

الجمهورية الجزائرية الديمقر اطية الشعبية **République Algérienne Démocratique et Populaire** وزارة التعليم العالى و البحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة زيان عاشور - الجلفة

Université Ziane Achour –Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم العلوم الفلاحية و البيطرة

Département des Sciences Agronomiques et Vétérinaires

Projet de Fin D'étude En vue de l'obtention du Diplôme de Master en

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Agro-Alimentaire et Contrôle de Qualité

THEME

Les Huiles Essentielles : Extractions et Activités Biologiques

Présenté par : M^{elle} BELOUADAH Fatiha

M^{elle} KOUZOU Maria

Examiné le :

Par le jury composé de :

Président : Pr. LAHRACH M.B. Professeur Université Ziane Achour Djelfa

Promoteur : Pr. YABRIR Benalia Professeur Université Ziane Achour Djelfa

Examinatrice : Pr .KHAMKAM A . Professeure Université Ziane Achour Djelfa

Examinatrice : Pr.BENMOUEFEKI F. Professeure Université Ziane Achour Djelfa

Année universitaire 2020/2021

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

A ma grande mère.

A mes chers parents que le tout poussant le protégé.

A fatiha BELOUADAH, d'être une collègue excellente!

A mon cher frère et mes chères sœurs.

A toute ma famille.

A tous mes ami(e)s.

A tous ceux qui m'aiment.





Dédicaces

JE DEDIE CE MEMOIRE :

« En particulier à maria Kouzou et son

père" A mon oncle mohamed

A mon frère ahmed

A B. arab . Tu as toujours été présent pour moi.

A mon amie et ma vie DR . HABICHE SALIMA

A mes amies salima ,rachida

A mes amis nadjib, kader

A toute ma famille surtout hadjer et meriem A ma petite sœur imene

A malek, hiba, rajaa, doua, brahim, islam, djaoued, ali, achraf, amine, oussaman et youcef,





Remerciements

Au début, on souhaite adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Nous voudrions remercier tout d'abord notre prometteur Pr. YABRIR Benalia, Université Djelfa, pour sa disponibilité, sa patience, et surtout pour nous avoir suivis et conseillés tout au long de la réalisation de ce mémoire. Merci de la confiance que vous nous avez accordée en nous laissant une impressionnante liberté de travail et décisions.

Un très grand merci pour vous, aussi.

Nous tenons aussi, par cette occasion à remercie tous les membres de jury de ce mémoire et qui ont bien voulu accepter de juger et critiquer positivement ce travail. Un grand merci

Nous remercions également M. KACIMI El Hassani Mohamed, maitre-assistant classe A. Université Djelfa, pour la qualité des renseignements qu'il nous a offert.

Nos sincères gratitudes au Dr. HACHI Mohamed, Vice-doyen chargé de la pédagogie (FNSV, Université Djelfa), pour la qualité de son enseignement, ses conseils et son intérêt incontestable qu'il porte à tous les étudiants.

Nous adressons nos remerciements à Mme BENKHELIF Nour El-houda, chef de service de l'éducation et de l'évaluation (FSNV, Université Djelfa) Pour sa patience, sa générosité, sa gentillesse, sa grande disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion. Un très grand merci pour vous.

Nos vifs remerciements vont également à M. KOUZOU Mustpha Professeur à Hassi-Bahbah qui a compris l'intérêt de cette formation en nous consacrant un peu de son temps précieux afin de mener à bien cette recherche, aussi pour toute l'aide qu'il nous a apporté, et pour ses mots d'encouragements et sa patience. Un très grand merci pour vous.

Nos remerciements s'adressent aussi à Mme KOUZOU Fatiha psychologue clinique à l'hôpital Hassi-Bahbah et Maitre-assistante vacataire (Université de Djelfa) qui a eu l'amabilité de répondre à nos questions et de fournir les explications nécessaires.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères au corps professoral et administratif de la faculté sciences de nature et de la vie Université Djelfa, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

On tient également à remercier le personnel et responsable de la bibliothèque de la FNSV pour son implication dans notre recherche.

Enfin, on tient à exprimer vivement nos remerciements avec une profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à sa réalisation. Trouve ici l'expression de nos très vifs remerciements.

Résumé

L'huile essentielle est une substance concentrée en extraits aromatiques volatils d'une plante et pouvant être extraites sous forme de liquide. Bien qu'on les appelle huiles, ces substances ne contiennent aucun corps gras. Le règne végétal compte plusieurs centaines de milliers d'espèces et 4 000 d'entre elles fabriquent des essences aromatiques; toutefois, seulement quelques centaines le font en quantité suffisante pour qu'on puisse les extraire. L'extraction des huiles essentielles est coûteuse, surtout à cause de la très grande quantité de matière première requise. Il faut compter environ 35 kg de plantes, en moyenne, pour obtenir 1 litre d'huile essentielle, d'où le prix élevé des véritables huiles essentielles.

Les huiles essentielles possèdent des propriétés anti-infectieuses remarquables et s'avèrent efficaces autant dans la prévention que dans le traitement de plusieurs types d'infections, que celles-ci soient d'origine bactérienne, parasitaire, fongique ou virale. La science s'intéresse d'ailleurs depuis longtemps aux propriétés antimicrobiennes des molécules aromatiques, comme l'atteste l'abondance d'études scientifiques qui existent sur le sujet.

Autre intérêt nous explorons les données scientifiques (in vitro) sur l'activité anti oxydante des huiles essentielles. Vous verrez que les études mettent en œuvre des méthodes différentes d'évaluation de cette activité, pas toujours homogènes. Cependant quelques huiles essentielles et/ou leurs composants majeurs se détachent et présentent un potentiel intéressant sur le plan thérapeutique et alimentaire.

Quoiqu'il en soit, L'utilisation des plantes est une ressource considérable qui est aujourd'hui en plein essor.

Cependant, trop négligée ou employée sans connaissances, cette ressource thérapeutique extraordinaire peut vite se transformer en arme toxique. En effet, les huiles essentielles sont délicates à utiliser, et ce pour plusieurs

Enfin, pour profiter pleinement de leur vertus, il est recommandé d'utiliser exclusivement des huiles essentielles chémotypées (CT), 100% pures et naturelles, botaniquement et biochimiquement définies (H.E.B.B.D.).

Huile essentielle, composition chimique, extraction, activité antifongique et antibactérienne, , pouvoir anti-oxydant

الملخص:

الزيت العطري هو عبارة عن مادة مركزة في المستخلصات العطرية المتطايرة عند النبات يمكن استخراجه كسائل. على الرغم من أنها تسمى زيوتًا ، إلا أن هذه المواد لا تحتوي على أي مواد دهنية.

في مملكة النبات لديها آلاف الأنواع، 4000 منها تنتج مستخلصات عطرية. ومع ذلك، فإن القليل فقط يفعل ذلك بكميات كبيرة ليتم

استخراج الزيوت العطرية مكلف، ويرجع ذلك أساسًا إلى الكمية الكبيرة جدًا من المواد الخام المطلوبة. يتطلب الأمر حوالي 35 كغ من النباتات في المتوسط للحصول على لتر واحد من الزيت العطري وبالتالي ارتفاع سعر الزيوت الأساسية الحقيقية.

تتمتع الزيوت الأساسية بخصائص رائعة مضادة للعدوى وهي فعالة في الوقاية والعلاّج من عدة أنواع من العدوى سواء كانت من أصلُّ بكتيري أو طفيلي أو فطري أو فيروسي. لطالما اهتم العلم بالخصائص المضادة للميكروبات للجزيئات العطرية ، كما يتضح من كثرة الدر اسات العلمية الموجودة حول هذا الموضوع.

اهتمام آخر يكشف البيانات العلمية (في المختبر) عن نشاط مضادات الأكسدة للزيوت الأساسية. يمكنك أن ترى أن الدراسات تستخدم طرقًا مختلفة لتقييم هذا النشاط والتي لا تكون دائمًا متجانسة. ومع ذلك ، فإن بعض الزيوت الأساسية و / أو مكوناتها الرئيسية تبرز ولها إمكانات مثيرة للاهتمام على المستوى العلاجي والغذائي. إن استخدام النباتات مورد كبير يزدهر اليوم. ومع ذلك يمكن لهذا المورد العلاجي الاستثنائي أن يتحول بسرعة إلى سلاح سام، إذا تم

إهماله أو استخدامه دون معرفة. في الواقع ، يصعب استخدام الزيوت الأساسية ، لعدة أسباب ...

)، نقية وطبيعية H.E.B.B.D). في الأخير للاستفادة الكاملة من مزاياها يوصى باستخدام زيوت أساسية من النوع الكيميائي حصرا. (CT)بنسبة 100٪ محددة نباتيًا وكيميائيًا (

الكلمات المفتاحية: زيت عطرى ، تركيب كيميائي ، استخلاص ، نشاط مضاد للفطريات والبكتيريا ، نشاط مضاد للأكسدة

Abstract

Essential oil is a substance concentrated in volatile aromatic extracts from a plant that can be extracted as a liquid. Although they are called oils, these substances do not contain any fatty substances.

The plant kingdom has several hundred thousand species and 4000 of them produce aromatic essences; however, only a few hundred do so in sufficient quantity to be extracted.

Extracting essential oils is expensive, mainly because of the very large amount of raw material required. It takes about 35 kg of plants, on average, to obtain 1 liter of essential oil, hence the high price of real essential oils.

Essential oils have remarkable anti-infectious properties and are effective both in the prevention and in the treatment of several types of infections, whether they are of bacterial, parasitic, fungal or viral origin. Science has long been interested in the antimicrobial properties of aromatic molecules, as evidenced by the abundance of scientific studies that exist on the subject.

Another interest we are exploring scientific data (in vitro) on the antioxidant activity of essential oils. You will see that the studies use different methods of evaluating this activity, which are not always homogeneous. However, some essential oils and / or their major components stand out and present an interesting potential on the therapeutic and food level.

Regardless, the use of plants is a huge resource that is booming today.

However, too neglected or used without knowledge, this extraordinary therapeutic resource can quickly turn into a toxic weapon. Indeed, essential oils are difficult to use, for several reasons...

Finally, to take full advantage of their virtues, it is recommended to use exclusively chemotyped essential oils (CT), 100% pure and natural, botanically and biochemically defined (H.E.B.B.D.).

Keywords: Essential oil, chemical composition, extraction, antifungal and antibacterial activity, antioxidant activity.

Table des matières

Dédicaces	
Remerciements	
Résumé	
Table des matières	I
Liste des abréviations	II
Liste des figures	III
Liste des tableaux	IV
Introduction	01
Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles	
1. Définition	03
2. Propriétés physico- chimiques.	03
3. Composition chimique des HE05	5
3.1. Les terpènes.	05
3.2. Les composées aromatiques.	14
3.3. Les composés d'origines diverses	14
3.4. Chymotype des huiles essentielles	15
4. Répartition et localisation de l'huile essentielle	16
5. Caractéristiques des huiles essentielles	20
6. Variabilité	20
6.1. Facteurs intrinsèques.	20
6.2. Facteurs extrinsèques	21
Chapitre II : Procédés d'extractions des huiles essentielles	
1. Généralités sur les méthodes d'obtention des huiles essentielles	23
2. Distillation.	23
2.1. L'hydrodistillation.	24
2.2. La distillation par entrainement à la vapeur	26
2.3. Extraction par percolation ou hydro diffusion.	27
2.4. Distillation sèche.	27
3. Extraction par pression à froid ou expression.	29
4. Autres méthodes d'extraction des huiles essentielles	30
4.1. Extraction par solvants volatils organiques	30
4.2. Extraction au CO ₂ super critique	32

4.3. Extraction par enfleurage.	35
4.4. Extraction par macération.	36
4.5. Extraction assistée par Micro-ondes	37
4.6. Extraction Assistée par Ultrasons	44
5. Comparatif des procédés d'extraction	48
Chapitre III : Activités biologiques des huiles essentielles	
1. Activités antimicrobiennes	49
1.1. Activités antibactériennes	50
1.2. Activités antifongiques.	57
1.3. Activités antivirales.	57
1.4. Activités antiparasitaires	61
1.5. Activités anti-inflammatoires.	62
1.6. Activités antalgiques et antispasmodiques	63
1.7. Activités Calmantes et relaxantes	63
1.8. Indications thérapeutiques de quelques huiles essentielles	64
2. Activités antioxydantes des huiles essentielles	65
2.1. Qu'est ce qu'un anti oxydant ?	66
2.2. Huiles essentielles anti oxydantes	67
2.3. Evaluation de l'activité anti oxydantes des HE	68
Conclusion et perspectives	73
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

AAPH : Dichlorhydrate de 2,2'-azobis (2-méthylpropionamidine

CI50 : concentration inhibitrice de 50 %

ABTS : 2, 2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate)

AFNOR : Association Française de Normalisation

AH : acide hyaluronique
ARN : acide ribonucléique
°C : Le degré Celsius

CE50 : Concentration efficace médiane CI50 : Concentration inhibitrice médiane

Cm : Centimètre

CO2 : Dioxyde de carbone

Coll : Collection

COV : Composés organiques volatilsC.P.G : Chromatographie en Phase Gazeuse

CT : Chémotype DO : Densité optique

Dr : Docteur

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAMO : Entraînement à l'air assisté par micro-ondes **EC50** : Half maximal effective concentration CE50

Env : Environ

ESMO : Extraction par Solvant assistée par Micro-Ondes **ESSAM** : Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes

F : Fréquence Fl : Fluorescence

FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur ferrique

GHz : Gigahertz

G/L : Gramme par litre

H : Heure

H.E : Huile essentielle

H.E.C.T: Huiles essentielles chemotypées

HD : HydroDistillation

HDMO : Hydro distillation assistée par micro-ondes
 HPLC : Chromatographie liquide haute performance
 IDCO : Innovation and development company
 IFS : Innovation fluides super critiques

K : Potassium
Kg : Kilogramme
KHz : Kilohertz
M : Masse

MAE : Microwave Assisted Extraction

TM

MAP

: Microwave Assisted Process

MBCMinimum bactericidal concentrationMEB: Microscope Electronique à Balayage

MHz : Million de hertz

ML : Millilitre

MIC : Minimum Inhibitory Concentration

Mm : Millimètre Mol/L : Mole par litre

N : Azote nm : nanomètre

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

P : Phosphore

PH : Potentiel hydrogène Ppm : Parties par million

REACH: Registration, Evaluation, Authorization and restriction of CHemicals

SNA : Système nerveux autonome SNC : Système nerveux central

Teac : Capacité antioxydante en équivalent Trolox

Trolox : L'acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique

TTC : Triphényl Tétrazolium Chloride UAE : Ultrasound-Assisted Extraction

UV : Ultra violet

UV-vis : Ultra violet visible

VHS1 : Virus Herpes simplex de type 1 VHS2 : Virus Herpes simplex de type 2

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine VMHD : Vacuum Microwave HydroDistillation

XIXème : 19e siècle μL : Microlitre

Liste des figures

Figure 1	: Une unité d'isoprène			
Figure 2	: Structure chimique des quelques monoterpènes00			
Figure 3	: Structure chimique des principaux phénols			
Figure 4	: Structure du 1,8-cinéole			
Figure 5	: Structure de l'atlantolactone			
Figure 6	: Structure générale des phtalides	10		
Figure 7	: Structure générale des coumarines	11		
Figure 8	: Structure générale d'un sesquiterpène	12		
Figure 9	: Structure du β-caryophyllène	12		
Figure 10	: Structure du germacrène D.	12		
Figure 11	: Structure du chamazulène	13		
Figure 12	: Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes	18		
Figure 13	: Poches schizogènes d'une feuille d'eucalyptus citronné vues en			
	Microscopie électronique à balayage (image colorisée x 204)	. 18		
Figure 14	: Cellule sécrétrice d'huile essentielle dans un rhizome de gingembre			
	(Zingiber officinale Roscoe) au microscope électronique à balayage	19		
Figure 15	: Poils sécréteurs présents sur la face inferieure d'une feuille de tomate			
	(Solanum lycopersicum L) au microscope électronique à balayage (image			
co	lorisée,x 813)	19		
Figure 16	: Montage d'Hydrodistillation	25		
Figure 17	7 : Hydrodistillation			
Figure 18	: Mécanisme de la distillation par entrainement à la vapeur d'eau			
Figure 19	: Schéma d'extraction par Hydrodiffusion			
Figure 20	: Schéma d'une installation de distillation sèche			
Figure 21	: Schéma de l'extraction par expression à froid.	30		
Figure 22	: Photos à gauche d'une pélatrice et à droite d'une centrifugeuse séparatrice			
	de l'essence de Citru	s 30		
Figure 23	: Extraction par solvant volatil	31		
Figure 24	: Schéma simplifié d'un extracteur au CO2 supercritique	33		
Figure 25	: Courbe d'équilibre liquide-gaz du CO2			
Figure 25	: Procédé d'extraction au CO ₂ Super critique			
Figure 26	: Extraction par enfleurage des pétales	35		

Figure 27	: Extraction par enfleurage	36	
Figure 28	: Extraction par macération	37	
Figure 29	: Transferts thermiques sous chauffage conventionnel et micro-onde		
Figure 30	: Extraction par solvant assistée par micro-ondes (ESMO)	41	
Figure 31	: Entraînement à l'air assisté par micro-ondes (EAMO)	42	
Figure 32	: Hydro Distillation assisté par micro-ondes sous pression réduite (VMHD).	43	
Figure 33	: Hydro distillation assistée par micro-ondes (HDMO)	43	
Figure 34	: Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM)	45	
Figure 35	: Extraction aux ultrasons –bac ou onde	46	
Figure 36	: Schéma démonstratif de la Cavitation Itrasonores	47	
Figure 37	: Différentes formes de bactéries	50	
Figure 38	: Mécanisme d'action de l'huile essentielle sur la bactérie	51	
Figure 39	: Halo d'inhibition de croissance bactérienne sur gélose	52	
Figure 40	: les tâches blanches correspondent au halo d'inhibition	52	
Figure 41	: Méthode par micro atmosphère	53	
Figure 42	: Méthode de diffusion en puits	54	
Figure 43	: Dilution en milieu liquide CMI et CMB	55	
Figure 44	: Protocole de la détermination de la concentration (CMI et CMB)	56	
Figure 45	: Corona virus	58	
Figure 46	: Virus de la grippe	58	
Figure 47	: Exemple d'action de certaines huiles essentielles sur les virus	59	
Figure 48	: Action de quelques composés aromatiques sur les différents stades de		
	l'infection par HSV	60	
Figure 49	: Schéma représentatif du Stress oxydatif	66	
Figure 50	: Mécanisme de la réaction d'oxydation	66	
Figure 51	: Action antioxydante des huiles essentielles	67	
Figure 52	: Mécanisme d'inhibition du radical DPPH°	68	
Figure 53	: Détermination de la concentration en antioxydant	71	

Liste des tableaux

Tableau 1	: Les principales huiles essentielles contenant des Monoterpénols07		
Tableau 2	: Les principales huiles essentielles contenant des phénols	80	
Tableau 3	: Les principales huiles essentielles contenant des Sesquiterpénols		
Tableau 4	: Les différentes types de molécules présentes dans une huile essentielle 15		
Tableau 5	: Comparaison des différents modes d'extraction : caractéristiques,		
	avantages et inconvénients	48	
Tableau 6	: Caractérisation de l'efficacité d'une HE	56	
Tableau 7	: Quelques grandes HE anti-infectieuses	64	
Tableau 8	: Tableau récapitulatif de l'activité antibactérienne des huiles essentielles	65	

Introduction

Reconnues pour leurs puissantes propriétés thérapeutiques et utilisées depuis des millénaires, les plantes médicinales et aromatiques possèdent une action unique dans la nature. Par le procédé de la distillation à la vapeur d'eau, ainsi que d'autres techniques extractives innovantes, les plantes aromatiques peuvent être valorisées sous forme d'huiles essentielles qui trouvent aujourd'hui une place importante en phytothérapie et aromathérapie.

L'huile essentielle est l'extrait végétal le plus puissant. C'est l'essence même de la plante. Aussi quelques gouttes suffisent pour un résultat pratiquement instantané. Les huiles essentielles, quant à elles, séduisent depuis toujours par leurs parfums et leurs vertus bienfaisantes.

Tout d'abord, il faut faire la différence entre l'absolu et l'huile essentielle. Cette dernière est le « produit obtenu par distillation à la vapeur d'eau de végétaux frais ou secs ». Tandis que l'absolu est le « produit obtenu après une extraction à froid des parties solubles d'une concrète (produit obtenu après extraction au moyen d'un solvant volatil des végétaux frais : fleurs, feuilles, lichen etc.) ». Ensuite, maitriser les méthodes d'extraction des huiles essentielles, de celles qui sont considérées comme méthodes conventionnelles aux méthodes dites modernes ou innovatrices et enfin, connaître et savoir étudier et explorer les propriétés biologiques des huiles essentielles en vue d'une utilisation ultérieure en agroalimentaire et/ou autres domaines, entre autre, phytothérapie, cosmétologie, chimie, ...

Dans ce contexte et pour une meilleure compréhension du sujet, s'inscrit le présent travail (synthèse bibliographique) et dont les objectifs principaux sont :

- de cerner et d'éclairer tous les aspects liés à la production des huiles essentielles par la plante, leurs rôles au sein de la plante et d'élucider les facteurs de variabilité de leurs compositions et de décortiquer leurs effets sur la santé et leurs possibles utilisations ultérieures;
- o de connaître comment recueillir les principes actifs des plantes par un processus complexe d'extraction pour en récupérer la forme liquide et concentrée que l'on connaît et qu'on appelle « huile essentielle », et de maitriser les méthodes d'extraction les plus largement utilisées et les mieux adaptées pour obtenir des huiles essentielles les plus pures possibles ;

o de savoir étudier les propriétés biologiques des huiles essentielles et d'évaluer leurs activités biologiques, entre autre, antimicrobiennes et antioxydantes.

Pour se faire, notre travail s'articule sur une étude générale des HE via une recherche bibliographique repartie en trois chapitres comme suit :

- Le premier chapitre est consacré à des généralités sur les huiles essentielles, de leur définition, leurs propriétés physico -chimiques à leurs modes d'extraction en passant par leurs compositions ; tout en mettant l'accent sur les critères de variabilités et la nomenclature des HE, qui sont des paramètres indispensables pour connaître l'utilité thérapeutique et la qualité des huiles essentielles.
- Le deuxième chapitre décrit les différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles, de celles les plus classiques à celles dites innovantes, utilisées selon la partie du végétal traitée, selon la fragilité de la plante utilisée et selon ses caractéristiques botaniques.
- Quant au troisième chapitre 3, il est consacré aux activités biologiques des huiles essentielles extraites des plantes. Il décrit les techniques d'évaluation de l'activité antimicrobienne et son mécanisme d'action ainsi que le pouvoir antioxydant des dites huiles.

A cela s'ajoute une introduction qui vient entamer notre recherche et une conclusion qui l'achève et dans laquelle sont résumées les principales perspectives envisagées.



CHAPITRE I

GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES









Chapitre I:

Généralités sur les huiles essentielles

1.Définition

L'huile essentielle (HE), connue aussi, sous le nom d'essence végétale(du latin Essentia: nature d'une chose), est définie comme étant une substance volatile et odoriférante produite par certains végétaux et pouvant être extraite sous forme de liquide obtenu par extraction mécanique, entraînement à la vapeur d'eau ou distillation à sec.

