

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA**

**Faculté des Sciences de l'ingénieur**

## **MEMOIRE DE MAGISTER**

En Génie des procédés

Option : Génie chimique

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'EXTRACTION DES HUILES**

**ESSENTIELLES DE « MYRTUS COMMUNIS L. »**

Par

**Nadia TABTI**

Devant le jury composé de :

|              |            |                     |              |
|--------------|------------|---------------------|--------------|
| H. KHALAF    | Professeur | U.S.D. Blida        | Président    |
| D. ACHOUR    | Professeur | U.H.B.B. Chlef      | Examineur    |
| M. EL HATTAB | M.C.A      | U.S.D. Blida        | Examineur    |
| M. BRADA     | M.C.A      | C.U. Khemis Miliana | Encadreur    |
| H. BOUTOUMI  | M.C.B      | U.S.D. Blida        | Co-encadreur |

Blida, Janvier 2011

## ملخص

- في إطار تقييم مستخلصات النباتات في الجزائر اهتمنا باستخراج الزيوت الطيارة لنبته الاس أو الريحان المعروفة باللاتينية ب " *Myrtus communis L* ". لهذا الغرض قمنا بمايلي:
- وصف الزيوت الطيارة للمادة النباتية "*Myrtus communis L*". ؛
  - دراسة من الناحية التكنولوجية للطرق المستخدمة وتحديد الظروف المثلى لاستخراج الزيوت الطيارة ؛
  - دراسة تأثير العوامل الداخلية و الخارجية على مردود الاستخلاص و مكونات المستخلصات ؛
  - دراسة حركية الاستخلاص بطريقتين: الاستخلاص بجر بخار الماء و التقطير ببخار الماء مباشرة؛
  - استخلاص الزيوت الطيارة كان بجر بخار الماء و التقطير ببخار الماء في نطاق المختبر. ودراسة تأثير بعض العوامل (موسم القطف، الأوراق، الفاكهة، الخ....). على المردود وتركيبه الزيوت الطيارة للمواد النباتية؛
  - تابعنا أيضا استخراج مستخلص (المادة الأساسية) باستعمال مذيبات مستقطبة و غير مستقطبة (ايثر البترول ،ايثر ثنائي الايثيل، الايثانول و الاسيتون ؛
  - التركيبية الكيميائية تم تحديدها بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المزودة مع مطيافية الكتلة و كذا الثوابت الفيزيائية والكيميائية؛
- لتقييم تأثير الزيت الطيار لأوراق الاس على الجراثيم ، استخدمنا طريقة النشر على الوسط الصلب على ستة سلالات بكتيرية : اشيريشيا كولي، ستافيلوكوكيس اوربيس، ستافيلوكوكيس ابيدارميديس، باسيليس سابتيليس، بسودوموناس ابروجينوزا و كنديدا البيكان.

## RÉSUMÉ

Dans le cadre de la valorisation des essences d'espèces végétales algériennes, nous avons réalisé l'extraction des huiles essentielles de « *Myrtus Communis L.* » en utilisant l'entraînement à la vapeur d'eau (E.V.E), et l'hydrodistillation à l'échelle de laboratoire. La durée optimale de l'extraction des huiles essentielles par E.V.E est fixée à 90 minutes pour les baies et 120 minutes pour les feuilles, tandis que pour l'hydrodistillation elle est de 120 minutes pour les baies et 90 minutes pour les feuilles. Le rendement de l'extraction a été obtenu comme suit :

-Pour l'entraînement à la vapeur d'eau : les feuilles sèches (0.23%), les feuilles fraîches (0.11%) et les baies (0.19%). Pour l'hydrodistillation : les feuilles sèches (0.11%), les feuilles fraîches (0.04%) et les baies (0.08%).

-L'extraction de la concrète a été réalisée par des solvants volatils (l'éther diéthylique, l'éther de pétrole, l'acétone et l'éthanol). Il s'avère que l'éther de pétrole donne le meilleur rendement en concrète (7.4%).

-La composition chimique de l'huile essentielle des baies de myrte a été déterminée par GC/FID et GC/MS ; Les composés majoritaires sont : Linalool (36.23%), Estragol (18.43%), 1,8-cinéole (11.41%) et  $\beta$ -caryophyllène (3.79%), tandis que ceux des feuilles sont :  $\alpha$ -pinène (46.89%), 1,8-cinéole (25.20%), Linalool (5.55%), l'acétate de linalyle (4.24%) et l'acétate de géranyle (4.19%).

-L'application de l'huile essentielle des feuilles de myrte sur les souches bactériennes : *Escherichia. Coli*, *Staphylococcus. Aureus*, *Pseudomonas .Aeruginosa*, *Bacillus. Subtilus*, *Candida Albicans* et *Staphylococcus Epidermidis* a montré que ces dernières sont toutes sensibles sans dilution de l'huile essentielle, par contre, lors de la dilution de l'huile essentielle avec l'éther diéthylique ( les concentrations en HE de 50% et 75%), il s'avère que seule *Candida Albicans* est sensible avec un diamètre d'inhibition de 15.2mm pour la première concentration et 16.6mm pour la seconde.

## ABSTRACT

For the valorization of the essential oils of Algerian plant species, we carried out the extraction of essential oils of "*Myrtus Communis L.*" by using the steam distillation and the hydrodistillation on a laboratory scale. The optimal duration of the extraction of essential oils by steam distillation is fixed at 90 minutes for berries and 120 minutes for the leaves, while for the hydrodistillation it is 120 minutes for berries and 90 minutes for the leaves;

The yields of the extraction were obtained as follows:

a/- For the steam distillation: dry leaves (0.23%), the wet leaves (0.11%) and the berries (0.19%).

b/- For the hydrodistillation: dry leaves (0.11%), the wet leaves (0.04%) and the berries (0.08%).

The extraction of volatile components was carried out by polar and non-polar volatile solvents (diethyl ether, petroleum ether, acetone and ethanol). It proves that the petroleum ether gives the best yield into volatile components (7.4%).

The chemical composition of the essential oil of berries of myrtle was determined by GC/FID and GC/MS; The major compounds are: Linalool (36.2%), Estragol (18.4%), 1,8-cinéole (11.4%) and  $\beta$ -caryophyllene (3.8%), while those of the leaves are:  $\alpha$ -pinene (46.9%), 1,8-cinéole (25.2%), Linalool (5.5%), the linalyle acetate (4.2%) and the geranyl acetate (4.1%).

Physical and chemical constants of essential oils are determined.

The application of the essential oil of the leaves of myrtle on the bacterial strains: *Escherichia. Coli*, *Staphylococcus. Aureus*, *Pseudomonas. Aeruginosa*, *Bacillus. Subtilus*, *Candida Albicans* and *Staphylococcus Epidermidis* showed that all these bacteria are sensitive without dilution of essential oil, on the other hand, during the dilution of essential oil with diethyl ether (concentrations of essential oil 50% and 75%), it proves that only *Candida Albicans* is sensitive with an inhibition diameter of 15.2mm for the first concentration and 16.6mm for the second.

## REMERCIEMENTS

Avant tous, je tiens à remercier ALLAH le tout puissant qui m'a guidé tout au long de ma vie, qui m'a permis de m'instruire et d'arriver aussi loin dans mes études. Il m'a donné le courage et la patience pour passer tous les moments difficiles, et qui m'a permis d'achever ce travail.

Mes vifs remerciements vont aussi :

Aux membres du jury :

Mr. KHALAF.H. Professeur à l'université de Blida.

Mr. ACHOUR. D. Professeur à l'université de Chlef.

Mr. EL.HATTAB. M. Maitre de conférence A à l'université de Blida.

Qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail.

Je voudrais exprimer ma profonde gratitude à mon encadreur Dr Brada Moussa et mon co-encadreur Dr Boutoumi Hocine pour leur confiance et leurs encouragements.

Mes cordiaux remerciements vont au personnel du laboratoire de chimie analytique de la Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux (Belgique), au personnel des laboratoires de chimie et de microbiologie du centre universitaire de Khemis Miliana et celui du laboratoire de chimie organique du département de chimie industrielle de l'université de Blida.

À tous les enseignants du département de génie des procédés du C.U.K.M et spécialement Mr. K. Hachama pour son aide et ses encouragements.

À la promotion de magister en génie chimique de 2007 de l'université de Blida.

Mes remerciements vont aussi :

À mes chers parents qui m'ont encouragé et aidé par leurs prières pour affronter les difficultés de la vie.

À mes sœurs, mes frères et leurs enfants.

À mes chères amies.

Sans oublier à la fin d'adresser mes vifs remerciements à toute personne qui m'a aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail et à tous ceux qui me sont chers.

**M<sup>lle</sup> Nadia TABTI**

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

|             |   |    |
|-------------|---|----|
| Figure 2.1. | <i>Myrtus communis L</i>  | 25 |
| Figure 2.2. | <i>Myrtus communis L.</i> en période de floraison   | 26 |
| Figure 2.3. | <i>Myrtus communis L.</i> (fruits mûrs)   | 27 |
| Figure 3.1. | Montage de l'hydrodistillation (Clevenger)  | 39 |
| Figure 3.2. | Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau   | 41 |
| Figure 3.3. | Montage du Soxhlet  | 43 |
| Figure 4.1. | Evolution du rendement en HE des fruits secs en fonction de la durée d'extraction   | 55 |
| Figure 4.2. | Evolution de la vitesse d'extraction de l'huile essentielle de myrte commun au cours de l'hydrodistillation                 | 55 |
| Figure 4.3. | Evolution du rendement en HE des feuilles sèches et fraîches de myrte commun en fonction du temps d'extraction              | 56 |
| Figure 4.4. | Evolution de la vitesse d'extraction de l'huile essentielle des feuilles sèches et fraîches au cours de l'hydrodistillation | 57 |
| Figure 4.5. | Rendement en HE des feuilles de myrte commun sèches et fraîches   | 58 |
| Figure 4.6. | variation du rendement en HE extraite par Hydrodistillation des feuilles sèches durant tout le cycle végétatif              | 59 |
| Figure 4.7. | Comparaison du rendement en HE du myrte d'Algérie avec celui de la Grèce.   | 59 |
| Figure 4.8. | Evolution du rendement en HE des fruits de myrte commun au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau                        | 60 |

|              |   |    |
|--------------|---|----|
| Figure 4.9.  | Evolution de la vitesse d'extraction de l'huile essentielle des baies sèches du myrte commun au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau | 61 |
| Figure 4.10. | Evolution du rendement en HE des feuilles sèches et fraîches de myrte commun en fonction du temps d'extraction par E.V.E                  | 62 |
| Figure 4.11. | Evolution de la vitesse d'extraction de l'huile essentielle des feuilles sèches et fraîches de myrte commun au cours de l'E.V.E           | 62 |
| Figure 4.12. | Rendement en HE extraite par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles de myrte sèches et fraîches                                      | 63 |
| Figure 4.13. | Variation du rendement en HE extraite par E.V.E en fonction de la région de récolte   | 64 |
| Figure 4.14. | Variation du rendement en HE des feuilles de myrte commun en fonction de la période de récolte  | 65 |
| Figure 4.15. | Evolution du rendement en HE des feuilles sèches extraite par HD et celui de l'E.V.E.   | 65 |
| Figure 4.16. | Rendement en concrètes en utilisant des solvants polaires et apolaires  | 66 |
| Figure 4.17. | Les Huiles essentielles des feuilles et des fruits de myrte   | 67 |
| Figure 4.18. | Concrètes des feuilles de myrte en utilisant les quatre solvants  | 68 |
| Figure 4.19. | L'effet de l'HE des feuilles de myrte à 100% sur E.Coli   | 77 |
| Figure 4.20. | L'effet de l'HE des feuilles de myrte à 100% sur S. Epidermidis   | 77 |
| Figure 4.21. | L'effet de l'HE des feuilles de myrte à 100% sur S. Aureus  | 77 |
| Figure 4.22. | L'effet de l'HE des feuilles de myrte à 100% sur B. Subtilus  | 77 |
| Figure 4.23. | L'effet de l'HE des feuilles de myrte à 100% sur P. Aéroginosa  | 77 |
| Figure 4.24. | L'effet de l'HE des feuilles de myrte à 100% sur C. Albicans  | 77 |
| Figure 4.25. | L'effet de l'HE des feuilles de myrte à 75 et 50% sur B. Subtilus   | 78 |
| Figure 4.26. | L'effet de l'HE des feuilles de myrte à 75 et 50% sur C.Albicans  | 78 |
| Figure 4.27. | L'effet de l'HE des feuilles de myrte à 75 et 50% sur E.coli  | 79 |
| Figure 4.28. | L'effet de l'HE des feuilles de myrte à 75 et 50% sur S. Epidermidis  | 79 |
| Figure 4.29. | L'effet de l'HE des feuilles de myrte à 75 et 50% sur S.Aureus  | 79 |
| Figure 4.30. | L'effet de l'HE des feuilles de myrte à 75 et 50% sur P.aeroginosa  | 79 |

|               |  |    |
|---------------|--|----|
| Tableau 2.1.  | Variation de la composition de l'HE du myrte de Tunisie et celle du Maroc  | 29 |
| Tableau 2.2.  | Tableau comparatif des teneurs des constituants des huiles essentielles du <i>Myrtus Communis</i> de différents pays           | 32 |
| Tableau 2.3.  | Rendement en HE du myrte dans quelques pays  | 32 |
| Tableau 2.4.  | L'effet antioxydant de l'extrait méthanolique du myrte   | 37 |
| Tableau 3.1.  | Microorganismes utilisés et leurs milieux de culture   | 51 |
| Tableau 4.1.  | Cinétique de l'extraction de l'huile essentielle des baies de <i>Myrtus communis L.</i> par hydrodistillation                  | 54 |
| Tableau 4.2.  | Caractéristiques organoleptiques des HE obtenues   | 67 |
| Tableau 4.3.  | Caractéristiques Organoleptiques des concrètes obtenues par solvant volatil (Soxhlet)  | 68 |
| Tableau 4.4.  | Caractéristiques physiques des HE obtenues   | 69 |
| Tableau 4.5.  | Caractéristiques chimiques des HE obtenues   | 69 |
| Tableau 4.6.  | Constituants de l'HE des feuilles du myrte   | 70 |
| Tableau 4.7.  | Teneurs des composés de l'huile essentielle des feuilles de Myrte de différents pays   | 71 |
| Tableau 4.8.  | Composition chimique de l'HE des baies du myrte  | 72 |
| Tableau 4.9.  | Composition chimique des HE des feuilles et des baies du myrte   | 75 |
| Tableau 4.10. | Diamètre d'inhibition des souches bactériennes par les différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles du myrte | 76 |
| Tableau 4.11. | Comparaison de la composition des HE du myrte de Miliana avec celle de la Tunisie et de l'Iran                                 | 81 |

## TABLE DES MATIERES

|  |    |
|--|----|
| RESUME   | 01 |
| REMERCIEMENTS  | 04 |
| TABLE DES MATIERES   | 06 |
| LISTE DES TABLEAUX   | 08 |
| LISTE DES FIGURES  | 09 |
| INTRODUCTION   | 11 |
| 1. HUILES ESSENTIELLES   | 13 |
| 1.1. Plantes médicinales   | 13 |
| 1.2. Huiles essentielles   | 16 |
| 2. MATIERE VEGETALE : LE MYRTE.                                  | 24 |
| 2.1. Généralités sur le myrte                                    | 24 |
| 2.2. Quelques travaux sur le myrte                               | 30 |
| 3. MATERIELS ET METHODES   | 38 |
| 3.1. Extraction des huiles essentielles de myrte                 | 38 |
| 3.1.1. Par hydrodistillation                                     | 38 |
| 3.1.2. Par entraînement à la vapeur d'eau                        | 41 |
| 3.1.3. Extraction de la concrète par solvants volatils           | 42 |
| 3.2. Caractérisation et analyse des huiles essentielles de myrte | 45 |
| 3.2.1. Analyse des HE du myrte par GC/MS et GC/FID               | 45 |
| 3.3. Activité antibactérienne des HE du myrte                    | 46 |
| 4. RESULTATS ET DISCUSSIONS                                      | 54 |
| 4.1. Extraction des huiles essentielles du myrte                 | 54 |

|   |    |
|---|----|
| 4.1.1. Par hydrodistillation  | 54 |
| 4.1.2. Par entrainement à la vapeur d'eau                           | 60 |
| 4.1.3. Extraction de la concrète par solvants volatils              | 66 |
| 4.2. Caractérisation et analyse des huiles essentielles du myrte    | 67 |
| 4.2.1. Caractéristiques organoleptiques                             | 67 |
| 4.2.2. Caractéristiques physiques                                   | 69 |
| 4.2.3. Caractéristiques chimiques                                   | 69 |
| 4.2.4. Analyse des huiles essentielles du myrte par GC/MS et GC/FID | 70 |
| 4.3. Activité antibactérienne des huiles essentielles du myrte      | 76 |
| <br>  |    |
| CONCLUSION  | 83 |
| APPENDICES  | 85 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES   | 99 |

## INTRODUCTION

La région méditerranéenne, d'une manière générale et l'Algérie en particulier, avec son climat doux et ensoleillé, recèle d'importantes potentialités en matière de plantes aromatiques et médicinales telles que la menthe, le thym, le myrte...etc.

Malgré le développement de la chimie qui est arrivée à la synthèse des composés identiques au naturel, certaines de ses compositions restent impossible à être synthétisées, d'où nous avons recourt aux méthodes d'extraction des huiles essentielles qui constituent une partie importante dans la constitution des produits naturels. Elles sont utilisées dans les domaines très variés : industries pharmaceutiques et parapharmaceutiques. Sur les milliers de plantes à essence qui poussent à travers le monde, seules quelques centaines sont exploitées et reconnues comme productrices d'huiles essentielles.

Dans le cadre de la valorisation des essences d'espèces végétales algériennes, nous nous sommes intéressés à l'extraction des huiles essentielles de « *Myrtus Communis L.* ». Notre choix s'est porté sur cette plante, car elle est très répandue en Algérie en générale et à Miliana (Wilaya de Ain Defla) en particulier à l'état cultivé. Elle est très utilisée en médecine comme un bon aseptique des voies respiratoires, C'est un excellent remède également contre la toux sèche car son huile est un expectorant très puissant, elle est aussi utilisée contre l'insomnie et les fatigues hépatiques, c'est un remède efficace pour traiter diverses maladies de la peau comme les problèmes d'acnés, les peaux grasses et même le psoriasis, L'huile essentielle de myrte a des vertus cosmétiques, c'est une bonne antiride et elle revitalise les peaux sèches. Elle fait baisser le taux de sucre dans le sang et favorise la digestion, elle guérit aussi les ulcères et permet leur cicatrisation, elle diminue les ballonnements et calme les douleurs abdominales associées. Effectivement l'huile essentielle de myrte, appliquée sur le bas du dos ou du ventre, permet de résoudre les problèmes des appareils génitaux et les infections urinaires. A notre connaissance, aucune étude en Algérie n'a été effectuée sur cette plante.

Nous présentons ce mémoire en deux parties :

Une partie théorique répartie en deux chapitres : le premier dresse un rappel général sur les plantes médicinales, les huiles essentielles et les procédés d'extraction. Le second chapitre, élucide une synthèse bibliographique sur la matière végétale choisie pour l'étude à savoir *Myrtus communis.L*

La partie expérimentale est consacrée à :

- L'étude des cinétiques d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation des deux parties de la plante : feuilles et baies.
- L'étude de l'influence sur le rendement et la composition de l'huile essentielle de quelques paramètres liés à la matière végétale (période de récolte, feuilles, fruits...etc.).
- L'extraction de la concrète par des solvants volatils polaires et apolaires.
- La caractérisation physicochimique de l'huile essentielle récupérée et de la concrète et la détermination de leur composition chimique par GC/MS et GC/FID.
- L'étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle des feuilles de myrte sur six souches bactériennes par la méthode de diffusion sur milieu solide.

Les résultats expérimentaux seront enfin synthétisés et interprétés et donnent lieu à une conclusion générale et de perspectives liées à notre travail.

## **CHAPITRE 1**

### **HUILES ESSENTIELLES**

#### 1.1. Plantes médicinales

##### 1.1.1. Historique des plantes médicinales

L'usage des plantes médicinales est aussi vieux que le monde. Dès que l'homme eut à corriger des troubles de santé, il eut recours, par l'instinct, aux plantes médicinales. Puis, progressivement, l'instinct s'amenuisa pour pratiquement disparaître et faire place à l'observation et à la connaissance.

Les notes, les observations, les applications ont été enregistrées, maintenant depuis des millénaires, dans les diverses parties du monde.

Parmi les savants les plus connus, qui jalonnent l'histoire des plantes médicinales c'est bien : Ibn Sina et c'est vers 1865 que le docteur Auguste donne le nom de « Phytothérapie » pour définir la médecine par les plantes [1].

Il était donc bien normale que, avec la nécessité d'instaurer de nouveaux rapports entre l'homme et le monde qui l'entoure, les produits naturels reviennent à la mode ; aussi bien les aliments que les plantes médicinales, les « simples » des premiers temps de la médecine. Et le nombre même d'ouvrages consacrés à ces plantes, publiés au cours de ces dernières années, est une preuve certaine qu'il s'agit bien là d'un besoin réel de l'homme moderne [2].

### 1.1.2. Définition

On appelle plantes médicinales ou pharmaceutiques celles qui, après avoir été séchées ou traitées, interviennent dans la préparation des médicaments. On appelle aussi plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces peuvent avoir des actions très différentes suivant leur préparation [3,4].

### 1.1.3. Synergie des plantes

C'est le terme de synergie qui est le plus approprié pour distinguer la phytothérapie de la médecine conventionnelle. Lorsqu'on utilise la plante entière plutôt que ses principes actifs isolés, ses différentes parties agissant ensemble sont plus efficaces qu'un dosage équivalent du principe actif extrait de la plante utilisée par la médecine conventionnelle [5].

De plus en plus, les chercheurs révèlent que des plantes telles que l'éphédra (*éphédra sinica L.*), l'aubépine (*Crataegus oxya cantha*) donne lieu à des usages inattendus grâce à la combinaison naturelle des principes actifs contenus dans la plante entière. Dans certains cas, la valeur médicinale d'une plante est due à la synergie de ses diverses substances. Un ou même plusieurs principes actifs isolés ne permettent pas d'obtenir le même résultat [5].

### 1.1.4. Récolte des plantes médicinales

Les principes actifs dans la plante dépendent de son biotope, de son développement et de son âge. Leur quantité et leur composition changent au cours de la croissance et varient même au cours de la journée. Les plantes médicinales seront donc cueillies lorsque la teneur en matières actives est la plus forte [6].

Dans les cultures des grandes industries pharmaceutiques, on récolte les plantes au moment où la teneur en principes actifs est à son point optimal. On choisit un jour ensoleillé pour faciliter le séchage, car celui-ci doit se faire à une température de 40-60 °C. Les plantes à huiles essentielles sont cueillies tôt le matin et séchées à l'ombre sous une température ne dépassant pas 50°C [4].

Les fleurs doivent être cueillies tout au début de leur épanouissement (développement) avant que les insectes ne les aient trop envahies [4].

Les feuilles se cueillent avant le développement complet, au plus tard au moment de la formation des boutons floraux, c'est-à-dire, quand le végétal est dans toute sa force (sauf pour les plantes dont on emploie soit les feuilles isolées, soit les sommités fleuries, comme les labiées : lavande...etc.) [7].

Les tiges se cueillent en même temps que les feuilles sauf pour les plantes mucilagineuses (mauve, guimauve...) car les principes émoullients mucilagineux prédominent dans les premiers temps de la végétation. On récolte donc ces tiges avant leur développement entier [7].

-Les bourgeons se cueillent au printemps.

-Les fruits doivent être cueillis très murs pour être consommés immédiatement, on les cueille un peu avant la maturité complète lorsqu'on veut les faire sécher.

-les racines se récoltent au printemps ou en automne ; au printemps pour les plantes vivaces, en automne pour les plantes annuelles ou bisannuelles. Elles doivent être saines et flexibles.

-Pour celles dont on n'utilise que l'écorce d'arbrisseau en automne, les écorces résineuses au printemps.

On cueillera les plantes par temps sec et non orageux, après le lever du soleil et la disparition de la rosée [7].

#### 1.1.5. Séchage et la conservation des plantes médicinales

Le séchage et la conservation des drogues médicinales requièrent autant de soin que la récolte, si on veut que les drogues ne perdent pas leurs qualités médicinales [8].

Les propriétés médicinales des végétaux dépendent du terrain, du climat, de l'altitude et sans doute de nombreux autres facteurs, on adoptera de préférence les

plantes de certains pays ou de certaines régions, connues pour leur plus grande efficacité.

Pour les conserver, on les dessèche selon les cas au soleil, au four, à l'étuve, au séchoir ou dans un grenier aéré. Avant de dessécher les plantes, on les débarrasse des substances étrangères, des portions mortes ou altérées.

En principe, les racines doivent être séchées à l'air sec et conservées à l'abri de l'humidité. Les racines charnues seront coupées en tranches minces, disposées en chapelets et desséchées à l'étuve. Les racines mucilagineuses sont séchées au four.

