

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département : Génie des Procédés

Mémoire du Projet de fin d'étude

2^{ème} Année Master

***Extraction et application de l'huile essentielle de
Myrte sauvage : étude de l'activité antifongique***

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie Chimique

Présenté par :

MAIGA Hawa Alassane

Sous la Direction de :

Pr. BENHAMIDA Aida

Promotion 2021/2022

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord le bon Dieu de m'avoir éclairée le chemin du savoir et de m'avoir armée de foi, de patience et de force afin d'élaborer ce travail.

Je tiens à témoigner ma gratitude, ma reconnaissance et mon profond remerciement à ma directrice de mémoire **Prof. BENHAMIDA AIDA**, je la remercie chaleureusement pour sa gentillesse, sa confiance, sa rigueur, ses conseils précieux et pour le temps qu'elle m'a accordée malgré ses obligations et ses responsabilités, durant la préparation de ce mémoire.

Mes sincères remerciements s'adressent aussi :

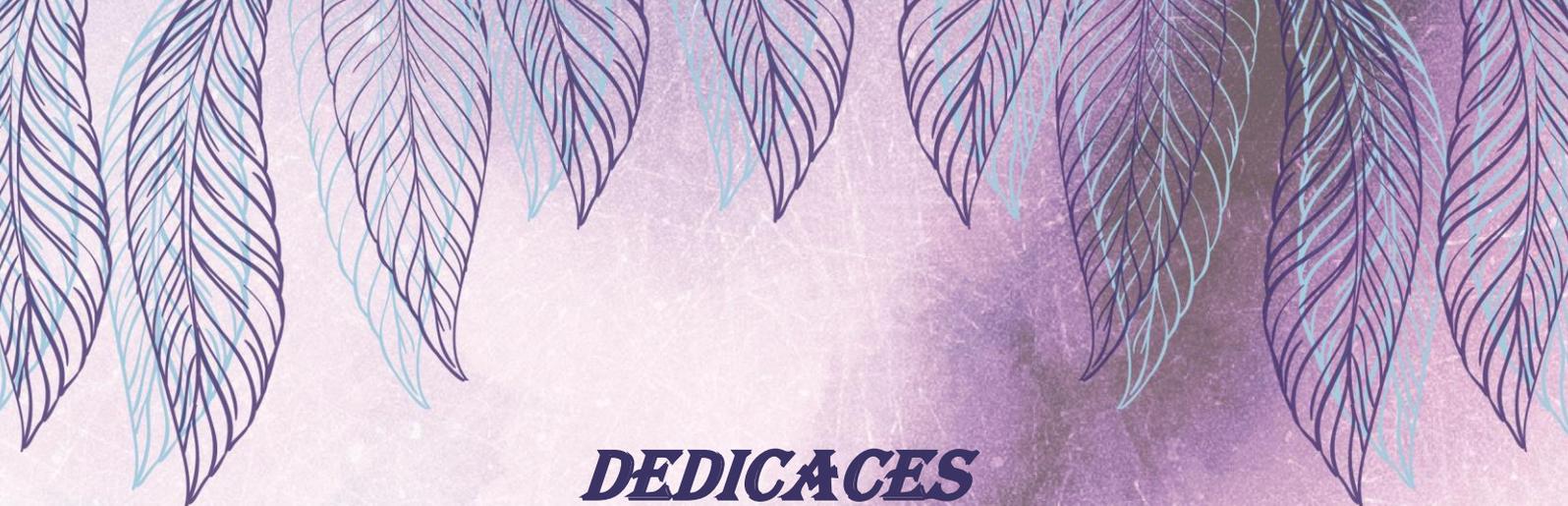
- A **Dr. ALLIOUI Nora**, pour m'avoir bien accueillie dans son laboratoire au niveau de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma, afin de réaliser les tests sur l'activité antifongique, pour ses orientations et ses précieux conseils. Sa collaboration a été très enrichissante.
- A **Mr OURFELLAH Rabeh**, pour son aide inestimable lors de la collecte de la plante étudiée.
- A **Dr. BELBAH Hayet**, pour son aide précieuse pour la réalisation des analyses spectroscopiques UV des huiles essentielles.
- A **Prof. BENHAMZA** et **Dr. SELAIMIA Radia**, pour avoir permis l'aboutissement des tests spectroscopiques IRTF.
- Aux ingénieurs du laboratoire pédagogique du Département de Génie des procédés, en l'occurrence **Mmes BOUYEDA Meriem** et **MAADI Nissa**, pour leurs gentillesse et leurs assistances lors de la réalisation des travaux de mon mémoire.
- A tous les enseignants ainsi que tous les cadres administratifs du Département de Génie des Procédés de L'Université 8 Mai 1945 de GUELMA.

Mes profonds remerciements à tous pour votre soutien et vos contributions à l'accomplissement de ce modeste travail. Sans vous, ce travail ne serait pas aussi riche.

Un grand merci aussi à tous les membres de ma famille qui m'ont soutenue et encouragée pour poursuivre mes études et réaliser mes rêves dans un domaine que j'aime tellement.

J'espère n'avoir oublié personne, si c'est le cas je m'en excuse par avance.

MERCI INFINIMENT



DEDICACES

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail :

- A ma famille, elle qui m'a dotée d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui, particulièrement :

- A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral, ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, puisse DIEU t'accorder une longue vie afin que tu puisses assister à ma réussite, à toi mon très cher père **Alassane MAIGA**.

- A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, à la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; ma très chère maman **Oumou DOLO** que j'aime tant.

- A mes chers frères et sœurs (**Mohamed, Fadimata, Hadizatou et Fatou**) qui n'ont jamais cessé de m'aider avec de sages conseils, m'encourager et me soutenir tout au long de mes études. Que le bon Dieu vous protège et vous offre la chance et le bonheur éternels.

- A ma grand-mère, mes oncles et mes tantes, merci pour votre amour et vos encouragements.

- A toutes mes amies et camarades de la promotion 2021/2022 : Pour leur compagnie et les bons moments passés ensemble durant ces 6 dernières années, je vous souhaite bonne chance et plus de succès.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

***Puisse DIEU le tout puissant vous accorder
longévité, santé, bonheur et succès.***

**MAIGA HAWA
ALASSANE**



Sommaire

SOMMAIRE

Introduction générale	1
------------------------------------	----------

CHAPITRE I : Généralités sur les huiles essentielles

I.1 Historique	3
I.2 Définitions	3
I.3 Localisation des huiles essentielles	4
I.4 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	4
I.5 Composition chimique des huiles essentielles	5
I.5.1 Groupe des terpénoïdes.....	5
I.5.2 Composés aromatiques	6
I.5.3 Composés d'origines diverses.....	6
I.6 Activités biologiques des huiles essentielles	7
I.6.1 Activité anti-oxydante	7
I.6.2 Autres activités biologiques.....	7
I.7 Conservation des huiles essentielles.....	7
I.8 Utilisation des huiles essentielles.....	8
I.8.1 Industrie agro-alimentaire.....	8
I.8.2 Industrie pharmaceutique.....	8
I.8.3 Parfumerie et cosmétologie.....	9
I.8.4 Industrie chimique.....	9
I.9 Toxicité des huiles essentielles	10
I.10 Méthodes d'extractions d'une huile essentielle	10
I.10.1 Techniques conventionnelles d'extraction.....	10
I.10.1.1 Distillation.....	11
I.10.1.2 Extraction au Soxhlet.....	13
I.10.2 Extraction par des techniques innovantes	15
I.10.2.1 Extraction par le CO ₂ supercritique (CO ₂).....	15
I.10.2.2 Extraction par ultrasons	16
I.10.2.3 Extraction assistée par micro-ondes	17

CHAPITRE II : Le Myrte sauvage

II.1 Historique	18
II.2 Définitions et description	18
II.3 Classification	19
II.4 Noms vernaculaires.....	19
II.5 Description botanique	20

II.6 Types de myrte.....	20
II.7 Distribution géographique.....	21
II.8 Utilisations.....	22
II.8.1 Utilisations traditionnelles et indications	22
II.8.2 Utilisation industrielle.....	23
II.9 Huile essentielle de Myrte sauvage.....	23
II.9.1 Composition chimique de l'huile essentielle de Myrte sauvage.....	23
II.9.2 Activités biologiques de l'huile essentielle de Myrte sauvage.....	26
II.9.2.1 Activités antibactériennes.....	26
II.9.2.2 Activités antifongiques.....	26
II.9.2.3 Activités anti-inflammatoires	27
II.9.2.4 D'autres activités.....	28

CHAPITRE III : Matériel et méthodes

PARTIE I : Extraction de l'huile essentielle et étude physicochimique

III.1.1 Matière végétale.....	29
III.1.2 Matériel et produits.....	30
III.1.3 Extraction des huiles essentielles.....	30
III.1.3.1 Extraction par hydrodistillation du tube simple.....	30
III.1.3.2 Extraction par hydrodistillation du tube de Clevenger	32
III.1.4 Conservation des huiles essentielles	33
III.1.5 Rendement des huiles essentielles	34
III.1.6 Caractérisation de l'huile essentielle	34
III.1.6.1 Caractéristiques organoleptiques	34
III.1.6.2 Caractéristiques physico-chimiques.....	34
III.1.6.2.1 Indice d'acide.....	34
III.1.6.2.2 Indice de réfraction	35
III.1.6.2.3 Détermination du potentiel d'hydrogène (pH)	37
III.1.7 Analyse chromatographique.....	37
III.1.8 Analyses spectroscopiques	39
III.1.8.1 Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF).....	39
III.1.8.2 Spectroscopie UV-visible.....	40

PARTIE II : Evaluation de l'effet fongicide de l'huile essentielle extraite du Myrte (*Myrtus communis L*)

III.2.1 Matériel fongique.....	42
III.2.2 Matériel utilisé.....	42
III.2.3 Préparation de la suspension sporale	43
III.2.4 Concentrations de l'huile essentielle testée.....	44

III.2.5 Technique de confrontation.....	44
III.2.6 Lecture des résultats.....	45

CHAPITRE IV : Résultats et discussion

Partie I : Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.*

IV.1.1 Le rendement des huiles essentielles	46
IV.1.2 Etude des propriétés de l'huile essentielle du Myrte	48
IV.1.2.1 Propriétés organoleptiques	48
IV.1.2.2 Analyse des caractéristiques physico-chimiques.....	49
IV.1.3 Analyse chromatographique sur couche mince CCM	52
IV.1.4 Analyse de la structure par les méthodes spectroscopiques.....	53
IV.1.4.1 Analyse par spectroscopie IRTF.....	53
IV.1.4.2 Analyse par spectroscopie UV visible	55
PARTIE II : Etude de l'effet antifongique de l'huile essentielle de Myrte.....	56

Conclusion générale.....	61
---------------------------------	-----------

Références bibliographiques

Listes

Abréviations

Figures

Tableaux

LISTE DES ABREVIATIONS

HE	Huile essentielle
AFNOR	Association Française de Normalisation
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament
UV	Ultra-violet
°C	Degré Celsius
µm	Micromètre
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
KOH	Hydroxyde de potassium
mg	Milligramme
CO ₂	Dioxyde de carbone
R _{HE}	Rendement en huile essentielle
M _{HE}	Masse de l'huile essentielle récupérée
M _{MV}	Masse de la matière végétale
I _A	Indice d'acide
g	Gramme
ml	Millilitre
N	Normalité
V	Volume
m	Masse
I ²⁰	Indice de réfraction à 20°C
I ^T	Indice de réfraction à la température de mesure
d	Distance entre la ligne de dépôt et le centre de la tache
D	Distance entre la ligne de dépôt et le front du solvant
pH	Potentiel d'hydrogène
NaCl	Chlorure de sodium
mm	Millimètre
nm	Nanomètre

R _f	Rapport frontal
IRTF	Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier
μL	Microlitre
PDA	Potatoes dextrose agar
ZI	Zone d'inhibition
L	Litre
cm	centimètre
%	Pourcentage
DL	Degrés de liberté
SCE	Somme des carrés des écarts
CM	Carré moyen
F	Valeur observée de F de Fisher
P	Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

Liste des figures

CHAPITRE I : Généralités sur les huiles essentielles		
Figures	Intitulé	Pages
Figure I.1	Structures : (a) unité mono terpénique, (b) Géraniol, (c) Nérol	5
Figure I.2	Exemples de composés aromatiques présents dans les H.E	6
Figure I.3	Montage de distillation	11
Figure I.4	Schéma de l'hydrodistillation	12
Figure I.5	Montage distillation par entrainement à la vapeur	13
Figure I.6	Montage de l'extracteur Soxhlet	14
Figure I.7	Photo de l'appareil Rotavapeur	14
Figure I.8	Extraction par le CO ₂ supercritique	15
Figure I.9	Extraction par ultrasons	16
Figure I.10	Hydrodistillation à micro-onde sous vide	17
CHAPITRE II : Le Myrte sauvage		
Figure II.1	<i>Myrtus communis</i> .	19
Figure II.2	Photographies des différentes parties aériennes de <i>Myrtus communis</i> L: A : feuilles, B: fleurs et C : fruits.	20
Figure II.3	Les différents types du myrte.	21
Figure II.4	Distribution du genre <i>Myrtus</i> .	21
Figure II.5	α -pinène	23
Figure II.6	1,8-cinéol	23
Figure II.7	limonène	23
Figure II.8	Acétate de myrtényle	24
Figure II.9	Myrténol	24
CHAPITRE III : Matériel et méthodes		
Figure III.1	Matières végétales utilisées	29
Figure III.2	Montage d'hydrodistillation du tube simple.	31
Figure III.3	Ampoule à décanter.	32
Figure III.4	Dispositif de Clevenger	32
Figure III.5	Huile obtenue après l'extraction.	33

Figure III.6	Avant le changement de couleur et après le changement de couleur.	35
Figure III.7	Réfractomètre d'Abbe	36
Figure III.8	La gamme de couleur selon le pH.	37
Figure III.9	Les étapes de la chromatographie sur couche mince CCM.	38
Figure III.10	Lampe UV	39
Figure III.11	Spectromètre infrarouge	40
Figure III.12	Spectrophotomètre UV-visible	41
Figure III.13	Symptômes de la pourriture grise sur fraisier.	42
Figure III.14	a) : La solution sporale. b) : La cellule de Malassez	44
Figure III.15	Test de l'activité antifongique de l'huile essentielle du myrte sur <i>Botrytis cinerea</i>	45
CHAPITRE IV : Résultats et discussion		
Figure IV.1	Rendements en huiles essentielles des feuilles sèches et fraîches du myrte extrait par hydrodistillation et Clevenger.	47
Figure IV.2	Résultats de l'indice de réfraction à la température de mesure T de : a) Eau distillée b) Huile essentielle des feuilles fraîches de myrte obtenue par hydrodistillation c) Huile essentielle des feuilles sèches de myrte obtenue par Clevenger	50
Figure IV.3	Résultats des tests du pH.	51
Figure IV.4	Résultat de l'analyse CCM de l'huile essentielle de Myrte extraite par Clevenger	52
Figure IV.5	Spectre IRTF de l'huile de myrte enregistré dans les régions 4000 et 500 cm ⁻¹ .	53
Figure IV.6	Spectre UV –Visible de l'huile essentielle de Myrte.	55
Figure IV.7	Croissance de <i>Botrytis cinerea</i> , agent de la pourriture grise, dans les boîtes témoins (sans huile essentielle) (Photo personnelle)	56
Figure IV.8	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de <i>Botrytis cinerea</i> après 5 jours de confrontation avec différents volumes de l'huile essentielle de Myrte.	57
Figure IV.9	Activité antifongique de l'huile de myrte contre le <i>Botrytis cinerea</i> après 72 h de confrontation (Photo personnelle).	58

Liste des tableaux

CHAPITRE II : Le Myrte sauvage		
Tableau	Intitulé	Pages
Tableau II.1	Pourcentages des composants de l'huile essentielle des feuilles de myrte dans 3 pays.	24
Tableau II.2	Pourcentages des composants de l'huile essentielle des feuilles de myrte dans 2 régions d'Algérie.	25
Tableau II.3	Pourcentages des composants des huiles essentielles obtenues à partir des différentes parties de myrte.	25
Tableau II.4	Pourcentage d'inhibition de la croissance d' <i>Alternaria alternata</i> , <i>Penicillium expansum</i> et <i>Botrytis cinerea</i> traités avec différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> .	27
CHAPITRE III : Matériel et méthodes		
Tableau III.1	Matériel et produits utilisés	30
Tableau III.2	Matériel utilisé pour le test de l'activité antifongique	43
CHAPITRE IV : Résultats et discussion		
Tableau IV.1	Rendements d'huile essentielle des feuilles sèches et fraîches du myrte sauvage (<i>Myrtus communis L.</i>).	46
Tableau IV.2	Les rendements en huile essentielle des feuilles de myrte Algérien.	47
Tableau IV.3	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Myrtus Communis L.</i>	48
Tableau IV.4	Résultats des caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle de Myrte.	49
Tableau IV.5	Valeurs des indices de réfraction à la température de mesure.	50
Tableau IV.6	Résultats du calcul des rapports frontaux de la CCM.	52
Tableau IV.7	Groupements fonctionnels de l'huile essentielle de Myrte.	57
Tableau IV.8	Analyse de la variance pour le diamètre de la zone d'inhibition de croissance	60
Tableau IV.9	Résultats du test de Dunnett.	60

Introduction Générale

INTRODUCTION GENERALE

Depuis l'antiquité, l'homme utilisait les plantes pour répondre à ses besoins à savoir : pour l'alimentation, pour avoir de l'énergie et pour soigner ses maux et maladies [1].

Les plantes aromatiques et médicinales représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : (alcaloïdes, flavonoïdes, hétérosides, quinones, vitamines et huiles essentielles). En effet, les huiles essentielles sont utilisées depuis l'antiquité et sont largement employées de nos jours, pour leurs propriétés biologiques (antimicrobienne, antioxydante, analgésique, anti inflammatoire, anti-cancérogène, antiparasitaire, insecticide...) et leurs applications dans de multiples et diverses industries : alimentaires, cosmétique, parfumerie et pharmacie [2].

L'Algérie possède un patrimoine végétal très riche et varié : méditerranéen et saharien ainsi qu'une flore paléo tropicale, estimé avec 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, mais qui reste cependant peu étudié et peu exploré, particulièrement sur le plan pharmacologique. La valorisation des plantes médicinales de la flore nationale sera d'un grand apport pour l'industrie pharmaceutique Algérienne et aura un impact économique certain [3]. Raison pour laquelle nous nous sommes intéressés à l'étude d'une plante aromatique et médicinale appartenant à la famille des Myrtacées : le Myrte connu en Algérie sous le nom *Myrtus communis* L.

Par ailleurs, un intérêt scientifique et industriel est porté aux procédés d'extraction et au rendement en huile essentielle pouvant être obtenu.

Notre choix pour le myrte est justifié par le fait que cette plante pousse à l'état sauvage et cette espèce est connue pour ses propriétés antiseptiques, antiparasitaires, antimicrobiennes, désinfectantes et astringentes (diarrhées, dysenterie) ainsi par leur effet hypoglycémique et hypocholestérolémiant. Elle est également reconnue dans le traitement des maladies des voies urinaires et respiratoires [4]. L'huile essentielle du myrte extraite par hydrodistillation sera utilisée comme agent antifongique, dont nous évoluerons l'activité sur une souche nommée *Botrytis cinerea* dans un milieu Gélose Dextrosée à la Pomme de Terre (PDA).

En effet, il est connu que *Botrytis cinerea* est un champignon responsable de pourritures sur un grand nombre de plantes hôtes d'importance économique en agriculture et en horticulture. Les dégâts occasionnés par ce champignon sont considérables et peuvent atteindre 20% des récoltes mondiales des cultures. Les pourritures sur fruits sont aussi très

dommageables, aussi bien sous serre qu'en plein champ, aussi bien en cours de la culture qu'après la récolte, durant le stockage, le transport et la commercialisation, d'où l'intérêt à trouver des agents fongicides non toxiques, moins coûteux et plus respectueux de l'environnement.

