

11/049-22/03

Université Abou Bekr Belkaid

Algerie



جامعة أبي بكر بلقايد

تلمسان الجزائر

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUES



Faculté des sciences
Département de CHIMIE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de
MASTER
EN CHIMIE

OPTION

Bio Organique Et Thérapeutique

Par

M^{lle} BENSABEUR KHADRA

Thème

Contribution à l'étude chimique des huiles essentielles des feuilles et des
tiges d'*Arbutus unedo* L.

Soutenue le 10 juin 2009 devant le jury composé de :

Allali Hocine	Maître de Conférences	Président
Joseph Kajima Mulengi	Professeur	Examineur
Tabti Boufeldja	Professeur	Examineur
Ghalem Said	Professeur	Examineur
Bensaid Okkacha	Professeur	Examineur
Atmani Abdelkrim	Maître de Conférences	Examineur
Arrar Zoheir	Maître de Conférences	Examineur
Dib Mohamed El Amine	Maître de Conférences	Encadreur

bibliothèque des sciences



BFS11979



Dédicaces

Inscrit le 23 SEP 2009
Date de :
Code: 3674

Inscrit Sous le No. :
Date de : 14 SEP 2009
Code: 4979

Je dédie ce travail A :

Mes parents ;

Mes sœurs : HASNA, HADJRIA et SAMIRA ;

Mes frères : SLIMEN, MOHAMED, MOUSSA et AHMED ;

Mes belles sœurs : NAJET et MAMA ;

Pour leur présence et leur soutien ;

A toutes mes amies : KHALIDA, ZAHRA, IBTISEM, FATIMA, KAWTHER, SOHER, NASIRA, FATNA, ainsi qu'a, toute la promotion du master B.O.E.T ;

A toute la famille ;

A mes cousines : NAIMA et SOAD

A tous mes enseignants ;

Je n'oublie jamais mes neveux : SAID, OUSSAMA, MOURAD, BACHIR, HAMZA et MOHAMED et mes nièces ANFEL et RAJAA.



Remerciements

J'ai eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail de recherche dans le Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA) de la Faculté de science de Tlemcen (Abou Bekr Belkaïd) sous la direction du professeur Kajima Mulengi Joseph.

Tout d'abord, je remercie Monsieur le Docteur Dib

El Amine qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour m'avoir accordé sa confiance que pour m'avoir guidé dans mon travail tout au long de ce mémoire. Ses compétences, ses précieux conseils, sa disponibilité et sa gentillesse à mon égard

Mes remerciements vont également à Monsieur le Docteur Allali Hocine d'avoir notamment accepter de présider ce jury.

J'adresse également mes remerciements à Monsieur le Professeur Tabti Boufeldja, le Professeur Kajima Mulengi Joseph, le Professeur Ghalem Said, le Professeur Bensaid Okkacha, le Docteur Atmani Abdelkrim et le Docteur Arrar Zoheir d'avoir acceptés de juger ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur Bendiabdellah Djamel pour sa gentillesse et ses encouragements.

Je ne voudrai pas oublier M^{elle} Misaina Hayat et M^f Boumdini Mohamed de Ain Ghoraba pour m'avoir accompagnés durant les sorties pour la cueillette de la plante.

Je ne saurai oublier tous mes collègues et camarades chimistes de l'équipe du laboratoire COSNA pour leur orientation et leur précieux conseils.

J'exprime toute ma gratitude de tout cœur à mes parents, mes frères et mes sœurs.

Enfin, je ne saurai terminer mes remerciements sans souligner aussi que ce travail n'aurait pu être réalisé sans l'aide de M^f Djabou Nassim pour les analyses CG et CPG/SM qu'il a réalisés au niveau du laboratoire de l'université de Corse.

Je tiens enfin à redire le plaisir que j'ai eu à travailler au sein de COSNA, et j'en remercie ici tous les membres.



Sommaire

	Pages
Introduction générale	01
Références bibliographiques.....	03
Chapitre I : Origine naturelle de nos médicaments	04
I.1. Introduction.....	04
I.2. Historique.....	04
I.3. Récolte et conservation des plantes.....	05
I.4. Domaines d'application.....	05
Références bibliographiques.....	07
Chapitre II : Notions sur les huiles essentielles	09
II.1. Introduction.....	09
II.2. Répartition et localisation des huiles essentielles.....	09
II.3. Fonction.....	09
II.4. Méthodes d'extraction.....	09
II.5. Conservation.....	11
II.6. Propriétés physiques générales des HE.....	11
II.7. Activités biologiques des HE et leurs utilisations.....	12
II.8. Composition chimique des HE.....	13
Références bibliographiques.....	14
Chapitre III : Acides gras et insaponifiables	17
III.1. Introduction.....	17
III.2. Acides gras.....	17
III.2.1. Définition.....	17
III.2.2. Classification et nomenclature.....	17
III.2.3. Propriétés.....	18
III.2.4. Rôles.....	18
III.2.5. Activités biologiques.....	19
III.3. Insaponifiables.....	19
III.3.1. Définition.....	19
III.3.2. Composition.....	19
III.3.3. Propriétés.....	19
III.3.4. Applications thérapeutiques.....	19
Références bibliographiques.....	20
Chapitre V : Etude botanique d'<i>Arbutus unedo</i> L.	21



Chapitre V : Etude botanique d'<i>Arbutus unedo</i> L.	21
V.1. Introduction.....	21
V.2. Caractéristiques botaniques des Ericacées.....	21
V.3. L'espèce <i>Arbutus unedo</i> L.....	21
V.3.1. Description botanique.....	21
V.3.2. Usages et propriétés thérapeutiques.....	22
Références bibliographiques.....	23
Chapitre IV : Travaux antérieurs sur <i>Arbutus unedo</i> L.	25
IV.1. Introduction.....	25
IV.2. Travaux chimiques.....	25
V.2.1. Proanthocyanidines (Tanins condensés).....	25
V.2.2. Flavonoïdes.....	25
V.2.3. Composés hydrophiliques.....	26
V.2.4. Composés norisoprénoïdes.....	28
V.2.5. Huiles essentielles.....	29
V.2.6. Sels minéraux.....	30
V.2.7. Sucre, acides non volatiles et phénoliques.....	30
V.2.8. Anthocyanes.....	31
IV.3. Travaux biologiques.....	32
Références bibliographiques.....	33
Chapitre VI : Résultats et discussion.	35
VI.1. Introduction.....	35
VI.2. Calcule du rendement de l'huile essentielle.....	35
VI.3. Etude de l'huile essentielle des tiges et des feuilles d' <i>Arbutus unedo</i> L.....	35
VI.3.1. Identification des constituants majeurs des huiles essentielles des tiges d' <i>Arbutus unedo</i>	36
VI.3.2. Identification des constituants majeurs des huiles essentielles des feuilles d' <i>Arbutus unedo</i>	37
VI.3.3. Analyses spectrales : identification des constituants aromatiques de l'huile essentielle des tiges d' <i>Arbutus unedo</i>	39
VI.4. Etude des acides gras et des insaponifiables des racines d' <i>Arbutus unedo</i>	42
VI.4.1. Acides gras obtenu à partir des racines.....	42
VI.4.2. Interprétation des spectres de masse.....	43
VI.4.3. les insaonifiables obtenus de l'extrait des racines.....	45
Conclusion.....	46
Références bibliographiques.....	47



Chapitre VII : Méthodes et techniques	48
VII.1. Matériels végétaux.....	48
VII.1.1 Origine géographique et période de récolte.....	48
VII.2.Extraction des huiles essentielles.....	48
VII.2.1. Procédé d'extraction.....	48
VII.2.2Calcul du rendement.....	48
VII.3. Extraction des acides gras et les insaponifiables.....	49
VII.3.1. Dégraissage du matériel végétal.....	49
VII.3.2. Séparation des insaponifiables (Saponification).....	49
VII.3.3. Estérification des acides gras.....	50
VII.4. Techniques d'analyse.....	50
VII.4.1. Principe de la technique.....	50
VII. 4.2. Conditions opératoires.....	50
VII.4.3. Identification des constituants.....	51
Références bibliographiques.....	52
Conclusion générale	53
Annexes	



Abréviations

Les abréviations ont généralement été indiquées sous la forme la plus couramment utilisée dans la littérature, elles sont donc souvent issues de terminologie anglo-saxonne.

CPG	chromatographie en phase gazeuse.
CPG-SM	chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
DAG	le diacylglycérol-1,2.
g	gramme.
HE	huiles essentielles.
IP ₃	inositol 1, 4,5-triphosphate.
IA	insaponifiables d'huile d'avocat.
IAS	insaponifiables d'huile d'avocat et de soja.
IS	insaponifiables d'huile de soja.
h	heure.
KI	indice de rétention.
min	minute.
ml	millilitre.
Rdt	rendement.
TR	temps de rétention.
tr	trace.
α	alpha.
β	beta.
ρ	para.
%	pourcentage.

Liste des tableaux

	Pages
Tableau 1 : Récolte, séchage et conservation des plantes.....	05
Tableau 2: Structures et nomenclatures des quelques acides gras.....	18
Tableau 3: Composition chimique des différents composés hydrophiliques des feuilles <i>d'Arbutus unedo</i> L.	27
Tableau 4 : Composés volatiles dans le miel des fruits <i>Arbutus unedo</i> L. de Sardaigne.....	28
Tableau 5 : Composition de l'huile essentielle des feuilles <i>Arbutus unedo</i> L.....	29
Tableau 6 : Les sels minéraux dans les fruits <i>Arbutus unedo</i> L.....	30
Tableau 7 : Rendement de l'huile essentielle des différentes stations.....	35
Tableau 8 : Composition de l'huile essentielle des tiges d' <i>Arbutus unedo</i> L.....	37
Tableau 9 : Composition de l'huile essentielle des feuilles d' <i>Arbutus unedo</i> L.....	38
Tableau 10 : Composition en acides gras de l'extrait éthéré des racines d' <i>Arbutus unedo</i> (proportions m/m exprimées par rapport au total des acides gras).....	43
Tableau 11 : Les insaponifiables de l'extrait des racines d' <i>Arbutus unedo</i> (proportions m/m exprimées par rapport au total des constituants).....	46



Liste des figures

	Pages
Figure 1 : Montage d'hydrodistillation de type Clevenger.....	10
Figure 2 : Structures chimiques de quelques composées extraites des huiles essentielles....	13
Figure 3 : Fruits, fleurs, feuilles d' <i>Arbutus unedo</i> L.....	22
Figure 4 : Structure chimique des proanthocyanidines des tiges d' <i>Arbutus unedo</i> L.....	25
Figure 5 : Structure chimique des flavonoïdes des feuilles et des fruits d' <i>Arbutus unedo</i> L...	26
Figure 6 : Structure chimique des flavonols glycosides des feuilles d' <i>Arbutus unedo</i> L.....	26
Figure 7 : Structure chimique des différents composés hydrophiliques des feuilles d' <i>Arbutus unedo</i> L.....	27
Figure 8 : Structure chimique des différents composés norisoprénoïdes du miel des fruits <i>Arbutus unedo</i> L.....	28
Figure 9 : Structure chimique des anthocyanes et des composés phénoliques des fruits <i>Arbutus unedo</i> L.....	32
Figure 10 : Spectre CPG-SM de l'huile essentielle des tiges de l' <i>Arbutus unedo</i> L.....	36
Figure 11 : Spectre CPG-SM de l'huile essentielle des feuilles <i>Arbutus unedo</i> L.....	38
Figure 12 : Spectre de masse du (E)-Anyl 2-méthyle butyrate.....	39
Figure 13 : Spectre de masse du (E)-Anyl isobutyrate.....	40
Figure 14 : Caractérisation du fragment $m/z = 41$ des composés aromatiques.....	40
Figure 15 : Caractérisation des fragments $m/z = 43$ et $m/z = 57$ des composés aromatiques..	41
Figure 16 : Caractérisation des fragments $m/z = 133$ et $m/z = 134$ des composés aromatiques.....	41
Figure 17 : (E)-Anyl isobutyrate.....	42
Figure 18 : Spectre CPG/SM des acides gras des racines d' <i>Arbutus unedo</i> L.....	42
Figure 19 : Fragmentation de l'acide tétradécanoïque méthyle ester.....	44
Figure 20 : Caractérisation du fragment $m/z = 74$ des acides gras ou des esters.....	45
Figure 21 : Schéma d'un montage d'hydrodistillation.....	48
Figure 22 : Schéma d'un montage de Soxhlet.....	49



A travers les âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

Bien qu'une grande partie du XX^{ème} siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines [1].

Généralement, la plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, qui trouvent des applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture.

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité, car elles contiennent des principes actifs des médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire [2, 3].

Beaucoup des métabolites secondaires sont également importants pour notre alimentation (gout, couleur) [4]. En effet, les métabolites secondaires font et restent l'objet de nombreuses recherches in vivo comme in vitro, notamment la recherche des nouveaux constituants naturels tels les composés phénoliques, les saponosides et les huiles essentielles [5].

L'utilisation des plantes aromatiques et des huiles essentielles en thérapeutique, remonte aux temps les plus anciens, toutefois leur prescription par voie orale, guidée par des examens bactériologiques est relativement récente [6].

Le continent africain est un des continents dotés d'une biodiversité la plus riche dans le monde, avec une avalanche de beaucoup de plantes utilisées comme herbes, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. C'est en grande partie dû à la géographie vaste englobant une masse de terre approximativement de 216,634.000 hectares de secteurs forestiers fermés.