L'écorce et le bois seront séchés au soleil ou à l'étuve et conservés à l'abri de l'humidité.

Les fleurs, les feuilles et les semences doivent être séchées à l'ombre dans un grenier ou une pièce à atmosphère sèche. On les étendra sur des claies ou on les suspendra en petits paquets isolés et/ou les conserve dans des boîtes en bois, en carton ou dans des sachets de papier, dans un endroit sec [7].

## 1.2. Définition des huiles essentielles

D'après la pharmacopée, « les huiles essentielles sont des produits de composition généralement assez complexe, renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation ». Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement utilisables pour la préparation des huiles essentielles officinales : « celui par distillation à la vapeur d'eau et celui par expression » [9].

Selon AFNOR : « Ce sont des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau, ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparées de la phase aqueuse par des procédés physiques » [10].

Les huiles essentielles extraites des plantes comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes [6]. Elles constituent le facteur odorant qui peut s'exhaler spontanément ou après froissement [8]. On peut les extraire par

divers moyens et les recueillir sous formes de liquide, en particulier. Ces derniers sont donc la matérialisation palpable de la substance odorante. Elles sont volatiles et par, évaporation, peuvent retourner à l'état d'odeur sans laisser de traces [11].

À l'état liquide, on les appelle « essences végétales » ou « huiles essentielles », ou huiles volatiles mais encore : essence aromatique, esprits recteurs et arômes. Ces diverses appellations ne concernent qu'un seul et même produit [11].

### 1.2.1. Répartition, localisation, classification et fonction des huiles essentielles

#### 1.2.1.1. Répartition

Les huiles essentielles sont situées dans des glandes minuscules des différentes parties de la plante aromatique :

- Dans les feuilles comme pour le basilic
- Dans les fleurs comme chez la rose.
- Dans le fruit comme chez le citron
- Dans les graines comme pour la coriandre
- Dans l'écorce comme pour la cannelle
- Et pour certaines plantes c'est dans les racines

Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation [12].

#### 1.2.1.2. Localisation

A l'origine des huiles essentielles se trouvent des systèmes de sécrétion très variés :

- Poils sécréteurs des nombreuses essences de Labiées (lavande, mélisse, menthe, romarin, thym,...).
- Cellules sécrétrices riches en résines de certaines convolvulacées.
- Poches sécrétrices d'un grand nombre d'ombellifères (anis vert, fenouil, persil,).

-Canaux à résine du pin maritime [12].

### 1.2.2.3. Classification

Grâce à l'indice aromatique, les huiles essentielles sont classées les H.E. en trois groupes :

- Les huiles majeures lorsque l'indice aromatique se situe entre 0.45 et 0.88.
- Les huiles médiums lorsque l'indice aromatique se situe entre 0.45 et 0.10.
- Les huiles de terrain dont l'indice est inférieur à 0.1 [13].

#### ❖ Huiles majeures

Elles sont également appelées essence du germe. Elles ont un avantage immédiat, puisqu'elles sont toujours efficaces. Elles servent en début de traitement, et seront remplacées par les essences dites de terrain dont l'action est durable et définitive. L'indice aromatique se situe entre 0.45 et 0.88 [13].

#### ❖ Huiles médiums

Elles sont moyennement antiseptiques. Elles assurent la transition entre les majeures et les essences spécifiques nécessaires à chaque malade. Elles ont une contribution efficace en cas de thérapie de relais. Leur indice aromatique se situe entre 0.45 et 0.10 [13].

#### ❖ Huiles de terrain

Ce sont des huiles dont l'indice est inférieur à 0.1. Seul l'aromatogramme pourra nous révéler leur pouvoir bactéricide ou bactériostatique. Elles sont donc différentes d'un individu à l'autre. Il n'est pas du tout exclu que les huiles majeures agissent également comme des huiles de terrain [13].

### 1.2.3. Paramètres influençant la qualité des huiles essentielles

Une HE sera très fluctuante dans sa composition selon de multiples paramètres, qu'ils soient d'ordre naturel, ou d'origine intrinsèque (localisation,

maturité), soit d'origine extrinsèque (sol, climat...) ou d'origine technologique c'est-à-dire liés au mode d'exploitation du matériel végétal [14].

### 1.2.3.1. Facteurs d'origine naturelle

#### Facteurs intrinsèques

- Existence de chémotypes

Une huile essentielle contient des corps chimiques très complexes. Il s'agit de plusieurs assemblages moléculaires très divers, ayant chacun des propriétés différentes. La nécessité d'une connaissance approfondie de ces constituants chimiques est fondamentale pour un thérapeute. Dans une même espèce botanique, cette variation chimique nous permet de définir précisément la nature des sous-espèces, des variétés, des cultivars et des taxons des plantes aromatiques. Cette variation chimique génère la notion de : chémotype ou race chimique. Une notion capitale en aromathérapie. C'est une forme de classification chimique, biologique et botanique désignant la molécule majoritairement présente dans une HE. Cette classification dépend des facteurs liés directement aux conditions de vie spécifiques de la plante à savoir le pays, le climat, le sol, l'exposition des végétaux, les facteurs phytosociologiques et la période de récolte qui peuvent influencer la composition de l'HE.

- Influence du cycle végétatif

La biosynthèse des principes actifs odorants évolue lors de la maturation de la plante. Elle est prédominante pendant les périodes de forte croissance ou pendant celles correspondant à des activités métaboliques intenses telles que la floraison et la fruitarisme.

Pour une espèce donnée, la proportion des différents constituants d'une HE peut varier de façon importante tout au long du développement des plantes. Ainsi, chez la menthe poivrée, la diminution de la teneur en (-) -menthone observé au cours du cycle végétatif correspond à une réduction en (-) -menthol et en (+)-néomenthol. Des variations, parfois très importantes, sont couramment observées dans d'autres espèces : fenouil, carotte, coriandre (chez cette

dernière, la teneur en linalool est 50% plus élevée chez le fruit mur que chez le fruit vert). [15, 16,17].

### Facteurs extrinsèques

L'incidence des facteurs de l'environnement et des pratiques culturales influence également la composition des HE. Certaines espèces varient de composition biochimique en fonction de paramètres génétiques et bioclimatiques (altitude, nature du sol, climat...) [18,19].

- Influence du climat

La température, l'humidité relative et le régime des vents exercent une influence directe, surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielles (exp : poils sécréteurs des lamiacée) [15].

- Influence du sol

Les pratiques culturelles sont également déterminantes sur le rendement et la qualité du produit final. L'apport d'engrais et l'influence des teneurs de N.P.K ont été étudiés pour diverses espèces. Un autre élément fondamental est le régime hydrique [15].

### 1.2.3.2. Facteurs d'origine technologique

De profondes modifications des HE peuvent survenir lors de l'exploitation des végétaux depuis leur collecte jusqu'à leur transformation industrielle. Le mode de récolte, les conditions de transport, de séchage et de stockage peuvent générer des dégradations enzymatiques.

La labilité des constituants des HE explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation est le plus souvent différente de celle du mélange de constituants initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal.

Au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des oxydations ...etc. [15].

#### 1.2.4. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Pendant longtemps, avant que l'homme ne dispose de médicament moderne, les seules drogues dont il se servait provenaient d'extraits naturels parmi lesquels les huiles essentielles tenaient une place importante. Grâce à de nombreux chercheurs et à des médecins, notre époque redécouvre l'extraordinaire richesse des huiles essentielles et leurs applications. Il existe plusieurs variétés d'huiles essentielles. En voici quelques-unes avec certaines utilisations:

- Myrte : traiter les affections pulmonaires, que ce soit chez les enfants ou chez les personnes âgées, traiter l'insomnie et les fatigues hépatiques c'est un remède efficace pour traiter diverses maladies de la peau comme les problèmes d'acnés, les peaux grasses et même le psoriasis [20,21].

#### 1.3. Procédés d'extraction des huiles essentielles

Les méthodes d'extraction des principes odorants des matières végétales ont considérablement progressé grâce à la chimie moderne. Les principales méthodes sont :

- L'entraînement à la vapeur d'eau ;
- L'hydrodistillation ;
- L'extraction par solvants volatils.

##### 1.3.1. Entraînement à la vapeur d'eau (E.V.E)

L'entraînement à la vapeur d'eau est le plus ancien des procédés d'extraction des huiles essentielles à partir des végétaux. Il consiste à récupérer l'huile essentielle des végétaux, en faisant passer un courant de vapeur d'eau à travers la matière végétale sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés organiques volatils sont condensées, ceux-ci sont ensuite récupérés par décantation. Ce procédé permet de traiter les matières végétales sensibles qui pourraient souffrir d'une ébullition prolongée.

Ce procédé est encore, de nos jours, le plus utilisé car sa mise en œuvre facile et l'utilisation de la vapeur d'eau, disponible et à bas prix constituent ses

principaux avantages. Cependant, il faut tenir compte du fait que la température de la vapeur d'eau varie au cours de l'entraînement de l'huile ; elle est légèrement basse au début de l'extraction et la vapeur d'eau ne peut entraîner que les constituants très volatils, elle augmente graduellement et les constituants à points d'ébullition élevés sont entraînés. La composition de l'huile obtenue en fin du processus d'extraction est alors différente de celle obtenue au début. Parmi les inconvénients de ce procédé, on note la difficulté d'extraire les produits odorants peu volatils ou ceux appréciablement solubles dans l'eau [22].

### 1.3.2. Hydrodistillation (HD)

L'hydrodistillation est basée sur le même principe que l'entraînement à la vapeur d'eau sauf que le matériel végétal est dans ce cas immergé dans l'eau portée à l'ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique mais on peut aussi travailler à pression réduite ou bien surpression et les composés volatils entraînés par la vapeur sont recueillis après condensation et décantation [22].

### 1.3.3. Extraction par solvants

Ce procédé consiste à épuiser la matière végétale de ses constituants odorants au moyen d'un solvant, puis à l'éliminer de l'extrait par évaporation sous vide. Le produit obtenu est appelé " concrète " ressemblant à une cire grasseuse. Le traitement des plantes aromatiques par des solvants organiques volatils est assurément une activité ancienne. Portant les appareillages utilisés ont peu évolué jusqu'à ces dernières années. Certes, l'emploi de solvants à l'état supercritique pour le traitement de plantes aromatiques se développe en Allemagne et aux USA depuis deux décennies. Bien que sur les plans quantitatifs et qualitatifs cette méthode apporte satisfaction, elle est peu divulguée en raison de son coût très élevé lié au niveau de pression mis en œuvre. Elle est de ce fait réservée à l'heure actuelle aux traitements de masse (café, thé, houblon...) ou à l'extraction de produits thermosensibles à très forte valeur ajoutée. En ce sens, l'utilisation de solvants organique reste une solution alternative pour le traitement des plantes aromatiques [22].

Il existe d'autres méthodes d'extraction des huiles essentielles moins utilisés telles que : L'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique, l'extraction par micro-ondes, l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes, l'enfleurage, la macération, l'expression à froid...etc. [18].

Nous avons choisi d'étudier l'huile essentielle de la plante médicinale « Myrtus Communis .L » que nous allons décrire dans le chapitre suivant.

## CHAPITRE 2

### LA MATIERE VEGETALE : LE MYRTE

#### 2.1. Historique

Le myrte est cultivé autour du bassin méditerranéen depuis des siècles, il appartient à la famille des myrtacées, ainsi il est la seule myrtacée qui pousse spontanément sur les collines chaudes du bassin méditerranéen. Il était utilisé pour la première fois en médecine au sixième siècle en traitement de psoriasis. Il symbolisait la poésie amoureuse pour les poètes arabes. Pour les romains, il représentait la bravoure, pour les juifs la paix, et pour les grecs, ils en faisaient un vin avec les rameaux chargés de fruits, et associaient le myrte à la charité, l'amour spirituel et surtout à la pureté de la déesse Aphrodite [23].

Autrefois, les fleuristes l'incluaient dans les bouquets des fleurs des mariées et dans les décorations florales lors des mariages. Dans l'antiquité, le feuillage était utilisé pour confectionner des couronnes honorifiques, dont une reproduction en or est visible au British Muséum (Antiquité grecque). Associé à l'encens, la rose, le cèdre ou l'acore, il était couramment employé pour parfumer, voire purifier les cendres des défunts. Il entrait dans la composition des eaux de toilettes, de baumes et pommades ou simplement rajouter à l'eau des bains et évidemment dans la préparation de filtres aux divers pouvoirs [24].

#### 2.2. Principales espèces du genre « myrte »

Le genre botanique des myrtes est de nom scientifique *myrtus communis* (L.) appartient à la famille des myrtacées qui vient du grec 'myrtos' [24]. *Myrtus communis* .L requiert les expositions suivantes : mi-ombre, lumière et soleil. Il préfère un sol bien drainé et frais, il appartient aux plantes qui résistent bien à la sécheresse. Parmi ses espèces on peut Citer :

▫ *Myrtus communis* « Boetica » a des feuilles de 4 cm, très odorantes.

▫ *Myrtus communis* « *Microphylla* » : est une variété naine ne dépassant pas 60 cm, dont les feuilles mesurent moins de 2.5cm. Cette variété se prête très bien à la taille ornementale.

▫ *Myrtus communis* « *Tarentina* » : est la variété la plus naine, avec des rameaux très courts recouverts d'un duvet blanc. Ses petites feuilles sont très robustes, arrondies et à reflets cuivrés.

▫ *Myrtus communis* « *Variegata* » : présente des feuilles pointues ourlées de blanc crème, atteignant 5 cm [25].

### 2.3. L'origine

Le myrte est une plante arbustive, commune des régions méditerranéennes, poussant à l'état sauvage, associée aux forêts de chênes et de pin d'Alep du Tell et du littoral. Une autre espèce saharienne, *myrtus Nivellii*, assez rare est présente dans le Hoggar et le Tassili [26]. En général, l'origine du myrte est le pourtour du bassin méditerranéen.

### 2.4. La description botanique

- Classification classique

**Règne** : Plantae.

**Division** : Magnoliophyta.

**Classe** : Magnoliopsida.

**Ordre** : Myrtales.

**Famille** : Myrtaceae.

**Genre** : *Myrtus* L. [27]



Figure 2.1 : *Myrtus communis* L.

- Classification phylogénétique

**Ordre** : Myrtales.

**Famille** : Myrtaceae. [27]

**Nom scientifique** : *Myrtus communis* (Linné)

**Description** : Selon les variétés, le sol et le climat, le myrte atteindra une hauteur de 2-3 mètres ou restera un arbrisseau ne dépassant pas 50 cm [27].

**Feuillage** : Les feuilles du myrte sont persistantes, coriaces, plus ou moins pointues selon les variétés, extrêmement aromatiques (odeur balsamique, typique des plantes du maquis méditerranéen). Elles sont plus ou moins serrées selon les variétés [27].

**Floraison** : Les fleurs sont magnifiques, blanches odorantes à multiples étamines en mai-juin [27].



Figure 2.2 : *Myrtus communis* L. en période de floraison

**Fruits** : les baies de myrte sont d'un noir-bleuté et commencent à être mûres en septembre, mais elles peuvent rester sur la plante une bonne partie de l'hiver [28].



Figure 2.3 : *Myrtus communis* L. (fruits mûrs)

**Récolte** : on récolte les feuilles de mai à septembre, en laissant toujours les 2/3 du feuillage pour ne pas affaiblir la plante. Les baies seront récoltées dès qu'elles auront pris leur couleur sombre et qu'elles deviendront légèrement souples sous le doigt [27].

**Autres variétés** : il y a une très grande diversité de cultivars et de variétés de *Myrtus communis* tous appelés myrte : à fleurs doubles, fructifères, stériles, à fruits blancs [28].

**Résistance au froid-rusticité** : le myrte adulte peut résister brièvement à 12°C. En pot, il faut absolument protéger le pot des grands froids, la plante gèlerait par les racines [27].

**Nature du terrain** : le maquis est pauvre et sec; le calcaire ne nuit pas, mais les sols doivent être très bien drainés. La culture en pot est tout à fait possible [29].

**Exposition** : au soleil [27].

**Besoins en eau** : le myrte est sobre, mais doit être arrosé la première année pour faciliter son installation. En pot, il doit être arrosé comme toutes les plantes, en fin de matinée. L'eau calcaire tache les feuilles [27].

**Taille** : la taille n'est pas indispensable, elle servira surtout à former esthétiquement la plante. A effectuer après la récolte de fruits en septembre [29].

**Multiplication** : le myrte se bouture très bien de mai à juillet; les graines germent parfaitement [29].

### 2.5. Dénomination vernaculaire

Arabe : Rayhane.

Français : Myrte (commun).

Allemand : Brautmyrte.

Italien : Mirto.

Latin : Baca Myrtae.

Espagnole : Mirto.

Turquie : Mersin, Murt [30].

### 2.6. Odeur et Saveur

Il a l'odeur aromatique, forte, pénétrante et caractéristique rappelant à celle d'eucalyptus tandis que sa saveur aromatique est légèrement âpre. La saveur des baies mûres est légèrement sucrée.

La pression du myrte à froid dégage un arôme frais qui rappelle l'eucalyptus européen et les aiguilles de pin [25].

### 2.7. Composition chimique de l'huile essentielle du myrte

La composition d'une huile essentielle de myrte varie d'une région à l'autre comme l'indique le tableau 2.1.

Tableau 2.1. Variation de la composition de l'HE de myrte de Tunisie et celle du Maroc.

| Les composés          | Teneur (%)   |            |
|-----------------------|--------------|------------|
|                       | Tunisie [31] | Maroc [32] |
| Alpha-pinène          | 50           | 10         |
| 1,8-cineole           | 20           | 43         |
| Limonène              | 08           | 10         |
| Linalool              | 2 à 3        | 25         |
| L'acétate de géranyle | 02           | 1,2        |
| Alpha-terpineol       | 1 à 2        | 01         |
| Para-cymène           | 1 à 2        | 0,2 à 0,8  |

### 2.8. Utilisation générale et thérapeutique du myrte

Le myrte est un bon aseptique des voies respiratoires, on peut donc l'utiliser tout aussi bien en usage cutané que par voie orale. Appliquée sur le bas du dos ou du ventre, elle permet de résoudre les problèmes des appareils génitaux et les infections urinaires. Pour traiter les sinusites ou l'angine, il est préférable d'en mettre un peu sur le sinus ou le cou. L'huile essentielle de myrte a aussi des vertus cosmétiques. En effet, c'est une bonne antiride et elle revitalise les peaux sèches. Cette huile est donc très intéressante et pour un meilleur usage, il ne faut pas dépasser le dosage et la conserver dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et de la chaleur [30].

Les Touaregs l'utilisent pour ses propriétés ; les feuilles sont vulnérables, elles guérissent les blessures et les plaies. Par contre, les fruits ou baies sont séchés, puis utilisés comme condiments. En Algérie, les rameaux de myrte sont utilisés, en tradition populaire, et sont déposés sur les tombes les jours de recueillement [26].

En phytothérapie, le myrte a des propriétés très intéressantes. Il détruit les

microbes et empêche leur prolifération. En cas de diarrhées ou de dysenteries, il assèche les écoulements et facilite la circulation. Il facilite également l'expectoration par la bouche des matières encombrant les voies respiratoires (mucosités en excès dans les bronches). Il fait baisser le taux de sucre dans le sang et favorise la digestion. Il guérit aussi les ulcères et permet leur cicatrisation. Il agit sur les fermentations intestinales et sur les douleurs abdominales qu'elles entraînent, en calmant les spasmes d'origine digestive sur les intestins et l'estomac. Il diminue les ballonnements et calme les douleurs abdominales associées. Le myrte est une plante aromatique, il contient une huile essentielle riche en myrtol, en cinéol et en tanins [33].

## 2.9. Quelques travaux sur le myrte

De nombreux travaux ont été effectués sur le myrte, pour connaître la composition chimique, l'effet antibactérien, l'effet antioxydant...etc.

Nous présentons ci-après quelques uns.

### 2.9.1. Composition chimique de l'huile essentielle de myrte provenant de différentes origines géographiques

La composition chimique de l'huile essentielle de myrte commun des différents pays : Liban [34], Maroc [35], Tunisie [36], Iran [37] et Grèce [38] est présentée dans le tableau 2.2.

▫ Les 47 constituants chimiques identifiés représentent 98.3 % de l'huile essentielle du Myrte libanais dont les composants principaux sont : l'  $\alpha$ -pinène (32,2 %), le 1,8 cinéole (25,9%) et le limonène (18,6%). Les résultats obtenus de l'analyse qualitative et quantitative des constituants chimiques des huiles essentielles du Myrte commun du Liban mettent en évidence les caractéristiques principales permettant de différencier les divers échantillons des huiles essentielles de *Myrtus communis* L. provenant de différentes origines géographiques.

▫ Les analyses de l'HE des feuilles de myrte (*Myrtus Communis* L.) du Maroc ont révélé 28 composés. Les composés majoritaires ont été l'  $\alpha$ -pinène (22%), le 1,8-cinéole (33.1%), le linalool (1.59%), l'  $\alpha$ -terpineol (3.1%) et l'acétate de géranyl (2.03%).

▫ L'analyse de l'huile essentielle du myrte de la Tunisie a révélé comme composés majoritaires :  $\alpha$ -pinène (51.15%), le 1,8-cinéole (24.15%), le linalool (2.3%) et l'acétate de géranyl (1.7%).

▫ Par ailleurs, l'huile essentielle extraite du myrte de la Grèce est composée principalement de :  $\alpha$ -pinène (10.9%), le 1,8-cinéole (13.5%), et le linalool avec une teneur de 7.7%.

▫ Les analyses de l'HE des feuilles de myrte (*Myrtus Communis* L.) d'Iran ont révélé 32 composés. Les composés majoritaires ont été  $\alpha$ -pinène (29.4%), limonène (21.2%), 1,8-cinéole (18%), linalool (10.6%) et  $\alpha$ -terpineol (3.1%).

Tableau 2.2. Tableau comparatif des teneurs des constituants des huiles essentielles de *Myrtus Communis* de différents pays.

| Indice de rétention | Composés               | Teneur (%) |            |              |           |            |
|---------------------|------------------------|------------|------------|--------------|-----------|------------|
|                     |                        | Liban [34] | Maroc [35] | Tunisie [36] | Iran [37] | Grèce [38] |
| 07.348              | $\alpha$ -pinène       | 32.2       | 22.00      | 51.15        | 29.40     | 10.90      |
| 10.153              | 1,8-cinéole            | 25.9       | 33.10      | 24.15        | 18.00     | 13.50      |
| 12.273              | Linalool               | 06.7       | 01.59      | 02.30        | 10.60     | 07.70      |
| 14.457              | Terpinène-4-ol         | -          | 00.23      | -            | -         | 00.20      |
| 14.715              | p-cymène8-ol           | 00.72      | 00.56      | -            | -         | -          |
| 14.896              | $\alpha$ -terpineol    | -          | 03.10      | -            | 03.10     | 01.60      |
| 16.654              | Géraniol               | -          | 00.41      | -            | -         | -          |
| 19.207              | $\alpha$ -terpinène    | -          | tr         | -            | -         | tr         |
| 20.098              | Acétate de géranyl     | 01.05      | 02.03      | 01.70        | -         | 01.80      |
| 20.461              | Méthyle eugenol        | -          | 01.14      | -            | -         | tr         |
| 21.048              | $\beta$ -caryophyllene | -          | 00.41      | -            | -         | -          |
| 21.901              | $\alpha$ -humulene     | -          | 00.58      | -            | -         | 00.50      |

### 2.9.2. Rendement en huile essentielle de myrte dans différents pays

Le rendement en HE de *Myrtus communis* L. est représenté dans le tableau 2.3.

▫ Le rendement en huile essentielle du Japon (1.45%) est le plus élevé par rapport à celui des autres pays. Nous pouvons dire que le myrte commun du Japon et celui de la Grèce sont riches en composés aromatiques volatils.

▫ Le rendement en huile essentielle des feuilles de myrte commun du

Maroc est identique à celui de la Tunisie avec un pourcentage de 0.11% et proche de celui du Liban qui est de 0.12%.

Tableau 2.3. Rendement en HE de myrte dans quelques pays.

|                     | Tunisie<br>[36] | Liban<br>[34] | Maroc<br>[35] | Japon<br>[39] | Iran<br>[37] | Grèce<br>[38] |
|---------------------|-----------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
| R <sub>HE</sub> (%) | 0.11            | 0.12          | 0.11          | 1.45          | 1.22         | 1.20          |

### 2.9.3. Effet antibactérien de l'huile essentielle de myrte commun (*Myrtus communis L.*)

L'effet antibactérien de l'huile essentielle extraite à partir des parties aériennes du myrte d'Iran a été étudié sur *Escherichia.coli*, *staphylococcus aureus*, *streptococcus foecalis*, *pseudomonas aeruginosa*, *klebsiella pneumoniae*, *bacillus subtilis*, *B.licheniforme*, *candida albicans* et *saccharomyces cerevisiae*.