Le présent travail est composé de deux grandes parties dont une partie bibliographique et une partie expérimentale. Dans le premier chapitre, nous présentons des généralités sur les huiles essentielles : historique et définitions, leurs localisations, leurs propriétés physico-chimiques et biologiques, leurs compositions chimiques et conservations, leurs toxicités suivis de leurs méthodes d'extractions.

Le second chapitre est dédié à la description botanique, la distribution géographique et l'utilisation du Myrte sauvage (*Myrtus communis* L.) en passant par la composition chimique et l'activité biologique de son huile essentielle.

Le troisième chapitre est consacré à la présentation du matériel, produits et méthodes utilisés pour extraire l'huile essentielle contenue dans les feuilles du *Myrtus Communis* et à la caractérisation de l'huile extraite. Il se poursuit par la description du protocole suivi pour l'étude de l'activité antifongique de cette huile sur une souche responsable de la pourriture grise.

Dans le dernier chapitre, nous présentons les résultats obtenus lors de l'extraction et la caractérisation de l'huile essentielle de Myrte ainsi que ceux relatifs à son activité antifongique. Les résultats y seront discutés en comparaison avec les travaux disponibles en littérature.

Enfin, une conclusion générale.

Chapitre I

Généralités sur les huiles essentielles

CHAPITRE I :

Généralités sur les huiles essentielles

I.1 Historique

Depuis des siècles, les hommes ont cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait ensuite de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide. Ce procédé a par la suite été nommé distillation et a été utilisé par les Chinois et des Indiens, depuis 20 siècles avant J.C.

Les Egyptiens et les Arabes ont prévalu des caractéristiques médicinales et aromatiques des plantes : la conservation des momies, l'aromatisation des bains, la désinfection des plaies avec les onguents, les parfums et la fabrication des boissons aromatiques. Lors de leurs conquêtes, les arabes ont fait connaître ces vertus aux Espagnols qui les propagèrent à leur tour en Europe et tout le long des côtes du nord de la Méditerranée [5].

I.2 Définitions

Une huile essentielle (HE) est un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques. Ce sont des substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs. Elles concentrent l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles.

Une huile essentielle (HE) est définie comme un mélange très complexe de substances chimiques, liquides à la température ambiante. La volatilité de ses composants lui confère souvent un parfum très odorant.

Elles se différencient des huiles grasses, par leurs propriétés physiques et leur composition, du fait qu'elles se volatilisent à la chaleur et que leurs taches sur le papier sont passagères. Les huiles essentielles ont, depuis toujours, occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'homme qui les utilisait autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner [6].

I.3 Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles se rencontrent généralement dans tous le règne végétal, cependant elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles telles que les conifères, les rutacées, les ombellifères, les myrtacées et les labres.

Les huiles essentielles peuvent être extraites de tous les organes de la plante :

- des sommités fleuries (lavande, menthe, ylang ylang, camomille ...)
- des racines ou rhizomes (vétiver, angélique, gingembre ...),
- des écorces (citron, orange, bergamote, cannelle ...),
- du bois (bois de cèdre, de santal, camphrier ...),
- des fruits (poivre ...),
- des graines (cardamones, coriandre, fenouil, muscade ...),
- des feuilles (eucalyptus ...).

Les huiles essentielles « sont élaborées au sein du cytoplasme de certaines cellules, elles s'en séparent par synérèse (séparation d'un liquide de son gel) sous forme de petites gouttelettes qui confluent en plage plus ou moins étendues. Elles sont stockées dans les structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, cellules à poils sécréteurs (comme dans la menthe), canaux sécréteurs) [7].

I.4 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les principales caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles sont :

- Aspect liquide à température ambiante ;
- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles ;
- Volatiles et très rarement colorées ;
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes ;
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donne un indice relativement élevé ;
- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants ;
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques ;

- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux. Il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité [8].

I.5 Composition chimique des huiles essentielles

Ce sont des mélanges complexes et variables de différents composés chimiques dissous l'un dans l'autre formant ainsi des solutions homogènes. Ces constituants appartiennent quasi exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, d'autre part [9].

I.5.1 Groupe des terpénoïdes

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. D'une manière générale, les huiles essentielles ne contiennent que les terpènes les plus volatils, c'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée. Ils répondent à la formule générale $(C_5H_8)_n$. Suivant les valeurs de n , on a les hémiterpènes ($n=1$), les monoterpènes ($n=2$), les sesquiterpènes ($n=3$), les triterpènes ($n=6$), les tétraterpènes ($n=8$) et les polyterpènes [10].

Ils peuvent être saturés ou insaturés, acycliques, monocycliques, bicycliques ou polycycliques, et peuvent également être accompagnés de leurs dérivés oxygénés: alcools, esters, éthers, aldéhydes, cétones, etc [11].

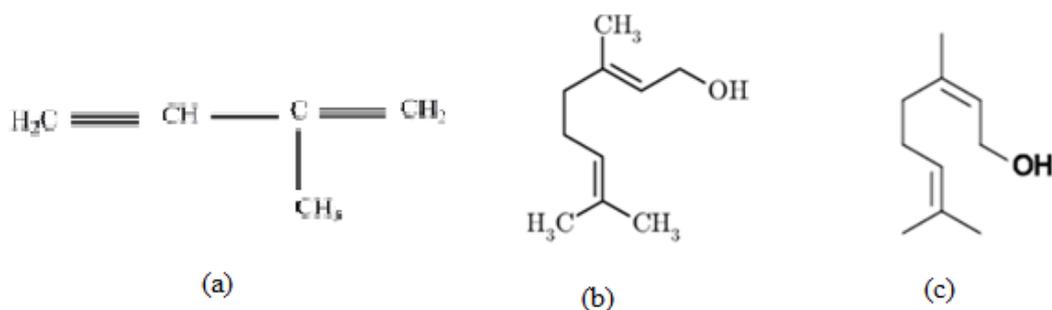


Figure I.1 : Structures : (a) unité mono terpénique, (b) Géraniol, (c) Nérol

I.5.2 Composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères des huiles essentielles. On peut citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle [9].

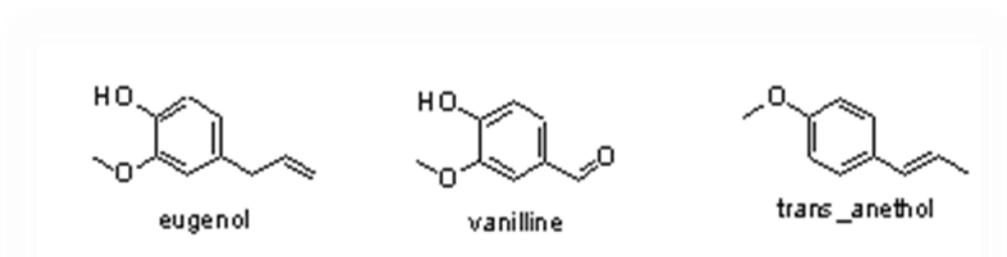


Figure I.2 : Exemples de composés aromatiques présents dans les H.E

I.5.3 Composés d'origines diverses

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation. Ces produits peuvent être azotés, soufrés, des carotènes ou des acides gras.

Alcools : Menthol, géraniol, linalol,...

Aldéhydes : Géraniol, citronellal,...

Cétones : Camphre, pipéritone

Phénols : Thymol, carvacrol ...

Esters : Acétate de géranyle,...

Acides : Acide gérannique,...

Oxydes : 1,8-cinéole,...

Phénylpropanoïdes : Eugénol.

Terpènes : Limonène, para-cymène,...

Autres : Ethers, composés soufrés, composés azotés, sesquiterpène, ... [12]

I.6 Activités biologiques des huiles essentielles

I.6.1 Activité anti-oxydante

Les huiles essentielles de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants. Le thymol et le carvacrol sont encore une fois les composés les plus actifs. Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composés de ce type ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes.

L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuée à certains alcools, éthers, cétones, et aldéhydes monoterpéniques: le linalool, le 1,8-cinéole, le géraniol/nérol, le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques monoterpènes: α -terpinène, γ -terpinène et l' α -terpinolène [13].

I.6.2 Autres activités biologiques

Les huiles essentielles ont une ou plusieurs vertus particulières et ont des utilisations très diverses (en pharmacie, parfumerie, cosmétique), comme produits phytosanitaires, comme source d'arôme et enfin en alimentation humaine et animale.

Les propriétés anti bactériennes de certaines d'entre elles peuvent également justifier leur utilisation. On leur attribue aussi des propriétés antivirales, antimycosiques (antifongiques), antiparasitaires, hypolipémiantes, antiseptiques grâce aux aldéhydes et terpènes (les terpènes possèdent des propriétés anti-hypertensives, antirétrovirales, anti-inflammatoires, analgésiques, antimicrobiennes et antiparasitaires), d'inhibition d'odeur et insecticides. Selon plusieurs études, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles se classe dans l'ordre décroissant selon la nature de leurs composés majoritaires : phénols > alcools > aldéhydes > oxydes > hydrocarbures > esters [14].

I.7 Conservation des huiles essentielle

Les huiles essentielles sont des substances sensibles et très délicates, ce qui rend leur conservation difficile et obligatoire dans le but de limiter les risques de dégradation. Ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées convenablement dans des flacons opaques et à l'abri de la chaleur et de la lumière. Il est nécessaire de conserver les huiles essentielles : à l'abri de l'air, et de la lumière, dans des flacons propres et secs, métalliques (aluminium ou acier inoxydables) ou en verre teinté, à froid (à 4 °C).

Il faut éviter, d'une part, de mettre très peu d'huile essentielle dans le flacon et, d'autre part d'utiliser des emballages et des bouchons en matière plastique qui peuvent être sensibles au contenu [15].

I.8 Utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont des champs d'application très variés dans la vie courante. Actuellement, nous pouvons retenir quatre principaux domaines d'utilisation industrielle: l'alimentation, l'aromathérapie, la parfumerie et la cosmétique et la chimie [16].

I.8.1 Industrie agro-alimentaire

Les huiles essentielles sont utilisées en agro-alimentaire comme aromates dans les préparations culinaires. Plusieurs secteurs alimentaires en sont consommateurs :

- De nombreux arômes de fruits sont utilisés dans les laitages,
- Les boissons non alcoolisées font appel aux huiles essentielles d'agrumes, de menthes,...
- Les plats cuisinés utilisent les plantes aromatiques sous toutes leurs formes: oléorésines et huiles essentielles mais aussi sous formes fraîche, sèche ou surgelée ;
- La charcuterie, les sauces, vinaigres, moutardes font appel à de nombreuses formes de présentations des plantes aromatiques;
- La liquoristerie utilise largement les huiles essentielles anisées (fenouil, anis, badiane,...).

Les huiles essentielles sont des concentrés à odeur et saveur très agréables qui présentent une alternative à l'usage des plantes entières, qu'il s'agisse de la menthe, du citron, du thym, du basilic, etc... [12].

I.8.2 Industrie pharmaceutique

Les HE ont un grand intérêt en pharmacie ; elles s'utilisent sous la forme de préparations galéniques, et dans la préparation d'infusion (verveine, thym, menthe, mélisse, fleurs d'orange...etc.). Toutefois, il faut souligner que la majorité des constituants de ces derniers sont lipophiles, et de ce fait, rapidement absorbés que ce soit par voie pulmonaire, par voie cutanée ou par voie digestive. Elles sont également utilisées pour l'obtention des huiles essentielles dans un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des

antiseptiques externes). Plus de 40% des médicaments sont à base de composants actifs de plantes. De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de spécialités pharmaceutiques : sirop, goutte, gélules pommade.... [10].

I.8.3 Parfumerie et cosmétologie

La parfumerie est le débouché principal des huiles essentielles, concrètes, absolues, et résinoïdes. Dans la réalisation de ces transformations, l'industrie de la parfumerie utilise à côté des constituants issus de la synthèse chimique, des extraits naturels sélectionnés pour leurs qualités olfactives quelquefois jugées irremplaçables pour leur originalité ou leur puissance. A titre d'exemple, l'essence de vétiver, grâce à son odeur agréable, est recherchée en cosmétologie et en parfumerie haute gamme associée à d'autres essences telles que le santal, le patchouli ou la rose pour lesquelles elle joue le rôle de fixateur naturel. L'huile essentielle d'ylang-ylang est très employée en cosmétologie, en parfumerie et en savonnerie de luxe. Les huiles essentielles servent aussi en hygiène, en esthétique corporelle sous forme de lotions, d'eaux florales, de crèmes, de gels, de pommades, etc... [11].

I.8.4 Industrie chimique

L'industrie chimique utilise certaines huiles essentielles comme matières premières qu'elle transforme en produits chimiques plus élaborés. Les huiles essentielles donnent des isolats pour des héli synthèses. On a par exemple les filières suivantes:

- Lemon-grass → citral → Ionones (essences artificielles de violette)
- Citronnelle → citronellal → citronellol et géraniol
- Giroflier → eugénol → vanilline
- Pin → α -pinène → camphre
- Eucalyptus → pipéritone → menthol

Elles peuvent aussi donner des produits directement utilisables par l'industrie: c'est le cas des Eucalyptus qui donnent le cinéole pour l'industrie pharmaceutique, le citronellal pour l'industrie de parfum ou le phellandrène pour la flottation des minerais, et fournissent du bois de chauffe, des poteaux électriques, et du bois pour la pâte à papier. C'est aussi le cas du pin qui est riche en pinène qui, en plus de son utilisation comme solvant, rentre dans la synthèse du camphre qui est un agent plastifiant [16].

I.9 Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire, tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie [17].

Rappelons que les huiles essentielles sont susceptibles d'entraîner plusieurs types de toxicité:

- Hépatotoxicité ;
- Dermotoxicité (irritations, brûlures, hypersensibilité, phototoxicité) et irritation des muqueuses exposées ;
- Neurotoxicité (dépression ou excitation du système nerveux central, effet stupéfiant, convulsions) ;
- Néphrotoxicité ;
- Effets tératogènes et abortives ;
- Propriétés carcinogéniques ;
- Hypersensibilité.

Les intoxications aiguës et graves restent relativement rares et sont souvent liées à l'ingestion accidentelle des huiles essentielles par de jeunes enfants. La principale toxicité chronique observée en aromathérapie est liée à l'utilisation prolongée d'huiles essentielles phénoliques, dangereuses pour les hépatocytes sur le long terme.

L'hypersensibilité à un ou plusieurs composés volatils se rencontre chez des personnes régulièrement exposées dans le cadre professionnel.

Certaines huiles essentielles, sensibles par leur toxicité ou les usages détournés possibles, sont intégrées au monopole pharmaceutique [18].

I.10 Méthodes d'extractions d'une huile essentielle

I.10.1 Techniques conventionnelles d'extraction

Les méthodes les plus largement utilisées et les mieux adaptées pour obtenir les huiles essentielles les plus pures sont entre autres :

I.10.1.1 Distillation

Les huiles essentielles sont obtenues le plus souvent par distillation qui est une technique de séparation de deux substances liquides miscibles. Le procédé consiste à faire traverser une cuve remplie de plantes aromatiques par de la vapeur d'eau. La vapeur d'eau extrait l'essence de la plante et forme avec elle un mélange gazeux homogène. A la sortie de la cuve et sous pression contrôlée, la vapeur d'eau enrichie d'huile essentielle traverse un serpentin et se condense. Le liquide aboutit dans l'essencier (vase florentin) où l'huile essentielle de densité inférieure à celle de l'eau (<1) flotte sur l'eau de distillation (hydrolat) et se recueille par débordement.

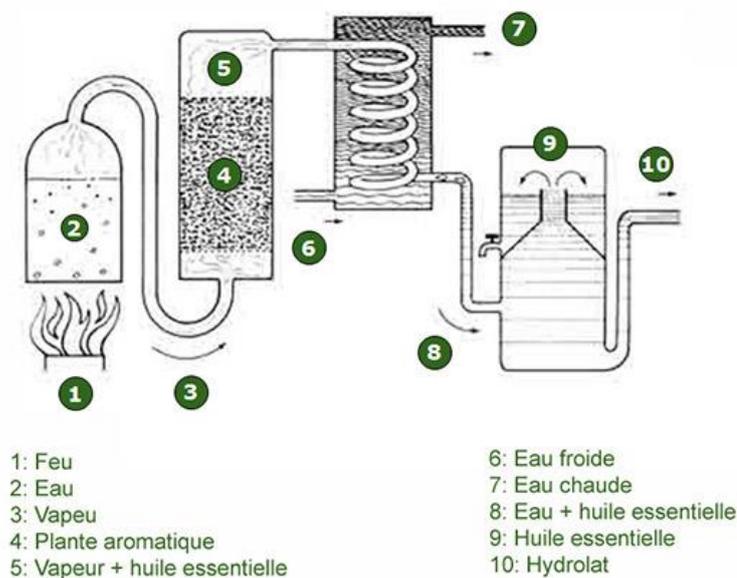


Figure I.3 : Montage de distillation

La distillation est un procédé délicat, exigeant de l'expérience et une surveillance constante [19]. Il existe cependant deux façons de distiller : l'hydrodistillation et la distillation par entraînement à la vapeur.

➤ **Hydro-distillation**

Lorsqu'on utilise cette technique, on fait chauffer un ballon contenant de l'eau ainsi que l'espèce végétale dont on veut récupérer l'huile jusqu'à ébullition. Sous l'effet de la chaleur, les cellules végétales éclatent et libèrent leurs huiles, puis les vapeurs d'eau et d'huile vont s'élever pour atteindre un réfrigérant constitué de deux tubes : le premier dans lequel passe la vapeur pour se liquéfier et le second qui l'entoure et qui dispose d'une entrée et d'une sortie à travers lequel on fait circuler de l'eau à température ambiante en continu pour refroidir.

On peut alors récupérer le distillat dans un récipient tel un Erlenmeyer ou une éprouvette. On obtient deux phases, puisque l'eau et l'huile ne sont pas miscibles. L'huile essentielle apparaît alors sur le dessus car elle est moins dense que l'eau. On peut alors évacuer l'eau [20].

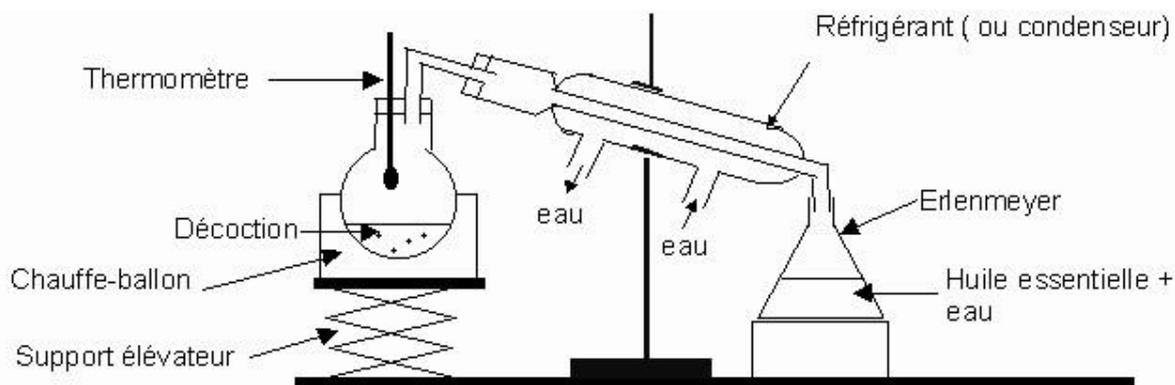


Figure I.4 : Schéma de l'hydrodistillation

➤ *Distillation par entraînement à la vapeur*

La distillation par entraînement à la vapeur d'eau est une technique très ancienne tout comme l'hydrodistillation. Elle consiste à récupérer l'huile essentielle contenue dans les cellules végétales au moyen de la vapeur d'eau. La matière première aromatique naturelle est mise dans un alambic dans lequel est injecté de la vapeur d'eau formée par une chaudière ou un générateur. La vapeur d'eau détruit la structure des cellules végétales pour libérer les molécules odorantes. La vapeur chargée d'huile essentielle est condensée par refroidissement dans un condenseur avant d'être récupérée dans un essencier. L'hydrolat et l'huile essentielle, de densités différentes, se séparent naturellement dans l'essencier.