Plus de 5.000 substances naturelles différentes ont été identifiées. Malgré la nature hétérogène du continent, il ya eu peu d'efforts consacrés au développement des agents chimiothérapeutiques et prophylactiques de ces plantes [7].

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier une plante, poussant à l'état spontané dans la région de Tlemcen, et qui est fréquemment employé dans le traitement de certaines maladies.

Objectifs du travail

Au cours de cette recherche, nous nous sommes fixés comme objectifs principaux l'extraction et la caractérisation des huiles essentielles des feuilles et des tiges, ainsi que l'extraction et la caractérisation des acides gras et des insaponifiables des racines d'*Arbutus unedo* L. vu qu'à ce jour très peu de chercheurs se sont intéressés à leurs caractérisation. C'est donc dans l'optique d'une meilleure connaissance des substances naturelles de cette espèce que la présente étude a pris forme.

Les objectifs de ce travail consistaient:

1. à étudier la qualité de l'huile essentielle, c'est-à-dire ses composants et son rendement, lors de traitements physiques tels l'hydrodistillation.
2. à caractériser les principaux constituants des huiles des feuilles et des tiges extraites par l'hydrodistillation.
3. à identifier le contenu des acides gras et des insaponifiables des racines.

Références bibliographiques

- [1] A. Gurib-Fakim, Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow, *Molecular aspects of medicine*, 2006, 27(1), 1-93.
- [2] J.G. Fouché, A. Marquet, A. Hambuckers, Les plantes médicinales, de la plante au médicament, observation du monde des plantes, Sart-Tilman, 2000.
- [3] P. Iserin, Encyclopédie des plantes médicinales (Identification, Préparation, Soins), Edition Larousse, 2001, p.10-18.
- [4] J.A. Teixeira da Silva, Mining the essential oils of the Anthemideae, *African Journal of Biotechnology*, 2004, 3(12), 706-720.
- [5] T. Bahorun, Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, *Food and Agricultural Research Council*, Réduit, Mauritius, AMAS, 1997, p.83-94.
- [6] P. Belaiche, Traiter de phytothérapie et l'aromathérapie, Edition Maloine, Tome I, Paris, 1979.
- [7] E. O. Farombi, African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents, *African Journal of Biotechnology*, 2003, 2(12), 662-671.

I.1. Introduction

L'origine de nos médicaments actuels se confond avec l'origine de la connaissance « des plantes médicaments », c'est-à-dire avec l'origine de la phytothérapie [1].

On entend par phytothérapie le traitement curatif ou préventif des maladies et de troubles subjectifs par l'utilisation de préparations obtenues à partir des plantes. Les plantes ainsi employées sont communément appelées plantes médicinales [2].

Une plante médicinale est une plante présentant des propriétés médicamenteuses, sans avoir ni ne pouvant avoir aucune utilisation alimentaire, condimentaire et hygiénique, pour les plantes présentant des propriétés autres que des propriétés médicamenteuses, elles sont considérées comme des plantes aromatique condimentaires [3].

La phytothérapie est la quatrième branche de la connaissance des plante médicinales, vaste ensemble qui comprend aussi la phytochimie, la phytopharmacie et la phytopharmacologie [4]. La phytothérapie, c'est l'emploi des médicaments végétaux pour soigner les différents maux dont vous pouvez être victimes [5,6].

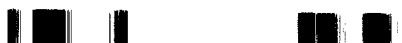
I.2. Historique

L'ethnobotanique est une discipline scientifique dont le but est de mieux connaître les pharmacopées traditionnelles utilisées dans certaines régions. L'inventaire partiel établi dans divers pays par l'organisation mondiale de la santé répertorie environ 20.000 plantes médicinales. Parmi les 250.000 espèces de plantes que compte actuellement notre planète, moins de 10% ont fait l'objet d'analyses chimiques fines pour détecter d'éventuels principes actifs. Une étude plus systématique des plantes médicinales pourrait se traduire par la découverte de nouveaux médicaments utilisables [7].

Des plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique [8].

L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations glanées au cours du temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade [9].

Dans les civilisations chinoise, indienne (médecine ayurvédique, « science de la vie ») ou aztèque, on trouve les traces d'utilisation médicinale très ancienne. Le premier livre de matière « Traité des plantes médicinales de l'empereur Shen Nung », fut rédigé vers 2900 av .J-C.4000 ans av-J.C., les populations babyloniennes et sumériennes utilisaient les plantes pour se soigner : 600 tablettes d'argiles mentionnent 1000 plantes pour leurs vertus curatives et plus de 800 remèdes sont décrits par les Egyptiens [9].



Le soin de la peau a commencé 3000 ans av la naissance du Christ, quand les Egyptiens ont enregistré en forme hiéroglyphique le soin de la peau sur des peintures de mur de temple [10].

I.4. Récolte et conservation des plantes

De la récolte et de la conservation des plantes dépend leur action. Il est essentiel qu'elles conservent le maximum de leurs principes actifs [4], car plus une préparation phytothérapeutiques contient des principes plus ses indications thérapeutiques sont nombreuses et ont une action générale [2].

Tableau 1 : Récolte, séchage et conservation des plantes. [4,11]

Partie de la plante	cueillette	Séchage	conservation
Racines		A l'air sec	
Racines charnues		A l'étuve	
Racine mucilagineuses		Au four	
Racines vivaces	Au printemps		
Racines des plantes annuelles et biannuelles	À l'automne		A l'abri de l'humidité
Ecorces des plantes annuelles et biannuelles	Quand il a acquis une certaine épaisseur et se sépare facilement du corps	Au soleil ou à l'étuve	
Ecorces d'arbre	En hiver		
Ecorce d'arbrisseau	En automne		
Ecorce de résineux	En printemps		
Bois			
Flours	Au début de leur épanouissement. Les fleurs de rose se cueillent en boutons	A l'ombre et à atmosphère sèche	
Feuilles	Avant la floraison		
Semences	Quand la plante se dessèche		
Tiges	En même temps que les feuille	Au soleil ou dans une serre à 30-60 C°	
Feuilles épaisses			
Bourgeons	Au début du printemps		
Fruits	Un peu avant maturité		

I.4. Domaines d'application

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. La pharmacie utilise encore une

forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse [12].

Il y a eu donc un réveil vers un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effet secondaire défavorable [13,14].

- Utilisation en médecines : en tant que médicament pour l'homme ; exemple :

- En urologie, dermatologie, gastrites aiguës, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux [15].
- Systèmes cardiovasculaires, ex : Flavoce est un médicament constitué par la flavone non substitué en combinaison avec la rutine et isoquercétine est utile dans le traitement de l'athérosclérose [16].
- Drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoire (*Melaleuca alternifolia*, *Echinacea angustifolia*, *Achillea millefolium*,..... Etc [14, 17, 18].
- Contre le diabète (*Azadirachta indica*) [18, 19].
- Les maladies du stress, des activités antioxydant tels le thé noir, le thé vert et le cacao [20].
- Employée pour traiter la malaria, la quinine obtenue à partir du quinquina "*Cinchona*" est utilisée pour soigner cette maladie [21].
- Les plantes médicinales possèdent beaucoup d'activités tels que : l'activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire, antibactérienne, anti-infectieuse et antifongique [21, 13, 18,22]

- En agriculture: Exemple :

Les huiles de l'arbre *Azadirachta indica*, ont des utilisations dans l'agriculture dans le contrôle de divers insectes et nématodes (vers parasites) [18].

Références bibliographiques

- [1] L. Girre, Les plantes et les médicaments, L'origine végétale de nos médicaments, Edition Nathalie Rachline, Paris, 2001, p.1.
- [2] V. Fintelmann, R.F.Weiss, Manuel pratique de phytothérapie, Edition Vigot, 2004, p.1.
- [3] M. Veillot, Etude sur les plantes, usages et statuts juridiques, Edition I.N.R.A, 2001, p.1.
- [4] J. Valnet, La phytothérapie – Traitement des maladies par les plantes – Se soigner par les plantes, Edition Vigot, 2001, ISBN : 2-253-03790-7.
- [5] J. Raynaud, Prescription et conseil en phytothérapie, Edition TEC & DOC Lavoisier, paris, 1993, p.49.
- [6] G. Pastor, Précis de phytothérapie, édition Alpen, 2006, p. 3-4.
- [7] Larousse Encyclopedie MEMO, 1^{ère} édition, Montréal (Québec), 1999, p.182.
- [8] A. Nostro, M.P. Germano, V.D. Angelo, A. Marino & M.A. Cannatelli, Extraction methods & bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity, *Lettres en microbiologie appliquée*, 2000, 30(5), 379-384.
- [9] J.G. Fouché, A. Marquet & A. Hambuckers, les plantes médicinales, de la plante au médicament, observation du monde des plantes, Sart-Tilman, 2000.
- [10] A.C. Dweck, Herbal Medicine for the skin – their chemistry and effects on the skin and mucous membranes, *Personal Care Magazine*, 2002, 3(2),19-21.
- [11] I. Lanza, la santé par les plantes, Edition Dp lantum, 2002, p.14.
- [12] T. Bahorun, Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, *Food and Agricultural Research Council*, Réduit, Mauritius, AMAS, 1997, p.83-94.
- [13] Scientific Correspondence, Broad spectrum antimycotic drug for the treatment of ringworm infection in human beings, 2003, 85(1), 30-34.
- [14] P. Sionneau, La phytothérapie chinoise moderne, 2006, p500.
- [15] K.P. Svoboda & J.B.Hampson, Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxydant, antiinflammatory and other related pharmacological activities, Plant Biology Departement, SAC Auchincruire, Ayr, Scotland, 1999.
- [16] K.R. Narayana, M.S. Reddy, M.R. Chaluvadi & D.R. Krishna, Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential, *Indian Journal of Pharmacology*, 2001, 33, 2-16.
- [17] K. Pedneault, S. Léonhart, P. Angers, A. Gosselin, A. Ramputh, J.T. Arnason & M. Dorais, Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et



- concentration en composés secondaires des organes végétaux, Texte de conférence-5^{ième} colloque sur les produits naturels d'origine végétale, Université Laval, Canada, 2001, p.2.
- [18] M. Amjad Hussain, Neen seed oil: Bangladesh, Examples of the development of pharmaceutical products from médicinal plants, Bangladesh Council of Scientific and Industrial Research (BCSIR), 2005, 10, 59-63.
- [19] H. Allali, H. Benmehdi, M.A. Dib, B. Tabti, S. Ghalem & N. Benabadji, Phytothérapie of Diabetes in west Algeria, *Asian Journal of Chemistry*, 2008, 20(4), 2701-2710.
- [20] K.W. Lee, Y.J. Kim, H.J. Lee & C.Y. Lee, Cocoa has more phenolic phytochemical and a higher antioxidant capacity than Teas and Wine, *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2003, 51, 7292-7295.
- [21] S.G. Dastidar, A. Manna, K.A. Kumar, K. Mazumdar, N.K. Dutta, A. Chakrabatary, N. Motohashi & Y. Shirataki, Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2004, 23, 99-102.
- [22] L. Lyons & D. Nambiar, Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH, 2005, p.60.

Chapitre II
Notions sur les huiles essentielles



II.1. Introduction

Les huiles essentielles (essences aromatiques concentrées de plantes), se trouvent dans certaines cellules des fleurs, des feuilles, des graines, des racines ...etc. Plus de 400 essences ont été identifiées, dont environ 50 sont commercialisées [1].

II.2. Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, réparties dans une cinquantaine de familles [2]. Elles peuvent être stockées dans divers organes végétaux [3].

Les H.E sont synthétisées naturellement grâce à l'énergie du soleil par cellules sécrétrices, puis localisées sur ou à proximité de la plante parfois visibles à l'œil nu [4], et elles sont variables suivant les familles botaniques [5].

II.3. Fonction

Certains auteurs ont voulu voir, dans les HE, une ressource énergétique facilitant certaines réactions chimiques [6], d'autres, pensent qu'elles exerceraient une action antiseptique vis-à-vis de certains microorganismes (champignons) et auraient donc un rôle protecteur [7].

Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les terpénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agent allélopathiques (inhibiteur de la germination), mais aussi lors des interactions végétal-animal, comme agent de protection contre les prédateurs (insectes) et attraction des pollinisateurs [8].

L'utilité des HE pour les plantes désertique a été rattachée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes exposées à des climats désertiques [6].

II.4. Méthodes d'extraction

Les procédés d'obtention des H.E interviennent de façon déterminante dans leur composition. L'extraction peut se faire par différents procédés dont les principaux :

II.4.1. Distillation à la vapeur d'eau

La distillation à la vapeur d'eau est appliquée pour la majorité des plantes aromatiques. Elle est définie comme la séparation d'un mélange de composés liquides basé sur la volatilité relative des différents constituants du mélange [9].

On distingue deux méthodes générales de distillation :

- L'hydrodistillation.
- La distillation par entraînement à la vapeur.

II.4.1.a. Hydrodistillation

La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon, lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent par différence de densité (décantation) [8,10].

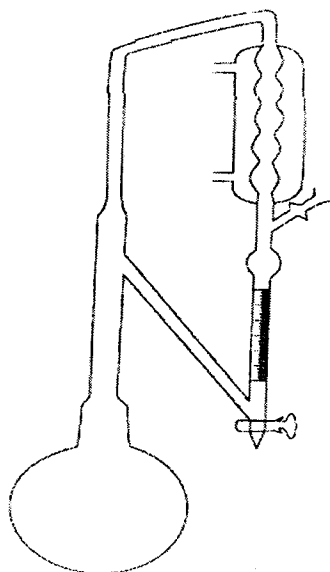


Figure 01 : Montage d'hydrodistillation de type Clevenger [11]

II.4.1 .b. Entraînement à la vapeur d'eau

Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, il est supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, la partie inférieure de celui-ci est remplie d'eau [12]. Les composés volatils entraînés par la vapeur d'eau vont pouvoir être séparés par décantation du distillat refroidi [6].