Elle est secrétée par des cellules spécialisées se trouvant aussi bien dans **les feuilles** (menthe poivré, basilic grand vert, arbre à thé), **les fleurs** (lavande, menthe, romarin, sauge, sarriette, thym, rose...), **le bois** (cèdre Atlas, santal blanc), **les racines** (gingembre, valériane, vétiver), **les graines** (coriandre, anis vert, carotte) et les **rhizomes** (gingembre, curcuma...).

Le terme « **Essence** » définit les parfums exhalés et présents dans certaines plantes. Il s'agit d'une substance aromatique naturelle que secrète la plante dans ses organes producteurs. Ce terme ne peut être employé que pour certaines plantes comme celles contenant des citrals (orange, citron, mandarine...) avec des principes trop lourds pour être entraînés par la vapeur d'eau utilisée pour la distillation des huiles essentielles. L'huile essentielle est donc une « **essence distillée** » (Fernandez et al., 2012).

Selon, l'Association Française de Normalisation, AFNOR (NT**75-006**, février 2006), l'huile essentielle désigne « un Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (Jean, 2018).

2. Propriétés physico-chimiques des HE

Les huiles essentielles possèdent des propriétés physiques communes qui peuvent varier en fonction de leur composition chimique.

O A température ambiante, les huiles essentielles sont liquides, sauf la **Myrrhe** et le **Santal** qui peuvent être visqueuses et la **Rose**, le **Camphrier** qui peuvent être cristallisées à plus faible température (10°C), sans aucune altération chimique et indiquent une très bonne qualité de produit (Couic-Marinier, 2015).

- Elles sont volatiles, ce qui explique leur caractère odorant et permet leur entraînement
 à la vapeur d'eau. Ce caractère les différencie aussi des huiles grasses dites « fixes »
 (huile de noisette, huile d'avocat, huile d'olive, etc.) (Djazer, 2014).
- Elles sont en général solubles dans les solvants organiques courants et dans les matières grasses. Leur solubilité dans l'eau est quasiment nulle (Vangelder, 2018).
- Les Huiles Essentielles sont plus légères que l'eau (densité < 1) et non miscibles, très peu solubles, pour la plupart insolubles dans l'eau. Cependant certaines ont une densité supérieure à celle de l'eau telle que l'huile essentielle de girofle, de cannelle, de carotte, de Sassafras (Kang, 2011).</p>
- Elles sont actives sur la lumière polarisée et ont un indice de réfraction très élevé. Le pouvoir rotatoire et l'indice de réfraction sont deux constantes physiques caractéristiques de chaque huile essentielle (Baudoux, 2017).
- La plupart des huiles essentielles ont une couleur jaune presque imperceptible. Elles foncent au cours de leurs vieillissements « oxydation ». Dans certains cas extrêmes les huiles essentielles vieillies et oxydées présentent un risque toxique important.
- Elles sont altérables, sensibles à l'oxydation, mais ne rancissent pas. Elles ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux. Ce qui conduit à la modification de leur odeur, leur point d'ébullition augmente. Elles sont de conservation limitée (Yabrir, 2018).
- Leur conservation doit se faire à l'abri de la lumière (flacons en verre fumé) et de l'humidité (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).
- Pour d'autres, Elles peuvent être colorées, ce qui leur permet en plus de leurs propriétés déjà évoquées de transmettre de l'énergie électromagnétique par émission de photons suivant leur couleur des UV en passant par les couleurs :
 - ❖ Bleu (Cannelle, Patchouli, Camomille matricaire)
 - **❖** Bleu foncé (Tanaisie)
 - Rougeâtre (Cannelle, une variété de Thym)
 - Rouge sang (certaines Sarriettes)
 - Orange (Sarriette des montagnes)
 - * Rose (Gaulthérie odorante)
 - Vert émeraude (Inule odorante)

- Vert pâle (Bergamote, Absinthe)
- ❖ Jaune pâle (Sauge sclarée, Romarin officinal) (Couic-Marinier, 2015)

3. Composition chimique des HE

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe et soumise à de très nombreuses variables. La connaissance de ces constituants est fondamentale, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle.

Une huile essentielle renferme majoritairement **des terpènes** volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques, et des **dérivés aromatiques**, dérivés du phénylpropane (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

3.1. Les terpènes

Les terpènes sont les molécules les plus répandues dans les huiles essentielles, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères (Stojetz ,2016). Les terpènes peuvent être considérés comme des dérivés de l'isoprène **C5H7** (Figure 1), constituant une famille très diversifiée tant au niveau structural que fonctionnel.

On distingue deux types majeurs de terpènes, les monoterpènes (C10H16) et les sesquiterpènes (C15H24).

Chacun de ces groupes contient lui-même des produits dérivés soit purs, soit produits d'oxydation. Les terpènes et leurs dérivés représentent plus de 90% des composants biochimiques des HE avec une majorité de monoterpènes.

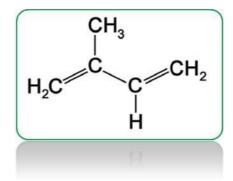


Figure 1 : Une unité d'isoprène

3.1.1. Les Monoterpènes

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est C10H16 (Jouault, 2012). Les Huiles Essentielles qui contiennent le plus de Monoterpènes sont sans aucun doute, les essences tirées de l'expression des zestes d'agrumes et les HE provenant de la distillation des feuilles de conifères.

Parmi Les Monoterpènes, les plus connus, on retrouve le limonène, caractéristique des essences de zeste de Citrus ainsi que les pinènes, alpha et bétapinènes présents dans les HE des conifères. Les autres : camphène, carvène, p-cymène, ocimène, santène, terpinolène, carène, cubebène, myrcène, phellandrène, sabinène, terpinène, thujène, sont présents mais moins souvent et souvent en quantité moindre.

La figure 2 représente la structure chimique de quelques monoterpènes alors que le tableau 1 regroupe les principales HE renfermant de monoterpénols.

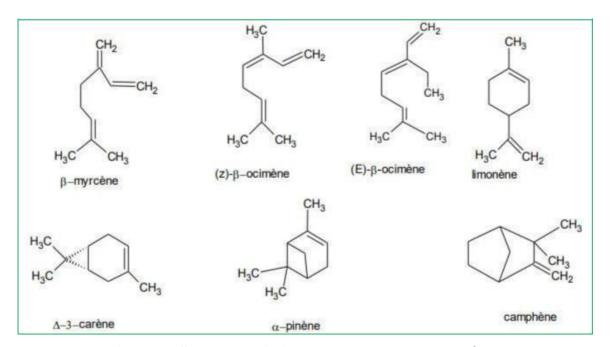


Figure 2 : Structure chimique des quelques monoterpènes

Tableau 1 : Les principales huiles essentielles contenant des Monoterpénols

Bois de Hô	98% Linalol
Bois de rose	95% Linalol
Monarde fistuleuse	90% Géraniol
Palmarosa	80 à 95% de Monoterpénols dont 70 à 80% de Géraniol
Thym à linalol	70% de Monoterpénols, principalement (au moins 60%)
	Linalol
Rose de Damas	70% de Monoterpénols dont 50% citronnellol, 10% Géraniol,
	et Nérol, Linalol
Menthe des champs :	70 à 80% de Monoterpénols, principalement du Menthol
Menthe poivrée	50% de Monoterpénols, principalement du Menthol
Thym à géraniol	35 à 55% Géraniol
Thym à thujanol	50% de Monoterpénols, principalement du Trans-thujanol
Géranium rosat	50% de Monoterpénols, principalement du Citronnellol
Thym satureoïdes	30 à 50% de Monoterpénols, principalement du Bornéol
Tea tree	45% de Monoterpénols, principalement 4-terpinéol
Lavandin super, Lavande vraie	40% de Monoterpénols, principalement du Linalol
Marjolaine à coquilles	45% de Monoterpénols, principalement Terpinéol-4
	

Source: (Bosson, 2020)

Ce groupe des monoterpènes comprend : les phénols, les alcools, les esters, les étheroxydes, les cétones, les aldéhydes, les acides et les carbures.

Les phénols: Les phénols sont des composés chimiques aromatiques, portant une fonction hydroxyle -OH. Les dérivés portant plusieurs fonctions hydroxyle sont appelés des polyphénols. (Bosson, 2020). Les molécules les plus importantes sont le Thymol, le Carvacrolet l'Eugénol (Figure 3). Les principales huiles essentielles contenant des phénols sont indiquées dans le tableau 2.

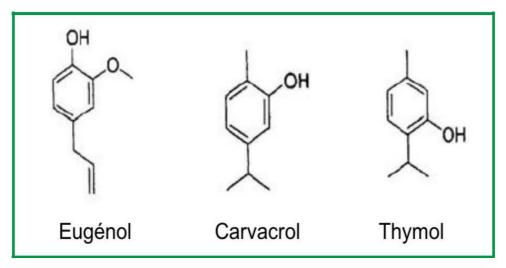


Figure 3 : Structure chimique des principaux phénols

Tableau 2 : Les principales huiles essentielles contenant des phénols

Giroflier, clou de girofle	80% Eugénol
Cannelle de Ceylan, feuilles	70% Eugénol
Bay Saint Thomas	65% dont 55% Eugénol
Ajowan	50% dont 40 à 45% Thymol et environ 5% Carvacrol
Origan compact	45% Carvacrol, 15%Thymol
Thym à thymol	42% Thymol, 2% Carvacrol
Sarriette des Montagnes	40% dont 30% Carvacrol, le reste, Thymol, Eugénol
Bois de Gaïac :	30% Gaïacol

Source: (Bosson, 2020)

Les alcools font partie des dérivés terpéniques fonctionnalisés. Ils ont un suffixe en « - ol » ce qui indique la présence d'un groupement hydroxyle sur l'un des carbones de la structure terpénique. Ils peuvent être acycliques, monocycliques oubicycliques et tricycliques (Laurent, 2017).

Les alcools sont divisés en 3 sous-familles : les monoterpénols, les sesquiterpénols et les diterpénols.

Les alcools monoterpéniques : Le plus célèbre étant le menthol que l'on retrouve dans les menthes et principalement la menthe des champs. Quelques autres : le géraniol, le linalol, le célèbre thujanol du thym ou encore le composant principal du tea tree : le terpinène 4-ol.

- Les alcools sesquiterpéniques et diterpéniques: Les plus connus sont le bisabolol (matricaire et angélique), le cédrol (cèdre de l'Atlas, genévrier commun), le farnésol (néroli, ylang-ylang) et le viridiflorol (niaouli, tea tree, cajeput).
- ☐ <u>Les oxydes</u>: Le roi des oxydes est le 1,8 cinéole (Figure 4) que l'on retrouve dans différents Eucalyptus par exemple. Les esters Acétate de géranyle ou encore acétate de linalyle; on va les retrouver dans les lavandes.

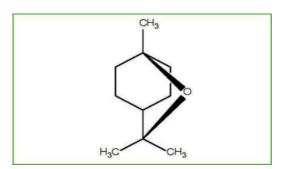


Figure 4. Structure du 1,8-cinéole.

- Les éthers: Comme le méthylchavicol du basilic exotique et le méthyleugénol du fenouil et du piment de Jamaique. Ils doivent être pris en petite quantité et sur de courtes périodes.
- <u>Les cétones</u>: On les reconnaît par leur terminaison en **one** (comme cét**one**). Les cétones sont des composés très actifs. Ils possèdent des vertus intéressantes mais doivent être utilisés avec la plus grande attention. Les plus célèbres sont le camphre (appelé aussi bornéone) et le verbenone (deux chémotypes du romarin).
- Les aldéhydes: Tout d'abord les aldéhydes monoterpéniques. On les reconnaît par leur terminaison en al (comme aldéhyde) Les plus connus sont le citral, le citronnellal et le géranial. Ils sont présents dans les huiles essentielles dites citronnées, telle l'eucalyptus citronné, la citronnelle ...

L'autre catégorie est celle des aldéhydes aromatiques. Les plus connus sont le cinnamaldéhyde et le cuminaldéhyde. On les retrouve dans les huiles essentielles de cumin, et dans les cannelles (Eric, 2021).

matricaire...

Passons en revue des dernières familles moléculaires. On les trouve principalement à l'état de trace dans certaines huiles essentielles, d'où leur importance moindre, mais certaines non négligeables pour autant. Lactones, Phtalides, Coumarines, Acides et Composés azotés et soufrés.

<u>Les lactones</u>: Les lactones sont formées par couplage d'un oxyde et d'une cétone. Ils se trouvent le plus souvent à l'état de traces dans les HE. Dans la plupart des cas, les lactones sont dégradées au cours du procédé d'hydrodistillation. Les principales molécules sont l'atlantolactone (Figure 5), massoïa lactone, artémisine, parthenolide...

On en trouve dans les huiles essentielles d'Inule odorante, Camomille romaine, Massoïa, Laurier noble, Ciste Ladanifère, Achillée millefeuille, Camomille

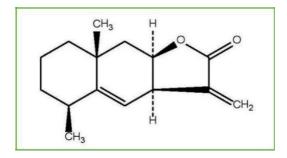


Figure 5 : Structure de l'atlantolactone.

<u>Les phtalides</u>: Les phtalides (Figure 6) sont des lactones à quatre atomes de carbone accolés à un groupement phényl du côté de la fonction acide. Le groupement phényl est non substitué. Les molécules principales sont : ligustilide, sédanolide, butylphtalide...

On en trouve dans les huiles essentielles de Céleri, Livèche...

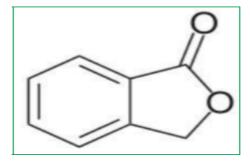


Figure 6 : Structure générale des phtalides

<u>Les coumarines</u>: Les coumarines (Figure 7) sont une famille de lactones (ou esters cycliques). Elles sont obtenues par cyclisation de dérivés de l'acide cinnamique. Il s'agit en fait d'une estérification entre une fonction alcool d'un groupement phénol et d'une fonction acide. Elles sont très souvent présentes dans les essences notamment de citrus. Elles sont libérées en fin de distillation, toujours en très faible concentration mais avec une activité puissante.

On les trouve dans les huiles essentielles d'agrumes (Bergamote, Citron, Pamplemousse, Mandarine, Orange...), mais aussi chez les ombellifères (Angélique, Khella, Aneth, Persil, Céleri, Fenouil, Carotte sauvage...), dans la Verveine citronnée, l'écorce de Cannelle de Ceylan....

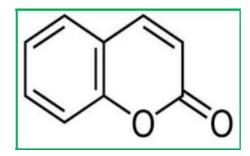


Figure 7: Structure générale des coumarines

Les Acides: Ils sont rares et à l'état de trace dans certaines huiles essentielles. Les principaux acides sont acide salicylique, benzoïque, cinnamique...

On en trouve dans les huiles essentielles de Laurier Noble, Bois de Santal, Nard de l'Himalaya, Genévrier commun, copaïba...et indirectement la gaulthérie couchée et odorante.

3.1.2. Les Sesquiterpènes

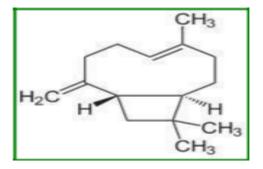
Composés de trois unités d'isoprènes, et donc ils contiennent 15 carbones(C₁₅H₂₄) (Figure 8). Ils présentent également un suffixe en « -ène ». Ils ont les mêmes caractéristiques (propriétés odorantes) que les monoterpènes et présents en plus faibles proportions que les monoterpènes dans les HE. Un sesquiterpène se divise en plusieurs catégories structurelles, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques (Mpiana,2021)

Figure 8: Structure générale d'un sesquiterpène

Ils se trouvent aussi sous forme d'hydrocarbures, ou d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (Merghnem et sadi,2016).

Exemples:

<u>Le β-caryophyllène</u> (Figure 9) : présent dans toutes les Lamiaceae



Figuré 9: Structure du β-caryophyllène

Le germacrène D (Figure 10) :de *Juniperus communis* (genévrier o.p. Baies) et de *Cananga odorata* (ylang-ylang)

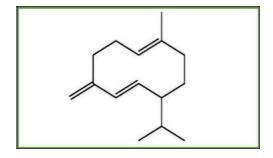


Figure 10 : Structure du germacrène D

Le chamazulène (Figure 11) : de *Matricaria recutita* (camomille allemande) ou *Tanacetum anuum* (tanaisie annuelle)

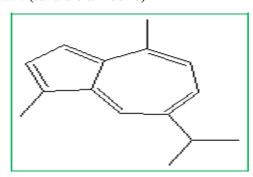


Figure 11 : Structure du chamazulène

Tableau 3 : Les principales huiles essentielles contenant des Sesquiterpénols

Bois de Gaïac	75% Bulnésol,Guaiol
Santal	70% Alpha et Béta-santalols principalement
Patchouli	40% Patchoulol principalement
Carotte	35% Carotol principalement
Vétiver	20% de Sesquiterpénols dont khusimol, vétivénol
Cèdre de l'Atlas	1 à 30% Atlantol

Source: (Bosson, 2020).

3.1.3. Les Diterpènes

Molécules assez rares dans les huiles essentielles et présentes en faible quantité. On les trouve dans les huiles essentielles de cyprès, thuya et mélèze (Stojetz, 2016). Quatre unités d'isoprènes forment ces diterpènes (C20H32), dont la masse moléculaire relativement importante limite la présence dans les HE obtenues par distillation par entraînement à la vapeur d'eau.

3.1.4. Les Triterpènes

Leur présence est aléatoire dans les huiles essentielles, car, plus la molécule contient un nombre important de carbones, plus elle est "lourde", et donc plus il est difficile de l'extraire par distillation à la vapeur d'eau. Les triterpènes (C30H48) font souvent partie des structures épicuticulaires des plantes aromatiques (Stojetz,2016).

3. 2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et les sesquiterpènes. (Couic-Marinier et Lobestein, 2013). Citons, l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique (HE de cannelle), l'eugénol (HE de girofle), l'anéthole et l'aldé-hyde anisique (HE de badiane, d'anis, de fenouil), ainsi que le safrole (HE de sassafras).

Les lactones dérivées des acides cinnamiques, comme les coumarines, sont pour la plupart, entraînables par la vapeur d'eau et ainsi présentes dans certaines huiles essentielles (ex. HE de céleri).

3. 3. Les composés d'origines diverses

a) Les composés azotés

Ce sont des composés peu courants dans les huiles essentielles, avec une activité peu mesurable, mais ils caractérisent certaines fragrances d'HE.

Les molécules principales sont l'indol, cynaides, pyrazines, anthranilates, Bétadamascénone...

On en trouve dans les huiles essentielles de Petit grain Bigarade, Jasmin, Néroli, Chrysanthème, Patchouli, Rose de Damas, Angélique...

b) Les Composés soufrés

On les retrouve à l'état de trace dans certaines huiles essentielles. On en trouve dans les huiles essentielles de Menthe poivrée, Sauge sclarée, Géranium bourbon, Anis vert.

Le tableau suivant récapitule les principales fonctions de molécules que l'on rencontre dans une huile végétale.

Tableau 4 : Les différents types de molécules présentes dans une huile essentielle

Fonctions	Molécules	Végétal
Hydrocarbures	Limomene	Orange, citron, géranium, anis étoile,
	α -Pinène	clou de girofle,
	ß- caryophyliène	
Alcool	M enthol,linalol	Menthe,lavande,cardamame,
Phénol	Thymal,eugenal	Thym, ajowan, clou de girofle
Ether- oxyde	eucalyptol	Eucalpyptus
Aldehyde	Aldéhyde cinnamique	Cannelle , citron ,
	citral	
cétone	α et β-Vétivone	Vétiver, carvi,
	Carvone	
Ester	Acétate de géranyle	Géranium, lavande,
	A cetate de linalyle	
Acide	Acide benzoique	Pomme, cannelle,
	Acide cinnamique	
Lactone	Ambrettolide	Ambrette,

Source: Fernandez et al. (2012)

3. 4. Chémotype des huiles essentielles

Le chémotype ("CT"), autrement connu comme « chimiotype » ou « race chimique » signifie « une entité chimique », un type chimique, une sorte de sous-catégorie chimique d'huile essentielle au sein d'une même espèce de plante. Cette notion introduite par Pierre Franchomme en 1975 et finalement reprise en 2006 par l'Union Européenne qui l'a officialisée en adoptant le règlement REACH qui sécurise la fabrication et l'utilisation des substances chimiques dans l'industrie européenne (Capron, 2020).

Une « carte d'identité » pour différencier les huiles essentielles extraites de la même plante. Compte tenu de leur extraordinaire richesse en molécules biochimiques différentes, souvent plus de 200, (alcools, éthers, terpènes, aldéhydes, oxydes, éthers, coumarines, cétones, phénols etc....), il est facile de comprendre que chaque huile essentielle possède plusieurs propriétés.

Un chémotype est donc une classification chimique, mais aussi biologique et botanique désignant la molécule majoritairement présente dans l'huile essentielle chémotypée (H.E.C.T): l'origine géographique, le type de sol, la période de récolte, l'ensoleillement, l'altitude, le pays, le climat, le taux d'humidité, la saison influencent la composition de l'huile essentielle. C'est pourquoi c'est si important de connaître les chémotypes pour éviter le mauvais usage et même des accidents ayant impact sur notre santé.

Un cas exemplaire est celui du chémotypes du Thym (*Thymus vulgaris*) « Linalol , Thujanol, Carvacrol, Acétate de Terpényle, Géraniol, Thymol Paracymène »(Festy,2020).

Un exemple parmi tant d'autres, nous permettra cependant d'illustrer cette notion fondamentale apportée par **Pierre Franchomme** :

Le THYM est une plante largement utilisée pour les propriétés thérapeutiques de son huile essentielle. Bien entendu, il existe de multiples biotopes où cette espèce végétale se développe cependant aisément (Arnaud, 2021).

1er chémotype :

<u>Thym à thymol</u>: *Thymus vulgaris* CT thymol (cet H.E contient environ 40% de thymol, ce qui en définit son chémotype).

2ème chémotype :

<u>Thym à thujanol</u>: *Thymus vulgaris* CT thujanol (elle contient environ 50% de thujanol, ce qui en définit son chémotype).

3ème chémotype :

<u>Thym à linalol</u>: *Thymus vulgaris* CT linalol (elle contient environ 60% de linalol, ce qui en définit son chémotype).

Une molécule n'est prise généralement en compte au sein d'une H.E que si elle excède 10%.

4. Répartition et localisation de l'huile essentielle

Dans une plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes (Figure 12) :

- Racine (Vétiver),
- Feuille (citronnelle, Eucalyptus, laurier noble..),
- Dans des écorces (Cannelle),

- Des rhizomes(Gingembre),
- Des fleurs (Rose, lavande),
- Des graines (Muscade, Anis),
- Les zestes (citron, orange, bergamote),
- Les fruits (anis, badiane),
- Le bois (santal, bois de rose).

Les diverses parties d'une même plante peuvent produire des essences différentes, contenant des molécules différentes. Par exemple pour le bigaradier ou (l'oranger amer)

- La distillation de la fleur va donner de l'huile essentielle de Néroli.
- La distillation de la feuille, de l'huile essentielle de petit grain bigarade
- Et le fruit par pression mécanique à froid donnera de l'essence d'orange amère.