La méthode de diffusion sur disque a été utilisée pour évaluer la zone où il y a une inhibition de la prolifération bactérienne à différentes concentrations d'huile. La concentration minimale inhibitrice et bactéricide de l'huile a été déterminée [37]

L'huile a montré des effets antibactériens sur ces organismes. La cinétique de destruction microbienne a montré que l'huile peut tuer des microorganismes après une durée d'application de 45 minutes [37].

Des études similaires ont été effectués en Tunisie mais sur d'autres souches bactériennes telles que : *Plantarum Lactobacille*, *Escherichia coli* et *Geotrichum candidum*, en utilisant une méthode submergée de culture de bouillon. Les résultats obtenus ont prouvé qu'elles sont des inhibiteurs de la prolifération de ces bactéries testées, et qu'*Escherichia. Coli* était plus empêchée que *Plantarum de Lactobacille* par ces huiles essentielles [40].

Mr. Hammami a travaillé sur les matériaux comme source de nouveaux agents antibactériens. Des extraits différents des plantes médicinales traditionnelles ont été examinés. Quelques produits naturels ont été approuvés en tant que nouvelles drogues antibactériennes, mais il y a un besoin pressant d'identifier des substances actives vers des microbes pathogènes avec de haute résistance. L'étude a été entreprise pour identifier les propriétés antibactériennes

de *myrtus communis* L., les extraits de méthanol, d'éthanol et d'acétate éthylique à partir des feuilles et des fruits de *myrtus communis* L. Ils ont été examinés pour déterminer leurs activités antibactériennes en employant la méthode de diffusion sur milieu solide contre les monocytogènes CECT 4032 de *Listeria*. La concentration minimale inhibitrice a été déterminée en employant l'analyse de dilution de micro-plat. la plupart des extraits ont montré une activité antibactérienne élevée [40].

#### 2.9.4. Variation de la composition en huile essentielle et en acides gras pendant la maturation des fruits de *Myrtus communis* L. variétés *italica*

La composition de l'huile essentielle et des acides gras des fruits de *Myrtus communis* variété *italica* pendant sa maturation a été déterminée. L'effet du temps de fruitarisme sur quelques propriétés physiques des fruits de *Myrtus*, poids du fruit et le contenu d'humidité, était significatif. L'augmentation du poids de fruit (de 2,54 à 8,79 g%) pendant la maturité a été corrélée avec celle du contenu d'humidité (de 28% à 72%). Les rendements des huiles essentielles du fruit ont changé de 0,003% à 0,01% et ont montré une augmentation remarquable à 60 jours après la floraison jusqu'à atteindre un maximum de 0,11%. Quarante sept composés volatils ont été identifiés dans l'huile essentielle de fruit; 1,8-cineole (7,31 –40,99%), acétate géranylique (1,83 –20,54%), linalool (0,74 – 18,92%) et l'alpha pinène (1,24 –12,64%) étaient les composés principaux de monoterpènes. Le contenu total d'acide gras a changé de 0,81% à 3,10% pendant la maturation de fruit et les acides gras prédominants étaient l'acide linoléique (12,21 – 71,34%), l'acide palmitique (13,58 –37,07%) et l'acide oléique (de 6,49 21,89%). Les proportions d'acide linoléique se sont corrélées inversement avec des acides palmitiques et oléiques pendant toutes les étapes de la maturation [42].

Par ailleurs, les grains de *Myrtus communis* L. de Turquie ont un rendement de 4.87% d'acide gras. En outre, le rendement d'acides gras libres obtenus à partir de l'extrait des grains était de 1.39%, les lipides sont caractérisés par la faible teneur en acide palmitique et palmitoléique qui représentent 16% de toute la composition en acides gras des extraits des lipides. L'acide oléique a été déterminé comme l'acide gras principal dans tous les extraits de *Myrtus communis* L. avec une teneur de 64.1% [43].

II.9.5. Potentiels antioxydants et antigenotoxiques in vitro de myricetin-3-o-galactoside et de myricetin-3-o-rhamnoside de *Myrtus communis* L. : Modulation de l'expression des gènes impliqués dans le système immunitaire en utilisant DCNcA micro-arrangement.

L'activité antioxydante de myricetin-3-o-galactoside et de myricetin-3-o-rhamnoside, isolés des feuilles de *Myrtus communis* L. a été déterminée par la capacité de chaque composé d'empêcher l'activité d'oxydase de xanthine, peroxydation de lipide et d'éliminer le radical libre 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. L'activité d'antimutagénique a été évaluée en utilisant le chromotest et l'analyse de comète. IC(50) les valeurs de la peroxydation de lipide par myricetin-3-o-galactoside et myricetin-3-o-rhamnoside sont respectivement 160µg/ml et 220µg/ml. À une concentration de 100µg/ml, les deux composés ont montré l'effet inhibiteur le plus efficace de l'activité d'oxydase de xanthine respectivement, de 57% et 59%. Myricetin-3-o-rhamnoside était un extracteur radicalaire très efficace avec une IC(50) de 1.4µg/ml. Ces deux composés induisent une activité inhibitrice contre le nifuroxazide, l'aflatoxine B1 et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> la mutagénicité induite. L'effet protecteur montré par ces molécules a été également déterminé par analyse d'expression de gène comme la réponse à un effort oxydant employant un capteur d'ADN [44].

2.9.6. Variation génétique des populations tunisiennes de *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) évaluées par des isozymes et RAPDs.

La variabilité génétique de six populations tunisiennes de *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) de la Tunisie a été estimée à l'aide de neuf systèmes isoenzymatiques contrôlés par 17 lieux et 79 marqueurs RAPD amplifiés par cinq amorces. Les populations analysées appartiennent à trois étages bioclimatiques différents : humide inférieur, sub-humide et semi-aride supérieur. Une diversité génétique intrapopulation importante a été détectée. Le niveau de polymorphisme varie selon le bioclimat. Les populations du sub-humide sont plus polymorphes. Pour l'ensemble des populations, la diversité génétique révélée par les RAPDs est plus importante que celle détectée par les isozymes. Une forte différenciation entre les populations, selon le bioclimat et l'éloignement géographique, a été

révélée par les deux méthodes. La structuration des populations selon les marqueurs RAPD concorde mieux avec le bioclimat. La différenciation entre les populations appartenant à des groupes écologiques différents est plus importante que celle entre populations d'un même groupe. Les programmes de conservation de l'espèce doivent tenir compte aussi bien du degré de la diversité génétique intrapopulation révélé par les deux types de marqueurs que du bioclimat [45].

#### 2.9.7. Effet de la distillation fractionnée sur la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du myrte

L'huile essentielle extraite à partir du myrte du Maroc et ses fractions obtenues par la distillation fractionnée sont analysées par les méthodes chromatographiques (GC et GC/MS).

L'huile essentielle du Myrte marocain est constituée de l'  $\alpha$ -pinène (10%), le 1,8-cinéole (43%) et l'acétate de myrtényl (25%) comme composés majoritaires. La rectification de l'huile du myrte a donné quatre principales fractions. La première est riche en  $\alpha$ -pinène (42-54.8%) et 1,8-cinéole (27-53.6%), la seconde fraction en 1,8-cinéole (83-95,8%), la troisième en acétate de myrtényl (36-55%) et 1,8-cinéole (12-36%) et la quatrième en acétate de myrtényl (62-65%). L'activité antimicrobienne testée avec les principales fractions de l'huile essentielle du myrte a montré qu'elle a été essentiellement observée dans la troisième fraction contenant particulièrement l'  $\alpha$ -terpineol et le myrténol ainsi que le 1,8-cinéole [46].

#### 2.9.8. Propriétés insecticides d'huiles essentielles libanaises contre le moustique de *Culex pipiens molestus*

Les activités insecticides des extraits d'huile essentielle des feuilles et des fleurs des plantes aromatiques contre des larves du moustique *Molestus Culex Pipiens* ont été déterminées. Des extraits de *Myrtus communis* L. se sont avérés les plus toxiques, suivi de ceux du *syriacum origanum* L., du *Mentha microphylla* Koch, du *pistacia lentiscus* L. et de *Lavandula stoechas* L. avec les valeurs LC50 de 16, 36, 39, 70 et 89 mg litres<sup>-1</sup>, respectivement. Plus de 20 composants ont été identifiés. Huit composants purs (1,8-cinéole, menthone, linalol, terpinéol, carvacrol, thymol et l' $\alpha$ -pinène) ont été examinés contre ces larves. Thymol, carvacrol étaient les plus toxiques (LC50 = 36-49 mg litre<sup>-1</sup>), tandis

que la menthone, 1,8-cineole, linalool et le terpinéol (LC<sub>50</sub> = de 156-194 mg litre<sup>-1</sup>) étaient moins toxiques [47].

#### 2.9.9. Activité antioxydante par l'analyse de DPPH

L'activité du radical-balayage libre des échantillons extraits de myrte a été évaluée avec le DPPH modifiée de (radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil), qui est basée sur la mesure des capacités réductrices des antioxydants vers le radical de DPPH. Brièvement, une solution de DPPH (10<sup>-4</sup> M) a été préparée dans le méthanol aqueux (70:30 v/v). Un millilitre d'échantillon a été ajouté à 3 ml de la solution de DPPH. Le mélange a été alors secoué vigoureusement et conservé à température ambiante dans l'obscurité. Après 30 min, la diminution de l'absorbance à 517 nm a été mesurée par rapport à un blanc (solution aqueuse de méthanol) en employant un spectrophotomètre du double-faisceau UV-vis. Un mélange composant de 1 ml du méthanol aqueux (70:30 v/v) et de 3 ml de solution de DPPH a été employé comme un blanc. Les solutions radicales ont été fraîchement préparées chaque jour, stocké dans un flacon couvert de papier d'aluminium et maintenu dans l'obscurité. Les activités du radical-balayage des échantillons, exprimées comme le pourcentage l'inhibition de DPPH, ont été calculées selon la formule

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_B - A_A) / A_B] * 100$$

D'où A<sub>B</sub> et A<sub>A</sub> sont les valeurs d'absorbance de control et de l'échantillon d'essai, respectivement. Les essais ont été effectués quatre fois. La concentration en extrait fournissant l'inhibition de 50% (IC<sub>50</sub>) a été calculée à partir du graphique du pourcentage d'inhibition tracé en fonction de la concentration en extrait (100, 80, 50, 30, 20, 10 et 5 mg/l). Les résultats de l'effet antioxydant de l'extrait sont présentés dans le tableau ci-dessous [48].

Tableau 2.4. L'effet antioxydant de l'extrait méthanolique de myrte déterminé par

LC<sub>50</sub>

| Saison  | Les composés phénoliques totaux (mg d'acide gallique/ g de plante) | LC <sub>50</sub> (mg/l) |
|---------|--|-------------------------|
| Février | 307 ± 7.4  | 17.1 ± 0.78             |
| May     | 352 ± 4.0  | 14.6 ± 0.81             |
| Août    | 373 ± 0.5  | 9.54 ± 0.93             |

La capacité des extraits méthanoliques des feuilles de myrte à chercher le radical libre est attribuée avec la participation de ses constituants tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes [49]. D'après ces résultats, on remarque que la meilleure accumulation des constituants phénoliques a été lors de la période de floraison (mois d'Août) avec un meilleur pouvoir antioxydant qui correspond à  $LC_{50}$  la plus faible ( $9.54 \pm 0.93$  mg/l) et à la teneur en composés phénoliques la plus élevée ( $373 \pm 0.5$  mg d'acide gallique/g de plante). Par contre, le faible pouvoir antioxydant a été remarqué au mois de février avec la LC 50 la plus élevée ( $17.1 \pm 0.78$  mg/l ) et la teneur en composés phénoliques qui correspond à  $307 \pm 7.4$  (mg d'acide gallique/ g de plante) qui est due à la vitesse limitée de la photosynthèse [48].

## CHAPITRE 3

### MATERIELS ET METHODES

#### 3.1. Extraction des huiles essentielles

Dans cette étape nous avons procédé à l'extraction de l'huile essentielle de deux organes différents de la plante médicinale de myrte (*Myrtus communis L.*) provenant de la région de Zougala de la Wilaya de Ain Defla (Algérie) de Janvier 2009 à Janvier 2010. Les caractéristiques géographiques de cette région sont les suivants [67] :

Etage bioclimatique : subaride au fond de la vallée et subhumide sur les reliefs.

Altitude : 1164 m

Latitude : 36°4' 0 N

Longitude : 4° 32' 59 E

Pluviométrie : 500 à 600 mm/an

Pour réaliser cette extraction, nous avons utilisé deux méthodes distinctes: l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau.

#### 3.1.1. Extraction par hydrodistillation (HD)

##### 3.1.1.1. Description de l'appareillage

L'appareil ou le montage de l'hydrodistillation comprend essentiellement deux parties (ballon et réfrigérant).

- Le ballon : sert à contenir la matière végétale émergée dans l'eau distillée.
- Le réfrigérant : c'est un échangeur de chaleur servant à convertir toute vapeur en liquide provenant du ballon.

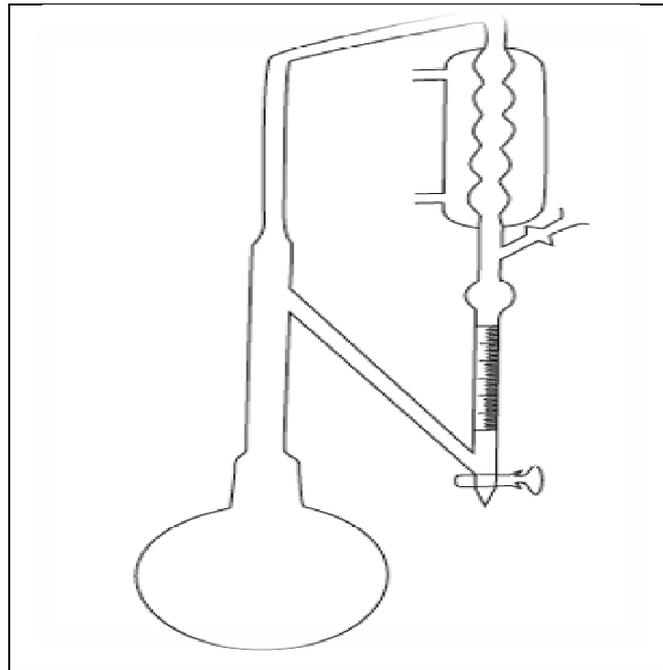


Figure 3.1. Appareil d'hydrodistillation (Clevenger)

#### 3.1.1.2. Mode Opérateur

##### ❖ Préparation de l'échantillon

Nous avons réalisé l'extraction des huiles essentielles à partir de deux organes de la plante de myrte.

##### ✚ Les fruits (les baies)

Les fruits de myrte sont réduits en poudre au moyen d'un mixeur.

##### ✚ Les feuilles

Les feuilles de myrte sont hachées en très petits fragments au moyen d'un mixeur.

La matière végétale est placée dans un ballon avec de l'eau distillée. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense. Elle est ensuite récupérée dans un erlenmeyer où il est possible de distinguer deux phases bien distinctes : l'huile essentielle et, dessous, l'eau aromatique (ou l'hydrolat) chargée d'espèces volatiles contenues dans la plante et ayant une densité plus élevée.

### ❖ Préparation de l'huile essentielle de l'eau aromatique

Les deux phases contenues dans l'erlenmeyer sont ensuite transférées dans une ampoule à décanter. Après avoir laissé reposer le contenu quelques minutes, il est possible d'éliminer totalement l'eau aromatique. Il ne reste que l'huile essentielle dans l'ampoule à décanter.

#### 3.1.1.3. Conditions opératoires d'extraction des HE à partir des baies

Les conditions opératoires sont les suivantes :

- La masse de la matière végétale bien broyée :  $m_b = 60g$ .
- Le volume de l'eau distillée :  $V_{ed} = 600ml$ .
- chauffage à la température d'ébullition d'eau.
- La période de récolte : Juin 2009.

#### 3.1.1.4. Conditions opératoires d'extraction des HE à partir des feuilles sèches et fraîches

Les conditions opératoires sont les suivantes :

- La masse de la matière végétale sèches bien broyée :  $m_b = 70g$ .
- La masse de la matière végétale fraîche  $m_f = 50$
- Le volume de l'eau distillée :  $V_{ed} = 600ml$ .
- chauffage à la température d'ébullition d'eau.
- La période de récolte : de janvier 2009 au janvier 2010.

#### 3.1.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau (E.V.E)

L'objectif est d'entraîner à la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière végétale distillée, se condense dans le serpentin avant d'être récupérée dans une ampoule à décanter. Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile surnageant (ou huile principale). La partie contenant les composés hydrosolubles est nommée hydrolat. Nous pouvons alors séparer les deux phases facilement.

### 3.1.2.1. Description de l'appareillage

L'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau comprend essentiellement quatre parties (deux ballons, un réfrigérant et une ampoule à décanter).

- Le premier ballon : sert à contenir de l'eau bouillante.
- Le deuxième ballon : sert à contenir la matière végétale immergée dans l'eau distillée.
- Le réfrigérant : c'est un échangeur de chaleur servant à convertir toute vapeur en liquide provenant du ballon.
- L'ampoule à décanter : c'est un réservoir de récupération du condensat et elle permet aussi la séparation des deux phases.



Figure 3.2. Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.

### 3.1.2.2. Mode Opérateur

#### ❖ Préparation de l'échantillon

L'extraction des huiles essentielles à partir de deux organes de la plante de myrte (*Myrtus communis L.*) : feuilles et fruits a été réalisé. L'échantillon est traité de la même façon que lors de l'hydrodistillation.

Le principe de l'entraînement à la vapeur d'eau est basé sur la volatilité des huiles essentielles, ces dernières seront entraînées par la vapeur d'eau, puis

condensées et récupérées à la fin.

La partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec de l'eau distillée. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense. Elle est ensuite récupérée dans une ampoule à décanter où il est possible de distinguer deux phases bien distinctes : l'huile essentielle et, dessous, l'eau aromatique (ou l'hydrolat) chargée d'espèces volatiles contenues dans la plante et ayant une densité plus élevée.

### 3.1.3. Extraction de la concrète par solvants volatils

Dans cette étape, nous avons procédé à l'extraction des concrètes des feuilles de myrte par des solvants volatils.

#### 3.1.3.1 Description de l'appareillage

L'appareillage ayant servi à la réalisation des expériences (soxhlet) comprend essentiellement trois parties (ballon, colonne et un réfrigérant).

- Le ballon : il sert à contenir le solvant pur au début de l'opération et c'est un récipient de récupération de l'extrait en fin d'opération.
- La colonne : elle joue le rôle d'extracteur, c'est dans celle-ci que se passe l'extraction proprement dite, par le contact matière végétale-solvant. Elle se compose de trois parties :

La première sert de support de la matière végétale, la deuxième et la troisième en deux tubes (1 et 2) qui servent respectivement de tube d'alimentation en solvant et vidange de l'extrait.

- Le réfrigérant : il est situé en haut de la colonne et sert à condenser les vapeurs du solvant acheminées par le tube 1 (voir figure 3.3)



Figure 3.3. Montage du Soxhlet

### 3.1.3.2. Mode opératoire

#### ❖ Préparation des échantillons

Les échantillons sont préparés de la même façon que ceux utilisés dans l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (voir 3.1.2.1).

Le matériel végétal brut est pesé puis disposé dans une cartouche en papier filtre.

#### ❖ Extraction

Le solvant envisagé contenu dans le ballon est porté à sa température d'ébullition.

Après un certain temps, on remarque l'apparition des vapeurs qui montent dans le tube 1, correspondant au temps initial ( $t_0 = 0$ ).

Ces vapeurs sont condensées et tombent goutte à goutte sur la matière végétale.

Après immersion totale, le solvant chargé en extraits aromatiques s'écoule par siphonage dans le ballon de départ, par cette étape s'achève le premier cycle d'extraction.

Pour le deuxième, troisième...cycle ou siphonage, l'opération se déroule de la même manière que précédemment, sauf que dans ce cas là, ce n'est plus le solvant qui est porté à ébullition mais plutôt l'extrait. La solution contenue dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté au fur et à mesure que l'extraction progresse.

### ❖ Élimination et recyclage du solvant organique

Le mélange chargé en extrait obtenu est soumis à une distillation par un évaporateur rotatif. Ce traitement s'effectue à la température d'ébullition de chaque solvant, pendant une durée la plus courte possible, afin d'éviter les dégradations thermiques éventuelles des composants volatils.

A l'issue de cette opération, nous récupérons d'une part la concrète et d'autre part le solvant organique.

Les conditions opératoires sont les suivantes :

-La masse des feuilles ou matière végétale :  $m_{MV} = 40g$ .

-Les solvants d'extraction :

- Volume du solvant : 250ml.

- Chauffage : à la température d'ébullition des solvants :

1) L'éther de pétrole :  $T_{\text{ébullition}} =$  de 40°C à 60°C.

2) L'éther diéthylique :  $T_{\text{ébullition}} = 35^{\circ}\text{C}$ .

3) Acétone :  $T_{\text{ébullition}} = 56.53^{\circ}\text{C}$ .

4) Ethanol :  $T_{\text{ébullition}} = 79^{\circ}\text{C}$

5) Le nombre de siphonage : 10.

## 3.2. Caractérisation et analyse des huiles essentielles

Les constantes physico-chimiques, servent d'indice de qualité et permettent de donner une idée sur la composition des huiles essentielles. Par exemple l'indice de réfraction trop élevé indique la présence de composés renfermant les doubles liaisons. D'autre part, l'utilisation des méthodes physiques d'analyses comme la chromatographie en phase gazeuse (GC) couplée soit avec la spectrométrie de masse (MS) ou avec un détecteur de flamme ionique (FID) est devenue incontournable du fait des nombreuses et précieuses informations qu'elles fournissent.

### 3.2.1. Analyse des HE des feuilles et des baies de Myrte

#### 3.2.1.1. GC/MS

Le spectromètre de masse, Agilent 5973 à quadripôle est couplé à un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890. La colonne capillaire 5% Phenyl Methyl Siloxane possède les caractéristiques suivantes (longueur : 30m, diamètre

interne : 0.25mm ; épaisseur du film : 0.25  $\mu$ m)

Les conditions opératoires sont : la température de l'injecteur splitless 250°C ; la programmation de température : de 40°C à 250°C à raison de 6°C/min, le gaz vecteur : He à 1ml/min (vitesse linéaire moyenne = 36 cm/sec). Les températures de la source et du quadripôle sont fixées à 230°C et 150°C respectivement ; énergie d'ionisation 70 eV, gamme de masse : 35 à 400 uma. L'identification des différents constituants est réalisée à partir de leur spectre de masse en comparaison avec ceux standards de la banque de données informatisées

#### 3.2.1.2. GC/ FID

L'analyse chimique des huiles essentielle est effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse HP GC 6890A, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme. La colonne capillaire 5% Phenyl Methyl Siloxane possède les caractéristiques suivantes (longueur : 30m, diamètre interne : 0.25mm ; épaisseur du film : 0.25  $\mu$ m). Les conditions opératoires sont : la température de l'injecteur splitless : 280°C ; la température du détecteur FID 300°C ; la programmation de température de 40°C (1 min) à 200°C à raison de 6°C/min puis de 200 à 280°C à 30°C/min et maintien à 280°C pendant 2 min ; le gaz vecteur : He à 1 ml/min (vitesse linéaire moyenne = 33cm/sec).

### 3.3. Activité antibactérienne des huiles essentielles du myrte commun

Les huiles essentielles ont un spectre d'action antibactérienne très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement en fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs. Ce qui nous a amené à évaluer l'activité des huiles essentielles du myrte commun.

Les tests biologiques sont effectués sur six souches bactériennes pathogènes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Bacillus subtilus*, *Candida Albicans* et *Staphylococcus Epidermidis* par la méthode de diffusion sur milieu solide (gélose).

#### 3.3.1. Matériel

##### 3.3.1.1. Les huiles essentielles

Pour réaliser notre travail, nous avons utilisé l'huile essentielle des feuilles de myrte commun extraites par entraînement à la vapeur d'eau.

##### 3.3.1.2. Les Microorganismes

Pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), il faut travailler avec des souches de référence. Cela nous a obligé à utiliser seulement six souches disponibles au niveau du laboratoire de microbiologie du centre universitaire et de l'hôpital de Khemis Miliana.

###### 3.3.1.2.1. Caractéristiques des souches utilisées

###### A. *Staphylococcus Aureus* (ATCC 29737)

###### A.1. Morphologie

Les *Staphylococcus aureus* sont des cocci non capsulés, en général groupés en amas plans irréguliers.

Elles se présentent :

- Sur gélose nutritive, par des colonies arrondies, bombées, luisantes, opaques, à contours nets et pigmentés après 24 à 36 heures pouvant alors présenter une coloration ocre-jaune.
- En bouillon nutritif, par un trouble uniforme abondant puis un dépôt [51].