II.4.1.c. Extraction par expression

Cette méthode est employée uniquement pour les agrumes : le zeste qui contient des petites vésicules d'essence est séparé du fruit puis soumis à l'action d'une presse [13]. Donc cette méthode consiste à serrer physiquement le tissu végétal par écrasement des parties odorantes d'une plante fraîchement coupée [14].

II.4.2. Extraction par solvants

II.4.2.a. Extraction par solvants volatils

L'extraction par solvant est utilisée pour les composés non entraînés par la vapeur d'eau et pour les fleurs dont les molécules sont trop fragiles [15].

Cette méthode consiste à la mise en contact de la matière végétale avec un solvant qui dissout et extrait les constituants solubles contenus dans la plante, le solvant chargé est ensuite évaporé et récupéré.

L'huile essentielle est extraite et peut subir des traitements ultérieurs comme des lavages à l'alcool à 95% pour obtenir une caractéristique absolue olfactive proche de celle du végétal [16].

II.4.2.b. Enfleurage

Cette méthode est utilisée surtout pour des fleurs délicates comme la rose et le jasmin. Les fleurs sont mélangées à des graisses puis les huiles sont récupérées par dissolution dans l'alcool [17].

Actuellement, cette technique n'est que rarement utilisée du fait de son coût élevé, on la réserve à certaines fleurs extrêmement délicates [14].

II.5. Conservation

Grâce aux molécules constitutives des huiles essentielles, les problèmes de conservation sont moins importants, varient sous l'action de l'air et / ou de la lumière. Une huile de bonne qualité permet une durée de conservation de deux à cinq ans [16].

Il faut cependant les conserver dans les flacons propres et secs, en aluminium, en acier inoxydable ou en verre coloré, qui seront systématiquement bien fermés par un bouchon étanche pour éviter l'évaporation des arômes. Ces flacons seront stockés à basse température et seront conservés sous atmosphère d'azote ou d'un autre gaz inerte [2].

II.6. Propriétés physiques générales des HE

Malgré leurs différences des constituants, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre des propriétés physiques :

- A la température ordinaire, elles sont généralement liquides incolores ou jaunes pâles [18], il existe cependant quelques exceptions comme huile essentielle à azulène de coloration bleu [19].
- Elles sont solubles dans la plupart des solvants organiques et dans les huiles fixes et sont peu solubles dans l'eau, elles sont volatiles et entraînaibles à la vapeur d'eau [20].
- Elles sont généralement fluides, ils dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels [21].
- Ces substances sont très sensibles à l'oxydation, elles sont donc de conservation limitée [7].
- Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C, et leur densité inférieure à celle de l'eau (0.850 à 0.950) [20].

II.7. Activités biologiques des HE et leurs utilisations

Les domaines d'utilisation des HE sont variés :

- Les huiles essentielles sont employées en aromathérapie pour préserver ou améliorer la santé et la beauté des êtres humains soit pour un usage externe (inhalation, compresses, massage, soin des cheveux.....) soit pour un usage interne (infusions, sirops.....) [22].
- Elles peuvent être utilisées pour leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums [23, 24].
- Les huiles essentielles sont appliquées pour l'aromatisation des plats cuisinés, des sauces, des gâteaux, du pain..... [4].
- Les huiles essentielles ont des propriétés antiseptiques ou infectieuses d'origine bactérienne [25, 26].
- Les travaux de Dongmo et coll. [27] ont montré que les HE possèdent des activités antiradicalaires et anti-inflammatoires (*C.reticulata var. Madagascar*).
- Plusieurs études ont montré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides [28, 29, 30, 31] et fongicides [32].
- Certaines huiles essentielles favorisent la guérison des brûlures et ont une action locale cicatrisante (Lavande), antalgique [33] et analgésique (Thym) [34].
- La capacité antioxydant d'huiles volatiles est étroitement liée à tout le contenu du phénol [35].
- Les propriétés antiparasitaires des essences sont également connues depuis les temps les plus reculés.
- Les terpènes ou terpénoides ont des effets contre les bactéries, les mycètes, les virus et les protozoaires [36].
- En dehors des propriétés antimicrobiennes largement utilisées à l'heure actuelle, les HE possèdent des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antiviral et larvicides qui ont une action énergétique puissante [20, 37].
- Des études récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un potentiel important qu'agents antimicrobiens [38, 39].
- En plus, les HE possèdent des propriétés hypocholestérolémiantes [40].
- L'activité antivirale de l'HE de *Houttuynia cordata*, est testée contre le virus d'influenza et HIV-1 [41].
- Toutefois certaines HE sont irritantes et peuvent provoquer de vomissement des douleurs abdominales et des diarrhées [42].

II.8. Composition chimique des HE

Les composants des huiles essentielles sont génériquement dits « aromatiques » en raison de leur caractère odoriférant et non pour indiquer leur structure chimique [3].

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants, il s'agit des :

- **Composés terpéniques** : constituent parfois 90% d'huile essentielle [8], et qui sont à la base de leurs propriétés olfactives [43]. Sont rencontrés principalement les terpènes les plus volatils, c à d, ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée: des monoterpènes (en C_{10}) et des sesquiterpènes (en C_{15}) [44] telles que : menthol, Citral, Eucalyptol.....ect.

- Composés aromatiques

Qui sont néanmoins importants sur le plan qualitatif et quantitatif chez certaines huiles essentielles [45].

-Dérivés de phénylpropane C6-C3 :

Ces composés sont beaucoup moins fréquents, on peut citer : l'acide d'aldéhyde cinnamique, L'eugénol, L'anéthol.....ect [46]. On peut également rencontrer dans les HE des composés en C6-C1 comme la vanilline, [8].

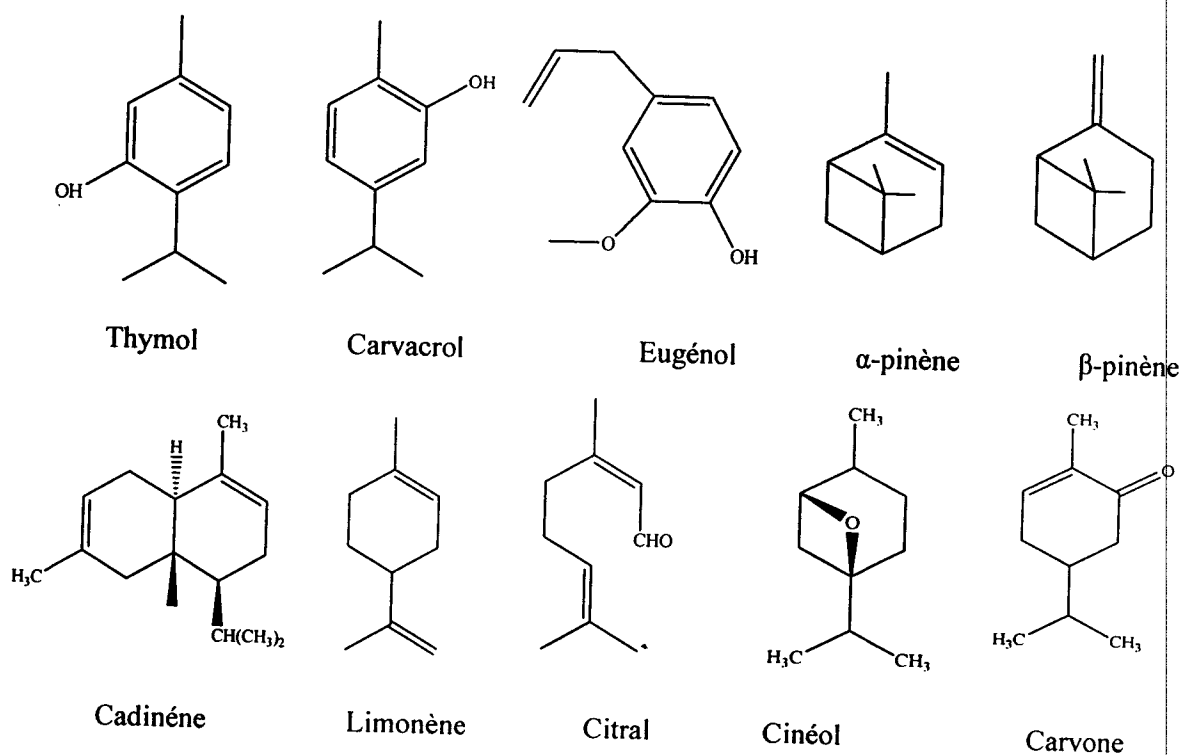


Figure 2 : Structures chimiques de quelques composés extraits des huiles essentielles [8, 3].

Références bibliographiques

- [1] R.E. Spichiger, V. Savolainen, M. Figeat & D. Jeanmonod, Botanique Systématique des plantes à fleurs, Presses polytechniques et universitaires romandes, 3^{ème} édition, 2005, p.22.
- [2] J. Bruneton, Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales, 2^{ème} édition, Edition Tec & Doc Lavoisier, Paris, 1993, p.409-426.
- [3] M.C. Pibiri, Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, Thèse de doctorat ès sciences, Faculté environnement naturel, architectural et construit, Infrastructures, des ressources et de l'environnement, Ecole polytechnique fédérale, Lausanne, NO 3311, 2006, p.29.
- [4] P. Franchomme & D. Péné, L'aromathérapie exactement, Edition Roger Jollois, 2007.
- [5] J. Blanc-Mouchet, Odeurs : l'essence d'un sens, Edition Autrement, Série mutation N° 92, 1987, p. 216.
- [6] P. Belaiche, Traiter de phytothérapie et d'aromathérapie, Tome1, l'aromatogramme, Edition Maloine S.A, Paris, 1979, p.137.
- [7] M. Paris, M. Hurabielle, Abrégé de matière médicale-Pharmacognosie, Tome 1, Généralités – Morphologies, Edition Masson, Paris, 1981, p.182.
- [8] J. Bruneton, Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales, 3^{ème} édition, Edition Tec & Doc Lavoisier, Paris, 1999, p.488-497.
- [9] E. Guenther, The essential oils, origin plants, Production analysis, Edition RE. Kreiger, Tome 1, 1972.
- [10] B. Charpentier, F. Hamon-Lorleac'h, A. Harlay, L. Ridoux, Guide du préparateur en pharmacie, 3^{ème} édition, Elsevier Masson, 2008, p.774.
- [11] F. Noudjou, H. Kouninki, T. Hance, E. Haubruge, L. ST. Ngamo, P. M. Maponmestsem, M. Ngassoum, F. Malaisse, M. Marlier & G. Lognay, Composition of *Xylopi aethiopica* (Dunal) A. Rich essential oils from Cameroon and identification of a minor diterpene: *ent*-13-*epi* manoyl oxide, *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 2007, 11 (3), 193–199.
- [12] B. Benjlalli, Extraction des plantes aromatiques et médicinales, cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ces équipements, Congrès international sur les huiles essentielles, Rabat, Maroc, 2004.
- [13] C. Duraffourd, J.C. Lapraz, Traité de phytothérapie clinique: endobiogénie et médecine, Edition Elsevier Masson, 2002, p.7.
- [14] F. Padrini, M.T. Lucheroni, La nature des huiles essentielles, Edition De xecchi, 1997.
- [15] H. Richard, Epices et herbes aromatiques, Edition Tec & Doc Lavoisier, Paris, 1992.

- [16] N. Benhabiles, Comparaison des huiles essentielles de deux espèces Algériennes de Romarin : *Rosmarinus.Eriocalyx* et *Rosmarinus Officinalis* Linn, Extraction et étude analytique, Thèse de magistère, Option Génie chimique, Ecole national polytechnique, El Harrache, Alger, 1995, p.11.
- [17] P. Goetz, La phytocosmétologie thérapeutique, Edition Springer, 2007, p.58.
- [18] G. Legrand, Manuel préparateur en pharmacie, 8^{ème} édition, Edition Masson, 1978, p.384.
- [19] P. Davis, Aromathérapie de A à Z, Le guide le plus complet jamais publié sur le sujet, Edition Vigot, 2006.
- [20] O. Catier & D. Roux, Cahiers du préparateur en pharmacie-Botanique-Pharmacognosie-Phytothérapie, 3^{ème} édition, Edition Wolters Kluwer, 2007, p.81.
- [21] J. Valnet, L'aromathérapie, Edition Maloine S.A, 2005.
- [22] M. Turgeon, Profil des produits foresteries, Première transformation HE, Edition Gouvernement du Québec, 2001, p.2.
- [23] B. Smallfield, Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal & culinary purposes, *Crop & Food Research*, 2001, 45, p.4.
- [24] J. Mesplède, CAPES externe 2000-2005 Agrégation de physique, Problème de chimie avec solutions et annexes, Edition Bréal, 2005, p.35.
- [25] J. Caillard, Les plantes, des usines chimiques en miniature, Dossier de ressources documentaires, Edition CRDP Midi-Pyrénées, 2003, p.6.
- [26] J. Pellecuer, J.L. Roussel & C. Andary, Recherche du pouvoir antifongique de quelques huiles essentielles, *Rivista Italiana Essenzo (EPPOS)*, 1980, 23, 45-50.
- [27] P.M.J. Dongmo, J. Kuate, V. Ngouana, F. Domesse, E.T. Sonwa, P.H.A. Zollo & Ch. Menut, Comparaison des propriétés antiradicalaires et anti-inflammatoires des HE de *Cetrus reticulata* var. *Madagascar* et *Citus senensis* var. *Casagrande* du Cameroun, CIRAD, EDP Sciences, 2008, 63, p.201.
- [28] O.Kunle, J.Okogun , E. Egamana, E. Emojevwe, M. Shok, Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract, *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 2003, 10(1), 59-61.
- [29] R.J.W. Lambert, P.N. Skandanis & coll, A study of the minimum inhibitory concentration & mode of action of oregano essential oil, thymol & carvacrol, *Journal of Applied Microbiology*, 2001, 91(3), 453-462.
- [30] S.E. Walsh, J.Y. Maillard & coll, Activity & mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive & -negative bacteria, *Journal of Applied Microbiology*, 2003, 94(2), 240-247.
- [31] N. Bendimerad, S.A. Taleb Bendiab, A.B. Benabadi & coll, Composition & Antibacterial Activity of *Pseudocytisus integrifolius* (Salisb) Essential oil from Algeria, *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2005, 53, 2947-2952.



