X
Lavande	X	X	X			X
Menthe Poivrée	X	X	X	X		X
Niaouli	X	X				X

pin sylvestre,	X	X	X			X
Remarin	X		X	X	X	X
Santal	X		X	X		
sarriette des montagnes	X					X
Sauge	X	X	X		X	X
Thym	X	X	X			X
ylang -ylang	X		X			
anis vert	X			X	X	
comomille matricaire	X		X	X		X
comomille romaine	X		X	X		X
cumindes prés	X			X	X	
cyprès de Provence	X		X		X	X
marjolaine	X		X	X	X	X
mélisse			X	X	X	X
citronnelle			X	X		
Cumin			X			

Jusmin			X			
orange anère			X	X	X	
Pathouli			X			
fenouil doux				X		
Rose			X	X		

(FabrociniV.FabrociniC.,1999)

Conclusion générale

Les huiles essentielles sont des substances organiques aromatiques liquides qu'on les trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes, des épices, etc. Elles sont très concentrées, volatiles, non huileuses et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur (**Mélanie T., 2011**). La majorité des huiles essentielles sont obtenues par distillation, ou entraînement à la vapeur d'eau sous basse pression, le procédé consiste à faire traverser par la vapeur d'eau une cuve remplie de plantes aromatiques (**Zhiri A. et al., 2005**).

Ainsi, la méthode d'obtention des huiles essentielles intervient de façon déterminante dans le rendement en huile et dans sa composition (**Benjlali B., 2004**). Parmi les différents procédés d'extraction, nous citerons principalement : L'hydrodiffusion, extraction par fluides supercritiques, par micro-ondes, par solvant organique etc...

Le rôle des huiles essentielles n'est pas démontré clairement. En effet, elles sont considérées comme des produits de déchets du métabolisme (**Belaïche P., 1979**). Elles pourraient avoir un rôle pour attirer les insectes et favoriser la pollinisation, ou au contraire pour les repousser, et une action antiseptique contre certains microorganismes Certains auteurs les considèrent comme une ressource énergétique, facilitant certaines réactions chimiques (**Kiram A., 2011**).

Les propriétés antiparasitaires de certaines essences de *Thym*, *Géranium* et *laurier* se manifestent en éloignant certains insectes, vers et moustiques, et dans le traitement des pédiculoses et de la gale. Certaines essences sont dotées de propriétés antitoxiques et antivenimeuses, elles contribuent à neutraliser le venin des guêpes, des abeilles et des araignées (par exemple la *lavande* et le *géranium*) (**Padrini F., Lucheroni M., 1996**).

La plupart des essences (par exemple du *pin*, du *géranium*, du *basilic*, la *sarriette* et du *romarin*) sont stimulantes et tonifiantes au niveau des glandes endocriniennes, entre autres, le cortex surrénal responsable de la capacité de résister au stress (**Kiram A., 2011**). L'action antispasmodique est commune à de nombreuses essences (par exemple la *lavande*, la *marjolaine*, la *verveine* et la *mélisse*). Elle permet de traiter des cas de spasmes viscéraux tels que les coliques, le syndrome du colon irritable, le hoquet ainsi que la tendance aux coliques hépatiques ou rénales (**Benkhechi C., Abdelouahid D., 2010**).

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisque elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Très peu d'études portant sur le mode d'action des huiles essentielles vis-à-vis des microorganismes ont été réalisées. Les huiles essentielles empêchent la multiplication, la sporulation et la synthèse des toxines des bactéries. Elles agissent sur les levures en modifiant la biomasse et la production

Conclusion générale

du pseudo mycélium, sur les moisissures, elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium et la toxicogénèse (**Hulin V. et al. , 1998**).

Les plantes aromatique et leurs huiles essentielles, peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs :

En alimentation: Il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. (ex: Le carvacrol) (**Pauli A., 2001**).

En médecine: L'homéopathie et l'aromathérapie sont des exemples courants d'usage d'HE en médecine douce, et leur popularité s'est accrue d'une façon considérable ces dernières années (**Bakkali F. et al., 2008**).

RESUME

Les huiles essentielles sont des substances volatiles et aromatiques contenues dans les végétaux, elles se trouvent dans les racines, les feuilles, les tiges et les graines.