Cette technique a l'avantage d'être plus efficace que l'hydrodistillation. Elle limite aussi les phénomènes d'hydrolyse de l'huile essentielle. Les huiles essentielles obtenues par ce procédé sont par exemple l'iris, le romarin, le tea tree ou encore le cajepout [21].

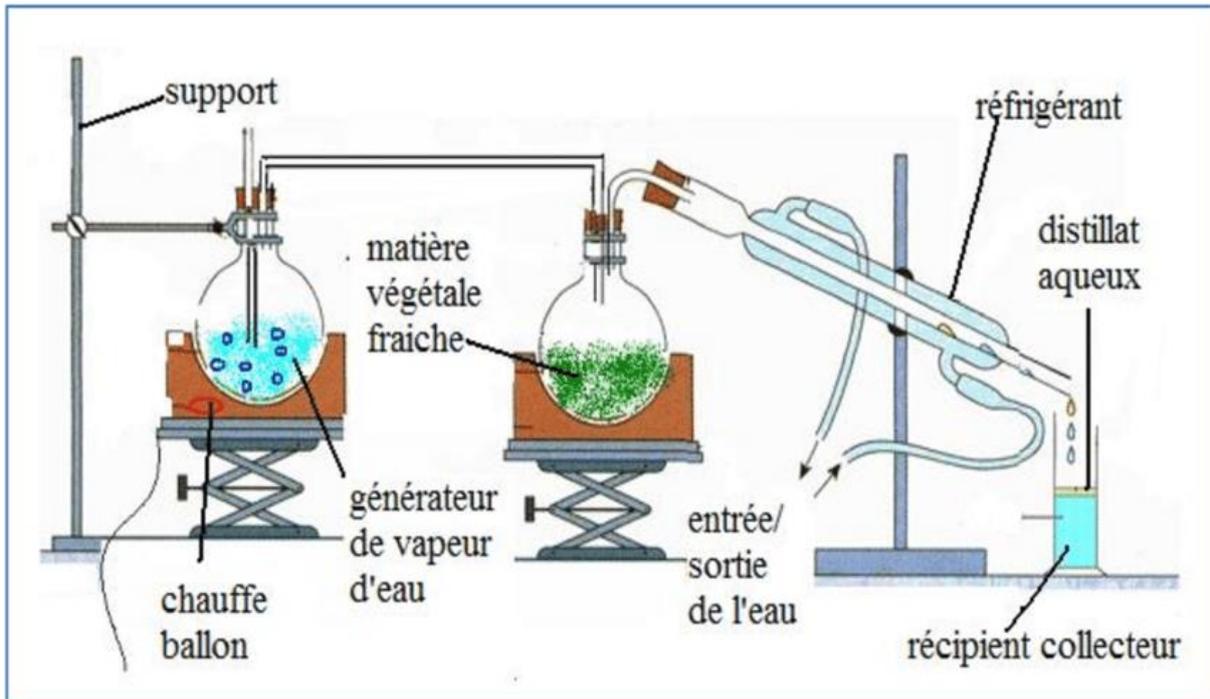


Figure I.5 : Montage distillation par entraînement à la vapeur

I.10.1.2 Extraction au Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première.

Le schéma d'un appareil Soxhlet est représenté sur la figure ci-dessous. Il est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant.

Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à ébullition, les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. Ainsi, le solvant dans le ballon s'enrichit

progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche.

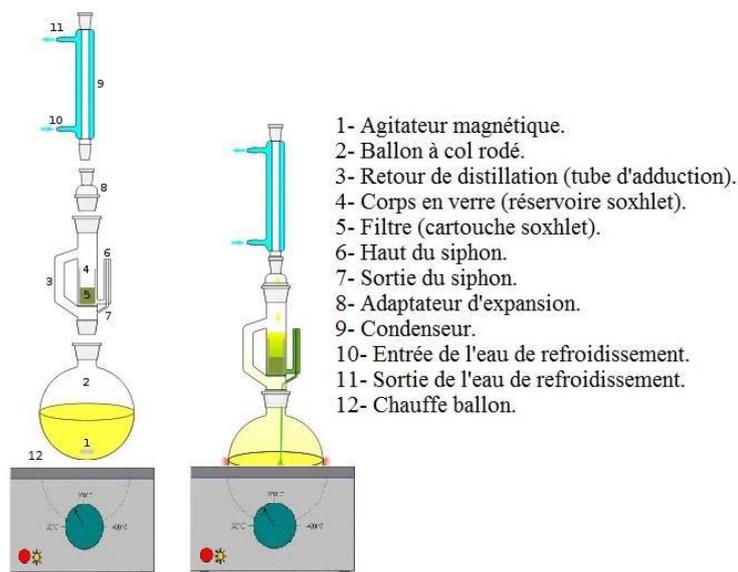


Figure I.6 : Montage de l'extracteur Soxhlet

La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide de l'appareil appelé Rotavapeur représenté dans la figure I.7. Dans cet appareil on réalise une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide.



Figure I.7 : Photo de l'appareil Rotavapeur

L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide [22].

I.10.2 Extraction par des techniques innovantes

Plusieurs méthodes d'extraction vont être décrites ci-après y compris celles par des solvants supercritiques, par ultrasons et enfin par micro-ondes. Ce sont des techniques qui répondent à bon nombre d'exigences actuelles en termes de durabilité, de répétabilité et de respect de l'environnement, de vitesse et d'automatisation [5].

I.10.2.1 Extraction par le CO₂ supercritique (CO₂)

C'est une des méthodes les plus récentes. L'extraction par CO₂ supercritique consiste à envoyer dans une enceinte fermée contenant les plantes un courant de CO₂, qui, par augmentation de pression, fait éclater les « poches à essence » et entraîne les substances aromatiques. Cette méthode d'extraction serait, pour le moment, la plus fiable quant à la qualité de l'essence naturelle. Cependant, la méthode reste relativement coûteuse.

L'originalité de ce procédé d'extraction réside dans le type de solvant employé : le CO₂ supercritique. Au-delà du point critique ($P = 73,8$ bars et $T = 31,1$ °C), le CO₂ possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz, ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction, qui plus est, facilement modulable en jouant sur les conditions de température et de pression. Cette méthode présente énormément d'avantages.

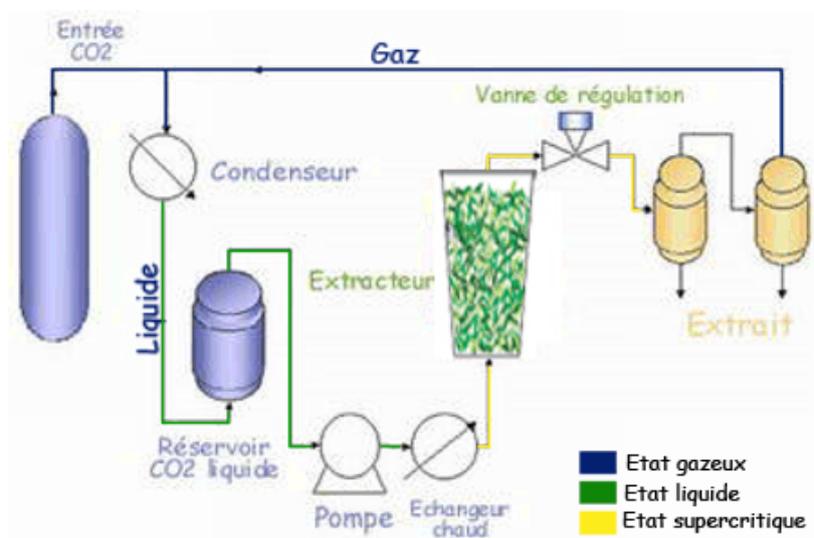


Figure I.8 : Extraction par le CO₂ supercritique

Tout d'abord, le CO₂ supercritique est un solvant idéal puisqu'il est naturel, inerte chimiquement, ininflammable, non toxique, sélectif, aisément disponible et peu coûteux. De plus, il s'élimine facilement de l'extrait sans laisser de résidus. Outre ces avantages, le principal point fort est la bonne qualité de l'extrait, puisqu'aucun réarrangement ne s'opère lors du processus. Son unique désavantage reste le coût très élevé de son installation. En modifiant les conditions de température et de pression, il est possible de rendre l'extraction plus sélective aux composés odorants et ainsi obtenir des extraits de composition tout à fait semblable aux huiles essentielles. Ainsi, la température et la pression à ne pas dépasser pour extraire uniquement les principes volatils est 60°C et 60 bars.

Cette technique est aujourd'hui considérée comme la plus prometteuse car elle fournit des extraits volatils de très haute qualité et qui respecte intégralement l'essence originelle de la plante [23].

I.10.2.2 Extraction par ultrasons

Le matériel végétal est immergé dans un solvant et soumis à l'action des ultrasons. Les ondes sonores provoquent des vibrations mécaniques dans le milieu à travers une succession de phases d'expansion et de compression. Des bulles se forment ainsi (phénomène de cavitation). Au voisinage des parois cellulaires, ces bulles se dégonflent en produisant des micro-jets ultra-rapides de liquide qui provoquent la destruction de ces parois et entraînent la libération des molécules recherchées dans le milieu. Une étape d'élimination du solvant est nécessaire pour récupérer l'huile essentielle [24].



Figure I.9 : Extraction par ultrasons

I.10.2.3 Extraction assistée par micro-ondes

C'est une technique récente développée dans le but d'extraire des produits naturels comparables aux huiles essentielles et aux extraits aromatiques. Dans cette méthode, la plante est chauffée par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle : les molécules volatiles sont entraînées dans le mélange azéotrope formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. Ce chauffage, en vaporisant l'eau contenue dans les glandes oléifères, crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et libère ainsi le contenu en huile comme dans la figure 10.

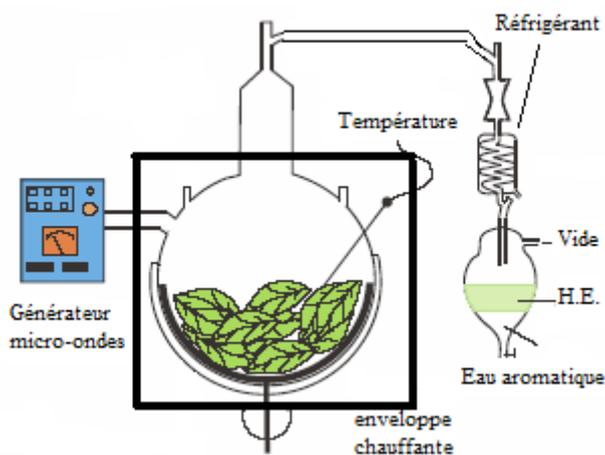


Figure I.10 : Hydrodistillation à micro-onde sous vide

Les utilisateurs de ce procédé lui attribuent certains avantages tels que le temps d'extraction (dix à trente fois plus rapide), l'économie d'énergie et une dégradation thermique réduite [25].

Chapitre II

Le Myrte sauvage

CHAPITRE II :

Le Myrte sauvage

II.1 Historique

Dans la Grèce antique, le myrte était consacré à Aphrodite, déesse de l'amour, et l'on avait continué de parer les jeunes mariées d'une couronne de feuilles de myrte. De même chez les Romains, il était consacré à Vénus, le myrte était le symbole de la victoire, que ce soit au stade ou au sénat, le vainqueur apparaissait coiffé d'une couronne de myrte. Dès le 1^{er} siècle, Dioscoride (médecin grec) indiquait de nombreuses applications médicinales et avait qualifié le myrte d'ami de l'estomac. Aujourd'hui, les feuilles et l'huile essentielle sont largement utilisées notamment en cas d'affection respiratoire [26].

II.2 Définitions et description

Le Myrte sauvage, ou bien *Myrtus communis* L. est le nom grec de «Myrte» et «communis » signifie commun, connu comme une plante médicinale [27].

Le genre *Myrtus* est le type botanique d'une grande famille végétale. La famille des Myrtaceae Jussieu, est la huitième plus grande famille de plantes à fleurs, comptant plus de 140 genres et environ 5 600 espèces [28].

Le myrte commun (*Myrtus communis*), appelé aussi Nerte, évoque le bassin Méditerranéen (Corse, Sicile, Sardaigne...) où il pousse à l'état sauvage dans la garrigue et les bois. Cet arbuste buissonnant au port dressé a pour particularité d'être très odorant, par ses feuilles comme par ses fleurs. Sa croissance est plutôt lente et sa rusticité est limitée à -5°C. Ses feuilles persistantes mesurent jusqu'à 5 cm de long, elles sont vernissées, ovales et opposées. Durant tout l'été, des fleurs blanches solitaires, avec 5 pétales, se forment et au centre de ces fleurs de 2 cm de diamètre environ, une petite touffe d'étamines blanches dépasse. Elles sont très appréciées des abeilles, elles laisseront place ensuite à des baies pourpre-noires n'excédant pas 1 cm de long, de forme oblongue, que les oiseaux mangeront [29].



Figure II.1 : *Myrtus communis* [29].

II.3 Classification

La classification botanique de *Myrtus communis* est la suivante [30] :

- **Règne :** Plantae
- **Sous-règne :** Tracheobionta
- **Division :** Magnoliophyta
- **Classe :** Dicotylédones
- **Ordre :** Myrtales
- **Famille :** Myrtaceae
- **Genre :** Myrtus
- **Espèce :** *Myrtus communis* L.

II.4 Noms vernaculaires

Le myrte commun est connu sous différentes dénominations selon les pays [30]:

- **Français :** Myrte commun.
- **Anglais :** Common myrtle, Greek myrtle, myrtle, sweet myrtle.
- **Arabe :** Arrayan, A'as, rihan أس, الريحان
- **Berbère :** Tarihant, Chilmoune
- **Corse :** Morta, mortula
- **Espagnol :** Arrayan, mirto, mortella, mortin
- **Italien :** Mirto.
- **Allemand :** Braut-Myrte, Brautmyrte

II.5 Description botanique

La floraison débute à partir des mois de Mai - Juin et peut aller jusqu'au mois d'Août sous la forme de fleurs blanches solitaires très odorantes à l'aisselle des feuilles [31-32] (voir **figure II.2**). Cette floraison donne suite à un fruit charnu ovaire, une baie, de couleur blanche ou noir bleuâtre au stade de maturité qui est atteint dans les environs du mois d'Octobre jusqu'à Février [33].

Le fruit contient des graines réniformes, luisantes, de saveur résineuse, son goût est astringent et prononcé [31]. Toutes les parties de la plante contiennent des poches schizogènes à huile essentielle, responsables de son odeur suave [34].



Figure II.2 : Photographies des différentes parties aériennes de *Myrtus communis* L :

A : feuilles, **B:** fleurs et **C :** fruits [34].

II.6 Types de Myrte

Il existe quatre types du myrte :

- **Myrte vert:** C'est la seule espèce endémique de la famille des myrtacées. Le myrte vert est un arbuste de 2 à 3 mètres de haut, ses feuilles sont de couleur verte, persistantes et aromatiques.
- **Myrte rouge:** C'est un petit arbre dont les feuilles sont de couleur rouge, avec un fruit d'une couleur différente de celle du myrte vert, il se trouve généralement en Tunisie, Maroc, Espagne...
- **Myrte citronné:** Originaire des forêts côtières de l'est de l'Australie, ses feuilles sont très odorantes et sentent le citron.
- **Myrte commun à pinènes :** C'est une plante très aromatique qui contient des composés mono-terpéniques (α -pinène 55%), ce qui lui confère un très grand pouvoir aromatique [26].

La figure II.3 illustre les différents types de myrte.



Figure II.3 : Les différents types du myrte [26].

II.7 Distribution géographique

Le genre *Myrtus* est le seul genre qui soit indigène en Méditerranée et au Sahara (voir **figure II.4**). Au sein de cette famille d'affinité tropicale, *Myrtus communis* L. a une distribution circum-méditerranéenne, puisqu'il s'étend en Macaronésie (Açores et Madère), mais aussi en zone irano-touranienne (montagnes de l'Alborz, du Zagros et région de Kerman en Iran), et même, peut-être, en Asie (en Afghanistan voire au Pakistan) (voir **Figure II.4**). En Algérie, il pousse spontanément sur l'Atlas tellien et les régions côtières d'Alger et de Constantine, où il est connu sous le nom de «rihan» ou «mersin». D'innombrables variétés de myrtes ont été décrites par de nombreux botanistes. Cependant, cela reflète plus le polymorphisme foliaire du myrte commun, que sa phylogénie. Ainsi, il n'existe officiellement qu'un seul autre taxon au sein du genre *Myrtus* : il s'agit du myrte de Nivelles ou *Myrtus nivellei* [28].

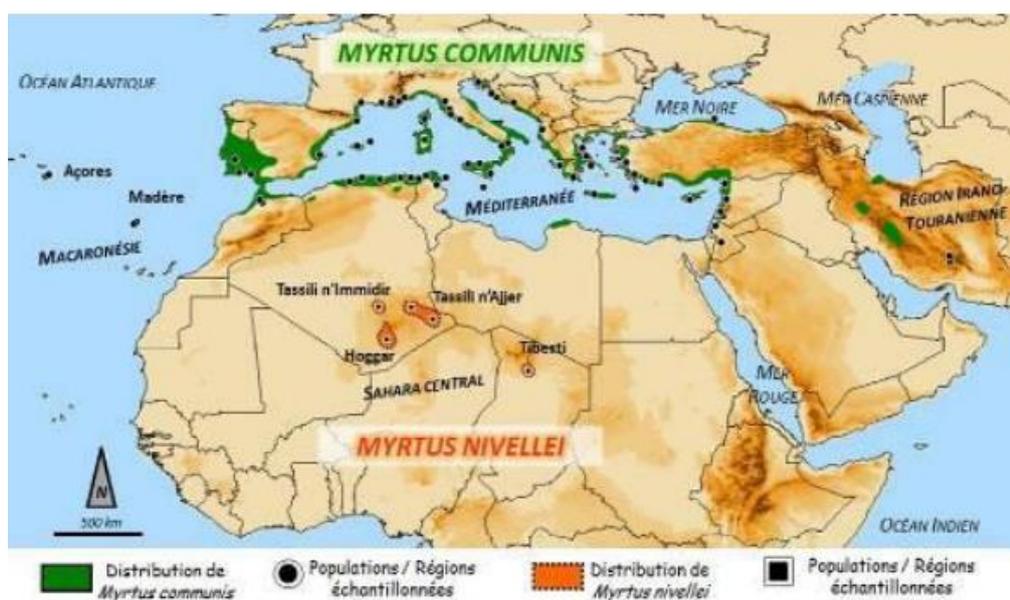


Figure II.4 : Distribution du genre *Myrtus* [28].

II.8 Utilisations

Les myrtes sont exploités de différentes manières et leur utilisation peut être culinaire comme médicinale, industrielle ou encore traditionnelle [35].

II.8.1 Utilisations traditionnelles et indications

Les bienfaits du myrte dépassent largement la senteur agréable qu'il dégage par les feuilles. Il est doté d'un pouvoir préventif et curatif qui lui donne de la valeur bien qu'il est méconnu.

Cet arbuste typique de la flore méditerranéenne est employé dans la pharmacopée traditionnelle pour ses vertus tonique et stimulantes.

En Turquie, l'HE de feuilles est utilisée par voie cutanée pour traiter les paralysies et les douleurs, et par voie orale pour traiter le diabète. Les feuilles sont utilisées en décoction pour traiter les affections de la prostate.

En Tunisie, les feuilles sont aussi utilisées en décoction pour traiter les douleurs dentaires et comme adoucissant.

En Iran, les feuilles et les racines sont utilisées en décoction concentrée pour traiter les problèmes gynécologiques, comme tonique de l'estomac et aussi cette décoction est utilisée pour soulager les douleurs musculaires et articulaires.