Cette plante va produire 3 extraits aromatiques différents, les molécules, leurs synergies, leurs propriétés et leurs toxicités seront bien sûr propres à chacune donc différentes (Christelle, 2018).

Les parties sécrétrices ou les plus concentrées de la plante sont récoltées à la période de rendement optimum : avant la floraison (Menthes), pendant (Romarin, lavande) et après celleci (plantes à graines et fruits) (Brada et al., 2007).

Les huiles essentielles sont stables à température ambiante si elles sont conservées de manière adéquate : à l'abri de l'oxydation et de la polymérisation provoquée par l'air, par la lumière et par les variations de la température. Les rendements d'extraction des huiles essentielles dépendent des techniques et procédés d'extraction et de la période de récolte.

La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle dans les végétaux sont généralement liées à l'existence de structures histologiques spécialisées, localisées dans certains points des tissus, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface de la plante.

Ces structures peuvent être :

- Des poches ou canaux sécréteurs (Ombellifères, Conifères) (Figure 13).
- Des cellules sécrétrices isolées (Lauraceae, Zingibeaceae) pouvant être épidermiques ou internes (Figure 14).
- Des poils sécréteurs externes (Labiaceae, Graniaceas) ou internes (Eucalyptus) (Figure 15)

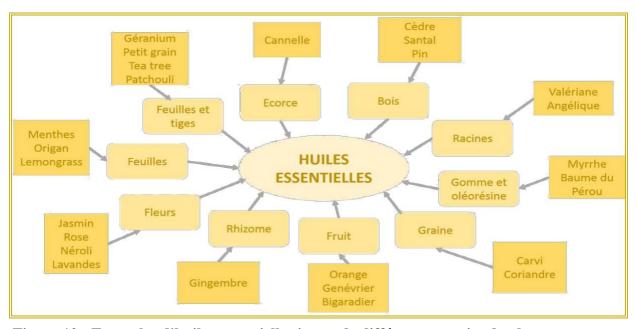


Figure 12 : Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes (Deshepper, 2017)



Figure 13 : Poches schizogènes d'une feuille d'eucalyptus citronné vues au microscopie électronique à balayage (image colorisée, x204) (Deshepper, 2017).

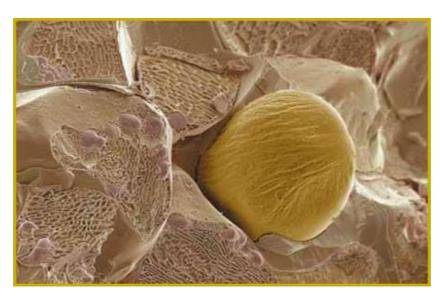


Figure 14 : Cellule sécrétrice d'huile essentielle dans un rhizome de gingembre (*Zingiber officinale* Roscoe) au microscope électronique à balayage (image colorisée, x813) (Deshepper,2017)

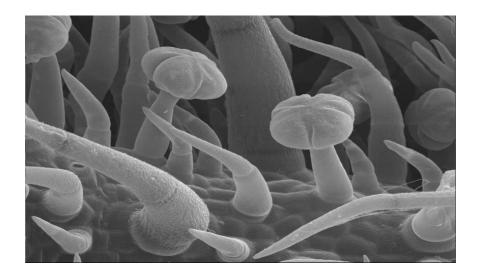


Figure 15 : Poils sécréteurs présents sur la face inferieure d'une feuille de tomate (solanum lycopersicum L.) au microscope électronique à balayage (image colorisée, x813) (Deshepper,2017)

5. Caractéristiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles renferment les principes responsables de l'arôme caractéristique de chaque de plante.

- Ces huiles sont généralement solubles dans l'alcool, l'éther, les graisses, les huiles végétales, les solvants organiques, par contre totalement insolubles dans l'eau.
- o Elles sont très volatiles, d'où l'entraînement à la vapeur d'eau.
- Ce sont des liquides de couleur variable qui peuvent être de très fluides à très visqueux.
- Elles ont une densité de 0,759, elles sont en générale plus légères que l'eau, mais parfois plus lourdes pour certaines 1,096.
- Elles sont inflammables.
- o Elles possèdent un grand pouvoir de pénétration percutanée, elles sont lipophiles.
- Leur conservation est de longue durée : deux années pour les essences, et plus de cinq années.
- Pour les huiles essentielles, elles ne se gardent pas à la lumière, il faut donc les protéger dans des flacons colorés.
- Ne pas chauffer les huiles essentielles, elles perdent leurs propriétés.

6. Variabilité

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine (Djazer, 2014). Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, d'origines intrinsèques spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèques liées à la plante productrice et son environnement.

- **6.1. Facteurs intrinsèques** : La qualité des huiles essentielles varie selon :
- **6.1.1. Origine botanique :** La composition d'une huile essentielle varie en fonction de la variété. Ainsi, une dénomination de toutes les espèces botaniques permet d'identifier chaque type de plante. Il a été démontré que « Le Ravintsara (*Cinnamomum camphora*) » est caractérisée par la forte teneur en 1,8 cinéole alors que dans les huiles essentielles de « *Ravensara aromatica* », ce constituant n'est présenté qu'à faible teneur (Gaylor et Razafimamonjison, 2011).
- **6.1.2.** Le cycle végétatif : Pour une espèce donnée, la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut varier tout au long du cycle de son développement.

Chez la coriandre, la teneur en linalol est 50% plus élevé dans le fruit mur que dans le fruit vert (Sarmate, 2002). De ce fait, La période idéale de récolte est celle où la plante atteint la concentration maximale de son essence aromatique. La fixation de sa date diffère d'une plante à une autre selon son cycle végétatif et surtout par rapport à la période de floraison par exemple si elles ont été cueillies (avant, pendant ou encore) après floraison.

6.1.3. Les facteurs génétiques

a/ Les hybridations: Les hybridations introduisent l'hétérogénéité dans une population végétale. La composition des huiles essentielles issues de ces hybrides est variable et se situe en général entre celles des huiles essentielles des plantes mères.

b/ Les facteurs de mutations : Par maturation une nouvelle race chimique peut apparaitre. Elle peut être à peine perceptible dans les caractères morphologiques, alors qu'elle est susceptible de provoquer de profondes modifications dans la composition de l'huile essentielle.

c/ La race chimique : Une plante aromatique fournira donc des huiles essentielles totalement différentes en fonction de leur lieu de récolte ou d'origine. Biochimiquement différents, deux chémotypes présenteront non seulement des activités thérapeutiques différentes mais aussi des toxicités très variables.

d/ Procédés d'extraction utilisés: Il n'y a pas que la partie ou l'organe de la plante distillée qui peut faire varier la composition biochimique de l'huile mais aussi le mode d'extraction (distillation, hydro-distillation, percolation, expression). Un produit obtenu par hydrodistillation ne sera pas identique à celui qui provient d'une extraction par des solvants organiques.

Les essences diffèrent selon l'élément pressé. A partir de l'écorce d'une orange, on obtient une « essence d'orange ». A partir des feuilles d'orange, on obtient une « essence d'oranger petit grain ». Certaines oléorésines sont extraites par une entaille du tronc de l'arbre.

- **6.2. Facteurs extrinsèques** : La nature du sol ainsi que les conditions climatiques influent directement sur la production des huiles essentielles, parmi ces facteurs nous citons :
- **6.2.1. La lumière et la température :** Elles sont les plus influentes sur la composition des huiles essentielles, d'ailleurs, elles agissent sur celle-ci simultanément.

Certains auteurs admettent que la quantité d'essence augmente dans la journée, atteint un maximum dans l'après- midi ou le soir diminue dans la nuit. D'autres disent, que les plantes destinées à l'extraction des essences doivent être cueillies avant l'aube, lorsque la rosée du matin et encore présente et avant que la chaleur n'en libre la substance aromatique. Cependant, sur d'autres espèces, on signale que le rendement nocturne en essence est de 20% supérieur à celui du jour.

6.2.2. Les problèmes phytosanitaires

- **6.2.2.1. Les maladies :** Les plantes malades sont caractérisées par une déformation, une chute prématurée des feuilles ainsi que les rameaux aux taches brunes. La récolte est alors comprise, la qualité de l'essence dépréciée.
- **6.2.2.2. Les ennemies animales :** Les plus dévastateurs et donc les plus redoutables sont les nématodes pathogènes. Par les attaques qu'ils occasionnent aux parties sous terraines, ces derniers diminuent la longévité des cultures et des rendements (Mira ,2012)
- **6.2.3.** La nature du sol : Les pratiques culturales sont également déterminantes sur le rendement et la qualité du produit final. L'apport d'engrais et l'influence des variations N, P, K ont été étudiés pour divers espèces. Les résultats des expériences concernent les recherches sur les fumures azotées de la menthe faites en Bulgarie au cours des années 1953-1955 représentent une très bonne illustration sur l'influence de la nature du sol sur le rendement en huiles essentielle :
- o L'azote augmente le rendement d'essence des plantes,
- L'azote en combinaison avec d'autres éléments nutritifs ainsi que le fumier du mouton influe sur le pourcentage en huile essentielle des plantes,
- Le potassium employé seul, au contraire, diminue sensiblement la teneur en huile essentielle et n'a aucune influence sur le rendement en masse verte (Georgiev, 1959).



CHAPITRE II

PROCEDES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES



Chapitre II:

Procédés d'extraction des huiles essentielles

1. Généralités sur les méthodes d'obtention des huiles essentielles

La méthode d'obtention des huiles essentielles intervient de façon déterminante dans le rendement en huile et dans la composition de cette dernière. Les différentes parties de l'appareil de distillation peuvent être à l'origine des modifications, plus ou moins importantes, de leur composition chimique. La distillation des petites charges au laboratoire ou dans des installations pilotes donne un produit pouvant être sensiblement différent de celui que l'on obtient à l'échelle industrielle. Il faut donc être prudent quand on établit, à partir de ce type de données expérimentales, des prévisions pour des productions commerciales.

Certes, d'autres méthodes que l'entrainement à la vapeur, peuvent être utilisées pour l'extraction des substances volatiles et aromatiques. L'extraction par solvants est l'une de ces méthodes dont l'avantage est d'utiliser des températures beaucoup plus douces que dans le cas de l'entrainement à la vapeur. Cependant, la distillation reste la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composées d'arômes du fait qu'elle produit des substances volatiles facilement analysables par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et exigeant une technologie relativement simple, donc un coût plus bas ainsi qu'une reproductibilité facilement contrôlable. Aussi, La liste des techniques d'extraction ne s'arrête pas là. Parmi les autres utilisées on retrouve l'extraction à froid qui s'applique aux agrumes, plus fragiles en raison de leur teneur en terpène et aldéhydes, l'extraction au CO2 supercritique, l'extraction par enfleurage, la macération, ... Néanmoins ces dernières sont moins répandues en raison de leur coût, de leur complexité ou bien de leur spécificité d'utilisation.

2. Distillation

L'huile essentielle est le produit résultant de la distillation d'une plante aromatique (la menthe), d'une fleur (la camomille), d'une semence (la carotte), d'un bois (le santal), d'un fruit (la mandarine), ou encore d'une baie (le genièvre).De nombreux procédés sont utilisés pour l'extraction de ces substances aromatiques. Cette opération est une tâche des plus difficiles et des plus délicates puisqu'elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborés par le végétal et ce, sans en altérer la qualité.

2.1. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation est une technique très ancienne qui aurait été utilisée dès l'antiquité par les perses pour fabriquer l'eau de rose. L'étymologie du mot atteste de son usage ancestral; « Hydro » signifie en grec « eau » et « distillation » provient du latin « distillare » qui signifie « tomber goutte à goutte ».

Des vestiges d'alambics datant de 3500 ans avant Jésus-Christ (J-C.) ont été découverts en Irak. En Inde, ils datent du 3ème millénaire avant J-C. Ce sont les arabes qui ont introduit l'hydro distillation en Italie au 12ème siècle puis en Espagne et enfin en France. Il faut attendre les 16-17ème siècles pour que les huiles essentielles soient parfaitement identifiées et utilisées couramment (Albert, 2019).

Le principe de l'hydro distillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à une pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique.

Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inferieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotropique « eau + huile essentielle » distille à une température égale à 100°C à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. Il est ensuite refroidi et condensé dans un essencier ou vase florentin. Une fois condensé, eau et molécule aromatique du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le principe de recyclage est communément appelé cohobage. En laboratoire le système équipe de cohobe qui est généralement utilisé pour extraire les huiles essentielles en accord avec la pharmacopée Européenne est le Clevenger (Lucchesi, 2005) (Figure 16).

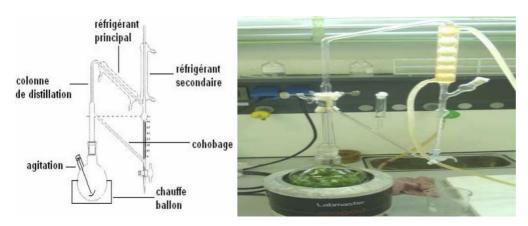


Figure 16: Montage d'hydrodistillation (Elhaib,2011)

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait (Elhaib,2011). Les éléments constituant un système d'hydrodistillation sont indiqués dans la figure suivante :

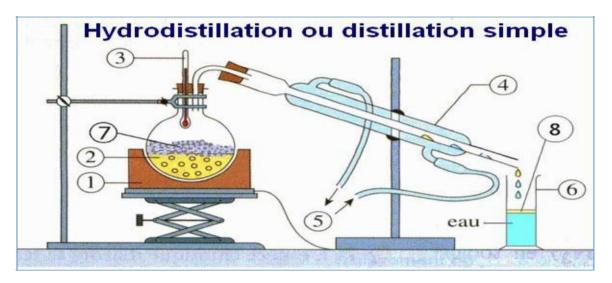


Figure 17: L'hydro distillation (Jouault, 2012)

1: Chauffe-ballon ; 2:Eau bouillante ; 3:Thermomètre ; 4:Réfrigérant à eau ; 5: Arrivée d'eau froide et Sortie d'eau tiédie ; 6:Essencier ; 7:Végétal ; 8:Huile Essentielle

2.2. La distillation par entrainement à la vapeur

La distillation à la vapeur d'eau, connue depuis la plus haute antiquité, transmise par les Arabes et perfectionnée par les Grassois, est un procédé utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau. Le procédé, relativement récent, appelé "distillation par entraînement à la vapeur d'eau" apporte une amélioration certaine de la qualité des produits obtenus en minimisant les altérations hydrolytiques (particulièrement des esters) liées au procédé traditionnel de distillation (Kaibeck ,2010).

Ce procédé, schématisé sur la figure 18, consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau dans une cuve contenant les plantes. Sous l'action de l'humidité et de la chaleur les huiles essentielles volatiles se libèrent. Ensuite, cette vapeur d'eau et d'huile essentielle passe dans un serpentin refroidi par de l'eau. La vapeur se condense alors dans le serpentin, et retourne à l'état liquide. Ce liquide, mélange d'eau et d'huile essentielle est recueilli dans un essencier qui sépare les deux éléments. En effet, l'huile essentielle est non miscible à l'eau et plus légère donc elle se retrouve dans la partie supérieure de l'essencier. L'ensemble du dispositif utilisé pour l'hydro distillation est l'alambic : ce dispositif est composé d'une cuve dans laquelle on place les plantes à distiller. Les plantes sont dissociées de l'eau dans la même cuve. La cuve est chauffée et recouverte par un chapiteau qui est prolongé par un col de cygne, celui-ci est raccordé à un serpentin de refroidissement. Pour cela, celui-ci est plongé dans une cuve d'eau froide. Le serpentin débouche sur l'essencier, muni de deux robinets. Celui du bas permet de recueillir l'hydrolat ou eau florale et celui du haut l'huile essentielle (Jerry Louis ,2020).

Cette technique a l'avantage d'être plus efficace que l'hydro distillation. Elle limite aussi les phénomènes d'hydrolyse de l'huile essentielle. Les huiles essentielles obtenues par ce procédé sont par exemple l'iris, le romarin, le tea tree ou encore le cajeput (Albert, 2020).

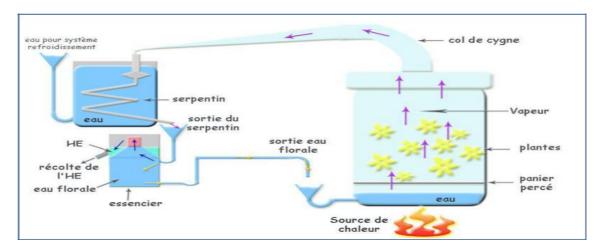


Figure 18 : Mécanisme de la distillation par entrainement à la vapeur d'eau (Kilani,2019).

2.3. La distillation par la percolation ou hydro diffusion

C'est une méthode également récente, qui fonctionne à l'inverse de la distillation. En effet, on injecte la vapeur d'eau de haut en bas, au lieu de bas en haut (Figure 19). Cette méthode présente, pour certaines plantes (les conifères par exemple ou encore la cannelle), l'avantage d'être plus rapide et, par conséquent, moins susceptible de transformer la qualité des huiles essentielles recueillies. Les substances obtenues sont chargées en composants non volatils, on parle alors dans ce cas d'essences de percolation et non d'huiles essentielles (Zayat,1985).

2.4. Distillation sèche

La distillation sèche (Figure 20), aussi appelée distillation destructive, est utilisée pour la séparation des produits chimiques liquides contenus dans des matériaux solides. Il s'agit d'une méthode d'extraction des huiles essentielles caractéristiques des végétaux fragiles tels que les pétales de rose (Lucchesi ,2005).

Ce mode de distillation, très peu utilisé, consiste en un chauffage doux de la matière première (sans eau ni solvant organique). Les substances volatiles sont ensuite condensées et récupérées. La température est ici inférieure à 100°C, ce qui limite une nouvelle fois les phénomènes de dénaturation liés au chauffage.

L'absence d'eau permet également de préserver les substances volatiles de l'hydrolyse. On obtient par ce procédé une huile essentielle de grande qualité, assez fidèle à l'essence présente dans la plante, mais avec un rendement très faible. C'est donc une méthode qui convient aux matières première particulièrement fragile (Deshepper, 2017).

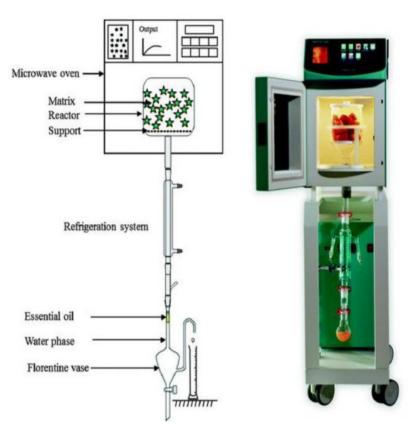


Figure 19 : Schéma d'extraction par Hydrodiffusion (Jouault, 2012)

Les rares huiles essentielles fabriquées en distillation sèche sont le cade et le bouleau. Une rectification est souvent nécessaire pour éliminer les molécules toxiques qui se seraient formées (Albert,2020).

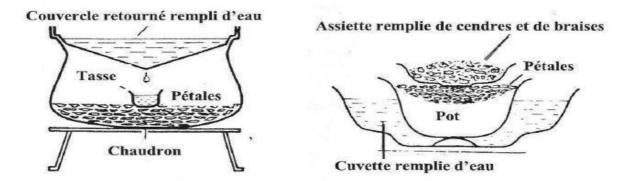


Figure 20 : Schéma d'une installation de distillation sèche (Duval,2012)

3. Extraction par pression à froid ou expression

L'expression à froid est une méthode d'extraction qui s'effectue sans chauffage (Figure 21). Elle est apparue au cours du XIXème siècle, en Italie, puis s'est développée au Brésil, en Californie et en Floride.

Utilisée uniquement pour les agrumes, en raison de la localisation de leurs huiles essentielles, il suffit de procéder à une forte pression hydraulique de la substance végétale. L'huile essentielle contenue dans de petites glandes du zeste est alors séparée du jus de son fruit par un système mécanique. Aujourd'hui, il existe plusieurs systèmes d'extraction qui consistent à gratter mécaniquement les peaux gorgées d'essence. L'essence entraînée par de l'eau, subit ensuite une décantation pour en être séparée. Les huiles essentielles obtenues par ce procédé sont celles de citron, de pamplemousse, de bergamote ou encore de bigarade.

Ce procédé d'extraction est simple et ne modifie pas le produit obtenu, c'est pourquoi on appelle ce dernier « essence » et non huile essentielle(Morichard,2020). Une pélatrice et une centrifugeuse séparatrice sont représenté à titre d'indication par la figure 22.

Grâce à l'obtention d'un produit intact, les essences produites par expression à froid sont plus souvent utilisées dans le domaine thérapeutique que les huiles essentielles. Notamment en aromathérapie car la qualité des essences obtenues manuellement est incomparablement supérieure à celle des essences obtenues par les procédés actuels. Cependant, cette technique a aussi des points négatifs. La durée de vie d'un produit obtenu par expression à froid est courte. En effet, elle ne dépasse guère 6 mois dans la plupart des cas. De plus, seule la famille des agrumes peut être soumise à ce genre d'extraction et le matériel doit être remplacé régulièrement.

Par ailleurs, une bonne maîtrise est nécessaire, la main d'œuvre est donc coûteuse. Ainsi, nous pouvons dire que la rentabilité de l'extraction par expression à froid est faible par rapport aux procédés actuels.

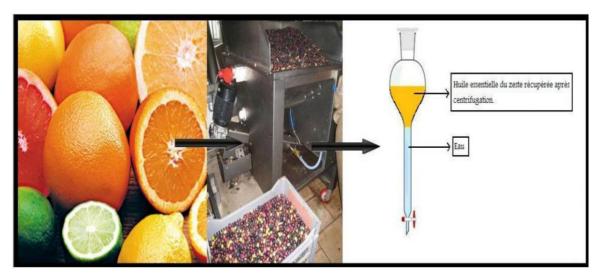


Figure 21 : Schéma de l'extraction par expression à froid (Jerry Louis, 2020).



Figure 22 : Photos à gauche d'une Pélatrice et à droite d'une centrifugeuse séparatrice de l'essence de *Citrus* (Bousbia, 2011)

4. Autres Méthodes d'extraction des huiles essentielles

D'autres modes d'extraction des huiles essentielles existent, que nous détaillons ci -après :

4. 1. Extraction par solvants volatils organiques

Cette méthode consiste à dissoudre la matière odorante de la plante dans un solvant que l'on fait ensuite évaporer. Au départ, le solvant utilisé pour l'extraction était de l'éther. Néanmoins, il s'agit d'un produit coûteux et très fortement inflammable (Zayat, 1999).

De nos jours, les solvants tels que l'éther de pétrole, l'éthanol, le cyclohexane, l'hexane, le méthanol sont plus adaptés et moins dangereux pour extraire l'huile essentielle d'éléments végétaux fragiles qui ne supportent pas la chaleur de la distillation à la vapeur (jasmin, jacinthe, narcisse, tubéreuse) (Stulzaft,2018).