L'extraction d'huiles essentielles se fait par plusieurs méthodes: hydrodistillation, hydrodiffusion, extraction à froid, extraction par micro-onde, extraction par les solvants, les graisses et extraction par fluides supercritiques. Les huiles volatiles sont des mélanges très complexes, les constituants sont des mélanges terpéniques principalement des monoterpènes et sesquiterpènes, l'analyse de ces composés se fait par chromatographie en phase gazeuse seul, et couplé à la masse

Ainsi ces principes sont utilisables dans presque tous les domaines, de la santé, pharmacie, cosmétologie et industries agroalimentaire. Ces métabolites possèdent des propriétés antiseptiques et antibactériennes au niveau pulmonaire et/ou intestinale et /ou rénal.

Mots clés :

Plante médicinale Huile essentielle, Méthodes d'extraction, analyse chromatographique, Propriété biologique d'huile essentielle.

Références Bibliographiques

- **Abdelouahid D E et bekclasi M.(2010)** .méthode et technique bactériologie. édit 1. office de publications universitaires .p131
- **Académie nationale de pharmacie.(1997)**.Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique éditions Louis Pariente.
- **AFNOR (Association Française de Normalisation). (1996)**. Huiles essentielles, recueil de normes françaises. 5èmeéd., 1, échantillonnage et méthode d'analyse, 2, spécifications. Paris. Cité par Figueredo G. (2007).
- **Agkerman A. Erkey C. Orejuela M. (1996)**. Limiting diffusion coefficients of heavymolecular weight organic contaminants in supercritical carbon dioxide. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 35 (3). pp 911-917. In Jouault S. (2012).
- **Ahmed S.M. and Abdelgaleil S.A.M. (2005)**. Antifungal activity of extracts and sesquiterpene lactones from *Magnolia grandiflora* L. (Magnoliaceae). *Int. J. Agri. Biol.* Vol. 7. 4. pp.638-642.
- **Alais C etLinden G. (1997)**. Abrégéde biochimie alimentaire Editeur . Ed. Dunod. rév. p 248.
- **Alais C. Linden G. et Miclo L.(2008)**. Biochimie alimentaire. DUNOD. 6ème édition, paris. pp 67-71. In Bouguerra A.(2011).
- **Amlan K., Patra J.S. (2010)**. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*. 71 : 1198–1222.
- **Anton R. Lobstein A . (2005)**.Plantes aromatiques. Epices. aromates. condiments et huiles essenttielles ; Tec & Doc . Paris . 522p.
- **Aprotosoai A.C. Spac A.D. Hancianu M. Miron A. Tanasescu V.F. Dorneanu V. and Stanescu U. (2010)**. The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *FARMACIA*. Vol. 58 (1); pp. 46-54.
- **Audigie C. Dupont G. et Zonszaim F. (1995)**. Principe des méthodes d'analyse biochimique. Tome 1, Ed. DUNOD, Paris, 208 p.
- **Bader A. (2011)**. étude ethnobotanique de l'origan et analyse de ces huiles Essentielles. Annaba. Université Badji Mokhtar. P96.
- **Bagamboula C.F., Uyttendaele M. and Debevere J.(2004)**. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology* 21: pp. 33-42.
- **Bajpai V.K. and Kang S.C.(2010)**. Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 87: pp. 327-336.

Références Bibliographiques

- **Bakkali F et al . (2008)**. biological effects of essential oils_Arview Food and Chemical Toxicology;Vol 46.pp446_475. In Mebarki N. (2010).
- **Bakkali F. (2007)**. Biological effects of essential oils – A review. Food. Chem. Toxicol. In El Haib A. (2011).
- **Bakkali F. Averbeck S. Averbeck D. Idaomar M. (2008)**. Biological effects of essential oils. *Food Chemical Toxicology*. 46 : 446–475.
- **Banquour N. (1984)**. Etude de l'effet de thym (decoction) et son huile essentielle sur l'évolution de la flore microbienne et quelques paramètres chimiques du smen au cours de son l'évolution. Thèse de doctorat 3^{ème} cycle en microbiologie, Université Cadi Ayed, faculté des Sciences , Marrakech.
- **Barry N. (2001)**. Art d'extraire les huiles essentielles. De parfum à faire soi même. pp. 125-128. In Belaagoune S. et Himed L. (2007). Etude de l'activité antioxydant d'une huile essentielle de *Schinus molle*. *Mémoire d'Ingéniorat*. INATAA. Université Constantine. 57p.
- **Baser K.H.C. and Buchbauer G.(2010)**. Handbook of essential oils: Science. Technology. and Applications. Ed. *Taylor and Francis Group, LLC*. United States of America. 994p. In Bouguerra A.(2012).
- **Baser K.H.C. and Buchbauer G., (2010)**. Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. *Taylor and Francis Group, LLC*. United States of America. 994p.
- **Baydar H. Sagdic O. Ozkan G. and Karadogan T.(2004)**. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control* 15: pp.169-172.
- **Beirão A.R.B. and Bernardo-Gil M.G. (2006)**. Antioxidants from *Lavandula luisieri*. 2nd *Mercosur Congress on Chemical Engineering*. Portugal. 8p.
- **Bekhechi C. (2010)**. les huiles essentielles.office des publications universitaires.p55.
- **Bekhechi C. (2010)**.les huiles essentielles. office des publications universitaires.p55.
- **Belyagoubi L. (2006)**. Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. *Mémoire de magister*. Université Abou Bekr Belkaid,.Tlemcen. 110p
- **Benayad N(2008)**. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal. Rabat. 63p.

