

N° d'ordre : 18 / 2008- M / CH

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene

FACULTE DE CHIMIE



MÉMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de MAGISTER

En CHIMIE

Spécialité : **CHIMIE ORGANIQUE APPLIQUEE**

Par : M^{elle} **BENDJERSI FATIMA ZAHRA**

THEME

**EXTRACTION ET ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES DE DEUX
PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES: LA MARJOLAINE (*origanum
majorana L.*) ET LE LAURIER NOBLE (*laurus nobilis L.*) POUSSANT EN
ALGÉRIE.**

Soutenu publiquement le 23 / 11/ 2008, devant le jury composé de :

M. A. BENABOURA	Professeur (U. S. T. H. B)	Président
M ^{elle} F. TAZEROUTI	Maître de conférences (U. S. T. H. B)	Directeur de thèse
M ^{me} B. DJERDJOURI	Professeur (U. S. T. H. B)	Examineur
M ^{me} A. BOUTEMEUR	Maître de conférences (U. S. T. H. B)	Examineur
M. Y. FOUJIL CHERIF	Maître de conférences (U. S. T. H. B)	Examineur

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire d'analyse organique fonctionnelle de la faculté de chimie de l'université des sciences et de la technologie Houari Boumediene (UST HB), sous la direction de M^{elle} Fairouz Tazerouti maître de conférences à l'USTHB.

Tout d'abord je remercie monsieur le professeur A. Baali ouamer, le directeur du laboratoire d'analyse organique fonctionnelle de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, ainsi que pour ses conseils et son encouragement, qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

Mes remerciements vont aussi à monsieur le professeur B. Y. Meklati, directeur du centre de recherche scientifique et technique en analyse physico-chimique (CRAPC) de m'avoir autorisée d'effectuer les analyses nécessaires pour la réalisation de ce travail.

Je tiens tout particulièrement à remercier M^{elle} Fairouz Tazerouti de m'avoir proposé ce sujet et de m'avoir guidé tout au long de ce travail, qu'elle trouve ici ma plus profonde reconnaissance et sincères remerciements.

Je suis très sensible à l'honneur que me fait monsieur A. Benaboura, professeur à l'USTHB ; d'avoir accepté de présider le jury de cette thèse, je le remercie vivement.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance au professeur B. Djerdjouri, directrice du laboratoire de pharmacologie à la Faculté des sciences naturelles à l'USTHB de m'avoir accueilli dans son laboratoire pour effectuer les tests de l'activité antioxydante. Sa grande expérience et ses précieux conseils ont permis la réalisation de cette partie de ce mémoire. Je la remercie également d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse.

J'exprime mes profonds remerciements à M^{me} A. Boutmeur et à M^r Y. Foudil-Cherif, maîtres de conférences à l'USTHB, pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de participer au jury de cette thèse.

Je suis très heureuse de témoigner ma gratitude à M^r B. Y. Badjah-Hadj-Ahmed, M^r A. Baali ouamer, M^{elle} L. Boudarene et M^r Y. Foudil-Cherif pour leur aide morale et pratique afin de mener à bien ce travail, sans oublier tous mes collègues du laboratoire.

Un gros bouquet de remerciements je l'offre au personnel du centre de recherche scientifique et technique en analyse physico-chimique (CRAPC) pour leur disponibilité, leurs encouragements et leur aide à la réalisation de ce travail.

Je remercie également M^{elle} R. Slimani, ingénieur du laboratoire de pharmacologie de la faculté des sciences naturelles à l'USTHB d'avoir accepté d'effectuer les tests biologiques en ma présence.

En fin je remercie infiniment toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Je dédie ce travail à toute ma famille, particulièrement à ma très chère maman qui ma tant donnée et tant aimée, à mes soeurs et mes frères, aux adorables nièces neveux et à ma chère amie Dalila.

ABREVIATIONS UTILISEES

HE : Huile essentielle.

HD : Hydrodistillation.

ESSAM : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes.

INRA : Institut national de la recherche en agronomie.

n_D^{20} : Indice de réfraction.

GC : Chromatographie en phase gazeuse.

GC/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

IE : Impact électronique.

eV : Electron volt.

Ref : référence.

Tr : Temps de rétention.

IK : Indice de Kovats.

ROS : espèces réactives de l'oxygène.

CUR : Curcumine.

PMA : Phorbol myristate acétate.

RDA : Rétro Diels-Alder.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
---------------------------	---

CHAPITRE I

GENERALITES

I.1. Généralités sur les huiles essentielles.....	3
I.2. Effets de certains composés présents dans l'huile essentielle de Laurier et de la Marjolaine.....	4
I. 3. Le Laurier.....	4
I. 3. 1. Description botanique et distribution géographique.....	4
I. 3. 2. Composition de l'huile essentielle de Laurier.....	5
I. 3. 3. Domaines d'utilisation de l'huile essentielle de Laurier.....	7
I. 4. La Marjolaine.....	8
I. 4. 1. Description botanique et distribution géographique.....	8
I. 4. 2. Composition de l'huile essentielle de la Marjolaine.....	9
I. 4. 3. Domaines d'utilisation de l'huile essentielle de la Marjolaine.....	11
Bibliographie.....	12

CHAPITRE II

EXTRACTION ET INDICES PHYSIQUES

I. Extraction.....	15
I. 1. Procédé classique d'extraction.....	15
• Phénomènes physico-chimiques et température au cours de l'hydrodistillation.....	16
I. 2. Extraction par micro ondes.....	16
• Extraction par solvant assistée par micro ondes.....	16
• L'entraînement à l'air assistée par micro ondes.....	17
• L'hydrodistillation par micro-ondes sous pression réduite	17
• L'hydrodistillation assistée par micro ondes.....	17

• L'extraction sans solvant assistée par micro ondes.....	17
I. 3. D'autres méthodes d'extraction.....	19
II. Matériel botanique et extraction.....	20
II. 1. Le Laurier.....	20
II. 2. La Marjolaine.....	20
II. 3. Dénomination.....	21
II. 4. Rendement.....	21
III. Indices physiques.....	24
IV. Partie expérimentale.....	26
Bibliographie.....	27

CHAPITRE III

ANALYSE DE L'HUILE ESSENTIELLE DU LAURIER ET DE LA MARJOLAINE PAR LE COUPLAGE GC/MS EN IMPACT ELECTRONIQUE

I. Introduction.....	29
I.1. Chromatographe en phase gazeuse.....	29
I. 1. a. L'injecteur.....	30
I. 1. b. Le four et la colonne capillaire.....	30
I. 2. Le spectromètre de masse.....	31
II. Résultats et discussion.....	32
II. 1. Les échantillons de la Marjolaine.....	32
II. 2. Les échantillons du Laurier.....	47
II. 3. Problèmes rencontrés lors de l'identification.....	66
III. Partie expérimentale.....	70
Bibliographie.....	71

CHAPITRE IV

EFFET ANTIOXYDANT DE L'HUILE ESSENTIELLE DE LAURIER ET DE LA MARJOLAINE

I. Introduction.....	74
II. Matériels et méthodes	74
II. 1. Matériels.....	74
II.1.1. Matériel chimique.....	74
II.1.2. Matériel biologique.....	75
II. 2. Méthodes.....	75
II.2.1. Préparation des cellules à tester.....	75
II.2 .2. Mesure de l'absorbance.....	76
III. Résultats et discussion.....	76
Bibliographie.....	80
CONCLUSION GENERALE.....	81

INTRODUCTION

Introduction

Depuis le moyen âge, les huiles essentielles ont été employées pour des applications médicinales et cosmétiques, elles sont même utilisées dans les industries alimentaires et agricoles (1). Elles sont extraites dans diverses plantes aromatiques généralement localisées dans les pays à climat tempéré et chaud, comme les pays méditerranéens et tropicaux, où elles présentent une partie importante de la médecine traditionnelle.

Les huiles essentielles extraites dans la plupart des cas par hydrodistillation contiennent une variété de molécules volatiles telles que les terpènes et les sesquiterpènes responsables des propriétés bactéricides et fongicides ; dans le cas d'une extraction par solvant, les composés obtenus sont généralement lourds tels que les flavonoïdes et les alcaloïdes qui sont responsables des propriétés anti-oxydantes.

Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle important dans la protection des plantes en tant qu'antibactériens, anti-virales, anti-fongiques et insecticides. Certaines huiles essentielles peuvent également attirer quelques insectes pour favoriser la dispersion des pollens et des graines, ou repousser d'autres indésirables.

Parmi les espèces végétales (800 000 à 1 50 0000 selon les botanistes), 10% seulement sont dites aromatiques, c'est à dire capable d'élaborer les constituants des huiles essentielles. Elles sont réparties sur un nombre de familles limité, exemple : *Myrtaceae*, *Lauraceae*, *Rutaceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Poaceae*, *Zigiberaceae* et *Piperaceae* (2). Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales Algériennes adoptée par notre laboratoire, nous nous sommes intéressés dans ce travail à deux plantes appartenant à deux familles différentes très utilisées pour leurs propriétés médicinales il s'agit notamment du Laurier (*laurus nobilis L.*) de la famille des *Lauraceae* et la Marjolaine (*origanum majorana L.*) de la famille des *Lamiaceae*.

- La première partie de ce travail comportera des généralités sur les huiles essentielles en général ainsi que sur les deux plantes étudiées.
- La deuxième partie concernera les différentes méthodes d'extraction ainsi que les indices physiques des huiles essentielles obtenues.

- Dans la troisième partie une étude qualitative et semi quantitative des huiles essentielles sera effectuée grâce au couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse.
- La quatrième partie consiste à étudier les propriétés anti-oxydantes des huiles essentielles des deux plantes.

Bibliographie :

(1) M. T. Baratta, H. D. Dorman, S. G. Deans, A. C. Figueiredo, J. G. Barroso et G. Ruberto, «Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils», *Flavour and fragrance journal* , (1998),13, 235-244.

(2) M.Lahlou, «Method to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils», *Phytotherapy Research*, (2004), 18, 435-448.

CHAPITRE I
GÉNÉRALITÉS

1.1. Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles et leurs composants, produits par le métabolisme secondaire des plantes (1), ont plusieurs applications en médecine traditionnelle, dans l'aromatisation des aliments et dans l'industrie pharmaceutique. Les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles ont été connues depuis longtemps, et ont suscité un intérêt croissant de plusieurs auteurs (2, 3, 4).

L'huile essentielle représente l'ensemble des substances volatiles de faible masse moléculaire extraite du végétal, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par expression à froid (pressage des zestes des fruits frais : ex. citrus), ou par hydrodistillation. On adapte aussi l'appellation d'huile essentielle pour les extraits obtenus par extraction sans solvant assistée par micro-ondes (5). Les propriétés physiques des huiles essentielles rendent leur extraction à la vapeur d'eau plus aisée ; on les appelle huiles essentielles, parce que comme l'essence elles s'enflamment, on les appelle d'ailleurs aussi essences.

Les plantes médicinales les plus étudiées pour leurs propriétés antimicrobiennes et antifongique de leurs huiles essentielles appartiennent à la famille des lamiacée : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge...etc. En effet, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol qui sont majoritairement présents dans l'huile essentielle de cette famille, ont des effets antiseptiques, antibactériens et antifongiques (2). La composition chimique d'une huile essentielle dépend de plusieurs paramètres : les conditions environnementales, la saison où l'étape d'échantillonnage a été effectuée, la procédure et le temps de séchage et de la méthode d'extraction.

Les huiles essentielles sont présentes dans toutes les parties d'une plante (bourgeons, fleurs, feuilles, tiges, graines, fruits, racines, bois ou écorce), mais elles se trouvent souvent majoritaires dans l'une d'elles.

Dans le cas de laurier et de la marjolaine, une abondance d'huile essentielle a été constaté pour les feuilles (6, 7). Pour le laurier un pourcentage appréciable d'essence est présent dans les tiges (8).

1)2. Effets de certains composés présents dans l'huile essentielle de Laurier et de Marjolaine

Certains auteurs ont étudié l'effet de chacun des composés majoritaires présents dans l'huile essentielle et les ont comparé ensuite à l'effet de l'huile entière :

- 1,8 cinéol a un effet antifongique (9).
- Eugénol et Méthyleugénol ont un effet relaxant et anticonvulsant (10). L'eugénol est couramment utilisé comme aromatisant dans les produits cosmétiques et alimentaires et particulièrement en tant que calmant dentaire (2). Il est aussi actif contre plusieurs bactéries pathogènes et contre les champignons et les virus (2). Il a un effet anti-oxydant très important (6).
- Terpinéol a un effet mutagénique sur les bactéries (11).
- Térpinène-4-ol a un effet antifongique très important (6).
- Thymol a un effet antimicrobien très reconnu mais aussi très irritant, astringent et caustique. A très fortes doses il est responsable de gastralgie avec nausées (12).

1)3. Laurier

1)3.1. Description botanique et distribution géographique

La famille des *Lauraceae*, qui tire son nom de laurier (du latin *Laurus Nobilis L.*), est constituée de 32 genres et environ 2000 à 2500 espèces (13). Elle contient plusieurs plantes aromatiques et médicinales (14), parmi elles le Laurier qui reste le seul représentant de sa famille en Europe (13).

Le Laurier noble ou Laurier d'Apollon ou encore Laurier sauce est originaire de la région de la méditerranée et de l'Asie mineure. Actuellement, la plante est cultivée dans de nombreux pays tel que la Turquie, l'Algérie, la France, la Grèce, le Maroc, le Portugal, l'Espagne, la Belgique, Iles de Canaries, le Mexique, l'Amérique centrale et latine (8). A titre d'exemple, la Turquie, est l'un des principaux producteurs et fournisseurs des feuilles séchées de Laurier, a exporté près de 4 millions de kilogrammes par an entre 1999 et 2001 (5).

Le Laurier se présente sous forme d'un petit arbre diodique auquel ses branches dressées confèrent souvent un pot dense, en fuseau ou pyramidal. Mais il peut aussi s'étaler sur 4 à 6 mètres. Ses feuilles sont lisses, coriaces et brillantes au-dessus et vert pale en dessous ; elles ont une forme de lance plus ou moins large aux bords ondulés et sont alternativement opposées sur les branches (figure 1). Elles sont fortement aromatiques mais aussi très amères, toutefois, par une procédure de séchage, l'amertume peut être considérablement réduite et la saveur peut être améliorée (15). Les fleurs sont jaunes vertes ou blanchâtres, s'épanouissent en avril. Le fruit est une drupe ellipsoïdale noire et les tiges sont droites à écorce lisse. C'est une plante à croissance très lente mais sans doute la fine herbe la plus facile à cultiver en pot, car on peut la rentrer l'hiver comme plante d'intérieur et la cultiver à l'extérieur en été. On peut ainsi récolter les feuilles fraîches en toute saison et la plante peut ainsi vivre 20 ans ou plus.

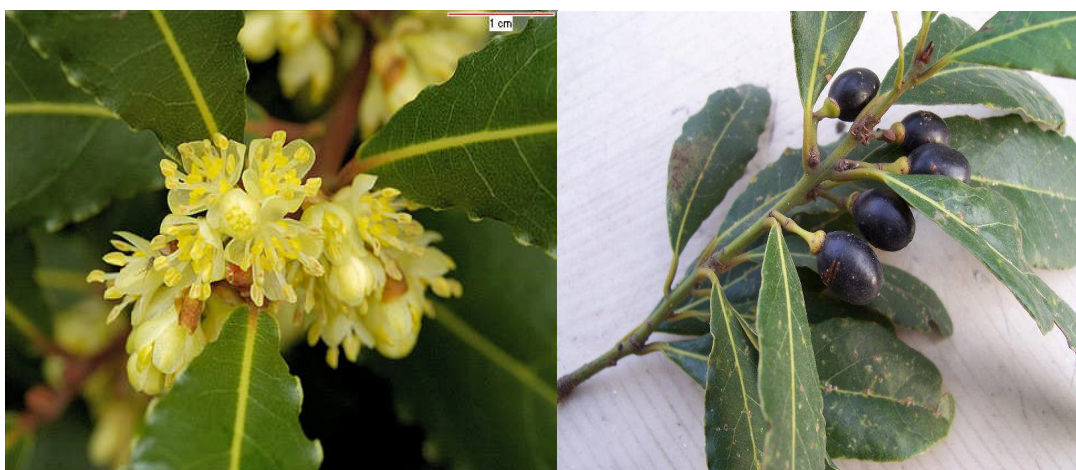


Figure 1 : Feuilles, Fleurs et fruits de *laurus nobilis L.*
(Site web: www.floralimage.co.uk)

1).3.2. Composition de l'huile essentielle de Laurier

L'huile essentielle de Laurier est constituée majoritairement de monoterpènes oxygénés et de monoterpènes hydrocarbonés, alors que la présence des sesquiterpènes est moins importante. Plusieurs études ont mis en évidence la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de laurier ; le nombre de travaux qui s'intéresse à l'huile essentielle des autres organes est limité. Le tableau I présente quelques études faites avec les principaux constituants identifiés :

Tableau I : Principaux constituants de l'huile essentielle de *Laurus Nobilis*
L. cités dans la littérature.

référence	Principaux constituants	Pays
Nbiha Bouzouita et al (2003) (4)	Limonène (42.3 %), sabinéne (5.9 %), oct-1-en-3-ol (5.4 %), α - pinène (7.8 %), α -terpinyl acétate (11.2 %).	Tunisie
Olivera Politeo et al 2007 (6)	1,8cinéol (45,5%), α -terpinyl acétate (9,1%), méthyle eugénol (10%), linalool (8,5%), sabinéne (5,7%)	Croatie
Fiorini et al 1997 (8)	1,8cinéol (39%), linalool (10%), α -terpinyl acétate (18%), méthyle eugénol (11%), sabinéne (4%).	France
Riaz et al 1989 (16)	1,8cinéol (44%), eugénol (15%), sabinéne (6,2%), 4-térpinéol (2,19%), β -pinéne (2,05%).	Pakistan
Guido et al 2007 (17)	1,8cinéol (35,7%), tans-sabinéne hydrate (9.7%), α -terpinylacétate (9,3), methyleugénol (6,8%), eugénol (4,8%).	Italie

Comme le montre le tableau I ; les monoterpènes oxygénés présentent la proportion la plus importante (plus de 50%) avec le 1,8-Cinéol comme composé majoritaire. D'un point de vu quantitatif on observe quelques différences pouvant être dues à plusieurs paramètres (la variation du sol et des conditions climatiques en passant d'un pays à l'autre, l'âge de la plante....).

Certains auteurs ont révélé qu'il semble y avoir une périodicité saisonnière de la synthèse et de l'accumulation de l'huile essentielle par une augmentation au début de l'été et elle devient maximale au milieu de l'été (14).

Dans l'étude de Fiorini et al (8), il a été démontré que la composition de l'huile essentielle de laurier issue des différent organes (feuilles, fleurs et tiges) est très variable, l'huile essentielle des fleurs comparée à celle des feuilles est caractérisée par une teneur élevée en E-Ocimène et en composés sesquiterpéniques comme le β -Caryophyllène, le Viridiflorole, le β -Elemène, le Germacrène D-4-ol et le Germacrène-D. Ce qui est remarquable dans cette étude c'est la teneur en 1,8 cinéol dans les écorces des tiges qui arrive jusqu'à 73%, ce pourcentage est voisin de celui de l'Eucalyptus Globulus : 74% (18).

1).3.3. Domaines d'utilisation de l'huile essentielle de Laurier

Etant l'un des plus célèbres feuilles aromatisantes dans les préparations culinaires dans le monde, le Laurier est couramment utilisé dans les soupes, les ragoûts, les sauces et les marinades. L'huile essentielle du Laurier est utilisée dans l'industrie des produits cosmétiques et pharmaceutiques. Dans la médecine Iranienne traditionnelle le laurier a été utilisé pour le traitement de parkinson et des crises d'épilepsie (19), les hémorroïdes et les rhumatismes (20) et aussi comme diurétique (19) et antifongique (20). Il a même été inclus à la banque de données des remèdes folkloriques Turques (21). Le tableau II présente quelques effets de l'huile essentielle de laurier donnés dans la littérature.

Tableau II : Quelques effets de l'huile essentielle de *Laurus Nobilis L.*

Propriété	Référence
Effet anti-oxydant	Olivera Politeo et al 2007 (6)
Effet protecteur contre les convulsions induites par le pentenyltetrazol chez les souris	Sayyah et al 2002 (10)
Effet antibactérien et antimicrobien	Frazaio et al 1989 (22), M Seyed et al 1991(23)
Effet insecticide	Saim et al 1986 (24), Erler et al 2006 (25)
Effet analgésique et anti-inflammatoire	Sayyah et al 2003 (26)
Effet cytotoxique sur les cellules de cancer ovarien	Gonzalez et al 1978 (27), Schwikkad et al 2000 (28)
Effet de lutte contre le désordre gastrique	Matsuda et al 2002 (29), Barla et al 2007 (30)
Traitement des symptômes de l'ulcère	İlhan Gürbüz et al 2002 (21)

I).4. MARJOLAINE

I).4.1. Description botanique et distribution géographique

La marjolaine (du latin *Origanum Majorana L.*) appartient à la famille des *Lamiaceae*. Elle est native de la méditerranée ; le genre *Origanum* est divisé en 03 groupes, 10 sections, 38 espèces et 17 hybrides (7). Les membres du genre sont distribués le long de la région méditerranéenne, dont 75% sont concentrés à l'est méditerranéen.

La Marjolaine est une plante aromatique à croissance rapide, elle est robuste, herbacée et éternelle. Elle se développe à l'état sauvage dans ces secteurs normaux, ses branches sont dressées et ramifiées, veloutées et rougeâtre (fig. 2). Les feuilles sont vertes foncées ; presque glabres, ovales, opposées et pointues aux extrémités. Les petites fleurs qui s'ouvrent pendant l'été (fin juin jusqu'à septembre) sont de couleur blanche, parfois rose violacée à pourpre, elles viennent réunies en petits bouquets. La plante est très sensible au froid, elle a une odeur spécifique très forte : camphrée, sucrée, chaude et légèrement piquante.



Figure 2 : Feuilles de *l'Origanum Majorana L.* (Site Web : www.Floridata.com)

1).4.2. Composition chimique de l'huile essentielle de la Marjolaine

La composition chimique des différentes espèces d'origan a été largement étudiée. On a postulé que l'huile essentielle de la marjolaine existe sous deux formes (chemotypes). L'une avec le térpinène-4-ol et le sabinène hydrate comme composés majoritaire et l'autre avec le thymol et/ou le carvacrol qui prédomine (31). L'huile essentielle de la marjolaine poussant en Algérie comme il va être démontré ultérieurement appartient au premier chemotype. Il paraît que ce dernier est le plus abondant ; dans le tableau ci-dessous on a cité quelques études faites sur la composition de l'huile essentielle de la Marjolaine dans différents pays avec les chemotypes correspondants :

Tableau III : Etudes faites sur la valorisation de l'huile essentielle de *L'Origanum majorana L.*

Référence	Pays	Chemotype I : Terpinène-4-ol + sabinène hydrate	Chemotype II : Thymol et Carvacrol
M.E. Komaitis et al 1992 (7)	Grèce (halkis area)	+	
R.R.Vera et al 1999 (31)	Ile de la Réunion	+	
E.Vagi et al 2005 (32)	Hongrie	+	
Baser. K.H. et al 1993 (33)	Turquie	+	
Fatma Abd El Lateef Gharib 2006 (34)	Egypte	+	
Ezzedine et al 2001 (35)	Tunisie	+	
Jana R, Ingo S 2007 (36)	USA	+	
Melpomeni et al 1999 (37)	Grèce (Kavousi)		+
Deferera et al 2000 (38)	Grèce (Attiki)		+

L'huile essentielle de la Marjolaine est principalement constituée des alcools monoterpéniques et de monoterpènes hydrocarbonés comme le terpinène-4-ol, le cis et le trans sabinène hydrate, le linalool, l' α terpinéol, le sabinène, l' α terpinène et l' α terpinolène. Elle contient également des composés sesquiterpéniques tels que le bicycloélémane, le bicyclogermacrène et le trans caryophyllène.

L'huile essentielle de la marjolaine renferme aussi quelques traces d'aldéhydes de cétones d'acides carboxyliques et des esters.

1).4.3. Domaines d'utilisation de l'huile essentielle de la Marjolaine

Les feuilles séchées fortement aromatiques de la Marjolaine sont largement utilisées dans l'assaisonnement. L'huile essentielle et les extraits alcooliques ont des applications en pharmacologie, en parfumerie et en cosmétique.

Un effet antimicrobien et antifongique très important a été lié à l'huile essentielle de Marjolaine (32, 35) ainsi qu'une activité antioxydante (38, 40) et insecticide (41, 42).

Bibliographie

- (1) P.J.Schoenmakers, J.L.M.M.Oomen, J.Blomberg, W.Genuit, G.V.Velzen, « Comparison of comprehensive two-dimensional gas chromatography and gas chromatography, *Journal of chromatography*,(2000), A, 892, 29-46.
- (2) F. Dušan, S. Mariá, D. Katarina, B. Dobroslava, «Essential oils-their antimicrobial activity against Escherichia coli and effect on intestinal cell viability», *toxicology in vitro*, (2006),20 1435-1445.
- (3) M. T. Baratta, H. D. Dorman, S. G. Deans, A. C. Figueiredo, J. G. Barroso and G. Ruberto, «Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils», *Flavour and Fragrance Journal*, (1998),13, 235-244.
- (4) N. Bouzouita, F. Kachouri, M. Hamdi, M. M. Mhaabouni, «Antimicrobial activity of essential oils from Tunisia aromatic plants», *Flavour and fragrance journal*, (2003), 18, 380-383.
- (5) M. E. Lucchesi, «Extraction sans solvant assisté par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles», Thèse de Doctorat, Université de la Réunion, faculté des sciences et des technologies (2005).
- (6) O. Politeo, J .Mila, Mlanden.M, «Chemical composition and antioxidant activity of free volatile aglycones from laurel (laurus nobilis L.) compared to its essential oil». *Croatica Chemica Acta*, (2007), 80,1, 121-126.
- (7) M.E. Komaitis, N. Ifanti-Papatragianni, E.Melissari-Panagiotou, «Composition of essential oil of majoram (origanum majorana L.) », *Food chemistry*, (1992), 45, 117-118.
- (8) C.Fiorini, I. Fourasté, B.David and J. M. Bessière, «Composition of the Leaf and Stem Essential Oil from Laururs Nobilis L», *Flavour and Fragrance*, (1997), 12, 91-93.
- (9) F. Mondello, F. De Bernardis, A. Girolamo, A. Cassone and G. Salvatore, «In vivo activity of terpinen-4-ol,the main bioactive component of Melaleuca alternifolia Cheel (tea tree) oil against azol-susceptible and -resistant human pathogenic Candida species», *BMC infectious diseases*, (2006), 6,158.
- (10) M. Sayyah, J. Valizadeh, and M. Kamalinejad, «Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of laurus nobilis against pentylene tetrazole-and maximal electroshok-induced seizures», *Phytomedecine*, (2002), 9, 212-216,
- (11) M. R. Gomes-Carneiro , I. Felzenszwalb, F. J. R. Paumgarten , «Mutagenicity testing (+/-)-camphor, 1,8-cineole, citral, citronellal, (-)-menthol and terpineol with the Salmonella/microsome assay». *Mutation-Research*, (1998), 416, 129-136.
- (12) A. Zamonelli., A. Z. D'Aurelio. A. Severi., E. Benenuti. , L. Maggi. , A. Bianchi., «Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of thymus vulgaris L. » *J. Essential Oil Research*, (2004) 16 ,1, 69-74.
- (13) C.E .William, Trease Evans' pharacognosy. *London: « English Language Book Society»*. (1989).
- (14) V. Demir, T. Gunhan, A.K. Yagcioglu, A. Degirmencioglu, «Mathematical Modelling and the Determination of Some Quality Parameters of air-dried Bay Leaves», *Biosystems Engineeing*,(2004), 88 ,3, 325-335.
- (15) M. M Artukoğlu, A .Uzmaya, «An investigation on the intra and extra trade of medicinal and aromatic plants.Izimir Ticaret Odas 1, (Trade Camber of Izmir), Yayln», Bonova, Turkey (2003).
- (16) M.Riaz, C.M. Ashraf, F.M .Chaudary, Studys of the essential oil of the Pakistani Laurus Nobilis Linn in different seasons. *Pakistan journal of scientific and industrial research*, (1989), 32, 33-35.