Ce procédé (Figure 23) consistait à placer la plante aromatique fragile dans d'énormes cuves en acier ("extracteurs"), puis soumis à plusieurs lavages successifs aux solvants. Ces derniers se "chargent" de parfum. Après décantation puis filtration, le solvant s'évapore et on obtient une sorte de "pâte" très odorante, nommée : « concrète » pour les fleurs, résinoîdes, racines et mousses. Après une série de lavages à l'alcool dans des batteuses mécaniques, suivit de glaçages (refroidissement), de filtration puis d'évaporation de l'alcool par extraction sous vide, la concrète donne naissance à une essence pure appelée « absolue ».

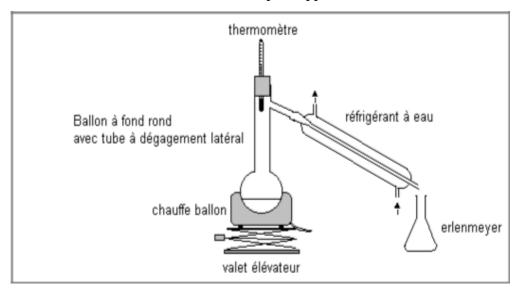


Figure 23: Extraction par solvant volatil (Jerry Louis, 2020)

Le choix du solvant obéit à trois critères et nécessite la connaissance d'un paramètre physique caractéristique de ce solvant.

- L'état physique du solvant : Le solvant doit être liquide à la température et à la pression où l'on réalise l'extraction.
- La miscibilité du solvant : Le solvant doit être non miscible à la phase qui contient initialement le composé à extraire.
- La solubilité: Le composé à extraire doit être très soluble dans le solvant. C'est à dire, beaucoup plus soluble dans le solvant que dans le milieu où il se trouve initialement (milieu aqueux en général).

La densité du solvant : Il est nécessaire de connaître ce paramètre car c'est lui qui détermine si la phase organique, contenant le composé à extraire, se trouve au-dessus ou en dessous de la phase aqueuse dans l'ampoule à décanter.

Les solvants d'extraction doivent être aussi :

- Facilement éliminés après extraction et donc avoir un point d'ébullition bas. Leur point d'ébullition doit être le plus éloigné possible de celui des produits à extraire.
- Inertes chimiquement vis-à-vis de la solution à extraire.
- Peu toxiques que possible.

L'emploi restrictif par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement. Cependant les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation (Boukhatem et al.,2019).

4.2. Extraction au CO₂ super critique

L'extraction au CO₂ (Figure 24) est une technique beaucoup plus récente que la distillation qui, elle, date de plusieurs siècles. Elle s'est développée au début des années 1980 et Pierre Franchomme l'a introduite dans le domaine de l'aromathérapie au début des années 2000.

A place de la vapeur d'eau comme fluide d'extraction, le procédé fait appel aux remarquables propriétés d'un solvant "vert" totalement neutre, sans odeur, sans saveur, non toxique et non polluant : le CO2 naturel (dioxyde de carbone, couramment appelé gaz carbonique) mis dans un état particulier qu'on appelle "supercritique". Il s'agit d'un état intermédiaire entre celui de gaz et de liquide, obtenu à des basses températures voisines de l'ambiante (la température critique est de 31°C) et à des pressions élevées (la pression critique est de 74 bars) mais facilement atteignables avec les technologies disponibles aujourd'hui (Franchomme, 2019) (Figure 25).

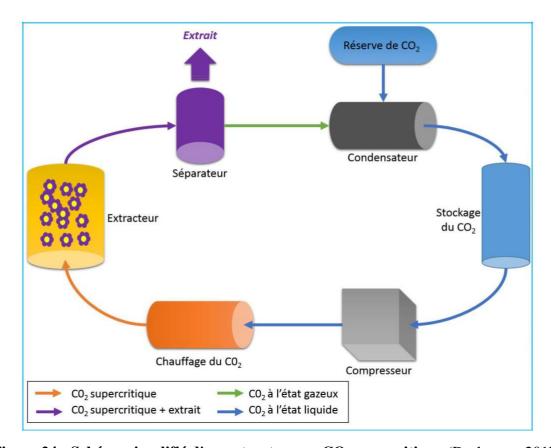


Figure 24 : Schéma simplifié d'un extracteur au CO2supercritique (Deshepper,2017)

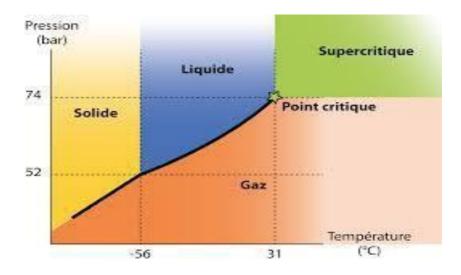


Figure 25 : Courbe d'équilibre liquide-gaz du CO₂ (Franchomme, 2019)

<u>Légende</u>: On parle ainsi de CO2 supercritique quand il est chauffé au-delà de sa température critique et en même temps comprimé au-dessus de sa pression critique. Source: IFS (Innovation Fluides Supercritiques)

L'état supercritique permet au CO₂ de pénétrer au cœur des cellules végétales et de se charger des molécules aromatiques, dont il se sépare ensuite complètement en retournant à l'état gazeux. L'extraction au CO₂ supercritique s'effectue à basse température (environ 30°C) évitant ainsi toute altération des principes extraits.

En faisant varier les conditions de pression et de température, il est possible :

- de cibler des composants particuliers recherchés pour leurs vertus en procédant à une extraction sélective de la partie volatile,
- ou au contraire d'extraire l'intégralité des principes actifs regroupant le totum des composés lipophiles, y compris les molécules volatiles les plus lourdes et une fraction de lipides dans le cas de graines.

En fin de processus, le CO₂ est récupéré totalement, ce qui en fait une méthode d'extraction très écologique, avec un solvant complètement recyclé.

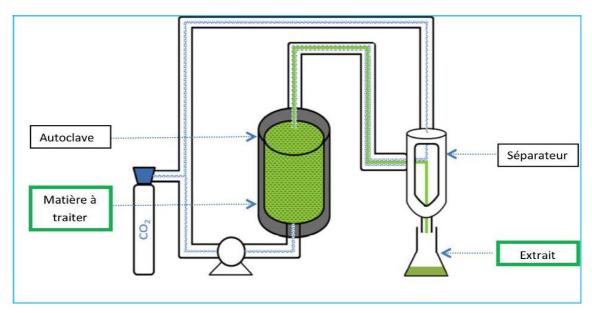


Figure 25: Procédé d'extraction au CO₂ Super critique (Franchomme, 2019)

<u>Légende</u>: Le procédé consiste à placer les végétaux préalablement broyés dans un autoclave puis les mettre en contact avec le CO₂ supercritique qui en extrait les composés. Dans le séparateur, le CO₂ redevient gazeux et se sépare totalement de l'extrait.

Source : IFS (Innovation Fluides Supercritiques)

4.3. Extraction par enfleurage

L'enfleurage est un procédé qui utilise des graisses inodores et solides à température ambiante pour capturer les composantes odorantes exsudées par les plantes. Traditionnellement, les graisses animales étaient utilisées puis dissoutes avec de l'alcool pour ne laisser que le parfum. C'est un procédé séculaire utilisé dans l'industrie de la parfumerie pour capturer les parfums de fleurs les plus délicats et les plus difficiles à trouver (Alane, 2020).

On considère deux types d'enfleurage, l'enfleurage à froid et l'enfleurage à chaud.

4.3.1. L'enfleurage à froid : Cette technique consiste à étaler une couche de graisse animale inodore et pure sur les parois d'un châssis en verre que l'on recouvre ensuite de fleurs les plus fragiles, comme le jasmin ou la jonquille ne supportant pas d'être chauffées (Figure 26).

Ces fleurs sont renouvelées (toutes les 24 heures pour les jasmins ou toutes les 72 heures pour la tubéreuse) jusqu'à ce que la graisse soit saturée de parfum (On utilisait 1kg de graisse pour absorber le parfum de 3kg de fleurs) (Beneteaud, 2011). Au bout de 3 mois on recueillait la graisse à l'aide d'une spatule. Puis on faisait fondre doucement cette pommade odorante; ensuite on la mélangeait avec de l'alcool dans une sorte de "batteuse". Ainsi les molécules odorantes se dissolvaient. Une fois le mélange refroidi, on éliminait l'alcool par distillation sous vide, en général à froid, pour obtenir ce que l'on appelle : une absolue. Cette méthode n'est pratiquement plus utilisée aujourd'hui car trop coûteuse.



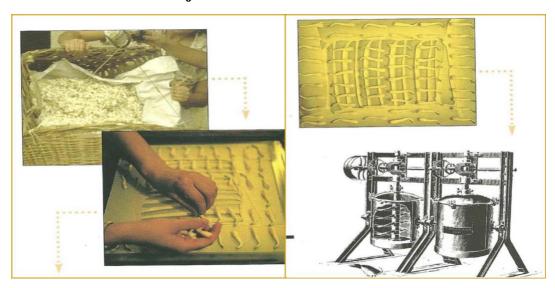
Figure 26 : Extraction par enfleurage des pétales (Beneteaud, 2011)

4.3.2. L'enfleurage à chaud : L'enfleurage à chaud (Figure 27) est quant à lui un moyen d'extraction utilisé pour des plantes moins fragiles comme la rose, la fleur d'oranger ou le mimosa dont l'extraction à froid n'est pas suffisante pour extraire toute l'essence.

On fait macérer les plantes dans de la graisse pure, à 60 degrés, et on les laisse infuser pendant environ deux ou trois jours.

On filtre ensuite ce mélange pour séparer les fleurs et la graisse et on obtient la pommade. Puis, on effectue la même étape qu'avec l'enfleurage à froid afin d'obtenir un absolu, c'est à dire qu'on effectue un lavage avec de l'alcool avant de laisser évaporer le tout.

1/ Pesée des fleurs de jasmin



2/ Châssis d'enfleurage

3/ Batteuse à pommade début du $20^{\grave{\rm eme}}$ siècle

Figure 27 : Extraction par enfleurage (Beneteaud, 2011)

4.4. Extraction par macération

La macération est semblable à l'enfleurage. Elle est employée pour extraire les huiles essentielles à partir d'ingrédients tels que la vanille qui est trempée dans des cuves d'huile jusqu'à ce que les pièces parfumées se dissolvent (Figure 28). L'huile peut être chauffée pour accélérer le processus. La macération peut durer plusieurs années. En général, on utilise de l'huile de tournesol pour la macération (Jerry Louis, 2020).

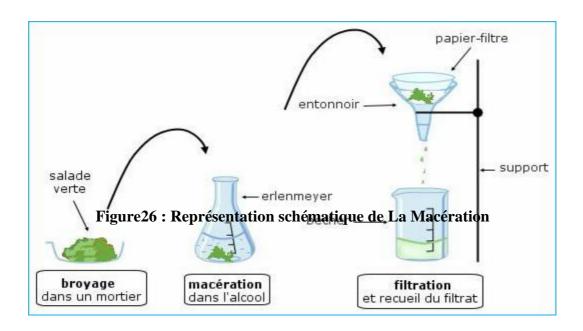


Figure 28: Extraction par macération (Jerry Louis, 2020).

4.5. Extraction assistée par micro-ondes

4.5.1. Historique de l'extraction par micro-ondes: Depuis 1986 avec les travaux de Ganzler et al., l'extraction assistée par micro-ondes a connu de profonds changements. A l'heure où « rapidité », « efficacité », et « sélectivité » sont devenus les caractéristiques principales d'une bonne technique d'extraction, les travaux sur l'extraction assistée par micro-ondes ne cessent de croître et les nouvelles techniques de fleurir. La chimie analytique a permis ces dernières années de réduire considérablement les temps d'analyse grâce au développement des techniques chromatographiques en partie. La chimie préparative, telle que l'extraction solide-liquide à laquelle nous nous intéressons dans le cadre de l'extraction de molécules aromatiques volatiles issues de matières végétales, se devait de réduire elle aussi ses durées, tout en conservant son efficacité et sa sélectivité.

Les micro-ondes ont apporté une solution de choix. Grâce à un chauffage sélectif, sans inertie, et rapide, les micro-ondes combinées à des techniques d'extraction classique ont permis de remédier aux problèmes des temps d'extraction souvent trop longs (Chemat et Lucchesi, 2005).

4.5.2. Principe du chauffage micro-ondes : Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques qui occupent une bande de fréquence de trois décades de 300 GHz

à 300 MHz. La fréquence la plus utilisée est de 2450 MHz, ce qui correspond à une longueur d'onde dans l'air de 12,2 cm (Bounaouli, 2016).

Le mécanisme du chauffage micro-ondes repose sur le fait que les molécules polaires, telles que l'eau, ont des extrémités négatives et positives : ce sont des dipôles. En l'absence de champ électrique, les dipôles se trouvent orientés au hasard. Sous l'effet d'un champ électrique continu, les molécules tendent à s'orienter dans la direction du champ électrique. Sous l'effet d'un champ électrique alternatif de fréquence f, les dipôles s'orientent dans la direction du champ sur une demi-alternance, se désorientent lorsque le champ s'annule et se réorientent dans l'autre sens pendant la seconde demi alternance : c'est la rotation dipolaire.

L'énergie électrique est convertie en énergie cinétique par cette rotation dipolaire. L'énergie cinétique est ensuite transformée partiellement en chaleur. L'alignement des dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par les forces d'interactions entre molécules (les forces de liaison par pont hydrogène et les forces de liaisons de Van der Waals) pouvant être assimilées à des forces de frottement internes qui existent dans les contacts solide-solide. Ces forces vont s'opposer à la libre rotation des molécules et de la friction produite, naît le dégagement de chaleur. Le transfert de chaleur sous chauffage micro-ondes est complètement inversé par rapport au chauffage conventionnel. Alors que le transfert de chaleur classique se transmet de l'extérieur vers l'intérieur du récipient, sous chauffage micro-ondes, le volume traité devient lui-même source de chaleur : on parle de dégagement de la chaleur de l'intérieur vers l'extérieur du récipient. La paroi externe du réacteur est plus froide que le milieu du réacteur dans le cas du chauffage micro-ondes, et inversement pour le cas du chauffage conventionnel par double enveloppe, plaque chauffante et flamme.

C'est un mode de chauffage instantané en volume et non en surface. Les phénomènes thermiques de conduction et de convection ne jouent plus qu'un rôle secondaire d'équilibrage de la température (Bounaouli, 2016). La figure suivante illustre ces deux modes de chauffage.

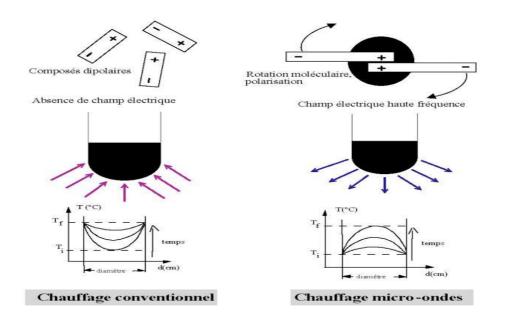


Figure 29 : Transferts thermiques sous chauffage conventionnel et micro-onde (Bounaouli, 2016).

Les micro-ondes agissent de manière sélective sur les cellules végétales, vaporisant la matrice d'eau, provoquant la rupture des cellules et libérant directement l'arôme dans la cavité micro-ondes. L'huile est transparente pour les micro-ondes et ne subit pas de chauffage thermique par le processus d'infusion. Cela permet d'obtenir un taux d'extraction élevé tout en préservant totalement les propriétés organoleptiques et physico-chimiques du produit extrait, sans altération thermique (Savary, 2020).

L'extraction assistée par micro-ondes offre plusieurs avantages par rapport aux techniques plus traditionnelles, tels qu'un temps d'extraction plus court, une utilisation moindre de solvants, des taux d'extraction de composés plus élevés et un coût de traitement globalement inférieur. L'extraction micro-ondes peut être directe ou assistée à la vapeur, à l'eau ou à un solvant, sous pression ou sous vide, sous atmosphère contrôlée (azote) (IDCO, 2020).

4.5.3. Les procédés d'extraction assistés par micro-ondes: Dans cette partie, nous présentons essentiellement ou exclusivement les différentes techniques d'extraction par micro-ondes qui permettent l'obtention d'huiles d'extraits aromatiques d'origine végétale:

4.5.3.1. Extraction par solvant assistée par micro-ondes (ESMO): Ganzler et al., en 1986, en Hongrie furent les premiers à présenter une technique d'extraction par solvant assistée par micro-ondes en vue d'une analyse chromatographique. Ce procédé consistait à irradier par micro-ondes de la matière, végétale ou non, broyée au préalable en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires (Figure 30). L'ensemble était chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entre coupées par des étapes de refroidissement. Après, une étape de séparation par centrifugation, les échantillons étaient directement injectés sur colonne chromatographique (Chemat et Lucchesi, 2005).

Cette technique se présentait comme beaucoup plus efficace qu'une méthode conventionnelle et permettait de réduire les temps d'extraction et donc les dépenses en énergie. Les travaux sur l'extraction par solvant assistée par micro-ondes ont continué d'avancer, et c'est en 1990 que l'équipe canadienne de (Paré et al.,1990) a déposé un premier brevet, Européen, sur « l'extraction de produits naturels assistée par micro-ondes ». Ils proposaient d'irradier le matériel végétal en présence d'un solvant transparent aux micro-ondes de type hexane. Ainsi les micro-ondes atteindraient directement les systèmes glandulaires et vasculaires du végétal. Des essais effectués notamment sur la menthe soulignent à nouveau le gain de temps ainsi qu'une qualité similaire des produits obtenus par entraînement à la vapeur classique et de ceux obtenus par extraction assistée par micro-ondes (Chemat et Lucchesi, 2005).

Par la suite de nombreux brevets seront déposés par Paré et son équipe tant au niveau américain qu'au niveau européen. Le procédé original sera par la suite quelque peu modifié et enrichi et sera dénommé : MAPTM (Microwave Assisted Process). Ce procédé a pour vocation d'être une méthode d'extraction utilisable pour un grand nombre de matrices solides ou liquides telles que les végétaux mais aussi les tissus animaux, les sols, les cosmétiques ou les eaux polluées. Actuellement la MAE (Microwave Assisted Extraction) : l'extraction assistée par micro-ondes est plus généralement citée dans les travaux publiés. En réalité, la MAE et MAPTM sont toutes deux des techniques d'extraction par solvant assistée par micro-ondes.

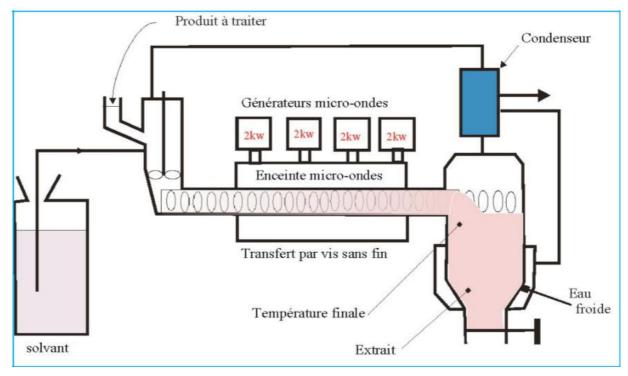


Figure 30 : Extraction par solvant assistée par micro-ondes (ESMO) (Lucchesi, 2005) .

4.5.3.2. Entraînement à l'air assisté par micro-ondes (EAMO) : En 1989, Craveiro et al. proposaient une technique originale d'extraction de l'huile essentielle de Lippia sidoides par chauffage micro-ondes sans solvant en utilisant un compresseur à air (Figure 31). L'huile essentielle extraite en 5 minutes sous chauffage micro-ondes était présentée comme qualitativement identique à celle obtenue par entraînement à la vapeur en 90 minutes. Le système proposé est inspiré du procédé d'entraînement à la vapeur d'eau classique. Il se compose en fait de trois parties : un compresseur envoyant de l'air dans le ballon où se trouve la matière végétale placé dans un four micro-ondes domestique (Lamine, 2019).

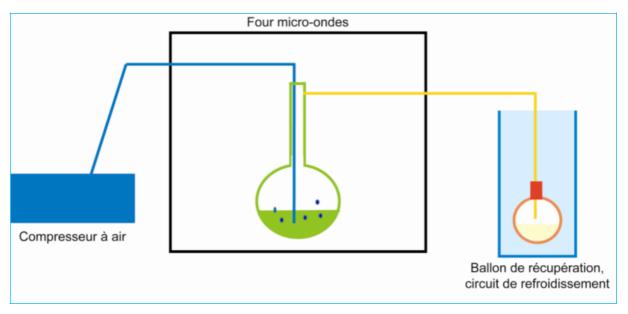


Figure 31: Entraînement à l'air assisté par micro-ondes (EAMO) (Chemat, 2005)

4.5.3.3. Extraction assistée par micro-ondes (Hydro Distillation par Micro-ondes sous vide pulsé (sous pression réduite) (VMHD) : L'hydrodistillation assistée par micro-ondes sous pression réduite, ou « VMHD : Vacuum Microwave HydroDistillation » a été élaborée et brevetée par la société Archmiex dans les années 1990, avant d'être rachetée par l'équipementier Pierre Guérin (Mengal et Mompon, 1994).

Cette technique d'extraction, dont l'origine est l'hydrodistillation classique, est basée sur l'utilisation conjointe des micro-ondes et d'un vide pulsé (Figure 32). Le matériel végétal à traiter frais ou sec (auquel cas on lui rajoute une quantité d'eau requise) est soumis durant une période $\delta 1$ aux micro-ondes dont le rôle est d'assurer le transfert de matière, puis durant un temps $\delta 2$ à un vide pulsé qui permet l'entraînement azéotropique des substances volatiles à une température inférieure à 100° C. Cette opération peut être répétée plusieurs fois selon le rendement souhaité.(Chemat et lucchesi,2005).

D'après les concepteurs du VMHD, l'extraction serait dix fois plus rapide que l'hydrodistillation pour un rendement équivalent et un extrait décomposition identique. Les notes « crues » les plus thermosensibles semblent être conservées après une extraction par VMHD contrairement à une hydro distillation classique (Toursel,1997).

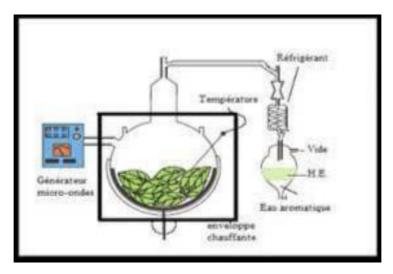


Figure 32 : Hydrodistillation assistée par micro-ondes sous pression réduite (VMHD) (Chemat, 2005)

4.5.3.4. Hydro distillation assistée par micro-ondes (HDMO) :

Récemment, Stashenko et coll., utilisent un procédé d'hydro distillation par micro-ondes. Ce procédé basé entièrement sur le principe de l'hydro distillation classique consiste à placer une partie du montage d'hydrodistillation dans le four à micro-ondes (Figure 33). Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un ballon disposé dans l'enceinte du four à microondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four. Les avantages cités sont la rapidité et la similitude de la composition de l'huile par rapport à une hydrodistillation classique (Lucchesi ,2005).