- [32] K.A. Hammer, C.F. Carson & coll, Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil, *Journal of Applied Microbiology*, **2003**, 95(4), 853-860.
- [33] J.L. Abrassart, Aromathérapie essentielle (huiles essentielles et parfum pour le corps et l'âme), Edition Guy Trédaniel- FLORILAB, **2001**.
- [34] B. Schwämmle, E. Winkelhausen, S. Kuzmanova & W. Steiner, Isolation of carvacrol Assimilating Microorganisms, *Biotechnol*, **2001**, 39 (4), 341-345.
- [35] E. Stefanovits-Banyai, M.H. Tulok, A. Hegedüs. C. Renner & I.S. Varga, Antioxidant effet of various rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) clones, *Acta Biologica Szegediensis*, **2003**, 47(4), 111-113.
- [36] I.R. Hernandez Ochoa, Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale, Thèse de Doctorat, Institut national polytechnique, Ecole doctorale : Sciences de procédés spécialité : Science des agro ressources, Toulouse, **2005**, p.23.
- [37] F. Tchoumboungang, P.M.J. Dongmo, M.L. Sameza, E.G.N. Mbanjo, G.B. Tiako.Potso, P.H.A. Zollo, C. Menut, Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, **2009**, 13(1), 77-84.
- [38] K.H.C. Baser, B. Demirci, S. Koçak, Ç. Akinci, H. Maley, G. Güteryüz, Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Achillea multifida*, *Planta Med*, **2002**, 68(10), 941-943.
- [39] H.J.D. Dorman, S.G. Deans, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, *J.Appl. Microbiol*, **2000**, 88, 308-316.
- [40] K.W. Lee, H. Everts, A.C. Beynen, Essential oils in Broiler nutrition, *International Journal of Poultry Science*, **2004**, 3(12), 738-72.
- [41] K.P. Svoboda, J.B. Hampson, Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities, plant Biology Department, SAC, Auchincruire, Ayr, Scotland, **1999**.
- [42] L.J. Alison, P.I. Dargan, Toxicologie d'urgence, Edition Elsevier Masson, **2008**, p.128.
- [43] L. Ganou, Contribution à l'étude des mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielles, Thèse de l'INP, Toulouse, France, **1993**, p.26.
- [44] M. Rai & M.C. Carpinella, Naturally Occurring bioactive Compounds, Advances in phytomedicine, Edition Elsevier, **2006**, volume 3, p.30.
- [45] J.Q. Cu, Extraction de compositions odorantes végétales par divers solvants organiques, Thèse de l'institut National polytechnique, Toulouse, France, **1990**, p.15.
- [46] M.M. Cowan, Plant products as Antimicrobial Agents, *Clinical Microbiology Reviews*, **1999**, 12(4), 564-582.

Chapitre III
Acides gras et Insaponifiables

III.1. Introduction

Le métabolisme primaire fournit des molécules de base : carbohydrates (mono, oligo et polysaccharides), lipides, acides aminés, protéines et acides nucléiques. Ces métabolites sont produits en quantité élevée par les plantes [1].

Les travaux des chimistes dans le milieu du XIX^e siècle avaient permis de classer les graisses (lipides) en deux catégories selon leur réactivité vis-à-vis d'alcalis comme soude. Certaines graisses donnaient naissance à des savons par réactions des acides gras qu'elles contiennent avec la soude. On les appela graisses saponifiables. D'autres graisses n'étaient pas attaquées par la soude, on les appela graisses insaponifiables [2].

III.2. Acides gras

III.2.1. Définition

Les acides gras sont les briques de base de nombreux lipides dont les lipides énergétiques [3].

Les acides gras sont des acides organiques, faibles [4], à chaîne longue, à nombre pair d'atome du carbone de 4 à 36 [5], avec un pôle hydrophile (deux atomes d'oxygènes de la fonction acide carboxylique qui peuvent établir des liaisons faible type ponts hydrogènes avec l'eau) et une région hydrophobe représentée par la chaîne hydrogénéocarbonée [3].

Les acides gras se trouvent sous formes de phospholipides, de triacylglycérol ou de graisses [6], mais rarement existent à l'état libre dans les cellules [7].

III.2.2. Classification et nomenclature

Dans le règne animal et végétal, il existe différentes familles des acides gras, que l'on peut séparer en premières approches, en acides gras saturés et insaturés selon qu'ils ne contiennent pas ou contiennent des doubles liaisons [8].

Il existe deux familles d'acide gras polyinsaturé (ω_3 et ω_6) [9], qui font l'objet de plusieurs nomenclatures et utilisent soit un non commun exp. (acide arachidonique), soit une dénomination biologique indiquant le nombre de carbone, le nombre des doubles liaisons et leur position à partir de l'extrémité du méthyle ($C_{20}:4\omega_6$), soit la nomenclature chimique indiquant en plus la conformation cis ou trans des doubles liaisons et leur position en Δ , c'est-à-dire à partir de l'extrémité carbonyle (acide cis Δ 5, 8, 11, 14 eicosatétraénoïque) [10].

Tableau 2: Structures et nomenclatures des quelques acides gras

Nombre de carbone	Dénomination		Structure
	Nom commun	Nom chimique	
12	Acide laurique	Acide Dodécanoïque	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CO}_2\text{H}$
16	Acide palmitique	Acide Héxadécanoïque	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}_2\text{H}$
20	Acide arachidique	Acide Eicosanoïque	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{CO}_2\text{H}$
18	Acide oléique	Acide cis 9-octadécénoïque	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{CO}_2\text{H}$
18	Acide linoléique	Acide cis 9,12-octadécadiénoïque	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{CO}_2\text{H}$
20	Acide arachidonique	Acide cis 5, 8, 11, 14-eicosatétraénoïque	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$

III.2.3. Propriétés

Les propriétés des acides gras sont déterminées par les longueurs des chaînes hydrocarbonées et par leur degré d'insaturation [7].

A pH 7, tous les acides gras libres sont ionisés. Ces molécules amphiphiles s'assemblent en micelles dans l'eau.

- La longue chaîne aliphatique non polaire, leur confère l'insolubilité dans l'eau et la solubilité dans les solvants organiques apolaires. La solubilité dans l'eau est d'autant plus faible que la chaîne est plus longue et les doubles liaisons sont plus nombreuses [12].
- Le point de fusion augmente avec le nombre de carbone et diminue quand le nombre des doubles liaisons augmente.
- Ils sont liquides à 20°C si $n < 10$ C et solide si $n = 10$ C.
- L'oxydation des doubles liaisons par l'oxygène de l'air conduit au rancissement des graisses.
- Formation d'ester avec glycérol et cholestérol et de thioester avec le coenzyme [13].

III.2.4. Rôles

Les acides gras jouent quatre rôles biologiques majeurs :

1. Ils sont utilisés pour former des glycérophospholipides et sphingolipides qui sont des constituants essentiels des membranes biologiques.
2. De nombreuses protéines sont modifiées par covalence par des acides gras.
3. Les acides gras sont stockés sous forme de triacylglycérols pour agir comme des molécules carburant, qui sont dégradés pour régénérer de l'énergie.
4. Certains dérivés d'acide gras jouent le rôle d'hormone (comme les prostaglandines) et de seconds messagers intracellulaires (tels que le DAG et IP₃) [14].

III.2.5. Activités biologiques

Les études scientifiques actuelles ont permis de confirmer les propriétés médicinales attribuées aux acides gras. Les acides gras ω -3 semblent être efficaces dans la prévention du stress, de la dépression et de la démence, notamment au cours de la maladie d'Alzheimer [15].

III.3. Insaponifiables

III.3.1. Définition

La fraction glycéridique représente 98% en poids du corps gras et renferme surtout des triacylglycérides. Ces derniers sont constitués par des acides gras, estérifiés par le glycérol. La fraction non glycéridique ne représente que 0.5 à 2% du corps gras et est appelée insaponifiable [16].

III.3.2. Composition

Les insaponifiables sont des corps complexes, hétérogènes [17] comprenant des :

- Caroténoïdes précurseurs de la vitamine A dont le β -carotène.
- Tocophérols, dont la vitamine E.
- Stérols, molécules proches du cholestérol, mais d'origine végétale appelés phytostérols (Sitostérol, Stigmastérol, Brassicastérol) [18].

III.3.3. Propriétés

Les insaponifiables sont des mélanges lipophiles qui seront incorporés dans la phase grasse des émulsions en petite quantité (1 à 2%), [19].

Elles sont insolubles dans l'eau et peut être extraites par des solvants organiques.

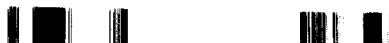
Elles ne réagissent ni aux base fortes ni à la réaction de saponification [20].

III.3.4. Applications thérapeutiques

Ces insaponifiables agissent sur les structures de bases des tissus, ce sont des eutrophiques. On connaît surtout les insaponifiables de soja, avocat, maïs, luzerne.....etc. Les insaponifiables ont des actions similaires à celles des hormones et des précurseurs biologiques. Ils stimulent l'adénosine monophosphate cyclique qui agira comme second messenger vers le noyau cellulaire. Ils interviennent sur les fibroblastes dermiques sollicités dans l'élaboration de la synthèse du collagène, de l'élastine, des protéoglycanes et des glycoprotéines de structure [17]. Il existe depuis près de 26 ans, une spécialité à base d'insaponifiables d'huile d'avocat et de soja (IAS) sous forme gélule : Piasclédine (contient 100 mg d'insaponifiables d'huile d'avocat (IA) et 200 mg d'insaponifiables d'huile de soja (IS). Les IAS s'opposent aux effets délétères d' H_2O_2 sur le métabolisme du cartilage [16].

Références biologiques

- [1] J.G. Fouché, A. Marquet, A. Hambuckers, Les plantes médicinales, de la plante au médicament, Observatoire du Monde des Plantes, 2000.
- [2] P. Vignais, La biologie des origines à nos jours- Une histoire des idées et des hommes, Editions EDP Sciences, 2001, p.365.
- [3] S. Beaumont, Biochimie (cours, exercices, annales et QCM corrigés), Edition Dunod, Paris, 2005, p.55-56.
- [4] H. Dupin, Alimentation et nutrition humaines, Edition ESF, 1992, p.142.
- [5] G. Hennen, Biochimie (Approche bioénergétiques et médical), Edition Dunod, 4^{ème} édition, Paris, 2006, p.9.
- [6] A. Lichtensin, E. Kennedy, P. Barrier & all., Dietary fat consumption and realth, *Nutrition Review*, 1998, 56, 3-28.
- [7] M. Guilloton & B. Quintard, Biochimie, Edition Dunod, Paris, 2003, p.95.
- [8] M.D. Resh, Membrane targeting of lipid modified signal transduction proteins, *Sub-cellular biochemistry*, 2004, 37, 217-232.
- [9] C. Demandre, A. Tremolieres, A.M. Justin, P. Mazliak, Oleate desaturation in six phosphatidylcholine molecular species from potato tuber microsomes, *Biochimica et biophysica acta*, 1986, 877(3), 380-386.
- [10] A. Grynberg, Acides gras poly-insaturés-phospholipides et fonctions membranaires, Edition Springer, Paris, 2007, p.115-116.
- [11] G. Grisham, Biochimie, Edition De Boeck Université, 2000, p.238.
- [12] C. Moussard, Biochimie structurale et métabolique: Médecine, Pharmacie, Science, Edition De Boeck Université, 2^{ème} édition, Espagne, 2004, p.147-148.
- [13] Y. Touitou, Biochimie : Structure de glucides et lipides, PCEM1, Faculté de médecine Pierre et Marie Curie, 2005, p.33.
- [14] B.D. Hames, N.M. Hooper & J.D. Houghton, L'essentiel en biochimie, Edition Berti, Paris, 2006, p. 295-296.
- [15] J.M. Bourre, Acides gras ω -3 et troubles psychiatriques, *Médecine Sciences*, 2005, 21(2), 216-221.
- [16] L. Benoit, Apports des insaponifiables d'huile d'Avocat et de Soja dans le traitement complémentaire des maladies parodontales, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie-Dentaire, Université d'Auvergne Clermont-Ferrand I, 2004, p.15
- [17] P. Goetz, C. Busser, La phytocosmétologie thérapeutique, Edition Springer, Paris, 2007, p.134.
- [18] M.C. Martini, BTS esthétique-cosmétique, volume 2 : Cosmétologie, Edition Elsevier Masson, 2008, p.34.



Chapitre IV

Étude botanique d'*Arbutus unedo* L.