En Cerce, le myrte occupe une place très importante, il est utilisé pour le traitement des diarrhées et des troubles gastriques. C'est l'infusion de feuilles à base de fruits qui est recommandée. L'eau florale de plante est appelée l'eau d'ange et est utilisée par les femmes comme une lotion pour redonner de l'éclat et de la fraîcheur aux peaux.

En Maroc, les décoctions et infusion de feuilles sont utilisées pour le traitement du diabète et pour le traitement de l'hypertension artérielle. Il est utilisé comme antiseptique, contre les troubles gastro-intestinaux et comme anti-diarrhéique [36].

En Algérie, les feuilles de *Myrtus communis L.* sont utilisées comme remède contre les affections des voies respiratoires. Les préparations à base de plantes sont préconisées contre les bronchites, les sinusites, les otites, les diarrhées et les hémorroïdes. Les fruits constituent un remède contre la dysenterie, l'entérite et les hémorragies [37]. Le myrte est connu en Algérie pour ses propriétés anti-inflammatoires et hypoglycémiantes [38].

II.8.2 Utilisation industrielle

De nos jours, le myrte est devenu un produit qui pourrait être qualifié d'identitaire. Il va permettre dans différents domaines, que ce soit l'alimentation ou la cosmétique, de donner un caractère identitaire au produit. C'est pour ces raisons que l'on retrouve en plus de la traditionnelle liqueur de myrte, des cosmétiques à base de myrte, mais également des produits alimentaires tels que pâtés, bières, etc... aromatisés au myrte [39].

Les différentes parties de la plante considérablement concentrée sont utilisées dans l'industrie alimentaire, comme pour la viande et les sauces [40].

II.9 Huile essentielle de Myrte sauvage

La composition chimique de l'huile essentielle de myrte a fait l'objet de nombreuses études. Dans ce qui suit, nous présenterons quelques travaux bibliographiques reliés à la composition chimique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. de plusieurs origines et une synthèse bibliographique concernant les activités biologiques de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L.

II.9.1 Composition chimique de l'huile essentielle de Myrte sauvage

Une caractéristique frappante de la plante est l'odeur agréable de son huile essentielle, présente dans de nombreuses glandes, en particulier dans les feuilles. Les principaux composés responsables de la saveur et de l'odeur de l'huile de myrte sont les monoterpènes : 1,8-cinéol ($C_{10}H_{18}O$), acétate de myrte ($C_{12}H_{18}O_2$), α -pinène ($C_{10}H_{16}$), myrténol ($C_{10}H_{16}O$), limonène ($C_{10}H_{16}$), ...etc. [41].

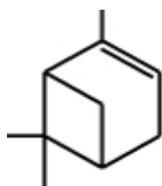


Figure II.5 : α -pinène

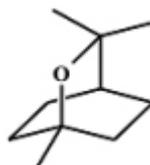


Figure II.6 : 1,8-cineol

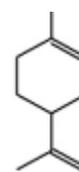


Figure II.7 : limonène

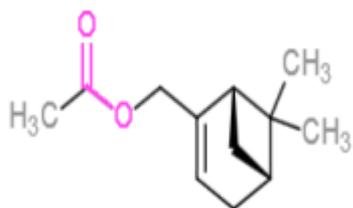


Figure II.8 : Acétate de myrtényle

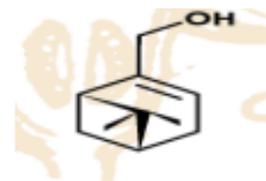


Figure II.9 : Myrténol

Les composés majoritaires varient selon le lieu de récolte, mais généralement les composés les plus rencontrés sont : myrtényl acétate, 1,8-cinéol, α -pinène, linalol, β -pinène, (E)- β -ocimène, géranyle acétate, acétate de linalyle et α -terpinéol. Ces composés sont accompagnés d'autres constituants à des teneurs relativement faibles. Ces différences peuvent être dues à certains facteurs écologiques et environnementaux, mais aussi à d'autres facteurs tels que : partie de la plante utilisée, l'âge et la période du cycle végétatif, la méthode du séchage des échantillons et des facteurs génétiques [42].

Le tableau II.1 illustre quelques travaux réalisés concernant les pourcentages des composants de l'huile essentielle des feuilles de myrte dans 3 pays par [43-45].

Tableau II.1 : Pourcentages des composants de l'huile essentielle des feuilles de myrte dans 3 pays.

COMPOSANTS	POURCENTAGES %		
	MAROC	IRAN	GRECE
1,8-cineol	43.1	26.91	13.5
α -pinène	10	22.02	10.9
Acétate de myrtényle	25	-	39
Linalol	-	12.74	7.7
Acétate de linalyle	-	8.64	-
α -terpinéol	-	8.29	-
Monoterpènes oxygénés	82.8	71.43	70.1 - 73.2

En Algérie, les huiles essentielles de feuilles de myrte de Chlef extraites en pleine floraison ont été analysées par **Hennia et al.** [46] et les huiles essentielles de feuilles du myrte

de Tlemcen par **Bekhechi et al.**[47] dont les pourcentages des composés majoritaires sont représentés dans le tableau II.2.

Tableau II.2 : Pourcentages des composants de l'huile essentielle des feuilles de myrte dans 2 régions d'Algérie [46, 47].

COMPOSANTS	POURCENTAGES %	
	Chlef	Tlemcen
1,8-cineol	6.6	36.8
α-pinène	10.7	31.3
Linalol	15.4	-
Acétate de linalyle	8.2	-
Limonène	23.4	11.1
Acétate de gèranyle	10.9	-

L'étude menée par **Aidi Wannès et al.**, rapporte aussi de fortes fluctuations dans la composition chimique des huiles essentielles obtenues des différentes parties de *Myrtus communis* var. *italica* durant tout le cycle végétatif dont les pourcentages des composants seront représentés dans le **tableau II.3** [28].

Tableau II.3 : Pourcentages des composants des huiles essentielles obtenues à partir des différentes parties de myrte [28].

COMPOSANTS	POURCENTAGES %		
	Feuilles	Fruits	Tige
1,8-cineol	12.7 – 30.7	7.3 – 44.9	21 – 52.4
α-pinène	28.3 – 58	1.2 – 12.6	1.5 – 16.1
Limonène	0.1 – 13.3	-	-
Linalol	2.4 – 21.5	0.7 – 18.9	3.1 – 18.4
Acétate de geranyle	-	1.8 – 20.5	-

II.9.2 Activités biologiques de l'huile essentielle de Myrte sauvage

La richesse des plantes aromatiques et médicinales en composés chimiques et en métabolites secondaires tels que les polyphénols et huiles essentielles, leur confère des propriétés biologiques importantes. C'est le cas de *Myrtus communis* L. qui a des effets biologiques très intéressants grâce à sa richesse en ces composés [34].

II.9.2.1 Activités antibactériennes

Les activités antimicrobiennes de l'HE de myrte ont été décrites aussi bien sur les bactéries que sur les champignons. Elle est variable selon la composition chimique, les méthodes utilisées et les souches utilisées.

De nombreuses recherches ont évalué l'activité antibactérienne qui a montré différents degrés de l'activité sur les grams positives et les grams négatives. Ces études ont montré que les bactéries grams positives se sont révélées plus sensibles que les bactéries grams négatives.

Les souches bactériennes testées sont généralement : *Staphylocoques aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudo monasaeruginosa*, *entérobactérie cloacter* [36].

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle du myrte d'Algérie, dont l'origine est indéterminée, a été également testée sur cinq souches: *E. coli* ATCC 10536, *Salmonella*, *S. aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria*. Des valeurs de diamètres d'inhibition plus élevées ont été notées vis-à-vis de *E. coli* (15 mm), et *Salmonella sp.* (14 mm). Cependant, les souches bactériennes *S. aureus*, *B. subtilis* et *Listeria sp* se sont montrées moins sensibles à l'action de l'huile essentielle de *Myrtus communis* [48].

II.9.2.2 Activités antifongiques

Les déficits immunitaires constitutionnels font référence à différents types d'infections fongiques cutanées, muqueuses ou viscérales. Les agents pathogènes fongiques sont des organismes eucaryotes, difficiles à distinguer des cellules du système immunitaire. L'incidence croissante des infections fongiques a poussé à rechercher de nouveaux agents antifongiques qui sont moins toxiques et moins générateurs de résistance que les antifongiques de synthèse.

Les huiles essentielles constituent une source intéressante pour la recherche de nouveaux agents antifongiques, particulièrement par les études de synergie avec les drogues de synthèse. L'huile essentielle de *Myrtus communis* est connue pour son action désinfectante et antiseptique [32].

En plus de l'activité antibactérienne, des études (réalisées in vitro et in vivo) ont prouvé que l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. possède des propriétés antifongiques contre un certain nombre de champignons. **Hmiri et al.** [49] dans leur étude, ont montré que les huiles essentielles de myrte ont permis d'inhiber complètement la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* et *Penicillium expansum* à des concentrations supérieures à 400, 600 et 1800 µl/l, respectivement. C'est *P. expansum* qui a présenté la plus forte résistance à l'effet inhibiteur de l'huile essentielle testée ; il a été suivi par *A. alternata* qui a montré une résistance intermédiaire, enfin *B. cinerea* a été le plus sensible (voir **tableau II.4**) [49].

Tableau II.4 : Pourcentage d'inhibition de la croissance d'*Alternaria alternata*, *Penicillium expansum* et *Botrytis cinerea* traités avec différentes concentrations de l'huile essentielle de *Myrtus communis*.

Concentration (µl/l)	Pourcentage d'inhibition (%)		
	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Penicillium expansum</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
100	4.16	6.25	10.41
156	33.33	41.66	58.33
300	75	70.83	97.91
400	87.5	75	100
600	95.83	83.33	100
800	95.53	87.5	100
1000	95.53	89.58	100
1200	95.53	91.66	100
1800	95.53	104.16	100

II.9.2.3 Activités anti-inflammatoires

D'après **Bengmark S.** [50], l'inflammation est la réponse immunitaire de l'organisme à une agression par des agents pro-inflammatoires d'origine virale, bactérienne ou autre (les lipoprotéines oxydées, les marqueurs du stress oxydant). L'inflammation est précisément régulée afin de limiter les altérations des biomolécules de l'hôte. Cependant, une régulation inappropriée de ce phénomène peut conduire à un état inflammatoire chronique.

Les anti-inflammatoires sont classés en stéroïdiens (médicaments composés de molécules stéroïdiennes telles que les corticoïdes, les gluco-corticostéroïdes et ses dérivés), et en non stéroïdiens (pyrazolés, molécules diverses comme l'aspirine, les oxycams, les dérivés carboxyliques et indoliques) [51].

Les propriétés anti-inflammatoires et analgésiques de l'huile essentielle de *Myrtus communis* ont été évaluées «in vivo» [52].

II.9.2.4 D'autres activités

Le *Myrtus communis* L. est une espèce méditerranéenne inscrite à la pharmacopée européenne, utilisé aussi pour ses propriétés anti-acnéiques, anti-virucides, anti-aphtes, anti-spasmodiques, astringentes, anti-parasitaires, et anti-hyperglycémiantes.

L'huile essentielle de myrte présente aussi des propriétés sédatives et calmantes. Elle convient aux sujets stressés s'endormant difficilement [36].

Chapitre III

Matériel et méthodes

CHAPITRE III : **Matériel et méthodes**

Ce chapitre est constitué de deux parties essentielles, où la première a pour but de présenter le matériel, produits et méthodes utilisés pour extraire l'huile essentielle contenue dans les feuilles du *Myrtus Communis L.*, ainsi que la caractérisation physicochimique de l'huile extraite. La deuxième partie sera dédiée à l'évaluation de l'effet antifongique de l'huile essentielle extraite du Myrte.

PARTIE I : Extraction de l'huile essentielle et étude physicochimique

III.1.1 Matière végétale

La plante qui a fait l'objet de cette étude (*Myrtus Communis*) a été collectée, dans la région de Héliopolis, une commune située à 5 km de la wilaya de Guelma (Algérie). La partie de la plante représentée par les Feuilles a été utilisée sèche et fraîche.

- **Les feuilles sèches** : Récoltées en Avril 2022, ont été séchées à l'air libre dans un endroit sec, à l'abri de la lumière, pendant une durée de 20 jours (voir **Figure III.1**).
- **Les feuilles fraîches** : Triées et utilisées 4 jours après la récolte, qui a eu lieu aussi en Avril 2022 (voir **Figure III.1**).



a) Feuilles sèches



b) Feuilles fraîches

Figure III.1 : Matières végétales utilisées

III.1.2 Matériel et produits chimiques

Le tableau ci-dessous illustre le matériel et les produits chimiques utilisés lors de ce travail.

Tableau III.1 : Matériel et produits utilisés

MATERIELS	PRODUITS
Un ballon	Eau distillée
Un réfrigérant	Chlorure de sodium (NaCl)
Une ampoule à décantation	Cyclohexane
Tubes en verre	Hydroxyde de potassium (KOH)
Une balance	Ethanol
Pipette en verre	Indicateur coloré (phénol phtaléine)
Erlenmeyer	Chloroforme
Burette	
Cuve à éluant	
Agitateur magnétique	

III.1.3 Extraction des huiles essentielles

Dans ce travail, l'extraction de l'huile essentielle de Myrte s'est effectuée par deux méthodes d'extraction à peu près du même genre à savoir : la méthode d'hydrodistillation du tube simple et celle du tube Clevenger, afin de comparer le rendement des deux procédés d'extraction.

III.1.3.1 Extraction par hydrodistillation du tube simple

- **Principe**

Le principe d'hydrodistillation consiste à submerger dans un ballon en verre rempli d'eau distillée, une quantité fractionnée de la matière végétale de l'espèce utilisée contenant la substance volatile, le tout est porté à ébullition pendant des heures. Ainsi, les espèces chimiques à extraire se vaporisent et seront entraînées vers le réfrigérant, où ils subiront une condensation donnant naissance à deux phases : Une phase organique et une phase aqueuse. Ces deux dernières seront séparées par décantation.



Figure III.2 : Montage d'hydrodistillation du tube simple.

- **Mode opératoire**

- Introduire une quantité suffisante de matériel végétal (feuilles de myrte sèches ou fraîches) dans un ballon en verre ;
- Ajouter une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements à l'ébullition ;
- A l'aide d'un chauffe ballon, le mélange est porté à ébullition ;
- Lors du chauffage, l'huile essentielle se vaporise en même temps que l'eau et est entraînée par la vapeur d'eau vers le réfrigérant, où elle se condense ainsi que l'eau au contact des parois froides du réfrigérant ;
- Les vapeurs qui se sont condensées chutent dans un erlenmeyer ou bécher ;
- La solution obtenue est appelée distillat qui contient deux phases : une phase aqueuse (eau aromatique) et une phase organique (huile essentielle), moins dense que l'eau ;
- Ainsi, les deux phases seront séparées par décantation ;

Pour la décantation :

- Prendre une quantité de NaCl égale à la quantité de matière végétale prise pour l'extraction et la verser dans le bécher contenant le distillat ;
- Ajouter dans le bécher une quantité de cyclohexane qui correspond à la moitié de la quantité de matière végétale prise pour l'extraction ;
- A l'aide d'un agitateur magnétique, agiter bien le tout ;

- Puis verser le mélange dans une ampoule à décanter et laisser reposer pendant quelques minutes ;
- Ensuite, séparer l'eau de l'huile et récupérer l'huile dans un tube en verre.

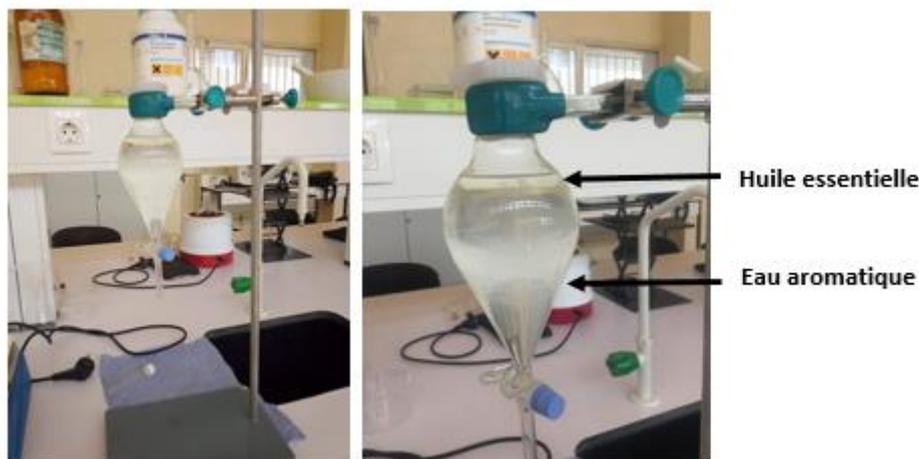


Figure III.3 : Ampoule à décanter.

III.1.3.2 Extraction par hydrodistillation du tube Clevenger

Le montage Clevenger est désigné par le nom de son inventeur, Joseph Franklin Clevenger. Cet appareil permet l'extraction d'huiles essentielles à partir d'échantillons de plantes.

Cette partie du travail, a été réalisée au niveau des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers (SNV & STU) de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma.

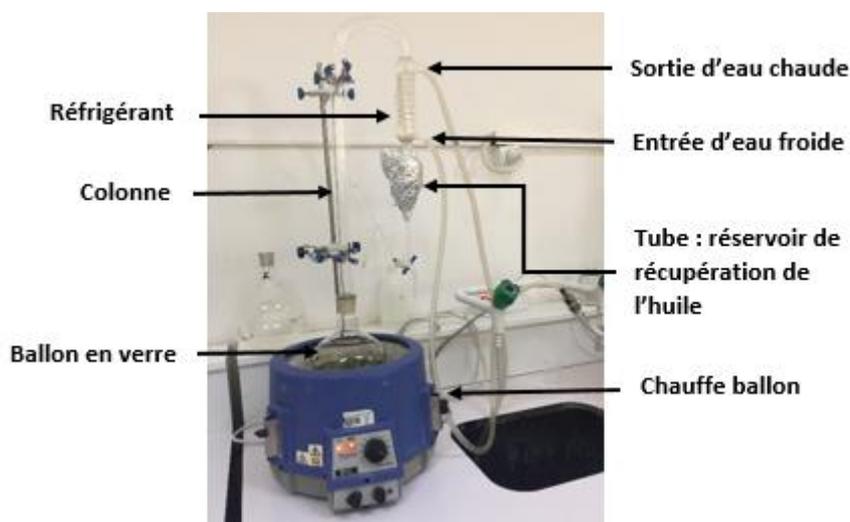


Figure III.4 : Dispositif de Clevenger

- **Mode opératoire**

Cette méthode a le même principe que celle d'hydrodistillation du tube simple mais ici les vapeurs se condensent après leurs passages dans les parois froides du réfrigérant ;

- Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube (réservoir de récupération de l'huile) rempli au préalable d'eau distillée ;
- En raison de la différence de densités, l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau et est ensuite séparée de l'eau (voir **figure III.5**).

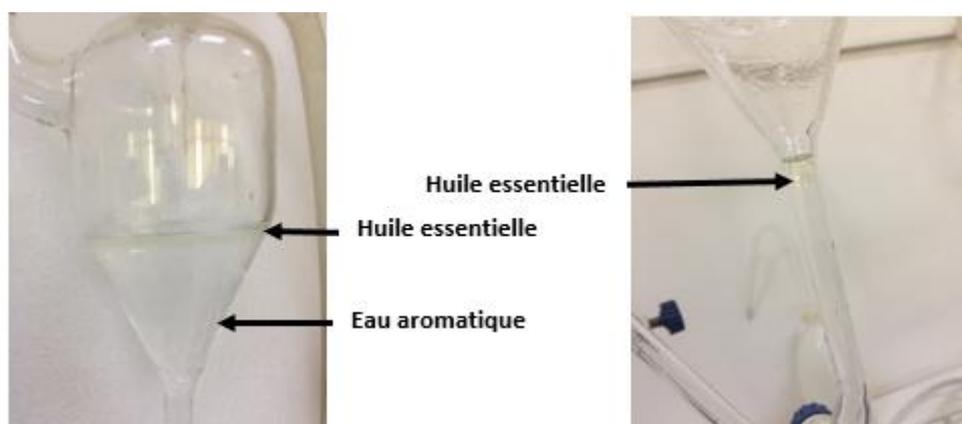


Figure III.5 : Huile obtenue après l'extraction.