Références Bibliographiques

- **Benayad N. (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal. Rabat. 63p.
- **Benini C. (2007).** Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. *Mémoire d'ingénieur*. Université Gembloux. 109p
- **Benkhechi C. et Abdelouahid D. (2010).** Les huiles essentielles. Ed. Office de publication universitaire. Alger. 56 p.
- **benkhechi C. et Abdelouahid D. (2010).** Les huiles essentielles. Ed. Office de publication universitaire, Alger. 56 p.
- **Benzeggouta N.(2005).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. *Mémoire de magister*. Algérie :Université de Constantine. p 110.
- **Bernadet M. (2000).** Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Ed. Dangles. *In* Benzeggouta N. 2005. Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. *Mémoire de magister*, Université de Constantine. 110p.
- **Besombes C. (2008)** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. *Thèse de doctorat*. Université de La Rochelle. 289p.
- **Bilgrami K.S., Sinha K.K. & Sinha A.K..(1992).** Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* by eugenol, onion, and garlic extracts. *Indian. J. Med. Res.* 96. pp. 171- 175.
- **Blaiche P.(1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie.Tome 1. Ed. Maloine S. A. Paris.915 p.
- **Blois M.S.(1958).** Antioxydant determination by the use of a stable radical. *Nature*, 4617, pp. 1199-1200.
- **Bondet V., Brand-Williams W. and Berset C.(1997).** Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH• free radical method. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, vol. 30 6, pp.609-615.
- **Botter R. Bouchoux G. (1996).** Spectrométrie de masse. Dossier : PE 2615. Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° : P 3.
- **Bouguerra A .(2012).** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire . Thèse magister : Université Mentouri Constantine. 128 p.

Références Bibliographiques

- **Boukhari A., (1999).** SPECTROSCOPIE. Ed. O.P.U., Alger, 160 p.
- **Bounias M. (1983).** Analyse biochimique quantitative par nano chromatographie en couche mince. Ed. MASSON, Paris, 198 p.
- **Braca A., Sortino C., Politi M., Morelli I. and Mendez J.(2002).** Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *Journal of Ethnopharmacology*. 79: pp.379-381.
- **Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie, plantes médicinales. Ed : Tec & Doc. Lavoisier. Paris. 915p.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. *Tec. & Doc.* Lavoisier . Paris.1120p
- **BRUNETON J. (1999).** Pharmacognosie. phytochimie, plantes médicinales. Ed. Technique et documentation. Paris 1120 p.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed.Technique et documentation, Paris, 1120 p.
- **Bruneton J. (2009) .** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.4ème édition. Ed.Lavoisier Tec & Doc. Paris. p1.270 pp. 1243
- **Buchbauer G. (2000).** The detailed analysis of essential oils leads to the understanding of their properties. *Perfumer & Flavorist* 25: pp.64–67.
- **Burits M., and Bucar F.(2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res.* 14 (5): pp. 323-328.
- **Burits M., Asres K. and Bucar F.(2001).** The antioxidant activity of the essential oils of *Artemisia afra*, *Artemisia abyssinica* and *Juniperus procera*. *Phytotherapy Res.* 15: pp.
- **Burt S.(2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology* 94,pp.223-253.
- **Calsamiglia S. Busquet M . Cardozo P.W. Castillejos L. Ferret A.(2007).** Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science.* 90 : 2580–2595.
- **Calsamiglia S. Busquet M. Cardozo P.W. Castillejos L. Ferret A. (2007).** Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science.* 90 : 2580–2595.
- **Caude M. et JARDY A. (1993).** Méthode Chromatographique. Dossier : PE 1445.Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° : P 2.
- **Chami F. (2005).** Evaluation *in vitro* de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires *in vivo* application dans la prophylaxie et le traitement de la *Candidose Vaginale* sur des modèles de rat et de souris

Références Bibliographiques

immunodeprimés. *Thèse de doctorat*, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès. Maroc. 266p.