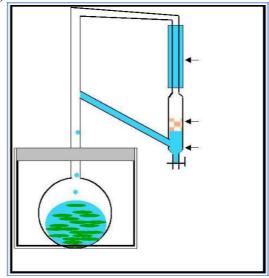


Figure 33 : L'hydrodistillation assistée par micro-ondes (HDMO) (Chemat et Lucchesi, 2005)

4.5.3.5. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM): L'Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes (ESSAM) est une nouvelle technique d'extraction mise au point au sein du Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments de l'Université de La Réunion (Figure 34). Ce procédé est une combinaison entre une technique d'extraction traditionnelle et une technologie innovante. En effet, si les systèmes de cohobation et de piégeage du mélange vapeur d'eau-huile essentielle sont proches d'une Hydro Distillation (HD), le chauffage par micro-ondes a permis de réduire de façon considérable les temps d'extraction sans ajout d'eau ni de solvant. A titre de comparaison, les huiles essentielles de plantes aromatiques fraîches et d'épices sèches ont été extraites par l'ESSAM et par une technique plus traditionnelle l'HD. Concernant les plantes aromatiques fraîches, les rendements sont identiques à ceux obtenus en HD et les temps d'extraction sont divisés par sept. Pour les épices, les rendements sont meilleurs en HD.

La fraction en composés oxygénés, réputée pour être la plus valorisable au niveau olfactif, a une teneur toujours supérieure en utilisant l'ESSAM. L'observation au Microscope Electronique à Balayage (MEB) des végétaux (feuilles ou graines) soumis à l'ESSAM et à l'HD a mis en évidence la spécificité de l'ESSAM au niveau des mécanismes de libération et d'extraction des molécules aromatiques au sein du végétal. L'effet des micro-ondes a pour conséquence une libération plus rapide de l'huile essentielle contenue dans la plante grâce à l'ouverture quasi instantanée des glandes et poils sécréteurs. L'explication de la différence de composition chimique entre les procédés d'extraction par HD et par ESSAM pourrait être basée principalement sur des phénomènes de solubilité (Lucchesi, 2005).

4.6. Extraction assistée par ultrasons

Les problèmes des techniques d'extraction traditionnelles telles que la distillation à la vapeur se trouvent dans les énormes quantités de matériel végétal nécessaires pour extraire les huiles essentielles à l'échelle commerciale.

- Pour 1 kg d'huile essentielle de lavande sont env. 200 kg de fleurs de lavande fraîches sont nécessaires,
- Pour 1 kg d'huile de rose, entre 2,5 et 5 tonnes métriques de pétales de roses nécessaires,
- Pour 1 kg d'huile essentielle de citron, la matière première consiste en env. 3 000 citrons. (Hielscher, 2021).

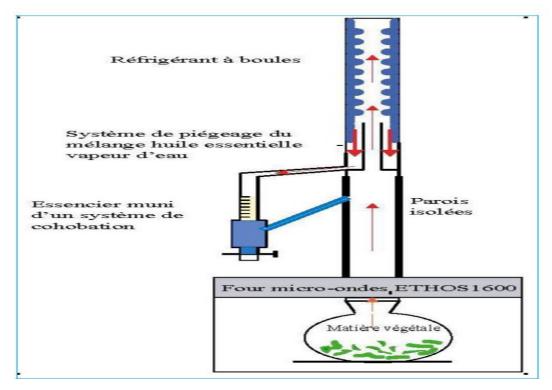


Figure 34 : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM) (Lucchesi, 2005)

Par conséquent, les huiles essentielles sont très chères. Pour obtenir des avantages en ce qui concerne la rentabilité et la compétitivité, les producteurs d'huiles essentielles doivent mettre en œuvre des méthodes d'extraction plus efficaces, comme « Les techniques d'extraction à ultrasons ». La sonication peut être effectuée comme extraction à base de solvant ou sans solvant. En variante, l'extraction par ultrasons peut être combinée avec des systèmes d'extraction commun, par exemple extractionSoxhlet, Extraction Clevenger, CO2 supercritique, etc. (Hielscher, 2021).

Les ultrasons sont des ondes mécaniques capables de se déplacer dans un milieu élastique à une fréquence supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (16 kHz). Les ultrasons de puissance fonctionnant à une intensité entre 20 et 100 kHz sont utilisés pour l'extraction des arômes et bien d'autres molécules des plantes (Mnayer, 2014).

Le bac ou la sonde à ultrasons sont les deux types d'équipements couramment utilisés dans les laboratoires (Figure 35). Lorsque les ultrasons se propagent à travers un liquide, les oscillations des molécules provoquent la formation des zones de compression et de dépression (raréfaction). Quand les cycles de raréfaction augmentent, les forces maintenant la cohésion du liquide sont vaincues et des bulles de cavitation apparaissent. Ce phénomène est appelé cavitation (Figure 36). Les bulles vont imploser à côté de la surface solide (le matériel végétal) et provoquer la rupture des membranes des cellules qui libèrent leurs contenus à l'extérieur (Dolatowski, Stadnik, Stasiak, et al., 2007). Puisque les glandes des huiles essentielles sont généralement présentes à la surface des plantes aromatiques, l'implosion des bulles de cavitation détruit les glandes qui libèrent l'HE dans le milieu environnant (Chemat et al., 2010).

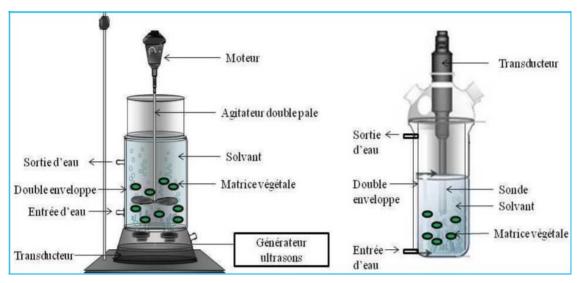


Figure 35: Extraction aux ultrasons: bac ou sonde (Mnayer, 2014).

Un avantage majeur des extracteurs à ultrasons modernes d'aujourd'hui est le contrôle précis des paramètres de fonctionnement (par exemple d'intensité à ultrasons, température, temps de traitement, la pression, le temps de rétention, etc.). Un rendement accru des huiles essentielles ainsi que la dégradation thermique plus faible, de haute qualité et un bon goût sont scientifiquement prouvés (Asfaw et al., 2005 ; Porto et al., 2009). Alors que d'autres possibilités techniques d'extraction modernes offrent seulement limitée à échelle à la production industrielle, la puissance à l'échelle l'extraction par ultrasons au niveau industriel est déjà fait ses preuves. Par exemple, le rendement d'extraction des huiles essentielles d'agrumes japonais a augmenté de 44% par rapport aux méthodes traditionnelles d'extraction (Mason et al., 2011).

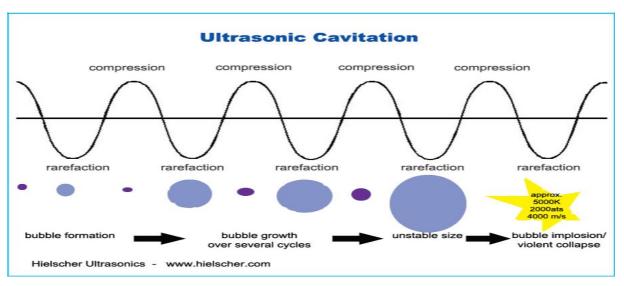


Figure 36 : Schéma démonstratif de la Cavitation ultrasonores (Hielscher, 2021)

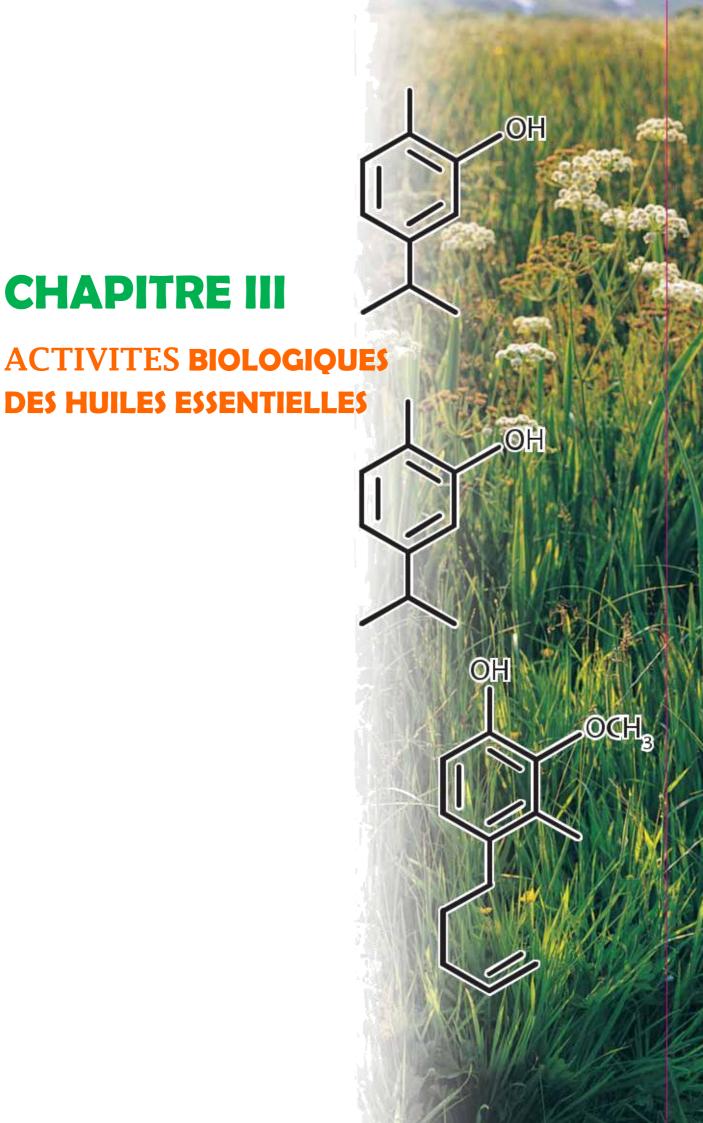
5. Comparatif des procédés d'extraction

Le tableau suivant récapitule et compare les différents modes d'extraction en terme de produit obtenu, avantages et inconvénients de chaque technique extractive.

Tableau 5. Comparaison des différents modes d'extraction : caractéristiques, avantages et inconvénients.

	_				
	Type	Température	Produit	Avantages	Inconvénients
Technique	d'extraction		obtenu		
Expression	Mécanique	À froid	Huile	Méthode mécanique	Ne concerne que les
			essentielle	simple, limite	agrumes
				l'oxydation	C
				Méthode simple, facile	Dénaturation par la
Distillation	Gaz : vapeur	À chaud	Huile	et peu coûteuse	vapeur d'eau
Hydro-distillation	d'eau	11 011000	essentielle	Possibilité de produire	(composition et odeur
Try aro distination	a caa		Cosciliano	sur site	modifiées)
Percolation	Gaz : vapeur	À chaud	Essence de	Plus rapide (préserve la	Charge en substances
Hydro-diffusion	d'eau	A chaud	percolation	qualité)	non volatiles
Trydro-diffusion	u cau		percolation	quante)	non volatiles
Disastina	Time! day				
Digestion	Liquide : graisse	A chaud	Pommade		No convicant mas our
Enfleurage à chaud Macération à chaud	fondue au	A chaud	Polililade		Ne convient pas aux
Maceration a chaud					fleurs fragiles
-	bain marie		G		
Extraction par	Liquide:	A chaud	Concrète	Préserve le parfum des	Toxicité pour les
solvant volatil	Hexane		Absolue	fleurs Donne accès à des	ouvriers et le
				plantes non distillables	consommateur
	Enfleurage	A froid	Pommade	Capture le parfum des	Main d'oeuvre
Enfleurage				fleurs fragiles	coûteuse
	Liquide:	A froid	Macérât	Méthode anci	
Macération	Huile			Corps gras facile à inco	orporer en cosmétique
	végétale				
	Fluide	A basse	Extrait CO ₂	Extrait préservant	Installations très
	supercritique	température		l'essence du végétal	couteuses
	: CO ₂	et haute		(notes de tête, de cœur	Utilisable uniquement
		pression		et de queue), stable	sur des végétaux à
Extraction par CO ₂				(minimum 5 ans sous	l'état sec (difficile à
supercritique				azote), pur (stérile, sans	l'état frais)
1 1				résidus ou métaux), sûr	,
				(non toxique) et	
				écologique. Production	
				rapide de faible coût	
				énergétique.	
				energenque.	

Source : Lacroix (2020)



CHAPITRE III

Chapitre III:

Activités biologiques des huiles essentielles

1. Activités antimicrobiennes

Ces dernières décennies, de nombreuses études ont permis de mettre en avant les propriétés, la composition, et les mécanismes d'action in vitro et in vivo des HE.

Au début du 20ème siècle, **René-Maurice Gattefossé**, ingénieur chimiste lyonnais, se consacre en premier à l'étude scientifique des HE. Il décrit en 1938, l'étendue du pouvoir bactéricide, antiviral, vermicide et antifongique de certaines HE. Dans les années 60, le **Dr Valnet**, chirurgien militaire français, vérifie sur le terrain l'efficacité anti-infectieuse et cicatrisante des HE (Eurveilher, 2019).

Plus récemment(en 1975), **Pierre Franchomme**, biochimiste, est à l'origine des recherches pharmacologiques les plus poussées actuellement. Il est le premier à prouver scientifiquement que « les HE ne sont pas des corps simples, mais bien des assemblages de molécules diverses, ayant chacune leurs propriétés particulières ». Certaines HE ont plus de 200 molécules différentes (Fontanay et al.,2015). Parmi ces molécules, certaines ont des propriétés anti-infectieuses : antiseptiques, antibactériennes, antivirales, antifongiques et/ou antiparasitaires.

Dans le cas des HE, différentes techniques, sont utilisées pour évaluer et/ou démontrer *in vitro*, les propriétés antimicrobiennes des HE. Cette situation nous montre tout le travail d'harmonisation qu'il reste à effectuer dans ce domaine particulier de Recherche et Développement.

De plus, il est important de souligner qu'il n'existe pas à l'heure actuelle, de protocole pour l'évaluation antibactérienne des HE clairement mentionné dans les 3 principales Pharmacopées : Européenne, Américaine et Japonaise. De manière générale, Des études in vitro et in vivo ont évalué l'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles de même que le développement de résistance des bactéries aux huiles essentielles, mais nous nous intéresserons ici à celles dont l'action antibiotique naturelle est la plus significative.

1.1. Activités antibactériennes

1.1.1. Qu'est-ce qu'une bactérie?

Une bactérie est un micro-organisme vivant composé d'une seule cellule sans noyau. Les bactéries peuvent avoir différentes formes (Figure 37) (sphérique, en grappe de raisin, en bâtonnet, en spirale, etc.), Un grand nombre d'entre elles sont cruciales pour le bon fonctionnement de notre corps et celles-ci sont normalement tout à fait inoffensives. Mais d'autres types de bactéries sont dits « pathogènes ». Enfin, c'est important de comprendre aussi qu'une bactérie inoffensive peut devenir pathogène suite à des modifications de son environnement (Eurveilher, 2019).



Figure 37 : Différentes formes de bactéries (Eurveilher, 2019)

1.1.2. Mécanismes d'action de l'activité antibactérienne et bactéricide des

HE Pour faire simple, retenons principalement trois mécanismes (Figure 38):

- Inhibition de la perméabilité membranaire sélective et détérioration membranaire (des pertes de cytoplasme, autrement dit de « matière » ; des pertes de sels, notamment de potassium ; des blocages au niveau de la glycolyse et enfin la mort de la bactérie).
- o Inhibition de la production et de l'action des toxines bactériennes. Un exemple bien connu avec *Clostridium botulinum* qui produit la toxine botulique s'attaquant au système nerveux ; ou encore avec Clostridium difficile qui secrète des toxines intestinales engendrant des diarrhées infectieuses graves et très contagieuses.
- O Inhibition de la formation du biofilm « Les biofilms bactériens sont des amas structurés de cellules bactériennes enrobés d'une matrice polymérique et attachés à une surface. Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles. » (Eurveilher,2019).

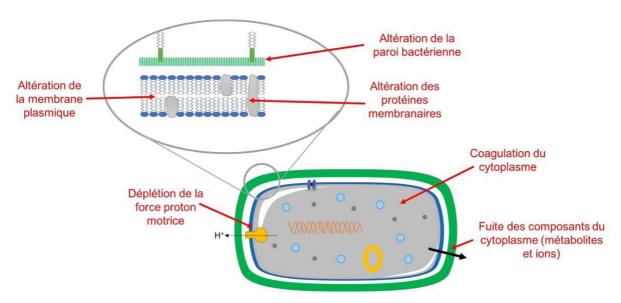


Figure 38 : Mécanisme d'action de l'huile essentielle sur la bactérie (Arnaud, 2018)

1.1.3. Méthodes de l'évaluation de l'activité antibactérienne des HE

A) Méthode par diffusion sur milieu solide « de disque » :

Cas de l'aromatogramme: L'aromatogramme est un moyen de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des huiles essentielles chymotypées. C'est un examen de laboratoire qui ressemble à un antibiogramme mais où les antibiotiques sont remplacés par des huiles essentielles préalablement sélectionnées et de composition biochimique connue grâce à des analyses de laboratoire (chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse) (Robins, 2015).

Cette technique semblable à l'antibiogramme qui permet de tester les antibiotiques est appelée « méthode des disques ». L'aromatogramme permet de déterminer l'efficacité in vitro des huiles essentielles. Les résultats obtenus permettront de préparer avec précision une synergie d'huiles essentielles afin de lutter contre le germe en cause.

L'aromatogramme, principe de fonctionnement : On ensemence une boite de Pétri avec le germe à étudier. Différentes huiles essentielles sont mises en contact direct ou indirect, puis la boite est mise en étuve. Au bout de quelques heures, le résultat est déjà visible (Figure 39). La mesure du halo d'inhibition que crée chaque huile essentielle autour d'elle (Figure 40) est mesurée en mm et retranscrite en – (inactive), + (faiblement active), ++ (activé moyenne), +++ (active) et ++++ (très active) (Robins, 2015).

Interprétation de l'aromatogramme: Le halo est la marque physique de la destruction des bactéries pathogènes et sa dimension est un indicateur précis de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle étudiée (Eurveilher, 2019).

L'aromatogramme représente un point de repère et même un point de comparaison majeur sur l'efficacité antibactérienne des huiles essentielles puisque sa technique est strictement identique à celle utilisée pour mesurer l'action bactéricide des antibiotiques (Robins, 2015).

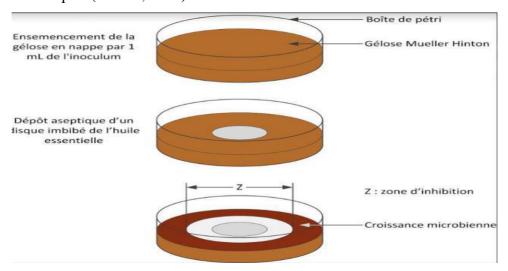


Figure 39 : Halo d'inhibition de croissance bactérienne sur gélose (Boubrit et Boussad, 2007).



Figure 40: les taches blanches correspondent au halo d'inhibition (Eurveilher, 2019).

B) Méthode par micro atmosphère : Dans cette technique, le disque imprègne est déposé au centre du couvercle de la boite de Pétri renversée pendant la durée de l'expérience (Figure 41). Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélose (Pibiri ,2005).

Il se produit une évaporation des substances volatiles dans l'enceinte de la boîte. La lecture des résultats de ce test porte sur la croissance ou non de l'inoculum, se traduisant par un halot qui sera mesuré par un pied à coulisse. Cette méthode ne quantifie pas l'activité antimicrobienne réelle des huiles essentielles, elle met en évidence seulement la sensibilité du microorganisme testé aux constituants volatils à la température d'incubation (Lakhdar, 2015).

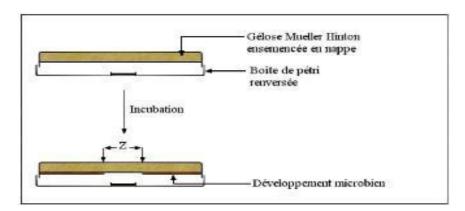


Figure 41: Méthode par micro atmosphère (Boubrit et Boussad, 2007).

- C) Méthode de diffusion sur liquide : Les méthodes de dilution peuvent être réalisées de deux manières dilution en bouillon et dilution en gélose.
 - Méthode de diffusion sur gélose « méthode de puits » : C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet antimicrobien. Elle est aussi appelé la technique de « dilution en gélose » pour la détermination des extraits actifs. Des puits (d'environ 6mm) sont creusés dans la gélose et dans lesquels seront coulées une quantité d'huile essentielle pure ou diluée ; après incubation, des zones d'inhibition de croissance bactérienne sont obtenues (pour les huiles actives) et mesurées (Dorman et Deans, 2000) (Figure 42). Pour cette technique, la sensibilité du germe testé peut être évaluée selon le diamètre d'inhibition obtenu. En effet, la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm. Elle est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm, et moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible (Duraffourd et al.,1999).

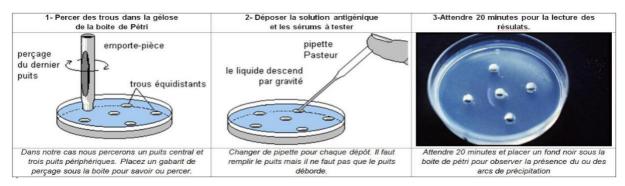
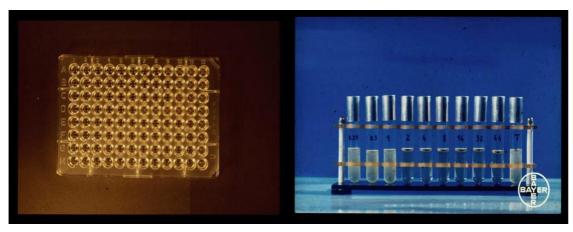


Figure 42: Méthode de diffusion en puits (Boubrit et Boussad, 2007).

- **Dilution en bouillon :** La méthode de dilution en bouillon peut aussi se décliner en 2 techniques distinctes : soit en tube, appelée « **macro méthode en milieu liquide** » ; soit en plaque à 96 puits (fond en « U »), appelée « **micro méthode en milieu liquide** » (Figure 43).
 - **Test de Micro méthode :** L'incorporation de l'huile essentielle dans le milieu de culture liquide se fait en utilisant un émulsifiant (Tween 80) pour préparer les solutions de l'huile essentielle à la concentration désirée.
 - La détermination de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle se fait au moyen d'une microplaque de 96 puits. La détermination de la CMI est réalisée en faisant appel à un indicateur de croissance en solution (Triphényl Tétrazolium
 - Chloride) (TTC). La croissance bactérienne est indiquée par l'apparition d'une couleur rouge de la solution témoignant de la réduction ou la précipitation du TTC. La CMI est ainsi déterminée par le dernier puits de la microplaque, par ordre décroissant de concentration, qui ne montre aucun changement de couleur. La CMB est calculée en transportant 10 µl des puits ne montrant pas de croissance bactérienne sur un milieu solide. La plus faible concentration tuant 99,9% des micro-organismes en culture sur ce milieu correspond à la CMB (lakhdar ,2015).
 - Test de macro méthode: Le principe est le même que celui du test de microdilution, sauf qu'il est effectué dans des tubes contenant l'huile essentielle, à différentes concentrations, incorporée dans un bouillon de culture liquide. La CMI est déterminée au niveau du dernier tube ne montrant aucune croissance microbienne visible.