- (17) F. Guido, T. Marianna., L.C Pier, C Lucia., S.R And L Rea, L. Iginio, «Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. And a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven». *Journal of chromatography*, (2007), A, 1143, 36-40.
- (18) Y. Foudil-Cherif, «Etude comparative des huiles essentielles Algérienne d'*Eucalyptus Globulus Labill* et *Camaldulensis*», Thèse de Magister, Univ. Sci. Tech. Houari Boumédiène, (1991).
- (19) M.S. Aquili Khorasani, «Collection of drugs (Materia medica) ». Enqelab-e-Eslami Published and Educational Organization, Tehran, (1992), 624-630,
- (20) A. Zagrari, : «Medicinal Plants». Tehran University press, Tehran, 325-328,
- (21) I. Gürbüz, O.Ustün, E. Yeşilada, E.Sezik, N. Akyürek, «In vivo gastroprotective effects of five Turkish folk remedies against ethanol induced lesions», *journal of Ethnopharëacology*, (2002), 83, 241-244.
- (22) F, S, Farazao and D, A, Benigni, , « Antimicrobial Activity of some Essential Oils from Portuguese Flora», *Planta Medica*, (1989), 55, 103.
- (23) M. Seyed., M. Riaz, F.M. Chudhary, «The anti bacterial activity of the essential oil of the Pakistani *Acotus Calmus*, *Callistimon lanceolatus* and *Laurus Nobilis*». *Pakistan journal of scientific and industrial research*, (1991), 34:456-458.
- (24) N. Saim and C. E. Meloan, «Compounds from leaves of bay (*Laurus Nobilis* L.) as repellents for *Tribolium Castaneum* (Herbst) when added to wheat flour, Stored» *Journal of natural product research*,(1986), 22, 3, 141-144
- (25) F. Erler, I. Ulug, B. Yalcinkaya, «Repellent activity of five oils against *Culex pipiens*», *Fitoterapia* (2006), 77, 7, 8, 491,494.
- (26) M. Sayyah, G. Saruokhani, A. Pierovi, & M. Kamalinejad, «Analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus Nobilis* Linn», *Phytoterapy Researches*, (2003), 17,733-736.
- (27) A.G .Gonzalez, V.Darias, G.Alonso, J.N. Boada, M Feria, «Cytostatic activity of sesquiterpne lactones from compositae of the ganary Island», *Planta Medica*, (1978), 33, 356-356.
- (28) S.B.N.Schwikkard, T.E Zhou, J.L Sharp, G.A.Hofmann, M. A.Mattern, et al «Bioactive compounds of *Combretum erythrophyllum*», *Journal of natural products*, (2000), 63, 457-460.
- (29) H. Matsuda, H. Shimoda, K. Ninomia, M.Yoshikawa, «Inhibitory mechanism of costunolide, a sesquiterpene lactone isolated from *Laurus Nobilis* L., on blood-ethanol elevation in rats: involvement of inhibition of gastric emptying and increase in gastric juice secretion», *Alcohol and alcoholism*, (2002), 37, 121-127.
- (30) A. Barla , G. Topçu , S. Öksüz , G. Tümen , D.G.I.Kingston, Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus Nobilis* L. », *Food Chemistry* , (2007) , 104, 1478-1484.
- (31) R.R.Vera, J. Chane-Ming, «Chemical composition of the essential oil of *majoram* (*organum majorana* L.) from reunion Island», *Food chemistry* , (1999), 66 143-145
- (32) E. Vagi , B.Samandi , A. Suhajda , E. Héthelyi, «Essential oil composition and antimicrobial activity of *organum majorana* L. Extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide», *Food research international*, (2005) , 38 51-57.
- (33) K. H.C .Baser, N. Kirimer, «Composition of the essential oil of *organum majorana* L. From Turkey», *journal of essential oil research*, (1993), 5, 577-579.
- (34) F. Abd El Lateef Gharib, «Effect of salicylic acid on the growth, Metabolic activities and Oil content of Basil and Marjoram», *International journal of agriculture & biology*, (2006), 08-4-485-492

- (35) N.B. Ezzeddine, M.M.Abdelkefi, R. Ben Aissa, M.M Chaabouni, «Antibacterial screening of *origanum majorana* L., oil from Tunisia», *journal of essential oil research*, (2001), 13, 295-297.
- (36) J. Rechter, I. Schellenberg, «comparison of different extraction methods for the determination of essential oil and related compounds from aromatic plants and optimization of solid-phase microextraction/gas chromatography», *Anal bioanal chemistry*, (2007), 387, 2207-2217
- (37) M. Skoula , P. Gotsiou, G. Naxakis , C. B. Johnson, «A chemosystematic investigation on the mono- and sesquiterpenoids in the genus *origanum* (Labiatae) », *Phytochemistry*, (1999), 52, 649-657
- (38) D.J. Daferera, B. N. Ziogas, M. G. Polissiou, «GC/MS Analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicilium Digitatum*», *journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2000), 48, 2576-2581.
- (39) M. Suhaj, «Spice antioxidants isolation and their antiradical activity a review», *journal of food composition and analysis*, (2006), 19, 531-537.
- (40) Woo Jin Jun , Bok Kyung Han , Kwang Won Yu , Moo Sung Kim, Ih Seop Chang , Hee Yun Kim , Hong Yon Cho, «Antioxidant effects of *origanum majorana* L. On superoxide anion radical», *Food chemistry*, (2001), 75, 439-444.
- (41) E.H. Koschier, K.A. Seday, «Labiatae essential oil affecting host selection and acceptance of *Thrips tabaci* lindeman», *Crop Protection*, (2003), 22, 929-934
- (42) A. Lamiri, S. Lhaloui , B. Benjilali , M. Berrada , «Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say) », *Field Crops Research*, (2001), 71 9-15.

CHAPITRE II

EXTRACTION ET INDICES PHYSIQUES

I. Extraction

I).1. Procédé classique d'extraction :

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, l'ensemble est porté à ébullition et l'opération se fait généralement à pression atmosphérique. L'eau bouillante ramène avec elle les substances volatiles à faible poids moléculaire ; en passant par le réfrigérant le mélange se condense, il est ensuite récupéré dans une ampoule à décanter ; avec un grand soin, l'huile essentielle surnageante est récupérée (fig.3).

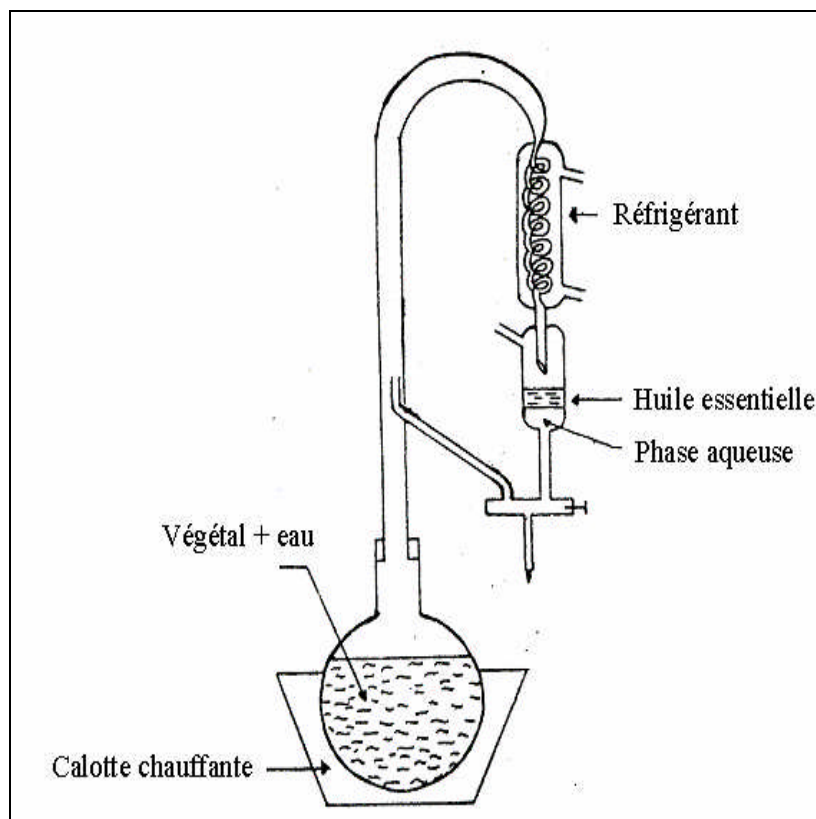


Figure 3 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation (Clevenger).

Une autre technique qui est aussi courante est l'entraînement à la vapeur d'eau. Les parties de la plante à distiller sont placées dans une cuve traversée par la vapeur d'eau. L'huile essentielle est emportée par la vapeur d'eau, cette technique d'extraction garantit une excellente qualité de l'huile essentielle et préserve toutes ses vertus.

- ***Phénomènes physicochimiques et température au cours de l'Hydrodistillation***

Au cours de l'hydrodistillation, le milieu aqueux de pH compris entre 4 et 7 résultant de l'immersion du végétal, atteint parfois des valeurs inférieures à 4 pour certains fruits (1). La matière végétale soumise aux effets combinés de l'acidité et de la chaleur, peut subir des modifications chimiques (hydrolyse, déprotonation, hydratation et cyclisation). Celles-ci peuvent être catalysées par des métaux présents à l'état de trace dans la plante. L'huile essentielle récupérée est un produit qui diffère sensiblement de l'essence originale, d'autant plus que l'ébullition est longue et le pH est faible. Pour limiter ces artefacts il est intéressant de travailler à un pH neutre, ou de minimiser la durée de l'extraction ou encore utiliser des méthodes autres que l'hydrodistillation par exemple l'extraction assistée par micro-ondes.

1).2. Extraction par micro-ondes

L'extraction par micro-ondes est l'une des méthodes d'extraction les plus récentes, inspirée d'un ancien procédé de distillation dite « sèche » utilisé par les alchimistes arabes pour l'extraction des huiles essentielles (2). Depuis 1986 avec les travaux de Ganzaler et *al* (3), l'extraction par micro-ondes a connu de profonds changements. A l'heure où la rapidité, l'efficacité et la sélectivité sont devenues les caractéristiques principales d'une bonne extraction, les travaux sur l'extraction assistée par micro-ondes ne cessent de croître et les nouvelles techniques de fleurir. La chimie analytique a permis ces dernières années de réduire considérablement les temps d'analyse grâce au développement des techniques chromatographiques, les micro-ondes combinées à des techniques d'extraction classiques ont permis à leur tour de remédier aux problèmes des temps d'extraction souvent trop longs. Parmi ces techniques nous citons (4) :

- Extraction par solvant assistée par micro-ondes :

Ce procédé consiste à irradier la matière végétale préalablement broyée par micro-ondes, en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (méthanol) pour l'extraction des composés polaires, ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane) pour l'extraction des composés apolaires. Cette méthode se présentait pour

beaucoup, plus efficace qu'une méthode conventionnelle car elle permettait de réduire le temps d'extraction et donc les dépenses en énergie.

- L'entraînement à l'air assisté par micro-ondes :

En 1989, Carveiro et *al* (5) ont proposé une technique originale d'extraction sans solvant par le chauffage micro-ondes en utilisant un compresseur à air. L'huile essentielle extraite en 5 minutes sous chauffage micro-ondes était qualitativement identique à celle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau en 90 minutes. Le système se compose de trois parties : un compresseur envoyant l'air dans le ballon où se trouve la matière végétale placée dans un four micro-ondes domestique.

- L'hydrodistillation par micro-ondes sous pression réduite :

Cette méthode d'extraction dont l'origine est l'hydrodistillation classique, est basée sur l'utilisation conjointe des micro-ondes et d'un vide pulsé. Le matériel végétal traité, frais ou sec (auquel on rajoute la quantité d'eau requise) est soumis aux micro-ondes dont le rôle est d'assurer le transfert de matière, puis un vide pulsé qui permet l'entraînement azéotropique des substances volatiles à une température inférieure à 100° C. Cette méthode peut être répétée plusieurs fois selon le rendement souhaité.

- L'hydrodistillation assisté par micro-ondes :

Ce procédé basé entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique consiste à placer une partie d'un montage d'hydrodistillation dans le four micro-ondes. Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un ballon disposé dans l'enceinte d'un four micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four. Les avantages de cette technique sont la rapidité et la similitude de la composition de l'huile essentielle par rapport à une hydrodistillation classique.

- L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes :

Si la majeure partie de ces techniques est surtout utilisée pour l'extraction des molécules appartenant à différentes familles chimiques (lipides, contaminants des sols ou des eaux...),

le nombre de travaux relevant de l'extraction assistée par micro-ondes pour l'obtention des molécules aromatiques d'origine végétale ne cesse de croître (2, 6, 7, 8).

Cette méthode d'extraction décrit une distillation sèche assistée par micro-ondes qui consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes sans ajouter ni eau ni solvant organique. Le chauffage de l'eau interne de la plante permet la rupture des glandes contenant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite à partir de l'eau de la matière végétale. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, de façon continue est le retour de l'excès d'eau à l'intérieur du ballon afin de maintenir le taux d'humidité propre au matériel végétal (fig.4).

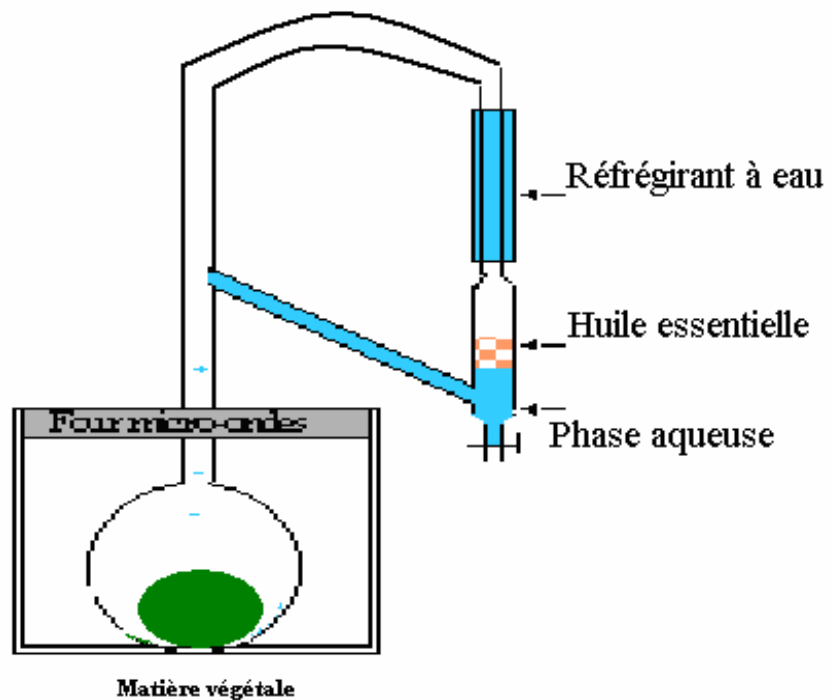


Figure 4 : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes, la comparaison entre cette méthode et le procédé classique d'extraction sera l'un des objectifs du chapitre prochain.

1).3. D'autres méthodes d'extraction

- ***Expression à froid***

Les huiles essentielles d'agrumes sont les seules à être extraites par le procédé d'expression à froid (4). Il est basé sur la rupture des parois des sacs oléifères ; l'essence obtenue est ensuite entraînée par un courant d'eau froide. Une émulsion constituée d'eau et d'essence se forme, l'essence est alors isolée par décantation.

- ***L'enfleurage***

La technique d'enfleurage ou macération est ancienne et n'est plus guère utilisée. Elle concerne les plantes dont l'arôme est trop fragile pour supporter la chaleur d'une distillation. Elle consiste à étendre une couche de matière végétale entre deux couches épaisses de matière grasse. Après avoir renouvelé la matière végétale plusieurs fois la graisse est imprégnée de l'huile essentielle, on débarrasse alors l'essence de l'excédent gras, et l'on obtient un absolu, une huile essentielle de très grande qualité olfactive.

- ***L'extraction par solvant organique***

La technique d'extraction par solvant remplace aujourd'hui celle de l'enfleurage. Elle aboutit aussi à l'obtention d'absolue très recherché par les parfumeurs pour la pureté de leur puissante odeur. Certains composés contenus dans les plantes (responsables du goût brûlant ou piquant, de la couleur ou de la protection vis-à-vis de l'oxydation), sont des substances non entraînaibles à la vapeur d'eau et donc absentes dans l'huile essentielle ; par contre elles sont extractibles par certains solvants organiques, en utilisant ces solvants on obtiendra des extraits beaucoup plus complets renfermant les substances volatiles mais aussi les cires, les triglycérides, les colorants de nature lipidiques et des substances sapides. Le solvant sera ensuite éliminé avec le plus grand soin de manière à ne pas faire disparaître les substances les plus volatiles susceptibles de nous intéresser. Avec cette méthode d'extraction deux types de produits sont obtenus : les concrètes à partir des substances végétales fraîches et des résinoïdes à partir des substances végétales séchées.

II. Matériel botanique et extraction

II).1. Laurier

Les huiles essentielles et leurs composants produits par le métabolisme secondaire des plantes dites aromatique, sont en principe contenus dans toutes leurs parties : fleurs , tiges, feuilles, graines.....etc. En littérature le Laurier a été étudié pour son huile essentielle contenue dans ses feuilles, ses fleurs, ses tiges et son écorce (9- 16).

Notre étude s'est portée sur l'huile essentielle des feuilles et des tiges de Laurier. Cette plante est très utilisée dans notre pays, suite à sa facilité d'adaptation et sa culture. Les échantillons de Laurier utilisés dans ce travail proviennent d'un arbre âgé de 07 ans environ, cultivé dans un jardin privé dans la région de Boghni (Tizi-ouzou).

La composition chimique d'une même plante, peut varier en changeant la méthode d'extraction. Pour mettre en évidence cet effet, on a procédé à deux méthodes d'extraction : l'hydrodistillation et l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes. Par ailleurs, l'hydrodistillation à été effectuée sur les feuilles et tiges fraîches et séchées afin d'étudier l'effet du séchage sur la composition de l'huile essentielle.

II).2. Marjolaine

La Marjolaine est essentiellement étudiée pour son huile essentielle contenue dans ses feuilles (17- 19). Etant donné que cette plante n'est pas très abondante dans notre pays, l'étude sur la marjolaine a été plus limitée.

Les échantillons utilisés dans ce travail, provenant d'un arbre âgé de 08 ans, ont été gracieusement fournis par le jardin d'essais d' EL HAMMA à Alger et l'Institut National de la Recherche en Agronomie (INRA) de Baraki. L'échantillonnage a été fait de manière aléatoire de plusieurs pieds. Deux méthodes d'extraction ont été utilisées pour l'obtention de l'huile essentielle : l'hydrodistillation et l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes.

II).3. Dénomination

La dénomination des différents échantillons étudiés dans ce travail est présentée dans le tableau suivant :

Tableau IV : Dénomination des échantillons étudiés dans ce travail.

Nom de l'échantillon	Plante	Méthode d'extraction	Origine	Partie utilisée	Etat	Période de récolte
M01	Marjolaine	HD	INRA	Feuilles	Fraîche	Novembre 2006
M02	//	HD	EL HAMMA	Feuilles	//	Janvier 2007
M03	//	ESSAM	EL HAMMA	Feuilles	//	Mai 2007
L01	Laurier	HD	Tizi ousou	Feuilles	Séchées	Novembre 2006
L02	//	HD	//	Tiges	Séchées	Novembre 2006
L03	//	HD	//	Feuilles	Fraîches	Février 2007
L04	//	HD	//	Tiges	Fraîches	Février 2007
L05	//	ESSAM	//	Feuilles	//	Mai 2007

HD : Hydrodistillation.

ESSAM : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes.

INRA : Institut National de la Recherche en Agronomie de Baraki.

II).4. Rendement

Plusieurs facteurs peuvent influencer le rendement en essence:

- Le type d'extraction : hydrodistillation, extraction par micro-ondes, extraction par solvant...etc.
- La durée d'extraction.
- L'espèce végétale ; l'origine de la plante ; son âge ; la partie de la plante siège de l'extraction ; la période de récolte et même le temps de récolte (matin, après midi ou soir).
- Les conditions climatiques et géographiques.

Le tableau V regroupe les valeurs des rendements obtenus ainsi que la durée de l'extraction.

Tableau V : Rendement et durée des différentes extractions.

Echantillon	M01	M02	M03	L01	L02	L03	L04	L05
Rendement* (%)	0.4	0.27	0.2	1	0.23	0.7	0.09	0.26
Durée	03 h	03 h	20 min	03 h	03 h	03 h	03 h	20 min

* : Rendement = $(m_{HE} / m_V) \times 100$.
 m_{HE} : Masse de l'huile essentielle.
 m_V : Masse de la matière végétale.

Nous pouvons constater que :

Dans le cas du Laurier, le rendement le plus élevé est observé pour les feuilles séchées (1%) ceci peut être dû à la concentration de l'huile essentielle après élimination de l'eau. Une différence insignifiante (0,617 % pour les feuilles humides et 0,642 % pour les séchées) a été mentionnée par V. Demir et *al* (10) qui ont tenté d'étudier l'effet du séchage sur le rendement en huile essentielle des feuilles de Laurier.

Nous constatons également que les tiges qu'elles soient séchées ou fraîches renferment moins d'huile essentielle que les feuilles ce qui n'est pas en accord avec C. Fiorini et *al* (9) qui ont trouvé un rendement de 0,68 % dans les tiges alors que les feuilles contenaient 0,57 % d'essence. Par ailleurs, le rendement obtenu par l'ESSAM est moins important (0.26 %) par rapport à celui obtenu par hydrodistillation (0,7 %) ce qui prouve l'influence de la méthode d'extraction sur le rendement de l'huile essentielle. Concernant la Marjolaine les rendements obtenus par les deux méthodes sont pratiquement les mêmes (0,27% HD, 0,2 % ESSAM). Ces résultats sont d'autant plus intéressants vu la durée de l'ESSAM qui n'excède pas les 20 minutes alors que la durée de l'HD est de 03 heures.

Par ailleurs les tiges de Marjolaine n'ont donné aucune goutte d'huile essentielle. En effet la partie aqueuse récupérée est très aromatisée, l'utilisation d'une très grande quantité de matière végétale (de l'ordre des kilogrammes) peut conduire à de petites gouttes d'huile essentielle ce qui n'est pas intéressant d'un point de vue industriel.

Dans le but de comparer les rendements des huiles essentielles des deux plantes poussant en Algérie avec ceux des autres pays, on a regroupé les rendements en huile essentielle d'un certain nombre de pays pour les deux méthodes d'extraction.

Tableau VI : Comparaison du rendement en HE du Laurier et Marjolaine cité dans la littérature.

Plante	M E	Pays	Rd (%)	Etat	P U	Référence
Laurier	HD	France	0.57	Fraîche	Feuilles	(9)
Laurier	HD	Iran	1	Fraîche	Feuilles	(14)
Laurier	HD	Croatie	0.62	Fraîches	Feuilles	(16)
Laurier	HD	Algérie	0.7	Fraîches	Feuilles	*
Laurier	HD	Italie	0.78	Séchée	Feuilles	(10)
Laurier	HD	Tunisie	1.3	Séchée	Feuilles	(15)
Laurier	HD	Algérie	1	Séchée	Feuilles	*
Laurier	ESSAM	Italie	0.81 ^a -1.13 ^b	Séchée	Feuilles	(11)
Laurier	ESSAM	Algérie	0.26	Fraîches	Feuilles	*
Marjolaine	HD	Hongrie	0.8	Séchée	Feuilles	(18)
Marjolaine	HD	Grèce	0.2	Séchée	Feuilles+fleurs	(19)
Marjolaine	HD	Ile de la réunion	1	Fraîche	Feuilles+fleurs	(20)
Marjolaine	HD	Algérie	0.4	Fraîche	Feuilles	*
Marjolaine	ESSAM	Brésil	1,17	-	Feuilles	(4)
Marjolaine	ESSAM	Algérie	0.2	Fraîche	Feuilles	*

M E : Méthode d'extraction.

Rd : Rendement.

P U : Partie utilisée.

HD : Hydrodistillation.

ESSAM : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes.

^a : Utilisation d'une puissance de 200 W pendant 1 heure.

^b : Utilisation d'une puissance de 300 W pendant 1 heure.

* : Ce travail.

Comme notifié sur ce tableau, la comparaison des rendements en essence des feuilles de Laurier, permet d'observer que d'une manière générale les feuilles séchées de Laurier renferment plus d'essence que les fraîches. On remarque aussi une concordance entre nos résultats (0,7 % pour les feuilles fraîches et 1% pour les séchées) et ceux donnés par la

littérature (0,576 % - 1 % pour les feuilles fraîches et 0,78 % - 1,13 % pour les séchées). Parmi les équipes qui ont comparé l'HD à L'ESSAM, F. Guido et al (11). Ils ont noté que cette dernière donne plus d'essence ce qui n'est pas le cas pour nos résultats, en effet d'autres facteurs (comme la durée de l'extraction, la puissance de micro-ondes utilisées, l'âge de la plante,.....), peuvent influencer sur le rendement.

Concernant la Marjolaine, qui présente un rendement plus faible que celui du Laurier, on remarque que les valeurs du rendement en essence sont fluctuantes en passant d'un pays à l'autre ce qui rend difficile la comparaison, mais d'une manière globale on peut dire que nos rendements sont du même ordre que ceux des autres pays dans le cas de l'HD, contrairement à l'ESSAM où on remarque une différence considérable (0.2 % dans notre cas et 1.17 % dans la littérature).

III) Indices physiques

La première méthode de valorisation des huiles essentielles est bien la caractérisation organoleptique (odeur, goût, couleur, état ...). Les deux plantes étudiées dans ce travail ont une huile essentielle à odeur agréable très forte et spécifique, sauf pour l'échantillon M02 qui à une odeur moins importante ceci peut être dû à la période de récolte (Janvier 2007). La couleur est jaune pale et l'aspect est d'une certaine viscosité. Cependant cette méthode reste toujours incomplète et subjective, d'où la nécessité d'autres techniques plus objectives telles que la caractérisation des huiles essentielles par les différentes méthodes d'analyse et par les indices physico-chimiques : densité, pouvoir rotatoire, indices de réfraction, solubilité dans l'alcool, indice d'acide, indice d'ester etc.....

Pour notre part, nous avons limité notre étude à la mesure des indices de réfraction uniquement à cause de la faible quantité d'essence pour tous les échantillons obtenus.

Les indices mesurés sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Indices de réfraction des huiles essentielles de Laurier et de la Marjolaine.

Echantillon	Indices mesurés*
M01	1.4739
M02	1.4724
M03	1.4653
L01	1.4700
L02	1.4820
L03	1.4691
L04	1.4696
L05	1.4671

*: La valeur donnée est la moyenne de trois mesures.

Les résultats obtenus montrent qu'une différence dans la composition chimique entraîne une variation de l'indice de réfraction, autrement dit, on remarque que pour l'huile essentielle de la marjolaine extraite par hydrodistillation, l'indice est de 1.4724 alors que pour l'HE extraite l'ESSAM qui montre une certaine différence dans la composition chimique comparée à la première, est de 1.4653.