- **Chowdhury J.U. Mobarok H. Bhuiyan N.I. and Nandi N.C.(2009)**. Constituents of essential oils from leaves and seeds of *Foeniculum vulgare* Mill. Cultivated in Bangladesh. *Bangladesh J. Bot.* 38(2): pp.181-183.
- **Clevenger J F. (1928)**. Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Am. Pharm. Assoc.* 17. 336-341.
- **Constantin E. Traldi P. Favretto D. and Schnell A. (1996)**. Spectrométrie de masse, principes et applications. Ed. Tec et Doc, Paris, 280p.
- **Cox S. D. mann C. M. markham J. L. bell H. C. gustafson J. E. warmington J. R. and wyllie S. G. (2000)**. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88: 170-175.
- **Cox S.D . Mann C.M . Markham J.L. Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R. Wyllie S.G.(2000)**. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology* 88: pp. 170-175.
- **Cuendet M . Hostettmann K. and Potterat O.(1997)**. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helv. Chim. Acta.* 80: pp.1144-1152.
- **Degryse A et Delpla I et Voinier M. (2010)**. risque et bénéfices possible des huiles essentielles . Atelier santé environnement-IGS-EHESP . p 1-94 .
- **Degryse A.C . Delpla I. & Voinier M.A.(2008)**. Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement -IGS- EHESP.* 87p.
- **Degryse A.C. Delpla I. & Voinier M.A. (2008)** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement -IGS- EHESP.* 87p.
- **Delille A.L. (2010)**. les plantes médicinales d'Algérie. 2ème édition .Berti édition.p239.
- **Del-Vechio-Vieira G.Sousa O.V.Yamamoto C.H. and Maria Kaplan A.C.(2009)**. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Ageratum fastigiatum* (Asteraceae). *Rec. Nat. Prod.* 3:1 pp. 52-57.
- **Demaack F. Sablier M. (1994)**. Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Dossier : PE 2614. Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° : P 3.
- **Derwich E. Benziane Z. & Boukir A.(2009)**. Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. *Aust. J. Basic & Appl. Sci.* 3 (4): pp.3818-3824.

Références Bibliographiques

- **Derwich E. Benziane Z. & Boukir A. (2010).** GC/MS Analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. *Res. J. Agric. & Biol. Sci.* 6 (3):pp. 191-198.
- **Desmares C. Laurent A. & Delerme C. (2008).** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. *AFSSAPS*. Anatole. France. 18p.
- **Dorman H.J.D. and Deans S.G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* 88. pp. 308-316.
- **El Haib A. (2011).** Valorisation des terpènes naturels issus de plantes marocaines. Thèse Doctorat. chimie organique et catalyse. Université de Toulouse. p 181.
- **EL Kalamouni C. (2010).** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse doctorat : Agroressources. France . L'université de toulouse. 374p.
- **Encyclopédie des plantes médicinales. (2001).** Identification, préparation, soins, Larousse, 54 p.
- **Fabrocini V et Fabrocini C. (1999).** Comment Se Soigner Avec L'Aromathérapie. Ed. Vecchi S.A. Paris. 97p
- **Festy D.J. (2007).** Ma bible des huiles essentielles. Ed. Le DUC, Paris, 550 p.
- **Figueredo G. (2007)** . Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. thèse de doctorat. chimie organique. université Blaise Pascal. p 194.
- **Garneau F. X. (2001).** Notes du cours *Produits naturels*. Département des Sciences fondamentales. UQAC. Chicoutimi. Québec. 17p.
 - **Garnero J. (1976)** . Quelques problèmes rencontrés au cours de l'obtention, du contrôle et de l'étude de la composition d'une huile essentielle. *Riv. Ital. Ess. Prof., Pl. Off. , Ar. , Sap., Cosm., AEROSOL* ,85, p105-127.
- **Garnéro J. (1991).** Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalization. Ed : Techniques- Encyclopédie des médecines naturelles, Paris p. 2- 20.
- **Greathead H. (2003)** Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of the Nutrition Society.* 62 : 279–290.
- **Guignard J.L. (2000)** Biochimie végétale. 2ème Ed. De l'abrégé Dunod, Paris, pp.177-185.
- **Guilhem J. (2006).** Huiles essentielles A tous majeurs dans le conseil à l'officine .Ed. p9
- **Guiraut J. P. (2003).** Microbiologie alimentaire. Ed. DUNOD. Paris. pp. 110-112.