### A.2. Caractères physiques et biochimiques

- Gram+
- Immobile
- Catalase (+)
- Aérobie facultative
- Fermenter les glucides
- Arginine dihydrolase (+)
- Les Staphylococcus se multiplient très bien en 24 heures sur la plupart des milieux usuels.
- Température optimale 37°C
- pH optimal 7.2 - 7.4

### A.3. Le Pouvoir Pathogène

Les manifestations pathologiques dues au Staphylococcus aureus sont très nombreuses, on peut distinguer les suppurations localisées telles que :

- les infections cutanées : furoncle, abcès, panaris et l'infection ORL diverses
- Les infections des séreuses : Arthrite, Pleurésie et péritonite.
- Les infections osseuses : ostéomyélites
- Les infections viscérales : abcès des poumons, abcès du cerveau et le phlegmon périnéphrétique.
- Les septicémies et les endocardites.
- Les toxi-infections alimentaires.
- Les syndromes de choc toxiques.

### B. Escherichia coli (ATCC 10536)

#### B.1. Morphologie

C'est l'une des bacilles de dimension moyenne 0.5µ, elle se développe aisément sur milieux ordinaires [51].

#### B.2. Caractères physiques et biochimiques

- Gram positif
- Mobile grâce à une ciliature péritriche
- Aérobie facultative
- Faisant fermenter le glucose avec ou sans gaz
- Ne possédant pas d'oxydase

### B.3. Le pouvoir pathogène

Hôte normale de l'intestin de l'homme et des animaux, souvent en petit nombre dans les urines saines, une bactérie largement répandue dans le milieu extérieur. Elle ne semble cependant pas pouvoir y mener une vie saprophyte authentique : sa présence en quantité importante d'une contamination fécale récente.

*E. coli* peut être pathogène. Chez l'homme, ce pouvoir est étendu : nous retrouvons cette bactérie surtout dans les affections génito-urinaires (métrites, cystites pyélites, pyélonéphrite et l'orchite) mais aussi dans des syndromes digestifs (appendicites, péritonites, lithiases biliaires infectées), circulatoires (endocardites, septicémies) et pulmonaire (Broncho-pneumonie, pleurésies et purulente). Ces affections sont dues à des colibacilles commensaux acquérant occasionnellement un pouvoir pathogène à l'occasion d'une modification de terrain.

## C. *Bacillus Subtilis* (ATCC 6633)

### C.1. Morphologie

Les bactéries du genre *Bacillus* sont des bâtonnets de 3 à 9  $\mu$  de longueur, de 0.6 à 1  $\mu$  de largeur, isolés en diplobacilles ou en streptobacilles.

Elles se présentent :

- En bouillon par un trouble floconneux avec un voile plus au moins épais en surface.
- Sur gélose généralement par des colonies assez volumineuses ayant tendance à s'étaler (caractère invasif) plats et opaques [51].

### C.2. Caractères physiques et biochimiques

- Gram positif et sporulé.
- Mobiles.
- Les bacilles se multiplient en général en 24 heures sur milieux usuels à pH voisin de la neutralité, les températures optimales de culture sont variables.
- Aéro-anaérobies ou aérobie stricte.
- Catalase (+).
- Oxydase (+).

### C.3. Pouvoir pathogène

Le genre *Bacillus* comprend des bactéries ubiquistes, hôte normal du sol dans lequel elles peuvent persister très longtemps grâce à leurs spores, leurs rôles pathogènes très faible, ils n'interviennent pratiquement que pour les insectes (abeilles).

### D. *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 27853

*Pseudomonas Aeruginosa* est un genre répandu dans la nature, il vit dans l'eau et sur le sol, on le trouve aussi dans l'environnement hospitalier, surtout dans les endroits humides : siphons de lavabos, savons liquides, humidificateurs, solutions d'antiseptiques.

*Pseudomonas Aeruginosa* fait partie de la flore commensale de l'homme. On le trouve dans le tube digestif et plus dans la salive [51].

### D.1. Morphologie

*Pseudomonas Aeruginosa* se présente comme un fin bacille (0.5 X 3 $\mu$ ), asporalé et acapsulé ; son extrême mobilité est due à une ciliature polaire en général monotriche.

C'est une bactérie très peu exigeante, se multipliant sur des milieux synthétiques simples avec comme source d'azote et de carbone de l'ammoniaque et du glucose.

Elle pousse à 37°C et à un pH appartenant à (6.5 ; 7.5) en aérobiose. Sur gélose apparaissent des colonies de quelques millimètres, plats ou surélevés, opaques, limitées par un bord régulier.

### D.2. Caractères physiques et biochimiques

- Gram négatif.
- Réduction des nitrates allant souvent jusqu'au stade azote gazeux.
- Présence d'une oxydase.
- Pouvoir protéolytique.
- Présence d'une lécithinase.
- Production de pyocyanine ou de pyoverdine.

### D.3. Pouvoir pathogène

*Pseudomonas Aeruginosa* est une bactérie opportuniste rarement responsable d'infections chez les sujets dont les mécanismes de défense sont normaux. Les infections affectent surtout les malades recevant un immunosuppresseur ou ayant une maladie grave sous-jacente, hémopathie ou cancer. Les brûlés sont particulièrement sensibles à ces infections.

Chez l'enfant ces sujets, les septicémies à *Pseudomonas Aeruginosa* ont un taux de mortalité très élevé.

Les plaies, les voies urinaires et les voies respiratoires sont des portes d'entrée fréquentes. *Pseudomonas Aeruginosa* peut aussi être responsable d'otites et de méningites. Les rares cas de diarrhées ont été observés des centres de prématurés.

### E. *Candida Albicans* ATCC 10231

#### E.1. Morphologie

- Les candidas sont des levures blanches non encapsulées.
- La forme levure est unicellulaire et se multiplie par bourgeonnement. Possibilité aussi de croissance sous forme de pseudo mycélium et de mycélium.
- L'identification des levures repose en grande partie sur des tests biochimiques. *Candida Albicans* est l'espèce la plus fréquemment rencontrée en pathologie [51].

#### E.2. Pouvoir pathogène

*Candida Albicans* (parfois aussi appelé monlia) est un champignon (ou levure) normalement présent sur la peau et dans la bouche, l'intestin, et le vagin. Dans certaines conditions, il peut se multiplier et envahir la surface de la peau ou les muqueuses. De telles infections sont habituellement mineures, mais des formes plus sérieuses et plus profondes peuvent survenir chez les patients dont la résistance a été affaiblie par les médicaments immunosuppresseurs et des maladies graves comme le sida.

### 3.3.1.3. Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés sont regroupés dans le tableau 3.1 [51].

Tableau 3.1. Les microorganismes utilisés et leurs milieux de culture

| Milieux de culture   | Microorganismes   |
|----------------------|---|
| - Sabouraud bouillon | - <i>Candida Albicans</i>   |
| - Soja Agare         | - <i>Pseudomonas Aeroginosa</i>   |
| - Gélose Nutritive   | - <i>Staphylococcus. Aureus</i><br>- <i>Staphylococcus. Epidermidis</i><br>- <i>Bacillus. Subtilus</i><br>- <i>Escherichia. Coli.</i> |

### 3.3.1.4. La composition des milieux de culture

#### ✓ Sabouraud (Dextrose Broth)

- Caséine.....10 g
- Dextrose.....20 g
- Gélose.....15 g
- Eau distillée.....1 L

#### ✓ Gélose nutritive Agar

- Extrait de bœuf.....3 g
- Peptone.....5 g
- Gélose.....15 g
- Eau distillée.....1L

#### ✓ Soja Agare

- Digéré pancréatique de caséine.....15 g
- Peptone de soja.....05 g
- Chlorure de sodium.....05 g
- Agare bactériologique.....15 g
- Eau distillée.....1 L

### 3.3.2. Mode Opérateur

Nous avons effectués d'abord la filtration de nos huiles essentielles par un filtre de 0.22 µm (filtre stérilisant) pour que ces produits ne soient pas contaminés (produits propre), puis nous avons réalisé :

- Des essais avec l'huile essentielle des feuilles de myrte à 100% (sans dilution) sur les six souches de microorganismes indiquées dans le tableau III.1.
- Des essais après dilution avec l'éther diéthylique sur les six souches de l'ordre : 75% et 50%
- Coulage des boites

Nous avons porté les milieux déjà préparés au bain marie bouillon jusqu'à leur liquéfaction totale suivi d'un mouvement de rotation pour bien assurer l'homogénéité du milieu, puis nous avons refroidi jusqu'à 45°C.

- Nous avons disposé les boites de pétri à gauche du bec benzène (pour créer une zone aseptique de travail) puis nous avons coulé le milieu dans les boites (environ 18ml dans chaque boite) et nous avons laissé solidifier pendant 15 minutes environ.
- Préparation de la couche semence : nous avons ajouté un volume suggéré d'inoculum de la suspension du germe d'essai à une quantité suffisante d'agar (généralement milieu de semence à 0.4% pour tout les germes d'essai et 0.03% pour *staphylococcus epidermidis*) fondu et refroidi à 50°C puis nous avons mélangé soigneusement pour avoir une suspension homogène et nous avons ajouté une quantité appropriée (environ 4ml) de ce milieu de semence pour chaque boite de pétri contenant le milieu de base. Puis nous avons laissé à se solidifier.
- Après solidification, nous avons fait dans chaque boite des disques de papier buvard (adsorbants de 9 mm du diamètre et la capacité d'adsorbant est de 50 à 60µl) imprégnés dans l'huile essentielle à différentes concentrations. Puis nous avons mis le tout dans des incubateurs différents :
  - *Escherichia coli* à 42°C pendant 24 H.
  - *Candida albicans* à 25°C pendant 48 H.
  - Les autres germes d'essai à 37°C pendant 24 H.

- Après l'incubation nous récupérons nos boites et ensuite nous faisons la mesure du diamètre de la zone d'inhibition par un appareil de lecture des zones d'inhibition.

## CHAPITRE 4

### RESULTATS ET DISCUSSIONS

#### 4.1. Extraction des huiles essentielles

##### 4.1.1. Extraction par hydrodistillation

##### 4.1.1.1 Étude de la cinétique de l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle du myrte commun

###### ❖ Baies (fruits)

Nous avons réalisé plusieurs extractions successives en fonction du temps à des intervalles réguliers. Puis nous avons calculé le rendement en huile essentielle pour chaque extraction, la masse de la matière végétale introduite dans le ballon a été 60gr.

Les résultats expérimentaux sont présentés dans le tableau 4.1.

Tableau 4.1. Cinétique d'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation des baies de *Myrtus communis* L.

| emps (mn) | M <sub>HE (r)</sub> (gr) | M <sub>HE (s)</sub> (gr) | M (t).10 <sup>3</sup><br>(gr <sub>HE</sub> /gr <sub>ms</sub> ) | R <sub>HE</sub> (%) |
|-----------|--------------------------|--------------------------|--|---------------------|
| 0         | 0.0000                   | 0.3216                   | 5.36   | 0.000               |
| 30        | 0.0102                   | 0.3114                   | 5.19   | 0.017               |
| 45        | 0.0174                   | 0.2940                   | 4.90   | 0.029               |
| 60        | 0.0288                   | 0.2652                   | 4.42   | 0.048               |
| 75        | 0.0342                   | 0.2310                   | 3.85   | 0.057               |
| 90        | 0.0402                   | 0.1908                   | 3.18   | 0.067               |
| 105       | 0.0468                   | 0.1440                   | 2.40   | 0.078               |
| 120       | 0.0480                   | 0.0960                   | 1.60   | 0.080               |
| 135       | 0.0480                   | 0.0480                   | 0.80   | 0.080               |
| 150       | 0.0480                   | 0.0000                   | 0.00   | 0.080               |

M<sub>HE (r)</sub> (gr) : masse de l'HE récupérée au temps t.

M<sub>HE (s)</sub> (gr) : masse de l'HE dans le solide au temps t.

$M(t) \cdot 10^3$  (gr HE/gr ms) :  $M_{HE(t)}$  au temps  $t$  rapportée à la matière végétale sèche.

R (%) : le rendement qui se calcule par la relation :

$$R (\%) = \left( \frac{M_{HE t}}{M_{MV}} \right) * 100$$

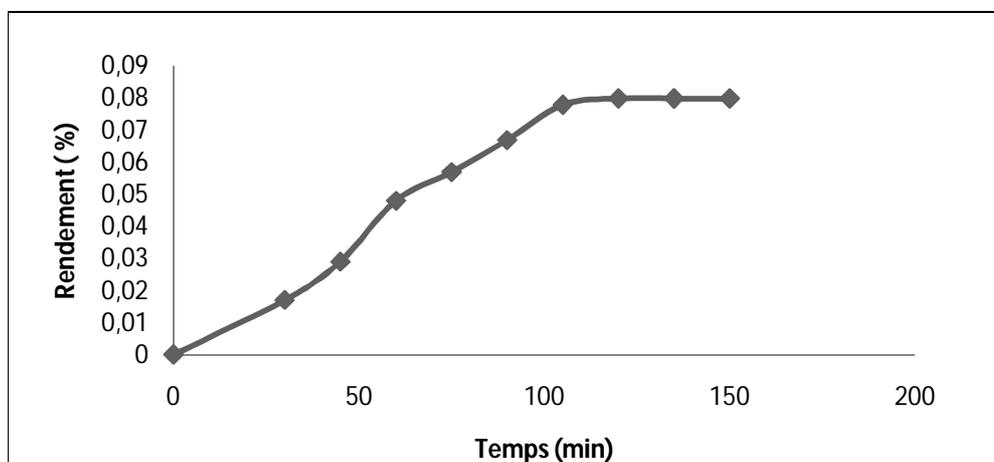


Figure 4.1. Evolution du rendement en HE des fruits secs du myrte commun en fonction de la durée d'extraction

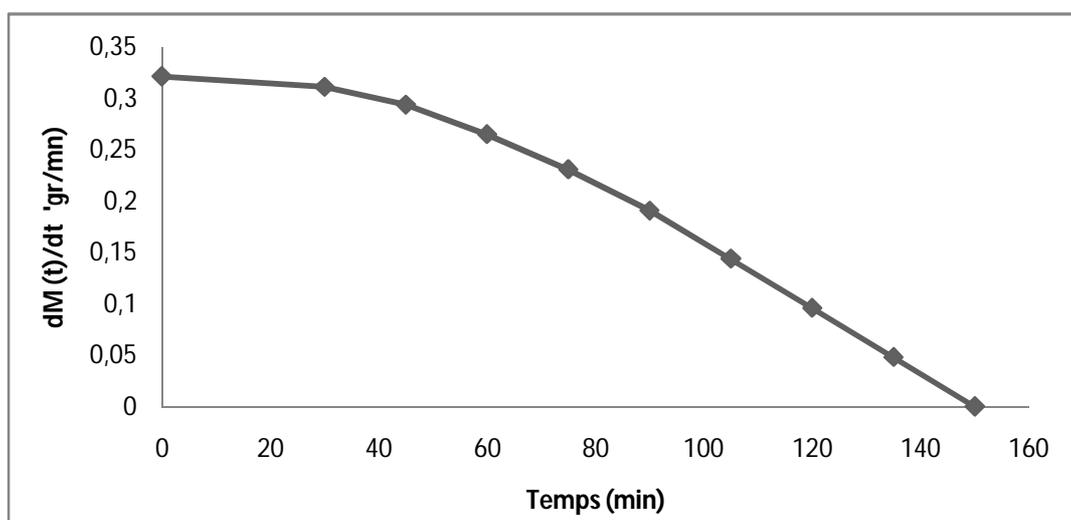


Figure 4.2. Evolution de la vitesse d'extraction de l'huile essentielle des fruits du myrte commun au cours de l'hydrodistillation

La figure 4.1 montre que le rendement d'HE des fruits de myrte croît sensiblement en fonction du temps jusqu'à atteindre un palier où il devient constant. La durée optimale d'extraction est de deux heures ; nous pouvons donc supposer qu'au-delà de cette durée, la matière végétale est épuisée en HE. Le rendement

atteint sa valeur maximale de 0.08% après une durée d'extraction de 120 minutes. Pour visualiser la variation du rendement en huile essentielle au cours du temps nous avons déterminé les vitesses d'extraction en fonction de la durée d'extraction. La figure 4.2, représentant l'évolution de la vitesse d'extraction au cours de l'hydrodistillation, montre la présence de deux périodes :

- Une première période où la vitesse est maximale. Celle-ci correspondrait à l'extraction de l'huile superficielle, la récupération de l'huile se faisant par simple évaporation.

- Une seconde période où la vitesse diminue graduellement. Dans ce cas, l'extraction de l'huile serait due à des phénomènes de diffusion. Les HE emmagasinées dans les sites endogènes peuvent être récupérées par le transfert de l'intérieur du solide vers l'extérieur qui se fait par diffusion jusqu'à épuisement de la matière végétale.

Remarque : l'utilisation des baies fraîches n'a donné aucun résultat ce qui exprime que l'hydrodistillation n'est pas la méthode convenable dans ce cas ou que l'HE est dissout dans l'eau.

➤ Etude de la cinétique d'extraction des feuilles sèches et fraîches

Nous avons effectué plusieurs extractions successives en fonction du temps. Puis, nous avons calculé le rendement en HE de chaque extraction.

Les résultats obtenus sont rapportés dans la figure suivante :

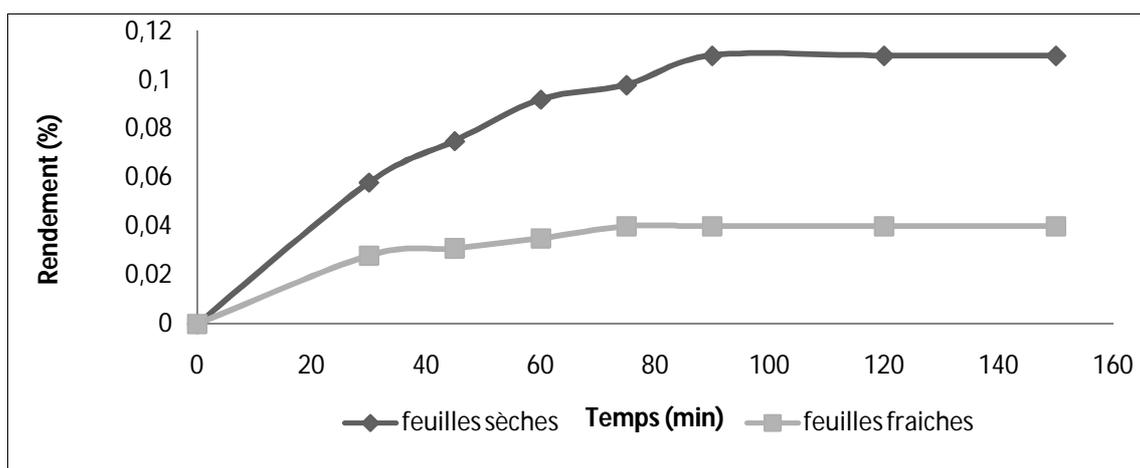


Figure 4.3 Evolution du rendement en HE des feuilles du myrte en fonction du temps d'extraction

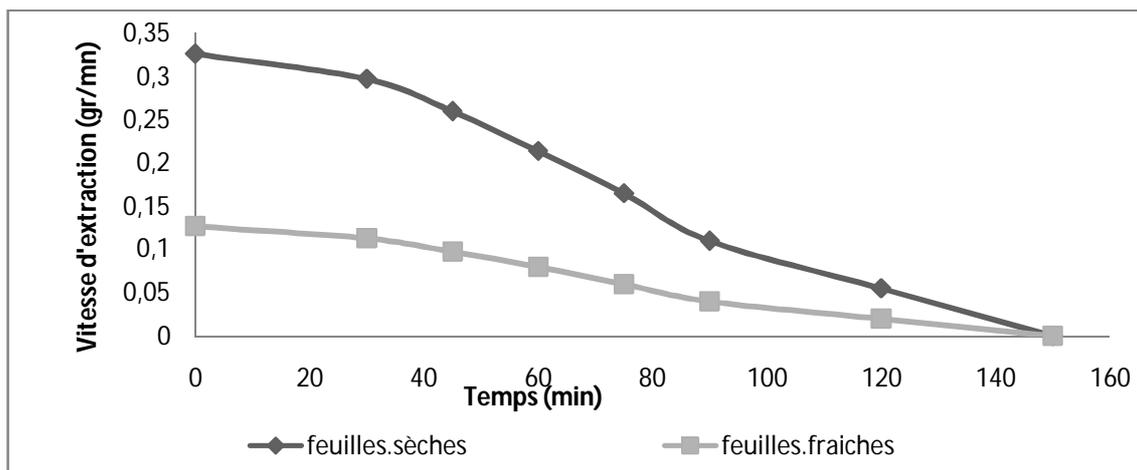


Figure 4.4. Evolution de la vitesse d'extraction de l'HE des feuilles du myrte

De la figure 4.3, nous remarquons que le rendement d'HE des feuilles sèches et fraîches du myrte varie proportionnellement en fonction de la durée d'extraction jusqu'à atteindre un palier où le rendement atteint sa valeur maximale (0.11% pour les feuilles sèches et 0.04% pour les feuilles fraîches) ; la matière végétale est alors totalement épuisée. La durée optimale d'extraction a été déterminée par 90 minutes pour les feuilles sèches et 75 minutes pour les feuilles fraîches. Au-delà de cette durée, nous pouvons estimer l'épuisement total de la substance volatile dans notre matière végétale. La figure 4.4 met en évidence la présence de deux étapes :

- La première étape où la vitesse est maximale. Celle-ci correspondrait à l'extraction de l'huile superficielle, la récupération de l'huile se faisant par simple évaporation.
- Une seconde période où la vitesse diminue graduellement. Dans ce cas, l'extraction de l'huile serait due à des phénomènes de diffusion. Les HE emmagasinées dans les sites endogènes qui peuvent être récupérées par le transfert de l'intérieur du solide vers l'extérieur qui se fait par diffusion jusqu'à épuisement de la plante.

➤ Remarque

L'extraction des HE est réalisée à partir des feuilles fraîches et sèches sous les mêmes conditions, les résultats des rendements obtenus sont représentés dans la figure 4.5

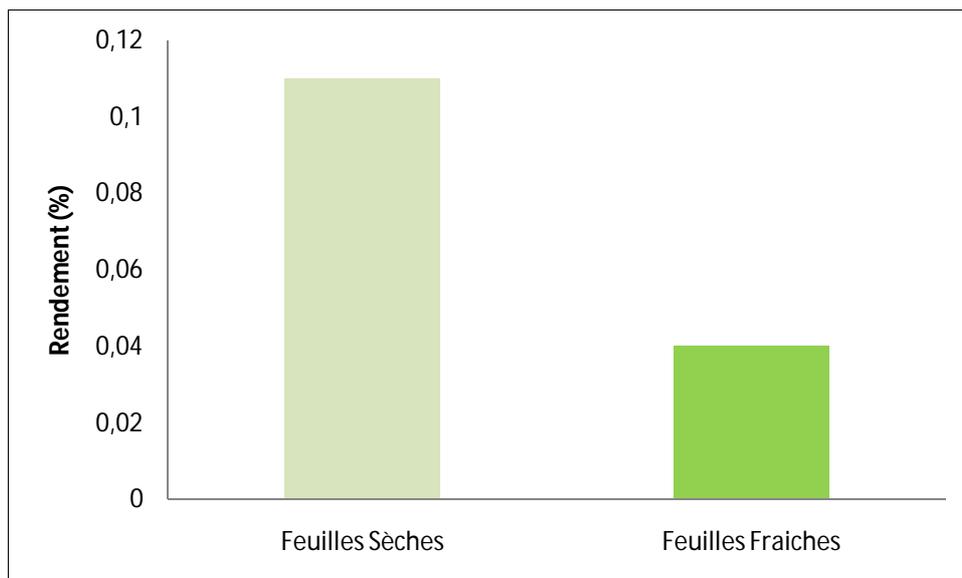


Figure 4.5. Rendement en HE des feuilles sèches et fraîches du myrte commun

Les résultats obtenus montrent que le rendement en HE des feuilles sèches (0.11%) est supérieur à celui des feuilles fraîches (0.04%). Selon la littérature [28], le séchage et la bonne conservation de la matière végétale augmentent considérablement la teneur en huiles essentielles. Nous proposons comme explication de ces résultats que lorsque la matière végétale est fraîche, l'extraction devient difficile, puisque l'eau chaude de l'hydrodistillation rencontre des barrières et ne peut pas pénétrer facilement aux sites endogènes où les huiles essentielles sont emmagasinées. Alors, le séchage facilite l'extraction des HE et élimine les barrières qui entourent les sites endogènes contenant l'HE.

➤ Variation du rendement en HE des feuilles du myrte durant tout le cycle végétatif

Nous avons suivi l'évolution du rendement en HE des feuilles de myrte, extraites par hydrodistillation, pendant une année (janvier-décembre 2009). Les résultats obtenus sont mentionnés sur la figure 4.6.