En ce qui concerne le laurier, l'indice de réfraction varie beaucoup plus en changeant l'organe et la méthode d'extraction. Le séchage a une légère influence sur l'indice de réfraction de l'huile essentielle des feuilles (1.4700 pour les séchées et 1.4691 pour les fraîches) tandis que dans celle des tiges on observe une variation considérable (1.4820 et 1.4690). Ce résultat est en accord avec les résultats obtenus dans le prochain chapitre concernant l'effet du séchage sur la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles et des tiges de laurier.

IV) Partie expérimentale

Extraction :

L'hydrodistillation a été faite en utilisant un Clevenger modifié pendant 03 heures et la matière végétale est bien lavée et pesée avant d'être introduite dans le ballon (fig.3).

La première goutte apparaît après 30 minutes de chauffage, l'huile essentielle est au début de la distillation incolore elle commence à prendre la couleur jaune pale vers la fin. L'HE est séchée sur sulfate de sodium anhydre pour éliminer toutes traces d'eau et est conservée dans des flacons fumés, hermétiquement fermés et à basse température pour éviter sa dégradation.

Dans l'ESSAM il est préférable d'utiliser la plante fraîche pour éviter sa calcination à l'intérieur du four micro-ondes ; les feuilles sont lavées plusieurs fois dans le ballon. Ce dernier est placé dans un four micro-ondes muni d'un Clevenger (fig.4). La puissance utilisée est de 850 W durant 20 minutes en tenant compte du temps mort (temps de l'apparition de la première goutte : 4minutes).

Indice de réfraction n_D^{20} (Norme NF T75-112):

L'indice de réfraction est déterminé par lecture directe sur un réfractomètre de marque KRUSS en employant la lumière diffuse du jour, la température a été maintenue à 20° C à l'aide d'un thermostat.

Bibliographie :

- (1) P. Sandra & C. Bicchi Capillary, «gas chromatography in essential oil analysis», New York, (1987).
- (2) M. E. Lucchesi, «Extraction sans solvant assisté par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles», Thèse de Doctorat, Université de la Réunion, (2005).
- (3) K. Ganzaler, A. Salgo, K.J. Valko, «Microwave extraction: a novel sample Preparation method for chromatography». *Journal of Chromatography*, (1986) A, 371, 229-306.
- (4) M.A. Ferhat, « Extraction sans solvant assistée par micro-ondes des huiles essentielles des citrus d'Algérie, compréhension, application et valorisation », thèse de Doctorat, Univ.sci.Tech.Houari Boumédiène Alger, (2007).
- (5) A.A. Craveiro, F.J.A. Matos, J.W. Alencar, Plumel M.M. «Microwave oven extraction of an essential oil», *Flavour and fragrance*, (1989), 4, 43-44.
- (6) M.G De Vaconcelos Silva., R.N. Dos Santos., F.J Abreu Matos, M.I.L Machado. «Volatile constituents from leaf, inflorescence and root oils of *Ocimum americanum* L. grown in north-eastern Brazil. », *Flavour and Fragrance*, (2003), 18, 303-304.
- (7) F.I. Jean, G.J. Collin, Lord D, « Huiles essentielles et extraits micro-ondes. » *Parfumer & Flavorist*, 1992, 17, 35-41.
- (8) E.E Stashenko., B.E Jaramillo., J.R Martinez, «Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill. N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity», *Journal of Chromatography*, (2004), A, 1025, 93-103.
- (9) C.Fiorini, I. Fourasté, B.David and J. M. Bessière, «Composition of the Leaf and Stem Essential Oil from *Laurus Nobilis* L», *Flavour and Fragrance*, (1997), 12, 91-93.
- (10) V. Demir, T. Gunhan, A.K. Yagcioglu, A. Degirmencioglu, «Mathematical Modelling and the Determination of Some Quality Parameters of air-dried Bay Leaves», *Biosystems Engineering*, (2004), 88 (3), 325-335.
- (11) F. Guido, T. Marianna., L.C Pier, C Lucia., S.R And L Rea, L. Iginio, «Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. And a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven». *Journal of chromatography*, (2007), A, 1143, 36-40.

- (12) A. Barla , G. Topçu , S. Öksüz , G. Tümen , D.G.I.Kingston, Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus Nobilis* L. », *Food Chemistry* , (2007) , 104, 1478-1484.
- (13) N. Saim and C. E. Meloan, «Compounds from leaves of bay (*Laurus Nobilis* L.) as repellents for *Tribolium Castaneum* (Herbst) when added to wheat flour, Stored» *Product Research* (1986), 22, 3, 141-144.
- (14) M. Sayyah, J. Valizadeh, and M. Kamalinejad, «Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *laurus nobilis* against pentylene tetrazole-and maximal electroshok-induced seizures», *Phytomedecine*, (2002), 9, 212-216.
- (15) N. Bouzouita, F. Kachouri, M. Hamdi, M. M. Mhaabouni, «Antimicrobial activity of essential oils from Tunisia aromatic plants», *Flavour and fragrance journal*, (2003), 18, 380-383.
- (16) O. Politeo, J .Mila, Mlanden.M, «Chemical composition and antioxidant activity of free volatile aglycones from laurel (*laurus nobilis* L.) compared to its essential oil». *Croatica Chemica Acta*, (2007), 80, 1, 121-126.
- (17) M.E. Komaitis, N. Ifanti-Papatragianni , E.Melissari-Panagiotou,
a. «Composition of essential oil of majoram (*origanum majorana* L.) », *Food chemistry*, (1992), 45, 117-118.
- (18) E. Vagi , B.Samandi , A. Suhajda , E. Héthelyi, «Essential oil composition and antimicrobial activity of *origanum majorana* L. Extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide», *Food research international*, (2005) , 38, 51-57.
- (19) D.J. Daferera, B. N. Ziogas, M. G. Polissiou, «GC/MS Analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicilium Digitatum*», *journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2000), 48, 2576-2581.
- (20) R.R.Vera, J. Chane-Ming, «Chemical composition of the essential oil of majoram (*origanum majorana* L.) from reunion Island», *Food chemistry* , (1999), 66 143-145.

CHAPITRE III

ANALYSE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE LAURIER ET DE MARJOLAINE PAR LE COUPLAGE GC/MS EN MODE IE

1) Introduction

Nombreux sont les laboratoires aujourd'hui équipés d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse. La technique est généralement désignée par ses utilisateurs sous le terme abrégé " GC/MS" pour "gas chromatography/ masse spectrometry". La GC/MS est aujourd'hui à son apogée et trouve des applications dans des domaines aussi variés. En effet l'association des deux techniques constitue un instrument indispensable en chimie analytique.

1)- 1 Chromatographe en phase gazeuse

Le rôle du chromatographe est de séparer les constituants d'un mélange. La chromatographie en phase gazeuse est réservée à l'analyse des composés volatils et thermiquement stables. Le chromatographe en phase gazeuse est constitué de 03 modules : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur (fig.5). Il existe différents types de détecteurs mais le spectromètre de masse tend à supplanter tous les autres car il est le seul à fournir des informations structurales sur les composés séparés par la chromatographie.

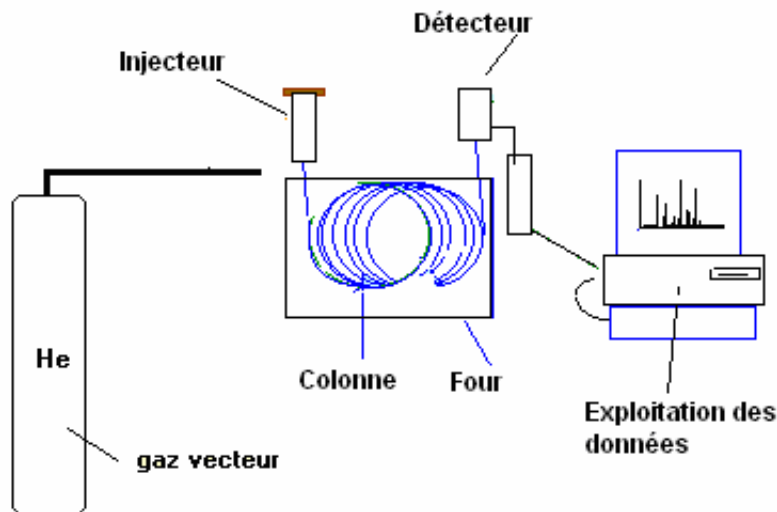


Figure 5: Schéma du chromatographe.

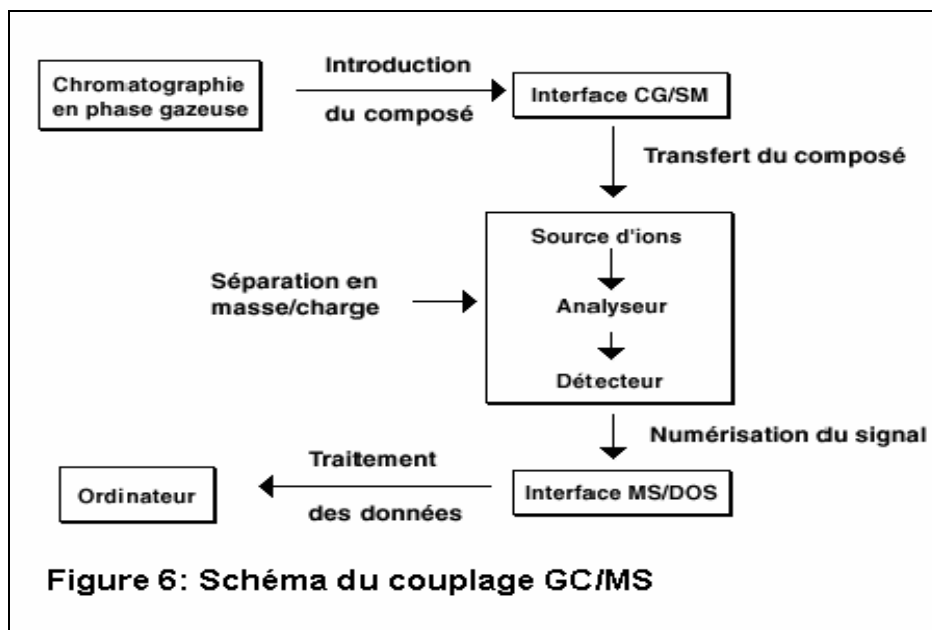
a- L'injecteur

L'injecteur est une zone chauffée où l'échantillon est introduit en solution au moyen d'une seringue puis vaporisé et mélangé au gaz vecteur. Le gaz vecteur, classiquement l'Hélium, constitue la phase dite mobile. Son rôle consiste à véhiculer les solutés depuis l'injecteur jusqu'au détecteur en passant par la colonne analytique.

b- Le four et la colonne capillaire

Le four contient l'élément clé de la séparation chromatographique : la colonne analytique. De nos jours, les colonnes utilisées en GC/MS sont des colonnes dites capillaires ; la colonne est constituée d'un tube de silice fondue dont la paroi interne est couverte d'un film chimique nommé phase stationnaire ; la paroi externe est gainée d'un revêtement en polyamide qui confère la souplesse et la robustesse à la colonne. La phase stationnaire est caractérisée par les fonctions chimiques greffées sur la silice. Si ces dernières sont apolaires (chaîne d'alcane ou groupements phényles, par exemple), la colonne est dite apolaire. Si au contraire, la phase stationnaire est constituée de composés polaires tels que les polyéthylènes glycols, la colonne est dite polaire.

La colonne capillaire sort du chromatographe et entre dans le détecteur (spectromètre de masse) à travers une ligne de transfert. Il s'agit d'un cylindre intensément chauffé de manière à éviter que les molécules éluées ne se condensent entre les deux appareils. La figure 6 présente un schéma simplifié d'un appareil de couplage GC/MS.



I)-2 Spectromètre de masse

Le spectromètre de masse permet l'identification et la quantification des solutés ; il est constitué de trois éléments : une source, un analyseur et un détecteur (1).

❖ La source :

La source est la partie du spectromètre de masse où sont produits des ions gazeux à partir des molécules introduites ; les composés élués arrivent au spectromètre de masse à l'état gazeux, les sources sont dites à impact électronique ou à ionisation chimique ; on parle de EI pour "Electron Impact", de CI pour "Chemical ionisation". Leur utilisation est réservée à l'analyse des composés gazeux ou facilement volatilisables. Dans ce travail on a utilisé le mode d'impact électronique qui consiste à bombarder les molécules par un faisceau d'électrons (produit par le chauffage d'un filament métallique de tungstène ou rhénium le plus souvent) de haute énergie (70 eV généralement). L'impact d'un électron sur une molécule M a pour effet d'arracher un électron à cette dernière, conduisant ainsi à la formation d'un ion radicalaire M^+ . Cet ion acquiert une grande quantité d'énergie interne qui l'amène généralement à se fragmenter spontanément en ions plus petits.

❖ L'analyseur :

L'analyseur sépare les ions produits par la source en fonction de leur rapport m/z.

❖ Le détecteur :

Le rôle du détecteur est double : détecter les ions proportionnellement à leur nombre et amplifier le courant correspondant pour le rendre détectable par l'électronique du système.

Lors d'une analyse chromatographique nous pouvons agir sur plusieurs paramètres:

- Les dimensions de la colonne ainsi que la nature de la phase stationnaire.
- Le gaz vecteur et son débit dans la colonne.
- La température de l'injecteur, du four chromatographique et celle du détecteur.
- La préparation de l'échantillon à analyser : concentration, dilution, quantité injectée.
- Les paramètres d'acquisition du signal électrique qui peuvent modifier la sensibilité.

Notre démarche analytique a consisté à optimiser les méthodes chromatographiques à partir des références bibliographiques. Étant donné que notre huile essentielle contient plusieurs familles chimiques polaires et apolaires, l'utilisation de deux colonnes de polarité différente s'est avérée nécessaire (2). Par ailleurs nous avons calculé les indices de rétention de chaque composé que nous avons pu ensuite les comparer avec les données de la littérature.

Le calcul des indices de rétention en CPG a été introduit par Kovats en 1958 à partir des conditions isothermes. Pour le calcul des indices de rétention en programmation de température nous avons adopté la relation proposée par Van Den Dool et Kratz¹ :

$$IK_{(s)} = 100 \times z + 100 \times n \frac{t_{R(s)} - t_{R(z)}}{t_{R(z+n)} - t_{R(z)}}$$

$t_{R(s)}$ = temps de rétention du soluté (s) étudié.

$t_{R(z)}$ = temps de rétention de l'alcane à (z) atomes de carbones qui précède (s).

$t_{R(z+n)}$ = temps de rétention de l'alcane à (z+n) atomes de carbones qui suit (s).

n : différence du nombre d'atomes de carbones entre les deux alcanes (n= 1 généralement).

Il est à signaler que tous les échantillons ont été injectés au préalable en chromatographie en phase gazeuse seule dans le but d'optimiser les conditions opératoires avant de les injecter en GC/MS.

L'identification a été faite à l'aide d'un logiciel « Chemstation » qui compare les spectres de masse de nos composés, à ceux qui lui sont déjà introduits et donne plusieurs propositions avec un pourcentage de compatibilité décroissant (20 propositions). Le composé sera ensuite confirmé en étudiant sa fragmentométrie, l'indice de rétention va jouer le rôle de filtre quand à la confirmation du composé.

II) Résultats et discussion

II-1) Les échantillons de Marjolaine

Les huiles essentielles étudiées ont été analysées par GC/MS à l'aide de deux colonnes de polarité différentes : l'une polaire (stabilwax) et l'autre apolaire (HP5 MS), les conditions opératoires sont détaillées dans la partie expérimentale.

Un exemple de chromatogramme des échantillons de Marjolaine obtenus sur les deux colonnes est représenté dans les figures de 08 et 09. Dans les tableaux VIII et IX sont regroupés les résultats de l'analyse qualitative et semi-quantitative pour les trois échantillons sur les deux colonnes.

Quelque soit la provenance et quelque soit la méthode d'extraction utilisée, le térapinène-4-ol est incontestablement le composé majoritaire à raison de 25,09 % dans M02 et 17 % dans M01 et M03 (Tab IX). On constate que le pourcentage est maximum dans les feuilles soumises a

¹ : Van den Dool, H. and Kratz, P.D, «A Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas - liquid partition chromatography», *journal of Chromatography*, (1963), 11, 463 - 471.

l'extraction par HD, ce résultat a déjà été signalé dans l'étude de Jana Richter et al (3) en comparant la proportion du terpinén-4-ol contenu dans les feuilles de Marjolaine en utilisant 05 méthodes d'extraction différentes (hydrodistillation, l'extraction par solvant, l'extraction accélérée par solvant, l'extraction par fluide supercritique, microextraction sur phase solide).

La figure 7 représente une proposition de fragmentation du terpinène-4-ol.

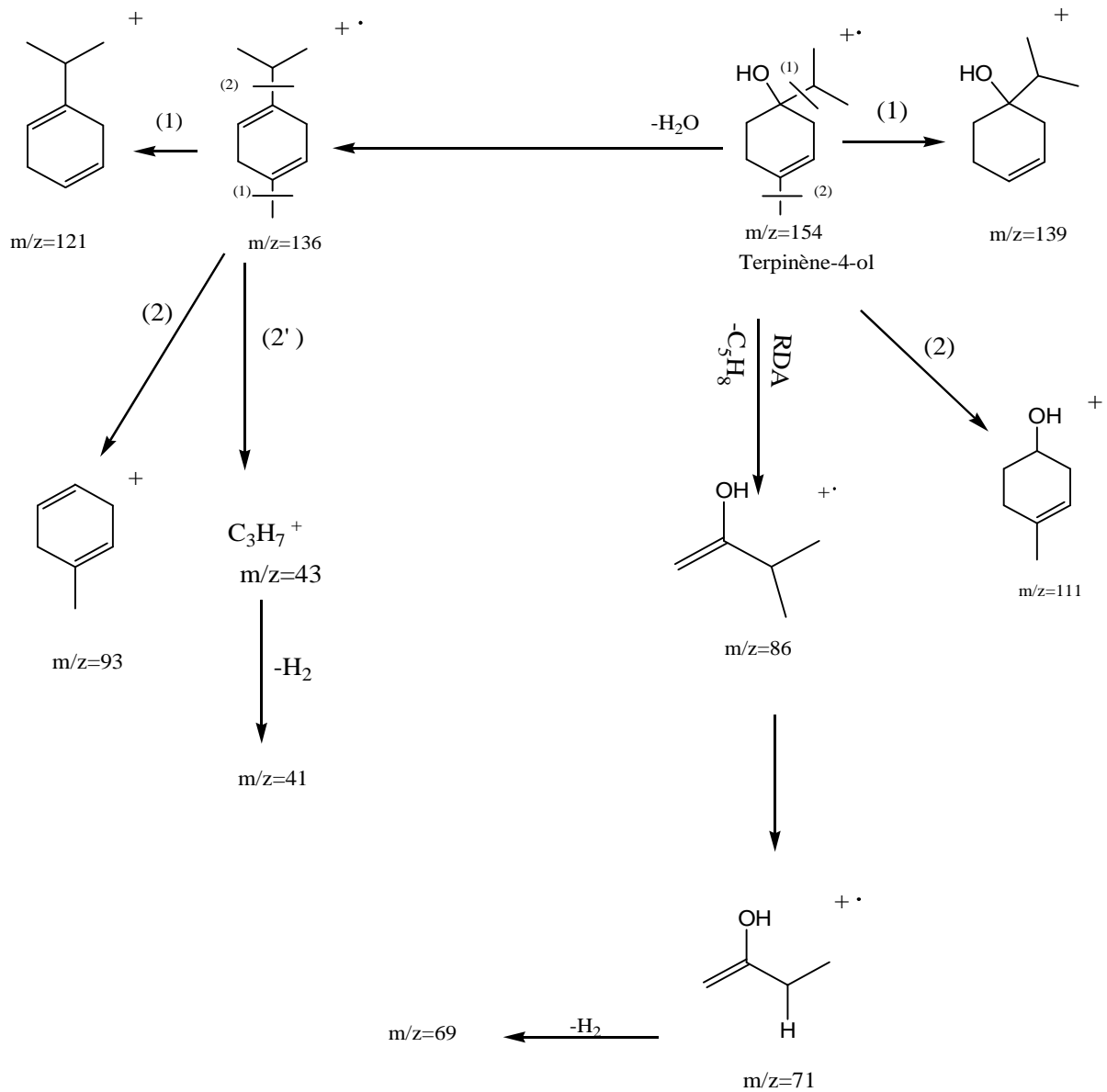


Figure 7 : Proposition d'un schéma de fragmentation du terpinène-4-ol.

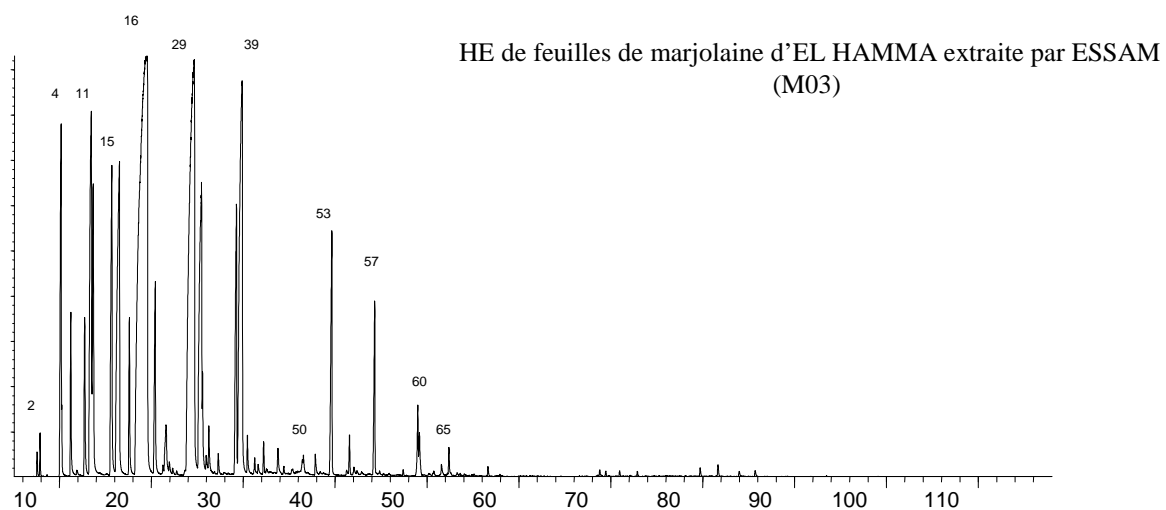
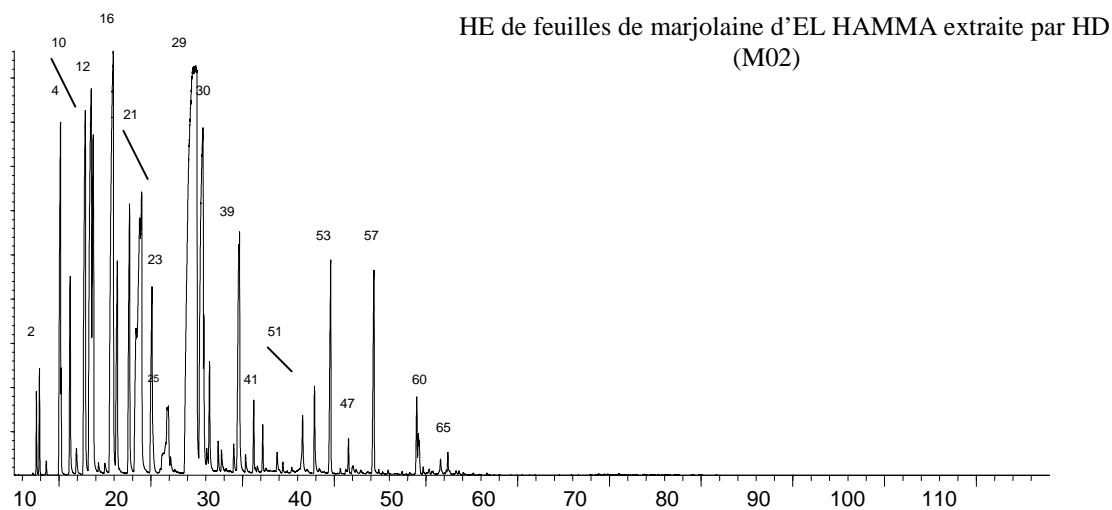
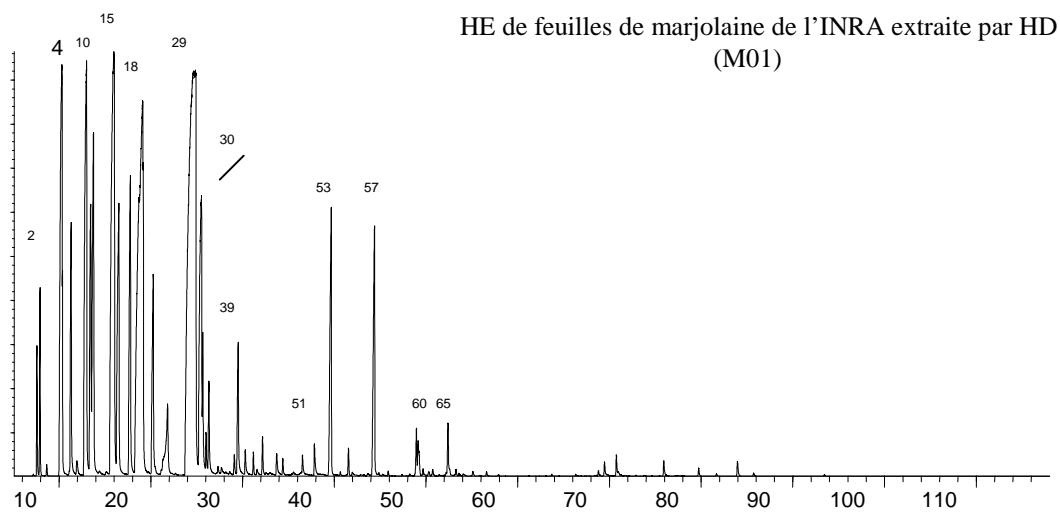


Figure 7 : Chromatogrammes de l'huile essentielle de la Marjolaine (échantillon M01, M02, M03) Obtenus par le couplage GC/MS en mode impact électronique (IE) sur la colonne HP5MS.