Références Bibliographiques

- **Hadizadeh I. Peivastegan B. and Hamzehzarghani H.(2009)**. Antifungal activity of essential oils from some medicinal plants of Iran against *Alternaria alternata*. *American Journal of Applied Sciences* 6 (5): pp. 857-861. In Bouguerra A.(2011).
- **Hamon M. Pellerin F. GUERNET M. et MAHUZIER G. (1990)**. Chimie analytique, méthode spectrales et analyse organique. Tome 3, Ed. Masson, Paris, 266 p.
- **Hellal Z. (2011)**.contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites de citrus .application sur la sardine (*Sardina Pilchardus*). Mémoire magister .biochimie appliquée et biotechnologie. Tizi-Ouzou. Université mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.p74.
- **Himed.(2011)**. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Citrus limon* : application à la margarine. *Mémoire de Magister*. Algérie. Université Mentouri Constantine. 91p. In Bouguerra A.(2011).
- **Hubert J.(2006)**. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja – Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines. *Thèse de doctorat*.France. Institut National Polytechnique de Toulouse. 64p.
- **Hulin V. Mathot A. G. Mafart P. et Dufosse L.(1998)**. Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'aromes. *Science des aliments*. 18: 563-582.
- **Inouye S. Tsuruoka T. Watanabe M . Takeo K . Akao M . Nishiyama Y. and Yamaguchi H.(2000)**. *Mycoses*.43. pp.17–26. In Ahmad I. Aqil F. and Owais M.(2006). *Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs*. Ed. *WILEY-VCH* Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim. 405p.
- **Ismâïli Allaoui M. (1983)**. Pouvoir antiseptique de l'huile essentielle de thym sur les micro-organismes du smen. Mémoire de fin d' étude , Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Rabat. In benkhechi C. et Abdelouahid D.(2010).
- **Isman B. (2000)**. Plant essential oils for pest and disease mangement. *Crop Protection* 19.pp 603-608.
- **Jeantet R . Croguennec T. Schuck P. et Brule G.(2006)**. Science des aliments, stabilisation biologique et physico-chimique. volume 1. Ed. *Tec. & Doc*. Lavoisier. pp. 95–151.
- **Kabera J. Justin K N. (2004)**. Caractérisation des huiles essentielles de trois plantes aromatiques *Hyptis Spicigera, Pluchea Ovalis et Laggera Aurita*. DEA. Université de Lome-Togo. p120.
- **Kato T. Lijima H. Ishihara K. Kanek T. Hirai K. Naito Y. Okuda K. (1990)**. Antibacterial effect of listerine on oral bacteria. *Bull. Tokyo. Dent. Coll.* 31(4). 301-307.

Références Bibliographiques

- **Keane S. Ryan. F.M. (1999).** Purification, characterization, and inhibition by monoterpenoids of acetylcholinesterase from the waxmoth, *Galleria mellonella* (L.). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 29.1097–1104.
- **Kechkar M.(2008).** Extraction de la silymarine et étude de son activité antimicrobienne. *Mémoire de magister.* Algérie.Université Mentouri Constantine.99p.
- **Khenaka K. (2011) .** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l’ovin. Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée Université Mentouri Constantine.P17-18-81PP
- **Kiram A. (2011).** Etude phytochimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* (Coss. et Dur.) Benth et Hook de l’Est algérien. Mémoire Magister: biologie . Biskra. Université mohamed kheider biskra. P 62.
- **Kurita N. Koike S. (1982).** Systematic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils components. *Agric. Biol. Chem.*, (13) : 159-165.
- **Lahlou M. (2004).** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research.* p435-448.
- **Lahlou M.(2004).** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* 18 : pp. 435-448.
- **Lawrence B. M. (1995)** Essential oils, Allured publishing corporation, Carol Stream.
- **Loomis W.D. Croteau R. (1980)**Biochemistry of terpenoids. – *in* Stumpf P.K. & Conn E.E. *The biochemistry of plants, vol. 4.* Academic Press.pp. 363-418.
- **Lucchesi M E. Chemat F. Smadja, J. (2004).** Solvent free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. *J. Chromatogr. A*1043, 323-327. Cité par Piochon M. (2008).
- **Lucchesi M.E. (2005).** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l’extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences, discipline: Chimie. Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies.
- **Maffei M et Sacco T. (1987).Vol. 13, N° 5. 61p. In Besombes C. 2008.** Contribution à l’étude des phénomènes d’extraction hydro-thermo-mécanique d’herbes aromatiques. Applications généralisées. *Thèse de doctorat.* Université de La Rochelle, 289p.
- **Mahuzier G. Hamon M. FERRIER D. et Prognon P. (1999).** Chimie analytique, Tome 2, Méthode spectrales et analyse organique., Ed. MASSON, Paris, 312 p.
- **Malecky M. (2007).** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. *Thèse de doctorat,* INRA, UMR 791 Physiologie de la Nutrition et Alimentation. F-75231 Paris. pp. 30-35.