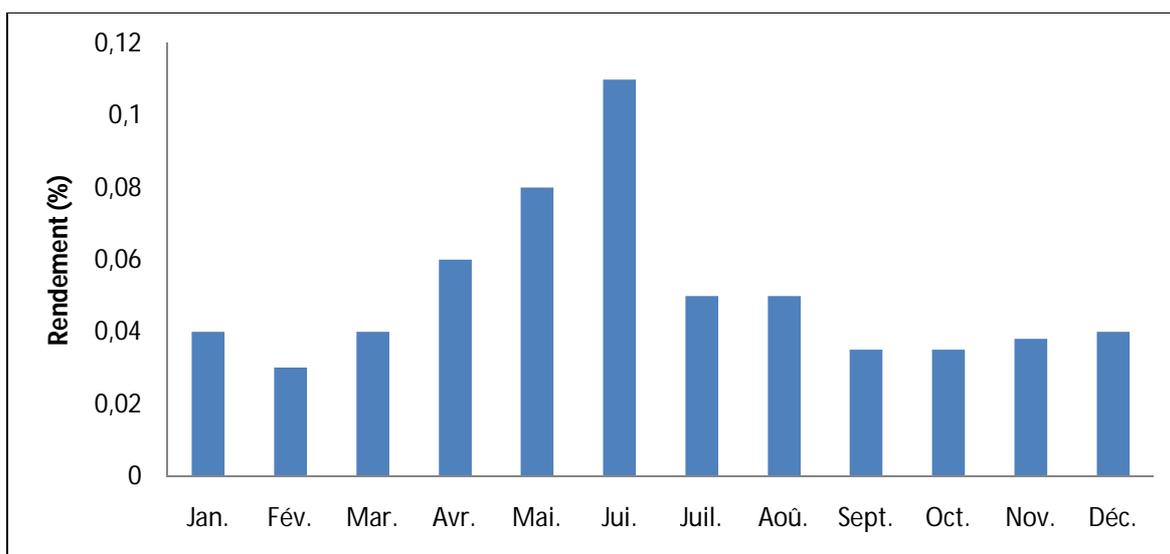


Figure 4.6. Variation du rendement en HE extraite par hydrodistillation des feuilles sèches du myrte commun durant tout le cycle végétatif.

D'après la figure 4.6, nous pouvons dire que le rendement en HE des feuilles de myrte commun (*Myrtus communis L.*) extraite par hydrodistillation atteint une valeur maximale au mois de juin de 0.11% (la période de floraison). Puis, nous remarquons la chute en rendement pour les autres mois jusqu'à atteindre une valeur minimale au mois de février (en hiver) de 0.03%. Cette diminution du rendement est due principalement au climat qui est ensoleillé en juin (période de floraison) et froid en février.

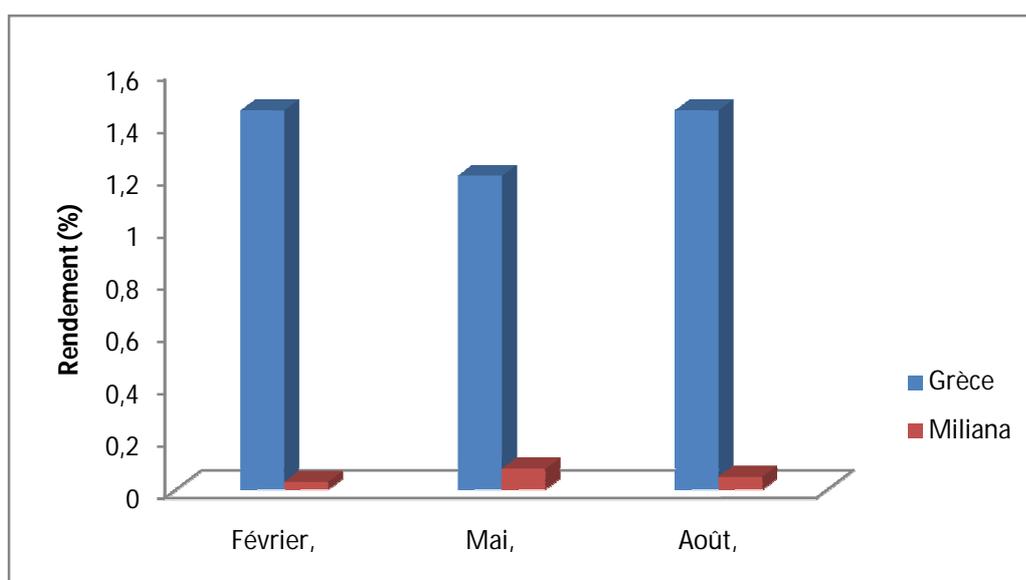


Figure 4.7. Comparaison du rendement en HE du myrte commun de l'Algérie (la région de Miliana) avec celui de la Grèce [48].

La comparaison de nos résultats avec ceux obtenus en Grèce (figure 4.7), montre que le rendement en HE de notre plante varie différemment que ce soit sur le plan qualitatif ou quantitatif. Ceci est dû probablement à plusieurs paramètres tels que le sol, l'altitude ou de l'espèce qui est différente de celle de la nôtre.

Le rendement en HE du mois de Février représente le mois le plus rentable pour la Grèce (1.45%), par contre, il représente le mois le moins rentable pour l'Algérie (0.03%). Pour l'HE de l'Algérie, le rendement augmente au mois de Mai puis diminue au mois d'Août, tandis que celui de la Grèce diminue au mois de Mai et augmente au mois d'Août.

#### 4.1.2. Entrainement à la vapeur d'eau

##### 4.1.2.1. Étude de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle

###### 4.1.2.1.1 Baies

La cinétique d'extraction de l'HE à partir des baies a été réalisée et le rendement en HE déterminé. Les résultats expérimentaux représentant respectivement le rendement et la vitesse d'extraction en fonction du temps sont représentés par les figures 4.8 et 4.9.

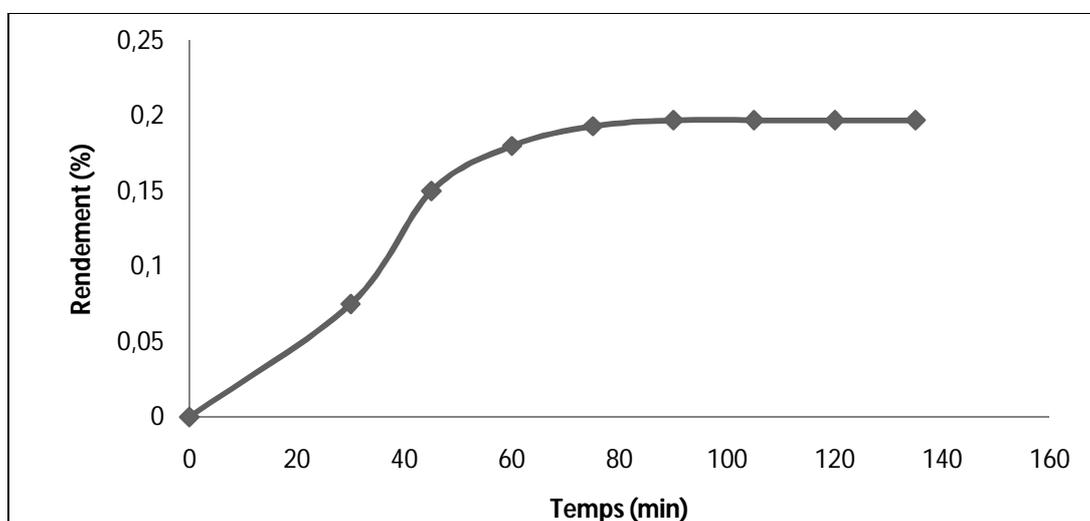


Figure 4.8. Evolution du rendement en HE des baies de myrte commun au cours de l'E.V.E.

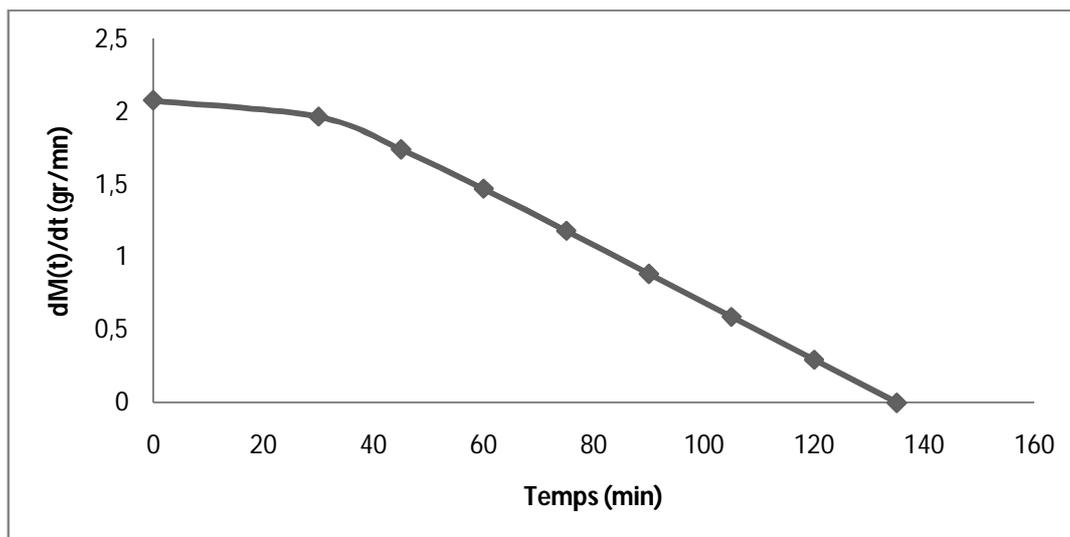


Figure 4.9. Evolution de la vitesse d'extraction de l'huile essentielle des baies sèches du myrte commun au cours de l'E.V.E.

La figure 4.8 montre que le rendement de l'HE des baies de myrte croît sensiblement en fonction du temps jusqu'à atteindre un palier où le rendement devient constant (0.19%).

La durée optimale d'extraction obtenue est d'une heure et demie (90 minutes) ; nous pouvons donc supposer qu'au-delà de cette durée, toute la matière végétale devient épuisée.

La figure 4.9 montre que la vitesse d'extraction de l'HE des baies était maximale au début d'extraction (20 minutes), mais au-delà de cette période, elle devient inversement proportionnelle avec le temps.

Cette variation de la vitesse peut être expliquée comme suite : l'extraction des HE se fait par étapes en commençant par celles situées à la surface de la matière végétale par simple phénomène de transfert en phase liquide. Puis les HE emmagasinées dans les sites endogènes sont récupérées par le transfert de l'intérieur du solide vers l'extérieur qui se fait par diffusion jusqu'à épuisement de la matière végétale.

Remarque : l'utilisation des baies fraîches n'a donné aucun résultat ce qui exprime que l'entraînement à la vapeur d'eau n'est pas la méthode convenable dans ce cas.

#### ❖ Feuilles

Plusieurs extractions successives ont été effectuées en fonction du temps. Puis, nous avons calculé le rendement en HE de chaque extraction.

Les résultats obtenus sont rapportés dans la figure 4.10

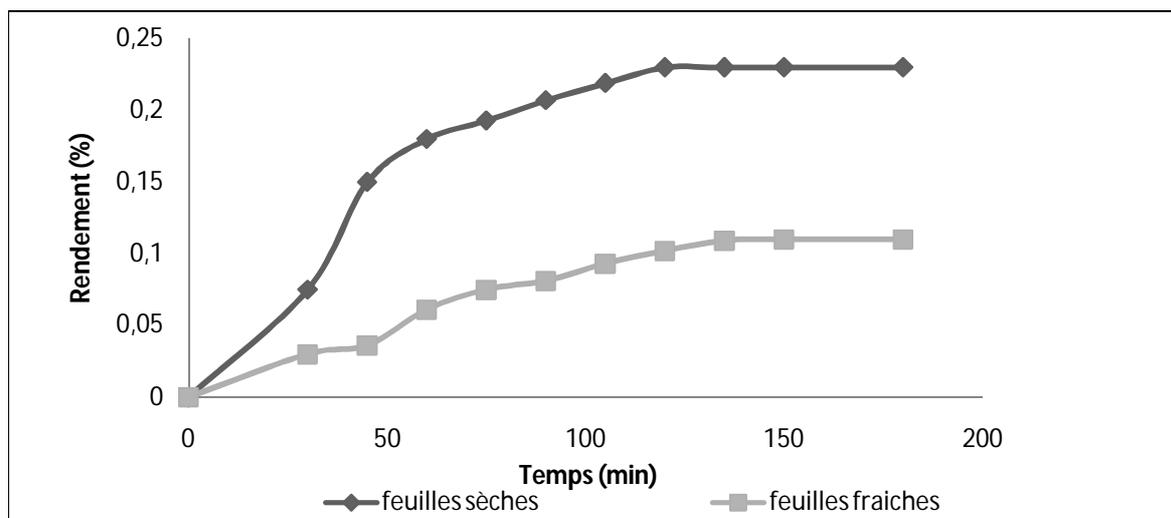


Figure 4.10. Evolution du rendement en HE des feuilles sèches et fraîches du myrte commun en fonction du temps d'extraction par E.V.E.

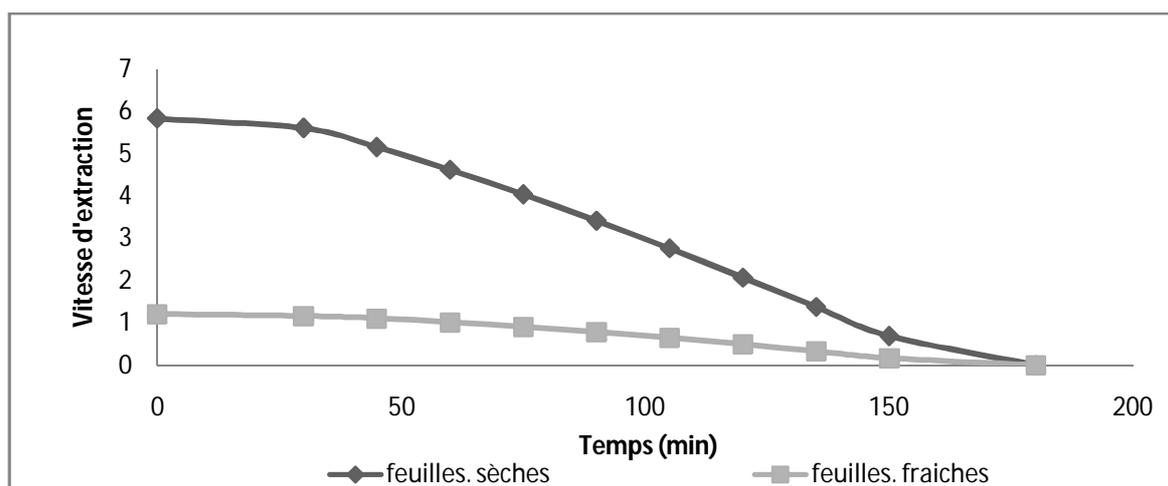


Figure 4.11. Evolution de la vitesse d'extraction de l'huile essentielle des feuilles sèches et fraîches de myrte commun au cours de l'E.V.E.

De la figure 4.10, nous remarquons que le rendement d'HE des feuilles sèches et fraîches du myrte commun (*Myrtus communis L.*) varie proportionnellement en fonction du temps d'extraction jusqu'à atteindre un palier où le rendement atteint sa valeur optimale et la matière végétale devient totalement épuisée.

La durée optimale d'extraction a été déterminée par deux heures, au-delà de cette durée, c'est l'épuisement total de la matière végétale.

La figure 4.11 met en évidence la présence de deux étapes :

- La première étape où la vitesse est maximale, elle correspond

probablement à l'extraction rapide des HE situées à la surface de la matière végétale (feuilles), par simple phénomène de transfert de matière (par migration) en phase liquide avec un rendement maximum.

➤ La deuxième étape c'est où la vitesse décroît au cours du temps au-delà de la trentième minutes, elle correspond probablement à l'extraction des HE emmagasinées dans les sites endogènes. Dans ce cas, le transfert de l'intérieur du solide vers l'extérieur se fait par une simple diffusion.

### Remarque

Nous avons réalisé l'extraction des HE à partir des feuilles fraîches et sèches sous les mêmes conditions, les résultats obtenus sont représentés par la figure 4.12

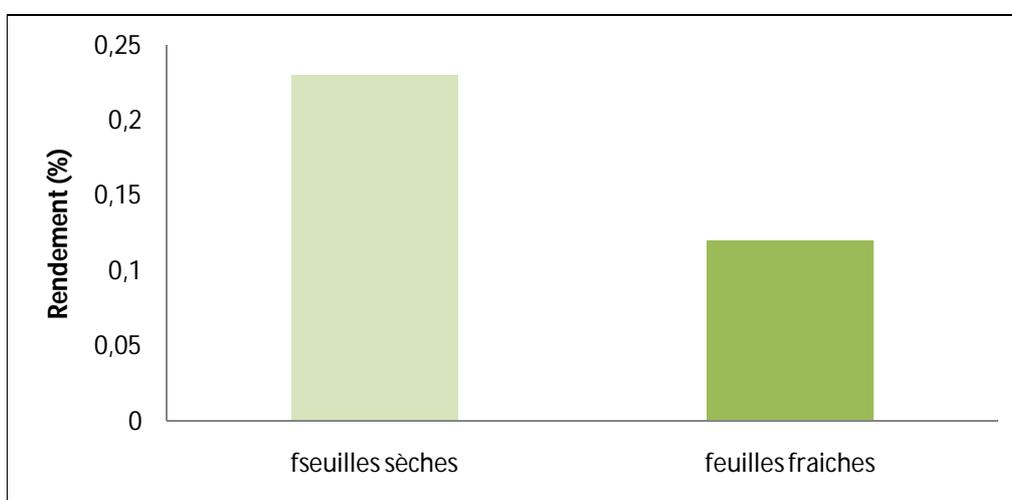


Figure 4.12. Rendement en HE extraite par E.V.E des feuilles sèches et fraîches du myrte

Le rendement en HE extraite par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles sèches (0.23%) est supérieur à celui des feuilles fraîches (0.11%). Si on compare ces résultats avec ceux obtenus par hydrodistillation, nous trouvons que l'entraînement à la vapeur d'eau est plus efficace que l'hydrodistillation en terme de rendement.

➤ Variation du rendement en HE des feuilles de myrte extraite par entraînement à la vapeur d'eau en fonction de la région de récolte

L'HE des feuilles de myrte a été extraite par entraînement à la vapeur d'eau dans plusieurs pays y compris l'Algérie (nos résultats), [34, 35, 36, 39] avec des rendements différents présentés dans la figure 4.13

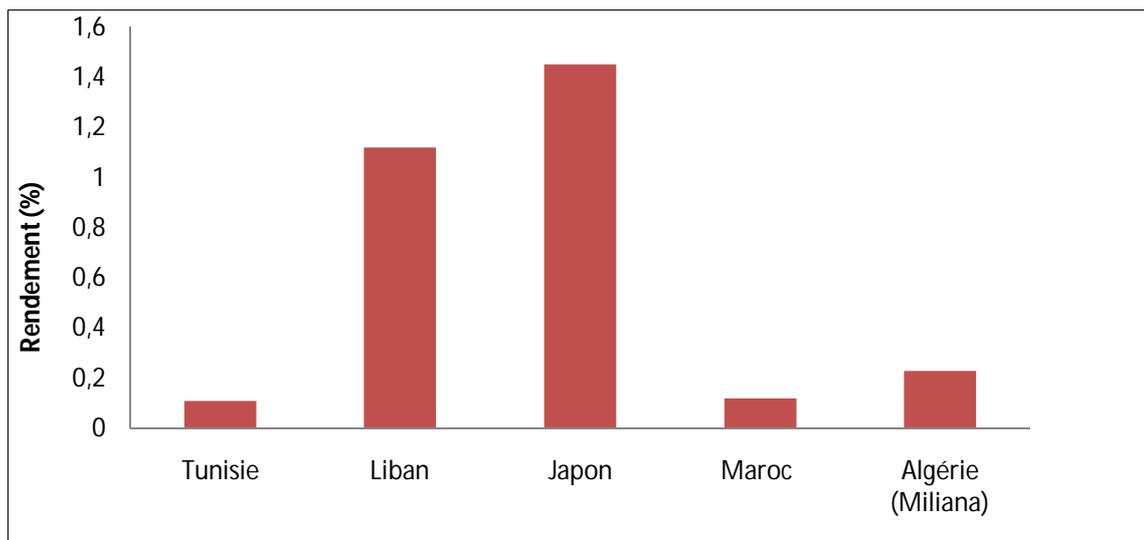


Figure 4.13. Variation du rendement en HE extraite par E.V.E en fonction de la région de récolte.

D'après la figure 4.13, nous pouvons dire que le myrte récolté de la région méditerranéenne est caractérisé par une teneur faible en HE pour les pays du Maghreb (Tunisie (0.11%), Maroc (0.12%), Algérie (0.3%)) par rapport à celles du Japon (1.45%) et du Liban (1.12%) qui sont un peu plus élevés. Cette différence est due, à notre avis, principalement au climat, à la nature du sol qui varie d'une région à l'autre, à la période de récolte et à l'espèce.

➤ Variation du rendement en HE des feuilles de myrte en fonction du stade de végétation (la période de récolte)

Le stade végétatif joue un rôle important dans la composition des huiles essentielles, par exemple : la plus grande concentration des huiles essentielles est dans les plantes jeunes, surtout durant la période de floraison [38]. Nous avons suivi l'évolution du rendement en HE en fonction du stade végétatif, les résultats obtenus sont représentés par la figure 4.14.

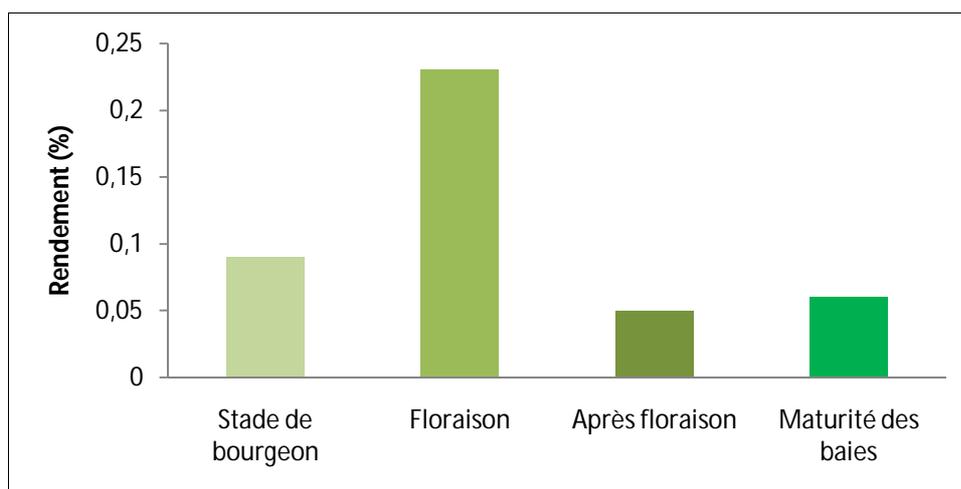


Figure 4.14. Variation du rendement en HE des feuilles de myrte commun en fonction de la période de récolte.

La figure 4.14 montre que le rendement atteint une valeur maximale durant la floraison (0.23%) puis diminue jusqu'à atteindre une valeur minimale de 0.04% durant le stade de mûrissement des baies. Durant la période de floraison, les feuilles et les fleurs sont alors riches en composés aromatiques.

➤ Comparaison de l'extraction par hydrodistillation et celle de l'entraînement à la vapeur d'eau en terme de rendement

Nous avons fait la comparaison entre les deux méthodes d'extraction des huiles essentielles en ce qui concerne le rendement durant toute une année, les résultats obtenus sont représentés par la figure 4.15

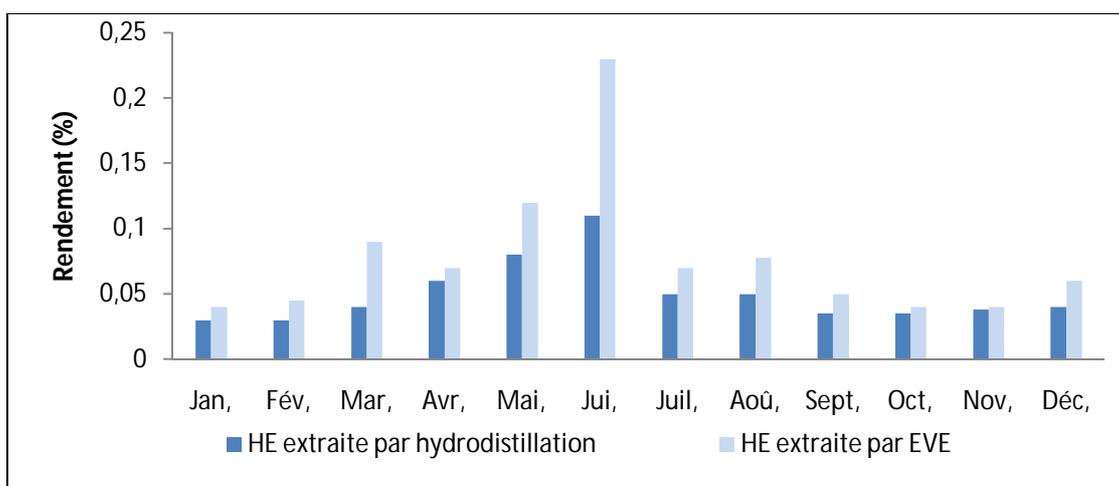


Figure 4.15. Evolution du rendement d'HE des feuilles sèches de myrte extraites par hydrodistillation et par E.V.E.