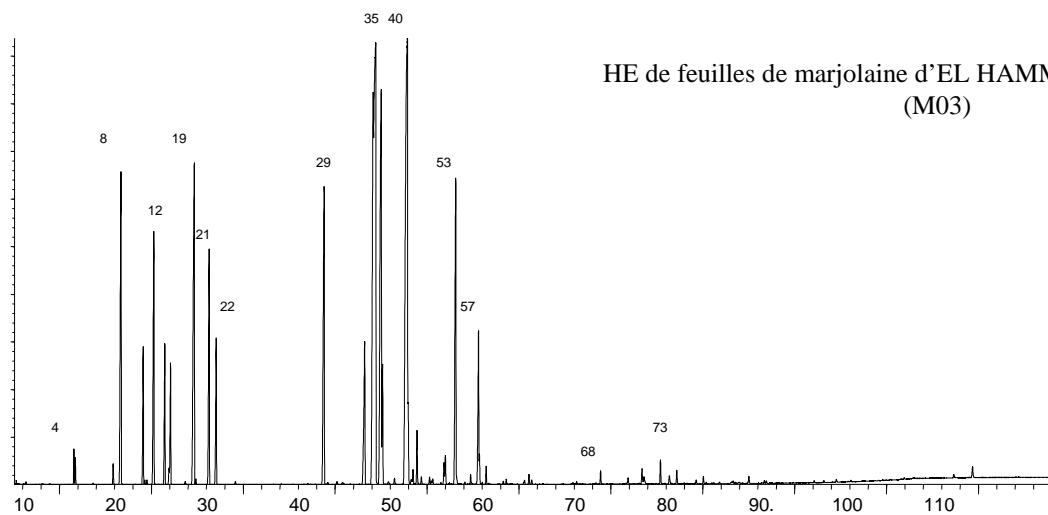
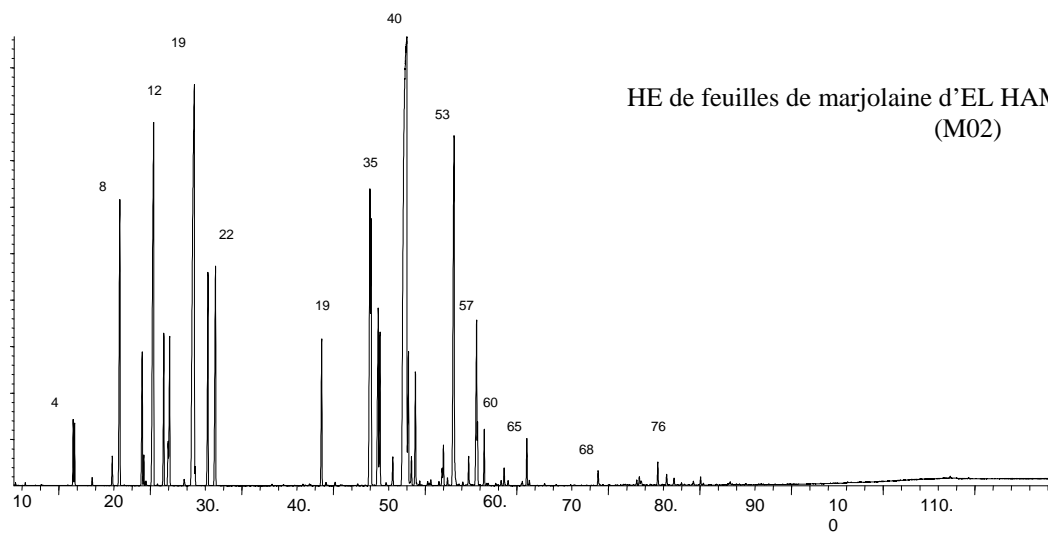
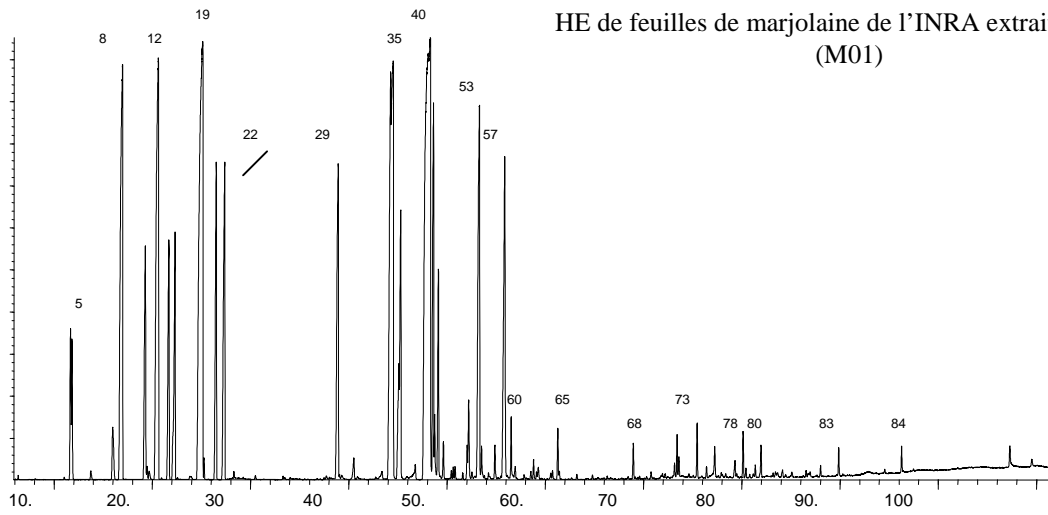


Figure 8 : Chromatogrammes de l'huile essentielle de la Marjolaine (échantillon M01, M02, M03) obtenus Par le couplage GC/MS en mode impact électronique (IE) sur la colonne Stabilwax.

Tableau VIII : Identifications des constituants des huiles essentielles de Marjolaine par GC/MS (sur la colonne HP5 MS).

N°	Composé	IK M01	IK M02	IK M03	REF*
1	α -Thujène	920	919	920	931
2	α -Pinène	926	925	926	939
3	Camphène	940	939	940	953
4	Sabinène	969	967	967	976
5	β -Pinène	971	968	968	980
6	3-Octanone	984	-	-	986
7	β -Myrcène	988	986	986	991
8	α -Phellandrène	999	998	998	1005
9	δ -3-carène	-	-	1004	1011
10	α -Terpinène	1014	1013	1011	1018
11	P-Cymène	1021	1021	1021	1026 ^a
12	β -Phellandrène	1025	1025	1024	1031
13	Cis- β -Ocimène	1035	1034	-	1040
14	Trans- β -Ocimène	1046	1044	1045	1050
15	γ -Terpinène	1057	1057	1054	1062
16	Cis-Sabinène hydrate	1066	1064	1066	1068
17	α -Terpinolène	1084	1083	1082	1088
18	Trans-Sabinène hydrate	1098	1099	-	1097
19	Trans-Sabinène Hydrate+ Linalool	-	-	1099	-
20	Linalool	1105	1102	-	1098
21	Trans-1-Méthyl-4-(1-Méthyléthyl)- , 2-Cyclohexène-1-ol	1121	1119	1123	
22	Cis-pinène hydrate (t)	1123	-	-	1121
23	Trans pinocarvéol	1133	1132	1135	1139
24	Terpinène-1-ol	1143	1135	1140	1134
25	2,3 dihydro 1,8-cinéol	-	1147	1145	
26	Trans-2-carène-4-ol	-	-	1150	
27	Pinocarvone	1155	1154	1156	1162
28	Bornéol	-	-	1169	1165
29	Terpinène-4-ol	1181	1179	1178	1177
30	α -Terpinéol	1195	1197	1193	1189
31	Cis-Piperitol	1198	1200	1197	1193
32	Dihydrocarvone	1203	1204	1202	1200
33	Trans-Pipéritol	1208	1209	1207	1205
34	bicyclo [3,1,0] 5 isopropyl-2- méthyl hexane-2-ol	-	-	1215	
35	Ni	1222	1222	1221	
36	Nérol	1228	1228	-	1228
37	Néral	1235	1235	-	1240
38	Thymyl méthyle éther	1241	1241	-	1235

Tableau VIII : Suite.

N°	Composé	IK M01	IK M02	IK M03	REF*
39	Linalyl Acétate	1254	1256	1260	1257
40	Dihydro linalool acetate	1266	1266	1268	1275
41	Bornyl Acétate	1279	1279	1280	1285
42	Trans linalool oxyde acétate	-	1282	1283	1285
43	Ni	1285	1285	1285	
44	Cis pipéritol acétate (t)	1293	1294	1294	1330
45	Ni	1299	1299	1299	
46	Ni	1317	1317	1318	
47	Bicycloélémente	1327	1327	1327	1330
48	α - terpinyl acétate (t)	1342	1342	1340	1350
49	Ni	-	-	1358	
50	Nérylyl acétate	1360	1360	1360	1365
51	Géranyl acétate	1380	1380	1380	1383
52	Ni	-	1388	-	
53	Trans-caryophyllène	1409	1408	1408	1418
54	Aromadendrène	1425	1425	-	1439
55	α -Humulène	1440	1441	1441	1454
56	Alloaromadendrène	1447	1448	-	1461
57	Bicyclogermacrène	1488	1487	1487	1494
58	δ - Cadinène	1514	1514	1514	1524
59	Lédol	1555	1555	-	1565
60	Spathuléol	1568	1569	1569	1576
61	Caryophyllène Oxide	1571	1572	1572	1581
62	Globulol	1573	1574	-	1583
63	Viridiflorol	1581	1581	-	1590
64	Ni	-	1615	1614	
65	Isospathuléol	1629	1629	1629	
66	Torreyol	1645	1646	1645	1645
67	Ni	1966	-	1966	
68	1-hexane, 1-[4-(4-méthyl-3-pentenyl)-3-cyclohexène-1-yl]	1993	-	-	
69	sclarène	1998	-	1998	1967
70	Abiétatriène	2042	-	2042	2054
71	phytol	2110	-	-	1949
72	Ni	2196	-	2196	
73	Dihydroabiétol	2242	-	2242	2359
74	4-épi -abiétol	2296	-	2296	2341
75	Abiétol	2339	-	2339	2391

* : Référence (4), ^a : Référence (5), t : Tentative d'identification.

Ni : Non identifié.

Tableau IX : Analyse semi-quantitative par GC/MS des huiles essentielles de Marjolaine (sur la colonne Stabilwax).

N°	Composé	MO1		M02		M03		REF
		%	IK	%	IK	%	IK	
1	Acétone	0,01	815	0,02	818	0,02	818	831 ^a
2	3-Méthyl-Butanal	-	-	0,01	918	-	-	
3	Acide Butanoïque, 2-Méthyl-, Méthyl Ester	0,01	1005	-	-	-	-	
4	α -Pinène	1,06	1019	0,64	1021	0,33	1021	1032 ^b
5	α -Thujène	0,82	1022	0,55	1024	0,24	1024	1035 ^b
6	Camphène	0,07	1061	0,09	1064	0,01	1064	1083 ^c
7	β -Pinène	0,59	1105	0,35	1108	0,23	1108	1124 ^c
8	Sabinène	7,01	1122	4,26	1121	5,24	1122	1121 ^c
9	β -Myrcène	2,24	1159	1,63	1162	1,59	1161	1156 ^c
10	α -Phéllandrène	0,09	1162	0,28	1165	0,04	1165	1177 ^c
11	Pseudolimonène	0,08	1166	0,06	1168	0,05	1168	
12	α -Terpinène	7,30	1181	7,85	1182	3,66	1181	1180 ^b
13	2,3-Dihydro-1,8 Cinéole	0,01	1186	0,02	1189	-	-	1195 ^d
14	Limonène	2,14	1199	1,88	1200	1,72	1200	1203 ^e
15	1,8-Cinéole	tr	1208	0,53	1207	-	-	1213 ^f
16	β -Phéllandrène	2,33	1212	1,75	1210	1,60	1209	1218 ^f
17	Cis- β - Ocimène	0,02	1231	-	-	0,06	1250	1228 ^c
18	Trans- β - Ocimène	0,03	1249	0,09	1233	0,04	1233	1250 ^c
19	γ -Terpinène	9,39	1249	13,09	1249	7,07	1248	1251 ^c
20	3-Octanone	0,10	1250	-	-	-	-	
21	P-Cymène	2,77	1252	2,75	1272	3,23	1271	1280 ^e
22	α -Terpinolène	3,53	1270	3,34	1284	1,89	1283	11278 ^c
23	1-octèn-3-one	0,04	1283	-	-	-	-	
24	Cis-3-hexenyl acétate	-	-	-	-	0,03	1314	1329 ^g
25	Cis-3-Hexène-1-ol	-	-	0,02	1375	-	-	1370 ^g
26	1, 3,8-Para-Menthatriène	-	-	0,01	1394	-	-	
27	bis[1-méthyléthylidène] Cyclobutène	-	-	0,01	1426	-	-	
28	P- α -diméthylstyrène	-	-	0,02	1437	-	-	
29	Trans-Sabinène Hydrate	3,55	1442	1,81	1457	5,71	1458	1464 ^c
30	Bicycloélémane	0,21	1461	0,04	1479	0,04	1480	1495 ^b
31	2, 2, 3-triméthyl, 3, cyclopentane-1- acétaldehyde	-	-	0,02	1489	0,05	1489	
32	1-(1,4-Diméthyl-3- Cyclohexèn-1-yl)- éthanone	-	1516	0,02	1519	-	-	
33	Terpinène-4-ol acétate	0,10	1523	-	-	2,80	1528	
34	Linalool	4,97	1526	4,92	1541	8,45	1544	1553 ^h
35	Cis Sabinène Hydrate	6,41	1541	3,51	1543	14,51	1548	1556 ^h
36	Linalyl acétate	1,12	1546	2,92	1556	9,45	1558	1565 ^h
37	Trans-1-Méthyl-4-(1- Méthylethyl)-, 2- Cyclohexèn-1-ol,	2,17	1556	2,08	1559	1,54	1561	
38	Pinocarvone	tr	1569	0,04	1571	0,05	1572	1586 ^h
39	Bornyl acétate	0,12	1581	0,36	1583	0,09	1583	1597 ^h
40	Terpinène-4-ol	17,26	1584	25,09	1608	17,33	1606	1611 ^h

Tableau IX : Suite.

N°	Composé	M01		M02		M03		REF
		%	IK	%	IK	%	IK	
41	Caryophyllène	2,97	1610	1,76	1611	-	-	1612 ^e
42	trans Dihydrocarvone	-	-	-	-	0,09	1613	1624 ^e
43	4-terpinènyl acétate	0,40	1615	0,35	1616	0,18	1616	1628 ^e
44	Terpinène-1-ol	1,47	1617	1,38	1623	0,64	1623	1576 ^g
45	Cis dihydrocarvone	0,24	1623	0,05	1631	0,09	1631	
46	Thuja ketone	0,05	1631	0,05	1645	0,09	1645	
47	Trans pinocarvyl acétate	0,07	1644	0,04	1648	0,05	1648	1661 ^d
48	Trans-Pinocarvéol	0,08	1647	0,08	1651	0,07	1651	1664 ^d
49	δ- terpinéol	0,04	1651	0,04	1665	0,02	1665	1682 ^d
50	α-humulène	0,20	1663	0,20	1671	0,27	1670	1673 ^c
51	Trans pipéritol	0,58	1671	0,49	1673	0,36	1673	1679 ^c
52	1,8-Menthadièn-4-ol	0,06	1673	0,09	1680	0,02	1680	1700 ^d
53	α- terpinéol	4,67	1683	7,33	1692	5,46	1691	1702 ^c
54	Bornéol	0,23	1691	-	-	-	-	1719 ^d
55	1-[1, 2, 3-triméthylcyclopent-2-enyl]-ethanone	0,04	1699	0,02	1701	-	-	
56	Nérylyl acétate	0,21	1709	0,35	1721	0,14	1720	1735 ⁱ
57	Bicyclogermacrène	3,67	1731	3,12	1737	2,65	1736	1744 ^g
58	Cis pipéritol		-		-	tr	1738	1758 ^d
59	α-Farnésène	tr	1744	0,01	1744	0,03	1744	1760 ^b
60	Géranyl acétate	0,37	1743	0,61	1753	0,20	1752	1765 ^d
61	δ-Cadinène	0,09	1751	0,03	1758	tr	1761	1773 ^d
62	Nérol	0,12	1789	0,21	1794	0,06	1794	1808 ^d
63	2,4-decadiènal	0,10	1800	-	-	-	-	1827 ^d
64	Trans-carvéol	0,06	1827	0,07	1831	0,07	1831	1845 ^d
65	Géranol	0,29	1831	0,53	1840	0,11	1840	1857 ^d
66	Para-cymèn-8-ol	0,05	1841	0,06	1845	0,06	1845	1864 ^d
67	2,6-Bis(1,1-Diméthyléthyl) 4-Méthyl Phenol,(BHT)	tr	1877	-	-	-	-	
68	Caryophyllène oxide	0,21	1979	0,20	1990	0,16	1990	1985 ^c
69	Germacrène D-4-ol	0,04	2048	-	2052	0,08	2052	2069 ^j
70	Globulol	0,10	2062	0,02	2078	-	-	2096 ^b
71	Ni	0,24	2076	0,07	2083	0,21	2083	
72	Viridiflorol	0,12	2082	0,10	2087	0,15	2088	2104 ^b
73	Spathuléol	0,32	2116	0,09	2126	0,29	2126	2144 ^b
74	Ni	0,07	2135	0,27	2146	0,15	2146	
75	Ni	0,30	2151	0,15	2163	0,17	2163	
76	Thymol	0,03	2171	0,10	2196	-	-	2155 ^h
77	Carvacrol	0,14	2187	0,02	2208	0,06	2208	2239 ^b
78	Isospathuléol	0,27	2211	0,06	2225	0,08	2225	
79	α- cadinol	0,06	2225	0,10	2232	0,02	2232	2255 ^b
80	13-Octadecanal	0,20	2253	0,02	-	-	-	2353 ^b

Tableau IX : Suite.

N°	Composé	M01		M02		M03		REF
		%	IK	%	IK	%	IK	
81	Ni	-	-	-	-	0,108	2335	-
82	Ni	0,17	2444	-	-	-	-	-
83	Phytol	0,14	2566	-	-	-	-	2622 ^h
84	Acide N-Hexadecanoïque, Acide palmitique	0,18	2641	-	-	-	-	2931 ^h
85	Ni	0,10	*	-	-	-	-	-
86	Acide oléique	1,05	*	-	-	-	-	-

a: Référence (5).

b: Référence (6).

c: Référence (7).

d : Référence (8).

e : Référence (9).

f : Référence (10).

g : Référence (11).

h : Référence (12).

i : Référence (13).

j : Référence (14).

* : Tr composé > Tr du dernier alcane dans la série C₅-C₂₈.

tr: à l'état de traces.

Ni : Non identifié.

D'après la littérature l'*Origanum Majorana* existe sous 2 chemotypes différents (7,15) : le premier avec le terpinène-4-ol seul ou accompagné avec le cis et trans sabinène hydrate comme composés majoritaires et le second avec le thymol et le Carvacrol comme composés prédominants. D'après l'analyse par GC/MS, la Marjolaine poussant en Algérie ferait partie du premier chemotype.

Parmi les composés identifiés, 62 sont commun aux 03 échantillons de marjolaine. Nous citons à titre d'exemple les plus abondants : le Sabinène qui est majoritaire dans l'échantillon M01 (7.10%), l' α -terpinène et le γ -terpinène majoritaires dans M02 (7.85 % et 13.10 %), le Linalool (8.44 %), le Linalyl acétate 9.44 % ainsi que Cis-sabinène hydrate (14.51 %) dans M03. On remarque ici que l'échantillon M03 (ESSAM) contient le pourcentage le plus important en alcools monoterpéniques. Melpomeni et al (16), Komaitis et al (15) et Vagi et al (17) ont signalé que le Cis-sabinène hydrate existe à très faible pourcentage dans l'HE de la marjolaine extraite par hydrodistillation alors que dans notre essence on a un pourcentage de 6 %, un résultat comparable au notre a été signalé par Deferera et al (18).

D'autres composés n'ont été trouvés que dans une seule essence (M01) : il s'agit du Phytol, Cis pinene hydrate, 2, 4 Decadienal, Tetradecanal, 13-Octadiénal, 3-Octanone, 1-Octen-3-one, 2-Méthyl-, Méthyl Ester Acide Butanoïque, Acide Palmitique, Acide Oleique, 2,6-Bis(1,1-Dimethylethyl)-4-Methyl Phenol (BHT), 1-Hexane. Dans l'essence M02 on peut trouver : 3-methyl- Butanal, 1,3,8-paramentatriène, bis[1-methylethylidene Cyclobutene. δ -3-Carène, trans-2-carène-4-ol, bicyclo[3,1,0]- 2-methyl 5 isopropyl- hexane-2-ol, cis-3-hexenyl acétate ont été trouvés dans M03. Il est à noter que mis à part l'acide palmitique (15), tous les autres composés n'ont jamais été cités dans la littérature à notre connaissance.

En conformité avec la littérature (15, 19) les monoterpènes sont principalement représentés dans les échantillons M01, M02, M03 respectivement par : l' α -pinène (7%, 4.26 %, 5.20%), l' α -terpinène (7.30 %, 7.55 %, 3.66 %) et le γ -terpinène (9.39 %, 13.09 %, 7.02 %) ; ce dernier composé apporte aux huiles essentielles une note olfactive fraîche d'agrumes (20).

On trouve aussi une quantité moindre de l'alpha thujene, l' α phellandrène, le Pseudolimonène, ainsi que le cis et trans β - Ocimène et le Camphène.

Le traitement de nos spectres nous a permis par ailleurs l'identification de deux composés diterpéniques : le sclarène et l'abietatriène.

Parmi les sesquiterpènes identifiés, on trouve majoritairement : le Bicycloélémente, le trans Caryophyllène et le Bicyclogermacrène, l'Aromadendrène et l'Alloaromadendrène qui n'ont été décelés que sur la colonne apolaire dans l'HE extraite par HD alors qu'il n'ont pas été identifiés avec l'ESSAM.

Nous devons signaler par ailleurs, que 38 alcools ont été identifiés dont le terpinèn-4-ol, le cis Sabinène hydrate, l' α terpinéol et le linalool sont les plus abondants.

Plusieurs alcools sesquiterpéniques tels que le germacrène D-4-ol, le globulol, le viridiflorol, le spathuléol et l' α cadinol ainsi que d'autres alcools diterpéniques comme l'abiéol et le dihydroabiéol ont été par ailleurs mis en évidence. Il est à noter, qu'à notre connaissance, aucun diterpène n'a été rencontré dans l'huile essentielle de la marjolaine dans la littérature.

Les feuilles de Marjolaine renferment aussi de l'acide Butanoïque 2 methyl, methyl ester, le, le P-cymène-8-ol, 2,4 decadiène et le tetradecanal, composés qui n'ont jamais été, à notre connaissance, rencontrés dans l'HE des feuilles de Marjolaine.

Le tableau X regroupe les pourcentages des différentes familles chimiques présentes dans les trois huiles étudiées, qui sont représentés sous forme d'histogramme sur la figure 10.

On remarque que l'HE de l'échantillon M01 est la plus riche en hydrocarbures monoterpéniques hydrocarbonés et la plus pauvre en composés monoterpéniques oxygénés; l'échantillon M03 contient la fraction monoterpénique oxygénée la plus importante, on remarque aussi un très faible pourcentage de diterpènes hydrocarbonés et oxygénés dans M01 et M03 alors qu'il ne sont pas présents dans l'échantillon M02.

Tableau X : Pourcentages des différentes familles chimiques existant dans l'huile essentielle de la marjolaine.

Echantillon	M01	M02	M03
Monoterpènes	39,45	38,57	36,99
Monoterpènes oxygénés	36,45	52,64	64,34
Sesquiterpènes	6,92	5,10	2,98
Sesquiterpènes oxygénés	0,83	0,73	0,61
Diterpènes	0,081	-	0,07
Diterpènes oxygénés	0,16	-	0,18

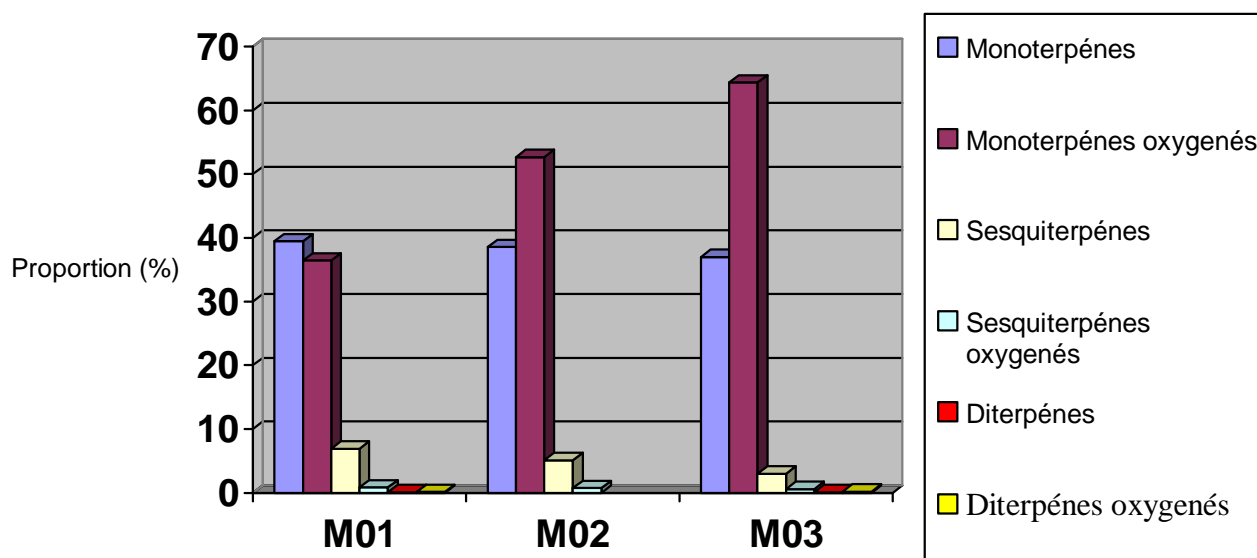


Figure 10 : Proportion de chaque famille de composés existant dans l'huile essentielle des échantillons M01, M02, M03.

Le tableau XI regroupe le nombre de spectres de masse traités et le nombre de composés identifiés dans chaque essence.

Tableau XI : Nombre de spectre de masse et composés identifiés.

Echantillon	M01	M02	M03
Spectres proposés (HP5 MS)	65	58	60
Composés identifiés (HP5 MS)	59	52	52
Spectres proposés (Stabilwax)	77	68	62
Composés identifiés (Stabilwax)	72	65	58
Total des composés identifiés	91	79	75

L'utilisation de 2 colonnes à polarités différentes nous a aidé à confirmer la présence de certains composés et à séparer d'autres élués en même temps; le sabinène et le β -pinène qui ont été co-élués sur la phase HP5 MS, ils sont très bien séparés sur la phase Stabilowax. Le 1,8 cinéol et le Limonène qui n'ont pas été détectés sur la colonne apolaire, ont été décelés sur l'autre colonne.

- Effet de la méthode d'extraction sur la composition chimique de l'HE de marjolaine :

Si on compare les deux méthodes d'extraction (M02 et M03) on peut dire que l'ESSAM est nettement plus performante car en 20 minutes, il est possible d'extraire la même quantité d'huile essentielle (rendement de 0.27% pour l'HD et de 0.2 % pour l'ESSAM) qu'en 03 heures d'hydrodistillation en gardant pour l'essence toute sa richesse. Presque tous les composés extraits par l'HD sont présents dans l'huile extraite par l'ESSAM sauf pour quelques uns qui existent à l'état de trace comme l'aromadendrène, l'alloaromadendène, le thymol, le lédol et le thymyl méthyl éther. L'ESSAM est aussi rentable d'un point de vue économique par rapport à l'hydrodistillation classique. En effet le prix d'une extraction des huiles essentielles pourrait être divisé par un facteur de 10 (21), donc l'ESSAM a prouvé son efficacité du fait qu'elle réduit énormément le temps et économise l'énergie en gardant pour l'huile essentielle toutes ses vertus.

Une étude faite précédemment dans notre laboratoire (21), avait appliqué l'ESSAM à des échantillons de citrus ; les composés oxygénés avaient été extraits prioritairement aux hydrocarbures terpéniques dont la température d'ébullition est pourtant plus faible (phénomène de solubilité dans l'eau l'emporte sur la température d'ébullition), d'autant plus que la fraction oxygénée était nettement plus importante. Ces résultats sont en concordance avec les notres, autrement dit, la fraction oxygénée dans l'huile essentielle extraite par l'ESSAM est de 64.95 % tandis que celle de l'huile essentielle hydrodistillée est de 53.37 % (tableau XII). La figure 11, présente la proportion de la fraction oxygénée au sein des trois huiles essentielles étudiées.

Tableau XII : Fraction oxygénée existant dans les 03 échantillons de marjolaine.