III.1.4 Conservation des huiles essentielles

Les essences directement issues des plantes contiennent certaines molécules actives, qu'il convient de conserver avec précaution. Ainsi, les huiles essentielles obtenues dans ce travail ont été conservées à l'abri de :

- **La lumière** : Etant donné que les huiles essentielles peuvent être altérées par les rayons ultraviolets du soleil. Elles ont été conservées dans un tube en verre de couleur sombre.
- **L'air/oxygène** : Pour éviter l'oxydation et la volatilisation de l'huile, le tube en verre est fermé hermétiquement.
- **La chaleur** : En raison de leur nature inflammable, elles sont stockées à une température entre 4°C -8°C jusqu'à l'utilisation.

III.1.5 Rendement des huiles essentielles

Exprimé en pourcentage, le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction et celle de la matière végétale sèche ou fraîche initialement utilisée selon (AFNOR 2000) [53].

Il est calculé par la formule suivante :

$$R_{HE} = [M_{HE}/M_{mv}] \times 100$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage (%)

M_{HE} : masse de l'huile essentielle exprimée en gramme (g)

M_{mv} : masse de la matière végétale sèche ou fraîche de la plante utilisée exprimée en gramme (g)

III.1.6 Caractérisation de l'huile essentielle

III.1.6.1 Caractéristiques organoleptiques

Chaque huile essentielle extraite est caractérisée par ces propriétés organoleptiques à savoir : l'odeur, l'aspect et la couleur. Autrefois, ces dernières permettaient d'apprécier la qualité d'une huile essentielle.

III.1.6.2 Caractéristiques physico-chimiques

Etant donné que les propriétés organoleptiques ne donnent que des informations très limitées sur les HE, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques.

III.1.6.2.1 Indice d'acide

Sans unité, l'indice d'acide noté I_A , est défini comme le nombre de milligrammes (mg) de l'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour doser les acides gras libres contenus dans 1g d'huile essentielle. La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps, l'indice d'acide permet donc de juger de leur état de détérioration [6].

• Mode opératoire

- Préparation de la solution de KOH : 11.22g de KOH est versé dans une fiole de 200 ml contenant 60 ml d'eau distillée ; agiter bien puis y ajouter de l'eau jusqu'au trait jauge ;
- Peser 0,2 g d'huile essentielle extraite et les dissoudre dans 5 ml d'éthanol ;

- Ajouter, comme indicateur coloré, 3 gouttes de phénol phtaléine ;
- Neutraliser le liquide avec la solution de KOH (0,1N) contenu dans une burette ;
- Poursuivre l'ajout jusqu'à ce que la solution vire au rose (voir **Figure III.6**) ;
- Ensuite, noter le volume de la solution de KOH utilisé.

L'indice d'acide est calculé par la formule suivante :

$$I_A = (56,1 \times V \times N) / M_{HE}$$

Avec : **V** : Volume de réactif titrant KOH exprimé en millilitre (ml)

M_{HE} : masse de l'huile essentielle utilisée exprimée en gramme (g)

N : normalité de la solution de KOH

56,1 : masse de KOH.



Figure III.6 : avant le changement de couleur et après le changement de couleur.

III.1.6.2.2 Indice de réfraction

Noté I^T , l'indice de réfraction d'une huile essentielle est défini comme le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'échantillon à analyser, maintenue à une température constante. Dans notre cas, on cherche à déterminer I^T de l'HE de Myrte. Cet indice est mesuré au laboratoire à l'aide d'un réfractomètre.

Le réfractomètre : Est un instrument optique servant à déterminer l'indice de réfraction d'une substance, c'est-à-dire la mesure dans laquelle la lumière est déviée en traversant la substance (voir **figure III.7**) [54].



Figure III.7 : Réfractomètre d'Abbe

- **Mode opératoire**

- Diriger l'appareil (le réfractomètre) vers la lumière ;
- Relever le prisme mobile d'éclairage et nettoyer soigneusement les deux faces de verre apparent ;
- A l'aide d'une pipette en verre, déposer quelques gouttes de l'huile essentielle de myrte obtenue sur la face horizontale du prisme de référence sans que la pipette en verre ne soit en contact avec le prisme ;
- Refermer et bloquer avec la molète de gauche ;
- Ensuite, avec la molète de droite, faire un bel horizon entre la partie lumineuse supérieure et la partie sombre inférieure ;
- Régler l'horizon avec la molète du haut et avec la moleté du bas, décoller l'horizon et l'amener au centre de la croix ;
- Une fois cela est fait, lire sur l'échelle du bas l'indice de réfraction de l'huile essentielle de myrte.

- **Méthode de calcul**

A la température de référence de 20 °C, l'indice de réfraction est calculé par la formule suivante :

$$I^{20} = I^T + 0,0003 (T - 20^{\circ}\text{C})$$

Avec : I^{20} : Indice de réfraction à 20°C.

I^T : Indice de réfraction à la température de mesure.

T : Température de mesure.

III.1.6.2.3 Détermination du potentiel d'hydrogène (pH)

Sans unité, le potentiel d'hydrogène noté pH est une grandeur qui permet de mesurer l'activité chimique de l'ion hydrogène dans une solution. D'autre part, le pH indique le degré d'acidité ou de basicité d'une solution, c'est-à-dire si la solution est acide, basique ou neutre.

- **Mode opératoire**

En raison de l'insuffisance d'huile essentielle obtenue, le pH de cette dernière est mesuré à l'aide d'un papier pH au lieu d'un pH-mètre qui aurait permis d'obtenir des résultats plus précis. Pour cela :

- Prendre une bande de papier pH et la placer sur le carreau blanc ;
- En utilisant une pipette, déposer quelques gouttes d'huile essentielle de myrte sur le papier pH ;
- Observer la couleur produite sur le papier et comparer la avec les différentes nuances de couleurs de référence qui varient selon le pH (voir **figure III.8**) ;
- Ensuite, noter la valeur du pH correspondant.

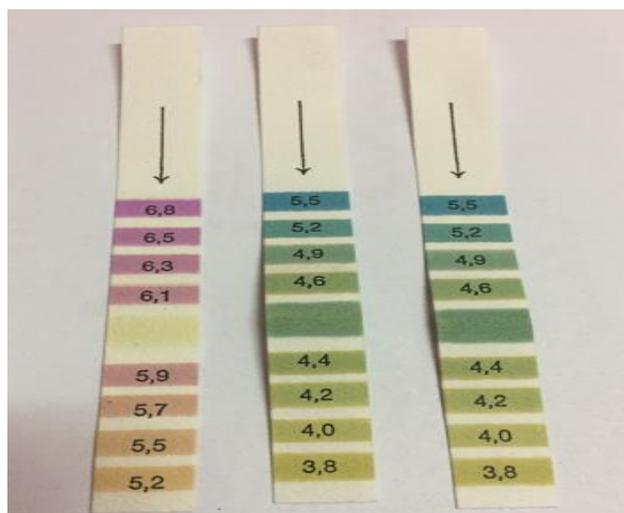


Figure III.8 : La gamme de couleur selon le pH.

III.1.7 Analyse chromatographique

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique utilisée pour séparer et identifier les composants d'un mélange en fonction de leur solubilité. C'est-à-dire la CCM est une technique d'analyse de substances chimiques qui permet de :

- Dire si cette dernière est un corps pur ou un mélange,
- Déterminer quelle espèce chimique est présente dans la substance.

- **Principe**

Le principe de la CCM consiste à placer une tâche sur une feuille (papier, silice ou autre, voir plus loin) appelé phase stationnaire et de la laisser éluer en la trempant dans un solvant ou un mélange de solvant (appelé éluant) qui est la phase mobile. L'éluant diffuse le long du support. La tâche migre sur la feuille plus ou moins vite selon la nature des interactions qu'elle subit de la part du support et de l'éluant [55].

- **Mode opératoire**

- Avec un crayon, tracer de manière très légère une ligne à 1,5cm du bord (appelé ligne de dépôt) de la plaque de CCM recouverte de gel de silice (phase stationnaire) ;
- A l'aide d'une pipette, déposer une goutte d'huile essentielle sur la ligne de dépôt ;
- Verser dans une cuve à éluant le solvant (cyclohexane) à une hauteur à peu près de 1 cm et recouvrir la cuve pour éviter l'échappement du gaz de l'éluant ;
- Introduire la plaque de CCM dans la cuve à éluant avec précaution et en s'assurant que l'éluant est en dessous de la ligne de dépôt ;
- Recouvrir la cuve pour éviter l'échappement du gaz du solvant et laisser éluer ;
- Par capillarité l'éluant va monter le long de la plaque en emportant avec lui l'échantillon ;
- Retirer la plaque de la cuve et tracer une ligne où l'éluant s'est arrêté (le front de l'éluant).

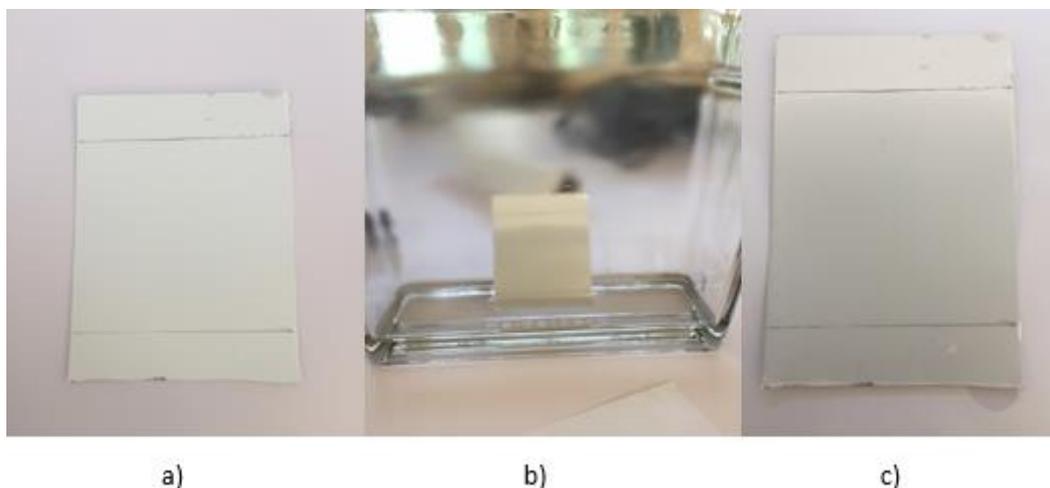


Figure III.9 : Les étapes de la chromatographie sur couche mince CCM.

- a) La plaque de CCM
- b) La plaque déposée dans la cuve contenant le solvant
- c) La plaque après diffusion du solvant

Il arrive parfois que les tâches ne soient pas visibles donc il faut mettre la plaque sous une lampe à ultraviolet avec la longueur d'onde : 254 nm (voir **figure III.10**) de façon à rendre les tâches plus visibles.



Figure III.10 : Lampe UV

- **Analyse de la plaque de la CCM**

Avec la hauteur atteinte par les tâches et celle atteinte par l'éluant, le rapport frontal R_f qui est défini comme étant le rapport de la distance parcourue par le composé divisé par la distance parcourue par l'éluant peut être calculé :

$$R_f = d / D$$

Avec : **d** : La distance entre la ligne de dépôt et le centre de la tâche,

D : la distance entre la ligne de dépôt et le front du solvant.

III.1.8 Analyses spectroscopiques

III.1.8.1 Spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF)

La spectroscopie infrarouge est une méthode d'analyse qualitative et quantitative qui permet d'identifier et de caractériser les différents pics correspondants aux groupements fonctionnels présents dans un échantillon à étudier.

Pour identifier les liaisons de vibration existant dans la matière organique, on fait une comparaison entre les bandes de vibration de nos spectres IRTF et celles rapportées dans la littérature.

Dans notre étude, l'analyse par spectroscopie infrarouge a été réalisée en mode ATR à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier de type Perkin Elmer Spectrum One (voir **figure III.11**) [15]. L'analyse se fait en mode ATR avec une vitesse de résolution de $4 \text{ cm}^{-1} / \text{min}$ et une cumulation de 16 scans.



Figure III.11 : Spectromètre infrarouge

- **Mode opératoire**

- L'équipement a été calibré, après le nettoyage de la zone de dépôt par le Chloroforme afin d'éliminer tous traces de l'échantillon précédent ;
- Verser une goutte d'huile essentielle entre deux pastilles de KBR et placer les dans le porte échantillon ;
- Fixer ce dernier avec précaution dans le spectromètre de l'infrarouge ;
- Le test est piloté par ordinateur pour permettre l'analyse statistique des données spectrales.

III.1.8.2 Spectroscopie UV-visible

La spectroscopie UV-Visible est une méthode d'analyse et d'identification des espèces chimiques, en particulier la nature des liaisons présentes au sein de l'échantillon. L'absorption dans le domaine UV-visible est due au passage d'un niveau électronique à un autre d'énergie supérieure avec changement des niveaux de vibration et de rotation ; au cours de ce processus, un électron passe d'une orbitale moléculaire à une autre d'énergie supérieure.

L'analyse par spectroscopie UV-Visible a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre de type LANGE DR 6000 (voir **figure III.12**), avec une vitesse de 2nm/min et le spectre a été enregistré dans la zone allant de 190 nm à 400 nm.



Figure III.12 : Spectrophotomètre UV-visible

- **Mode opératoire**

- Dans un tube en verre bien propre et sec, préparer un échantillon de mélange d'une quantité suffisante de cyclohexane et d'une goutte d'huile essentielle à analyser ;
- Nettoyer bien la cuve en quartz avec du solvant (cyclohexane) ;
- Remplir la cuve de référence avec uniquement du cyclohexane et placer la dans le spectromètre UV puis appuyer sur zéro pour éliminer le spectre du solvant ;
- Remplir de nouveau la cuve avec l'échantillon (cyclohexane + HE) et placer la dans le spectromètre UV puis appuyer sur mesure, où elle est traversée par le faisceau lumineux ;
- Ensuite noter les résultats sur l'écran de l'appareil.

PARTIE II : Evaluation de l'effet fongicide de l'huile essentielle extraite du Myrte (*Myrtus Communis L.*)

Cette partie du travail a été réalisée au niveau des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers (SNV & STU) de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma.

L'objectif principal de ce test vise à évaluer l'effet fongicide in vitro de l'huile essentielle de myrte (*Myrtus communis L.*) extraite par hydrodistillation à l'égard d'une souche du champignon phytopathogène *Botrytis cinerea*, agent responsable de la pourriture grise de plusieurs plantes cultivées (vigne, fraise, tomate, concombres, plantes ornementales....).

Chabbi et Badraoui (2021) [56], rapportent que, *Botrytis cinerea* est un champignon ascomycète polyphage, responsable de pourritures sur un grand nombre de plantes hôtes d'importance économique en agriculture et en horticulture. Les dégâts occasionnés par ce

champignon sont considérables et peuvent atteindre 20% des récoltes mondiales des cultures. Les pourritures sur fruits sont aussi très dommageables, aussi bien sous serre qu'en plein champ, aussi bien en cours de la culture qu'après la récolte, durant le stockage, le transport et la commercialisation, d'où l'intérêt à trouver des agents fongicides non toxiques, moins coûteux et plus respectueux de l'environnement.

III.2.1 Matériel fongique

La souche de *Botrytis cinerea* utilisée dans ce travail a été isolée et identifiée par Dr. ALLIOUI N., enseignante à la Faculté SNV & STU de l'université 8 Mai 1945 de Guelma, à partir d'un fruit de fraise montrant des symptômes de la pourriture grise (voir **Figure III.13**).



Figure III.13 : Symptômes de la pourriture grise sur fraisier [57].

La souche utilisée a été cultivée sur le milieu nutritif PDA (Potato Dextrose Agar), incubée pendant 07 jours dans une étuve à une température de 24° C, puis conservée à + 4° C jusqu'à utilisation.

III.2.2 Matériel utilisé

Le matériel utilisé pour réaliser le test de l'activité antifongique de notre huile est indiqué dans le **tableau III.2** :

Tableau III.2 : Matériel utilisé pour le test de l'activité antifongique

MATERIEL
<ul style="list-style-type: none"> • Microscope optique • Cellule de Malassez • Bec bunsen • Etuve, réglée à 24 °C. • Autoclave • Vortex • Boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre • Pipettes Pasteur • Anse de platine • Papier Wattman, coupé en disques de 6 mm de diamètre, stérilisé à l'autoclave. • Tubes coniques en plastique stérile, de 15 mL • Micropipette (5 µL, 10 µL, 20µL et 40µL) + embouts • Alcool (éthanol 95°) • Eau distillée • Eau physiologique • Milieux de culture : PDA • Huile essentielle de l'espèce végétale testée

III.2.3 Préparation de la suspension sporale

La suspension sporale de la souche utilisée de *Botrytis cinerea* a été préparée à partir de cultures jeunes, âgées de 5 jours. Les spores ont été récoltées par grattage dans des tubes coniques en plastique, stériles de 15 mL, contenant une solution de l'eau physiologique et deux gouttes de Tween 20. Après agitation au vortex, la concentration a été ajustée à 10⁴ spores/mL [58], en utilisant la cellule de Malassez.



Figure III.14 : a) : La solution sporale. b) : La cellule de Malassez

III.2.4 Concentrations de l'huile essentielle testée

Quatre doses de l'huile essentielle de myrte (*Myrtus communis*) ont été testées : 5 μL , 10 μL , 20 μL , et 40 μL , en présence d'un témoin négatif (0 μL d'huile), pour lequel, les boîtes sont traitées avec de l'eau distillée stérilisée, sans ajout d'huile.

III.2.5 Technique de confrontation

La confrontation Souche fongique-Huile a été réalisée dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, par la technique de confrontation directe, par diffusion à travers des disques de papier Wattman, selon la technique d'Adebayo et al., [59], décrite par Chabbi et Badraoui [56].

Cette technique consiste en une diffusion des huiles dans le milieu de culture inoculé par les champignons étudiés à travers des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre placés aux centres des boîtes [56] :

Dans chaque boîte de Pétri de 90 mm de diamètre, contenant le milieu de culture PDA, une quantité de 100 μL de suspension sporale, préparée le jour même, est étalée de manière uniforme sur le milieu. Après séchage de quelques minutes à 24 °C à l'étuve, un disque de papier Wattman de 6 mm de diamètre est placé au centre de la boîte à l'aide d'un emporte-pièce stérile, puis imbibé par le volume déterminé de l'huile essentielle à tester, à l'aide d'une micropipette. Les boîtes sont ensuite incubées à une température de 24 °C pendant cinq jours. Des lectures quotidiennes sont réalisées pour déterminer l'évolution de la zone d'inhibition.



Figure III.15 : Test de l'activité antifongique de l'huile essentielle du myrte sur *Botrytis cinerea*

III.2.6 Lecture des résultats

A la sortie de l'étuve, le manque de la croissance mycélienne se manifeste par un halo transparent autour du disque, identique à la gélose stérile. La lecture des résultats se fait par examen et mesure du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de la souche fongique au voisinage des disques chargés par les différents volumes de l'huile testée, à l'aide d'une règle en (mm). Les tests réalisés sont effectués en trois répétitions.

Chapitre IV

Résultats et discussion

CHAPITRE IV : **Résultats et discussion**

Ce dernier chapitre est dédié à la présentation des résultats expérimentaux obtenus lors de notre étude et leur discussion. Il est également constitué de deux grandes parties, dont la première est portée sur l'étude de la caractérisation de l'huile essentielle de myrte sauvage (*Myrtus Communis L.*) extraite par deux différentes méthodes et la seconde illustre l'évaluation de l'activité antifongique de cette huile sur une espèce de champignon de type *Botrytis cinerea*.