Microdilution Macrodilution

Figure 43 : Dilution en milieu liquide (CMI - CMB) (Cavallo,)

1.1.4. Mesure de l'efficacité des HE

Afin de pouvoir comparer entre elles des données obtenues par différentes équipes de chercheurs, des paramètres précis ont été définis.

\LaterightarrowLa Concentration Minimale Inhibitrice (CMI):

C'est la concentration la plus basse d'un produit qui s'oppose à la croissance visible d'une bactérie. La MIC d'un produit est obtenue en préparant des dilutions successives du produit dont on cherche à tester l'activité antibactérienne. Puis on inocule chaque solution avec la même quantité de bactéries à tester. Lorsque, après un temps d'incubation, le tube à essai reste transparent, cela signifie que les bactéries n'ont pas été capables de former des colonies. Lorsqu'il se trouble, c'est que les bactéries se sont développées. Le tube à essai à la concentration la plus faible qui reste transparent après incubation de la bactérie, donne la MIC pour ce produit sur cet agent pathogène (Mann et Markham, 1998) (Figure 44a).

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB): Il s'agit de la plus basse concentration en agent antibactérien requise pour éliminer une bactérie donnée (à 99,9%). Elle est obtenue par dénombrement des bactéries sur milieu gélosé (Figure 44b). Plus la MIC et la MBC sont faibles, plus l'HE est efficace contre le germe testé (Mendoza et al., 1997).

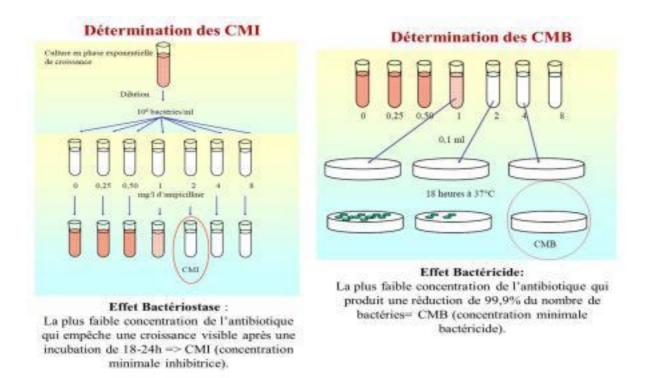


Figure 44 : Protocole de la détermination de la concentration (CMI^a, CMB^b)

(Diène, 2016)

Le Tableau ci-dessous illustre l'importance de la MIC dans la caractérisation de l'efficacité d'une huile essentielle sur une souche bactérienne (Arnaud, 2018).

Tableau 6 : Caractérisation de l'efficacité d'une HE

Huiles essentielles	Microorganisme testé	Mic	
Origaninum vulgare	Escherichia coli	1600-1800ppm	
Origaninum vulgare	Staphylococcus aureus	800-900 ppm	
Melaleuca alternifolia	Escherichia coli Staphylococcus aureus	2500 ppm	
Cinnamomum zeylanicum	Escherichia coli	4000 ppm	
Cinnamomum zeylanicum	Staphylococcus aureus	500 ppm	

Source: Arnaud (2018)

1.2. Activités antifongiques

Les infections fongiques sont très fréquentes dans notre société. Cette extension est largement favorisée par la prescription de manière abusive des antibiotiques, issus en premier lieu de champignons microscopiques. Les groupes de molécules aromatiques citées comme antibactériens sont également actifs sur les champignons.

Les constituants actifs sont : les phénols monoterpéniques et aromatiques, les alcools monoterpéniques, des aldéhydes aromatiques et monoterpéniques, les lactones...

Par exemple:

- Candida albicans est sensible aux HE d'Origan, de Cannelle de Ceylan, de Thym vulgaire à thymol.
- Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale (onychomycosesn « pied d'athlète ») est sensible aux HE de Sarriette et d'arbre à thé.
- Pityriasis versicolor est sensible aux HE de Lemongrass (le plus actif) et de l'arbre à thé (Laurent ,2017).

Selon l'étude effectuée par (Yabrir , 2018), le test utilisé pour la détermination de cette activité antifongique est similaire à ce qui a été décrit précédemment avec quelques modifications:

- le milieu de culture utilisé dans ce cas est : la gélose Sabouraud pour la levure et la gélose Sabouraud chloramphénicol pour la moisissure.
- La température et la durée d'incubation varient en fonction de chaque souche testée. Ainsi, pour Candida albicans 37°C pendant 24h, et pour *Aspergillus flavus* 28°C pendant 72h.

1.3. Activités antivirales

Les activités antivirales des huiles essentielles ont été étudiées avec des méthodes scientifiques performantes et viennent confirmer les pratiques des spécialistes. Pour autant, elles doivent être utilisées avec pertinence, et encore plus dans le contexte très encadré du Covid-19. Nous faisons le point, en détaillant l'activité antivirale suite à plusieurs études qui ont travaillé sur l'impact des HE sur les virus. « Que peut -on dire alors des virus à l'heure actuelle ? »

De très nombreuses familles chimiques ont révélé des activités antivirales in vitro. C'est le cas des phénols monoterpéniques ou aromatiques (difficiles à utiliser, car dermo- et hépatotoxiques), des alcools monoterpéniques ainsi que des aldéhydes monoterpéniques et aromatiques.

L'activité antivirale découle de la liposolubilité des HE, ce qui leur permet de pénétrer dans l'enveloppe virale riche en lipides. Les HE sont plus actives sur les virus enveloppés car ils sont plus fragiles que les virus nus.

Les Coronavirus (Figure 45) (ainsi que les virus de la grippe (Figure 46), de l'influenza, de l'hépatite C, et du V.I.H.) sont aussi des virus enveloppés, ce qui signifie qu'ils sont couverts par une membrane de matière cellulaire prise à leurs cellules hôtes et le contenu génétique est organisé en ARN simple (Plamondon, 2020).

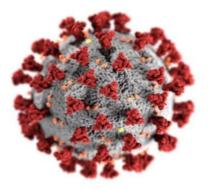


Figure 45 : Corona virus (Yang et al., 2020).

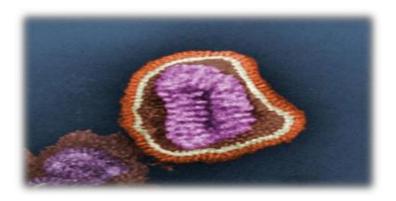


Figure 46 : Virus de la grippe (Arnaud, 2018)

Bien qu'il soit impossible à l'heure actuelle de prétendre que certaines molécules aromatiques agissent directement sur le SARS-CoV-2, le coronavirus à l'origine de la maladie COVID-19, puisque son apparition est encore trop récente, il peut être intéressant de recourir à des huiles essentielles qui sont reconnues efficaces dans la prévention et la diminution des symptômes reliés à d'autres types d'infections respiratoires qui s'y apparentent, notamment des huiles immunostimulantes et antivirales. Ils sont donc particulièrement efficaces envers les virus herpes simplex, VHS-1 (herpès labial) et VHS-2 (herpès génital).

Il existe une synergie d'action entre cinéol et monoterpénol, cette association est fréquemment rencontrée dans les HE issues de la famille des Myrtacées (ex. : Arbre à thé, Niaouli et Cajeput). Ce couple est très utile pour traiter des pathologies virales touchant la sphère respiratoire. De même, le couple « oxyde de linalol et linalol » que l'on retrouve dans l'HE d'Hysope des montagnes présente une puissante activité antivirale au niveau respiratoire. Les aldéhydes, en usage interne ou en diffusion atmosphériques, sont de bons compléments dans le traitement des infections virales (Laurent ,2017).

- a) Mécanisme d'action des HE sur les virus : Les HE sont susceptibles d'agir contre les virus par trois mécanismes distincts :
 - ✓ **Activité virucide :** les HE entrainent la destruction directe des virus.

Activité anti-adsorption : les HE empêchent le contact entre les virus et les cellules hôtes (phase d'adsorption et de pénétration) en modifiant les protéines virales reconnues par la cellule hôte (Tesserand, 2020).

Activité anti-réplication: les HE empêchent la formation de nouveaux virions par la cellule hôte infectée (phase d'éclipse) en bloquant la machinerie cellulaire de synthèse protéique. C'est le mode d'action de l'aciclovir, molécule fréquemment prescrite en cas de crise d'herpès labial (Arnaud,2018).

La figure ci-dessous a été obtenue en mettant à incuber des HE, une souche virale (le virus de l'herpès de type 1, abrégé HSV1) et une cellule hôte à différents moments pour étudier le mode d'action de l'HE.

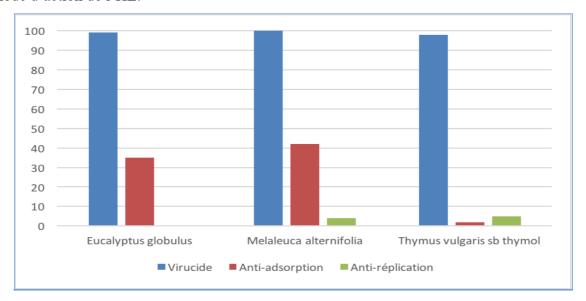


Figure 47: Exemple d'action de certaines huiles essentielles sur les virus (Arnaud, 2018)

Ces mêmes chercheurs ont poussé l'étude un peu plus loin, en analysant le potentiel antiviral des molécules présentes dans les HE, et non du totalité (Figure ci-dessous).

Il ressort de cette étude que beaucoup de composés aromatiques ont un potentiel virucide, mais que parmi les composés testés, les seuls à présenter une activité anti-réplication significative sont l'alpha-pinène et le 1,8 cinéole.

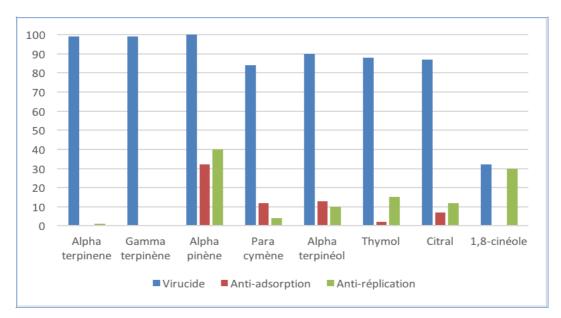


Figure 48 : Action de quelques composés aromatiques sur les différents stades de l'infection par un HSV (Arnaud,2018)

D'autres études ont abordé le mécanisme d'action antivirale de ces HE. Celles de *Melaleuca alternifolia, Thymus vulgaris* sb thymol, et *Eucalyptus globulus* dénaturent les protéines de structure du virus, aboutissant à la perte du pouvoir infectant. Une autre équipe a mis en évidence que les huiles essentielles de clou de girofle et d'origan compact dégradaient l'enveloppe des virus. Ainsi désorganisée, l'enveloppe virale n'est plus reconnue par la cellule hôte, qui ne laisse donc pas entrer la particule virale dans son cytoplasme. (Arnaud, 2018).

En conséquence, les infections à virus nus (comme les adénovirus, ou celui de l'hépatite A, par exemple) sont plus difficiles à combattre car ils disposent d'une cible potentielle de moins pour les HE. Ainsi, il est difficile de généraliser sur l'action des HE contre les virus, car leur sensibilité aux molécules aromatiques dépend de leur structure qui est elle-même très variable (Arnaud, 2018).

Les études précédentes sont intéressantes pour comprendre le mode d'action des huiles essentielles sur les virus, mais elles présentent aussi de grandes limites : l'une d'elle est que les résultats ne sont pas généralisables, puisqu'ils sont obtenus à partir de l'étude d'une seule souche virale (HSV1).

• Les HE de Ravinstara, Palmarosa, Niaouli :

Le trio *Cinnamomum camphora / Cymbopogon martinii / Melaleuca quinquinervia* est une synergie très efficace contre la plupart des infections virale. En effet, en associant des oxydes (1,8-cinéole), des monoterpénols (géraniol et alpha-terpinéol) et des monoterpènes variés (alpha-pinènes, entre autres), l'infection virale est attaquée sur tous les fronts (Arnaud,2018).

• Les autres HE anti-virales :

- o L'HE *de Melaleuca alternifolia* (tea tree, qui contient entre autres, du paracymène, du gamma terpinène et du 1,8 cinéole)
- Les HE issus de conifères (pins, sapins ou cyprès) et les HE riches en 1,8-cinéole (Eucalyptus globulus, Eucalyptus radiata, Laurus nobilis, Rosmarinus officinalis sb cinéole...).
- o Eucalyptus citriodora qui contient du citronellal ou la litsea cubeba qui contient du citral).
- o Thymus vulgaris *sb linalol, Aniba rosaeodora...*).(Laurent,2017).
- Les HE à diffuser pour assainir l'air : Les HE riches en monoterpènes (issus de conifères ou des agrumes) ou en oxydes, ayant une action virucide, pourront lutter contre la prolifération des virus dans l'air ambiant.(Arnaud ,2017).

1.4. Activités antiparasitaires

Ce sont les phénols qui présentent l'action la plus puissante contre les parasites, suivis par les alcools monoterpéniques. Certains oxydes comme l'ascaridol sont très spécifiques de la lutte antiparasitaire.

Enfin les cétones ont une activité antiparasitaire bien établie, mais leur utilisation doit se faire avec précautions car ils présentent une certaine neurotoxicité. Cette action est renforcée par l'association cétones/lactones dans l'HE (Laurent ,2017).

1.5. Activités anti inflammatoires

L'inflammation est un processus complexe induit soit par un foyer infectieux, soit par un traumatisme (articulaire, musculaire, circulatoire, etc.), soit par disfonctionnement de glandes endocrines (Charie, 2019).

Action anti-inflammatoire par élimination du foyer infectieux :

- Action indirecte « immuno-modulante ».
- Action directe par neutralisation du surplus de charges positives des foyers inflammatoires.

C'est le mode d'action des esters terpéniques, des sesquiterpènes ou des aldéhydes terpéniques.

Action anti-inflammatoire par hyperémie :

Certaines huiles essentielles peuvent générer un échauffement local (hyperémie). Cette dernière action accélère localement l'apport de flux sanguin et l'arrivée des globules blancs et des leucocytes, ce qui conduit ainsi à une réduction de l'inflammation. L'autre mode d'action sont liées aux aldéhydes terpéniques (Mulon, 2012).

Effet anti-inflammatoire cortisone-like :

Mode d'action au niveau de l'axe hypophyso-cortico-surrénalien : Certains monoterpènes cycliques activent les glandes surrénales, lesquelles vont produire des glucocorticoïdes aux propriétés antiinflammatoires, toniques et neurotoniques (amélioration du métabolisme énergétique). Les huiles essentielles les plus connues sont celles de pin sylvestre (Pinus sylvestris) et d'épinette noire (Picea mariana).

Les effets secondaires possibles sont ceux des glucocorticoïdes. Une utilisation trop fréquente des huiles essentielles peut provoquer par exemple des acidités gastriques, des réductions de l'activité immunitaire, des décalcifications, des réductions de la masse musculaire (Mulon, 2012).

Les molécules concernées sont notamment les aldéhydes monoterpéniques : citrals (néral et géranial), citronellal, curminal. Les aldéhydes sont utiles par voie externe. Ils interviennent par une action hyperémiante en favorisant les mécanismes physiologiques de défense anti-inflammatoire naturelle impliquant les leucocytes. Cette activité hyperhémiante est concomitante de la levée des spasmes artériolaires favorisant l'état inflammatoire. Ils modulent également la réponse immunitaire par voie interne (Laurent, 2017).

1.6. Activités antalgiques et antispasmodiques

On compte trois mécanismes d'actions :

L'action musculotrope et neurotrope directe : c'est-à-dire que les phénols méthyléthers interagissent avec la transduction du message nerveux et le bloque soit au niveau de la plaque motrice (jonction neuro-musculaire), soit plus en amont, en inhibant les courants d'ions sodium qui servent à la propagation du message nerveux. (Exemple : huile essentielle d'estragon (estragol).

L'action « contre-irritante froide » : c'est « l'effet glaçon ». L'arrêt de la douleur est provoqué par un refroidissement brusque qui crée une sorte d'anesthésie par le froid. Les huiles essentielles de menthes (menthe des champs et menthe poivrée) sont particulièrement indiquées pour cette fonction.

L'action « contre-irritante chaude » : c'est la stratégie inverse. L'effet vasodilatateur permet d'accélérer la circulation sanguine et de faciliter l'évacuation des toxines à l'origine de la douleur. Les huiles essentielles de clou de girofle ou de gaulthérie couchée sont recommandées (Mulon, 2012).

1.7. Activités calmantes et relaxantes

Les HE peuvent calmer, détendre ou faciliter le sommeil lors d'une diffusion atmosphérique. Les troubles du système nerveux sont un domaine dans lequel les HE ne sont pas assez exploitées. (Laurent ,2017).

On observe trois mécanismes d'action :

• Effet calmant au niveau du « SNC » par transfert de charge.

Les mécanismes à l'origine des ces effets ne sont actuellement pas très bien connus. Le phénomène de transfert de charge est proche de l'effet anti-inflammatoire. Les aldéhydes terpéniques (les citrals du Lippia citriodora – Verveine citronnée) et les esters terpéniques (Chamaemelum nobile – camomille romaine) ont ces effets. (Mulon, 2012).

- Effet calmant au niveau du « SNA » : Les esters aromatiques agissent soit :
- En stimulant le système parasympathique : huile essentielle de marjolaine (*Origanum majorana*) qui implique une mise en repos de l'organisme.
- En calmant le système sympathique avec l'action des esters, tels que l'acétate de linalyle présente dans l'huile essentielle de lavande vrai (*Lavandula augustifolia*) et de lavandin super (Lavandula hybrida super) et l'action des esters nitrés de l'essence de mandarine (Citrus reticulata) (Mulon, 2012).

• L'effet calmant par rééquilibrage du système nerveux

Les alcools monterpéniques jouent un rôle d'équilibrage du système nerveux. Globalement positivant, ces molécules seront soit stimulantes soit calmantes en fonction de l'état de l'individu. C'est le cas du terpinène-1,4-ol et le linalol (lavande vrai) qui sont préconisés en massage pour faciliter l'endormissement et mieux gérer les problèmes d'insomnie. (Mulon,2012).

1.8. Indications thérapeutiques de quelques huiles essentielles

L'efficacité des huiles essentielles varie d'une espèce à l'autre et elle est en fonction de la maladie traitée. Le tableau 7 donne une indication thérapeutique de certaines huiles essentielles ; alors que le tableau 8 récapitule l'activité biologique d'autre huiles essentielles.

Tableau 7 : Quelques grandes HE anti infectieuses

Origan (Origanum compactum)

La plus puissante, elle a le plus large spectre d'action.

Sarriette des montagnes (Satureja montana)

Elle est appréciée contre les infections intestinales et urinaires.

Cannelle de Chine (Cinnamomum cassia), Cannelle de Ceylan (Cinnamomum zeylanicum ou verum)

Les cannelles sont très utilisées pour la sphère intestinale, elles sont aussi reconnues pour leur action antifongique.

Ajowan (Trachyspermum ammi)

Il est très utile contre les parasites.

Giroflier, Eugenia caryophyllata

Elle est particulièrement utilisée pour la sphère buccale. Avec un dosage adapté il peut être un outil assez approprié dans la prise en charge des dysbioses digestives.

Pour les premiers symptômes infectieux

Tea tree ou Arbre à thé (Melaleuca alternifolia)

Il possède un spectre large tout en restant doux facile d'utilisation.

Thym à thujanol (Thymus vulgaris CT thujanol)

Tout spécialement utilisé en cas de rhumes et angines. En prime il soutient et régénère le foie, il active la circulation sanguine et est réchauffant.

Thym à linalol (Thymus vulgaris CT linalol)

Encore plus douce que le thym à thujanol, elle est reconnue pour son action anti-infectieuse et plus facile d'utilisation encore. Le thym à linalol est préconisé comme vermifuge.

Laurier noble (Laurus nobilis)

Un peu plus puissante que les précédentes, elle a un spectre large et une action antalgique. Son usage se porte beaucoup sur la sphère ORL, cutanée et buccale.

Les stimulantes immunitaires <u>Ravintsara (Cinnamomum camphora 1,8 cineoliferum)</u> excellente antivirale et bonne stimulante immunitaire, très appréciée en hiver notamment contre la grippe. Attention chez l'asthmatique.

Saro (Cinnamosma fragrans)

expectorante, antivirale et stimulante immunitaire, elle sert contre les infections virales et bactériennes des voies respiratoires.

Source : Palayer (2020)

Tableau 8 : Tableau récapitulatif de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

Nom de	Anti	Anti	Anti	Anti-	Immuno-	precaution
HE	bacterienne	virale	fongique	parasitaire	stimulante	d'emploi
Origan	++++	+++	+++	+++	+++	++++
Thymus	+++	+++	+++	+++	+++	++++
vulgaris						
Cannelles	++++	+++	++++	++++	+++	+++
Sarriette	+++	+++	+++	+++	+++	++++
Ajouwan	+++	+++	+++	++++	+++	++++
Giroflier	+++	+++	+++	+++	+++	++++
Ravintsar	++	++++			++++	+
a						
Saro	++	+++	++	++	++++	+
Laurier	+++	+++	+++		++	++
noble						
Tea tree	+++	+++	++	+++	+++	+
Thym à	+++	+++	+++		+++	++
thujanol						
Thym à	+++	+++	+++	+++	++	+
linalol						

Source: Palayer (2020)

2. Activités antioxydantes des huiles essentielles

L'activité antioxydante apparaît à la base de nombreuses propriétés thérapeutiques attribuées aux huiles essentielles et à leurs composants. De ce point de vue, elle est peut-être une des plus importantes puisque le stress oxydatif est à l'origine de nombreuses pathologies (Figure 49).

De plus, « Si les huiles essentielles sont des piégeurs de radicaux libres, ce sont aussi des agents anti-inflammatoires, car une des réponses inflammatoires est une « explosion oxydative » qui se produit dans les cellules du système immunitaire, y compris les monocytes, les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages. Les espèces réactives de l'oxygène sont considérées comme l'un des plus puissants stimulants de la réaction inflammatoire. » (Géraldine,2020). Elle s'exerce soit par capture directe des radicaux libres, soit par activation des mécanismes antioxydant des cellules. Cette activité biologique antioxydante est due à la présence de composés comme les phénols qui peuvent ralentir ou arrêter l'oxydation de la matière organique. Même si des huiles essentielles exemptes de composés phénoliques exercent aussi cette activité antioxydante (Amorati ,2013).



Figure 49 : schéma représentatif du stress oxydatif (Narbonne, 2020).

2. 1. Qu'est-ce qu'un antioxydant?

Les antioxydants sont des substances qui prolongent la durée de conservation des denrées alimentaires en les protégeant des altérations provoquées par l'oxydation, telles que le rancissement des matières grasses et les modifications de couleur (Règlement CE/1333/2008). Les antioxydants sont capables de limiter les réactions d'oxydation, mécanisme complexe qui met en œuvre un enchaînement de réactions, radicalaires pour la plupart (Géraldine ,2020) (Figure 50).

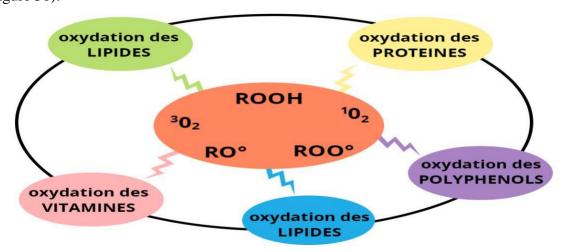


Figure 50 : Mécanisme de la réaction d'oxydation (Géraldine, 2020).