Echantillon	M01	M02	M03
Fraction oxygénée (%)	40,29	53,37	64,95

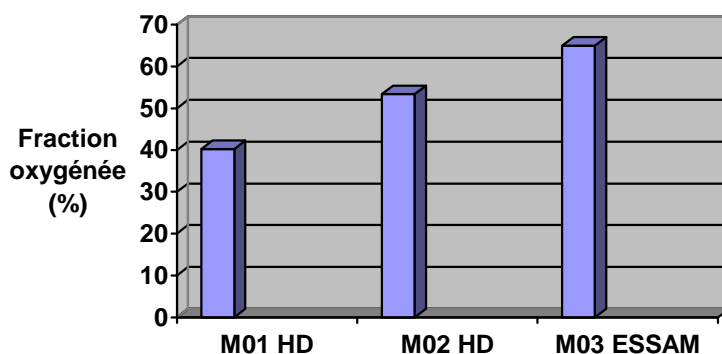


Figure 11 : proportion de la fraction oxygénée au sein de l'huile essentielle de Marjolaine après extraction selon deux méthodes.

La proportion des alcools et des esters monoterpéniques tels que le cis-Sabinène hydrate (14.51 %), le linalool (8.44 %), Linalyl acétate (9.44 %), est nettement plus grande dans l'échantillon M03. Ces composés offrent une valeur importante pour la qualité olfactive ce qui permettrait son utilisation en parfumerie (13), ainsi que pour l'effet anti-microbien de l'essence (18).

Par ailleurs la réduction de la durée d'extraction et l'absence du solvant assuré par la méthode d'extraction ESSAM jouent un rôle dans l'empêchement de la formation des artéfacts pendant le procédé d'extraction. Ceci peut être illustré par la présence du 2,3-dihydro-1,8-cinéol dans l'extrait de l'échantillon hydrodistillé (M02) qui est probablement un composé artéfact du 1,8-cinéol alors qu'il est absent dans celui soumis à une ESSAM (M03).

- Effet de la provenance sur les échantillons :

L'effet du sol et du traitement agricole peut être mis en évidence en comparant les deux échantillons M01 (échantillon de l'INRA) et M02 (échantillon d'EL HAMMA) :

- L'échantillon M01 est caractérisé par une fraction monoterpénique importante alors que dans l'échantillon M02 c'est la fraction oxygénée qui prédomine.
- La présence de la famille des diterpènes dans l'échantillon M01 représentée par le Sclarene et l'Abietatriene, alors qu'elle est absente dans l'échantillon d'EL HAMMA

- Un pourcentage très faible en cis et trans Sabinene hydrate (1,81) dans l'échantillon M02 peut être à l'origine de l'absence de l'odeur spécifique de la marjolaine dans cet échantillon ; certains auteurs (3, 22) ont signalé la transformation du trans sabinène hydrate en terpinène-4-ol, γ -terpinène, α -terpinène et Limonène pendant l'HD sous l'effet de l'acidité et de la chaleur. Nous pensons que c'est ce qui a dû se passer dans notre cas puisque on remarque un pourcentage important de ces trois composés dans cet échantillon.

L'huile essentielle de la Marjolaine poussant en Algérie comparée à celle d'autres pays (appartenant au même chemotype), présente une grande similitude avec une proportion oxygénée considérable, une présence notable des composés sesquiterpéniques et des constituants caractéristiques (17) comme : γ -terpinène, linalool, α -terpinéol, α -terpinolène, α -terpinène, cis et trans sabinène hydrate, β -caryophyllène et Spathulenol (tableau XIII).

Tableau XIII : Comparaison entre la composition en pourcentage de l'huile essentielle de la marjolaine qui pousse en Algérie et celle d'autre pays.

composé	Algérie (M01)	USA ¹	Islande ²	Grèce ³	Hongrie ⁴	Egypte ⁵
α -Pinène	1,06	0,3	0,61	0,9	5,9	1,59
α -Thujène	0,82	-	0,35	-	-	-
Camphène	0,07	-	0,04	-	5,8	-
β -Pinène	0,59	2,4	0,39	0,22	2,2	-
Sabinène	7,01	5,6	4,94	1,45	-	9,79
β -Myrcène	2,24	-	1,64	1,12	0,3	1,87
α -Phéllandrène	0,09	-	0,05	0,57	-	0,02
α -Terpinène	7,30	0,1	2,75	2,24	3,2	2,41
Limonène	2,14	6,7	1,36	1,15	-	-
Cis- β - Ocimène	0,02	-	0,25	1,35	-	-
Trans- β - Ocimène	0,03	-	0,04	0,87	-	-
γ -Terpinène	9,39	10,6	6,89	1,24	14,00	4,77
p-Cymène	2,77	-	7,01	12,05	-	6,28
α -Terpinolène	3,53	4,3	1,82	1,63	1,8	-
Trans-Sabinène Hydrate	3,55	21,2	3,49	2,14	-	6,72
Linalool	4,97	-	0,23	1,96	12,1	-
Cis Sabinène Hydrate	6,41	6,6	14,95	1,43	-	37,5
Linalyl acétate	1,12	-	0,19	1,15	-	1,55
Bornyl acétate	0,12	-	0,06	0,15	-	-
Terpinène-4-ol	17,26	23,3	38,40	37,10	30,3	15,71
Caryophyllène	2,97	2,9	1,16	1,15	1,8	2,63
α -humulène	0,58	-	0,02	-	-	0,19

Tableau XIII : Suite.

composé	Algérie (M01)	USA ¹	Islande ²	Grèce ³	Hongrie ⁴	Egypte ⁵
Trans pipéritol	0,58	-	0,4	0,15	-	-
Cis pipéritol	-	-	0,03	0,1	-	-
α - terpinéol	4,67	3,7	4,88	7,15	4,4	4,8
Néryyl acétate	0,21	-	0,05	-	-	-
Bicyclogermacrène	3,67	1,1	0,6	-	-	-
Géranyl acétate	0,37	-	0,11	tr	-	-
Nérol	0,12	-	0,26	-	-	-
Géraniol	0,29	-	0,19	0,5	-	-
thymol	0,03	-	0,11	0,7	-	-
Caryophyllène oxide	0,21	-	0,11	1,15	1,8	-
Viridiflorol	0,12	-	-	-	-	-
Spathuléol	0,27	0,1	0,25	-	0,25	0,1

¹: (3), ²: (7), ³: (15), ⁴: (17), ⁵: (19).

tr : à l'état de traces.

II)-2 Les échantillons de Laurier

Les chromatogrammes des 05 échantillons de Laurier étudiés dans ce travail obtenus à l'aide de 02 colonnes à polarités différentes : HP5 MS et Stabilwax sont représentés dans les figures de 12 à 15.

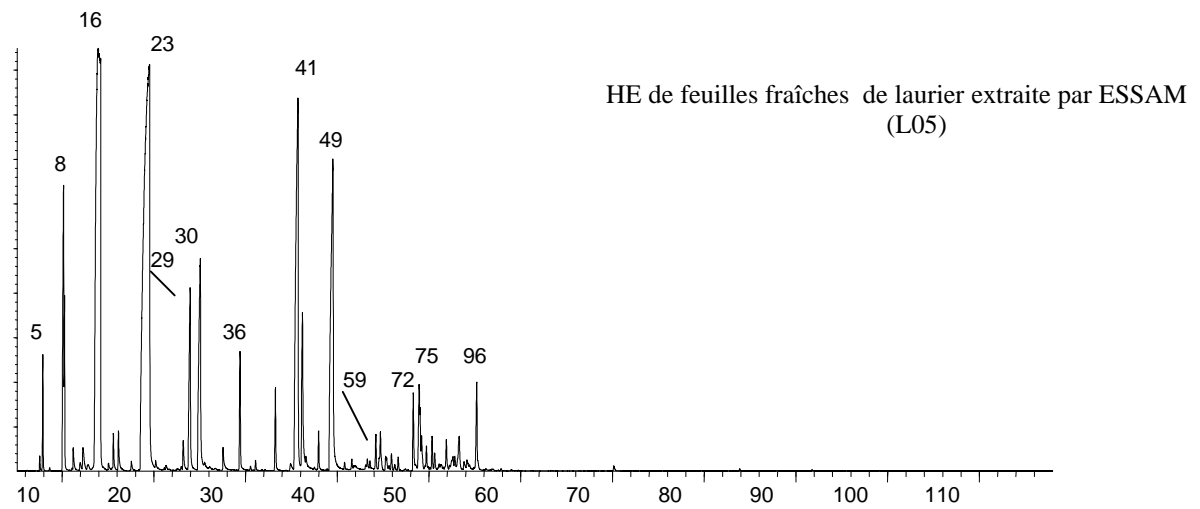
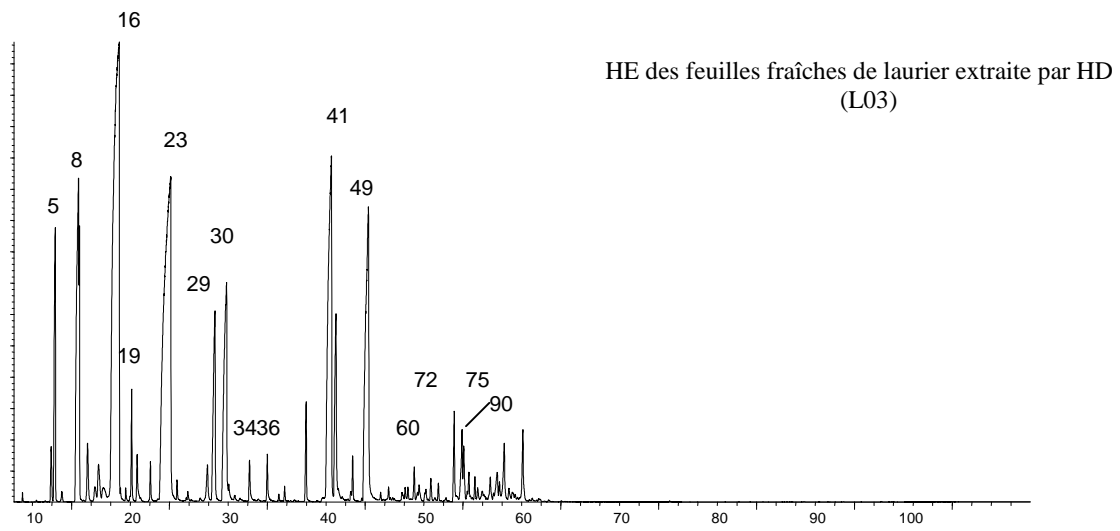
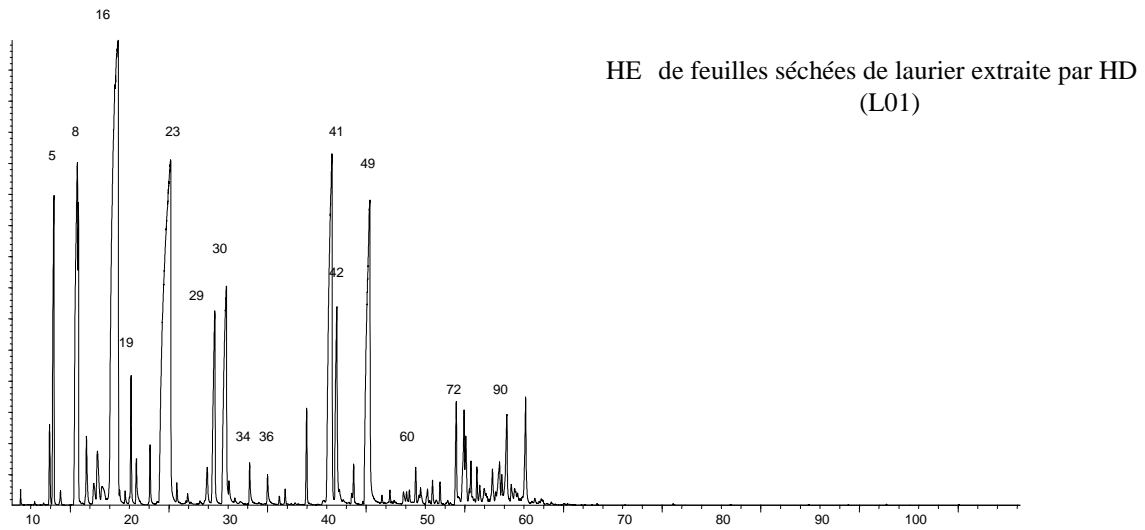


Figure 11 : Chromatogrammes de l'huile essentielle de Laurier (échantillon L01, L03 et L05) obtenus Par le couplage GC/MS en mode impact électronique (IE) sur la colonne HP5 MS.

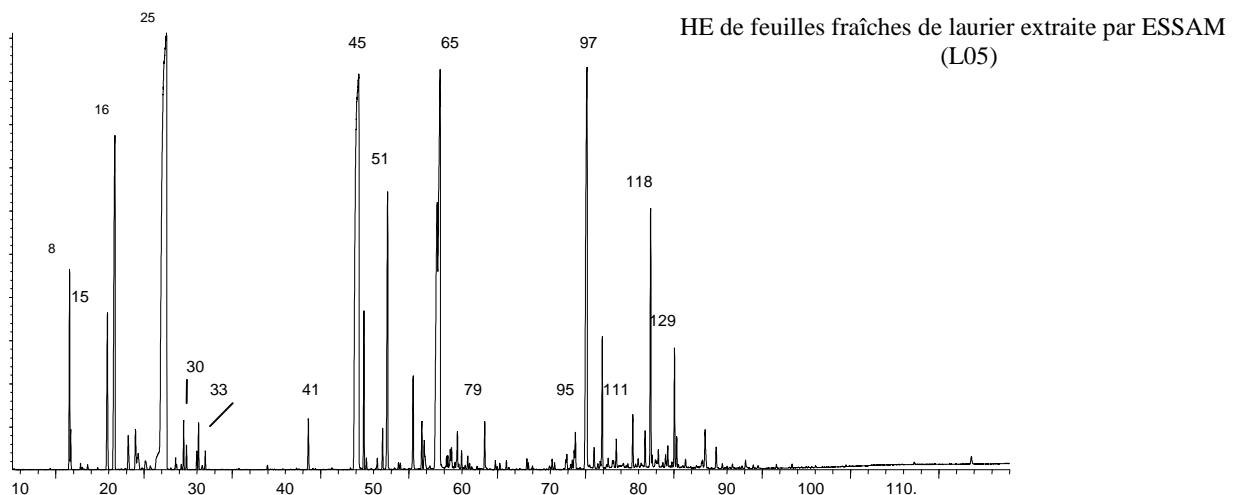
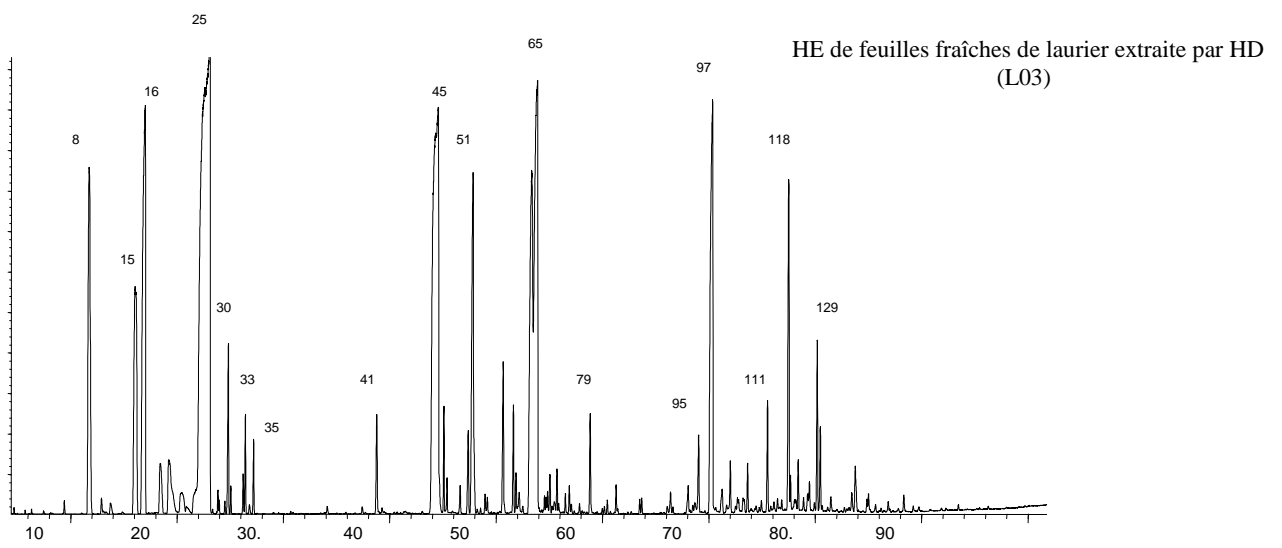
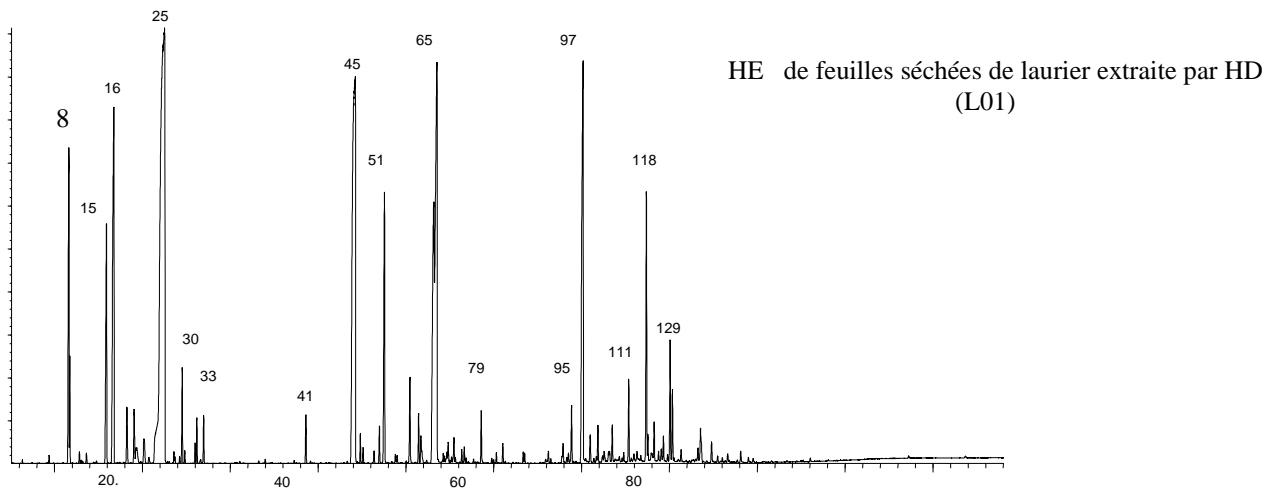


Figure 12 : Chromatogramme de l'huile essentielle de Laurier (échantillons L01, L03, L05) obtenus Par le couplage GC/MS en mode impact électronique (IE) sur la colonne Stabilwax.

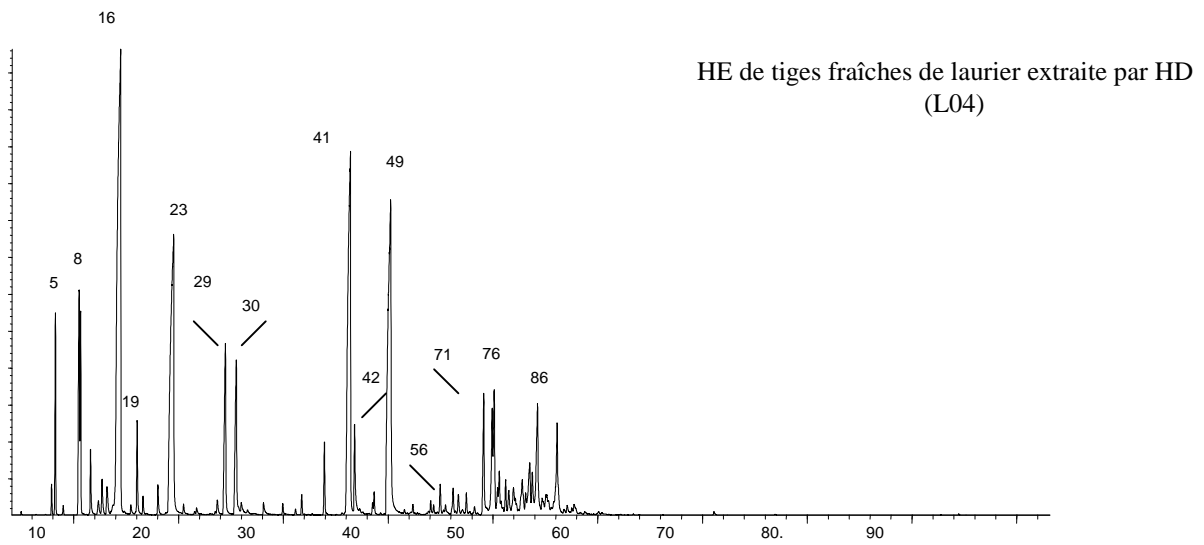
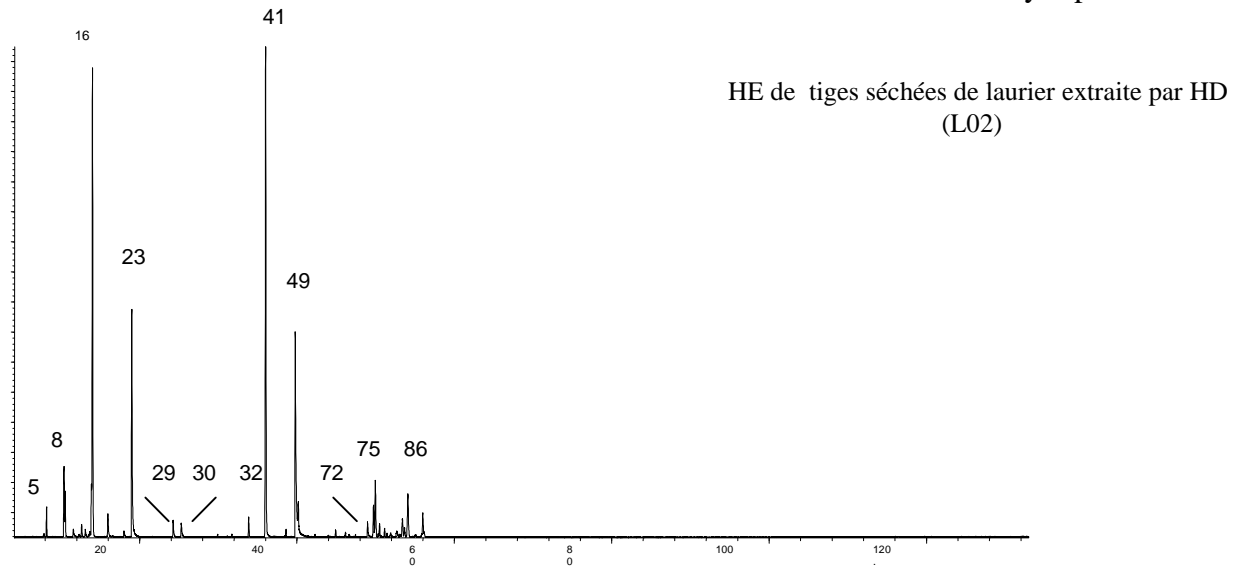


Figure13 : Chromatogrammes de l'huile essentielle de Laurier (échantillon L02 et L04) obtenus Par le couplage GC/MS en mode impact électronique (IE) sur la colonne HP5 MS.

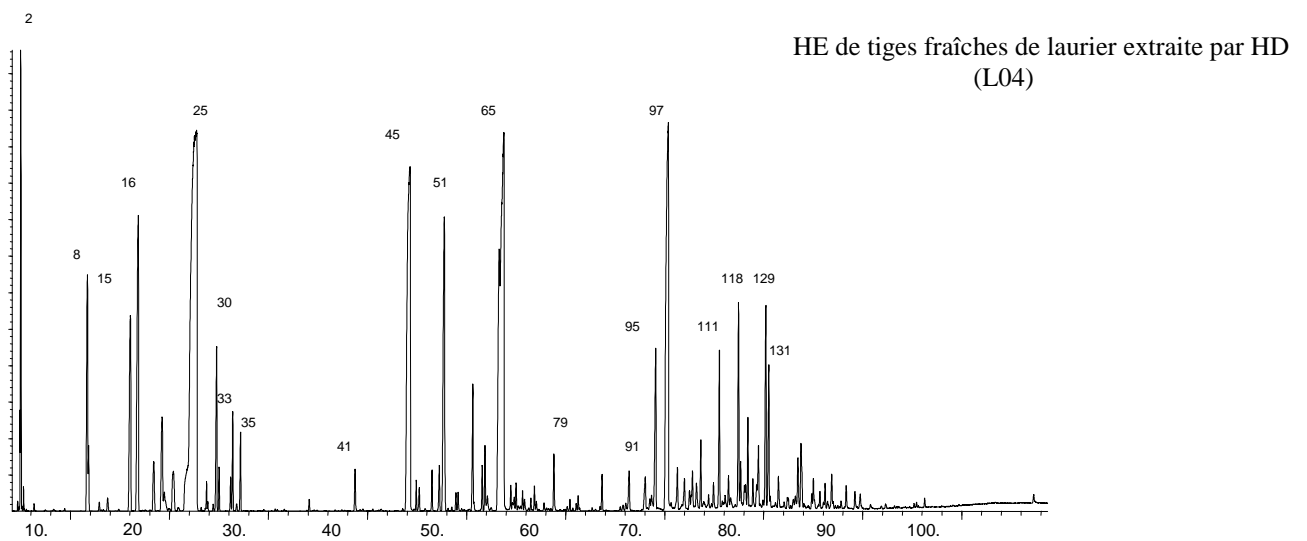


Figure14 : Chromatogramme de l'huile essentielle de Laurier (échantillon L04) obtenu Par le couplage GC/MS en mode impact électronique (IE) sur la colonne Stabilwax.

Globalement, nous avons pu identifier sur les deux colonnes : 117 composés dans les feuilles humides et 112 composés concernant les feuilles séchées, 104 composés ont été identifiés au sein de l'HE des tiges humides alors que 26 composés seulement ont pu être identifiés dans les tiges séchées ; dans l'HE extraite par l'ESSAM on a identifié 104 composés.

Sur le tableau XIV on donne le nombre de spectres traités et de composés identifiés sur les deux colonnes.

Tableau XIV : Nombre de spectre traités et composés identifiés dans les 5 échantillons de laurier étudiés.

Nom de l'échantillon	L01	L02	L03	L04	L05
Spectres proposés (HP5 MS)	85	28	72	84	70
Composés identifiés (HP5 MS)	73	26	64	70	58
Spectres proposés (Stbilwax)	119	-	118	115	112
Composés identifiés (Stabiwax)	98	-	92	87	91
Total des composés identifiés	117	26	112	104	104

- : l'analyse n'a pas été effectuée.

D'une manière générale le 1,8 Cinéol (proposition de fragmentation sur la figure 16) est le composé majoritaire pour tous les échantillons sauf pour l'échantillon L02 qui représente l'HE des tiges où l'Alpha terpényle acétate est plus important. Ce résultat a déjà été signalé par Fiorini et al (23) dans leur étude en comparant la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles et des tiges de Laurier.

Le traitement des différents chromatogrammes nous a permis l'identification de 50 alcools (19 monoterpéniques et 20 sesquiterpéniques entre autres) parmi eux le linalool, le terpinène-4-ol, l' α terpineol, le germacrène D-4-ol le viridiflorol et le spathulénol, 21 composés monoterpéniques hydrocarbonés, notamment : l' α et le β Pinène, le γ Terpinène ainsi que 26 sesquiterpènes tels que, le trans Caryophyllène, le δ Cadinène et le δ élémène. Mis à part ce dernier tous les autres composés ont déjà été cités dans la littérature (23-26). Par ailleurs il est intéressant de noter la présence importante de l'eugénol (2.75 %) et du méthyl eugénol (7.30 %), ces deux composés contribuent à l'effet antioxydant de l'essence (27). Moins importante est la présence des aldéhydes et des cétones, nous citons à titre d'exemple la thujone et la carvone ainsi que trois aldéhydes : n-hexanal, 2-hexanal et n-decanal. A notre connaissance, ces deux familles n'ont jamais été citées dans les travaux portant sur l'HE de laurier.