Références Bibliographiques

- **Marie c.(2006)**.assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. *Thèse doctorat*.France.École Polytechnique Fédérale de Lausanne.161p.
- **Maruzzella J. C. (1962)**. The germicidal properties of perfume oils and perfumery chemicals. *Amer. Perfumer Cosmetics* . 67-70. 77p.
- **Marzoukia H. Elaissib A. Khaldic A. Bouzidd S. Falconerie D. Marongiu B. Pirasa A. and Porcedda S. (2009)**. Seasonal and geographical variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Tunisia. *The Open Natural Products Journal*, Vol. 2; pp. 86-91.
- **mayachiew P. & Devahastin S.(2008)**. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology* 41. pp. 1153-1159.
- **Mebarki. N. (2010)**. Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Mémoire magister. Industrie pharmaceutique. boumerdes. Université M'hamed Bougara-Boumerdes. P137.
- **Mejlholm O. & Dalgaard P.(2002)**. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology* 34: pp. 27-31.
- **Mélanie T. (2001)**. Profil des produits forestiers première transformation huiles essentielles .
- **Mengel P. Beh D. Bellido G.M. Monpon B. (1993)**. VHMD: extraction d'huile essentielle par micro-ondes. *Parfums Cosmétiques Arômes* 114, 66-67.Cité par Piochon M . (2008) .
- **Merghem R. (2009)**. Eléments de Biochimie Végétale .Ed.Bahaaeddine constantine.170p
- **Michel E .,(2011)** .Essences et huiles essentielles :Précautions d'emplois et conseils d'utilisation . Ed 24 Rue des Floralles ,1200 Brexalles , Belgique.P3 .
- **Michel E. (2011)**,Essences et Huiles essentielles.précautions d'emplois et conseils d'utilisations .Ed. IBAN. Bruxelles Belgique. p3
- **Mohammad S. Abu-Darwish and Abu-Dieyh Z.H.M. (2009)**. Essential oil content and heavy metals composition of *Thymus vulgaris* cultivated in various climatic regions of Jordan. *Int. J. Agric. Biol.* Vol. 11. N° 1. pp.59-63.
- **Mohammedi Z. (2006)**. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. *Thèse magistère*, Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen 155p.
- **Montes Belmont R . and Convajal M.(1998)**. Control of *Aspergillus flavus* in Maize with plant essential oils and their components. *J. Food Prot.* 61 (5). pp. 616-619.

Références Bibliographiques

- **Mortagne B. (2000)**. Caractéristique des polymères par couplage CG/SM. Dossier : PE 3768. Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier^o : P 5.
- **Nielsen P.V. & Rios R .(2000)**. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food. Microbiol.* 60: pp. 219-229.
- **Olle M. et Bender I. (2010)**. The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. *Agronomy Research* 8 (3). pp.687-696.
- **Ouamba J.M. (1991)**. Valorisation chimique des plantes aromatiques du Congo. Extraction et analyse des huiles essentielles Oximation des aldéhydes naturels. *Mémoire de magister*. Université Montpellier II. 342p.
- **Padrini F. Lurcheroni M.T. (1996)**. Le grand livre des huiles essentielles. Ed. de Vecchi, Paris, 206 p.
- **Padrini F. Lurcheronim.T.(1996)**. Le grand livre des huiles essentielles. Ed. de Vecchi.Paris. 206p.
- **Paul A.(2001)**. Antimicrobial properties of essential oil constituents .International journal of Aromatherapy. 11.120-133.
- **Pavel M. Risti M. and Stevi T. (2009)**. Essential oils of *Thymus pulegioides* and *Thymus glabrescens* from Romania: chemical composition and antimicrobial activity. *J. Serb. Chem. Soc.* 75 (1) pp. 27-34.
- **Perfumer & Flavorist. (2009)**. A preliminary report on the world production of some selected essential oils and countries. Vol. 34. In Baser K.H.C. and Buchbauer G. 2010. Handbook of essential oils: science. Technology. and applications. Ed. *Taylor and Francis Group. LLC*. United States of America. 994p.
- **Pharmacopée Européenne. (2010)**. 7e édition. Strasbourg: Conseil de l'Europe.
- **Piochon M. (2008)**. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique. activités pharmacologiques et hémi-synthèse. *Thèse de doctorat*. Université du Québec, pp. 5-9.994p.
- **Piochon M. (2008)**. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. *Thèse de doctorat*. Université du Québec. pp. 5-9.
- **Piochon M. (2008)**. Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique,activités pharmacologiaues et hémi-synthèse. Mémoire magister. Université du Québec à chiconutimi. canada.Cité par Hellal Z. (2011).