IV.1. Introduction

Dans la classification botanique, la famille des Ericaceae fait partie des dicotylédones et appartient à l'ordre des Ericales [1], une grande famille de cosmopolite représentée par 100 à 125 genres et environ 3000 à 3500 espèces [2]. Le nom Ericacée dérive du latin scientifique *Erica*, du latin impérial *Erica*. Cette famille comprend plusieurs sous familles dont les pyrolacées et les sous arbrisseaux [3].

IV.2. Caractéristiques botaniques des Ericacées

Les Ericacées prédominent en Afrique, dans les régions tempérées et dans les montagnes tropicales et extratropicales du sud-est de l'Asie et d'Amérique avec une forte concentration dans l'Himalaya, en Nouvelle-Guinée et dans les Andes [2,4]. En général, la plus grande densité des Ericacées se trouve sous les climats méditerranéens notamment en Australie et en Afrique du Sud [5].

Les Ericacées sont des arbustes, parfois très petits ou subherbacées, des arbres, plus rarement des lianes ou des épiphytes à feuilles alternes, entières, dentées ou souvent aiguilles appelées éricoïdes, persistantes, lancéolées réunies en inflorescences variables. Les fleurs petites, sont actinomorphes, pentamères et hermaphrodites. Le calice possède 4-5 sépales plus ou moins soudés à base, il est parfois réduit à un anneau, il peut être persistant et plus ou moins accrescent. La corolle est campanulée, en forme d'urne ou sphérique, aux lobes généralement petits et distincts. Le fruit est une baie charnue et indéhiscente ou une capsule sèche à déhiscence loculicide parfois enfermée dans une corolle persistante. La graine est très petite, souvent ailée à albumen charnu [6, 7, 8].

IV.3. L'espèce *Arbutus unedo* L.

IV.3.1. Description botanique

L'arbousier, olonier ou arbre aux fraises (*Arbutus unedo* L.), « Lendj, Henna Hameur, Qatelabihia » en arabe locale et « Sisnou, Bahennou » en berbère [9,10], est un grand arbuste décoratif [11], d'un caractère sacré chez les romains [12], très commun sur le bassin méditerranéen, le Sud-Ouest surtout, sur le bord de l'Atlantique, sur les régions océaniques d'Europe, sur l'Afrique [13] et qui appartient à la famille des éricacées [14]. Il peut atteindre 5 à 10m de hauteur [15], les écorces sont brun-rouge d'abord lisses, puis fissurées [16]. Sa tige est rouge brunâtre, divisée en rameaux rouge quand ils sont jeunes, poilus, denses, couverts d'un feuillage serré [10, 17], et portent des feuilles vertes (5 à 8 x 3 à 4 cm) [9], persistantes, alternes, coriaces, de forme lancéolée, finement dentées et portées par un court pétiole [18].

Les fleurs sont blanchâtres ou légèrement teintées en rouge, disposées au sommet des rameaux en une grappe rameuse et demi inclinée. Le calice est court monophylle partagé très profondément

en 5 divisions arrondies. La corolle est monopétale, blanchâtre, découpée à son orifice en 5 dents courtes, roulées en dehors [16].

Les fruits (arbouses) sont sphériques, d'abord verte, puis rouge foncés (ou rouges orangés) [12], ils prennent la place des fleurs et sortes des fraises rondes comestibles [19].

Cette plante fleurit abondamment à la fin de l'été (Octobre à Janvier) [19].

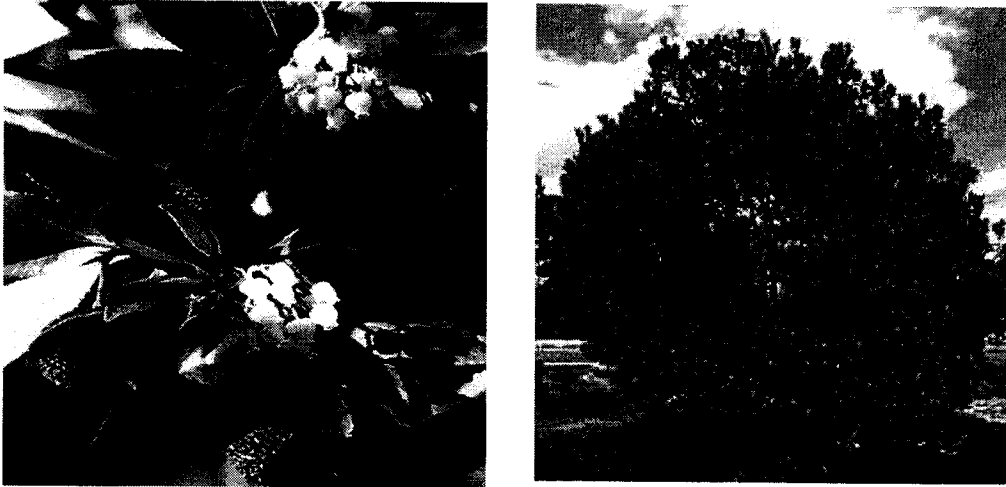


Figure 03 : Fruits, fleurs, feuilles d'*Arbutus unedo* L.

IV.3.2. Usages et propriétés thérapeutiques :

Dans la thérapie familiale, l'arbousier possède beaucoup de propriétés.

Les feuilles sont les plus employées, ce qui en fait un excellent antiseptique, très astringentes, antispasmodiques [20,21] et ont été utilisées pour soigner la diarrhée, la dysenterie, les inflammations des voies urinaires [10] et l'engorgement du foie [9]. Elles sont très utiles en cas de cystites, méphrites, pyélonéphrites, urétrites, prostatites ainsi que toute autre affection de l'appareil urinaire [22]. Elles favorisent la circulation sanguine [2] et sont employées pour les tannages des cuirs [18].

La racine est un désinfectant des voies urinaires, elle est utilisée pour soigner les blennorragies purgatives. La racine possède une activité hypoglycémiant [9].

Le bois à un grain très fin et homogène, c'est un bon combustible [23], il donne aussi un charbon de bonne qualité [18].

Les fruits, de peu de goût, sont utilisés dans les confitures, le vin et les liqueurs [23]. Ils ont une saveur un peu austère et on les regarde comme astringent [8], dépuratifs et diurétiques [11]. Ils possèdent des propriétés digestives, stomatiques [9], et ont des effets narcotiques [10].

Les fleurs possèdent des propriétés sudorifiques réputées [10]. Elles favorisent la transpiration et sont donc antipyrétiques [23].

Références bibliographiques

- [1] A.L. huilier, Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolla* hook .F ex oliver, *Agria polyphylla baker* P (ERICACEAE), Tambourissa, *Trichophylla Baker* (MONIMIACEAE) et *Embella Concinna Baker* (MYRSINACEAE), Le titre de docteur de l'institut National Polytechnique de Toulouse, École doctorale : Transferts, Dynamique des Fluides, Energie et Procédés , Spécialité : Sciences des Agroressources, Toulouse, N° 2467, 2007, p.22.
- [2] R.E. Spichiger, V. Savolainen, M. Figeat & D. Jeanmonod, Botanique systématique des plantes à fleurs, Presses polytechniques et universitaires romandes, 3 ème édition, 2005, p.300.
- [3] Petit Larousse illustré, Librairie Larousse, 1980, p.390.
- [4] F. Dupont, J.L. Guignard, Botanique: Systématique moléculaire, Edition Elsevier Masson, 2007, p.204.
- [5] P.F. Stevens, J. Luteyn, E.G.H. Oliver, T.L. Bell, E.A. Brown, R.K.N. Crowden, A.S. George, G.J. Jordan, P. Ladd, K. Lemson, Y. Menadue, J.C. Pate, H.M. Stace & C.M. Weiler, Ericaceae, In the families and genera of vascula plants, Edition Springer-Verlag, Vol.6, Berlin, 2004, p.145.
- [6] D.J. Mabberley, The plants-book, A portable dictionary of the higher plants, Cambridge University Press, Cambridge, 1987.
- [7] R.E. Spichiger, V. Savolainen, M. Figeat & D. Jeanmonod, Botanique systématique des plantes à fleurs, Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 1ème édition, 2000, p.120.
- [8] P. Quezel, S. Santa, Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales, Edition CNRS, Tome II, 1963, p.1170.
- [9] B. Boullard, Plantes médicinales du monde- Réalité et croyance, Edition Estem, 2001, p.50.
- [10] A. Beloued, Plantes médicinales d'Algérie, Office de Publication Universitaires (OPU), 2001, p.32.
- [11] F. Baba Aissa, Encyclopédie des plantes utiles, Edition EDAS, 2000, p.18-19.
- [12] A. De Gubernatis, La mythologie des plantes, Edition Biblio Bazaar, LLC, Tome II, 2008, p.380.
- [13] P. Iserin, Encyclopédie des plantes médicinales identification, préparation, soins, Edition Larousse, 2001, p.170.
- [14] T. Baytor, The raphy with medicinal plants in Turkey (past and present), Publications of the Istanbul University, Istanbul, 1^{ème} edition, 1984, p.305.
- [15] C. Lemoine, Les fleurs méditerranéennes, Edition Jean-Paul Gisserot, 2005, p.32.
- [16] M. Dupérat, J.M. Polèse, Les arbres, Edition de Borée, 2007, p.73.
- [17] J.L. Auguste, Herbar général de l'amateur, contenant la description, l'histoire, les..., 1827, p.543.

- [18] NT.WS. Beniston, Fleurs d'Algérie, Entreprise Nationale du livre, Alger, 1984, p.50.
- [19] P. Mioulane, Encyclopédie pratique illustrée du jardin, Edition Bordas, 1996, p.162.
- [20] G. Cellikel, L. Demirsoy, H. Demirsoy, The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey, *Scientia Horticulturae*, 2008, 118, 115-119.
- [21] L. Bezanger Beauquesne, M. Pinkas, F. Trotin, Plantes médicinales des régions tempérées, Edition Maloine, 1980, p.512.
- [22] A. Polelli, Fleurs et plantes médicinales, Edition Delachaux and Niestlé à Neuchâtel, paris, 1987, p.51.
- [23] L. Bremmess, Plantes aromatiques et médicinales « 700 espèces », Edition Baudoux et Valerie Garmaud, 2005, p.37.

Chapitre V

*Travaux antérieurs sur *Arbutus unedo* L*



V.1. Introduction

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à reproduire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires ». Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (terpéniques, composés phénoliques...) [1].

La recherche bibliographique effectuée sur l'espèce *Arbutus unedo* L. montre que de nombreux travaux ont été réalisés notamment l'isolement de beaucoup de composés polyphénoliques, des sucres et des sels minéraux.

V.2. Travaux chimiques

V.2.1. Proanthocyanidines (Tanins condensés)

Les tanins sont des substances polyphénoliques des structures variées, de saveur astringente, ayant la propriété de tanner la peau [2]. Les proanthocyanidines ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes [3].

Dib et coll. [4] ont évalué le profil des constituants phénoliques dans les tiges d'*Arbutus unedo*. Cette étude a révélé l'existence de trois composés. La caractérisation structurale de ces composés est réalisée au moyen des méthodes modernes d'analyses spectroscopiques (RMN¹H, RMN¹³C, RMN/2D (HSQC)). Les structures de ces composés sont résumées ci-dessous **figure 3**.

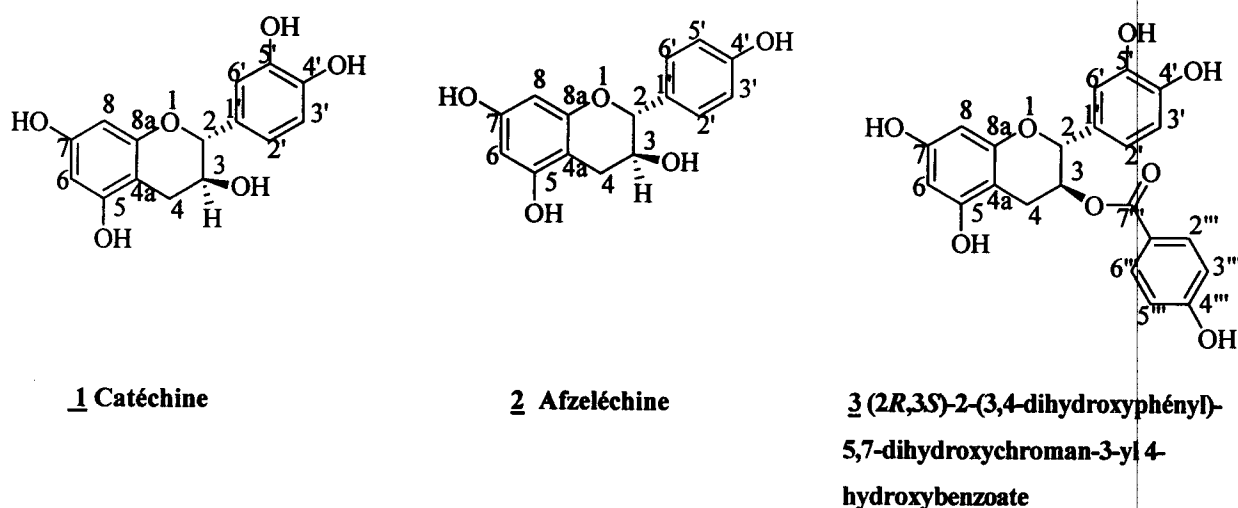


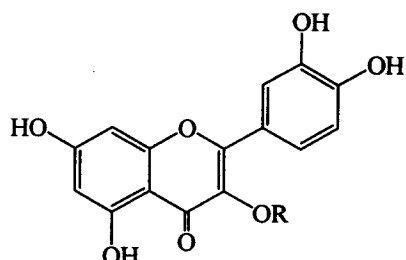
Figure 4 : Structure chimique des proanthocyanidines des tiges d'*Arbutus unedo* L.