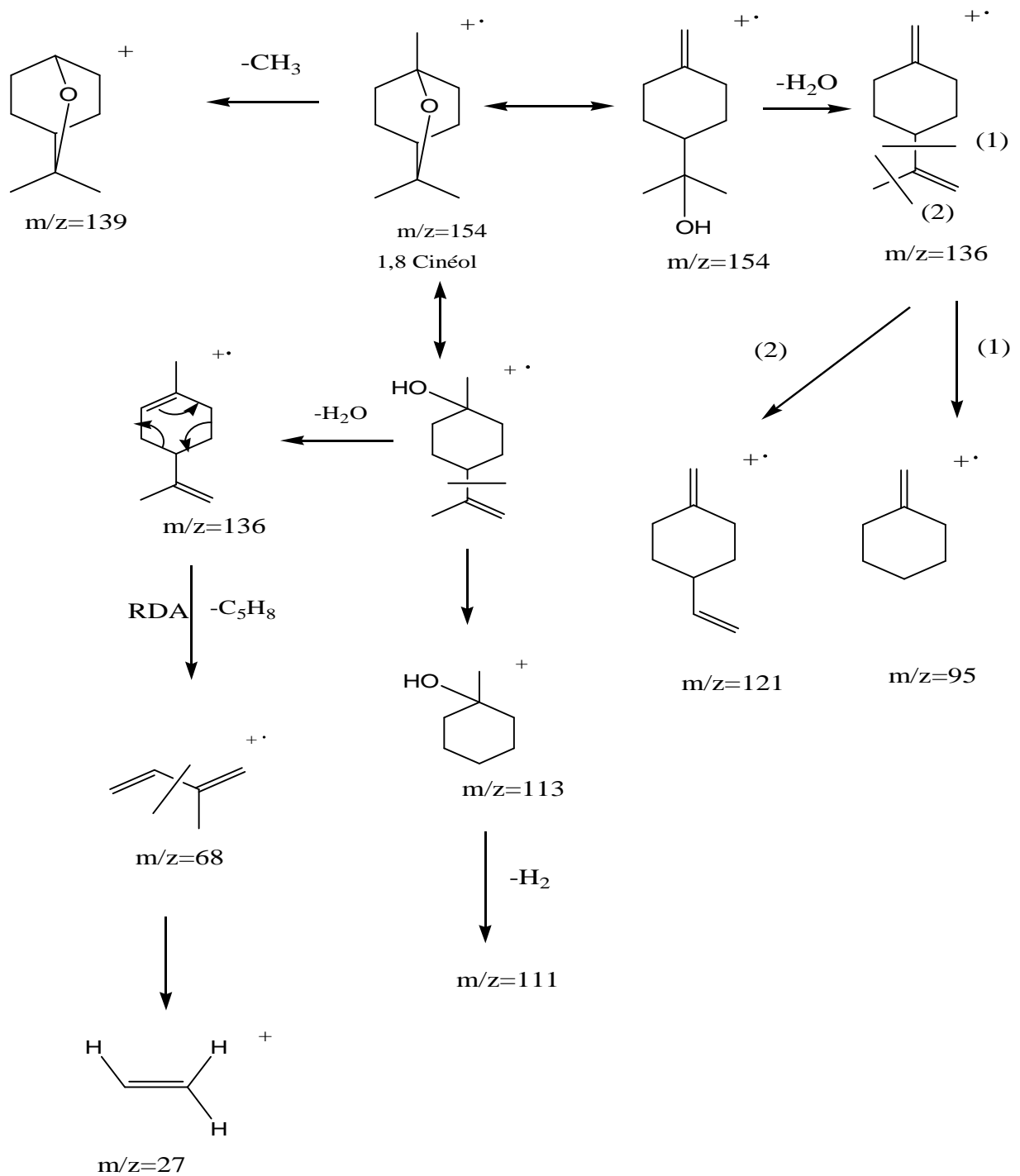


Figure 16 : Proposition d'un schéma de fragmentation du 1,8 Cinéol.

Nous devons signaler, d'autre part la présence d'une série d'acides tels que l'acide Propanoïque et le Butanoïque, le 2 méthyl éthyl ester (10 composés de ce genre), qui n'ont jamais été rencontré, à notre connaissance, dans les feuilles ou les tiges de Laurier (tableau XV). On rencontre

également dans l'HE de Laurier des acétates comme le linalyl acétate, le bornyl acétate, le néryl acétate, le géranyl acétate, le valerenyl acétate et le cinnamyl acétate. On note aussi la présence des acides à chaîne longue tels que l'acide palmitique et oléique.

La totalité des composés identifiés par le couplage GC/MS dans le mode IE accompagnés de leurs indices de Kovats et de leurs pourcentages pour les cinq échantillons sont représentés dans les tableaux XVI et XVII sur les colonnes HP5 MS et Stabilwax respectivement.

Tableau XV : Comparaison entre la composition en pourcentage de l'huile essentielle de laurier qui pousse en Algérie et celle d'autre pays.

Composé	Algérie (L03)	France ¹	Italie ²	Tunisie ³	Croatie ⁴
α -thujène	0,55	0.1	0.4	0.1	-
α -pinène	4,31	2.2	3.2	7.8	2.1
Camphène	0,11	0.2	0.3	0.3	-
sabinène	6,71	4.4		5.4	5.7
β -pinène	3,64	1.7	2.9	5.9	-
β -myrcène	1,25	0.3	11	-	-
Limonène	tr	2.6	1.3	-	0.9
B-phéllandrène	-	0.3		-	-
1,8 cinéol	24,26	39.1	35.7	42.3	45.5
Cis - β - ocimène	0,05	-	-	-	-
Trans - β - ocimène	0,11	-	-	-	0.2
Linalool	13,34	10.00	2.5	2.5	8.5
δ -terpinéol	0,53	-	-	-	-
Terpinène-4-ol	3,65	1.4	1.4	2.5	2.1
α -terpinéol	5,77	1.3	2.8	2.1	1.5
linalyl acétate	0,46	0.2	0.3	-	-
Bornyl acétate	0,17	0.2	-	0.4	0.3
4-terpinyl acétate	-	0.5	-	-	-
α -Terpinyl acétate	8,33	18.2	9.3	11.2	9.1
γ -cadinène	0,18	-	-	-	-
δ -Cadinène	0,14	0.1	-	0.8	0.2
Eugénol	2,80	-		-	2.5
Germacrène D	0,10	0.1		0.8	-
Caryophyllène oxide	0,06	-	0.2	-	1.7
Méthyl eugénol	5,77	11.8	6.8	3.5	10.00
Trans caryophyllène	tr	0.1	0.6	0.2	0.2
Germacrène D-4-ol	0,15	0.9	1.2	-	-
Viridiflorol	0,26	-	0.3	-	-

¹ : (23), ² : (24), ³ : (25), ⁴ : (28).

tr : à l'état de traces.

Tableau XVI : Identification des constituants des huiles essentielles de Laurier par GC/MS (sur la colonne HP5 MS).

N°	NOM	IK L01	IK L02	IK L03	IK L04	IK L05	REF*
1	Acide butanoïque, 2-méthyl-, ethyl ester	830	-	831	831	-	
2	Acide propanoïque, 2-méthyl-, 2-méthylpropyl ester	897	-	897	-	-	
3	Tricyclène	905	-	-	-	-	
4	α -thujène	910	-	931	909	920	931
5	α -pinène	918	915	939	916	926	939
6	Camphène	930	-	953	930	939	953
7	β -pinène	961	959		961	969	980
8	Sabinène + β - pinène	962	956	976	959	967	976
9	β -myrcène	980	979	991	979	986	991
10	α -Phéllandrène	994	1006	1005	993	999	1005
12	δ - 3 carène	1001	999	1011	1000	1004	1011
13	α - Terpinène	1007	-	1018	1007	1012	1018
14	p- cymène	1015		-	1015	1020	1026
15	Limonène	-	-	-	1030	-	1031
16	1,8 cinéol	1031	1019	1033	1025	1027	1033
17	Cis - β - ocimène	-	-	1040	1039	1045	1040
18	Trans - β - ocimène	1041	-	1050	-	1047	1050
19	γ -terpinène	1049	1046	1062	1048	1052	1062
20	Cis -sabinène hydrate	1057	-	1068	1056	1061	1068
21	α -Terpinolène	1077	1076	1088	1076	1081	1088
22	trans-sabinène hydrate	1087	-	1097	-		1097
23	Linalool	1106	1090	1098	1097	1104	1098
24	trans-1-méthyl-4-(1- méthyle éthyle)-, 2-cyclohexèn-1-ol,	1116	-	1115	1111	1120	
25	trans- pinocarvéol	1129	-	1129	1126	-	1139
26	Terpinéne-1-ol	1132	-	1134	1129	-	1134
27	Bornéol	-	-	1165	1154	1160	1165
28	δ -terpinéol	1160	-	1160	1157	1157	1134 ^a
29	Terpinène-4-ol	1171	1165	1168	1168	1168	1177
30	α -terpinéol	1188	1180	1189	1183	1183	1189
31	p-allylanisol	1192	-	1191	1190	1190	1195
32	cis-Piperitol	1200	-	1193	1199	1199	1193
33	Myrtenol	1208	-	-	-	-	1194
34	Cis -Géraniol, nérol	1222	-	1228	1221	1221	1228
35	Carvone	1235	-	1242	-	-	1242
36	linalyl acétate	1248	-	1257	1247	1247	1257
37	4-thujèn-2-alpha-yl acétate	1265	-	1265	1265	1265	
38	Bornyl acétate	1274	-	1285	1273	1273	1285
39	Cis -piperitol acétate	1306	1304	1306	1305	1305	1330
40	2- exo-hydroxycinéole acétate	1332	-	-	1331	1331	
41	α - Terpinyl acétate	1345	1337	1350	1343	1343	1350

Tableau XVI : Suite.

N°	NOM	IK L01	IK L02	IK L03	IK L04	IK L05	REF*
42	Eugénol	1353	-	1356	1349	1355	1356
43	Néryl acétate	1357	-	-	1357	1360	1365
44	α -copaène	1363	-	1363	1361	-	1376
45	Géranyl acétate	1376	-	-	-	-	1383
46	β -Cubébène	-	-	1390	1376	-	1390
47	β -élémente	1379	1377	1391	1378	1382	1391
48	α -Gurjunène	1394	-	1393	1393	1396	1403 ^b
49	Méthyl eugénol	1404	1395	1401	1402	1406	1401
50	Longifolène	-	1401	-	-	-	1402
51	α -Guaiène	1424	-	1439	1424	-	1439
52	α -Humulène	1438	-	1454	1437	1441	1454
53	Dihydro aromadendrène	1441	-	1440	1440	-	1459
54	Cinnamyl acétate	1444	-	1444	1444	1445	1443
55	Allo- aromadendrène	1460	-	1460	1461	-	1461
56	Germacrène- D	1465	-	1480	1464	1470	1480
57	β -Selinène	1470	-	1485	1469	-	1485
58	Viridiflorène (Ledène)	1473	-	1475	1475	1474	1493
59	Bicyclogermacrène	1480	1478	1494	1479	1485	1494
60	α -Muuroloène	1486	-	1485	1485	-	1499
61	Germacrène-A	1488	-	1488	1487	1494	1503
62	Ni	-	-	-	-	1491	
63	γ -Cadinène	1499	-	-	1499	-	1513
64	Cis- γ -bisabolène	1504	-	-	1503	1504	1515
65	7 epi- α Selinène		-		-	1505	1513
66	δ -Cadinène	1509	-	1508	1508	1515	1508
67	Ni	1516	-	-	1515	1521	
68	(E)-12-Norcaryophyll-5-èn-2-one	1523	-	1522	1522	1528	
69	α -Calacorène (t)	-	-	-	1528	-	1542
70	Elémol	1537	-	1549	1537	1542	1549
71	Elémicin	1552	1550	1554	1552	1556	1554
72	Germacrène-D-4-ol	1557	-	-	-	-	
73	Spathuléol	-	-	-	-	1568	1574
74	Caryophyllène oxide	1567	1563	1576	1567	1569	1576
75	β -Copaèn-4- α -ol	1570	1568	1581	1571	1572	1581
76	Viridiflorol	1577	-	-	1577	1579	1584
77	Ni	1580	1577	1590	1580	1582	
78	Ni	1583	-	1583	1583	1585	
79	Ni	1591	1589	1591	1591	1592	
80	Ni	1596	-	1596	1596	1597	
81	Ni	1604	-	1604	1604	1606	
82	Ni	1607	-	1607	1607	1609	
83	Ni	1612	-	-	1612	1614	
84	Ni	1618	1616	1618	1618	1620	

Tableau XVI : Suite.

N°	NOM	IK L01	IK L02	IK L03	IK L04	IK L05	REF*
85	10,10-dimethyl-2,6-diméthylènebicyclo[7,2,0]Undecan-5,β,-ol	1624	1629	1624	1624	1627	
86	tau- Muurolol	1630	1640	1654	1631	1633	1645
87	α- eudésmol	1634	1633	-	1635	1637	1652
88	α- Cadinol	1643	-	1653	1643	1646	1653
89	Ni	-	-	1650	1651	1655	
90	Lyril	1651	-	-		-	1661
91	Ni	1657	-	1656	1657	-	
92	Ni	1662	-	-	1658	1661	
93	Ni	1666	-	-	1666	1666	
94	Ni	-	-	-	-	-	
95	M=222	-	-	-	-	-	
96	β- bisabolol	1675	1672	1675	1675	1681	1671
97	α- Santalol	-	-	1661	-		1678
98	(Z, Z) Farnésol	-	-	-	1686	-	1713
99	Kusimol (t)	-	-	-	1689	-	1736
100	Ni	-	-	-	1699	-	
101	Ni	-	-	-	1703	-	
102	Lancéol Z (t)	1979	-	-	-	-	1763

- * : Référence (21).
a : Référence (27).
b : Référence (29).
t : Tentative d'identification.
Ni : Non identifié.

Tableau XVII : Analyse semi-quantitative des huiles essentielles de Laurier par GC/MS (sur la colonne Stalbiwax).

N°	Composé	L01		L02 ^x		L03		L04		L05		REF
		%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	
1	Pentane	-	-	-	-	-	-	0,27	535	-	-	500
2	Hexane	-	-	-	-	-	-	2,61	583	-	-	600
3	méthyl-Cyclopentane	-	-	-	-	-	-	0,08	686	-	-	
4	Acéone	0,02	817	-	-	0,02	813	0,03	813	-	-	813 ^a
5	Ethanol	tr	-	-	-	-	-	0,02	955	-	-	899 ^a
6	Acidepropanoïque-2 méthyl éthyl ester	0,05	956	-	-	-	955	-	-	0,01	956	
7	Acide butanoïque-2,éthyl méthyl ester	-	-	-	-	0,06	1006	-	-	-	-	
8	α.-Pinène	3,15	1018	1,05	915	-	1020	2,33	1019	1,53	1017	1032 ^b
9	α.-Thujène	0,56	1020	-	-	0,01	-	0,39	1022	0,25	1020	1035 ^b
10	Acide butanoïque, 2 méthyl éthyl ester	0,08	1042	-	-	4,31	1044	0,06	1044	0,05	1042	1042
11	α.-Fenchène	0,02	1050	-	-	-	1052	-	-	-	-	1075 ^c
12	Camphène	0,09	1058	-	-	0,10	1061	0,12	1061	0,04	1058	1086 ^c
13	n-Hexanal	0,01	1075	-	-	0,02	-	-	-	-	-	1093 ^g
14	Acide propanoïque 2-Méthyl-, Butyl Ester	0,02	1081	-	-	0,11	1084	-	-	0,01	1081	
15	β.-Pinène	2,87	1104	1,94	959	-	1107	2,45	1106	1,73	1103	1106 ^d
16	Sabinène	6,16	1117	2,80	956	0,02	1122	3,74	1119	5,10	1117	1132 ^b
17	δ.3-Carène	0,60	1142	0,55	999	3,64	1145	0,58	1145	0,40	1141	1159 ^b
18	Myrcène	0,59	1155	-	-	6,71	1159	1,17	1159	0,47	1155	1174 ^b
19	α.-Phellandrène	0,39	1160	0,38	1006	0,70	-	0,30	1162	0,10	1158	1176 ^e
20	Allo Ocimène	-	-	-	-	1,25	-	-	-	0,24	1160	
21	Acide butanoïc, 2 méthyl-2 méthyl propyl ester	0,03	1167	-	-	-	-	-	-	0,03	1167	

Tableau XVII : Suite.

N°	Composé	L01		L02 ^x		L03		L04		L05		REF
		%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	
22	α -Terpinène	0,40	1173	-	-	0,50	1178	0,67	1177	0,16	1173	1175 ^d
23	2,3-Dihydro 1, 8 cinéol	0,14	1186	-	-	0,14	1186	0,05	1186	-	-	1195 ^{f, g}
24	Limonène	tr	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	1203 ^{b, e, g}
25	1,8-Cinéol	24,81	1210	22,50	1019	24,26	1212	19,78	1214	25,59	1211	1213 ^{e, h}
26	2-Hexenal	0,02	1215	-	-	-	-	-	-	-	-	1232 ^f
27	Acide hexanoïque, éthyl ester	0,09	1226	-	-	0,11	1230	0,17	1229	0,08	1226	
28	Cis- β -Ocimène	0,05	1227	-	-	0,05	1232	0,05	1231	0,04	1228	1261 ^c
29	4-Carène (t)	0,05	1235	-	-	0,06	1240	0,05	1239	0,04	1235	
30	γ -Terpinène	0,78	1239	1,34	1046	0,92	1245	1,33	1244	0,38	1239	1255 ^b
31	Trans- β -Ocimène	0,09	1244	-	-	0,11	1248	0,25	1248	0,18	1244	1266 ^b
32	M-Cymène	0,16	1261	-	-	0,19	1265	0,23	1265	0,15	1261	1278 ^j
33	P-Cymène	0,34	1264	tr	1015	0,45	1268	0,62	1268	0,37	1264	1280 ^{b, f, g}
34	Acide butanoïque, 2-méthyl-, 2-méthylbutyl Ester	0,05	1270	-	-	0,06	1274	0,06	1274	0,05	1270	
35	Terpinolène	0,38	1275	0,36	1076	0,34	1280	0,51	1279	0,15	1275	1290 ^b
36	1-Hexanol	0,02	1335	-	-	-	-	-	-	-	-	1360 ^b
37	(Z)- 3-Hexen-1-ol	0,02	1367	-	-	-	-	-	-	-	-	1391 ^e
38	2-Nonanone	0,03	1377	-	-	0,05	1383	0,08	1382	0,04	1378	1390 ⁱ
39	Thujone	-	-	-	-	0,01	1409	-	-	-	-	1430 ^f
40	Trans Linalool Oxyde	0,02	1427	-	-	0,04	1432	-	-	0,02	1427	1450 ^e
41	Trans Sbinène hydrate	0,41	1447	-	-	0,61	1453	0,32	1453	0,46	1447	1474 ^b
42	Cis-Linalol oxide	0,02	1455	-	-	0,03	1461	-	-	0,01	1455	1478 ^e
43	N-Decanal	tr	-	-	-	0,02	1495	-	-	0,02	1487	1493 ^c
44	Ni	0,02	1521	-	-	0,02	1521	-	-	0,02		
45	Linalool	14,53	1536	11,93	1090	13,34	1546	9,60	1542	17,71	1538	1553 ^b
46	Cis-Sabinène hydrate	0,02	1542	-	-	tr	-	-	-	0,02	1542	1556 ^b

Tableau XVII : Suite.

N°	Composé	L01		L02 ^x		L03		L04		L05		REF
		%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	
47	Linalyl Acétate	0,21	1546	-	-	0,44	1556	0,17	1553	1,23	1548	1565 ^j
48	Trans- 1-Methyl-4-(1-Methylethyl)-, 2-Cyclohexène-1-ol	0,12	1552	-	-	0,18	1561	0,17	1558	0,10	1553	
49	Bornyl Acétate	0,11	1573	-	-	0,17	1581	0,28	1580	0,11	1574	1597 ⁱ
50	B- élémène	0,31	1584	0,34	1377	0,51	1594	0,35	1592	0,34	1584	1600 ^b
51	Terpinène-4-ol	3,26	1594	-	-	3,65	1602	3,85	1601	3,27	1594	1611 ^b
52	Trans Caryophyllène	3,85	1601			tr	-	-	-	3,85	-	1612 ^g
53	Linalyl propionate	-	-	-	-	0,03	1613	0,03	1613	-	-	
54	1-Terpinéol	0,08	1614	-	-	0,11	1620	0,12	1620	0,06	1614	1589
55	4-Thujen-2.α-yl acétate	0,07	1617	-	-	0,10	1624	0,13	1623	0,06	1617	
56	Allo aromadendrène	0,03	1633	-	-	0,03	1643	-	-	0,02	1633	
57	δ-élémente	0,80	1640	-	-	0,99	1648	1,01	1648	0,87	1640	1653 ^a
58	Trans-Pinocarvéol	0,02	1649	-	-	tr	-	0,05	1649	tr	-	1629 ^d
59	β-fenchyl alcohol	0,41	1655	-	-	-	-	-	-	-	-	
60	P-Allylanisole	0,37	1659	-	-	0,21	1668	0,46	1668	0,27	1659	
61	δ.-Terpinéol	0,57	1664	-	-	0,57	1664	0,32	1663	0,41	1655	1682 ⁱ
62	α Humulène	tr	-	-	-	0,20	1673	0,17	1672	0,11	1661	1684
63	Limonène-4-ol	0,04	1669	-	-	0,06	1678	0,04	1678	0,04	1669	1700 ^g
64	α-terpinéol	5,99	1682	-	-	5,77	1692	4,26	1691	5,84	1682	1706 ^{b, e, f, h}
65	α.-Terpinyl acétate	8,59	1687	23,74	1337	8,33	1701	9,76	1699	8,75	1688	1709 ^j
66	Germacrène-D	0,10	1699	tr	1464	0,10	1714	0,16	1712	0,10	1699	1726 ^b
67	δ.-Guaiène	0,06	1702	-	-	0,09	1716	0,07	1715	0,11	1702	
68	Neryl acétate	0,13	1707	-	-	0,11	1719	0,10	1719	0,22	1707	1733 ^k
69	β- sélinène	0,20	1710	-	-	0,24	1723	0,20	1722	0,22	1710	1742 ^f
70	α.-sélinène	0,03	1713	-	-	0,05	1727	0,05	1726	0,03	1714	1744 ^b

Tableau XVII : Suite.

N°	Composé	L01		L02 ^x		L03		L04		L05		REF
		%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	
71	B- bisabolène	0,06	1718	-	-	-	-	-	-	0,07	1718	1699
72	Bicyclogermacrène	0,26	1723	0,34	1478	0,24	1736	0,14	1735	0,41	1723	1744 ^d
73	Cis-Pipéritol	0,04	1726	-	-	0,07	1739	0,10	1738	0,05	1726	1758 ^{b, h}
74	α.-Farnésène	-	-	-	-	0,11	1731	-	-	0,16	1733	1760 ^b
75	Géranyl acétate	0,10	1741	-	-	0,11	1751	0,11	1751	0,02	1737	1765 ^g
76	δ.-Cadinène	0,14	1746	-	-	0,15	1746	0,17	1758	0,04	1757	1741
77	γ.-Cadinène	0,04	1750	-	-	0,06	1750	0,07	1761	0,12	1761	1746
78	Myrténol	0,02	1776	-	-	0,01	1776	0,02	1789	0,01	1789	1776
79	Nérol	0,45	1785	-	-	0,55	1785	0,42	1795	0,44	1795	1785
80	Géraniol	0,17	1832	-	-	0,18	1832	0,09	1841	0,07	1840	1832
81	Para-Cymèn-8-ol	0,02	1837	-	-	tr	1837	-	-	0,02	-	-
82	Cis-Carvéol	0,01	1853	-	-	-	1853	-	-	-	-	-
83	Acide butanoïque, 3-méthyl-, Phenylméthyl ester	-	-	-	-	0,01		0,02	1861	0,01	1867	1861
84	Valerique acide, benzyl ester	-	-	-	-	0,01	-	-	1867	-	-	-
85	Ni	0,09	1875	-	-	0,08	1875	0,03	1882	0,09	1882	1875
86	Ni	0,08	1878	-	-	0,08	1878	0,27	1886	0,06	1886	1878
87	α.-Calacorène	0,01	1913	-	-	-	1913	0,03	-	0,01	1921	1913
88	γ.-Gurjunène	0,12	1931	-	-	0,05	1931	0,08	1932	0,10	1932	1931
89	Ni	-	-	-	-	0,15	-	0,39	1939		1939	-
90	3-Phenyl-1-propanol, acetate	0,04	1937	-	-	0,04	1937	-	1949	0,06	-	1936
91	12-Nor-Caryophyll-5-èn-2-one	0,26	1964	-	-	0,21	1964	0,40	1971	0,14	1971	1964
92	Ni	0,07	1973	-	-	0,11	1973	0,09	1984	0,05	1980	1973
93	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-	0,08	-	1976
94	Ni	0,10	1977	-	-	0,06	1977	1,64	1980	0,18	1992	1981
95	Caryophyllène oxide	0,55	1984	3,24	1568	0,49	1984	0,17	1991	0,34	1984	1983

Tableau XVII : Suite.

N°	Composé	L01		L02 ^x		L03		L04		L05		REF
		%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	
96	périllol	0,03	1994	-	-	0,02	1994	-	2003	0,02	-	1994
97	Méthy eugénol	7,30	2010	12,44	1395	5,77	2010	8,31	2017	7,51	2018	2010
98	Lédol	0,30	2028	-	-	0,23	2028	0,42	2036	0,21	2037	2027
99	Germacrène D-4-ol	0,34	2046	-	-	0,32	2046	0,31	2052	1,23	2052	2047
100	Aromadendrène (t)	0,12	2058	-	-	0,06	2058	0,17	2063	0,05	2063	2058
101	Humulène Epoxyde II	0,16	2061	-	-	-	-	-	-	0,113	2062	2069 ^j
102	Ni	-	-	-	-	0,09	2066	0,08	2067	-	-	
103	Cubénol	-	-	-	-	0,10	2069	0,31	2069	-	-	2088 ^g
104	Globulol	0,13	2072	-	-	0,11	2077	0,27	2077	0,09	2072	2096 ^b
105	Guaiol	0,12	2075	-	-	0,08	2080	-	-	0,08	2075	2103 ^b
106	Viridiflorol	0,37	2081	0,64	1577	0,26	2086	0,49	2087	0,29	2081	2104 ^b
107	Ledene Oxide-(II)	0,10	2088	-	-	0,06	2093	0,06	2093	0,05	2088	
108	Ni	0,14	2098	-	-	0,08	2103	0,11	2103	0,08	2098	
109	Ni	0,07	2105	-	-	0,04	2110	0,04	2109	0,04	2105	
110	Caryophyllénol	0,12	2109	-	-	0,09	2114	0,21	2114	0,05	2109	
111	Spathulénol	0,76	2121	1,75	1563	0,61	2126	1,26	2126	0,49	2121	2144 ^b
112	Aromadendrène oxyde (t)	0,08	2127	-	-	0,05	2132	0,07	2132	0,06	2127	
113	Ni	0,15	2133	-	-	0,11	2139	0,13	2139	0,13	2133	
114	Acide 2-propenoïque, 3-Phenyl-, éthyl ester	-	-	-	-	-	-	0,05	2136	-	-	
115	(z) Valérényl acétate (t)	0,23	2141	-	-	0,10	2146	0,26	2146	0,08	2140	
116	Cinnamyl acétate	0,11	2150	-	-	0,10	2154	-	-	0,37	2150	2103 ^d
117	Ni	-	-	-	-	-	-	0,15	2150	-	-	
118	Eugénol	2,75	2163	-	-	2,33	2168	1,64	2167	2,70	2163	2186 ^g
119	τ- cadinol	0,25	2166	-	-	0,20	2172	0,39	2172	0,14	2166	2187 ^g
120	Ni	0,25	2174	-	-	0,11	2180	0,21	2180	0,12	2174	

Tableau XVII : Suite.