Références Bibliographiques

- **Portes E.(2008).** Synthèse et Etudes de étrahydrocurcuminoïdes. Propriétés photochimiques et antioxydantes. applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle. *Thèse de doctorat.* 3695. Université Bordeaux I.244p.
- **Pourmortazavi S.M. Hajimirsadeghi S.S. (2007).** Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis, *Journal of Chromatography A.*
- **Pourmortazavi S.M. Hajimirsadeghi S.S. (2007).** Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis, *Journal of Chromatography A.*
- **Prats M., (2002).** Biochimie, méthodes biophysiques expérimentales. EditionDUNOD, Paris, 178 p.
- **Rammal A ;Bouchikhi T . ;Rhayour K. ;Ettaybi M.(1993) .** :Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium .j.E.O.R.5.p179-184.
- **Raynaud J. (2006).** Prescription et conseil en aromathérapie.Ed .Tec. et Doc. Lavoisier.96p.
- **Reverchon E. De Marco I. (2006).** Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *Journal of Supercritical Fluids*, 38. p. 146-166.
- **Rhayour K. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*.*Thèse de doctorat.* Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès. Maroc. 170p.
- **Rhayour K. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. *Thèse de doctorat.* Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès. Maroc. 170p.
- **Roulier G. (1992).**" Les huiles essentielles pour votre santé ". Traité pratique d'aromathérapie : propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Edt. Dangles. France.
- **Sablier M. (1997).** Couplage CG/SM/SM. Dossier : P 1487. Base documentaire :Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° : P 2.
- **satrani B. Ghanmi M. Farah A. Aafi A. Fougrach H. Bourkhiss B. Boustta D. Talbi M. (2007).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*.146. pp :85-96.
- **Schwartz R. Davis R. Hilton T.J. (1992).** Effect of temporary cements on the bond strength of resin cement. *Am. J. Dent.* 5 (3): 147-150.
- **Sine J.P. (2003).** Séparation et analyse des biomolécules. Ed. Ellipses. Paris, 254 p.

Références Bibliographiques

- **Smadja J .(2009).**Les Huiles Essentielles laboratoire de chimie des substances naturelles et des sciences des aliments (LCSNSA). Université de la réunion.p50.
- **Smallfield B. (2001).** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop & Food Research. Number 45, 4p.
- **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. *ToxicoS. Appl. Pharmacol.* 168.189-99
- **Sophie C. (2012).** Aromatherapie et problemes digestifs, Guide pratique à utiliser à l'officine. 17 p.
- **Sourai P.G. (1989).** Antimicrobial action of dental materials used in operative dentistry: a review *Odontostomatol. Proodos.* 43 (5) 399-408.
- **Souza E.L. Guerr N.B. Stamford T.L.M. and Lima E.O. (2006).** Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras. Farm.* 87 (1). p 22-25.
- **Souza E.L. Guerr N.B. Stamford T.L.M. and Lima E.O. (2006).** Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras. Farm.* 87 (1).pp. 22-25.
- **Sovoboda K.& Greenaway R.I. (2003) .**Lemon scented plants . *International Journal of Aromotherapy*, 13(1) .23-32.
- **Stahl E. (1975).** Analyse chromatographique et microscopique des drogues, Manuel pratique pour les pharmacopées européennes. Ed. Tec et Doc, Paris, P. 13-36.
- **Stefanini M.B. Ming L.C. Marques M.O.M. Meireles M.A.A. Moura L.S. and Marchese J. A. (2006).** Seed productivity, yield and composition of the essential oil of fennel *Foeniculum vulgare var. dulcis* in the season of the year. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucat.* pp.86-90.
- **Svoboda K.P. (2000).** Secretary structures of Aromatic and medicinal plant. Microscopix Publications. Powys. UK.
- **Telephone T. (2003).** Auteur de l'ABC des huiles essentielles. Ed Grancher.
- **Tranchant J. (1996).** Chromatographie en phase gazeuse. PE 1485. Dossier : PE1485. Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° :P 2.
- **Traoré M. C.(2006).** Étude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali. *Thèse de doctorat.* Mali.Université de Bamako.pp.175p.