V.2.2. Flavonoïdes

Flavonoïdes (de flavus, « jaune » en latin) est le terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 carbones, qui à son niveau le plus simple, consiste en deux cycles

phényles; les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). Le pont en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C [5].

Željko Malès et coll ont particulièrement étudié l'espèce d'arbousier [6]. Quatre flavonoïdes ont été identifiés dans les feuilles 4, 5, 6, et 7 nommés respectivement Quercitrine, Isoquercitrine, Hypéroside et Rutine, par contre les fruits contiennent seulement l'isoquercitrine 5.



4 Quercetine-3-O- α -rhamnopyranoside

R= α -L-rhamnopyranoside.

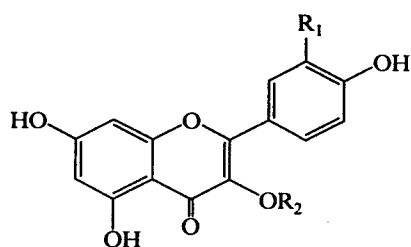
5 Quercetine-3-O-glucoside R= glucose.

6 Quercetine-3-O-galactoside R= galactose.

7 Quercetine-3-O-6 rutinoside R= rutinoside.

Figure 5 : Structure chimique des flavonoïdes des feuilles et des fruits d'*Arbutus unedo* L.

Une autre étude chimique des feuilles d'*Arbutus unedo* L. par Dauguet et coll [7] a permis d'isoler et caractérisés cinq flavonols glycosides 8, 9, 10, 11 et 12 dont les structures sont données ci-dessous :



8 kaempférol 3-rhamnoside (Afzélina)

R₁=H, R₂= Rhamnose.

9 kaempférol 3-arabinoside (Juglamine)

R₁=H, R₂= Arabofuranoside.

10 Quercétol 3-arabofuranoside (Avicularine)

R₁=OH, R₂= Arabofuranoside.

11 Quercétol 3-rhamnoside (Quercitroside)

R₁=OH, R₂= Rhamnose

12 Quercétol 3-galactoside (Hypéroside)

R₁=OH, R₂=Galactose.

Figure 6 : Structure chimique des flavonols glycosides des feuilles d'*Arbutus unedo* L.

V.2.3. Composés hydrophiliques

Fiorentino et coll. [8], dans leurs études phytochimiques de l'extrait hydroalcoolique de l'arbre de fraises ont pu isoler 12 composés hydrophiliques comme gallate d'éthyle 13, arbutine 14, deux dérivées d'arbutine (15 et 16) et huit flavonoïdes (17-24). Ces structures ont été élucidées sur la base de leurs données spectrales (SM, RMN ¹H, RMN ¹³C et RMN 2D).

Tableau 3 : Composition chimique des différents composés hydrophiliques des feuilles d'*Arbutus unedo*

N°	Composés	N°	Composés
<u>13</u>	Gallate d'éthyle	<u>19</u>	Kaempférol 3-O- α -L-ramnopyranoside
<u>14</u>	Arbutine	<u>20</u>	Quercetine-3-O- α -rhamnopyranoside
<u>15</u>	ρ -hydroxybenyle arbutine	<u>21</u>	Myricetine-3-O- α -rhamnopyranoside
<u>16</u>	galloylarbutine	<u>22</u>	Kaempférol 3-O- β -D-arabinofuranoside
<u>17</u>	(+)-gallocatechine	<u>23</u>	Quercetine-3-O- β -D- arabinofuranoside
<u>18</u>	Catechine	<u>24</u>	Myricetine-3-O- β - arabinofuranoside

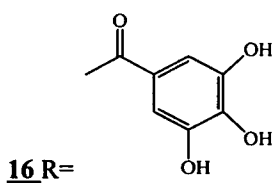
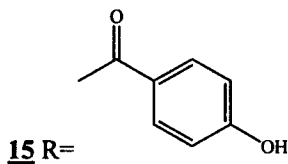
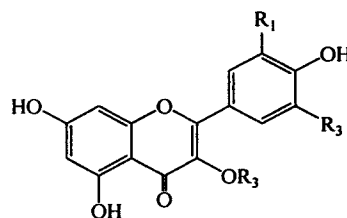
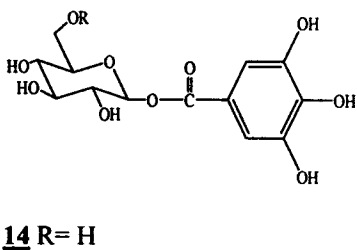
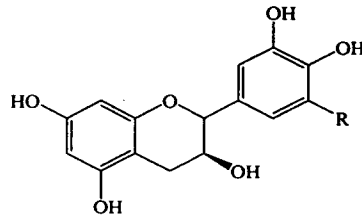
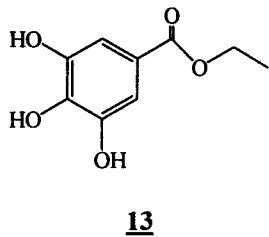


Figure 7 : Structure chimique des différents composés hydrophiliques des feuilles d'*Arbutus unedo* L.

V.2.4. Composés norisoprénoïdes

L'étude menée par Bianchi et coll. [9] sur le miel des fruits d'arbousier de Sardaigne par l'extraction dynamique DHS, suivie d'une analyse CG/SM a été réalisée. 28 composés aromatique (Tableau 4), ont été identifiés parmi les quels les composés norisoprénoïdes comme α -isophorone **25**, β -isophorone **26** et 4-oxoisophorone **27** (Figure 5), ont été reconnus comme floraux spécifiques et marqueurs originaux du miel de fraisières.

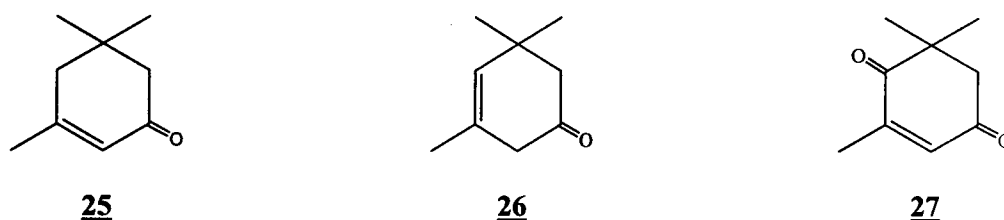


Figure 8: Structure chimique des différents composés norisoprénoïdes du miel des fruits *Arbutus unedo* L.

Tableau 4 : Composés volatiles dans le miel des fruits *Arbutus unedo* L. de Sardaigne.

Composés	TR (min)	KI _{calc}	ID ^a
Acétone	2.32	n.c.	SM, TR
2-butanone	3.30	905	SM, TR, KI
Ethanol	3.98	939	SM, TR, KI
2,5-diméthylfurane	4.43	965	SM, KI
2,3-butanedione	5.22	989	SM, TR, KI
2,3-pentanedione	8.80	1047	SM
Hexanal	9.53	1088	SM, TR, KI
Méthyl-2-butenal	9.99	1103	SM
2-méthyl-1-propanol	10.39	1106	SM, TR, KI
1-butanol	12.34	1155	SM, TR, KI
Heptanal	14.64	1183	SM, TR, KI
2,4,4-triméthylcyclopentanone	15.62	1211	SM
3-méthyl-1-butanol	15.75	1214	SM, TR, KI
Octanal	18.60	1291	SM, TR, KI
2,3,4-triméthyl-2-cyclopentèn-1-one	19.28	1311	SM
3-(1-méthyleethyl)-2-cyclopentèn-1-one	19.61	1322	SM
5-heptèn-2-one-6-méthyl	20.13	1343	SM, TR, KI
3,3,5-triméthylcyclohexanone (dihydrisophorone)	21.02	1368	SM
Nonanal	21.71	1397	SM, TR, KI
3,5,5-triméthyl-3-cyclohexen-1-one (β -isophorone)	22.03	1407	SM
3-furancarboxaldehyde	22.79	1441	SM
Furfural	23.64	1774	SM, TR, KI
Decanal	24.41	1503	SM, TR, KI
1-(2-furanyl) ethanone	24.60	1512	SM
Benzaldéhyde	25.01	1528	SM, TR, KI
3,5,5-triméthyl-2-cyclohexen-1-one (α -isophorone)	26.52	1591	SM, TR
3,5,5-triméthylcyclohex-2-ene-1,4-dione(4-oxoisophorone)	28.75	1698	SM, TR
3,5,5-triméthylcyclohex-1,4-dione	30.53	1786	SM

n.c. : non calculé ; a : Méthode d'identification ; SM : identification par comparaison du spectre du masse ; TR : identification par comparaison du temps de rétention de référence ; KI : identification par comparaison de l'indice du rétention de référence.

V.2.5. Huiles essentielles

Les travaux de Kivcak et coll. [10] sur les huiles essentielles des feuilles d'*Arbutus unedo L.* d'origine Turque ont permis d'identifier vingt huit composés par CG/SM (Tableau 5). Parmi les composés majoritaires nous trouvons le (E)-2-décenal (12.0%), α -terpinéol (8.8%), acide hexadécanoïque (5.1%) et (E)-2-undécenal (4.8%).

Tableau 5 : Composition de l'huile essentielle des feuilles *Arbutus unedo L.*

RRT	Composés	%	RRT	Composés	%
1400	Nonanal	3.7	1815	2-Tridecanone	0.5
1506	Decanal	0.5	1827	(E, E)-2,4-Décadiènal	0.5
1507	(E, E)-2,4-Heptadiènal	0.6	1830	β -Damascone	0.3
1548	(E)-2-Nonenal	0.5	1857	Géraniol	0.4
1553	Linalool	1.2	1864	ρ -Cymèn-8-ol	0.2
1562	Octanol	1.9	1868	(E)-Géranyl acétone	3.8
1599	(E, Z)-2,6-Nonadiènal	0.4	1958	β -Ionone	3.4
1602	6-Méthyl-3,5-heptadièn-2-one	1.1	2037	Salvial-4-(14)-èn-1-one	0.3
1612	β -Caryophyllène	0.7	2084	Acide octanoïque	1.7
1612	β -Cyclocitral	0.8	2131	Hexahydrofarnesyl acétatone	3.9
1638	2,2,6,8-Tetraméthyl-7,11-	4.3	2148	(Z)-3-Hex7n-1-yl-benzoate	1.1
1648	dioxatricyclo(6.2.1.0)-1,6-undec-4-		2179	3,4-Diméthyl-5-pentylidene-2-(5H)-furanone	2.2
1655	(E)-2-Décenal	12.0	2192	Acide nonanoïque	3.9
1706	α -Terpinéol	8.8	2193	γ -Eudesmol	1.1
1715	(E,E)-2,4-Nonadiènal	0.3	2250	α -Eudesmol	0.6
1764	(E)-2-Undécenal	4.8	2257	β -Eudesmol	0.5
1779	(E,Z)-2,4-Décadiènal	0.7	2503	Acide Dodecanoïque	1.6
1798	Méthylsalicylate	0.7	2670	Acide myristique	2.3
1804	Myrtenol	0.3	2931	Acide hexadécanoïque	5.1
			Total		76.6

RRT : Indice de rétention calculée par rapport aux n-alcanes



V.2.6. Sels minéraux

D'après les travaux de Musa et coll [11] ont révélé que les fruits d'*Arbutus unedo L.* sont très riches en sels minéraux. Ces teneurs sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 : Les sels minéraux dans les fruits *Arbutus unedo L.*

Sels minéraux	Valeurs (mg/kg)
Al	20.11 ± 2.69
As	10.58 ± 6.47
B	16.03 ± 2.12
Ca	4959.02 ± 150
Cd	0.19 ± 0.05
Cr	2.41 ± 0.96
Cu	1.65 ± 0.41
Fe	12.15 ± 1.11
Ga	0.47 ± 0.43
K	14909.08 ± 1687
Li	0.94 ± 0.15
Mg	1315.57 ± 129.19
Mn	4.44 ± 0.55
Na	701.26 ± 80
Ni	0.13 ± 0.14
P	3668.56 ± 339.69
Pb	0.51 ± 0.04
Sr	5.10 ± 0.80
Ti	0.16 ± 0.26
V	16.63 ± 4.27
Zn	8.09 ± 0.96

V.2.7. Sucre, acides non volatiles et phénoliques

Les analyses par CG/SM a permis l'identification et la quantification des acides phénoliques, non-volatiles et des sucres dans les fruits d'*Arbutus unedo L.* [12]. Les acides phénoliques quantifiés sont l'acide gallique (10.7mg/g), l'acide gentisique (1.9mg/g), l'acide protocatéchique (0.6 mg/g), l'acide *p*-hydroxybenzoïque (0.3 mg/g), l'acide vanillique (0.12 mg/g) et l'acide manisique (0.05 mg/g).

Parmi les acides non-volatils identifiés nous avons l'acide fumarique (1.94 mg/g), l'acide lactique (0.84 mg/g), l'acide malique (0.84 mg/g), l'acide subérique (0.23mg/g) et l'acide citrique (trace).

Le fructose, glucose, saccharose et maltose sont les sucres solubles identifiés et quantifiés avec des teneurs respectives 27.8, 21.5, 1.8 et 1.11%.

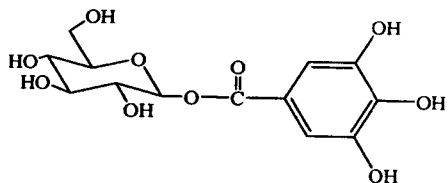
D'après ces résultats, le fructose, glucose, l'acide fumarique, l'acide malique et l'acide gallique représentent les composés majoritaires responsables du goût des fruits.