N°	Composé	L01		L02 ^x		L03		L04		L05		REF
		%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	
121	Ni	-	-	-	-	0,10	2182	0,20	2182	-	-	
122	τ-Muurolol	0,18	2181	3,15	1640	0,28	2187	0,67	2187	0,18	2181	2209 ⁹
123	δ-Cadinol	0,16	2192	-	-	0,13	2198	0,27	2198	0,07	2192	2219 ¹
124	Ni	0,16	2198	-	-	-	-	-	-	0,16	2198	
125	Ni	0,32	2203	-	-	-	-	-	-	0,24	2203	
126	Ni	-	-	-	-	0,14	2206	0,22	2206	-	-	
127	Pogostol (t)	-	-	-	-	0,22	2210	-	-	-	-	
128	Ni	0,09	2214	-	-	-	-	-	-	0,07	2214	
129	Elémicin	1,13	2220	0,91	1550	0,97	2226	1,83	2227	1,10	2220	
130	Ni	0,076	2220	-	-	0,07	2220	0,08	2220	-	-	
131	α.-Cadinol	0,65	2226	-	-	0,47	2233	1,25	2234	0,29	2226	2255 ¹
132	Ni	0,06	2230	-	-	0,05	2236	0,09	2237	0,05	2230	
133	Ni	0,10	2241	-	-	-	-	-	-	0,06	2241	
134	Ni	0,16	2248	-	-	0,05	2248	0,09	2248	0,11	2247	
135	Ni	-	-	-	-	0,11	2255	-	-	-	-	
136	Ni	0,17	2289	-	-	-	-	0,10	2288	0,09	2289	
137	Ni	-	-	-	-	0,04	2293	0,13	2293	-	-	
138	Ni	0,54	2296	-	-	0,15	2298	0,47	2299	0,51	2296	
139	Ni	-	-	-	-	0,37	2306	0,76	2306	-	-	
140	Ni	0,23	2324	-	-	-	-	-	-	0,24	2324	
141	Ni	-	-	-	-	0,07	2331	0,11	2331	-	-	
142	Ni	-	-	-	-	0,12	2334	0,30	2335	-	-	
143	Ni	-	-	-	-	0,06	2350	0,13	2350	-	-	
144	Ni	-	-	-	-	-	-	0,20	2362	-	-	
145	Ni	0,09	2366	-	-	-	-	0,08	2368	0,05	2366	
146	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Tableau XVII : Suite.

N°	Composé	L01		L02 ^x		L03		L04		L05		REF
		%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	%	IK	
147	M=220	-	-	-	-	0,08	2377	0,303	2377	-	-	
148	Ni		-	-	-	-	-	-	-	-	-	
149	Trans-Isoélemicin	0,12	2399	-	-	0,03	2399	0,065	2399	0,11	2399	2403
150	Ni	-	-	-	-		-	-	-	-	-	
151	Ni	-	-	-	-	0,12	2412	0,204	2412	-	-	
152	Ni	0,05	2436	-	-	0,04	2434	0,12	2434	0,03	2436	
153	Ni	-	-	-	-	-	-	0,157	2447	-	-	
154	Methoxyeugénol	0,03	2535	-	-	tr			-	0,03	2535	
155	Phytol	0,03	2600	-	-	-	-	0,065	2609	-	-	2622 ^l
156	Acide palmitique	-	-	-	-	0,10	*	0,081	*	-	-	2931 ^l
157	Acide oléique	-	-	-	-	0,48	*	0,231	*	-	-	

a : Référence (5). h: Référence (10). j : Référence (14).
 b : Référence (6). d : Référence(11). i : Référence (30).
 e : Référence (8). k : Référence (12). g : Référence (31).
 f : Référence (9). c : Référence (13). l : Référence (32).

* : Tr composé > Tr du dernier alcane dans la série C₅- C₂₈.

t : Tentative d'identification.

^x : Identifié sur la colonne HP5 MS.

Ni : Non identifié.

tr : à l'état de traces.

Dans la figure 17 sont présentées les proportions des différentes familles chimiques existant dans les cinq échantillons. Il paraît clair que les deux échantillons L01 et L03 (HE des feuilles séchées et fraîches) ont presque la même composition avec un pourcentage important de composés oxygénés monoterpéniques et des monoterpènes (pourcentages donnés en chiffres sur le tableau XVIII). L'échantillon L02 (HE des tiges) contient la proportion monoterpénique oxygénée la moins importante et la proportion sesquiterpénique oxygénée la plus grande. L'échantillon L05 qui est l'huile essentielle extraite par la méthode de l'ESSAM est caractérisé d'un pourcentage très élevé en composés monoterpéniques oxygénés.

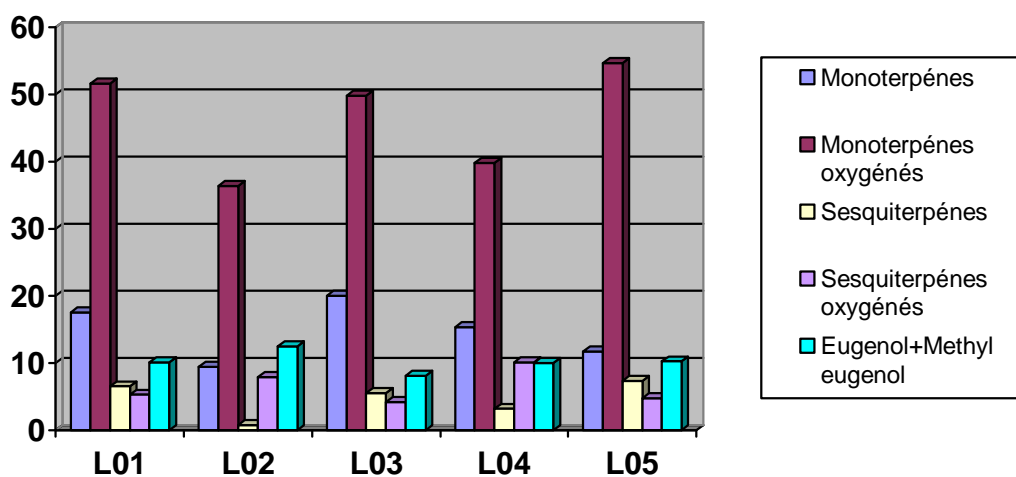


Figure 17 : Proportion des familles chimiques existant dans l'huile essentielle dans les 05 échantillons étudiés.

Tableau XVIII : Pourcentages des différentes familles chimiques existant dans l'huile essentielle de laurier.

Echantillon	L01	L02	L03	L04	L05
Monoterpènes	17,51	9,43	20,01	15,30	11,67
Monoterpènes oxygénés	51,63	36,38	49,88	39,86	54,69
Sesquiterpènes	6,49	0,67	5,47	3,15	7,34
Sesquiterpènes oxygénés	5,25	7,83	4,18	10,03	4,70
Eugénol + méthyl eugénol	10,05	12,41	8,10	9,95	10,21

Comme il a été déjà montré dans la première partie l'ESSAM demeure une méthode d'extraction efficace pour extraire les composés oxygénés, alors que l'hydrodistillation extrait mieux la fraction monoterpénique. Une étude faite par Guido Flamini et *al* (24) sur l'extraction

par micro-ondes de l'huile essentielle des feuilles de Laurier a aboutit au même résultat avec un pourcentage important de monoterpènes oxygénés.

Le séchage est l'étape la plus importante pour la préparation du Laurier destiné à être commercialisé ; le séchage peut prendre 10 jours sous de bonnes conditions d'ensoleillement, il dure plus si les conditions sont moins convenables (à l'ombre par exemple) (33). D'où l'importance de l'étude de l'effet du séchage sur la qualité de l'HE essentielle de Laurier. En comparant les deux échantillons L03 (feuilles fraîches) et L01 (feuilles séchées), on constate que le séchage a très peu d'influence sur la qualité de l'HE des feuilles car après 30 jours de séchage on trouve que cette dernière a gardé presque la même composition avec quelques différences mineurs dans les composés existant à l'état de trace du point de vue quantitatif et qualitatif. V. Demir et *al* (33) ont aboutit aux mêmes résultats en démontrant que le séchage n'influa pas sur la composition chimique des feuilles de Laurier. Cependant on remarque que le pourcentage de certains composés tels que le trans caryophyllène, le 1,8 cinéol, le linalool et l'eugénol est plus important dans le cas de l'HE des feuilles séchées, cette même constatation a été révélée par V. Demir et *al* (33) concernant l' α et le β pinène, le bornéol et l'eugénol.

Concernant les tiges, le résultat a été tout à fait le contraire, puisque le séchage a causé une très grande différence entre la composition de l'essence des tiges sèches et humides (104 composés dans les tiges humides alors que 26 seulement dans les séchées).

Dans certaines plantes, la composition chimique de l'HE peut être totalement différente en passant d'un organe à l'autre, dans notre cas les tiges diffèrent sensiblement des feuilles ; qualitativement, l'HE des tiges renferme pratiquement le même nombre de composés que celle des feuilles (112 composés sont identifiés dans les feuilles et 104 composés dans les tiges). On marque la présence de certains composés dans un organe sans l'autre, notamment le (z, z) Farnesol, le Kusimol, le Pentane, l'Hexane et le méthyl cyclopentane dans les tiges, et le Tricyclène, l' α Fenchène, le trans Caryophyllène, l' α farnesène, le longifolène, le guaiol, et le méthoxy eugénol dans les feuilles. On note également qu'aucune trace d'aldéhyde n'a été décelée dans l'HE des tiges. Quantitativement, on remarque que l'HE des tiges est plus riche en composés sesquiterpéniques oxygénés, les autres familles chimiques présentent une prédominance dans l'HE des feuilles.

II)-3 Problèmes rencontrés lors de l'identification

Lors de l'identification nous avons été confronté à quelques problèmes notamment l'interférence de certains spectres comme le sabinène et le β Pinène, le terpinèn-4-ol et le trans Caryophyllène (fig.18), d'autre part des monoterpènes tels que le Tricyclène, l' α pinène et l' α thujène (fig.19), présentent seulement des différences mineures dans les intensités des ions fragments ce qui complique davantage l'identification, la rétention pouvant alors trancher dans les cas douteux. Ce cas est également rencontré avec les sesquiterpènes comme le δ et le γ Cadinène (fig.20) et avec les composés qui présentent une isomérisie optique ou géométrique tel que le cis et le trans pipéritol (fig. 21) et le cis et trans géraniol.

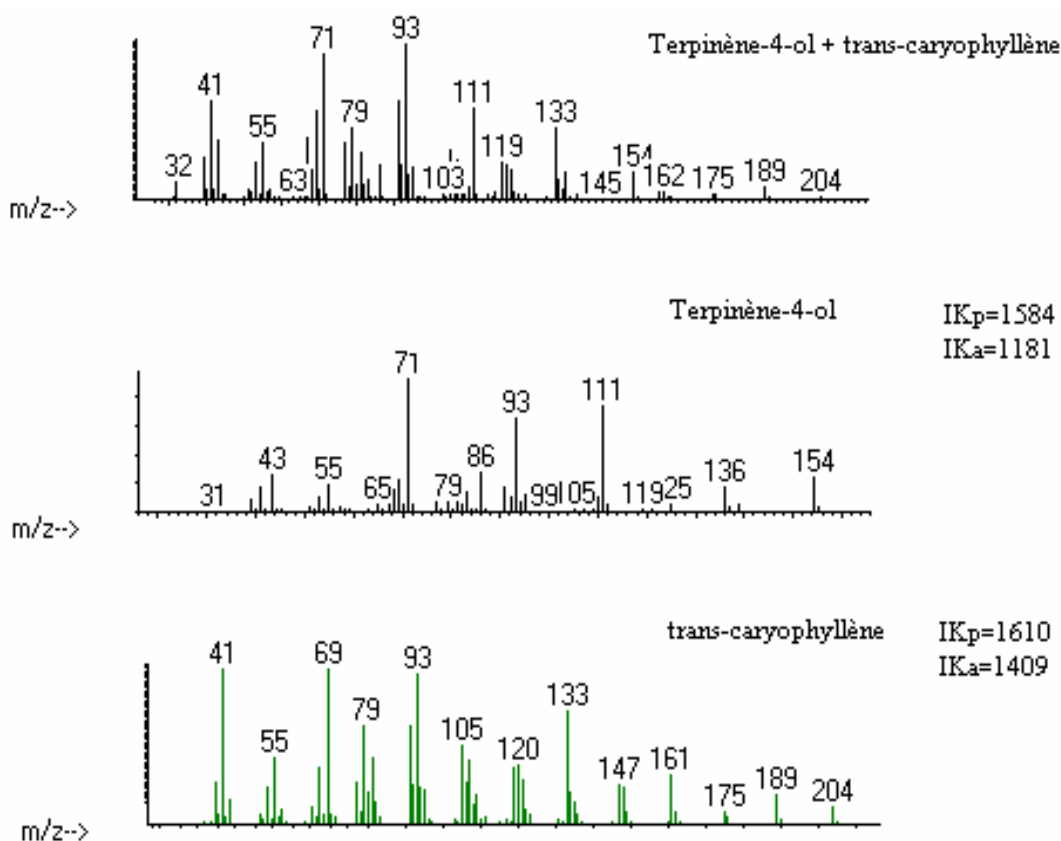


Figure 18 : Cas d'interférence des spectres de masse du 4-terpinéol et du Trans Caryophyllène.

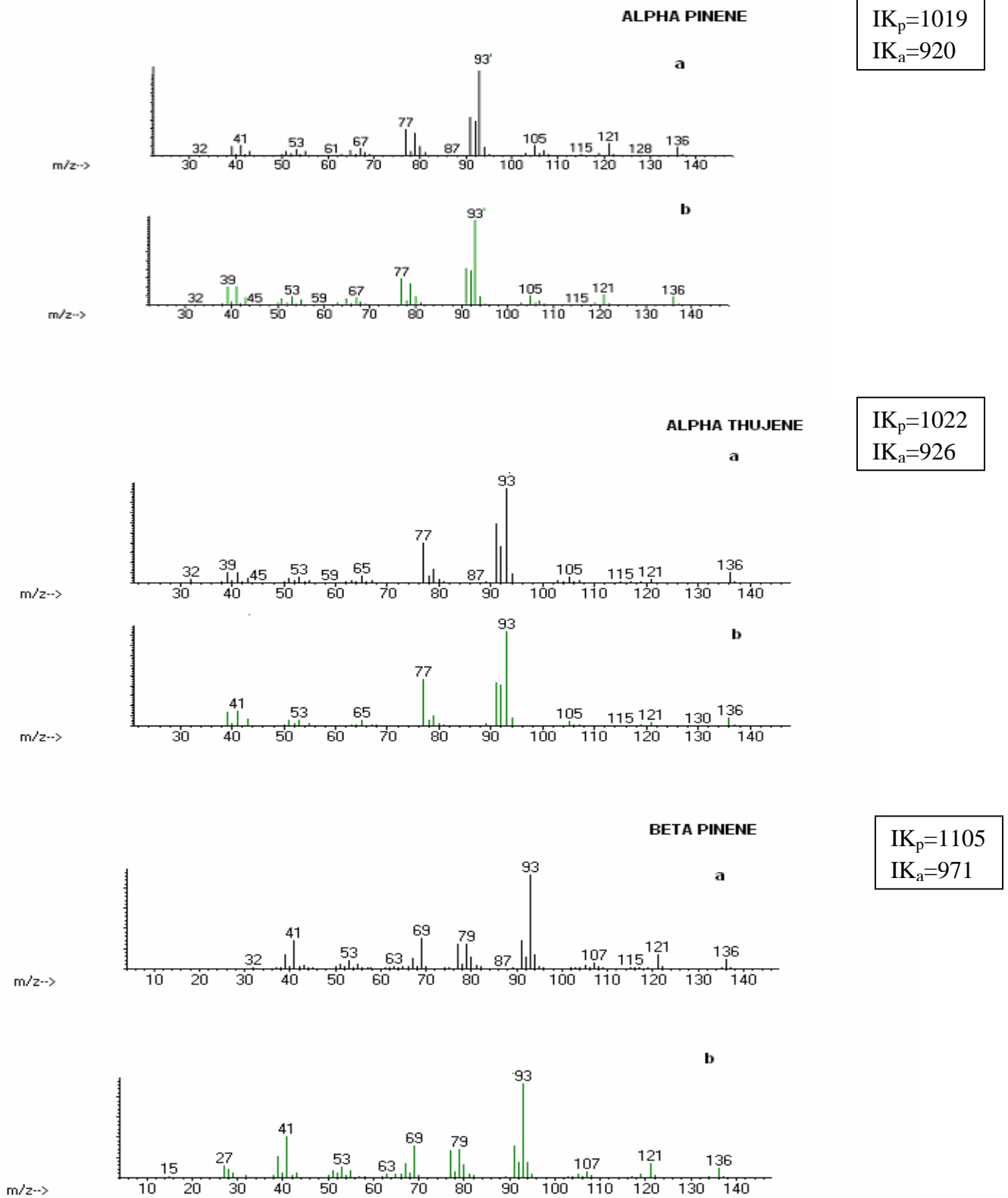


Figure 19 : Spectres de masse en IE de l' α -Pinéne, l' α -Thujéne et le β -Pinéne
 a : Essence étudiée , b : bibliothèque de spectres de masse.

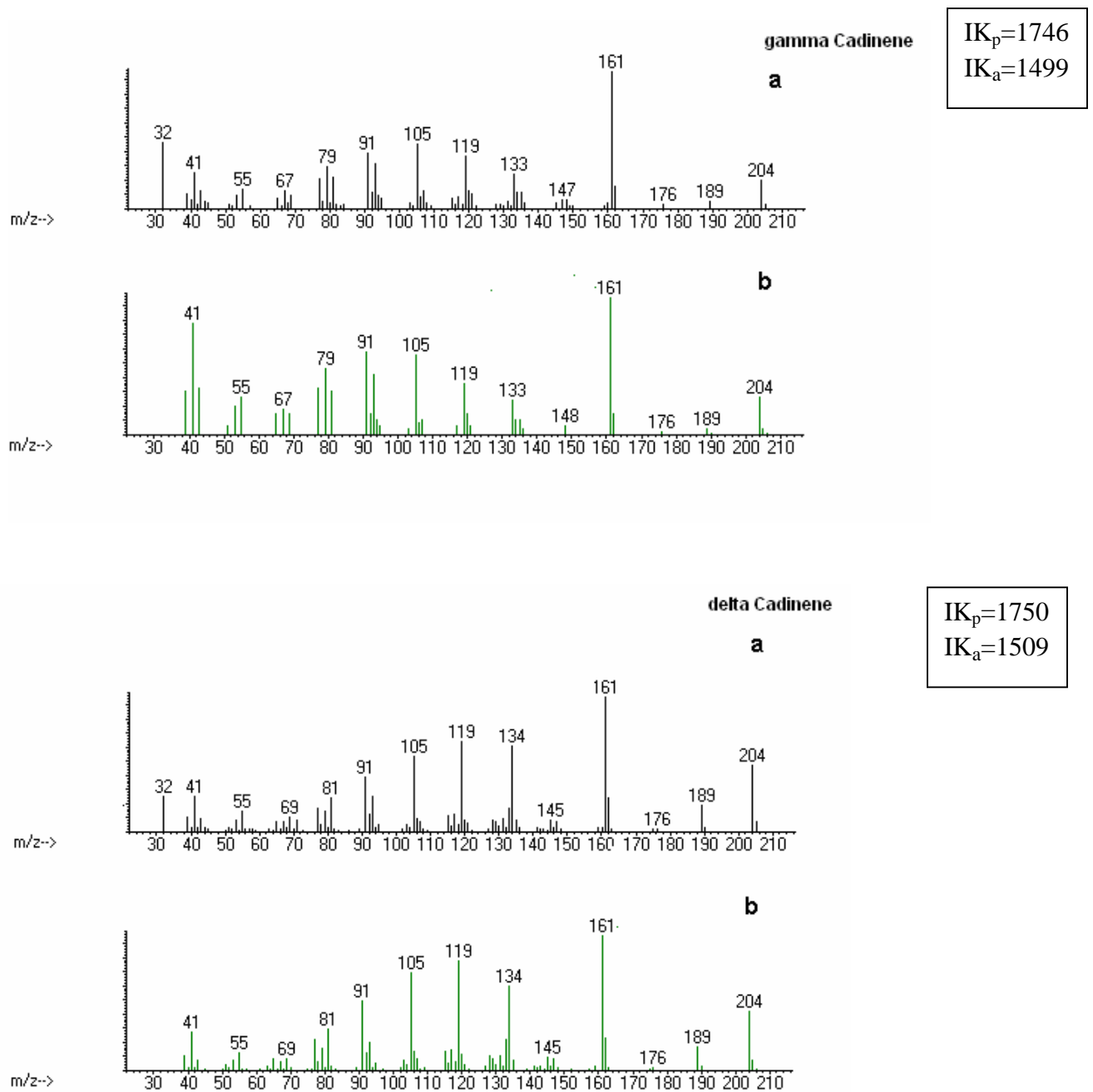


Figure 20 : Spectres de masse en IE du δ et γ -Cadinène

a : Essence étudiée , b : bibliothèque de spectres de masse.

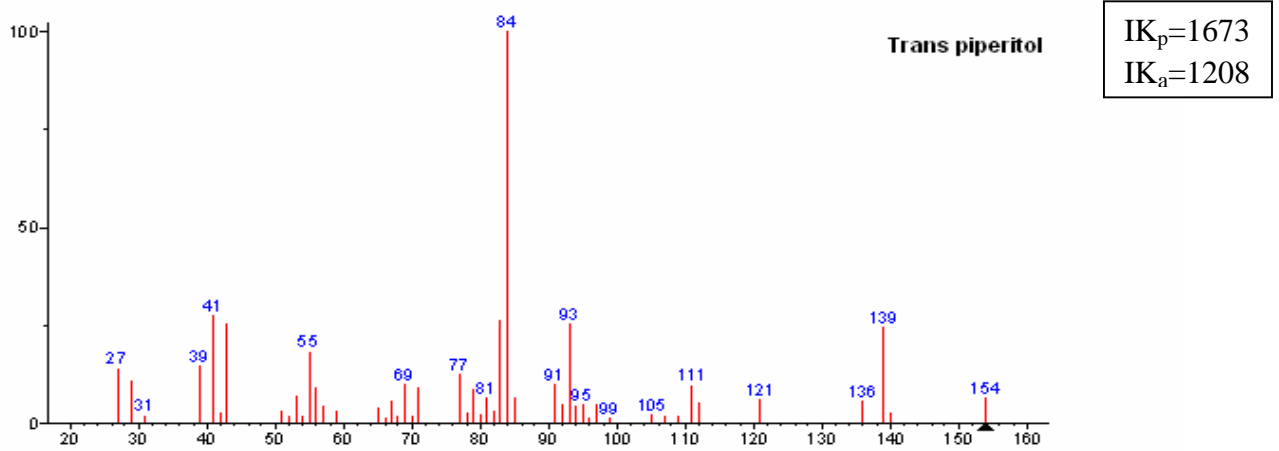
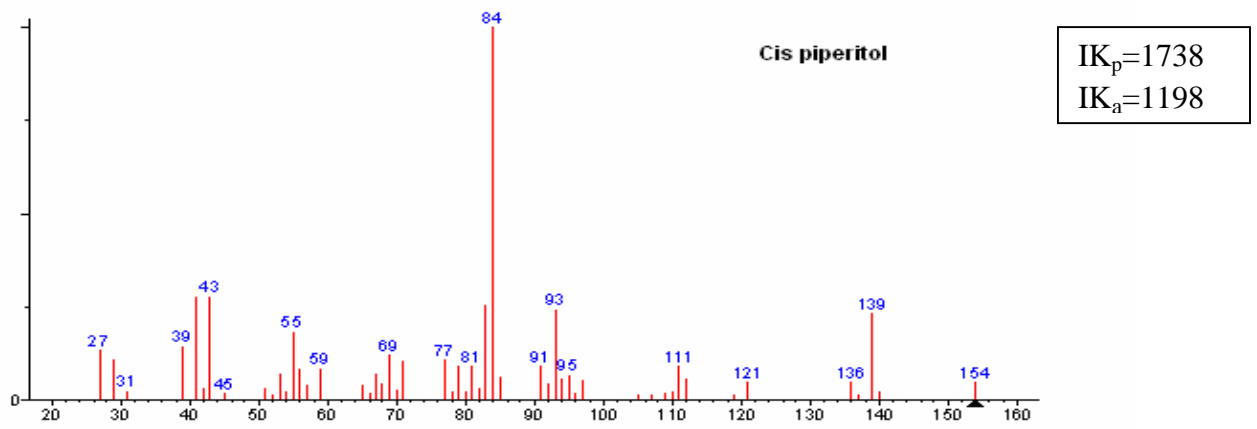


Figure 21: Spectres de masse en IE du cis et trans Pipéritol.

III) Partie expérimentale

Conditions chromatographiques :

Appareil Hewlett Packard HP6890.

Colonne capillaire en silice fondue :

Colonne apolaire HP5 MS : 30m x 0.25 mm x 0.25 μ m (5%-phenyl-methylpolysiloxane).

Colonne polaire carbowax (stabilowax) : 60m x 0.25mm x 0.25 μ m.

Débit : 0.5 ml/min.

Gaz vecteur : Hélium.

Température de la colonne : 60° C (8 min) \rightarrow 2° C/min \rightarrow 230° C (20 min).

Température de l'injecteur : 250° C.

Température du détecteur : température de la source.

Spectrométrie de masse : mode Impact électronique à balayage.

Appareil : HP5973.

Energie d'ionisation : 70 ev.

Température de la source : 230° C.

Injecteur automatique :

Appareil : Agilent 7683 B.

Quantité injectée :

0.2 μ l pour les échantillons de Marjolaine.

0.6 μ l pour les échantillons de Laurier.