De la figure 4.15, nous constatons que le meilleur rendement des feuilles sèches est obtenu durant la période de floraison (juin), par les deux procédés : entraînement à la vapeur d'eau (0.23%) et hydrodistillation (0.11%). La chute du rendement en huiles essentielles pour les autres saisons est due principalement au climat qui devient défavorable pour la culture et le développement du myrte.

#### 4.1.3. Extraction de la concrète par solvants volatils

##### 4.1.3.1. Calcul du rendement en concrètes

Le rendement en concrètes est calculé à partir de la formule suivante :

$$R_C (\%) = \left( \frac{m_c}{m_{MV}} \right) \cdot 100$$

Où

$R_c$  : Rendement en concrète.

$m_c$  : La masse en concrète obtenue.

$m_{MV}$  : La masse de la matière végétale.

Les résultats obtenus sont représentés sur la figure suivante :



Figure 4.16. Influence de la nature du solvant sur le rendement en concrètes

Le rendement obtenu pour la concrète des feuilles de myrte extraite par des solvants apolaires (éther de pétrole et éther diéthylique) et polaires (acétone et éthanol) varie d'un solvant à un autre. Les résultats obtenus sont comme suit: Ether de pétrole (7.4%), éther diéthylique (4.96%), acétone (4.2%) et éthanol (3.2%). Le solvant approprié pour l'extraction des concrètes de myrte est apparemment l'éther de pétrole. En effet, le rendement en concrète ne peut constituer à lui seul un critère de choix, l'aspect qualitatif joue un rôle important dans le choix du solvant d'extraction. Cependant un compromis devrait être pris entre la qualité et la quantité.

## 4.2. Caractérisation et analyse des huiles essentielles

### 4.2.1. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques des HE extraites à partir des feuilles et des fruits de myrte sont représentées dans le tableau 4.2.

Tableau 4.2. Caractéristiques organoleptiques des HE du myrte.

| HE \ Caractéristiques | Odeur  | Aspect          | Couleur                   |
|-----------------------|--|-----------------|---------------------------|
| Fruits                | Légèrement boisé, agréable et puissante  | Liquide limpide | jaune légèrement orange   |
| Feuilles              | Moins puissante que l'HE des fruits et plus puissante que la matière végétale (Feuilles) | Liquide limpide | Jaune légèrement verdâtre |



Figure 4.17. Les Huiles essentielles des feuilles et des fruits de myrte

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle des feuilles de myrte est un liquide jaune verdâtre, d'odeur caractéristique.

L'HE des fruits de myrte est plus puissante que celle des feuilles de la même espèce et ceci peut être expliqué par la richesse des fruits de myrte commun en matière odorantes (volatiles) par rapport aux feuilles tels que : le 4-terpinéol (0.4%), l'acétate de bornyl (0.7%), l'eugénol (0.7%)...etc.

La différence de couleur des huiles essentielles des fruits et des feuilles est peut être due à la composition chimique qualitative et quantitative qui est plus au moins différente.

Tableau 4.3. Caractéristiques Organoleptiques des concrètes obtenues par solvants volatils (Soxhlet)

| Caractéristiques<br>Concrètes<br>(Le solvant utilisé) | Odeur               | Aspect | Couleur        |
|---|---------------------|--------|----------------|
| L'éther de pétrole                                    | Propre aux feuilles | Pâteux | Miel           |
| L'éther diéthylique                                   | Propre aux feuilles | Pâteux | Jaune verdâtre |
| L'acétone   | Propre aux feuilles | Pâteux | Jaune pale     |
| L'éthanol   | Propre aux feuilles | Pâteux | Vert           |

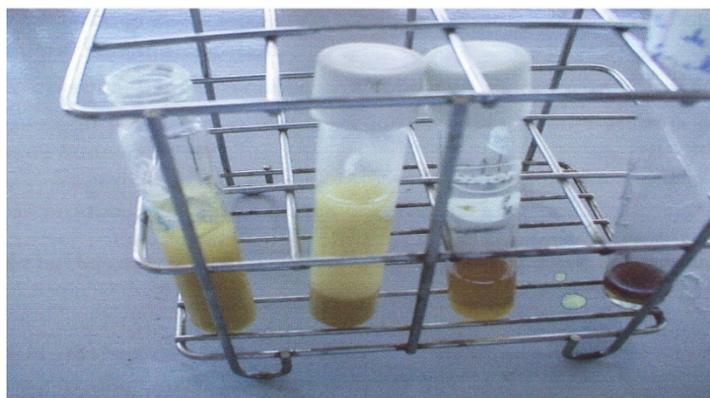


Figure 4.18. Concrètes des feuilles de myrte en utilisant les quatre solvants

Les produits obtenus expérimentalement sont des extraits de formes pâteuses à odeur caractéristiques ou propres à la matière végétale dont ils sont extraits et de couleur qui suit les composés qu'ils contiennent.

#### 4.2.2. Caractéristiques physiques des huiles essentielles

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 4.4. Caractéristiques physiques des HE des fruits et des feuilles de myrte

| C. physiques<br>HE | $d_{20}$ | $n_D^T$ | $[\alpha]_D^{20}$ |
|--------------------|----------|---------|-------------------|
| HE des fruits      | 0.901    | 1.251   | + 23.2            |
| HE des feuilles    | 0.894    | 1.232   | + 22.5            |

- ✚ La densité relative calculée de l'huile essentielle diffère d'un organe à un autre (0.901 pour l'HE des fruits et 0.894 pour l'HE des feuilles du myrte).
- ✚ L'indice de réfraction  $n_D^T$  est un paramètre qui nous renseigne sur la pureté et la siccativité d'une huile essentielle. La valeur de l'indice de réfraction trouvée nous informe que l'huile essentielle des feuilles de myrte est pure.
- ✚ Les HE du myrte ont la propriété de faire dévier le plan de polarisation de la lumière vers la droite (+ 23.2 pour les fruits et +22.5 pour les feuilles). alors, nous pouvons dire que les deux huiles sont des composés Dextrogyre.

#### 4.2.3. Caractéristiques chimiques des huiles essentielles du myrte commun

Tableau 4.5. Caractéristiques chimiques des HE des fruits et des feuilles de myrte

| C. chimiques<br>HE | Indice d'acide<br>$I_A$ | Indice d'ester<br>$I_E$ | Indice de saponification<br>$I_S$ |
|--------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------------|
| HE des fruits      | 1.6028                  | 15.74                   | 17.53                             |
| HE des feuilles    | 3.927                   | 4.48                    | 8.41                              |

- Les indices d'acide déterminés nous renseignent sur la qualité des huiles essentielles. En effet, plus l'indice d'acide est élevé plus la qualité de l'huile essentielle est moins bonne, car l' $I_A$  représente la concentration totale en acide gras libres.
- D'après les résultats obtenus, nous constatons que la valeur de  $I_A$  de l'HE des feuilles est supérieur à celle des fruits, mais ces deux valeurs sont les deux moins

élevées ce qui montre la bonne qualité de l'huile essentielle de *myrtus communis* L.

- L'indice de saponification rend compte de la longueur des chaînes hydrocarbonées des acides gras. Il caractérise le poids moyen de la matière grasse auquel il est inversement proportionnel (plus le poids moléculaire est élevé plus l'indice de saponification est faible). D'après les résultats obtenus, on constate que l'HE des fruits a un indice de saponification plus élevé par rapport à celui de l'HE des feuilles et qu' $I_S$  varie selon l'organe à étudier (fruits ou feuilles). Étant donné que les valeurs des indices de saponification sont longuement supérieures à celles des indices d'acide pour les deux huiles essentielles, la différence entre ces valeurs ( $I_S - I_A$ ) indique la présence d'une forte proportion en acide gras combinés sous forme de triglycérides.

#### 4.2.4. Analyse des HE des feuilles et des baies de Myrte par GC/MS et GC/FID

##### 4.2.4.1. Composition chimique des HE des feuilles de myrte

Les résultats de l'analyse des huiles essentielles des feuilles de myrte par GC/MS et GC/FID sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 4.6. Constituants de l'HE des feuilles de myrte

| composés                         | tr    | Aire (%) |
|----------------------------------|-------|----------|
| $\alpha$ -pinène                 | 08,14 | 46,89    |
| $\beta$ -pinène                  | 09,35 | 00,43    |
| $\beta$ -myrcène                 | 09,81 | 01,71    |
| P-cymène                         | 10,80 | 00,61    |
| 1,8-cineole                      | 11,03 | 25,20    |
| Cis-ocimene                      | 11,20 | 00,82    |
| Trans-ocimene                    | 11,52 | 00,62    |
| Linalool                         | 13,09 | 05,55    |
| Allo-ocimene                     | 13,93 | 00,21    |
| $\alpha$ -Terpineol              | 15,74 | 01,26    |
| Estragol                         | 15,96 | 00,43    |
| Acétate de linalyl               | 17,59 | 04,24    |
| acétate de l' $\alpha$ -Terpenyl | 20,14 | 01,07    |
| Acétate de geranyl               | 21,02 | 04,19    |
| Methyl eugenol                   | 21,56 | 00,54    |
| $\beta$ -caryophyllene           | 22,03 | 00,15    |
| $\alpha$ -humulene               | 22,88 | 00,30    |
| $\beta$ -Selinene                | 23,71 | 00,53    |
| oxide de caryophyllene           | 26,04 | 00,22    |

D'après les résultats rapportés dans le tableau 4.6, nous pouvons constater que l'analyse par GC/MS et GC/FID des HE des feuilles du myrte nous a permis d'identifier dix neuf constituants qui représente plus de 94% de l'huile avec deux composés majors qui sont :  $\alpha$ -pinène (46.89%) et 1,8-cinéole (25.20%). Nous pouvons dire que les composés identifiés par GC/MS et GC/FID peuvent être classés comme suite :

- Les monoterpènes :  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène,  $\beta$ -myrcène, p-cymène, cis-ocimene, trans-ocimene et le Allo-ocimene.
- Les sesquiterpènes:  $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -humulene et le  $\beta$ -Selinene
- Les alcools : Linalool,  $\alpha$ -Terpineol, Estragol et le Methyl eugenol.
- Les esters terpéniques : acétate de linalyl, acétate de  $\alpha$ -terpenyl et acétate de Geranyl.
- Les oxydes terpéniques : oxyde de caryophyllene et le 1,8-cineole

La majorité des constituants des HE des feuilles de myrte trouvés expérimentalement sont identique sur le plan qualitatif mais non quantitatif à ceux indiqué dans les différentes publications comme l'indique le tableau 4.7.

Tableau 4.7. Teneurs des composés de l'huile essentielle des feuilles de *Myrtus Communis* L. de différents pays.

| Composés                      | Miliana | Liban<br>[34] | Maroc<br>[35] | Tunisie<br>[36] | Iran<br>[37] |
|-------------------------------|---------|---------------|---------------|-----------------|--------------|
| $\alpha$ -pinène              | 46,89   | 32,20         | 12,64         | 19,20           | 29,4         |
| $\beta$ -pinène               | 00,43   | /             | /             | /               | /            |
| $\beta$ -myrcène              | 01,71   | /             | /             | /               | /            |
| P-cymène                      | 00,61   | /             | /             | /               | /            |
| 1,8-cineole                   | 25,20   | 25,90         | 07,31         | 15,96           | 18.0         |
| Cis-ocimene                   | 00,82   | /             | /             | /               | /            |
| Trans-ocimene                 | 00,62   | /             | /             | /               | /            |
| Linalool                      | 5,55    | 06,70         | 00,74         | 07,66           | 10,6         |
| Allo-ocimene                  | 00,21   | /             | /             | /               | /            |
| $\alpha$ -Terpineol           | 01,26   | /             | 04,10         | 07,51           | 03,1         |
| Estragol                      | 00,43   | /             | /             | /               | /            |
| acétate de linalyl            | 04,24   | /             | /             | /               | /            |
| acétate de $\alpha$ -Terpenyl | 01,07   | /             | /             | /               | /            |
| acétate de Geranyl            | 04,19   | 01,05         | 20,54         | /               | /            |
| Methyl eugenol                | 00,54   | /             | 01,14         | /               | /            |
| $\beta$ -caryophyllene        | 00,15   | /             | 10,83         | /               | /            |
| $\alpha$ -humulene            | 00,30   | /             | 00,60         | /               | /            |
| $\beta$ -Selinene             | 00,53   | /             | /             | /               | /            |
| Oxyde de caryophyllene        | 00,22   | /             | 00,78         | /               | /            |

Les résultats obtenus dans l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles du myrte de l'Algérie (Miliana) sont conformes qualitativement mais non quantitativement à ceux des autres pays, si on prend comme exemple  $\alpha$ -pinène comme composé majoritaire pour les différents pays cités précédemment, il représente 46.89 pour l'HE de la région de Miliana, 32.2% dans l'HE du Liban, 12.64% pour le Maroc, 19.20% pour la Tunisie et 29.4% pour l'Iran .

Les résultats obtenus de l'analyse qualitative et quantitative des constituants chimiques des huiles essentielles du *Myrtus communis L.* de l'Algérie mettent en évidence les caractéristiques principales permettant de différencier les divers échantillons des huiles essentielles du *Myrtus communis L.* provenant de différentes origines géographiques.

#### 4.2.4.2. Composition chimique de l'HE des baies de myrte

Les résultats de l'analyse des huiles essentielles des baies du myrte par GC/MS sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 4.8. Composition chimique de l'HE des baies du myrte

| Composés               | Aire (%) |              |
|------------------------|----------|--------------|
|                        | Miliana  | Tunisie [52] |
| $\alpha$ -pinène       | 01,71    | 04.42        |
| 1,8-cineole            | 11,41    | 18.38        |
| Linalool               | 36,23    | 07.96        |
| 4-terpineol            | 00,45    | 00.77        |
| $\alpha$ -terpineol    | 01,60    | 05.07        |
| Estragol               | 18,43    | /            |
| Acétate de bornyl      | 00,71    | 00.20        |
| Eugenol                | 00,74    | 02.81        |
| Methyl cinnamate       | 01,95    | /            |
| $\beta$ -Elemene       | 00,43    | 00.03        |
| $\beta$ -caryophyllene | 03,79    | 00.85        |
| $\alpha$ -Guaïene      | 01,40    | /            |
| $\alpha$ -humulene     | 00,94    | 00.20        |
| Dehydroaromadendrene   | 00,54    | 00.12        |
| $\alpha$ -amorphene    | 01,55    | /            |
| 1-cis-calamenene       | 01,54    | /            |
| $\alpha$ -cadinol      | 00,39    | /            |

L'analyse par GC/MS et GC/FID des HE des baies de myrte nous a permis d'identifier dix sept constituants, le composé majoritaire a été le Linalool avec une

teneur de 36.23%, suivi de l'estragol 18.43% et le 1,8-cinéol avec une teneur de 11.41%, les composés identifiés représentent 85.36% de l'HE analysée que l'on peut classer comme suite :

- Les monoterpènes :  $\alpha$ -pinène.
  - Les sesquiterpènes :  $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -humulene,  $\beta$ -Elemene,  $\alpha$ -Guaiene,  $\alpha$ -amorphene, 1-cis-calamenene et le Dehydroaromadendrene.
  - Les alcools : Linalool,  $\alpha$ -terpinéol, Estragol, l'eugénol, 4-terpinéol et l' $\alpha$ -cadinol.
  - Les esters terpéniques : acétate de bornyle et le cinnamate de méthyle
  - Les oxydes terpéniques : 1,8-cinéole.
- Les HE des feuilles et des baies du myrte algérien sont caractérisées par l'absence du myrtenyl acétate.
- Les composés majoritaires de l'HE des fruits de Myrte de la région de Miliana sont le Linalool (36.23%), Estragol (18.43%) et l'1,8- cinéole (11.41%), tandis que ceux de la Tunisie sont : l' 1,8- cinéole (18.38%), Linalool (7.96%) et  $\alpha$ -terpinéol (5.07%).
- Nous remarquons aussi pour l'HE du myrte de la Tunisie, l'absence de plusieurs composés tels que : Estragol, Methyl cinnamate,  $\alpha$ -Guaiene,  $\alpha$ -amorphene, 11-cis-calamenene, et l' $\alpha$ -cadinol.
- Les analyses des HE des feuilles et des baies du myrte ont donné des résultats qui sont très proches à ceux des littératures [34, 35, 36, 37, 52] sur le plan qualitatif et légèrement différents quantitativement, ce qui explique la richesse de cette plante en HE qui diffère d'un organe à un autre. Les feuilles sont riches en monoterpènes (51.30%), tandis que les baies sont riches en monoterpènes oxygénés (71.51%). La teneur des sesquiterpènes très faible (0.98%) pour les feuilles et (10.19%) pour les baies. Les composés identifiés représentent 94.97% pour les feuilles et 83.8% pour les baies.
- L'HE des feuilles de myrte (*Myrtus Communis* L.) du Maroc [35] a donné comme composés majoritaires : l'  $\alpha$ -pinène (22%), le 1,8-cinéole (33.1%), le Linalool (1.59%) l'  $\alpha$ -terpineol (3.1%) et l'acétate de géranyl (2.03%). L'analyse de l'huile essentielle du myrte de la Tunisie a révélé comme composés majoritaires :  $\alpha$ -pinène (51.15%), le 1,8-cinéole (24.15%), le linalool (2.3%) et l'acétate de géranyle (1.7%). Par ailleurs, l'huile essentielle extraite

du myrte de la Grèce est composée principalement de :  $\alpha$ -pinène (10.9%), le 1,8-cinéole (13.5%), et le Linalool avec une teneur de 7.7%. Les analyses de l'HE des feuilles de myrte (*Myrtus Communis L.*) d'Iran ont révélé 32 composés. Les composés majoritaires ont été  $\alpha$ -pinène (29.4%), limonène (21.2%), 1,8-cinéole (18%), Linalool (10.6%) et  $\alpha$ -terpinéol (3.1%).

Tableau 4.9. Composition chimique des HE des feuilles et des baies de myrte

| Composés                         | tr   | Aire (%) |       |
|----------------------------------|------|----------|-------|
|                                  |      | Feuilles | Baies |
| $\alpha$ -pinène                 | 08,1 | 46,9     | 01,7  |
| $\beta$ -pinène                  | 09,3 | 00,4     | /     |
| $\beta$ -myrcène                 | 09,8 | 01,7     | /     |
| P-cymène                         | 10,8 | 00,6     | /     |
| 1,8-cineole                      | 11,0 | 25,2     | 11,4  |
| Cis-ocimene                      | 11,2 | 00,8     | /     |
| Trans-ocimene                    | 11,5 | 00,6     | /     |
| Linalool                         | 13,1 | 05,6     | 36,2  |
| Allo-ocimene                     | 13,9 | 00,2     | /     |
| 4-Terpineol                      | 15,4 | /        | 00,4  |
| $\alpha$ -Terpineol              | 15,7 | 01,3     | 01,6  |
| Estragol                         | 16,0 | 00,4     | 18,4  |
| Acétate de linalyl               | 17,6 | 04,2     | /     |
| acetate de bornyl                | 18,4 | /        | 00,7  |
| acétate de l' $\alpha$ -Terpenyl | 20,1 | 01,1     | /     |
| Eugenol                          | 20,4 | /        | 00,7  |
| acétate de geranyl               | 21,0 | 04,2     | /     |
| Methyl cinnamate                 | 21,0 | /        | 02,0  |
| $\beta$ -Elemene                 | 21,3 | /        | 00,4  |
| Methyl eugenol                   | 21,6 | 00,5     | /     |
| $\beta$ -caryophyllene           | 22,0 | 00,2     | 03,8  |
| $\beta$ -Guaiene                 | 22,5 | /        | 01,4  |
| $\alpha$ -humulene               | 22,9 | 00,3     | 00,9  |
| $\beta$ -Selinene                | 23,7 | 00,5     | /     |
| Dehydroaromadeudrene             | 24,2 | /        | 00,5  |
| $\alpha$ -amorphene              | 24,4 | /        | 01,5  |
| 11-cis-calamenene                | 24,6 | /        | 01,5  |
| Oxide de Caryophyllene           | 26,0 | 00,2     | /     |
| $\alpha$ -cadinol                | 27,3 | /        | 00,4  |
| Les monoterpènes                 |      | 51,30    | 01,71 |
| Les monoterpènes oxygénés        |      | 42,47    | 71,51 |
| Les sesquiterpènes               |      | 00,98    | 10,19 |
| Les sesquiterpènes oxygénés      |      | 00,22    | 00,39 |
| Total identifiés                 |      | 94,97    | 83,80 |
| Total non identifiés             |      | 05,03    | 16,20 |

#### 4.3. Activité antibactérienne des huiles essentielles du myrte commun

Les tests de l'activité antibactérienne ont été également réalisés sur six souches bactériennes pathogènes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Aeroginosa*, *Bacillus.subtilus*, *Candida Albicans* et *Staphylococcus Epidermidis* par la méthode de diffusion sur milieu solide (gélose).

Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau 4.10.

Tableau 4.10. Diamètre d'inhibition des souches bactériennes par les différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de myrte commun.

|                        |                                  | Ø (mm) d'inhibition |      |      |
|------------------------|----------------------------------|---------------------|------|------|
| Concentration (% d'HE) |                                  | 50                  | 75   | 100  |
| Souche bactérienne     | S. Aureus                        | 10.5                | 11.1 | 12.5 |
|                        | S. Epidermidis                   | 12.1                | 13.5 | 16.2 |
|                        | B. Subtilus                      | 11.8                | 13.6 | 15.6 |
|                        | E. coli                          | 10.5                | 14.2 | 14.5 |
|                        | P. Aeroginosa                    | 6.2                 | 8.4  | 9.6  |
|                        | C. Albicans                      | 15.2                | 16.6 | 19.2 |
|                        | Ø : Diamètre d'inhibition en mm. |                     |      |      |

Les résultats obtenus sont aussi présentés sur les figures suivantes :

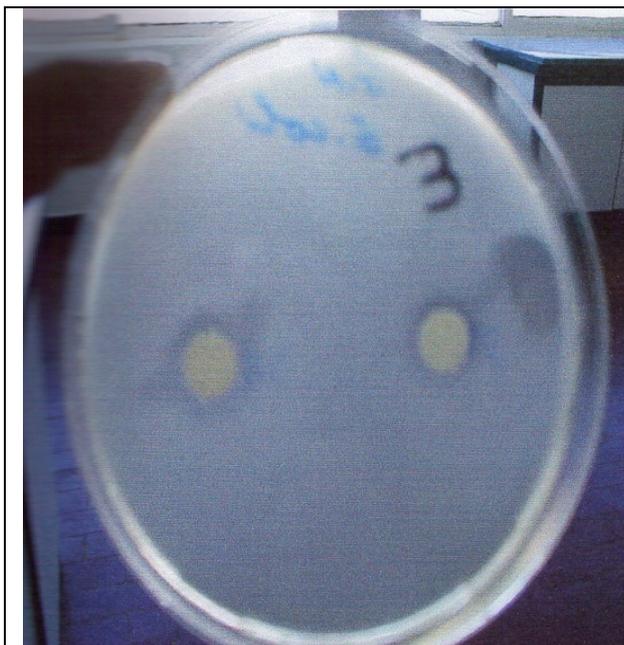


Figure 4.19. Effet de l'HE des feuilles de myrte à 100% sur E.Coli



Figure 4.21. Effet de l'HE des feuilles de myrte à 100% sur S. Aureus



Figure 4.20. Effet de l'HE des feuilles de myrte à 100% sur S. Epidermidis



Figure 4.22. Effet de l'HE des feuilles de myrte à 100% sur B. Subtilus



Figure 4.23. Effet de l'HE des feuilles de myrte à 100% sur *P. Aéroginosa*



Figure 4.25. Effet de l'HE des feuilles de myrte à 75 et 50% sur *B. Subtilus*



Figure 4.24. Effet de l'HE des feuilles de myrte à 100% sur *C. Albicans*

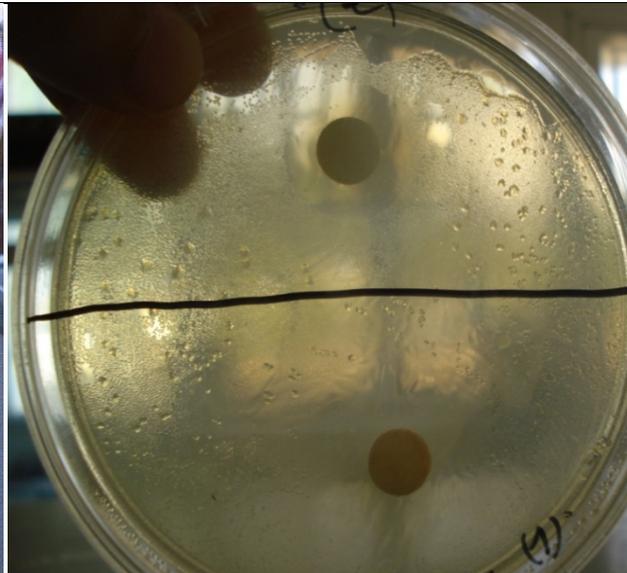


Figure 4.26. Effet de l'HE des feuilles de myrte à 75 et 50% sur *C. Albicans*



Figure 4.27. Effet de l'HE des feuilles de myrte à 75 et 50% sur E.coli.