Partie I : Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.*

IV.1.1. Le rendement des huiles essentielles

Le tableau ci-dessous regroupe les résultats de calcul des rendements en huile essentielle des feuilles sèches et fraîches du myrte sauvage (*Myrtus communis L.*) obtenus par les deux méthodes d'extraction à savoir : la méthode d'hydrodistillation du tube simple et celle du tube Clevenger.

Tableau IV.1 : Rendements d'huile essentielle des feuilles sèches et fraîches du myrte sauvage (*Myrtus communis L.*).

Méthodes	Feuilles	Masse de la matière végétale en (g)	Masse de l'huile essentielle en (g)	Rendements en (%)
Hydrodistillation du tube simple	Sèches	130	0.44	0.338
	Fraîches	245	0.94	0.38
Hydrodistillation du tube Clevenger	Sèches	160	1.1	0.68
	Fraîches	100	0.3	0.3

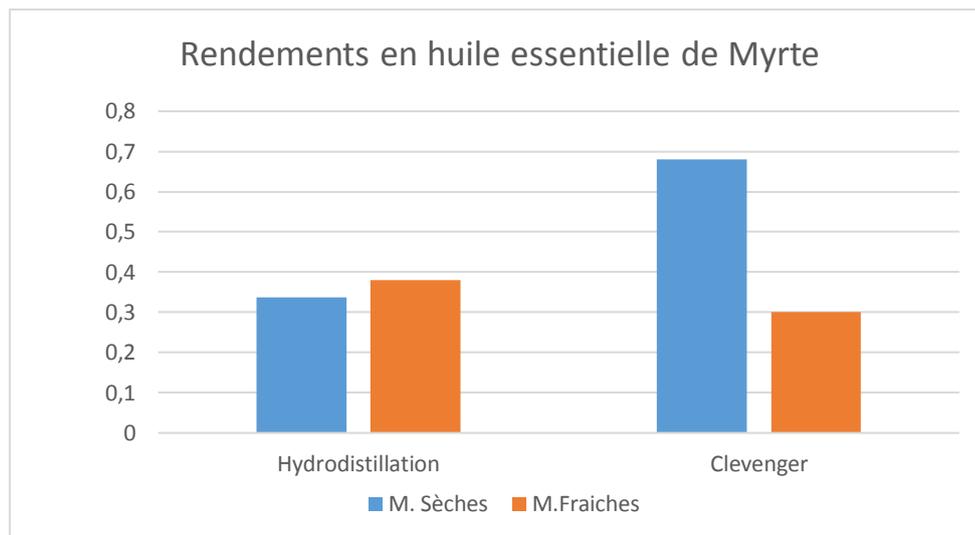


Figure IV.1 : Rendements en huiles essentielles des feuilles sèches et fraîches du myrte extrait par hydrodistillation et Clevenger.

D'après ces résultats, nous remarquons que les rendements en huile essentielle obtenue à partir des feuilles sèches et fraîches du myrte par la méthode d'hydrodistillation simple est faible, ils sont de 0.338% et 0.38%, respectivement. Alors que la méthode Clevenger a permis d'obtenir des rendements de l'ordre 0.68% et 0.3%.

Il faut noter également que le rendement obtenu par hydrodistillation de la matière fraîche (0.38%) est légèrement plus élevé par rapport à celui de la matière sèche (0.338%). Par contre, dans le cas du procédé de Clevenger, le rendement en huile essentielle de la matière sèche (0.68%) est deux fois plus élevé que celui de la matière fraîche (0.3%).

Ces rendements sont comparés à ceux obtenus par d'autres travaux effectués sur la même espèce en Algérie (voir **Tableau IV.2**).

Tableau IV.2 : Les rendements en huile essentielle des feuilles de myrte Algérien.

Région de récolte	Période de récolte	Rendement (%)	Référence
Zaccar (Ain Defla)	Avril	0.17 et 0.2	[36]
Béni- ouarsous (Tlemcen)	Février-Mars	0.72 – 1.04	[60]
Honaime (Tlemcen)	Février-Mars	0.19 – 0.66	[60]
Bejaia	Novembre	0.3 – 0.6	[61]

En comparant les résultats obtenus dans notre étude et ceux présentés dans le tableau IV.2, nous constatons que nos rendements sont supérieurs à ceux obtenus en 2019 par

ADDOUCHE Kheira [36] qui en a enregistré deux à savoir 0.17% par la méthode hydrodistillation et 0.2% par la méthode hydrodistillation avec tube Clevenger.

Par contre, nos valeurs sont inférieures à celles obtenues par **ACHOURI I. et al.**, [60] qui ont utilisé du Myrte de la région de Béni-ouarsous (Tlemcen) qui sont de 0.72% – 1.04% , alors qu’elles sont proches de celles ont obtenues à partir du Myrte de la région de Honaime (Tlemcen) qui varie de 0.19% - 0.66 %.

Nos résultats sont aussi similaires à ceux obtenus par **SADOU M. et al.**, [61] où le rendement varie de 0.3% à 0.6%.

Nous pouvons ainsi conclure que la différence entre ces rendements peut s’expliquer par les facteurs suivants : l’origine de la plante, la saison de la récolte, le climat, le type de sol et la méthode d’extraction.

IV.1.2 Etude des propriétés de l’huile essentielle du Myrte

IV.1.2.1 Propriétés organoleptiques

L’aspect, la couleur et l’odeur font partie des paramètres qui déterminent la qualité d’une huile. Ainsi, les propriétés organoleptiques de notre huile essentielle sont illustrées dans le **Tableau IV.3**.

Tableau IV.3 : Propriétés organoleptiques de l’huile essentielle de *Myrtus Communis L.*

PROPRIETES		ASPECT	COULEUR	ODEUR
Hydrodistillation avec tube simple	Matière sèche	Liquide mobile, peu limpide	Jaune pale	Très aromatique
	Matière fraîche	Liquide mobile, peu limpide	Jaune pale	Très aromatique
Hydrodistillation avec tube Clevenger	Matière sèche	Huileuse	Jaune	Très aromatique
	Matière fraîche	Huileuse	Jaune	Très aromatique
Reference [36]	Matière sèche	Huileuse	Jaune claire	Fraiche et agréable
Reference [3]	Matière sèche	Huileuse	Jaune foncé	Très aromatique

Il ressort de ces résultats que, les propriétés organoleptiques de nos huiles diffèrent en fonction de l'état de la matière première (plante) et du mode d'extraction. Ces résultats sont également légèrement différents avec ceux obtenus dans les travaux effectués par (ADDOUCHE Kheira, 2019) et (BOULOUARET W. et al., 2021) [36 et 3]. Cette différence pourrait être due à des différences d'appréciation car les propriétés organoleptiques ne sont pas mesurées mais déterminées par une simple appréciation des chercheurs. La différence est probablement due à la différence des composants chimiques contenus dans les huiles essentielles extraites.

IV.1.2.2 Analyse des caractéristiques physico-chimiques

Pour ces différents tests et pour la suite de notre étude, nous avons opté pour l'analyse de l'huile obtenue avec le meilleur rendement.

Aussi, les résultats obtenus sont comparés à d'autres travaux effectués sur *le Myrtus communis L.* (voir **Tableau IV.4**).

Tableau IV.4 : Résultats des caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle de Myrte.

ANALYSES/ METHODES	INDICE D'ACIDE	INDICE DE REFRACTION	pH
Hydrodistillation du tube simple (Matière fraîche)	2.805	1.3543	< 5.2
Hydrodistillation du tube Clevenger (Matière sèche)	2.805	1.4662	4.9
Reference [26]	1,963	1,4388	4.17
Reference [28]	2.58	1.470	5.10
Références [62], [63] et [64]	< 2	1.45 – 1.47	3.8 - 5

Ces propriétés sont très importantes car elles caractérisent la pureté et la qualité des huiles essentielles.

- **Indice d'acide**

L'indice d'acide est une propriété qui renseigne sur le taux d'acides libres d'une huile essentielle. D'après le tableau ci-dessus, les résultats de l'indice d'acide de nos huiles sont identiques, mais ils demeurent supérieurs par rapport à ceux enregistrés par la norme ANSM [62] et les travaux antérieurs [26,28].

Une forte concentration en acides gras libres signifie que l'huile est facilement dégradable. Dans notre cas, l'huile se caractérise par un indice d'acide inférieur à 2 synonyme d'une bonne conservation de l'huile (taux faible d'acides libres) [36].

- **Indice de réfraction**

Les résultats obtenus après la mesure de l'indice de réfraction des huiles essentielles sur sont montrés dans la **Figure IV.2** et le **Tableau IV.5**.

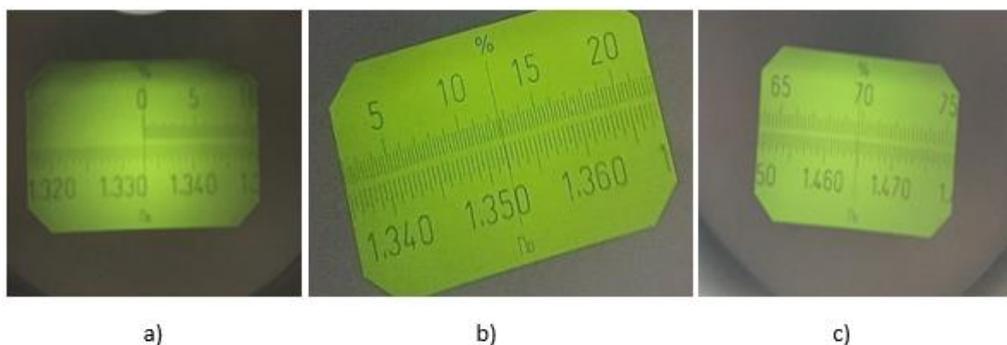


Figure IV.2 : Résultats de l'indice de réfraction à la température de mesure T de :

- a) Eau distillée
- b) Huile essentielle des feuilles fraîches de myrte obtenue par hydrodistillation
- c) Huile essentielle des feuilles sèches de myrte obtenue par Clevenger

Tableau IV.5 : Valeurs des indices de réfraction à la température de mesure.

	Indice mesuré (I_T)	Température de mesure ($^{\circ}\text{C}$)	Pourcentage de mesure (%)
Eau distillée	1.3330	19.1	0
Hydrodistillation	1.3540	19.1	12.6
Clevenger	1.4649	24.2	69.8

À l'aide d'un réfractomètre d'Abbe, l'indice de réfraction de nos huiles a été mesuré à la température T les valeurs obtenues ont été ensuite corrigées à la température de référence de 20°C , afin de pouvoir comparer les valeurs. La correction est faite par la formule suivante :

$$I_{20} = I_T + 0,0003 (T - 20^{\circ}\text{C})$$

Pour l'huile obtenue par hydrodistillation, l'indice de réfraction est égal à 1.3543. Cette valeur est très inférieure à celles rapportées par des travaux antérieurs [26, 28 et 63] cela peut s'expliquer par la méthode utilisée pour séparer l'eau de l'huile (voir **Tableau IV.4**).

Par contre, pour l'huile obtenue par Clevenger, l'indice de réfraction de 1.4662 est conforme à ceux rapportés par des travaux antérieurs [26, 28 et 63] (voir **Tableau IV.4**).

L'indice de réfraction dépend de la température et de la composition chimique de l'huile. Il varie essentiellement avec la teneur en mono-terpènes, et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en mono-terpènes donne un indice de réfraction élevé [26]. Donc, on peut dire que notre huile obtenue par Clevenger est de bonne qualité et riche en mono-terpène. Ainsi, dans notre cas nous pouvons proposer deux composés qui correspondent aux mono terpènes : l' α -pinène et le limonène.

- **Mesure de pH**

La mesure du pH de nos huiles a été effectuée par simple identification sur du papier pH comme indiqué sur la **Figure IV.3**.

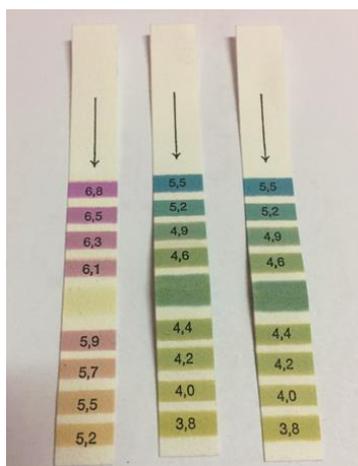


Figure IV.3 : Résultats des tests du pH.

Il faut savoir que :

- L'huile extraite par la méthode d'hydrodistillation avec tube simple a été testée sur la gamme de couleur rose et la couleur obtenue n'est identique à aucune des couleurs présentes sur cette gamme, ce qui implique que le pH de l'huile est inférieur à 5,2 (< 5,2).
- L'huile extraite par la méthode d'hydrodistillation avec tube Clevenger a été testée sur la gamme de couleur verte et la couleur obtenue correspond bien à 4,9.

Nos résultats étant inférieurs à 7, nous pouvons dire que nos huiles sont acides, et répondent aux normes données par la pharmacopée européenne [64].

IV.1.3 Analyse chromatographique sur couche mince CCM

Dans cette partie, le test a été effectué avec l'huile essentielle des feuilles sèches du myrte obtenue par le tube Clevenger. Le chromatogramme de notre huile après révélation sous la lumière UV (à la longueur d'onde = 254 nm) a montré la présence de plusieurs tâches. Le résultat est donc présenté dans la **Figure IV.4** et le **Tableau IV.6**.

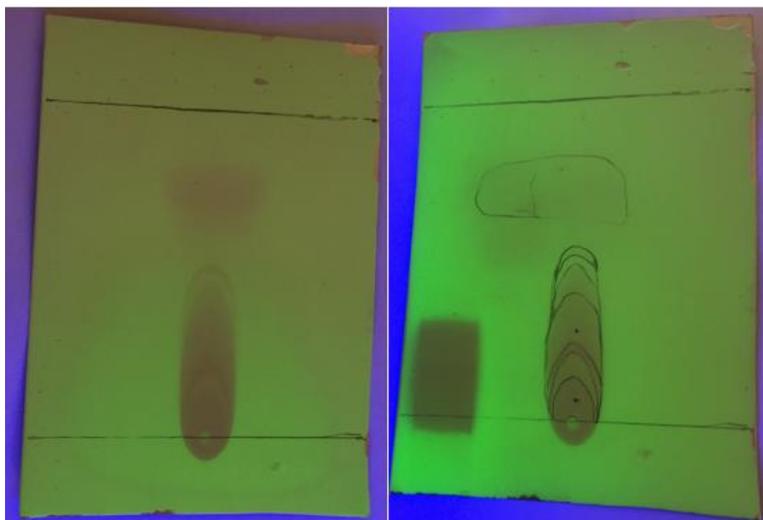


Figure IV.4 : Résultat de l'analyse CCM de l'huile essentielle de Myrte extraite par Clevenger

Tableau IV.6 : Résultats du calcul des rapports frontaux de la CCM.

Rapport frontal	R _{f1}	R _{f2}	R _{f3}	R _{f4}	R _{f5}	R _{f6}	R _{f7}	R _{f8}	R _{f9}
Valeur	0.008	0.065	0.105	0.117	0.195	0.242	0.252	0.266	0.492

D'après la **Figure IV.4**, nous avons pu compter 9 tâches assez distinctes avec des rapports frontaux un peu différents (voir **Tableau IV.6**). Ces 9 tâches indiquent la présence de 9 composants chimiques. Ces composés majoritaires pourraient être : 1,8-cinéol, acétate de myrtényle, α -pinène, myrténol, limonène et linalol [41]. Une méthode chromatographique plus sophistiquée et pilotée par ordinateur (CPG, HPLC, ...) pourraient nous donner des résultats plus précis sur la composition exacte des huiles essentielles extraites.

IV.1.4 Analyse de la structure par les méthodes spectroscopiques

IV.1.4.1 Analyse par spectroscopie IRTF

L'objectif de ce test est d'identifier et de déterminer les différents pics correspondants aux groupements fonctionnels de l'huile essentielle de Myrte. L'analyse a été effectuée par spectrophotométrie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) et le résultat obtenu est sous forme d'un spectre enregistré dans la zone 4000-400 cm^{-1} , qui contient des bandes fines et d'autres plus ou moins larges.

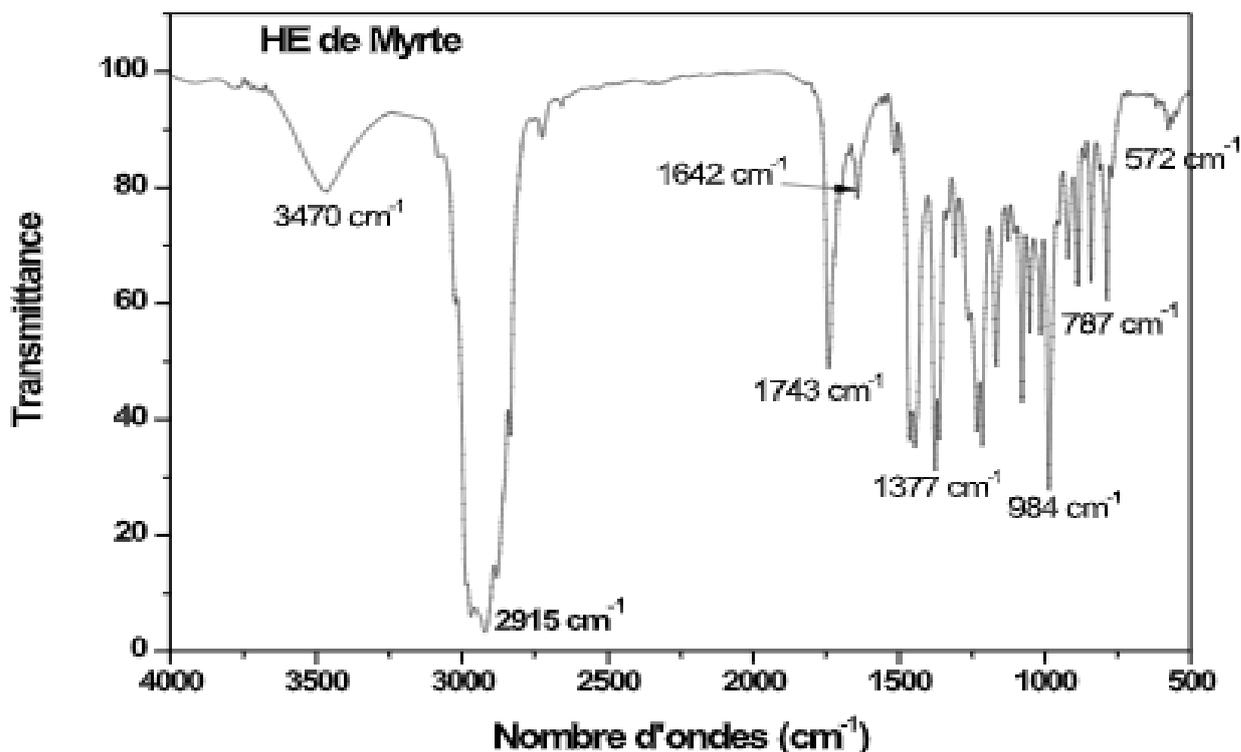


Figure IV.5 : Spectre IRTF de l'huile de myrte enregistré dans les régions 4000 et 500 cm^{-1} .

Le **Tableau IV.7** illustre les principales bandes d'absorption correspondants aux groupements fonctionnels présents dans l'HE de Myrte.

Tableau IV.7 : Groupements fonctionnels de l'huile essentielle de Myrte.