Bibliographie:

- (1) S. Bouchonnet. ; Y. Hoppilliard. ; T. Kargar-Grisel. ; « Les différents types de spectromètres de masse utilisés pour l'analyse des composés organiques et bio organiques», *Spectra Analyse*, (1999), 28, 11-25.
- (2) M.Lahlou, «Method to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils», *Phytotherapy Research*, (2004), 18, 435-448.
- (3) J. Rechter, I. Schellenberg, «comparison of different extraction methods for the determination of essential oil and related compounds from aromatic plants and optimization of solid-phase microextraction/gas chromatography», *Anal bioanal chemistry*, (2007) 387:2207-2217.
- (4) R. P. Adams, «Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy», (1995).
- (5) F. Tazerouti, «Etude d'huiles essentielles de Pin d'Alep de différentes régions d'Algérie», thèse de Magister, Univ.Sci .Tech. Houari. Boumediene, Alger, (1991).
- (6) N. Tabanca, B. Demirci, T. Ozek, N. Kirimer, K. Husnu Can Baser, E. Bedir, I. A. Khan, D. E. Wedge, «Gas chromatographic-masse spectrometric analysis of essential oils from Pimpinella species gathered from central and Northern Turkey», *Journal of chromatography* ,(2006), A 1117, 194-205.
- (7) R.R.Vera, J. Chane-Ming, «Chemical composition of the essential oil of majoram (origanum majorana L.) from reunion Island», *Food chemistry* , (1999), 66 143-145.
- (8) A. M. Viljoen, S. Subramoney, S.F. Van Vuuren, K. H. C. Baser, B. Demirci, «The composition, geographical variation and anti microbial activity of Lippia javanica (Verbenica) leaf essential oils», *Journal of ethnopharmacology* ,(2005), 96 271-277.
- (9) Ye. M. Suleimenov, G.A. Atazhanva, T. Ozek, B. Demirci, A.T. Kulyyasov, S.M. Adekenov, K. H. C. Baser, «Essential oil composition of three species of Achillea from Kazakhstan», *Chemistry of natura compounds*, (2001), Vol. 37, No. 5.
- (10) B. Demirci, K. H. C. Baser, N Tabanca, D.E. Wedge, «Characterisation of volatile constituents of Haplopappus greenel and studies on the anti fungal activity against phytopathogens», *Journal of agricultural food chemistry*, 2006, 54, 3164-3150.
- (11) N.Dahmani-Hamzaoui, «Extraction et analyse d'huiles essentielles de l'Armoise Algérienne (Artemisia herba alba) », thèse de Magister, Laboratoire d'analyse organique fonctionnelle, Uni. Sci. Tech. Houari. Boumédiéne, Alger (2004).

- (12) Z. Tunalier, N. Kirimer, K. H. C. Baser, «The composition of essential oils from various parts of *Juniperus foetidissima*», *chemistry of natural compounds*, (2002), Vol 38, No. 1.
- (13) A. Baaliouamer, «Analyse qualitative et semi-quantitative de citrus provenant de la Station Expérimentale d'Arboriculture de Boufarik», Thèse de doctorat, Univ.Sci.Tec.Houari Boumédiène, Alger, (1987).
- (14) K. H. C. Baser, B. Demirci, A. Dekebo, E. Dagne, «Essential oils of some *Boswellia* spp., Myrrh and *Opopanax*», *Flavour and fragrance journal*, (2003), 18, 153-156.
- (15) M.E. Komaitis, N. Ifanti-Papatragianni, E.Melissari-Panagiotou, «Composition of essential oil of majoram (*origanum majorana* L.) », *Food chemistry*, (1992), 45, 117-118.
- (16) M. Skoula , P. Gotsiou, G. Naxakis , C. B. Johnson, «A chemosystematic investigation on the mono- and sesquiterpenoids in the genus *origanum* (Labiatae) », *Phytochemistry*, (1999), 52 649-657
- (17) E. Vagi , B.Samandi , A. Suhajda , E. Héthelyi, «Essential oil composition and antimicrobial activity of *origanum majorana* L. Extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide», *Food research international*, (2005) , 38 51-57.
- (18) D.J. Daferera, B. N. Ziogas, M. G. Polissiou, «GC/MS Analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicilium Digitatum*», *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2000), 48, 2576-2581.
- (19) F. Abd El Lateef Gharib, «Effect of salicylic acid on the growth, Metabolic activities and Oil content of Basil and Marjoram», *International journal of agriculture & biology*, (2006), 08-4-485-492.
- (20) M. E. Lucchesi, «Extraction sans solvant assisté par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles», Thèse de Doctorat, Université de la Réunion, faculté des sciences et des technologies (2005).
- (21) M.A. Ferhat, «Extraction sans solvant assistée par micro-ondes des huiles essentielles des citrus d'Algérie, compréhension, application et valorisation », thèse de Doctorat, Univ.sci.Tech.Houari Boumédiène Alger, (2007).
- (22) J. Novak, C. Bitsch, J. Langbehn, F. Pank, M. Skoula, Y. Gotsiou, C. M. Franz, «Ratio of cis- and trans-sabinene hydrate in *Origanum majorana* L. and *Origanum microphyllum* (Bentham) Vogel», *Biochemical Systematics and Ecology*, (2000), 28, 697-704.
- (23) C.Fiorini, I. Fourasté, B.David and J. M. Bessière, «Composition of the Leaf and Stem Essential Oil from *Laurus Nobilis* L.», *Flavour and fragrance*, (1997), 12, 91-93.

- (24) F. Guido, T. Marianna., L.C Pier, C Lucia., S.R And L Rea, L. Iginio, «Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *laurus nobilis* L. And a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven». *Journal of chromatography*, (2007), 1143, A, 36-40.
- (25) N. Bouzouita, F. Kachouri, M. Hamdi, M. M. Mhaabouni, «Antimicrobial activity of essential oils from Tunisia aromatic plants», *Flavour and fragrance journal*, (2003), 18, 380-383.
- (26) F. Conforti, G. Statti, D. Uzunov, F. Menichini, «Comparative chemical composition and antioxidant activity of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* subsp. *Piperitum* (Urica) coutinho seeds», *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, (2006), 10, 2056-2064.
- (27) M. T. Baratta, H. D. Dorman, S. G. Deans, A. C. Figueiredo, J. G. Barroso and G. Ruberto, «Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils», *Flavour and fragrance Journal*, (1998),13, 235-244.
- (28) O. Politeo, J .Mila, Mlanden.M, «Chemical composition and antioxidant activity of free volatile aglycones from laurel (*laurus nobilis* L.) compared to its essential oil». *Croatica Chemica Acta*, (2007), 80,1, 121-126
- (29) V. L. S. Ribeiro, V. Rolim, S. Bordignon, A. T. Henriques, G. G. Dorneles, R. P. Limberger, G. Von Poser, «Chemical composition and larvicidal properties of the essential oils from *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae) on the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microphilus* and the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*», *Parasitol Research*, (2008), 102, 531-535.
- (30) S. F. Mecherara-Idjeri, « Extraction des huiles essentielles de trois espèces de pistacia : *P. Lentiscus* L., *P. Terebinthus* L. et *P. Atlantica* DESF. Et Caractérisation Par CPG, CPG-SM Et RMN ¹³C », Thèse de Doctorat d'Etat, Univ.Sci.Tech.Houari.Boumediène, (2007).
- (31) N. Goren, B. Demirci, K.H. Can Baser, «Composition of the essential oil of *Tanacetum* spp. From Turkey», *Flavour and fragrance journal*, (2001), 16, 191-194.
- (32) A. Kaya, B. Demirci, K. H. C. Baser, «The composition of the essential oil of *Stachys iberica* SUBSP. *Setenostachya*. G Rowing in Turkey». *Chemistry of natural compounds*, (2001), 37, 4, 326-328.
- (33) V. Demir, T. Gunhan, A.K. Yagcioglu, A. Degirmencioglu, «Mathematical Modelling and the Determination of Some Quality Parameters of air-dried Bay Leaves», *Biosystems Engineering*,(2004), 88, 3, 325-335.

CHAPITRE IV

**TEST IN VITRO DE L'EFFET
ANTIOXYDANT DE L'HUILE
ESSENTIELLE DE LAURIER ET DE
MARJOLAINE**

I. Introduction

Les radicaux libres sont des atomes ou groupe d'atomes, avec un électron célibataire sur la couche externe. Les radicaux libres et leurs précurseurs sont regroupés sous les termes ROS (espèces réactives de l'oxygène) et RNS (espèces réactives d'azote). Les organismes vivants utilisent leur réactivité dans plusieurs processus physiologiques comme les mécanismes de défense ou bien comme signal intra ou extra cellulaire.

Les ROS comme l'anion radical superoxyde O_2^- , Le radical hydroxyle $^{\bullet}OH$, le monoxyde d'azote NO , le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal (1). L'exposition excessive à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, la fumée des cigarette et le rayonnement, s'est avérée augmenter la formation des ROS. Lorsque les ROS ne sont pas neutralisés par le système de défense antioxydant de l'organisme, il y a excès de ces radicaux nocifs et des dommages peuvent se produire. Le déséquilibre peut aussi être dû à un apport insuffisant d'antioxydant par le régime alimentaire.

Le taux intracellulaire physiologique des ROS est maintenu grâce à un équilibre entre le système prooxydant qui les produit (respiration mitochondriale, phagocytose.....) et le système antioxydant représenté par les molécules d'origine alimentaire non enzymatique (vitamine C, E, caroténoïde, polyphénols) ou d'origine endogène, enzymatique (super oxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) ou non enzymatique (glutathion).

Les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales avaient été connues pour leur activité biologique, notamment antibactérienne, antifongique et antioxydante (2).

Notre objectif dans ce chapitre est de tester l'activité antioxydante de l'HE, précédemment valorisée, des feuilles fraîches de laurier et de la marjolaine.

II. Matériels et méthodes

II.1 Matériels

II.1.1 Matériel chimique

Les huiles essentielles de laurier et de la marjolaine sont diluées deux fois :

Une fois dans de l'éthanol aux concentrations suivantes :

2 g/l pour l'HE de la marjolaine, et 20 g/l pour l'HE de laurier, une deuxième fois dans de l'eau physiologique avant d'effectuer les tests aux concentrations suivantes :

1g/l pour la marjolaine (M), 10 et 15 g/l pour le laurier (L1 et L2 respectivement).

Ces concentrations ont été choisies en se basant sur des références bibliographiques (2, 3).

Pour pouvoir comparer l'activité de nos huiles avec d'autres antioxydants nous avons par ailleurs utilisé un échantillon de curcumine (100 μ moles / l = 3.680 mg/l). La curcumine est un composant polyphenolique (fig.22), elle est largement utilisée comme aditif nutritionnel donnant une couleur jaune. Elle possède de puissantes activités anti-inflammatoires, anticancéreuses, antioxydantes et chimioprotectives entre autres (4).

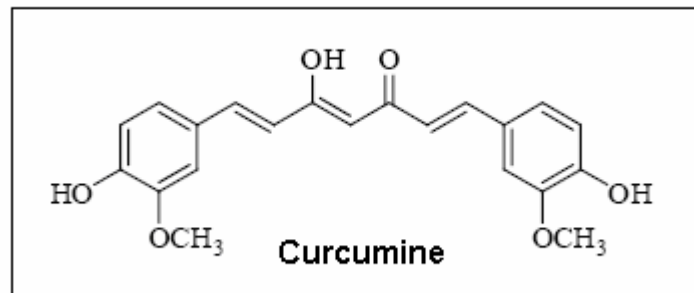


Figure 22 : La molécule de la curcumine.

II. 1. 2 Matériel biologique

Des souris blanches *Swiss* de poids 23 ± 2 g (Institut Pasteur Alger, Annexe de Kouba).

-Elevage : Animalerie de l'USTHB.

- Alimentation: Granulés, eau courante.

- Condition d'hébergement:

Humidité 50%.

Température ambiante 25%.

Litière : cage de polypropylène contenant de la sciure.

Eclairage : 10h / jour.

II. 2. Méthodes

II.2.1. Préparation des cellules à tester

L'activité antioxydante des huiles essentielles des deux plantes a été déterminée en faisant des tests *in vitro* sur des leucocytes polynucléaires neutrophiles (PN) du péritoine provenant de souris blanches préalablement soumises à une induction d'inflammation par injection d'une solution de thioglycollate de sodium au niveau du péritoine. Après 96 heures de l'injection les cellules sont récoltées, lavées avec du tampon PBS (tampon phosphate, pH 7,5) et énumérées sur cellules de Malassez et diluées à 10^6 cellules/ ml.

II.2 .2. Mesure de l'absorbance

Dans les cuves du spectrophotomètre UV (Jenway Genova), 10µl des cellules du péritoine récupérés ont été mises à incuber à 37°C pendant 20min avec et sans (contrôle) les substances antioxydantes (l'HE de laurier aux concentrations : 10 et 15 g/l, l'HE de la marjolaine à la concentration de 1g/l et la curcumine), 50µl du cytochrome C (20mg/ml) et 20µl du phorbol myristate acétate (PMA 10µg/ml) sont additionnés à chaque mélange réactionnel, ce dernier sert à régénérer les radicaux $O_2^{\cdot -}$. L'absorbance est ensuite lue à 550 nm toutes les 5min durant 35 min.

Les PN sont primés avec le thioglycollate de sodium et activés (pour produire les radicaux libres $O_2^{\cdot -}$) in vitro avec du PMA.

Pour contrôler la production d' $O_2^{\cdot -}$ induite par le PMA, nous avons utilisé la réduction du cytochrome C pour la détecter à une longueur d'ondes de 550 nm (5).

III. Résultats et discussion

Les absorbances mesurés durant les 35 min pour les échantillons étudiés et le contrôle sont représentés sur le tableau XIX.

Pour tracer les courbes $\Delta A = f(t)$ des échantillons et du contrôle (fig.23), nous avons exprimé l'absorbance A en ΔA tel que :

$$\Delta A = A_t - A_{t_0}$$

Avec A_t = Absorbance à l'instant t

Et A_{t_0} = Absorbance à l'instant t = 0.

Le pouvoir antioxydant est généralement associé aux composés phénoliques, aux dérivés de l'acide caféique et aux flavonoïdes (6). Les antioxydants réagissent sur les radicaux libres en leurs donnant un atome d'hydrogène ou un électron (7).

L'HE de la marjolaine possède une activité antioxydante très importante comparée à celle d'autres plantes comme le cinnamome, le basilic, la citronnelle, le citron et le romarin et même à celle de l'alpha tocophérol et le BHT (butylated hydroxy toluene) (2). Les résultats du chapitre précédant ont montré que l'HE de la marjolaine poussant en Algérie ne contient pas essentiellement des composés phénoliques tels que le thymol et le carvacrol (à raison respectivement de 0.031 et 0.138 % seulement), elle contient par contre des alcools monoterpéniques, essentiellement le linalool et le terpinène-4-ol. Ce dernier est un composé majoritaire dans l'HE du thé qui possède elle aussi une activité antioxydante très importante (8).

Tableau XIX : Valeurs de l'absorbance mesurées par le spectromètre UV.

Temps (min)	0	5	10	15	20	25	30	35
A ₁ PMA	0,435	0,478	0,516	0,640	0,907	1,063	1,153	1,439
A ₂ PMA	0,436	0,472	0,518	0,664	0,884	1,030	1,241	1,571
Δ A PMA	0,000	0,040	0,082	0,217	0,460	0,611	0,762	1,070
A ₁ L ₁	0,905	1,028	1,040	1,048	1,078	1,116	1,130	1,143
A ₂ L ₁	0,883	0,975	0,985	1,028	1,043	1,062	1,112	1,141
Δ A L₁	0,000	0,108	0,119	0,144	0,167	0,195	0,227	0,248
A ₁ L ₂	0,905	1,028	1,040	1,048	1,078	1,116	1,130	1,143
A ₂ L ₂	0,883	0,975	0,985	1,028	1,043	1,062	1,112	1,141
Δ A L₂	0,000	0,048	0,034	0,065	0,102	0,119	0,142	0,174
A ₁ M	0,768	0,818	0,876	0,880	0,892	0,921	0,974	1,028
A ₂ M	0,822	0,916	0,937	0,945	0,971	1,013	1,038	1,077
Δ A M	0,000	0,072	0,112	0,118	0,137	0,172	0,211	0,258
A ₁ CUR	0,444	0,455	0,497	0,554	0,572	0,615	0,640	0,724
A ₂ CUR	0,423	0,423	0,457	0,500	0,526	0,549	0,584	0,612
Δ A CUR	0,000	0,006	0,044	0,094	0,116	0,149	0,179	0,235

L1 : HE du laurier à la concentration de 10 g/l.

L2 : HE du laurier à la concentration de 15 g/l.

M : HE de la marjolaine à la concentration de 1 g/l.

CUR : Curcumine.

A₁ : Absorbance du premier essai.

A₂ : Absorbance du deuxième essai.

L'huile essentielle de laurier contient l'eugénol et le méthyle eugénol (à raison respective de 2.333 et 5.767 %), qui sont considérés comme des contribuant les plus importants dans l'activité antioxydante de son huile essentielle (3).

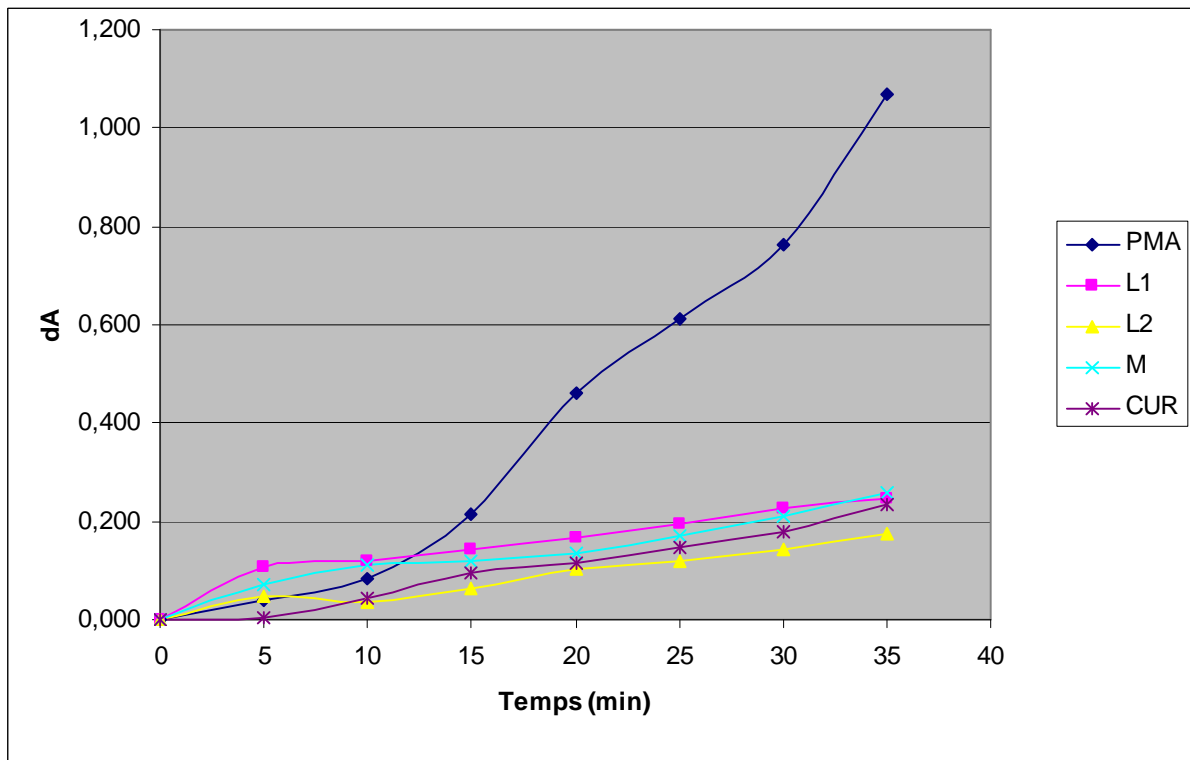


Figure 23 : Courbes représentant la variation de la production des radicaux libres $O_2^{\cdot-}$ en fonction du temps pour PMA (contrôle), L₁, L₂, M et CUR (curcumine).

On remarque que l'HE des deux plantes possède une activité antioxydante considérable, l'activité de l'HE de laurier à la concentration de 15 g/l est nettement la plus importante. Il est à noter qu'au bout de 35 min la concentration¹ des radicaux libres atteint 1.071 dans le control (test à blanc) alors qu'elle n'excède pas les 0.26 pour les échantillons testés.

On remarque aussi qu'avant 5 min, les HE comparées au control ne montrent pas une inhibition vis à vis des radicaux libres, la curcumine par contre inhibe leur production. Après 5 min l'HE de laurier à la concentration de 15 g/l commence à inhiber, elle donne la plus

¹ L'absorbance est un multiple de la concentration des radicaux libres : $A = \epsilon \times L \times C$ (équation de Beer-Lamber), tel que :

L : Longueur de la cuve.

C : Concentration des radicaux libres.

ϵ : Coefficient d'extinction molaire.

basse valeur d'absorbance à t=10 min, après 12 min tous les échantillons testés inhibent la production des radicaux libres.

Pour mieux présenter la différence entre l'effet des échantillons étudiés nous avons calculé à la 30^{ème} minute le pourcentage d'inhibition de chacun selon l'équation suivante (6) :

$$I \% = (1 - (\Delta A \text{ de l'échantillon} / \Delta A \text{ du contrôle})) \times 100$$

Les pourcentages d'inhibition calculés pour les quatre échantillons sont présentés sur le tableau XX.

Tableau XX : Pourcentages d'inhibition des quatre échantillons étudiés.

échantillon	HE L 10g/l	HE L 15g/l	HE M 1g/l	CUR
I % (inhibition)	70.20	81.36	72.30	76.50

L'huile essentielle de laurier à la concentration de 10 g/l présente presque le même pourcentage d'inhibition que celui de la marjolaine (voire tableau XVII) à la concentration de 1 g/l (un rapport de 10 entre les deux concentrations et l'HE de la marjolaine exerce un effet inhibiteur 10 fois plus important), en effet l'HE de la marjolaine est très reconnue par son pouvoir antioxydant (2).

On constate qu'à la concentration de 15 g/l l'échantillon de laurier donne une excellente inhibition (81.36%), il sera intéressant de vérifier si l'HE à cette concentration (qui est un peu excessive) ne présente pas une toxicité pour le corps du fait que l'HE de laurier contient l' α -phellandrène qui est considéré comme composé toxique pour le corps humain (9) (en effectuant des test in vivo chez des souris par exemple). Plus intéressante est l'activité de l'huile essentielle de la marjolaine, car à une concentration de 1g/l seulement elle montre un très bon pouvoir inhibiteur (72.30 %). Cet effet ne pouvant pas être engendré à un composé seul mais plutôt à une contribution synergique de tous les constituants de l'huile essentielle (10).

L'HE de la marjolaine et celle de laurier à la concentration de 10 g/l possèdent une activité comparable à celle de la curcumine, ce résultat est d'autant plus important que l'utilisation des antioxydants naturels est plus recommandé pour les utilisations thérapeutiques et dans l'industrie alimentaire.

Bibliographie :

- (1) H.W. Kang, K. W. Yu, W. J. Jun, I. S. Chang, S. B. Han, H. Y. Kim, H. W. Cho, «Isolation and characterisation of alkyl peroxy radical scavenging compounds from leaves of *Laurus nobilis*», *biological & Pharmaceutical Bulletin*, (2002), 25,1, 102-108.
- (2) M. T. Baratta, H. D. Dorman, S. G. Deans, A. C. Figueiredo, J. G. Barroso and G. Ruberto, «Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils», *Flavour and fragrance journal*, (1998),13, 235-244.
- (3) O. Politeo, J. Mila, Mladen.M, «Chemical composition and antioxidant activity of free volatile aglycones from laurel (*laurus nobilis* L.) compared to its essential oil». *Croatica Chemica Acta*, (2007), 80,1, 121-126
- (4) R. Appiah-Opong, J. N.M. Commandeur, B. van Vugt-Lussenburg, N. P.E. Vermeulen, « Inhibition of human recombinant cytochrome P450s by curcumin and curcumin decomposition products», *Toxicology*, (2007), 235, 1-2, 83-91.
- (5) J. Cunnik, P. Kaur, Y. J. Cho, J. Groffen, N. Heisterkamp, « Use of bone marrow-derived macrophages to model murine innate immune responses», *Journal of immunological methods* (2006), 31, 1-2, 96-105.
- (6) W. J. Jun, B. K. Han, K. W. Yu, M. S. Kim, I. S. Chang, H.Y. Kim, H. Y. Cho, «Antioxidant effect of *origanum majorana* L. on superoxide anion radicals», *Food Chemistry*, (2001), 75, 439-444.
- (7) F. Conforti, G. Statti, D. Uzunov, F. Menichini, «Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *laurus nobilis* L. leaves and *foeniculum vulgare* subsp. *Piperitum (ucria) coutinho* seeds», *Boiological & Pharmaceutical Bulletin*, (2006), 29, 10, 2056-2064.
- (8) F. Mondello, F. De Bernardi, A. Girolamo, A. Cassone, G. Salvatore, «In vivo activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *melaleuca altrnifolia* cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and resistant human pathogenic candida species», *BMC Infectious Diseases*, (2006), 6,158.
- (9) Y. Foudil Cherif, «Etude comparative des huiles essentielles Algérienne d'*Eucalyptus Globulus Labill* et *Camaldulensis*», Thèse de Magister, Univ. Sci. Tech. Houari Boumédiène, (1991).
- (10) M. E. Lucchesi, «Extraction sans solvant assisté par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles», Thèse de Doctorat, Université de la Réunion, faculté des sciences et des technologies (2005).

CONCLUSION

Conclusion

Le présent travail rentre dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques à caractère médicinal puisqu'il traite l'étude de la composition chimique des huiles essentielles de deux plantes poussant en Algérie. Il s'agit du laurier noble (*Laurus nobilis* L.) de la famille des *lauracea* et de la marjolaine (*Origanum majorana* L.) de la famille des *lamiaceae*.

Dans la première partie de ce travail, nous avons donné une description botanique des deux plantes. Nous avons également fait une synthèse bibliographique concernant la composition et l'utilisation de l'huile essentielle de laurier et de la marjolaine, où l'on a mis en évidence les principaux constituants des HE et leurs domaines d'application.

La seconde partie a été consacrée à l'étude du matériel botanique (partie utilisée, état, région et période de récolte) et des rendements en HE. Nous avons également décrit les deux méthodes d'extraction utilisées pour extraire l'HE, Il s'agit de l'hydrodistillation (HD) et l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM). Le rendement obtenu par ces deux méthodes était similaire et parfois supérieur dans le cas de l'HD.

Le rendement le plus élevé été observé pour les feuilles séchées de laurier (1%) nous avons pu constater également que les tiges qu'elles soient sèches ou fraîches renferment moins d'huile essentielle que les feuilles. Par ailleurs une légère différence avait été observée entre le rendement en huile essentielle des feuilles de marjolaine provenant du jardin d'essais EL HAMMA et celle de l'INRA.

Dans la troisième partie de ce travail nous avons procédé à l'analyse des HE issues des feuilles et des tiges de laurier et des feuilles de marjolaine. L'identification par GC et GC/MS des 05 échantillons de laurier et des 03 échantillons de marjolaine a montré une nette prédominance des composés monoterpénique oxygénés et des monoterpènes avec le terpinèn-4-ol et 1,8-cinéol comme composés majoritaires dans la marjolaine et le laurier respectivement. Par ailleurs, L'ESSAM s'est avérée une méthode d'extraction efficace pour extraire les composés oxygénés, qui sont des

composés bénéfiques d'un point de vu olfactif et thérapeutique, sans parler du gain en temps et en énergie.

La comparaison de la composition chimique de l'HE des feuilles fraîches et séchées du laurier a montré que ces dernières étaient plus riches en essence ce qui confirme les résultats bibliographiques. Nous avons procédé également dans ce travail à l'extraction de l'HE à partir des tiges de Laurier (fraîches et séchées) où nous avons pu constater que les tiges fraîches étaient beaucoup plus riches en essence. D'un autre côté la composition chimique de l'HE des tiges de laurier était comparable à celle des feuilles avec quelques différences au niveau des composants existants à l'état de trace.

La dernière partie de ce travail a été consacrée au test du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle des deux plantes. Pour cela des tests in vitro sur des cellules du péritoine provenant de souris préalablement soumises à une induction d'inflammation ont été suivis. La mesure de l'absorbance par les radicaux libres à l'aide d'un spectrophotomètre UV et la comparaison avec celle d'un anti-oxydant industriel a confirmé l'activité anti-oxydante aussi bien de l'HE de la Marjolaine que celle du Laurier.