Figure 4.29. Effet de l'HE des feuilles de myrte à 75 et 50% sur S.Aureus



Figure 4.28. Effet de l'HE des feuilles de myrte à 75 et 50% sur S.Epidermidis



Figure 4.30. Effet de l'HE des feuilles de myrte à 75 et 50% sur P.aeruginosa

- Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle des feuilles de myrte est efficace sur toutes les souches utilisées avec un diamètre d'inhibition différent d'un germe à un autre : *Escherichia coli* (14.5mm), *Staphylococcus Aureus* (12.5mm), *Pseudomonas aéroginosa* (09.6mm), *Bacillus.subtilus* (15.6mm), *Candida Albicans* (19.2mm) et *Staphylococcus Epidermidis* (16.2mm).
- La dilution de l'huile essentielle diminue le diamètre d'inhibition comme le cas de : *Escherichia coli* (le Ø varie de 14.5mm pour 100% d'HE et 10.5mm pour 50% d'HE), *Staphylococcus Aureus* (12.5mm à 100% et 10.5mm pour 50% d'HE), *Pseudomonas aéroginosa* (09.6mm à 100% et 6.2mm pour 50% d'HE), *Bacillus.subtilus* (15.6mm à 100% et 11.8mm à 50%), *Candida Albicans* (19.2mm à 100% et 15.2 à 50%) et *Staphylococcus Epidermidis* (16.2mm à 100% et 12.1% à 50%).
- *Candida. Albicans* présente le germe le plus sensible à l'HE même après dilution.
- Selon l'ordre décroissant, nous pouvons classer l'efficacité de l'HE selon le diamètre d'inhibition des souches bactériennes pathogènes utilisées comme suite :
  - 1-*Candida Albicans* (19.2mm), 2- *Staphylococcus Epidermidis* (16.2mm),
  - 3- *Bacillus.subtilus* (15.6mm), 4-*Escherichia coli* (14.5mm),5- *Staphylococcus Aureus* (12.5mm), et finalement *Pseudomonas aéroginosa* (09.6mm) dans la sixième classe.
- Les résultats présentés dans le tableau 4.10 montrent que l'huile essentielle des feuilles de myrte commun présente une activité biologique sur les différents germes utilisés ce qui explique son effet antibactérien.
  - Des tests similaires ont été effectués en Iran [37] pour étudier l'effet antibactérien de l'HE du myrte commun d'Iran appliquée sur : *Escherichia.coli*, *staphylococcus aureus*, *pseudomonas aeroginosa*, *bacillus subtilis* et *candida albicans*. L'huile a montré des effets antibactériens sur ces organismes. La cinétique de destruction microbienne a montré que l'huile peut détruire des microorganismes après une durée d'application de 45 minutes.
  - Aussi une étude a été effectuée en Tunisie [40] sur une souche bactérienne : *Escherichia coli*, en utilisant une méthode submergée de culture du bouillon. Les résultats obtenus ont prouvé que l'HE du myrte est inhibitrice de cette

bactérie testée, et qu'*Escherichia. Coli* était empêché par cette huile essentielle.

- Pour savoir quels sont les composés de l'HE responsable de l'effet antibactérienne, nous avons procédé à la comparaison de la composition des HE du myrte de Miliana (nos résultats) avec celle de la Tunisie [40] et de l'Iran [37].

Tableau 4.11. Comparaison de la composition des HE de myrte de Miliana avec celle de la Tunisie et de l'Iran

| Composés                      | Miliana | Tunisie [40] | Iran [37] |
|-------------------------------|---------|--------------|-----------|
| $\alpha$ -pinène              | 46,8    | 19,2         | 29,4      |
| $\beta$ -pinène               | 00,4    | /            | /         |
| $\beta$ -myrcène              | 01,7    | /            | /         |
| P-cymène                      | 00,6    | 01.7         | /         |
| 1,8-cineole                   | 25,2    | 15,9         | 18.0      |
| Cis-ocimene                   | 00,8    | /            | /         |
| Trans-ocimene                 | 00,6    | /            | /         |
| Linalool                      | 5,5     | 07,6         | 10,6      |
| Allo-ocimene                  | 00,2    | /            | /         |
| $\alpha$ -Terpineol           | 01,2    | 07,5         | 03,1      |
| Estragol                      | 00,4    | /            | /         |
| acétate de linalyl            | 04,2    | 00.4         | /         |
| acétate de $\alpha$ -Terpenyl | 01,0    | 01.9         | /         |
| acétate de Geranyl            | 04,1    | 02.1         | /         |
| Methyl eugenol                | 00,5    | /            | 00.5      |
| $\beta$ -caryophyllene        | 00,1    | /            | /         |
| $\alpha$ -humulene            | 00,3    | /            | /         |
| $\beta$ -Selinene             | 00,5    | /            | 01.7      |
| Oxyde de caryophyllene        | 00,2    | /            | /         |

Si nous comparons la composition chimique de l'HE de Miliana avec celles de la Tunisie et de l'Iran, nous pouvons dire qu'elles sont proches du côté quantitatif et même qualitatif surtout, l'  $\alpha$ -pinène est le composé majoritaire dans l'HE des trois pays (46.8% en Algérie, 19.2% en Tunisie et 29.4% en Iran). Si nous relient ces données (la composition chimique de l'HE des trois pays) avec les tests bactériologiques cités précédemment, nous pouvons dire que l'effet antibactérien des souches bactériennes utilisées (les mêmes souches bactériennes) est peut être dû à la présence des composés communs dans l'HE du myrte des trois pays ( $\alpha$ -pinène, 1,8-cinéole, Linalool et  $\alpha$ -Terpinéol).

À partir de ces résultats, nous pouvons dire que la variation de la composition peut joindre une variation des caractéristiques chimiques, physiques et même l'effet antibactériens de l'HE vis-à-vis des souches bactériennes testées.

## CONCLUSION

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'extraction et à la récupération des huiles essentielles du myrte commun (*Myrtus Communis L.*) par deux méthodes différentes: l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau. La concrète a été extraite par des solvants polaires et apolaires.

- Les expériences réalisées ont permis de déterminer le meilleur rendement en huile essentielle (les baies sèches : 0.19%, les feuilles sèches : 0.23% et les feuilles fraîches 0.11%).
- Pour l'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles de myrte, l'entraînement à la vapeur d'eau (E.V.E) s'avère être le meilleur procédé par rapport à l'hydrodistillation (HD). Le rendement obtenu est de 0.23% pour l'E.V.E contre 0.08% pour l'HD. Par ailleurs, les feuilles de myrte présentent un rendement en huile essentielle supérieur à celui des fruits (0.23% pour les feuilles et 0.19% pour les baies).
- L'extraction de la concrète par solvants volatils a montré que l'éther de pétrole est le meilleur solvant pour les feuilles avec un rendement de 7.4%.
- Les analyses par GC et GC/MS des HE des feuilles et des baies de myrte ont permis d'identifier dix neuf composés pour les feuilles et dix sept pour les baies.
- Les composés majoritaires de l'huile essentielle des feuilles de myrte de Miliana sont :  $\alpha$ -pinène 46.89%, 1,8-cinéole 25.20%, Linalool 5.55%, acétate de linalyl 4.24% et l'acétate de géranyl 4.19%. Pour les baies, les principaux constituants sont: 1,8-cinéole (11.4%), Linalool (36.23%), Estragol (18.43%) et le  $\beta$ -caryophyllène (3.79%). Les analyses ont montré que la composition chimique des baies est différente de celle des feuilles ; l'estragol (18.43%) présent en pourcentage élevé dans l'HE des baies n'existe pas dans celle des feuilles.
- Comparativement avec ceux cités par la littérature, nos résultats sont

proches sur le plan qualitatif mais différent sur le plan quantitatif.

- Les tests microbiologiques des huiles essentielles des feuilles de myrte par la méthode de diffusion sur milieu solide ont donné des résultats satisfaisants en ce qui concerne l'effet inhibiteur de ces derniers vis-à-vis des souches bactériennes utilisées avec un diamètre d'inhibition qui diffère d'un germe à un autre : *Escherichia. coli* (14.5mm), *Staphylococcus. Aureus* (12.5mm), *Pseudomonas. Aéroginosa* (09.6mm), *Bacillus. Subtilus* (15.6mm), *Candida. Albicans* (19.2mm) et *Staphylococcus. Epidermidis* (16.2mm).
- Les résultats de ce travail constituent l'étape préliminaire de l'étude du myrte de Miliana, la continuité de ce travail s'avère primordiale et plusieurs axes de recherche sont ouverts :
  - Approfondir l'étude pour une éventuelle utilisation des baies et des feuilles de myrte dans le domaine de l'agro-alimentaire, l'industrie pharmaceutique, cosmétique et en parfumerie.
  - Etude de la variabilité de la composition chimique des baies récoltées de différentes régions du pays
  - Réalisation d'une installation semi pilote d'entraînement à la vapeur d'eau pour l'exploitation de notre flore.
  - Compléter l'analyse des HE au cours du cycle végétatif.



## APPENDICE A

### LISTE DES ABREVIATIONS

- AFNOR : Association Française de Normalisation.
- ATTC : American Type Cultur Collection
- °C : Degré Celsius
- CMI : Concentration minimale inhibitrice
- $d_{20}$  : La densité relative à 20°C
- $dM(t)/dt$  : Vitesse d'extraction de l'huile essentielle
- E.V.E : Entrainement à la vapeur d'eau
- GC/FID : Chromatographie en phase gazeuse couplée avec un détecteur à ionisation de flamme
- GC/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse
- HD : Hydrodistillation
- HE : Huile essentielle
- $I_A$  : Indice d'acide

|          |                                  |
|----------|----------------------------------|
| $I_E$    | : Indice d'ester                 |
| $I_S$    | : Indice de saponification       |
| $I_R$    | : Indice de réfraction           |
| $M_{HE}$ | : Masse d'huile essentielle      |
| $M_{MV}$ | : Masse de la matière végétale   |
| $R_{HE}$ | : Rendement en huile essentielle |
| $R_C$    | : Rendement en concrète          |
| $t$      | : Temps                          |
| $T_{eb}$ | : Température d'ébullition       |
| $tr$     | : Temps de rétention             |

**APPENDICE B**  
**Formules chimiques**

Tableau I. Composés de l'HE des feuilles et des baies du Myrte Commun et leurs formules chimiques.

| Composés                | Formules chimiques |
|-------------------------|--------------------|
| α-pinène                | $C_{10}H_{16}$     |
| β-pinène                | $C_{10}H_{16}$     |
| β-myrcène               | $C_{10}H_{16}$     |
| P-cymène                | $C_{10}H_{14}$     |
| 1,8-cineole             | $C_{10}H_{18}O$    |
| Cis-ocimene             | $C_{10}H_{16}$     |
| Trans-ocimene           | $C_{10}H_{16}$     |
| Linalool                | $C_{10}H_{18}O$    |
| Allo-ocimene            | $C_{10}H_{16}$     |
| 4-Terpineol             | $C_{10}H_{18}O$    |
| α-Terpineol             | $C_{10}H_{18}O$    |
| Estragol                | $C_{10}H_{12}O$    |
| Acétate de linalyl      | $C_{12}H_{20}O_2$  |
| acétate de bornyl       | $C_{12}H_{20}O_2$  |
| acétate de l'α-Terpenyl | $C_{12}H_{20}O_2$  |
| Eugénol                 | $C_{10}H_{12}O_2$  |
| acétate de géranyl      | $C_{12}H_{20}O_2$  |
| Methyl cinnamate        | $C_{10}H_{10}O_2$  |
| β-Elemene               | $C_{15}H_{24}$     |
| β-caryophyllene         | $C_{15}H_{24}$     |
| β-Guaiene               | $C_{15}H_{24}$     |
| α-humulene              | $C_{15}H_{24}$     |
| β-Selinene              | $C_{15}H_{24}$     |
| Dehydroaromadendrene    | $C_{15}H_{24}$     |
| α-amorphe               | $C_{15}H_{24}$     |
| 1-cis-calamenene        | $C_{15}H_{24}$     |
| α-cadinol               | $C_{15}H_{26}O$    |

## APPENDICE C

### Caractérisation de l'huile essentielle

#### 1. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles et des concrètes

##### ❖ Aspect

L'aspect d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent qui peut nous apparaître sous forme solide ou liquide. Il est lié à la nature du produit désiré ainsi qu'au pouvoir de dissolution de la matière végétale [50].

##### ❖ Odeur

L'odorat est un sens chimique très sensible, de plus, d'après la nature du système olfactif, une substance pour être sentie, elle doit être volatile [50].

##### ❖ Couleur

La coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui constituent l'extrait. Certains solvants ont le pouvoir d'extraire beaucoup de pigments, ce qui intensifie la couleur d'une huile donnée [50].

#### 2. Caractéristiques physiques des huiles essentielles

##### ❖ Densité relative

La densité relative  $d_{20}$  d'une substance est le rapport entre la masse d'un certain volume de cette substance à 20°C et la masse d'un volume égale d'eau à la même température.

La masse volumique  $\rho_{20}$  d'un corps est le quotient de sa masse par son volume à 20°C, elle est exprimée en Kg/m<sup>3</sup>.

La relation numérique entre la densité relative et la masse volumique exprimée en Kg/m<sup>3</sup> est la suivante [50] :

$$\rho_{20(s)} = \rho_{20(\text{eau})} * d_2$$

❖ Mode Opérateur

Au moyen d'une balance de précision, nous avons pesé 1 ml d'HE de myrte (feuilles et fruits), puis nous avons pesé le même volume (1ml) d'eau distillée.

❖ Méthode de calcul

La densité relative d'HE de myrte (fruits et feuilles) est exprimée selon la formule suivante :

$$d_{20} = \rho_{20(\text{HE})} / \rho_{20(\text{eau})}$$

Où :

$\rho_{20(\text{HE})}$  : La masse volumique de l'huile essentielle de myrte à 20°C

$\rho_{20(\text{eau})}$  : La masse volumique de l'eau distillée à 20°C

$d_{20}$  : La densité relative de l'huile essentielle de Myrte à 20°C.

❖ Détermination de l'indice de réfraction

L'indice de réfraction  $n_D^T$  d'un milieu homogène, transparent, peut être défini comme le pouvoir que possède ce milieu pour dévier un rayon arrivant sur la surface selon British pharmacopeia. La détermination de l'indice de réfraction à l'aide d'un réfractomètre [50].

❖ Mode Opérateur

Nous avons placé l'HE (feuilles et fruits) à l'aide d'une liquipipette dans la cellule de mesure jusqu'au trait signalé, puis nous avons refermé le couvercle. Au bout de quinze (15) secondes (c'est le temps nécessaire pour que l'appareil soit stabilisé à 20°C). Nous avons réglé avec les deux boutons, jusqu'à la localisation du trait signalé au centre de la cellule, et nous avons lu la valeur de l'indice de réfraction

$n_D^T$  sur l'appareil.

❖ Détermination du pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est la propriété que présentent certaines substances de dévier le plan de polarisation de la lumière polarisée.

Le pouvoir rotatoire spécifique  $[\alpha]_D^{20}$  d'un liquide est défini par l'angle de rotation  $\alpha$  exprimé en degrés % du plan de polarisation à la longueur d'onde de la raie D de sodium ( $\lambda = 589,3 \text{ nm}$ ) mesuré à  $20^\circ \text{ C}$  dans la substance liquide à tester, rapporté à une épaisseur de couche de un (1) décimètre [50].

❖ Mode Opérateur

Nous avons amené l'échantillon à une température spécifique et l'introduire dans le tube en s'assurant qu'il ne reste aucune bulle d'air interposée. Nous avons placé le tube dans le polarimètre et nous avons lu l'angle de rotation.

❖ Méthode de calcul

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{A.V}{L.P}$$

Où :

A : Rotation en degré ( $^\circ$ ) ;

V : Volume de la solution en (ml) ;

L : Longueur de la cellule en décimètre ;

P : Poids de la substance dissoute en g.

### 3. Caractéristiques chimiques des huiles essentielles de Myrte Commun

❖ Détermination de l'indice d'acide

L'indice d'acide  $I_A$  est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans un gramme de substance [50].

❖ Mode Opérateur

Nous dissolvons 1g de la substance à examiner (HE) dans 5 ml d'un mélange à volumes égaux d'alcool et d'éther, le solvant doit être neutralisé au préalable par l'hydroxyde de potassium 0.1 M en présence de 0.5 ml de phénolphaléine. Après dissolution, nous titrons par l'hydroxyde de potassium 0.1M, nous arrêtons le titrage lorsque la couleur rose persistante apparaît.

❖ Méthode de calcul

L'indice d'acide est exprimé selon la formule suivante :

$$I_A = \frac{5.61 * V}{m}$$

Où :

$I_A$  : L'indice d'acide

$V$  : Le volume de KOH (0.1M) consommé en ml.

$m$  : La masse de la substance à examiner en g

❖ Détermination de l'indice de saponification

L'indice de saponification  $I_S$  est le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres et la saponification des esters présents dans 1 g de la substance à examiner [50].

❖ Mode Opérateur

Dans une fiole de 250ml de verre de borosilicate munie d'un réfrigérant à reflux, nous introduisons la prise d'essai (l'huile essentielle) en mg. Nous ajoutons 25ml d'hydroxyde de potassium alcoolique 0.5M et quelques billes de verre. Nous adaptions le réfrigérant et nous chauffons à reflux pendant 30 minutes, puis nous ajoutons 1 ml de l'indicateur coloré de phénolphtaléine et nous titrons immédiatement par l'acide chlorhydrique 0.5M. Nous effectuons un essai à blanc dans les mêmes conditions

❖ Méthode de calcul

L'indice de saponification est exprimé par la formule suivante :

$$I_S = \frac{28.05(V_2 - V_1)}{m}$$

Où :

$m$  : La masse de la substance en g

$V_1$  : Le volume de HCl consommé par l'échantillon en ml

$V_2$  : Le volume de HCl consommé à blanc en ml

❖ Détermination de l'indice d'ester

L'indice d'ester  $I_E$  est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des esters présents dans 1g de substance, il est calculé à partir de l'indice d'acide  $I_A$  et l'indice de saponification  $I_S$  [50].

❖ Méthode de calcul

$$I_E = I_S - I_A$$

Où

$I_E$  : indice d'ester ;

$I_S$  : indice de saponification ;

$I_A$  : indice d'acide.

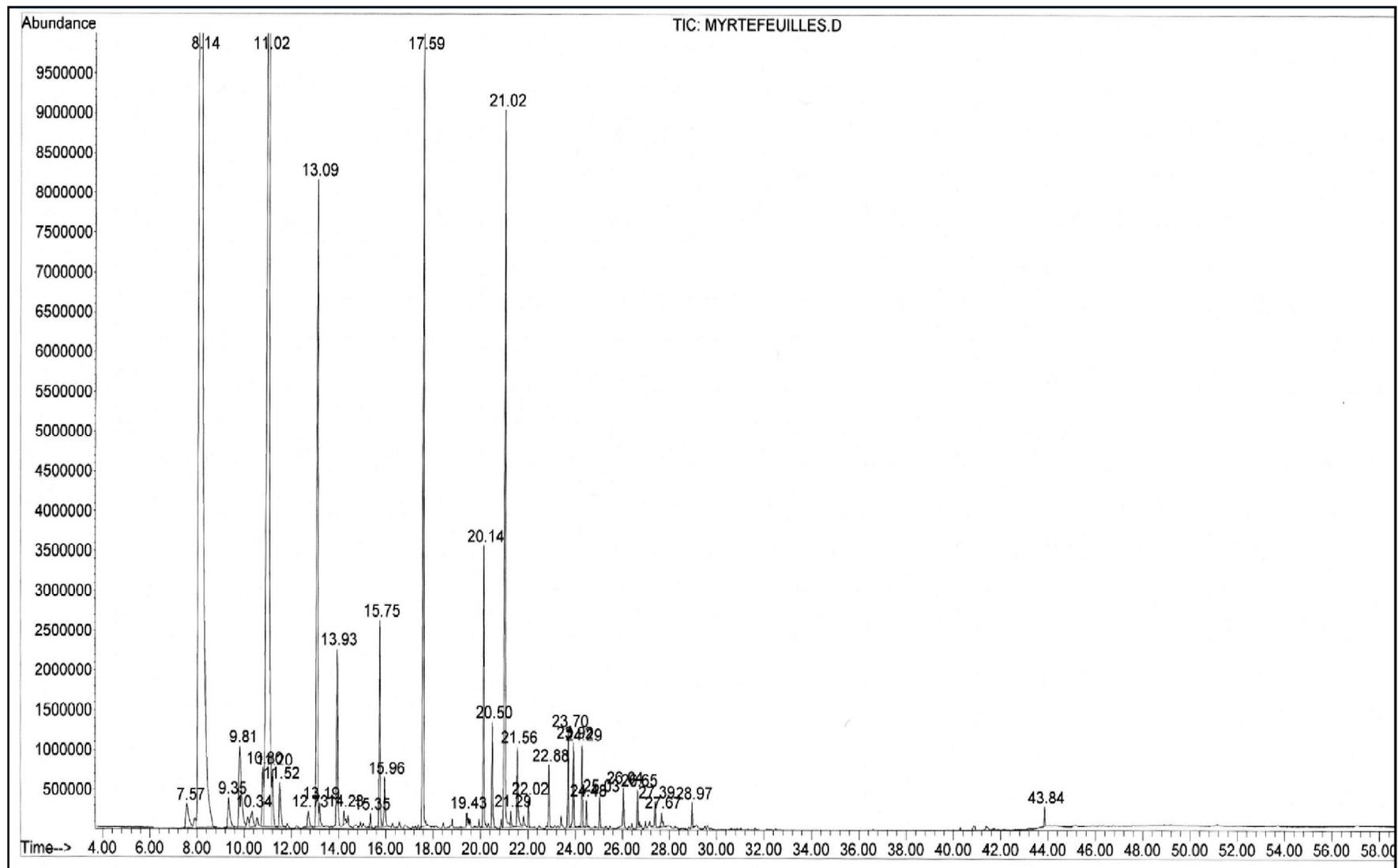


Figure 1. Chromatogramme de l'HE des feuilles de myrte analysée par GC/MS (la durée d'analyse 1 heure)

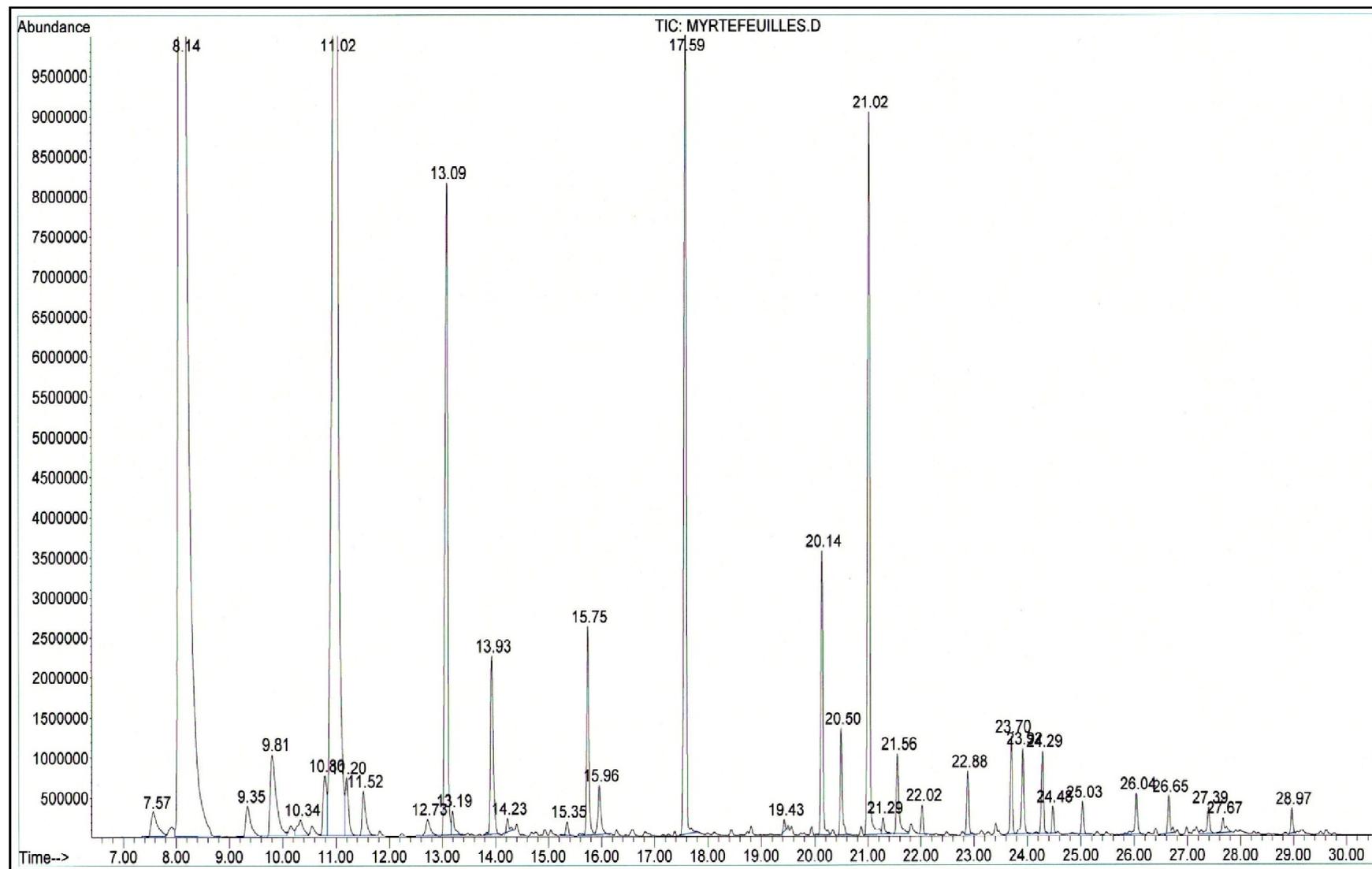


Figure 2. Chromatogramme de l'HE des feuilles de myrte analysée par GC/MS (la durée d'analyse 30 min)