Références Bibliographiques

- **Valnet J. (1984).** Aromathérapie –Traitement des maladies par les essences des plantes. Ed. Maloine S.A., n°10.
- **Vargas I. Sanz I. Prima-Yuferá E. (1999).** Antimicrobial and Antioxidant compounds in the nonvolatile fraction of expressed range essential oil. *J. Food Prot.*, 1999, 62(8). 929-932.
- **Vassart S. (2009).** Les huiles Essentielles .Ed. I.P.I, Besançon.92p
- **Viegi L. Pieroni A. Guarrera P.M. Vangelisti R. (2003).** A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *Journal of Ethnopharmacology*. 89 : 221–244.
- **Wallace R.J. (2004).** Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of Nutrition Society*. 63 : 621–629.
- **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: pp. 280-283.
- **Wilkinson J.M.(2006).** Methods for testing the antimicrobial activity of extracts. Chapitre VIII. pp.157-165. In Ahmad I. Aqil F. and Owais M .(2006). *Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into Drugs*. Ed. *WILEY-VCH* Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim. 405p.
- **WILLEM.J.P. (2002).** Le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé Editions LMV.
- **Zhiri A .,Boudoux D .(2005) .** Huiles essentielles chémotypées et leur synergies .Ed Inspir developement. Rue Goethe ,1-1637 Luxembourg .80p.
- **Zhiri A.,(2006).** Les huiles essentielles ,un pouvoir antimicrobien avéré.Ed Fondation pour le libre choix . 15p.

RESUME

Les huiles essentielles sont des substances volatiles et aromatiques contenues dans les végétaux, elles se trouvent dans les racines, les feuilles, les tiges et les graines.

L'extraction d'huiles essentielles se fait par plusieurs méthodes: hydrodistillation, hydrodiffusion, extraction a froid, extraction par micro-onde, extraction par les solvants, les graisses et extraction par fluides supercritiques. Les huiles volatiles sont des mélanges très complexes, les constituants sont des mélanges terpéniques principalement des monoterpènes et sesquiterpenes, l'analyse de ces composés se fait par chromatographie en phase gazeuse seul, et couplé à la masse

Ainsi ces principes sont utilisables dans presque tous les domaines, de la santé, pharmacie, cosmétologie et industries agroalimentaire. Ces métabolites possèdent des propriétés antiseptiques et antibactériennes au niveau pulmonaire et/ou intestinale et /ou rénal.

Mots clés :

Plante médicinale Huile essentielle, Méthodes d'extraction, analyse chromatographique, Propriété biologique d'huile essentielle.

ص

الزيوت الطيارة هي مواد طيارة عطرية متواجدة في أوراق, جذور, سيقان وبذور النباتات. يتم استخراج الزيوت الطيارة بعدة طرق: التقطير بالماء والتقطير بالماء و البخار، الانتشار الـ لاستخلاص بالبارد لاستخلاص بالميكروويف، الاستخلاص بالمذيبات العضوية و الشحوم و الموائع. و هي عبارة عن مركبات معقدة تتكون اساسا من مواد تربينية خاصة المنو تربينات و السيستربينات, يتم تحليل هذه الزيوت عن طريق از الكروماتغرافية الغازية منفرد ثم مرفق بجهاز مطيافية الكتلة.

وتستخدم هذه الزيوت تقريبا مع المجالات. لصحة، الصيدلة، الصناعات التجميلية والمواد الغذائية وذلك بها الهامة كالتطهير فهاته الزيوت العطرية خصائص مطهرة ومضادة للجراثيم و الآلام .

الكلمات المفتاحية :

الاعشاب الطبية, الزيوت الطيارة, ق الاستخلاص, التحليل الكروماتوغرافي, الخصائص البيولوجية للزيوت الطيارة