2. 2. Huiles essentielles antioxydantes

Certaines huiles essentielles sont également d'excellents antioxydants. Elles agissent à deux niveaux (Figure 51):

- Action antioxydante directe: par une neutralisation directe des radicaux libres déjà formés (eugénol, menthol, carvacrol, thymol, 1,8 cinéole, salicylate de méthyl, γ-terpinène). L'huile essentielle d'ail (Allium sativum), de par les composés soufrés qu'elle contient, présente une forte activité antioxydante; malheureusement son odeur est au moins aussi désagréable que son potentiel thérapeutique...
- > Action antioxydante indirecte : par une activation des mécanismes cellulaires de neutralisation des radicaux libres (cinnamaldéhyde, citral, safranal).

Par ailleurs, les huiles essentielles de carvi, fenouil, ou gingembre permettent de stimuler les systèmes antioxydants intrinsèques à la cellule (Arnaud ,2018).

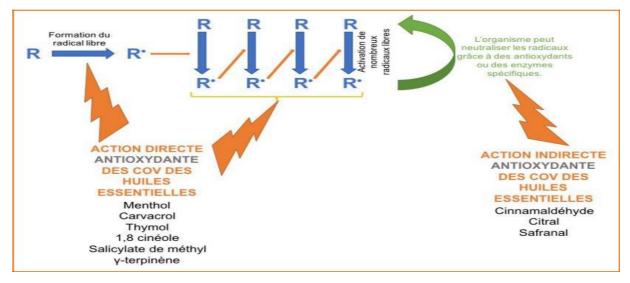


Figure 51: Action antioxydante des huiles essentielles (Arnaud, 2018).

Malgré cette action isolée des molécules aromatiques, on ne peut pas réduire l'action antioxydante d'une huile essentielle à l'un de ses composés, même s'il est majoritaire. Il existe là encore, une activité *synergique* des différents COV contenus dans une HE.

Tomaino et son équipe, dans leur étude de 2005, ont comparé le potentiel antioxydant de plusieurs huiles essentielles. Ils ont établi le classement suivant : clou de girofle > cannelle écorce > noix de muscade > basilic > origan compact > thym à thymol.

L'utilisation de ces huiles essentielles est donc particulièrement indiquée lorsque l'on cherche à neutraliser un excès de radicaux libres, et à limiter leurs effets délétères (Arnaud,2018).

2.3. Evaluation de l'activité anti oxydante des HE

Différentes techniques permettent d'évaluer in-vitro et in-vivo l'activité antioxydante des huiles essentielles. Une étude a examiné 25 huiles essentielles en utilisant cinq tests différents. Dans cette étude, l'huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris*) présente la plus forte activité antioxydante (80-100 %) à tous les tests sauf un. L'huile essentielle de feuilles de giroflier (*Eugenia caryophyllata*) montre des résultats proches (53-100%). Les autres huiles essentielles ont une activité antioxydante plus ou moins puissante selon les tests. L'auteur conclue que certaines huiles essentielles possèdent une forte activité médicinale, qui peut être utilisée pour le traitement de certaines maladies (Géraldine, 2020).

Un des tests, le <u>DPPH (1,1</u>, diphenyl-2-picrylhydrazyl) étant présenté comme le plus utilisé car le plus simple (Yemeda et al.,2014). Toutefois, une étude ultérieure a relevé le manque de pertinence de certains tests d'évaluation de l'effet antioxydant des huiles essentielles (Alfreda et Takayuki, 2010).

Les principes des tests les plus utilisés pour la détermination de l'activité antioxydante des huiles essentielles seront ainsi décrits :

a) Méthode de DPPH°: Le test DPPH° permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle (Chenni, 2016) (Figure 52).

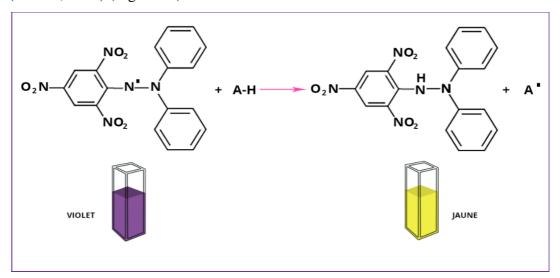


Figure 52 : Mécanisme d'inhibition du radical DPPH°

La réduction du DPPH° est facilement mesurée par spectrophotométrie à 515 nm. La réaction sera plus ou moins rapide selon la nature de l'antioxydant, et la quantité de DPPH-H formée dépendra de la concentration en antioxydant (Geraldine, 2020). Le protocole est ainsi décrit :

MODE OPERATOIRE Test DPPH°

(Géraldine, 2020)

Matériel et réactifs

- o -Verrerie, pipettes...
- Spectrophotomètre visible et cuves
- -Ethanol96°(qualité spectrophotométrie ou HPLC)
- o Solutions de DPPH° (M=394,3 g/mol) : solution mère à 6.10⁻³ mol/L, stable à -18 °C pendant 1 semaine : peser 0,0236 g de DPPH° dans une fiole jaugée de 10 mL, compléter avec de l'éthanol et placer dans un bain à ultrasons pendant 15 minutes à température ambiante.

solution fille à 6.10⁻⁵ mol/L,

à préparer extemporanément par dilution au 1/100 dans l'éthanol 96° de la solution mère de DPPH°. Vérifier que l'absorbance à 515 nm de cette solution est comprise entre 0,6 et 0,7.

Antioxydants : solutions à préparer dans l'éthanol 96° (vérifier qu'elles n'absorbent pas à 515 nm).

Protocole

- -Faire le zéro du spectrophotomètre avec de l'éthanol 96°.
- -Dans une première cuve spectrophotométrique, placer 3 mL de la solution fille de DPPH° à 6.10⁻⁵ mol/L.

Ajouter 77 µL d'éthanol 96°.

Mélanger par retournement. Déclencher le chronomètre et mesurer régulièrement l'absorbance à 515 nm (ex : chaque minute pendant 15 minutes puis toutes les 15 minutes).

Cette cuve sera appelée **cuve témoin** et sera conservée à l'obscurité entre deux mesures.

- -Dans une seconde cuve spectrophotométrique, placer 3 mL de la solution fille de DPPH° à 6.10⁻⁵ mol/L. Ajouter 77 μL de solution contenant l'antioxydant (molécule pure ou extrait). Déclencher le chronomètre et mesurer régulièrement l'absorbance à 515 nm (ex : chaque minute pendant 15 minutes puis toutes les 15 minutes jusqu'à atteinte d'une valeur constante). Cette cuve sera appelée **cuve échantillon** et sera conservée à l'obscurité entre deux mesures.
- -Préparer autant de cuves spectrophotométriques que d'échantillons antioxydants à tester (différentes concentrations, différents antioxydants).

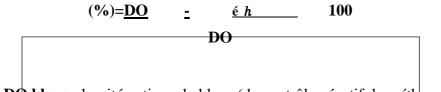
Analyse des résultats

- Pour chaque concentration en antioxydant, tracer la courbe représentant l'évolution du DPPH° résiduel en fonction du temps et extraire la valeur atteinte au plateau.
- Reporter ces valeurs sur un graphe en fonction de la concentration en antioxydant .il
 s'agit de la « courbe effet dose ».
- Oéterminer la valeur de « concentration CE50, Concentration nécessaire pour réduire 50% du DPPH° initial. Suivant le type d'antioxydant testé, on exprime le CE50 en mole /L (antioxydant pur) ou en g/L (extrait végétaux) (Géraldine,2020).

Expression des résultats

• Calcul du pourcentage d'inhibition :

Le pourcentage d'inhibition est donné par la formule suivante (Dojindo,2020) :



- **DO blanc:** densité optique du blanc (du contrôle négatif, le méthanol)
- **DO échantillon**: densité optique de l'échantillon .

• Calcul des concentrations efficaces CI50 :

La concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH, la CI50 (concentration inhibitrice de 50 %) ou encore EC50 (Efficient concentration 50), est déterminée graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés (pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des fractions testées) (Figure 53). Plus la CI50 est faible plus l'activité anti oxydante est élevée (Chenni, 2016).

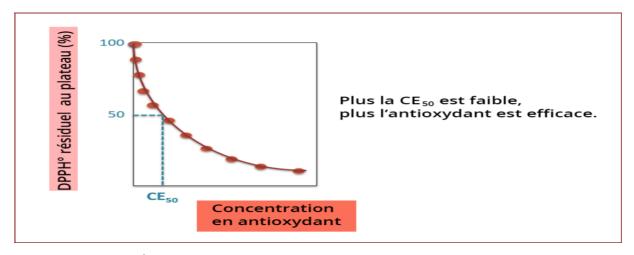


Figure 53 : Détermination de la concentration en antioxydant (Géraldine, 2020)

b) Méthode de l'ABTS: Il s'agit d'une méthode analytique qui utilise une mesure spectrophotométrique pour déterminer la capacité antioxydante d'un échantillon. Un spectrophotomètre UV-Vis est utilisé pour mesurer l'absorbance d'une solution contenant le radical ABTS•+, générée par l'oxydation de l'ABST (2, 2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate), substance incolore radicalica est coloré en absorbant les longueurs d'onde caractéristiques dans le domaine visible. L'ajout de molécules antioxydantes à la solution ABTS•+, qui peut agir à la fois sur l'hydrogène et sur un transfert d'électrons, détermine la réduction du radical en une forme incolore, Cette décoloration, proportionnelle à la quantité d'antioxydant présent, peut être mesurée par une diminution de l'absorption dans un certain temps à une longueur d'onde spécifique (734 nm). Le pouvoir antioxydant s'exprime par comparaison à les valeurs d'absorbance mesurées pour des quantités connues d'une molécule antioxydante choisie comme étalon de référence, généralement l'acide ascorbique ou le Trolox (dans ce cas on parle d'activité antioxydante de la capacité antioxydante équivalente de Trolox de TEAC).

La mesure du pouvoir antioxydant basée sur l'utilisation de l'ABTS présente l'avantage d'être simple et rapide. De plus, il permet la mesure d'antioxydants hydrophiles et lipophiles dans une large plage de pH. Cependant, il convient de garder à l'esprit que le radical utilisé (ABTS • +) n'est pas physiologique et n'est pas présent dans les systèmes biologiques et que des problèmes de répétabilité de mesure dus à la cinétique de réaction des différents antioxydants impliqués sont souvent soulignés.

- c) La méthode de blanchiment du β-carotène : Dans le test du blanchiment du β-carotène, la capacité anti oxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β-carotène(décoloration) par les radicaux peroxyles issus de l'acide linoléique. L'addition d'un antioxydant dans ce système retarde la décoloration du β-carotène. L'auto oxydation de l'acide linoléique n'étant pas toujours reproductible une amélioration est apporté en utilisant la AAPH « Dichlorhydrate de 2,2'-azobis (2-méthylpropionamidine) » comme amorceur de peroxydation lipidique.La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant est suivie à une longueur d'onde de 470nm pendant des intervalles de temps réguliers (Chenni, 2016).
- d) Méthode de ORAC : Le test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) a été développé par Pryor et Cao aux Etats-Unis,

Principe : Cette méthode mesure la dégradation de la fluorescéine (FL: 3',6'-dihydroxyspiro[isobenzofuran-1[3H],9'[9H]-3-one]) induite par la décomposition thermique (37°C) de l'AAPH (2,2'-azobis (2 amidinopropane) dihydrochloride) en deux radicaux libres. La présence d'antioxydants dans l'échantillon en retarde la dégradation. La réaction est standardisée par rapport à des concentrations connues de Trolox connu pour son activité antioxydante (Turbid, 2012).

e) **Méthode de FRAP**: Cette méthode est en tout point complémentaire aux autres tests comme l'ORAC, le TEAC ou le test DPPH.

Principe : Les antioxydants sont déterminés par colorimétrie. Le complexe ferrique-tripyridyltriazine est réduit en la forme ferreux-tripyridyltriazine en présence d'antioxydants; le complexe perd sa couleur jaune pour un bleu foncé. Cette coloration mesurée à 595 nm est proportionelle à la concentration en antioxydants présents dans les échantillons. La méthode est standardisée par rapport au Trolox (Hamdani,2018).

Conclusion et perspectives

Au terme de cette recherche bibliographique, il semble intéressant de mettre en évidence l'importance de la notion primordiale de « concept » dans la définition de l'impact et des vertus d'une huile essentielle, et de préciser que la composition biochimique et aromatiques d'une plante varient en fonction de divers éléments tels que : l'origine géographique, l'altitude, type de sol, climat, ensoleillement, taux d'humidité, la saison etc. On constate que les huiles essentielles ne sont pas standardisées vus de leur complexité moléculaire, actuellement l'Organisation Internationale de Normalisation établit des normes pour chaque huile essentielle qui comprennent une gamme de concentrations acceptables pour ses principaux constituants chimiques.

La définition, elle-même d'une huile essentielle est bien définie et établie, elle est déjà réglementée. On ne peut parler d'une HE, si elle n'est pas obtenue par l'un des procédés d'extraction conventionnées. Aussi, il est à rappeler que les huiles essentielles sont des produits très concentrés et très riches en principes actifs dont le rendement d'extraction est très faible et par conséquent l'obtention d'un litre d'huile essentielle par exemple nécessite une quantité très importante (des tonnages) de la plante correspondante. Comme l'HE, d'autres extraits aromatiques sont obtenus par d'autres techniques extractives très variées, en jouant sur le solvant d'extraction entre autre et dont les usages diffèrent.

Le savoir-faire ancestral et les propriétés biologiques des huiles essentielles ont poussé les chercheurs à approfondir les études in vitro et in vivo et à évaluer l'efficacité antimicrobienne et le pouvoir antioxydant des huiles essentielles de même que le développement de résistance des bactéries aux huiles essentielles.

Grâce à la pratique de L'aromatogramme, la connaissance des molécules porteuses de l'activité antibactérienne est désormais assurée selon des critères rigoureux permettant d'exploiter au maximum les propriétés anti-infectieuses des huiles essentielles. De manière générale, 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. 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 effets synergiques. Les molécules actives prises séparément créent des actions spécifiques que l'effet synergique dans l'huile essentielle potentialise et multiplie. C'est ce mélange si spécifique et inimitable qui donne aux huiles essentielles ces propriétés.

Pour ce qui est des méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne, la bibliographie montre qu'il existe un certain nombre de méthodes différentes utilisées pour cette raison ; chaque méthode présente des avantages et des limites et toutes ont été largement citées dans la littérature. Cependant, il n'y a pas de méthode unique utilisée par tous les chercheurs et aucune étude approfondie pour déterminer quelle est la meilleure méthode pour les tests in vitro. Ainsi, la question de savoir laquelle est la meilleure à utiliser est essentiellement sans réponse, car les méthodes préférées dépendent de divers facteurs, notamment l'accès à des équipements et des installations spécialisées, le nombre d'échantillons à analyser et la nature de l'extrait de plante.

En ce qui concerne l'activité antioxydante, celle-ci est généralement due à la présence de composés comme les phénols qui peuvent ralentir ou arrêter l'oxydation de la matière organique. Même si des huiles essentielles sont exemptes de composés phénoliques, elles peuvent aussi exercer cette activité anti oxydante.

Les études sur les antioxydants naturels sont devenues aujourd'hui l'un des sujets les plus populaires dans le domaine de l'alimentation et de l'agriculture. En conséquence, de nombreux tests pour l'étude de l'activité antioxydante ont été développés et appliqués. Chacun présente des avantages et des inconvénients, ce qui a conduit que la majorité des études ont utilisé au moins deux types de tests différents voir une combinaison de tests, en fonction du potentiel antioxydant attendu et / ou de l'origine de la substance, pour éliminer les électrons ou les radicaux. Ainsi, il n'y a pas d'approche raccourcie pour déterminer l'activité antioxydante. Chaque évaluation doit être effectuée dans diverses conditions d'oxydation en utilisant plusieurs méthodes pour mesurer différents produits d'oxydation. Par conséquent, les tests antioxydants devraient être normalisés pour minimiser les écarts dans les méthodologies. Des méthodes spécifiques doivent être utilisées pour obtenir des informations chimiques pouvant être directement liées à la détérioration oxydative des systèmes alimentaires et biologiques.

Enfin et d'une manière générale, les méthodes spectrophotométriques sont les plus fréquemment utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante in vitro, entre autre la méthode au DPPH, étant présenté comme le plus utilisé car le plus simple.

Perspectives

Afin d'étendre nos connaissances sur l'efficacité des produits bioactifs naturels et explorer leur application, les recherches doivent répondre et se concentrer sur les enjeux, les perspectives et les défis en matières d'huiles essentielles, entre autre :

De nouvelles études sur l'association d'antibiotiques avec des huiles essentielles connues par leur pouvoir antibactérien sont vivement recommandées afin d'aller plus loin dans la recherche concernant ce domaine prometteur (synergie huiles essentielles/antibiotiques) et de pallier aux problème d'antibiorésistance;

Harmonisation des techniques de laboratoire en matière d'extraction et d'activité antimicrobienne et antioxydante ;

Financement (moyens humains, matériels et budgétaires) des recherches, encouragement des chercheurs et création d'une banque de données dans le domaine des HE. D'autant plus qu'il existe plusieurs plantes aromatiques inexplorées qu'il faut étudier plus en profondeur, comme il existe encore plusieurs molécules, à identifier et caractériser;

Très peu de recherches toxicologiques et il n'existe que peu d'études cliniques démontrant l'efficacité des huiles essentielles, ce qui mérite plus d'intention.

Chercher des huiles essentielles qui pourraient : conserver les récoltes (protection des denrées alimentaires en période post-récolte) et les produits alimentaires (alternatives aux antioxydants de synthèse) ; remplacer les insecticides destructeurs actuellement sur le marché (alternatives biologiques et naturelles aux insecticides chimiques.

Trouver une solution à la non solubilité des HE dans l'eau, en vue de formulation thérapeutiques, cosmétiques ou nutritionnelles ; ou encore encapsulation des formes huileuses (poudre soluble dans l'eau) que l'on peut utiliser par les fabricants de l'alimentation animale, dans le domaine vétérinaire et de l'élevage, par exemple.

Enfin, la pandémie actuelle liée au coronavirus COVID-19 nous laisse poser la question de l'intérêt de l'utilisation des HE dans la stratégie thérapeutique de lutte contre les infections respiratoires virales.

Références bibliographiques

Alane H. (2020). L'art de l'enfleurage. https://www.helenalane.com/enfleurage/ Consulté le 23/06/2021

Albert V. (2019). Lexique hydro distillation. Site industriel. https://www.albertvieille.com/fr/ Consulte le 24/06/2021

AlbertV.(2020). Distillation par entrainement à la vapeur d'eau. https://www.albertvieille.com/fr/ Consulté le 25/06/2021

Albert V. (2020). Distillation sèche. https://www.albertvieille.com/fr/Consulté le 29/06/2021

Alfreda W., Takayuki S. (2010). Antioxidant Lipoxygenase Inhibitory compositions of selected essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57, 1655–7225.

Amorati R., Foti M C., Valgimigli L. (2013). Antioxidant activity of essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(46), 10835-10847.

Arnaud. (2018). Les huiles essentielles anti oxydantes. https://laboratoiredumani.fr/huiles-essentielles-antioxydantes/Consulté le 09/07/2021

Arnaud. (2018). Le mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries. https://laboratoiredumani.fr/huiles-essentielles-antioxydantes/Consulté le 09/07/2021

Arnaud. (2021). Qu'est ce qu'une huile essentielle à chémotype ? https://blog.soin-et-nature.com/fr/Consulté le 29/05/2021

Asfaw N., Licence P., Novitskii A A., Poliakoff M. (2005) .Green chemistry in Ethiopia: the cleaner extraction of essential oils from *Artemisia afra*: a comparison of clean technology with conventional methodology. Green Chem 7:352–356

Aura I. (2021). Alambics distillateurs inox. https://distillateur-inox.fr/méthodes de distillation/ hydro distillation/Consulté le 29/06/2021

Baudoux D. (2017). Aromathérapie. Collection : <u>Les nouveaux chemins de la santé</u>, Éditeur : <u>Dunod</u>. p. 37 -38. https://www.cairn.info/aromatherapie/ Consulté le 04/06/2021

Beneteaud E. (2011). Les techniques d'extraction.doc. Ressource comité française de parfum. p. 2. https://eduscol.education.fr/Consulté le 23 /06/2021

Bosson L. (2020). Phénol l'alchimie des senteurs .<u>https://alchimiedessenteurs.fr</u> / Consulté le 12/05/2021

Boubrit S., Boussad N. (2007). Détermination du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'Eucalyptus, Myrte, Clous de girofle et Sarriette, et leur application à la conservation de la viande « viande hachée ». Mémoire d'ingéniorat d'état en biologie .Contrôle de qualité et analyses. Université Mammeri Mouloud de Tizi-Ouzou. http://e-biblio.univ-mosta.dz/Consulté le 12/07/2021

Boukhatem M N ., Ferhat A .,Kameli A .(2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles. Revue Agrobiologia:1653-1659 .www/agrobiologia.net/Consulté le 24/06/2021

Bounaouli D. (2016). Extraction et identification des huiles essentielles. Mémoire de Master .Contrôle de qualité .Université Boudiaf Mohamed. Oran. p .11. https://www.univ-usto.dz/faculte/fac-chimie/ Consulté le 01/07/2021

Bousbia N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaire. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique. Université d'Alger. (176pages). p .14. Tel.archives-ouvertes.fr/Consulté le 01/07/2021

Brada M .,Bezzina M .,Marlier M .,Carlier A ., Lognay G. (2007). Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de Mentha rotundifolia du Nord de l'Algérie.Biotechnology, Agronomy, Society and Environment .p 11 . www.researchgate.net Consulté le 27/04/2021

Capron I. (2020). Qu'est-ce-que-le-chymotype-dune-huile-essentielle. https://www.linkedin.com/pulse/ Consulté le 29/05/2021

Cavallo J-D.(2015).Lecture interprétative de l'antibiogramme .p .20.www.infectiologie.com/ Consulté le 12/07/2021

Charie T. (2019). Les huiles aux propriétés antibactériennes .Théophane de la Charie, et l'équipe de la Compagnie des Sens. https://www.compagnie-des-sens.fr/anti-inflammatoires-huiles-essentielles/Consulté le 10/07/2021

Chemat F., Lucchesi M. (2005). Extractions assistées par-micro-ondes des huiles essentielles et des extraits aromatiques .p .78 ,81- 82 .<u>https://docplayer.fr/14800011-/Consulté le 27/06/2021</u>

Chemat F., Kamran Khan M., Abert-Vian M., Fabiano-Tixier AS., Dangles O. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (Citrus sinensis L.) Food chemistry119.851-858. https://scholar.google.fr/Consulté le 20/06/2021

Chemat S. (2005). Contribution à l'étude de l'extraction de la carvone et du limonène à partir des graines de carvi selon des procédés conventionnels ultrasons et chauffage microondes. Thèse de Doctorat .Chimie industrielle (144 pages) .p .38./ Consult 26 é le/06/2021

Chenni M. (2016). Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic « Ocimum basilicum L. Thèse de doctorat .chimie moléculaire : Analyse, modélisation , synthèse .Université Ahmed Ben Bella Oran. (185. pages) . p .112 ,114. htpp//theses.univ-oran1.dz /Consulté le 10/07/2021

Christelle. **(2018)** .Comment choisir une huile essentielle ou une essence ?A r o m a t h é r a p i e . https://xn--espritsantnature-kqb.com/ Consulté le 29/05/2021

Couic-Marinier F. (2015). Chimie des huiles essentielles, aromathérapie, phytothérapie . https://www.au-bonheur-d'essences.com/ Consulté le 13 /05 /2021

Couic-Marinier F., Lobstein A. (2013). Les huiles essentielles à l'officine, n° 525, p. 21. https://www.em-consulte.com/ Consulté le 17/05/2021

Craveiro A., Matos F.J.A., Alencar J-W; Plumel M. (1989) . Microwave oven extraction of an essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, p. 4, 43-44.