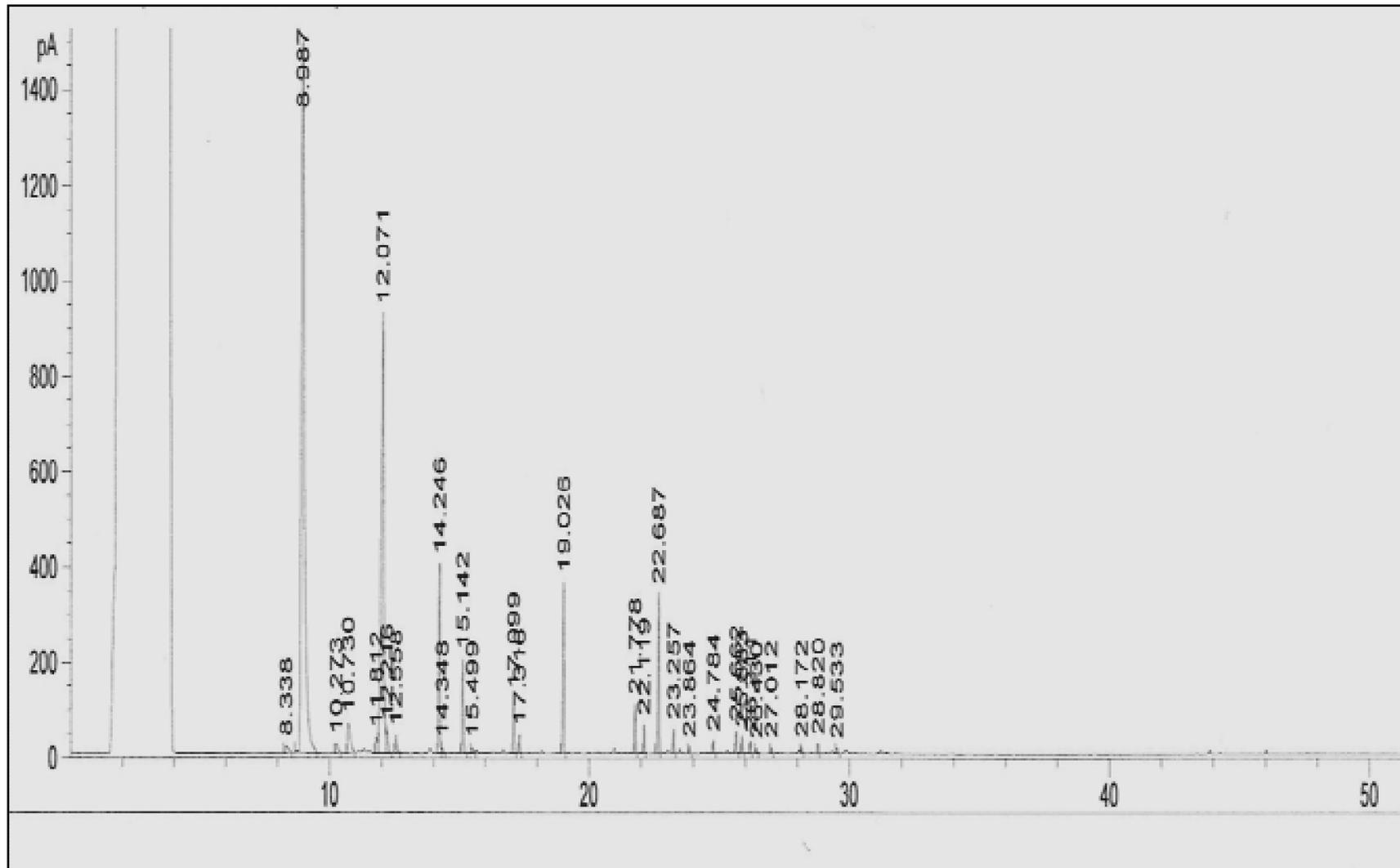


Figure 3. Chromatogramme de l'HE des feuilles de myrte analysée par GC/FID

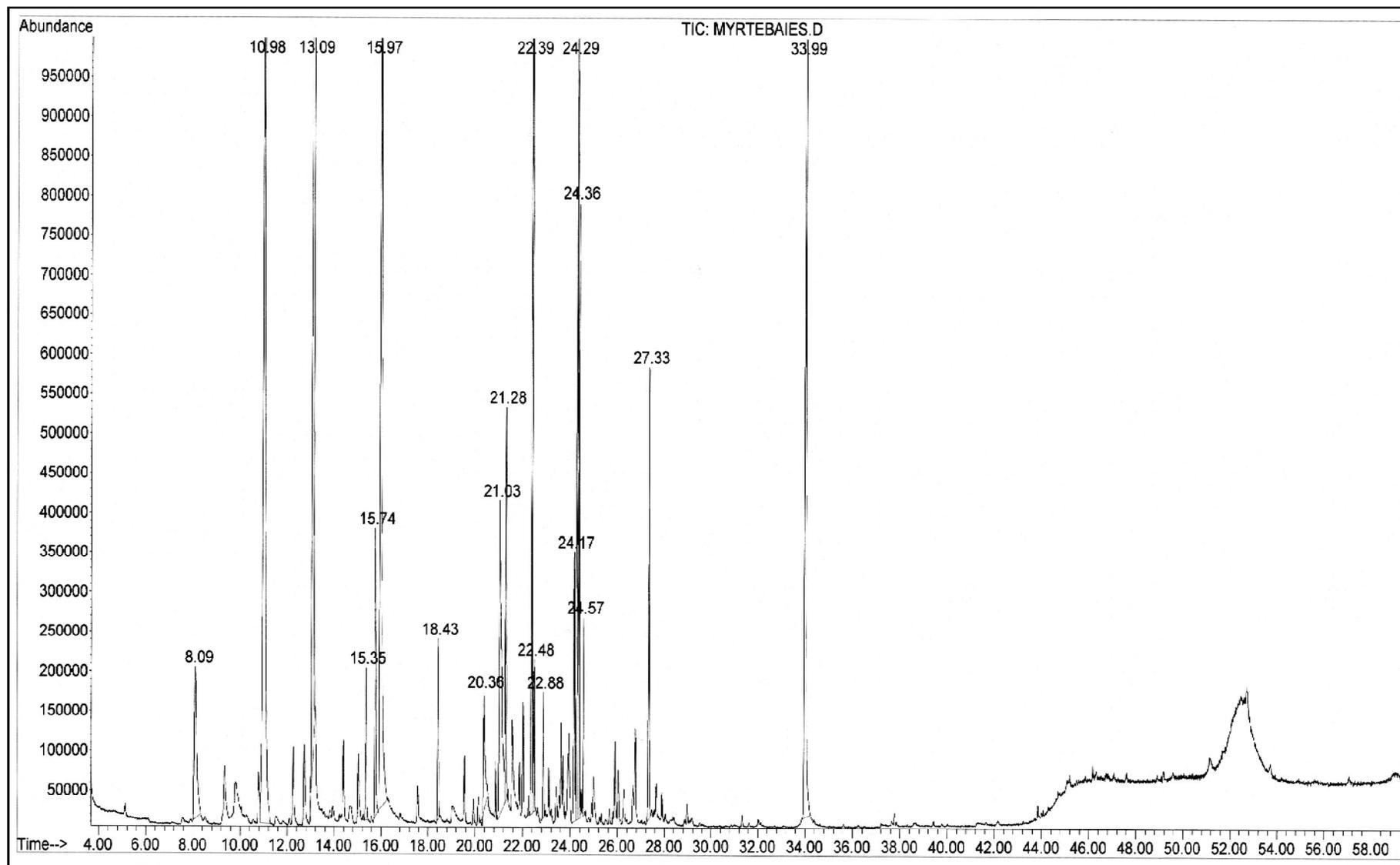


Figure 4. Chromatogramme de l'HE des baies de myrte analysée par GC/MS (la durée d'analyse 1 heure)

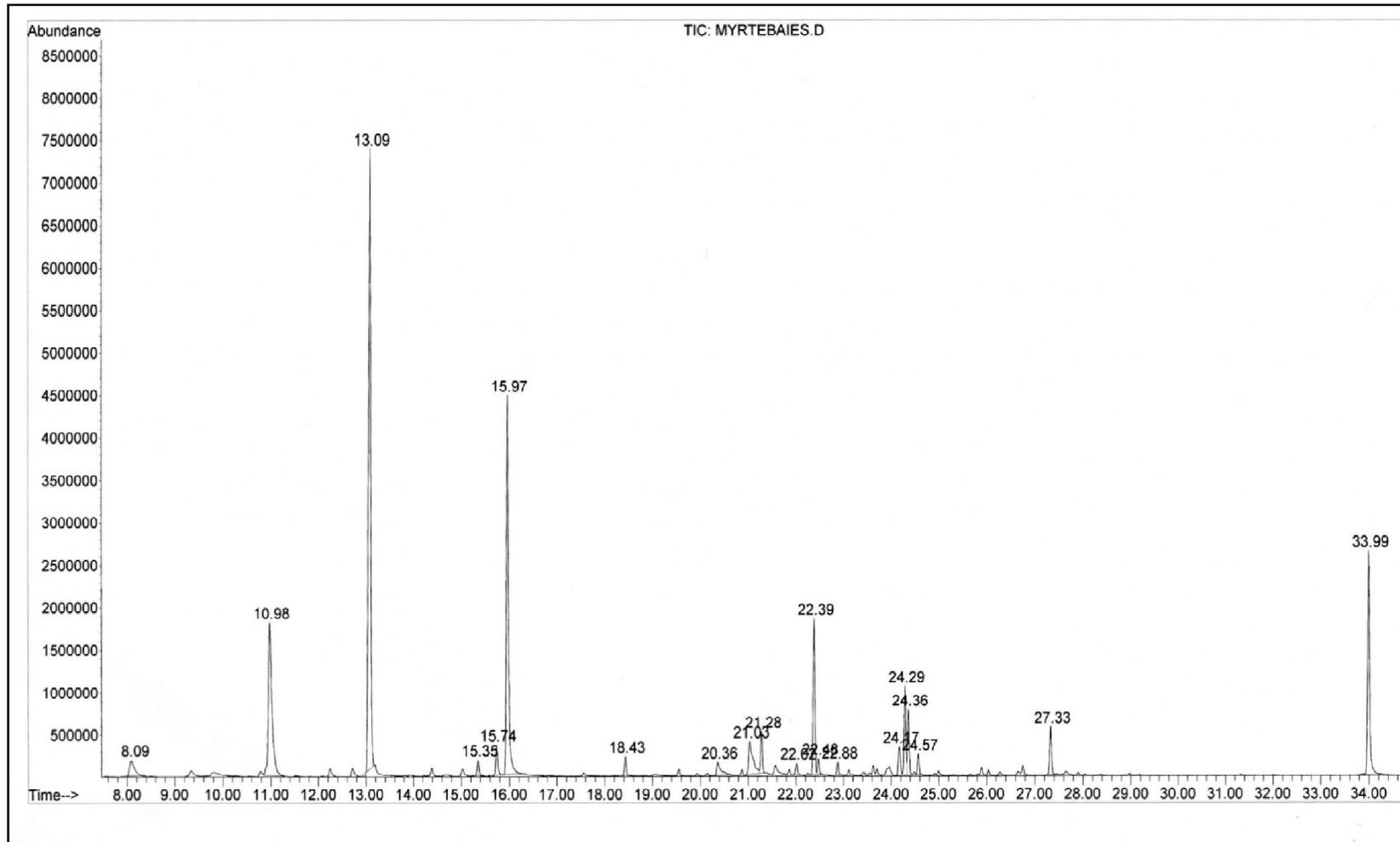


Figure 5. Chromatogramme de l'HE des baies de myrte analysée par GC/MS (la durée d'analyse 34 min)

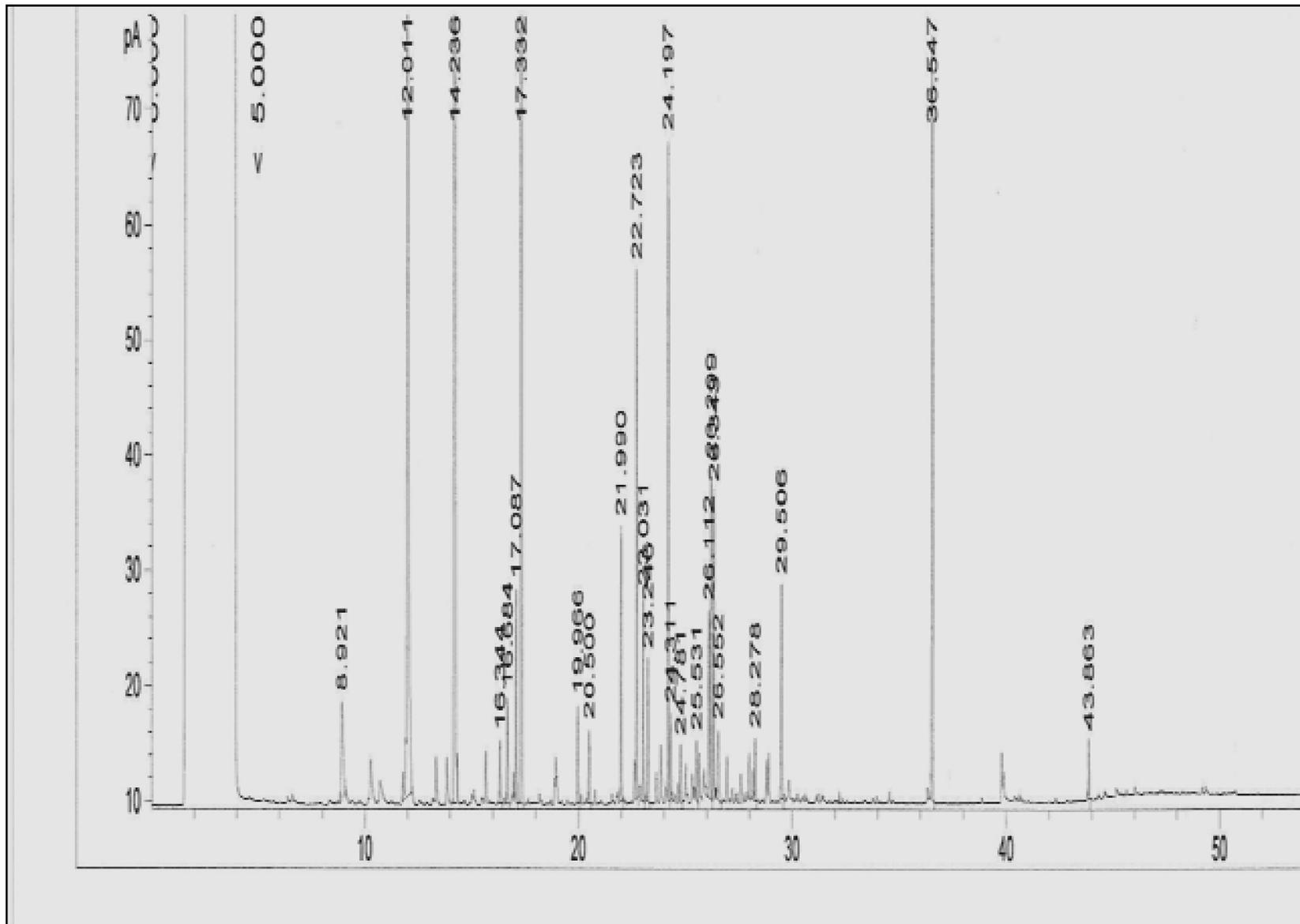


Figure 6. Chromatogramme de l'HE des baies de myrte analysée par GC/FI

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Bernadet, M., "la phyto-Aromathérapie pratique", 2<sup>ème</sup> édition, Dangles, (1983), 37, 78, 83, 86.
2. Bianchini, F. et Corbetta, F., "Atlas des plantes médicinales", Nathan, (1975), 154 p.
3. Delille, L., "Plantes médicinales d'Algérie", Berti, Alger, (2007) 52 p.
4. Schauenberg, P. et Ferdinand, P., "guide des plantes médicinales", Delachaux et Niestlé, (1971), P. 8, 13-17.
5. Iserin, P., " Encyclopédie des plantes médicinales", Larousse, (2001), 211-212.
6. Fluck, H., " Herbes médicinales", 3<sup>ème</sup> édition, Delachaux et Nestlé (1977), 10-13.
7. Valnet, H., "phytothérapie, traitement des maladies par les plantes", 5<sup>ème</sup> édition, Maloine S.A (1983), 15-17.
8. Thurzova, L., "les plantes- santé", Bordas, (1981), P.7, 17- 20.
9. Raynaud, J., "prescription et conseils en aromathérapie", tec et doc, (2006), p.5, 7, 8, 9-12.
10. Laradj, H., " premières journées de pharmacie", faculté de médecine, Annaba,(2004), 5 p.
11. Erika, L., "L'abcaire des plantes aromatiques et médicinales", Flammarion, (2001), 27-52.
12. Amri, H., " optimisation d'un équipement d'extraction des huiles essentielles de mentha rotundifolia par l'entraînement à la vapeur d'eau à l'échelle semi-pilote", mémoire de magister, U. Blida, (2001), 78-85.
13. Sall, J. et Pelletier,J., "les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie", Frison roche, Paris, (1991), 152 p.

14. Lagreb, H., "extraction, caractérisation des huiles essentielles de *Succisa pratensis* et *Thymus faontanesu*, analyse par GC/MS et activité biologique", P.F.E, Université de Blida, (2006), 28-36.
15. Bruneton, J., "Pharmacognosie et phytochimie, Plantes médicinales", Lavoisier, Paris, (1993), 42-47.
16. Arnie, C. et Françoise, P., "Le préparateur en pharmacie", Paris, (2001), 53 p.
17. Willem, J.P., "Les huiles essentielles, médecine d'avenir", Paris, (2004).31-37.
18. Belhocine, M. et Haddadi, A., "Etude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles d'intérêt cosmétique", P.F.E, U. Blida, (2007), 42-44.
19. Benbouali, M., "valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de : "mentha rotundifolia et thymus vulgaris" , mémoire de magister, U.H.B.C, (2005), 72 p.
20. Jacques, C. et Paltz, G., "Le fascinant pouvoir des huiles essentielles", Lavoisier, Paris, (2000), 152 p..
21. Lapore, M.C., "Les huiles essentielles et les soins de la peau", Mortagne, Paris, (2000), 35 p.
22. Brada, M., "Extraction des huiles essentielles et des concrètes de deux espèces de menthe : *Mentha pulgium* et *Mentha rotundifolia* , étude cinétique et analytique de ces huiles et de leurs concretes", thèse de doctorat, université de Blida, (2007), p 30, 103 et129.
23. Franchomme, P. et Penoel, D., "l'aromathérapie exactement", Masson, (2003), 75-78.
24. Baudoux, D., "L'aromathérapie, se soigner par les huiles essentielles", Paris, (1996), 142-146..
25. Naceur, H., "Extraction des huiles essentielles du myrte (*myrtus communis* L.) par hydrodistillation et entraînement à la vapeur d'eau", séminaire sur les plantes aromatiques, médicinales et parfumés », Djerba, Tunisie, nov.(2006).
26. Temani, Y., "l'info au quotidien, 'myrtus communis.L' 'Rihane", (Octobre 2005).

27. Mouterde, P., "nouvelle flore de Liban et de la Syrie", Tome I, el machreq, (1970), 646 p.
28. Ghazanfar, S., "Hand book of Arabian plants CRC press", London, (1994).
29. Farnsworth, A. et Farnsworth, B., "Medicinal plants in therapy, bulletin of world health organization", (1985), 63 p.
30. Franchomme, P. et Penoël, D., "l'aromathérapie exactement", Masson, (2003), 130 p.
31. Messaud, C., "Myrtus communis in Tunisia, variability of essential oil composition in natural populations", Tunisie, (2006).
32. Aidi Wannes, W., Mhamdi, B., Marzouk, B., "Variations in essential oil and fatty acid composition during *Myrtus communis* var. *Italica* fruit maturation", Food chemistry, (2009), 621–626.
33. Chiej, R., "Encyclopedia of medicinal plants", MC Donalds, (1984), 156 p.
34. El Beyrouthy, M., "contribution à l'étude de quelques familles médicinales de la flore libanaise", Liban, (Mai 2002).
35. Gauthier, R., "the essential oils of Myrtle harvested in morocco", Al Birunia, Maroc, (1988), 132-134.
36. Garry et Chalchat ., "les huiles essentielles de myrte du pourtour méditerranéen", 10<sup>ème</sup> journée internationale des huiles essentielles, Digne-les bains, (1992), 45-47.
37. Rasooli, I. et Moosavi, M., "Journal of agricultural science and technologie: biochemical activities of Iranian *Myrtus communis* L. essential oils", Iran, V. 23, n° 14 (avril 2006), 202-206.
38. Chryssavgi, G., "Essential oil composition of *Myrtus communis* L.", food science and technologie department, université d' Athens, (2007).
39. Miyake T. et Sushi., "Journal of agricultural science and technologie : constituants of the essential oil of *Myrtus communis* L.",( 2000), 50-52.
40. Hammami, R., "Glycobiologie structurelle et fonctionnelle", université des sciences et des technologies de Lille, France,( 2006), 154 p.
41. Page web: <http://www.interieur.gov.dz/Monographie/frm Item.aspx?html=44>

42. Aidi Wannes , W. et Mhamdi B, Marzouk, B., "Essential oil composition of two myrtus communis L. varieties grown in North Tunisia. Ital". J. Biochem. (2007); 56 (2), 180-6.
43. Cakir, A., "journal of the society of leather technologists and chemists: Essential oil and fatty acid composition of the fruits of Myrtus communis L. from Turkey", Ataturk university, Turkey, (2004), 184 p.
44. Hayder, N. et Bouhleb, I., "journal des sciences biologiques : étude du potentiel antioxydant in vitro de myrtus communis L.", Tunisie, (1999), 122 p
45. Chokri, M. et Makrem, A., "La Variation génétique des populations tunisiennes de Myrtus communis L. (Myrtaceae) évaluées par des isozymes et RAPDs", institut national de l'agriculture, Tunisie, (2008), 201-203.
46. Satrani, B., "Journal : flavour and fragrance, effet de la distillation fractionnée sur la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du myrte (*Myrtus Communis L.*)", Maroc,(2006), 187-192..
47. Traboulsi, A.F., "journal de la société de chimie industrielle : Propriétés insecticides d'huiles essentielles libanaises contre le moustique de *Culex pipiens molestus*", faculté des sciences agricoles, université du Liban, (2002), 222-230.
48. Brand W. et Culvier, W. "use of a free radical method to evaluate antioxydant activity", Lebensmittel Wissenschaft Technologie , Grèce, (1995), 25-30.
49. Umadevi, I. et Daniel, M., "Chemotaxonomic studies on some members of Anardiaceae", journal of Agricultural and food chemistry, (1995), p43.
50. Anonyme, la pharmacopée européenne, 4ème édition, (2001), 22-43.
51. Avril, J.L. et Dabernat ., H. Denis ., F. H. Monteil ., "bactériologie Clinique", 2<sup>ème</sup> édition, Paris, (1992). 9, 31, 135, 152.
52. Tuberoso, C.I. et Barra, A., Angioni,. Sarritzu, E., Pirisi, F.M., "Chemical composition of volatiles in Sardinian myrtle (*Myrtus communis L.*) alcoholic extracts and essential oils", Agric Food Chem., 22; 54 (4):, (2006), 54 p.