Nombre d'ondes en (cm ⁻¹)	Groupements fonctionnels	Liaisons	Intensités
787	Aromatique	C-H	Moyenne et fine
984	Alcane	C-C	Intense et Fine
1377	Amine	C-N	Intense et Fine
1642	Alcène	C=C	Faible
1743	Groupement carbonyle	C=O	Intense et Fine
2915	Acide carboxylique	O-H	Forte et large
	Aldéhyde	C-H	
	Alcane	C-H	
3470	Alcool	O-H lié	Faible et large

Au regard de l'analyse du spectre IRTF, nous notons la présence de :

- Une bande faible et large localisée à 3470 cm⁻¹ (entre 3000 et 3750 cm⁻¹) attribuée à la liaison (**O-H**) d'un alcool. Dans notre cas, cette bande pourrait être attribuée à deux composés avec la fonction alcool à savoir le myrténol et le linalol.
- Une bande forte et large située à 2915 cm⁻¹ (entre 2500-3200 cm⁻¹) attribuée à l'élongation de la liaison hydroxyle (**O-H**) de l'acide carboxylique.
- Une bande intense et fine située à 1743 cm⁻¹ est attribuée à un groupement carbonyle (Ester) de liaison **C=O**. Ce pic correspond probablement à celui de l'acétate de myrtényle.
- Une bande faible située à 1642 cm⁻¹ (entre 1620 – 1680 cm⁻¹) caractéristique de l'élongation de la liaison **C=C**, de la fonction alcène.

L'analyse par spectroscopie Infrarouge nous a révélé que l'huile de Myrte contient de nombreuses fonctions chimiques à savoir des : alcools, alcanes, alcènes, aldéhydes, aromatiques, acides carboxyliques, amines et esters.

La caractérisation de notre huile essentielle par IRTF a donné des résultats en accord avec ceux rapportés en littérature et en adéquation avec ceux obtenus lors de l'analyse par CCM.

Néanmoins, pour confirmer cette composition et avoir des informations plus précises sur les espèces chimiques que contient notre huile, une analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) serait judicieuse.

IV.1.4.2 Analyse par spectroscopie UV visible

Le test spectroscopique UV-visible a été réalisé pour détecter les bandes d'absorption caractéristiques de notre huile, pour cela nous avons utilisé la spectrophotométrie UV-Visible avec un balayage de longueur d'onde dans la région de 190 à 400 nm. Le résultat obtenu est représenté sur la **Figure IV.6**.

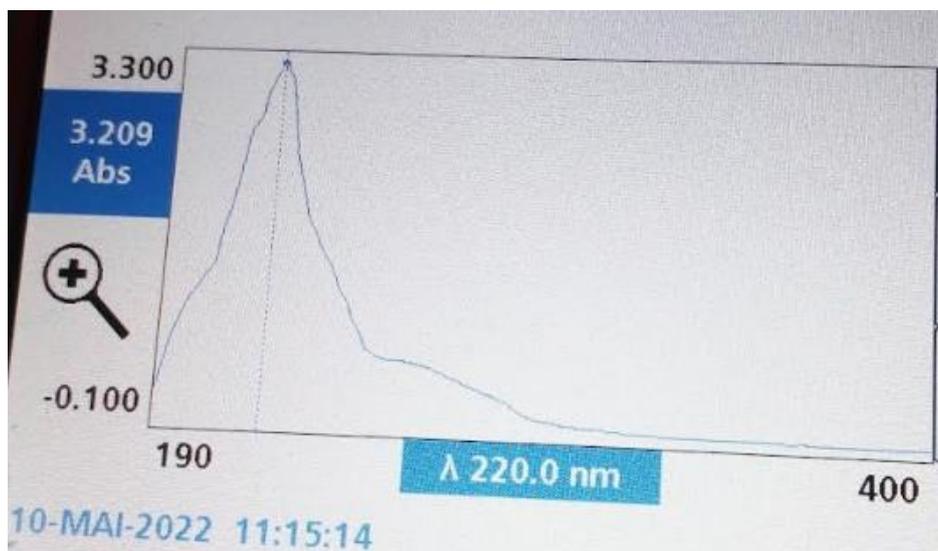


Figure IV.6 : Spectre UV –Visible de l'huile essentielle de Myrte.

L'analyse du spectre UV-Vis montre clairement la présence d'une large bande d'absorption avec une valeur maximale d'absorption à la longueur d'onde de 220 nm. Cette bande est située dans le domaine UV avec une absorbance de 3,209. Cette longueur d'onde pourrait être attribuée à la présence de composés aromatiques.

Les différentes techniques de caractérisation utilisées dans notre étude ont permis de confirmer la pureté de l'huile que nous avons extrait par hydrodistillation à partir du Myrte sauvage et d'identifier les principaux composés chimiques qui constituent cette HE. Dans ce qui suit, nous allons tenter de trouver une application de l'HE de Myrte dans le domaine biologique en l'occurrence l'étude de son effet fongicide sur un champignon de type *Botrytis cinerea*.

PARTIE II : Etude de l'effet antifongique de l'huile essentielle de Myrte

Dans cette partie du travail, l'activité antifongique a été testée avec l'huile essentielle des feuilles fraîches du myrte extraite par la méthode Clevenger.

Les résultats relatifs au test de l'activité antifongique de l'huile essentielle de myrte (*Myrtus communis L.*) sur la souche utilisée de *Botrytis cinerea* sont représentés dans les **Figures IV.7 ; IV.8 et IV.9.**

Nous rappelons que l'activité antifongique est dévoilée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne autour d'un disque imbibé par l'huile testée, et que la lecture est effectuée en mesurant le diamètre moyen des zones d'inhibition pour les différents volumes de l'huile après 5 jours d'incubation à l'étuve à 24°C.

La **figure IV.7** montre que dans les boîtes témoins, où le disque du papier buvard est imbibé par de l'eau distillée stérilisée (sans huile essentielle), au bout de 5 jours d'incubation, le champignon a colonisé tout le milieu nutritif et aucune zone d'inhibition n'a été observée.



Figure IV.7 : Croissance de *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise, dans les boîtes témoins (sans huile essentielle) (Photo personnelle)

Tandis que, dans les boîtes traitées avec de l'huile essentielle de myrte (*M. Communis L.*), la croissance du champignon a été inhibée au tour du disque de papier buvard imprégné de l'huile essentielle, avec des intensités relativement proportionnelles aux différents volumes testés de l'huile utilisée (voir **Figure. IV.8**).

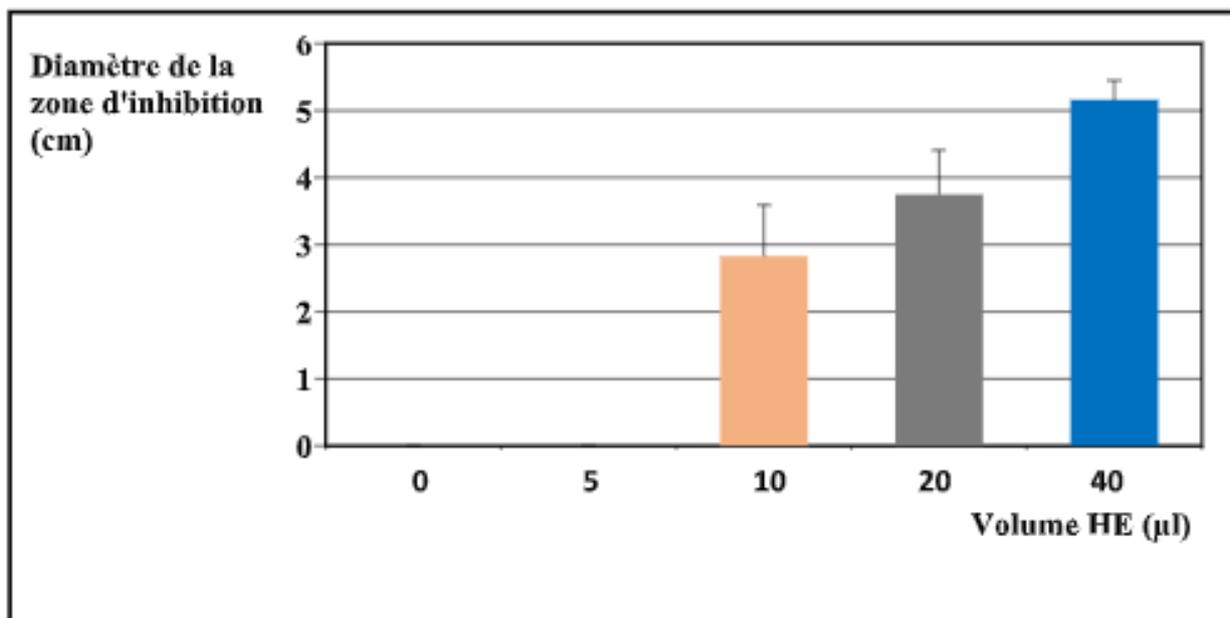


Figure IV.8: Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *Botrytis cinerea* après 5 jours de confrontation avec différents volumes de l'huile essentielle de Myrte.

Dans les boîtes relatives au volume de 5 μL par disque, les résultats obtenus étaient plus ou moins similaires à ceux du témoin et aucune inhibition de la croissance du champignon n'a été observée au tour du disque (voir **Figure IV.9**).

Alors que pour les autres volumes testés de l'huile de myrte, 10 μL , 20 μL et 40 μL , le diamètre de la zone d'inhibition est de plus en plus important, notamment, pour les boîtes traitées par 40 μL pour lesquelles une inhibition totale de la croissance du champignon a été enregistrée (voir **Figure IV.9**).

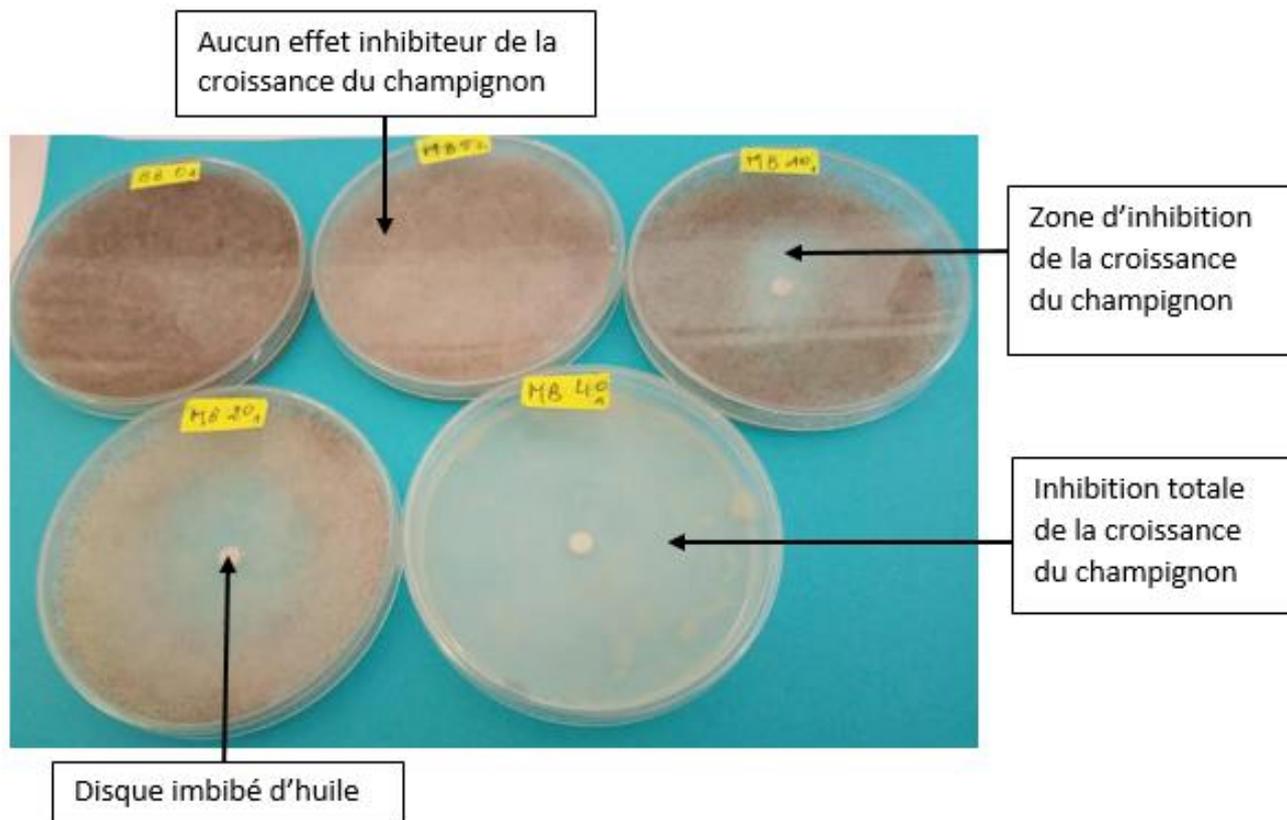


Figure IV.9 : Activité antifongique de l’huile de myrte contre le *Botrytis cinerea* après 72 h de confrontation (Photo personnelle).

Compte tenu de ces résultats obtenus, l’évaluation du pouvoir antifongique a montré une activité antifongique très intéressante par la méthode utilisée et nous remarquons que l’huile essentielle de myrte (*Myrtus communis L.*) est dotée d’une activité antifongique importante à l’égard du champignon testé (*Botrytis cinerea*).

Nos résultats corroborent avec ceux de **Chebaibi et al. (2015)** [65] qui ont enregistré des effets antimicrobiens, satisfaisants, de l’huile essentielle de myrte à l’égard de plusieurs bactéries, et ils ont obtenus des zones d’inhibition de la croissance entre 5 mm et 30 mm chez 7 souches bactériennes testées. **Cheraitia et Djebli (2020)** [66] rapportent que, l’huile essentielle de myrte (*Myrtus communis L.*) est connue pour son action désinfectante et antiseptique.

L’activité antimicrobienne de l’huile essentielle de Myrte peut être attribuée à sa richesse en molécules actives à pouvoir antibiotique. Les résultats obtenus par **Chraïbi et al. (2019)** [67] par analyses chromatographiques de l’huile essentielle de Myrte, provenant du Maroc, ont permis d’identifier 18 composés avec un taux de reconnaissance de 99,96 %, caractérisée par les pics majoritaires suivants : le bornéol et le 1,8-cinéole avec des valeurs respectives de 27,15 et 21,33 %. D’autres composés principaux ont été observés, il s’agit de

l' α -pinène (11,09 %) et du camphène (9,49 %). Les mêmes auteurs signalent que, l'existence de différents chémotypes a été prouvée par un ensemble d'études. En effet, l'acétate de myrtényle (20,75 %) a été le composé dominant de l'huile essentielle de *Myrtus communis* tunisienne, suivi du 1,8-cinéol (16,55 %), α -pinène (15,59 %) et du linalol (13,30 %), alors que celle provenant de la Turquie était codominée par l' α -pinène.

Une analyse de l'huile essentielle de myrte (*Myrtus communis* L.), collecté dans différentes régions de l'Algérie, par CPG est recommandée, afin de déterminer avec exactitude, les caractéristiques chimiques des HE de chaque région, et identifier les composés majoritaires pouvant avoir un rôle important dans la lutte contre les microorganismes pathogènes (bactéries, champignons) ou ravageurs des cultures (insectes).

Il serait donc intéressant d'appliquer ce produit d'origine 100% naturelle, d'autant plus que la plante d'origine se trouve en abondance en Algérie et bien étudier avec plus de détails les performances antifongiques mises en évidence, afin d'envisager des perspectives d'application de son essence comme biopesticide ou agents de bio-conservation, capables de réduire la croissance mycélienne responsable de la pourriture grise des végétaux et de combattre la prolifération de ce champignon ravageur et néfaste pour les cultures. Ceci permettra de réduire considérablement des pertes économiques.

Etude comparative

Une comparaison des résultats obtenus dans notre étude avec ceux obtenus l'an dernier dans les mêmes conditions en utilisant l'huile essentielle de *lavandula stoechas. l*, a montré que l'huile essentielle de myrte (*Myrtus communis* L.) a une activité antifongique plus satisfaisante et plus importante à l'égard du champignon (*Botrytis cinerea*) avec des diamètres de zone d'inhibition respectives (2.833, 3.750 et 5.167 cm) pour des concentrations (10, 20 et 40 μ L) par rapport à l'activité antifongique de l'huile essentielle de *lavandula stoechas. l*. En effet cette dernière a permis d'enregistrer des diamètres de la zone d'inhibition de 1.3, 2.06 et 2.83 cm pour des concentrations de 10, 20 et 40 μ L, respectivement, à l'égard du même type de champignon et par la même méthode (la méthode de diffusion sur disque).

Analyse de la variance

L'analyse de la variance conduite avec les résultats relatifs aux diamètres des zones d'inhibition de la croissance du champignon, confrontée à différents volumes de l'huile essentielle de myrte (*Myrtus communis* L), a montré des différences très hautement significatives (***) entre les volumes testés (Tableau ci-dessous), avec une valeur de P = 0.000 ($\alpha = 0.001$).

Tableau IV.8 : Analyse de la variance pour le diamètre de la zone d'inhibition de croissance du champignon.

Sources de variation	DL	SCE	CM	Valeur F	Valeur de P
Volumes d'huile	4	63,517	15,8792	71,91	0,000 ***
Erreur	10	2,208	0,2208		
Total	14	65,725			

DL : Degrés de liberté

SC E : Somme des carrés des écarts

CM : Carré moyen

F : Valeur observée de F de Fisher

P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

*** p < 0.001 : différences très hautement significatives.

Le test de Dunnett (Tableau ci-dessous) a montré des différences non significatives entre le témoin (0µl) et le volume 5µl, et des différences significatives entre le témoin et les autres volumes testés de l'huile de myrte à l'égard de *Botrytis cinerea*. ($\alpha = 0.05$).

Tableau IV.9: Résultats du test de Dunnett.

Volume d'HE	N	Moyenne	Groupement
V0 (contrôle)	3	0,000000	A
V4	3	5,167	*
V3	3	3,750	*
V2	3	2,833	*
V1	3	0,000000	A

Conclusion Générale

CONCLUSION GENERALE

L'étude des huiles essentielles aromatiques et médicinales est toujours d'actualité malgré son ancienneté et l'importante ascension du développement des biotechnologies végétales. L'Algérie, de part sa position géographique, jouit de plusieurs facteurs de pédogenèse et de grandes variations climatiques auxquels s'ajoutent les ressources hydriques, tous favorables au développement des cultures intensives des plantes aromatiques et médicinales.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à l'extraction d'une huile essentielle et à l'étude de son application dans un domaine de phytosanitaire.

Poussant à l'état sauvage en Algérie, la plante qui a fait l'objet de cette étude est le *Myrtus Communis L.* qui a été récolté, dans la région d'Héliopolis, durant le mois d'Avril. Les feuilles ont été utilisées sèches et fraîches.

L'extraction des huiles essentielles est réalisée par hydrodistillation à l'aide de deux montages différents, dont le premier est celui du tube simple et la seconde du tube Clevenger. Plusieurs analyses ont été effectuées, afin de comparer la qualité des huiles obtenues.

Il ressort des résultats obtenus durant ce modeste travail que :

- L'huile essentielle de myrte récupérée par la méthode d'hydrodistillation avec tube Clevenger est plus pure que celle récupérée par la méthode d'hydrodistillation avec tube simple.
- Pour le procédé d'hydrodistillation, le rendement en huiles essentielles de la matière fraîche est légèrement élevé par rapport à celui de la matière sèche. Par contre, dans le cas du procédé Clevenger, le rendement en huiles essentielles de la matière sèche est deux fois plus élevé que celui de la matière fraîche. Il obéit à l'ordre suivant :

$RD_{Clevenger\ M.F} (0.3\%) > RD_{Hd\ M.S} (0.338\%) > RD_{Hd\ M.F} (0.38\%) > RD_{Clevenger\ M.S} (0.68\%)$.

- Les propriétés organoleptiques des huiles extraites diffèrent d'une technique à l'autre mais répondent aux normes données par la Pharmacopée Française.
- Les résultats de l'étude comparative montrent que l'extraction par Clevenger semble plus adaptée pour préserver la composition en volatils des HE_s. A cet effet, l'HE extraite par Clevenger a été utilisée pour la suite de l'étude.