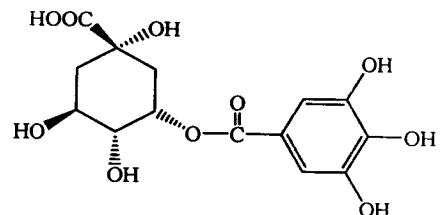
V.2.8. Anthocyanes

Les anthocyanes sont issus du métabolisme général des flavonoïdes. Ces pigments sont présentés sous forme d'hétérosides (anthocyanosides), dont les génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényl-benzopyrylium communément appelé cation flavylum (oxygène sous forme d'oxonium) et dont l'hydroxyle en position 3 est toujours lié à un sucre, le plus souvent un glucose [13].

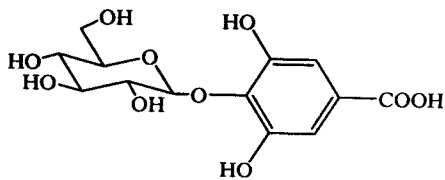
L'étude menée par Pawlowska et coll sur les fruits d'*Arbutus unedo* L. a conduit à l'identification de sept composés. Ces composés sont l'arbutine **14**, β -D-glucogalline **28**, acide gallique 4-O- β -D-glucopyranoside **29**, acide 3-O-galloylquinique **30**, acide 5-O-galloylquinique **31**, acide 3-O-galloylshikimique **32**, et acide 5-O-galloylshikimique **33**. En outre, l'analyse du pigment rouge des fruits d'*Arbutus unedo* L. a révélé la présence de trois anthocyanes reconnu comme Cyanidine 3-O- β -D-galactopyranoside **34**, Delphinidine 3-O- β -D-glucopyranoside **35**, Cyanidine 3-O- β -arabinopyranoside **36**. Ces pigments ont également été quantifiés [14].



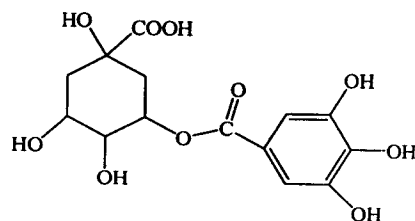
28



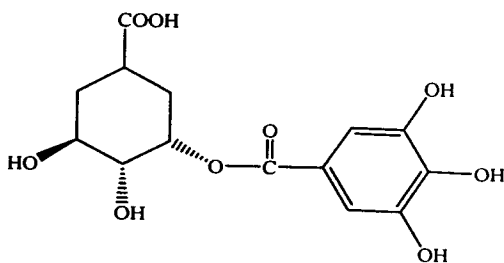
31



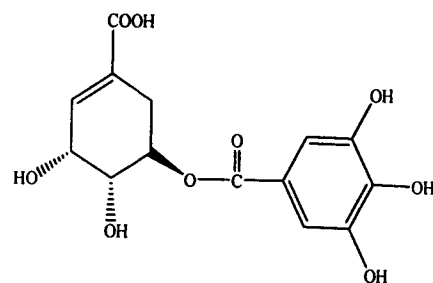
29



32



30



33

Références bibliographiques

- [1] J.J. Macheix, A. Fleuriet, C. Jay-Allemand, Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, Edition presses polytechniques et universitaires romandes, **2005**, p. 67.
- [2] A. Nahrstedt, V. Butterweck, Biologically active and other chemical constituents the herb of *Hypericum perforatum* L, *Pharmacopsychiat*, **1997**, 30, 129-134.
- [3] M. Paris, M. Hurabielle, Abrige de matière médicale-Pharmacognosie, Tome 1, Généralités-Morphologies, Edition Masson, Paris, **1981**, p.182.
- [4] M.A. Dib, H. Allali, B. Tabti, A. Bendiabdellah & N. Djabou, A New Proanthocyanidins from *Arbutus unedo* L. Stems, *Asian Journal of Chemistry*, **2008**, 20(5), 3926-3934.
- [5] W.Heller & G. Forkmann, Biosynthesis of Flavonoids, In The Flavonoids: Advances in research since 1986, Edition Chapman & Hall, London, **1993**, p. 499.
- [6] Ž.Maleš, M.Plazibat, V.B.Vundac, I.Žuntar, Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree – *Arbutus unedo* L. (*Ericaceae*), *Acta Pharm*, **2006**, 56, 245–250.
- [7] J.C.Dauget, J.P.Foucher, Les flavonoides de *Arbutus unedo* L., Plante médicinales et phytothérapie, tome XVI, **1982**, p. 185-191.
- [8] A.Fiorentino, S.Castaldi, B.D'Abrosca, A.Natale, A.Carfora, A.Messere, P.Monaco, Polyphenols from the hydroalcoholic extract of *Arbutus unedo* living in a monospecific Mediterranean woodland, *Biochemical Systematics and Ecology*, **2007**, 35, 809-811.
- [9] F.Bianchi, M.Careri, M.Musci, Volatile norisoprenoids as markers of botanical origin of Sardinian Strawberry-tree (*Arbutus unedo* L) honey: Characterisation of aroma compounds by dynamic headspace extraction and gaz chromatography-mass spectrometry, *Food Chemistry*, **2005**, 89, 527-532.
- [10] B. Kivcak, T. Mert, B. Demirci, and K. H. C. Baser, Composition of the essential oil of *Arbutus unedo*, *Chemistry of Natural Compounds*, **2001**, 37(5), 445-446.
- [11] M. Musa Özcan, H. Haciseferoğulları, The Strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents, *Journal of Food Engineering*, **2007**, 78, 1022–1028.
- [12] F.A. Ayaz, M. Kucukislamoglu & M. Reunanen, Sugar, Non-volatile and Phenolic Acids Composition of Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L. var.ellipsoidea)Fruits, *Journal of Food Composition and Analysis*, **2000**, 13, 171-177.
- [13] C.A. Rodrigues, A.E. Oliveria, A.F.S. Silva, V. Cechinel-Filho, C.L.Guimara, R.A. Yunes & F. Delle Mo-nache, A comparative study of stationary phase of biflavonoids from *Rhedia gardneriana* using column chromatography, *Z.Naturforsch*, **2000**, 55, 524-527.



- [14] A.M. Pawlowska, M. De-Leo, A. Braca, Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives, *Journal of agricultural and food chemistry*, **2006**, 54(26), 10234-10238.
- [15] S. Afkir, T.B. Nguiefack, M. Aziz, J. Zoheir, G. Cuisinaud, M. Bnouham, H. Mekhfi, A. Legssyer, S. Lahlou, A. Ziyat, *Arbutus unedo* prevents cardiovascular and morphological alterations in L-NAME-induced hypertensive rats, Part I: Cardiovascular and renal hemodynamic effects of *Arbutus unedo* in L-NAME-induced hypertensive rats, *Journal of Ethnopharmacology*, **2008**, 116, 288-295.
- [16] H. Mekhfi, M.El Haouari, A. Legssyer, M. Bnouhama, M. Aziz, F. Atmani, A. Remmal, A. Ziyat, Platelet anti-aggregant property of some Moroccan medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology*, **2004**, 94, 317-322.
- [17] P. Pabuçcuoğlu, B. Kivçak, M. Baş, T. Mert, Antioxidant activity of *Arbutus unedo* leaves, *Fitoterapia*, **2003**, 74, 597-599.
- [18] K.Pallauf, J.C. Rivas-Gonzalo, M.D. del Castillo, M.P. Cano, S.de Pascual-Teresa, Characterisation of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits, *Journal of Food Composition and Analysis*, **2008**, 21, 273-281.
- [19] M.A. Dib, Contribution a l'étude de l'activité antimicrobienne de quelques polyphénols présents dans *Arbutus unedo* L., Thèse de doctorat ès sciences, Faculté des sciences, Option chimie organique appliquée, Tlemcen, **2008**, p.98.



Chapitre VI
Résultats - Discussion



VI.1. Introduction

L'Algérie comme d'autre pays de la mer méditerranéenne, est connu par une végétation très diversifiée y compris les plantes alimentaires, médicinales et aromatiques. Si l'on s'intéresse tout particulièrement à une matière végétale, comme *Arbutus unedo*, il est important de définir son identité, décrire sa morphologie, connaître son origine, son mode de production et analyser sa composition chimique.

VI.2. Calcul du rendement de l'huile essentielle

L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation des différentes parties de la plante. Nous reportons ci-dessous, le lieu, la date de récolte, et le rendement de l'huile essentielle:

Tableau 7: Rendement de l'huile essentielle des différentes stations

Station	Date de récolte	Rendement (%)		
		Fruits	Feuilles	Tiges
Terni	10.02.2009	0.34	0.02	0.03
Ain Ghoraba	06.05.2009	/	0.12	0.18

Nous constatons pour les fruits d'*Arbutus unedo* que le rendement en huile essentielle est de l'ordre de 0.34%.

Pour le rendement de l'huile des feuilles et des tiges d'*Arbutus unedo L.* de la station de Ain Ghoraba ((0.12%) et (0.18%) respectivement) est nettement supérieur à celui de la station de Terni qui est de l'ordre 0.02% pour les feuilles et 0.03% pour les tiges.

Les raisons de cette variabilité de la quantité en huile essentielle peuvent être expliquées par les différences des conditions climatiques, géographiques, la période de la récolte et la technique de distillation [1].

VI.3. Etude de l'huile essentielle des tiges et des feuilles d'*Arbutus unedo*.

Dans ce chapitre nous allons décrire nos résultats relatifs à la caractérisation de l'huile essentielle des tiges et des feuilles de l'*Arbutus unedo*. La composition sur les huiles essentielles des feuilles d'origine Turque a déjà fait l'objet de travaux antérieurs décrits dans la littérature. Notre travail repose sur la détermination de la composition de l'huile essentielle des tiges d'une part puis une étude comparative des huiles essentielles des feuilles des deux espèces d'autre part.

VI.3.1. Identification des constituants majeurs des huiles essentielles des tiges d'*Arbutus unedo*.

Les constituants volatils ont été concentrés par hydrodistillation, suivie de l'extraction liquide-liquide avec l'hexane. La composition de l'extrait a été analysée par CPG-IR et CPG-SM. Pour clarifier les résultats, nous vous présentons les substances que nous avons identifiées dans l'huile essentielle des tiges d'*Arbutus unedo* (tableau 8).

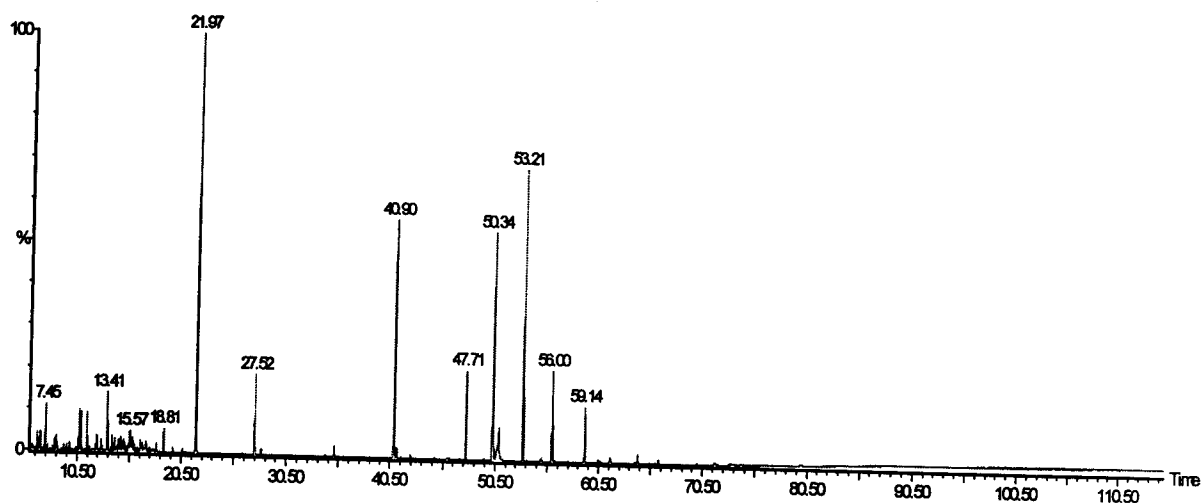


Figure 10 : Chromatogramme CPG-SM de l'huile essentielle des tiges de l'*Arbutus unedo*.

L'identification des constituants a été réalisée par l'utilisation des indices de rétention sur colonne apolaire et par l'analyse de chaque spectre de masse des composés constitutifs.

Les différents composés identifiés (tableau 8) appartiennent à différentes familles chimiques : aldéhydes (04), alcanes (10), alcools (01), cétones (01), acides carboxyliques (03), composés aromatiques (02), monoterpènes carbonés (02), sesquiterpènes carbonés (01) et sesquiterpènes oxygénés (01).

Tableau 8 : Composition de l'huile essentielle des tiges d'*Arbutus unedo* L.