Deshepper R (2017) . Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion chymotype en aromathérapie . Thèse de Doctorat en pharmacie . Université Aix — Marseille. (172 pages). p, 26-27, 34 ,37 -38 .www/dumas .ccsd .cnrs .fr /Consulté le 25/06/2021

Diène S. (2016). Détermination de la sensibilité et de la résistance-des agents antibactériens .AEMIP.<u>https://fr.readkong.com/page/determination-de-la-sensibilite-et-de-la-resistance-des-4339715/Consulté le 09/07/2021</u>

Djazer H. (2014). Extraction et analyse physico- chimique et effet antimicrobien des huiles essentielles et de l'extrait méthanolique du Romarin « Rosmarinusofficinalis. L de deux régions Blida-Djelfa. Mémoire de Master Phytopharmacie, Biotechnologie .Université de Blida .(98 pages). p. 26, 28.http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/ Consulté le 11/05/2021

Dolatowski Z.J; **Stadnik J.**; **Stasiak D.** (2007) . Applications of Ultrasound in Food Technology. Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria, 6, 89-99.

Dojindo . (2020). DPPH Antioxydant Assay kit . Technical Manuel .japanese version . www.dojindo.co.jp/manual/d678.pdf/Consulté le 08/07/2021

Dorman H J.D., Deans S G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88, 308-316. https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x /Consulté le 07/07/2021

Duraffourd C ; **D'Hervicourt** L ;**Lappraz** J C.(1990). Cahiers de phytothérapie clinique. Examen de laboratoire galenique. Elements thérapeutiques synergiques. 2ème édition Masson (Paris), 87 pp.

Duval L. (2012). Les huiles essentielles à l'officine. Thèse de docteur en Pharmacie. Université de Rouen. https://Tel.archives-ouvertes.fr/ Consulté le 17/06/2021

Elhaib A. (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de Doctorat chimie organique et catalyse. Université: Toulouse III. Paul Sabatier . (195 pages). p .9-10. https://docplayer.fr/ Consulté le 15/05/2021

Eric DR. (2021). Les molécules des huiles essentielles. Aroma Pratique . https://formations.gaiarome.com/ Consulté le 4/05/ 2021

Eurveilher N. (2012). Infection bactériennes –antibiotiques et huiles essentielles. https://www.nathydeurveilher.com/infections-bacteriennesantibiotiques-et-huiles-essentielles/2/Consulté le 07/07/2021

Eurveilher N. (**2019**). Infection bactériennes –antibiotiques et huiles essentielles. Mécanisme de l'activité antimicrobienne et bactéricides des huiles essentielles. https://www.nathydeurveilher.com/infections-bacteriennesantibiotiques-et-huiles-essentielles/2/ Consulté le 07/07/2021

Fernandez X ., Chemat F ., Tien do. T K. (2012) . Les huiles essentielles . Vertus et application. Vuibert. p .10, 11.

Festy D. (2020). Qu'est ce que c'est chymotype d'une huile essentielle ? https://www.mes-beautips.fr/cosmetique-maison/actifs/he/chemotype/ Consulté le 17 /05 / 2021

Fontanay S ; Mougenot M- E ; Duval R E. **(2015).** Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires .<u>Hegel2015/2 (N° 2).p</u> . 109 - 118. https://www.cairn.info/revue-hegel-2015-2-page-109.htmConsulté le 4 /07/ 2021

Franchomme P. (2019). Extraits CO2: des huiles essentielles plus riches .www.pierrefranchomme-lab.com /Consulté le 22/06/2021

Gamm vert. (2018).Comment entretenir et cultiver des plantes aromatiques ?https://www.gammvert.fr/conseils/conseils-de-jardinage/tout-sur-plantearomatique./Consulté le 20 / 05/2021

Ganzler K., Salgo A., Valko K.J. (1986). Microwave extraction: a novel sample preparation method for chromatography. Journal of Chromatography, 371, 229-306.

Gaylor E N ., Razafimamonjison D.(2011) . Variabilités chimiques et activités antimicrobiennes des huiles essentielles de Cinnamosmaspp. (Alternative aux antibiotiques en aquaculture de crevette) . Thèse de Doctorat, Industries Agricoles et Alimentaires. p. 35, https://agritrop.cirad.fr/563754/1/ID563754.pdf /Consulté le 23 /O5/2021

Georgiev . (1959). Recherche sur les fumures azotées de la menthe . Zennishat sofia .tome III.

Géraldine. (2020). Activité antioxydante des huiles essentielles. / chimactiv.agroparistech.fr fr aliments. https://www.aromaressources.com/activite-antioxydante-huiles-essentielles/ Consulté le 10/07/2021

Hamdani S. (2018). Etude chimique et activité antioxydante des huiles essentielles des agrumes cultivés dans la région de Tlemcen. Mémoire de Master en Chimie Faculté des Sciences – Département de chimie .Université Abou-Bekr Belkaid – Tlemcen (49pages). /www.dspace.unv-Tlemcen.dz/Consulté le 11/07/2021

Hielscher USA, Inc. (2021). Ultrasonique des huiles essentielles.www.info@hielscher.com/Consulté le 30/05/2021

IDCO.(2020). L'extraction par solvant assistée par micro-ondes(ESMO). http://idco.over-blog.com Consulté/le 25 /05/ 2021

Jean M. (2018). Huiles Essentielles So Fun , Un autre regard sur votre santé physique. file:///C:/Users/Desktop/Document.memoire/ Consulté le 30/04/2021

Jerry Louis J.(2020). Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ,https://nidoessentialoil.com/, consulté, le 8 /05/ 2021

Jeulin. (2020). Appareil Clevenger. Réf 703673. https:///:julin.fr.appareil de clevenger /Consulté le 29/06/2021

Jouault S. (2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Doctorat en pharmacie ,Univ. Lorraine . (147 pages) . p. 19 .25. https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732038/document./Consulté le 13/05/2021

Kaibeck J. (2010). Huile essentielle : définition. https://www.lessentieldejulien.com/2011, consulté le

Kang E. (2011). La nature des huiles essentielles - 2ème partie . https://tpe1s1aromatherapie.wordpress.com/ Consulté le 10 /05/ 2021

Kilani BH H. (**2019**) . Unité de traitement et de transformation des produits Forestiers non Ligneux .Master professionnelle en optimisation et modernisation des entreprises. Université .Virtuelle de Tunis. (**74** pages) . p,25. www/pf-mh.uvt.rnu.tn > 1041 > 1/consulté le 26 juin 2021

Lacroix B. (2020). Guide à l'usage des huiles essentielles dans l'industrie cosmétique. Thèse de Doctorat. Université Toulouse III. Paul Sabatier. Faculté des sciences pharmaceutiques.p. .101. www /Thèse santé.upc-tlse.fr / Consulté le 29juin 2021

Lakhdar L. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS :Etude in vitro . Thèse de doctorat sciences odontologiques .faculté de médecine dentaire de Rabat .centre d'études doctorales des sciences de la vie et de la santé .Maroc. p 44 ,85 .http://docplayer.fr/Consulté le 4 /07/ 2021

Lamine S. (2019). Les huiles essentielles et l'aromathérapie. Mémoire de Master Chimie pharmaceutique. p.3 .Université Boudiaf .Msila Algérie.

Laurent J. (2017). Conseil et utilisation des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de doctorat en pharmacie, université Toulouse III, (225 pages). p .37, 60-74. http://Thèse sante.upstlse.fr.2095 /Consulté le 30/04/2021

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 Reunion . (145pages) .p. 5 ,32-33. https://Tel.archives-ouvertes.fr/, Consulté, le 27/06/2021

Mann C., Markham J. (1998). A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. Journal of Applied Microbiology, 84, 538-544. Document 567919. p.45.www.ncbi.nlm.nih.gov > pmc > articles. /Consulté le 5/07/2021

Mason T., Chemat F., Vinatoru M. (2011). The Extraction of Natural Products using Ultrasound or Microwaves. <u>Current Organic Chemistry</u>, Volume 15, Number 2, pp. 237-247(11). https://www.eurekaselect.com/73024/article/Consulté le 7/06/2021

Mendoza Y ., Sanchez H., Maertens ., Marin I. (1997). Inhibition of *Listeria monocytogenes* and other bacteria by a plant essential oil (DMC) en Spanish soft cheese. Journal of Food Safety, 17(47-55). Document 567919 p/45. www.agris.fao.org agris-search > search / Consulté le 8/07/2021

Mengal P., Mompon B. (1994). Procédé et installation d'extraction sans solvant de produits naturels par micro-ondes. *Brevet international*, WO 94/26853.

Merghnem R ., Sadi A. (2016). Extraction de l'huile essentielle à partir du déchets agrumes (les oranges) .Etude paramétrique et caractérisation. Mémoire de Master ,chimie de l'environnement, Université de mouloud Mammeri . Tizi-Ouzou . p 15. https://dl.ummto.dz/ Consulté le 1/05/ 2021

Ministère de la transition écologique. (2018). La réglementation REACH . https://www.ecologie.gouv.fr/reglementation-reach./Consulté le 29/05/2021

Mira. (2012) .les huiles essentielles, biotechnologie .végétale. https://fr.search.yahoo.com/mira-biotechnologie vgtaleblogspot.com/Consulté le 30/05/ 2021

Mnayer D. (2014). Eco-extraction des huiles essentielles et des aromes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de doctorat ,faculté science et agro science .Université d'Avignon et des pays du Vaucluse. (157pages) .p .13 https://tel.archives-ouvertes.fr/Consulté le 30/06/2021

Morichard S. (2020). les différents modes d'extractions .Phytoconsult . Réalisé par <u>l'agence web Novatis</u> ; <u>https://www.phytoconsult.fr/ Consulté le 29/06/2021</u>

Mpiana K N. (2021). Optimisation du rendement des huiles essentielles d'eucalyptus globulus, <u>Génie Industriel. Thème de mémoire Faculté polytechnique</u>, <u>Département de chimie industrielle</u>. Université de Lubumbashi. https://wikimemoires.net/genie-industiel/ Consulté le 2 /05/ 2021

Mulon L. (2012). Les huiles essentielles : les connaître pour mieux les conseiller (3/3) .N° JAN_FEV .2012 . Consultante stratégie de développement. p .76 -79. https://www.biolineaires.com/les-huiles-essentielles-les-connaitre-pour mieux-les-conseiller_3/_3/Consulté-le-5/06/2021

Narbonne J F (2020). Qu'est ce que c'est le stress antioxydant ? Thierry -Souccar-Editions. rue d'Entre Vignes 30310 . Vergèze .https://www.thierry-souccar.com/thierry-souccar-editions, 22 /Consulté le 10/07/2021

Normes AFNOR .(1992). Recueil des normes françaises. Huiles essentielles. AFNOR, Paris.

Palayer C. (2020). Les huiles essentielles anti-infectieuses 5119 Vues Posté.www: aromathéque .fr /Consulté le 4 /07/ 2021

Paré J R ., Sigouin M ., Lapointe J. (1990). Extraction de produits naturels assistée par micro-ondes. , *Brevet européen*, EP 398798.

Pibiri M C. (2005). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat Faculté environement Naturel ,architectural et construit Lausanne. (177pages) .p. 28 ,42 . http://semantic scholar.org/ Consulté le 1/07/2021

Plamondon S. (2020). Activités antivirales des huiles essentielles. https://vitalitequebec-magazine.com/activites-antivirales-des-huiles-essentielles/Consulté le 07/07/2021

Porto C, Decorti D, Kikic I (2009) . Flavour compounds of *Lavandula angustifolia L*. to use in food manufacturing: comparison of three different extraction methods. Food Chem 112:1072–1078. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-08449-7_2 /Consulté le 5/06/2021

Règlement (**CE**) **N**° **1333/2008** du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 sur les additifs alimentaires (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE). https://eurlex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX:32008R1333/Consulté le 08/07/2021

Robins J. (2015). Aromatogramme pourquoi ? http://www.aromatherapieveterinaire.com/aromatogramme/ Consulté le 11/07/2021

Sarmate Ad. (2002). Composition chimique des huiles essentielles extraites de la plante aromatiques de la zone soudanienne du Borkina -Faso. Thèse de Doctorat 3 cycle, chimie organique. Université de Ouagadougou . p. 21. https://www.tel.archives-ouvertes.fr/ Consulté le 15/05/ 2021

Savary E. (2020). Extraction de composés assistée par micro-ondes. https://www.sairem.com/fr/, Consulté le 27/06/2021

Stojetz K. (2016). Les Terpènes - Guide huiles essentielles. https://www.huiles-etsens.com/fr/ Consulté le 11/05/2021

Stulzaft B. (2018). Huiles essentielles .Naturopathie et vitalité. Https://bsnature.wordpress.com/Consulté le 21/06/2021

Tesserand R. (2020). Huiles essentielles et virus que peut on dire à l' heure actuelle ? https://essentielle-marguerite.com/savoir-ess-he-virus/ Consulté le 10/07/2021

Toursel P. (1997). Extraction high-tech pour notes fraîches. Process, 1128, 38-41

Turbid M. (2012). Les huiles essentielles : des agents super oxydants. http://www.infonaturel.ca/Aromatherapie/Agents_super_antioxydants.aspx/Consultéle <a href="http://www.infonaturel.ca/Aromatherapie/Agents_super_antioxydants.aspx/Consultéles/Agents_super_antioxydants.aspx/Consultéles/Agents_super_antioxydants.aspx/Consultéles/Agents_super_antioxydants.aspx/Consultéles/Agents_super_antioxydants.aspx/Consultéles/Agents_super_antioxydants.aspx/Consultéles/Agents_super_antioxydants.aspx/Consultéles/Agents_super_antioxydants.aspx/Consultéles/Agents_antioxydants.aspx/Consultéles/Agents_antioxydants.aspx/Consultéles/Agents_antioxydants.aspx/Consultéles/Agents_antioxydants.aspx/Consultéles/Agents_a

Vangelder V. (2018). L'aromathérapie dans la prise en charge des troubles de santé mineurs chez l'adulte a l'officine. Thèse de Doctorat en pharmacie .Université de Lille 2. (146 pages) .p. 40. https://www.pepite-dépôt.Univ lille2.fr/Consulté le 12/05/2021

Wang Y., Jiang K., Zhang Q., Meng S., Ding C. (2018). Autophagy in negative-strand RNA virus infection. Frontiers in Microbiology 09, 206. https://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.00206/ Consulté le 7/06/2021

Yabrir B. (2018). Valorisation des ressources biologiques steppiques pour l'étude des huiles essentielles. Cas des Marrubiumdéserti de Noé. Thèse de Magister , Agriculture et développement durable, production végétales .(142pages).p .34 ,83. http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/ Consulté le 1 /05/2021

Yemeda A., Dibong S.D., Nyegue M.A., Djembissi T., Lenta N., Mpondo E., Yinyang J; Wansi J D. (2014). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de ., Phragmantheracapitata (Loranthaceae) récoltée sur Citrus sinensis . Journal of Applied Biosciences 84:76367643 ISSN 19975902. http://www.m.elewa.orgon29thDecember2014/ Consulté le 09/07 /2021

Zayat M . (1985). Méthode d'extraction. Zayat –Aroma . https://www.zayataroma.com/fr/ Consulté le 24/06/2021

Zayat M. (1999).Extraction des huiles essentielles . https://www.zayataroma.com/fr/Consulté le 22/06/2021

Annexe 1

Quelques plantes aromatiques des huiles essentielles

Anis vert

Arbre a the



Nom scientifique : *Pimpinella anisum* Noms communs : anis vert, anis, anis cultivé, anis musqué, anis officinal, ... Famille botanique: des apiacées

(Apiaceae)

Parties distillées:

Orig



Origine : du bassin méditerranéen
Nom commun : Tea tree, Arbre à thé
Nom latin : Melaleuca alternifolia
Famille botanique : Myrtacées
Parties distillées : Feuille et tige

Origine: Australie, Tasmanie, Afrique du

Sud, Inde, Malaisie

Basilic



Nom commun : Basilic commun Nom latin : Ocimum basilicum Famille botanique : Lamiacées

Partie distillée : Partie aérienne fleurie

Origine (pays où la plante est

cultivée): Inde, Océan Indien, Vietnam

Bergamote



Nom commun : Bergamote Nom latin : Citrus bergamia Famille botanique : Rutacées Partie distillée : Zeste

Origine : Italie, Côte d'Ivoire

Camomille matricaire



Noms scientifiques : Matricaria

recutita,

Noms communs : matricaire, camomille

allemande.

Famille botanique : des astéracées

(Asteraceae)

Partie distillée :Fleurs

Origine : Les anciens Égyptiens les

Romaines et les Grecs

Annexe 1(suite)

Quelques plantes aromatiques des huiles essentielles

Cèdre atlas



Nom commun: Cedrus atlantica Famille botanique :Pinacées Espèces proches :Cedrus libani

Origine: montagnes d'Afrique du nord

Partie distillée : bois

Curcuma



Nom commun : Curcuma longa L Nom latin : Curcuma longa

Famille botanique : Zingibéracées

Partie distillée : Rhizomes Origine : Sud de l'Asie (Inde)

Gaulthérie odorante



Nom commun de la plante : Gaulthérie

odorante

Autres dénominations : Wintergreen Nom latin : Gaultheria fragrantissima Famille botanique : Ericacées Organe producteur : Les feuilles

Origine: Inde

Gingembre



Nom commun : Gingembre Nom latin : Zingiber officinale Famille botanique : Zingibéracées

Partie distillée: Rhizome

Origine : Asie orientale, Côte d'Ivoire

Inule odorante



Nom commun : Inule odorante Nom latin : Inula graveolens Famille botanique : Astéracées Partie distillée : Sommité fleurie

Origine: Corse

Annexe 1(suite)

Quelques plantes aromatiques des huiles essentielles

La myrrhe



Nom commun : Eugenia caryophyllata Nom latin : Commiphora myrrha Famille botanique : : Myrtacées Partie distillée : Boutons floraux Origine : Éthiopie, Soudan, Somalie)

Le camphrier



Nom commun : Camphrier

Nom latin: Cinnamomum camphora

Famille botanique:

Lauracées

Partie distillée : feuille

Origine :sud de la chine,japon ,taiwan

Menthe poivre



Nom commun: Menthe poivrée Nom latin: Mentha piperita Famille botanique: Lamiacées Partie distillée: Plante fleurie Origine: France, Angleterre, Hongrie,

Maroc, Egypte, Inde,...

Patchouli



Nom commun : Patchouli, pogostemon

patchouli

Nom latin : Pogostemon cablin Famille botanique : Lamiacées

Partie distillée: Herbes fleuries, feuilles

séchées

Origine: Inde, Indonésie

Romarin



Nom commun : Romarin

Nom latin : Rosmarinus officinalis Famille botanique : Lamiacées Partie distillée : Parties aériennes Origine : Bassin méditerranéen

Annexe 1(suite)

Quelques plantes aromatiques des huiles essentielles

Bois de rose



Nom commun : Bois de rose Nom latin : Aniba rosaeodora Famille botanique : Lauracées

Partie distillée : Bois

Origine (pays où l'huile essentielle est cultivée): Amazonie, Guyane et Brésil

Santa



Nom botanique : Santalum album

Noms commun : Santal de

Mysore/citrin/d'Inde/blanc, chandan,

chandana, Bois de Santal Famille : Santalacées Organe producteur : bois

origine :Inde du Sud, au Népal et aux

îles indonésiennes.



montagnes

Nom latin: Satureja montana ssp

montana carvacrolifera

Famille botanique : Lamiacées Partie distillée : Rameau fleuri Origine (pays où la plante est

cultivée): France, Espagne

Sassafras



Nom commun : Sassafras Nom latin : SASSAFRAS albidum Famille botanique : Lauracées Partie distillée : Feuilles et Rameaux Origine : l'est de l'Amérique du Nord d

Annexe 1(suite et fin)

Quelques plantes aromatiques des huiles essentielles

Sauge



Nom scientifique : Salvia officinalis

Famille : Lamiacées

Nom scientifique : Salvia officinalis Nom scientifique : Salvia officinalis Variétés : Sauge de Grèce, Sauge à feuilles de lavande, Sauge blanche

Sauge sclarée



Nom commun : Sauge sclarée Nom latin : Salvia sclarea Famille botanique : Lamiacées Partie distillée : Plantes fleuries Origine : Russie, pourtour

méditerranéen

Tanaisie



Nom commun : Tanaisie commune Nom latin : <u>Tanacetum vulgare</u> L. Famille botanique : Asteraceae Partie distillée : Sommités fleuries

(feuilles

Origine : France, États-Unis

thym



Nom scientifique : *Thymus*

Famille : Lamiacées

Variétés : Thymus vulgaris, Thymus x citriodorus, Thymus serpyllum, Thymus

herba-barona, Thymus pseudolanuginosus,

Partie distillée : Plante entière fleurie

Origine: Espagne

Source : Gamm vert (2018)

Annexe 2

Fiche technique

APPAREIL DE CLEVENGER

Descriptif

Le montage Clevenger est désigné par le nom de son inventeur, Joseph Franklin Clevenger. Cet appareil permet l'extraction d'huiles essentielles à partir d'échantillons de plantes. 2 éléments le composent : un ballon et une pièce de verrerie modifiée (tube vertical combiné avec réfrigérant + burette à robinet en verre). Un tube de retour pour la partie aqueuse du distillat relie l'extrémité inférieure de la burette au tube vertical.

Procédé : Le ballon contient de l'eau que l'on fait bouillir et la plante à extraire. La vapeur monte dans le montage jusqu'au réfrigérant, et le condensat retombe dans la burette. L'huile flotte sur l'eau, qui est pour sa part progressivement renvoyée dans le ballon chauffé par le conduit en diagonale.

Après quelques heures d'extraction, il est possible de mesurer directement dans la burette le volume d'huile recueilli.

Composition

Cette pièce de verrerie est constituée de :

- un ballon à fond rond 250 ml au rodage 29/32,
- un réfrigérant d'Allihn L.utile 300 mm + burette cap.10 mL graduation 0.1 mL.



Le montage Clevenger. Réf 703673. (Jeulin, 2020).

Annexe 3

Méthodes-de-distillation/ hydrodistillation



Alambics distillateurs INOX

Distillation des plantes pour la production d'huiles essentielles et d'hydrolats Distillateurs complets de 25 litres à 4 x 2000 litres, essenciers verre ou inox, – distillation des PAM, fleurs, plantes, rhyzomes, racines, bois (Aura I, 2021).