- L'analyse par spectroscopie infrarouge (IRTF) de l'huile essentielle de Myrte a permis d'identifier l'existence des composés suivants : le linalol, le myrténol et l'acétate de myrtényle
- L'analyse par spectroscopie UV-Vis, a montré la présence de composés aromatiques dans notre huile essentielle.
- Quant à l'analyse par CCM, nous avons pu compter 9 tâches qui indiquent la présence de 9 composants chimiques majoritaires pouvant être : 1,8-cinéol, acétate de myrtényle, α -pinène, myrténol, limonène, linalol etc. Mais pour confirmer cette composition et avoir des informations plus précises sur les espèces chimiques que contient notre huile, une analyse par chromatographie en phase gazeuse, couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM) serait efficace.
- Enfin, l'évaluation du pouvoir antifongique *in-vitro* a montré une activité fongicide très intéressante révélée la méthode de confrontation directe. En effet, l'huile essentielle de myrte (*Myrtus communis L.*) est dotée d'une activité antifongique importante à l'égard du champignon testé (*Botrytis cinerea*), résultat confirmé par l'inhibition de la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*.
- L'HE de Myrte offre un potentiel important comme agent antifongique et permettrait de préserver des récoltes importantes et réduire des pertes économiques pouvant être engendrés par le pourrissement des fruits et légumes.

Au terme de notre étude et en guise de perspectives, nous suggérons :

- ✓ D'utiliser d'autres techniques de caractérisation telles que : la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) et la HPLC,
- ✓ D'étudier l'effet thérapeutique de ces huiles (antiseptique, antibiotique, parasiticide, astringentes...)

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]- Abdelkarim A. « Valorisation de quelques plantes médicinales issues de la flore tunisienne : extraction par CO₂ supercritique ». Thèse de Doctorat en Chimie Appliquée. Université de Lorraine (France), **2014**.
- [2]- Chenini M. « Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic (*ocimum basilicum L.*) l'extrait par hydro distillation et par micro-ondes ». Thèse de doctorat en chimie moléculaire. Université d'Oran 1 Ahmed Benbelle (Algérie), **2016**.
- [3]- Boulouaret W., Boufroua R. « Etude chimique et biologique des huiles essentielles et des métabolites secondaires de deux plantes médicinales : *Myrtus communis L.* et *Mentha pulegium L.* ». Mémoire de Master en Chimie Pharmaceutique. Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel (Algérie), **2021**.
- [4]- Dellaoui H. « Contribution à l'étude des effets de la plante médicinale *Myrtus communis* contre la toxicité du *Cadmium* chez le rat Wistar. Etudes biochimique et histologique ». Thèse de Doctorat en Biochimie et Toxicologie Expérimentale. Université de Saida– Dr. Moulay Tahar (Algérie), **2021**.
- [5]- Bousbia N. « Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires ». Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France), **2011**.
- [6]- Yaacoub R., Tlidjane I. « Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle des grains de *Cuminum cyminum L.* et de *Foeniculum vulgare Mill.* extraite par hydrodistillation et CO₂ supercritique : Etude comparative ». Mémoire de Master en Génie Chimique. Université Larbi Ben M'Hidi Oum El Bouaghi (Algérie), **2018**.
- [7]- <http://tpeibs2012.canalblog.com/archives/2012/02/13/23515308.html>. Site consulté le 05/03/2022.
- [8]- <https://agronomie.info/fr/les-caracteristiques-physico-chimiques-des-huiles-essentielles/>. Site consulté le 05/03/2022.
- [9]- Hesses T., Simoud S. « Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus sp* ». Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Mouloud Mammeri (Algérie), **2018**.
- [10]- Chagra K. « Etude les propriétés physico-chimiques et biologique de clou du girofle (*Syzygium aromaticum L.*) ». Mémoire de master en Génie Chimique. Université Mohamed Khider de Biskra (Algérie), **2019**.
- [11]- Samate A.D. « Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso valorisation ». Thèse de Doctorat. Université d'Ouagadougou (Burkina Faso), **2002**.

[12]- Kiouas N., Naili A. « Contribution à l'étude de l'influence de la durée de stockage sur quelques caractéristiques physico-chimiques d'une huile essentielle ». Mémoire de Master en Génie Chimique. Université de Ghardaïa, **2019**.

[13]- <http://dspace.univ-msila.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/10266/chapitre3.pdf?sequence=3&isAllowed=y>. Site consulté le 11/03/2022.

[14]- Kouassi K.S. « Extraction, phytochemical analysis by CCM and evaluation of the antioxidant activity of the essential oil of *olax subcorpioidea* Oliver : Ivory coast's olacaceae ». Master of Fundamental and Applied Sciences. Research and Formation Unit of Fundamental and Applied Sciences (UFR-SFA) (Cote d'Ivoire), **2017**.

[15]- Boualleg M., Bousnobra R. « Optimisation des paramètres d'extraction de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* .L et son application comme antifongique ». Mémoire de Master en Génie Chimique. Université 8 Mai 1945 de Guelma (Algérie), **2021**.

[16]- Mebarki R., Bougueffa I. « Mise en évidence des huiles essentielles de quelques plantes médicinales ». Mémoire de Master en Génie Chimique. Université Larbi Ben M'Hidi Oum El Bouaghi (Algérie), **2012**.

[17]- Piochon M. « Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : Composition chimique, Activités pharmacologiques et Héli-synthèse ». Mémoire de la Maîtrise en Ressources Renouvelables. Université du Québec, **2008**.

[18]- Deschepper R. « Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie ». Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Aix Marseille (France), **2010**.

[19]- <https://blog.bivea.fr/aromatherapie/huile-essentielle/fabrication-dune-huile-essentielle-par-distillation>. Site consulté le 13/03/2022.

[20]- <http://www.vaucanson.org/php5/Accueil/index.php/comment-adapter-le-four-solaire-a-la-l-hydrodistillation/698-les-techniques-de-distillation>. Site consulté le 14/03/2022.

[21]- <https://www.albertvieille.com/lexique/distillation-par-entrainement-a-la-vapeur-deau/>. Site consulté le 14/03/2022.

[22]- Penchev P.I. « Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions ». Thèse de Doctorat en Génie des Procédés et de l'Environnement. Université de Toulouse (France), **2010**.

[23]- <https://www.zayataroma.com/fr/methodes-d'extraction?slug=fr/methodes-d'extraction>. Site consulté le 14/03/2022.

[24]- Assami K. « Extraction assistée par ultrasons des huiles essentielles et arômes du *Carum carvi* L. d'Algérie ». Thèse de Doctorat en Chimie Organique Appliquée. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (Algérie), **2014**.

- [25]- Herzi N. « Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles ». Thèse de Doctorat en Génie Chimique-Procédés. Université de Toulouse (France), **2013**.
- [26]- Bouaita S. & Djermouli Y. « Extraction et caractérisation des huiles essentielles du myrte vert sauvage ». Mémoire de Master en Chimie. Université A. MIRA – Bejaïa (Algérie), **2017**.
- [27]- Aidi Wannes W., Mhamdi B. & Marzouk B. «Variations in essential oil and fatty acid composition during *Myrtus communis* var. *italica* fruit maturation. Food Chemistry ». 112: 621–626, **2009**.
- [28]- Hennia A. « Extraction et étude de l'activité biologique des huiles essentielles du Myrte (*Myrtus communis* L.) ». Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Université ABDELHAMID IBN BADIS DE MOSTAGANEM (Algérie), **2016**.
- [29]- <https://jardinage.lemonde.fr/dossier-843-myrtle-commun-myrtus-communis-symbole.html>. Site consulté le 24/03/2022.
- [30]- Goetz P. & Ghedira K. « *Myrtus communis* L. (Myrtaceae): Myrte, in: Phytothérapie anti-infectieuse ». Collection Phytothérapie Pratique. Springer Paris (France), 313–320, **2012**.
- [31]- Barboni T. « Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie ». Thèse de doctorat en Chimie théorique, physique et analytique. Université di Corsica – Pasquale Paoli (France), 293, **2006**.
- [32]- Bouzabata A. « Contribution à l'étude d'une plante médicinale et aromatique *Myrtus Communis* L. ». Thèse de doctorat en sciences pharmaceutiques. Université Badji Mokhtar Annaba (Algérie), 260, **2015**.
- [33]- Bouzabata A., Casanova J., Bighelli A., Cavaleiro C., Salgueiro L & Tomi F. « The genus *Myrtus* L. in Algeria: Composition and biological aspects of essential oils from *M. communis* and *M. nivellei*. Chemistry and biodiversity ». 13(6), 672–680, **2016**.
- [34]- Bouras R. « Potentiel bioactif des baies du myrte sauvage (*Myrtus communis* L.) et d'arbose (*Arbutus unedo* L.) ». Mémoire de Master en Sciences Alimentaires. Université AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA (Algérie), **2020**.
- [35]- Mulas M., Francesconi A.H.D. & Perinu B. « Myrtle (*Myrtus communis* L.) as a new aromatic crop: cultivar selection ». Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants 9. 127-131, **2002**.
- [36]- Addouche K. « Contribution à l'étude des caractéristiques physicochimiques, la composition, l'activité antibactérienne et le pouvoir antioxydant des huiles essentielles du (*Myrtus Communis* L.)». Mémoire de Master en génie des Procédés. Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana (Algérie), **2019**.
- [37]- Beloued A. « Plantes médicinales d'Algérie ». Office des publications universitaires. Alger (Algérie), **1998**.
- [38]- Bouzabata A. « Traditional Treatment of high blood pressure and diabetes in Souk Ahras District ». Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy 5(1), 12–20, **2013**.

- [39]- Franceschini P. « *Myrtus communis* L. en Corse et en Méditerranée: De sa composition chimique jusqu'à ses utilisations Thérapeutiques ». 18, **2016**.
- [40]- Chalchat J.C., Garry R.P. & Michet A. « Essential oils of myrtle (*Myrtus communis* L.) of the Mediterranean littoral ». Journal Essential Oil Research.10, 613-617, **1998**.
- [41]- Mimica-Dukić N., Bugarin D., Grbović S., Mitić-Ćulafić D., Vuković-Gačić B., Orčić D., & Couladis M. « Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents ». Molecules, 15(4), 2759-2770, **2010**.
- [42]- Hemaidi M. « Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique de *Myrtus communis* L. et *Mentha pulegium* L. ». Mémoire de Master académique en SNV (Sciences agronomiques). Université Mohamed SeddikBenyahia- Jijel (Algérie), **2020**.
- [43]- Farah A., Afifi A., Fechtal M., Chhen A., Satrani B., Talbi M. & Chaouch A. « Fractional distillation effect on the chemical composition of Moroccan myrtle (*Myrtus communis* L.) ». essential oils. Flavour and Fragrance Journal. 21(2), 351–354, **2006**.
- [44]- Dejam M. & Farahmand Y. « Essential Oil Content and Composition of Myrtle (*Myrtus communis* L.) Leaves from South of Iran ». Journal of Essential Oil Bearing Plants. 20(3), 869–872, **2017**.
- [45]- Gardeli C., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T. & Komaitis M. « Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts ». Food chemistry, 107(3), 1120-1130, **2008**.
- [46]- Hennia A., Brada M., Nemmiche S., Fauconnier M.L. & Lognay G. « Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of Algerian *Myrtus communis* L. ». Journal of Essential Oil Research, 27(4), 324–328, **2015**.
- [47]- Bekhechi C., Watheq Malti C. E., Boussaïd M., Achouri I., Belilet K., Gibernau M., ...& Tomi F. « Composition and Chemical Variability of *Myrtus communis* Leaf Oil From Northwestern Algeria ». Natural Product Communications, 14(5), 1934578X1985003, **2019**.
- [48]- Ben Ghnaya A., Chograni H., Messoud C. & Boussaid M. « Comparative Chemical Composition and Antibacterial Activities of *Myrtus communis* L. Essential Oils Isolated from Tunisian and Algerian Population. Plant Pathology and Microbiology ». 4, 1–5, **2013**.
- [49]- Hmiri S., Harhar H. & Rahouti M. « Antifungal activity of essential oils of two plants containing 1, 8-cineole as major component: *Myrtus communis* and *Rosmarinus officinalis* ». J Mater Environ Sci, 6, 2967-2974, **2015**.
- [50]- Bengmark S. « Acute and "chronic" phase reaction-a mother of disease. Clinical Nutrition ». 23, 1256-1266, **2004**.
- [51]- Muanda N.M. « Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques ». Thèse de doctorat : chimie organique. Université Paul Verlaine-Metz (France), 156, **2010**.
- [52]- Decendit M. A. « *Myrtus communis* L. en Corse et en Méditerranée: De sa composition chimique jusqu'à ses utilisations ». Thèse de doctorat. Université Victor Segalen Bordeaux 2 (France) **2016**.

- [53]- AFNOR. « Recueil de normes » : les huiles essentielles Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR. Paris (France), 661-663, **2000**.
- [54]- Reghaissia I. « Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *Eucalyptus Globulus* : Application comme insecticide ». Mémoire de Master en Génie Chimique. Université 08 Mai 1945 de Guelma (Algérie), **2020**.
- [55]- <https://perso.univ-rennes1.fr/patrick.bauchat/ue10C/tp/CCM%20%20principe.htm>. Site consulté le 05/05/2022.
- [56]- Chabbi B. & Badraoui I. « Etude du potentiel de rendement en huiles essentielles de deux plantes aromatiques et leurs activités antifongiques ». Mémoire de Master en Sciences Agronomiques. Université 08 Mai 1945 de Guelma (Algérie), **2021**.
- [57]- https://www.agro.basf.fr/fr/cultures/cultures_legumieres/maladies_des_cultures_legumieres/maladies_fraises.html. Site consulté le 22/05/2022.
- [58]- Soylu E.M., Kurt Ş. & Soylu S. « In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea* ». International Journal of Food Microbiology. 143, 183–189, **2010**.
- [59]- Adebayo O., Dang T., Bélanger A. & Khanizadeh S. « Antifungal Studies of Selected Essential Oils and a Commercial Formulation against *Botrytis Cinerea* ». Journal of Food Research. Vol. 2, No. 1, **2013**.
- [60]- Achouri I. & Belilet K. « contribution à l'étude des activités biologique des huiles essentielles des feuilles de *Myrtus communis L* (Rihan) de la région de Tlemcen ». Mémoire de Master en biologie, université de Tlemcen (Algérie), **2018**.
- [61]- Sadou M. & Hamidi A. « Huiles essentielles et extraits éthanoïques de *Myrtus communis L* ; étude de composition chimique et de l'activité antioxydante ». Thèse d'ingénieur d'état en biologie. Université de Bejaia Abderrahmane mira (Algérie), **2012**.
- [62]- ANSM « Huile essentielle de Myrte ». Pharmacopée française. **2013**.
<https://ansm.sante.fr/uploads/2020/10/22/huile-essentielle-de-myрте.pdf>
- [63]- AFNOR NFT75-112. « Huiles essentielles » : échantillonnage et méthodes d'analyses monographiques relatives aux huiles essentielles (Tome 02). **2000**.
- [64]- www.oleassence.fr donné par Christine Cuisiviez (pharmacienne experte en dermatologiec cosmétique) France.
- [65]- Chebaibi A., Marouf Z., Rhazi-Filali F., Fahim M. & Ed-Dra A. « Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc ». Lavoisier, Phytothérapie DOI 10.1007/s10298-015-0996-1, **2015**.
- [66]- Cheraitia R. & Djebli Z. « Étude comparative de la composition chimique de l'huile essentielle de Myrte (*Myrtus communis L.*) de différentes régions d'Algérie ». Mémoire de Master en Chimie Pharmaceutique. Université Mohammed Seddik Ben Yahia –Jijel (Algérie), **2020**.

[67]- Chraibi M., Fikri-Benbrahim K., Edryouch A., Fadil M. & Farah A. « Caractérisation chimique et activités antibactériennes des huiles essentielles de *Pelargonium graveolens* et *Myrtus communis* et leur effet antibactérien synergique ». Lavoisier, Phytothérapie DOI 10.3166/phyto-2019-0208, **2019**.

RESUME

Ce travail porte sur l'extraction et l'application de l'huile essentielle (HE) de Myrte sauvage (*Myrtus communis* L.), en utilisant la matière sèche et fraîche. L'extraction des huiles essentielles de myrte a été réalisée par hydrodistillation à l'aide de deux montages différents : par tube simple et par le procédé de Clevenger, afin de comparer le rendement des deux procédés d'extraction. La caractérisation organoleptique et physico-chimique des HEs a montré que les huiles récupérées par Clevenger sont de meilleure qualité et plus pures par rapport à celles récupérées par hydrodistillation par tube simple. Des analyses chromatographique (CCM) et spectroscopiques (IRTF et UV-Vis) ont permis l'identification des composants chimiques majoritaires présents dans l'huile et leur confrontation avec les données de la littérature.

L'huile essentielle des feuilles fraîches du myrte extraite par le procédé de Clevenger a montré une bonne activité antifongique à l'égard d'une souche du champignon phytopathogène *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise de plusieurs plantes cultivées (vigne, fraise, tomate, concombres, plantes ornementales...) par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats de notre étude montrent que le Myrte sauvage possède une activité biologique intéressante et un grand potentiel pour la lutte contre les champignons ravageurs.

Mots clés : Huile essentielle, Extraction, Application, Myrte, Activité antifongique.

ABSTRACT

This work focuses on the extraction and application of the essential oil of Wild Myrtle (*Myrtus communis* L.), using the dry and fresh material. The extraction of Myrtle essential oils (EO) was made by hydrodistillation using two different setups: by single tube and by the Clevenger process, in order to compare the performance of the two extraction processes. The organoleptic and physico-chemical characterization of EOs has shown that oils recovered by Clevenger are of higher quality and purer compared to those recovered by single tube hydrodistillation. Chromatographic analyzes (CCM) and spectroscopy (IRTF and UV-Vis) allowed the identification of the chemical components majorities present in the oil and their comparison with data from the literature.

The essential oil from fresh myrtle leaves extracted by the Clevenger process has showed good antifungal activity against a strain of the fungus phytopathogen *Botrytis cinerea*, agent of gray rot of several cultivated plants (vine, strawberry, tomato, cucumber, ornamental plants, etc.) by the diffusion method on disk. The results of our study show that wild myrtle has an activity of biological interest and a great potential for the fight against fungal pests.

Keywords: Essential oil, Extraction, Application, Myrtle, Antifungal activity.

نبذة مختصرة

يركز هذا العمل على استخراج واستخدام الزيت العطري (EO) من الآس البري (*Myrtus communis* L.) ، باستخدام مادة جافة وطازجة. تم استخلاص زيوت الآس عن طريق التقطير المائي باستخدام طريقتين: بواسطة أنبوب بسيط وبواسطة عملية Clevenger ، من أجل مقارنة محصول عمليتي الاستخراج. أظهر التوصيف الحسي والفيزيائي والكيميائي لـ EOs أن الزيوت التي استعادها Clevenger هي ذات جودة أفضل وأبقى مقارنة بتلك التي تم استعادتها عن طريق التقطير المائي الأنبوبي البسيط. أتاحت التحليلات الكروماتوغرافية (CCM) والتحليلات الطيفية (IRTF و UV-Vis) تحديد المكونات الكيميائية الرئيسية الموجودة في الزيت ومقارنتها ببيانات من المراجع العلمية.

أظهر الزيت الأساسي لأوراق الآس الطازجة المستخرجة بواسطة عملية Clevenger نشاطاً مضاداً للفطريات جيداً ضد سلالة من الفطريات الممرضة للنبات *Botrytis cinerea* ، عامل التعفن الرمادي في العديد من النباتات المزروعة (الكرمة ، الفراولة ، الطماطم ، الخيار ، نباتات الزينة ، إلخ) عن طريق طريقة انتشار القرص. تظهر نتائج دراستنا أن الآس البري له نشاط بيولوجي مثير للاهتمام وإمكانية كبيرة لمكافحة فطريات الآفات.

الكلمات المفتاحية: زيت عطري ، استخلاص ، تطبيق ، آس ، نشاط مضاد للفطريات.