N°	Composés	RI _{lit}	RI _{exp}	%	M _{id}
1	Heptane 2-méthyle	762	760	1.12	RI, MS
2	Hexan-2-one	781	786	1.89	RI, MS
3	Octane	800	798	1.96	RI, MS
4	Heptane 2,6-diméthyle	832	830	1.56	RI, MS
5	Cyclohexane éthyle	836	838	2.36	RI, MS
6	Nonane	900	900	3.59	RI, MS
7	Sabinène	973	970	0.96	RI, MS
8	Gamma terpinène	1051	1062	1.85	RI, MS
9	Undécane	1100	1100	22.56	RI, MS
10	Nonanal	1108	1104	3.19	RI, MS
11	Décanal	1188	1185	0.06	RI, MS
12	1-décanol	1263	1272	0.25	RI, MS
13	Tridécanol	1300	1300	5.01	RI, MS
14	Dodécanol	1389	1395	0.11	RI, MS
15	Tétradécane	1400	1400	0.05	RI, MS
16	Acide acétique décyle ester	1410	1408	4.41	RI, MS
17	Pentadécane	1500	1500	0.01	RI, MS
18	Cadina-3,9-diene	1520	1520	6.75	RI, MS
19	Elémol	1542	1547	2.86	RI, MS
20	(E)-Anyl isobutyrate	/	1552	7.74	MS
21	Acide dodécanoïque	1574	1569	0.02	RI, MS
22	Acide acétique dodécyle ester	1606	1596	4.34	RI, MS
23	(E) Anyl 2 methyl butyrate	1651	1648	3.17	RI, MS
24	Heptadécane	1700	1700	0.15	RI, MS
25	Hexadécanal	1794	1812	0.26	RI, MS
Total identifié				76.23	

RI_{lit} : indice de rétention de la littérature ; RI_{exp} : indice de rétention expérimentale

% : pourcentage. M_{id} : mode d'identification

L'huile essentielle des tiges est de type aliphatique (52.90%) et contient principalement du undécane (22.56%), le tridécanol (5.01%), l'acide acétique décylester (4.41%), l'acide acétique dodécylester (4.34%), le nonane (3.59%), le nonanal (3.19%) et le cyclohexane éthyle (2.36%). Les composés aromatiques sont présents en quantité appréciable (10.91%) et le constituant majoritaire de cette fraction est le (E)-Anyl isobutyrate (7.74%) suivi du (E)-Anyl 2-méthyle butyrate (3.17%). Les composés sesquiterpéniques le Cadina-3,9-diene (6.75%) et l'elémol (2.86%) sont présents aussi en quantités appréciable. Les composés terpéniques sont décelés en plus faible proportion et sont représentés essentiellement par le sabinène (0.96%), le Gamma ter- pinène (1.85%), terpène fréquemment rencontrés dans le règne végétal.

VI.3.2. Identification des constituants majeurs des huiles essentielles des feuilles d'*Arbutus unedo*.

L'huile essentielle des feuilles d'*Arbutus unedo* obtenue par hydrodistillation a été analysée par les techniques habituelles et a permis d'identifier 20 composés représentant 83.70% de la composition chimique.

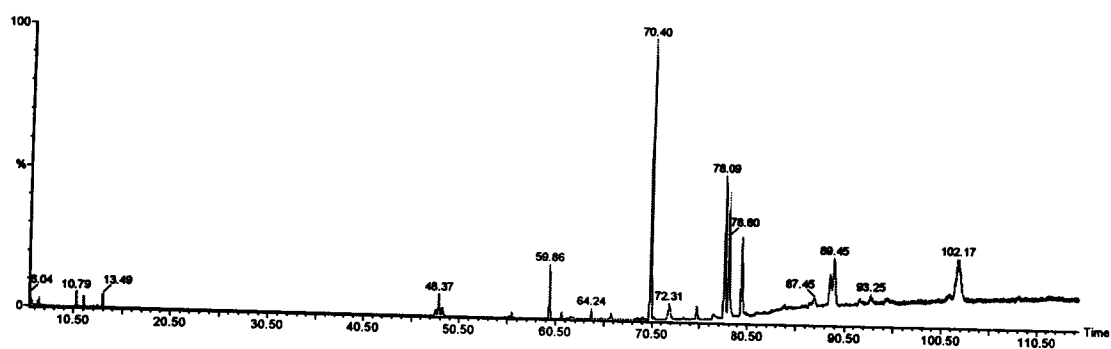


Figure 11 : Chromatogramme CPG-SM de l'huile essentielle des feuilles *Arbutus unedo* L.

Tableau 9 : Composition de l'huile essentielle des feuilles d'*Arbutus unedo* L.

N°	Composés	RI _{lit}	RI _{exp}	%	M _{id}
01	Octane	800	799	0.09	RI, MS
02	Cyclohexane éthyle	831	838	2.45	RI, MS
03	Nonane	900	895	2.15	RI, MS
04	Sabinène	972	974	4.57	RI, MS
05	Décane 2-méthyle	1068	1059	0.26	RI, MS
06	Beta terpinène	1083	1071	0.48	RI, MS
07	Undécane	1100	1099	26.99	RI, MS
08	Décanal	1188	1189	6.10	RI, MS
09	Décyle alcool	1266	1270	0.23	RI, MS
10	1-Décanol	1273	1272	3.52	RI, MS
11	Tétradécane	1300	1300	Tr	RI, MS
12	Dodécanal	1389	1379	2.69	RI, MS
13	Acide acétique décylester	1410	1408	Tr	RI, MS
14	Pentadécane	1500	1496	10.99	RI, MS
15	Acide acétique dodecyl ester	1606	1604	11.48	RI, MS
16	Cyclobutyle 4-éthylbenzoate	1641	1638	2.79	RI, MS
17	1-Tétradécanol	1675	1669	0.59	RI, MS
18	Héptadécane	1700	1700	Tr	RI, MS
19	Hexadécane	1794	1789	Tr	RI, MS
20	Palmitaldehyde	1826	1819	8.32	RI, MS
Total identifié				83.70	

Ces analyses nous ont permis d'identifier 20 composés des feuilles dont 5 nouveaux constituants nouveaux par rapport à l'huile essentielle des tiges de *Arbutus unedo*. Les 20 composés identifiés ce sont en majorité des alcanes (42.93 %), des aldéhydes (17.11%), des alcools (4.34%), les esters (11.48%), les aromatiques (2.79%) comme le cyclobutyle 4-éthylbenzoate (2.79%) ou encore les terpènes hydrocarbonés comme le sabinène (4.57%) et le β -terpinène (0.48%) mais en petites quantités.

L'étude de l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles d'*Arbutus unedo* L. d'origine Turque et analysée par CG/SM par l'équipe KIVCAK et coll. [2]. Qui on pu identifié vingt huit composés aromatiques dont le (*E*)-2-décenal (12%), l' α -terpinéol (8.8%), l'acide hexadécanoïque (5.1%) et (*E*)-2-undécenal (4.8%) représentent les constituants majoritaires de l'huile essentielle.

Les compositions de l'huile essentielle des feuilles des deux échantillons Algérienne et Turque sont totalement différentes. Même si notre échantillon a été préparé au laboratoire par le montage d'hydrodistillation et celui des Turques par le système Clevenger, il est clair qu'on se trouve en présence de deux compositions chimiques différentes. Il serait donc intéressant de faire un échantillonnage plus poussé pour étudier la variabilité chimique de cette plante.

VI.3.3. Analyses spectrales : identification des constituants aromatiques de l'huile essentielle des tiges d'*Arbutus unedo*

L'analyse par CPG/SM de l'huile essentielle des tiges a permis l'identification d'un aromatique : le (*E*)-Anyl 2-méthyle butyrate dont les données spectrales étaient présentes dans la bibliothèque des spectres (figure 12).

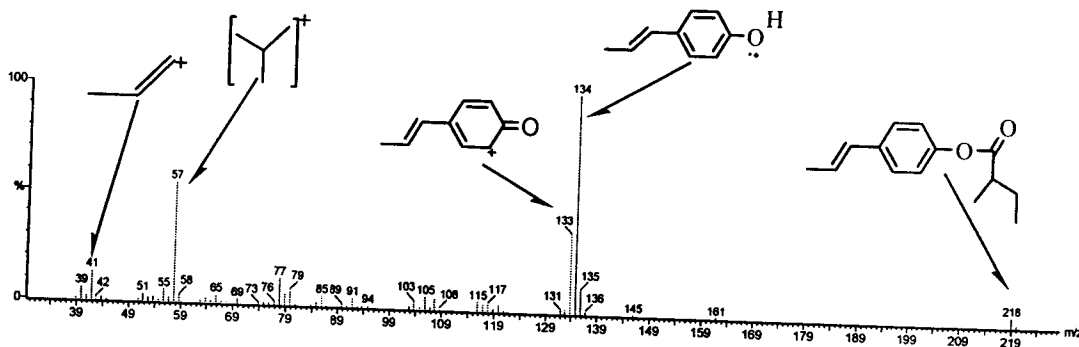


Figure 12 : Spectre de masse du (*E*)-Anyl 2-méthyle butyrate

La présence d'un second composé, possédant un pic moléculaire à m/z 204 nous laisse penser que probablement nous sommes en présence d'un autre aromatique possédant un méthyle en moins par rapport au (*E*)-Anyl 2-méthyle butyrate (pic moléculaire à m/z 218).

Pour le spectre de masse du (*E*)-Anyl 2-méthyle butyrate (Figure 12). Les spectres de masse de ces deux composés montrent l'existence de trois fragments principaux $m/z = 134$ [$C_9H_{10}O$] $^+$, $m/z = 133$ [C_9H_9O] $^+$ et $m/z = 41$ [C_3H_5] $^+$. Aussi dans le spectre de masse du (*E*)-Anyl-2-méthyle butyrate on peut détecter en plus un fragment $m/z = 57$ [C_4H_9] $^+$, tandis-que pour le composé inconnu il existe un fragment $m/z = 43$ [C_3H_7] $^+$ (figure 12 et 13).

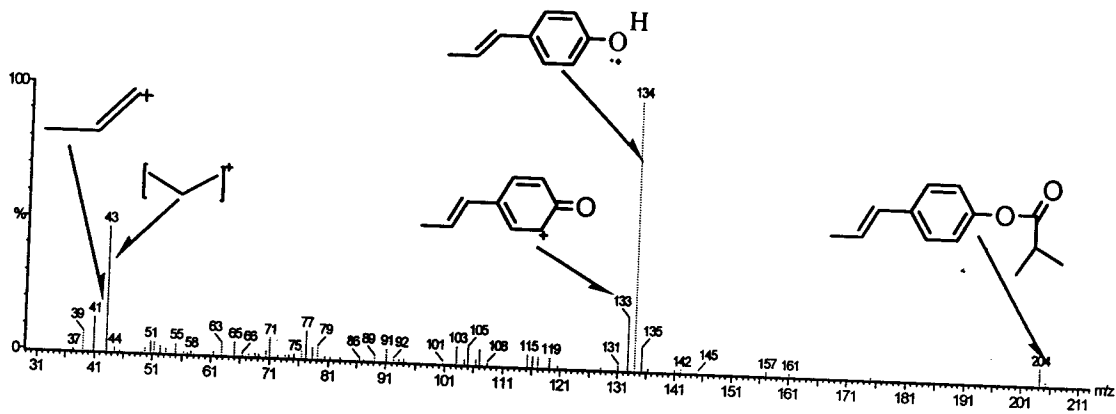


Figure 13 : Spectre de masse du (E)-Anyl isobutyrate

Pour le fragment $m/z = 41$ $[C_3H_5]^+$. Les alcènes donnent très souvent par ionisation un fragment de $m/z = 41$ qui correspond au carbocation allylique (figure 14) [3].

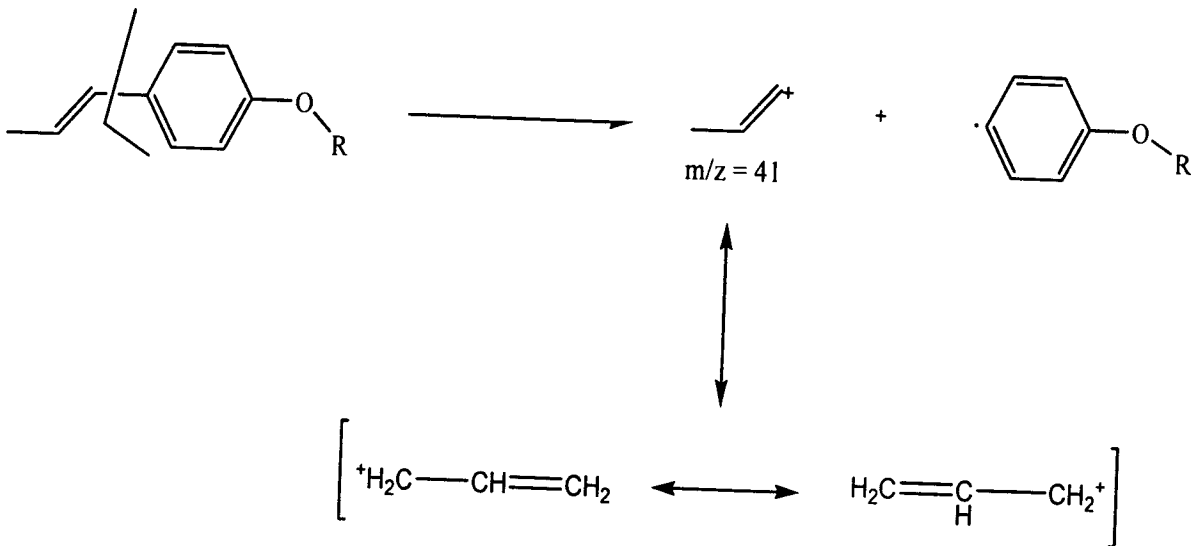


Figure 14 : Caractérisation du fragment $m/z = 41$ des composés aromatiques

Les fragments $m/z = 57$ $[C_4H_9]^+$ et $m/z = 43$ $[C_3H_7]^+$ résultent des coupures en α du carbonyle. Pour un ester $RO-COR_1$, les ruptures simples en α du carbonyle donnent plusieurs ions : R_1^+ , R_1CO^+ et $COOR^+$ (figure 15) [3].



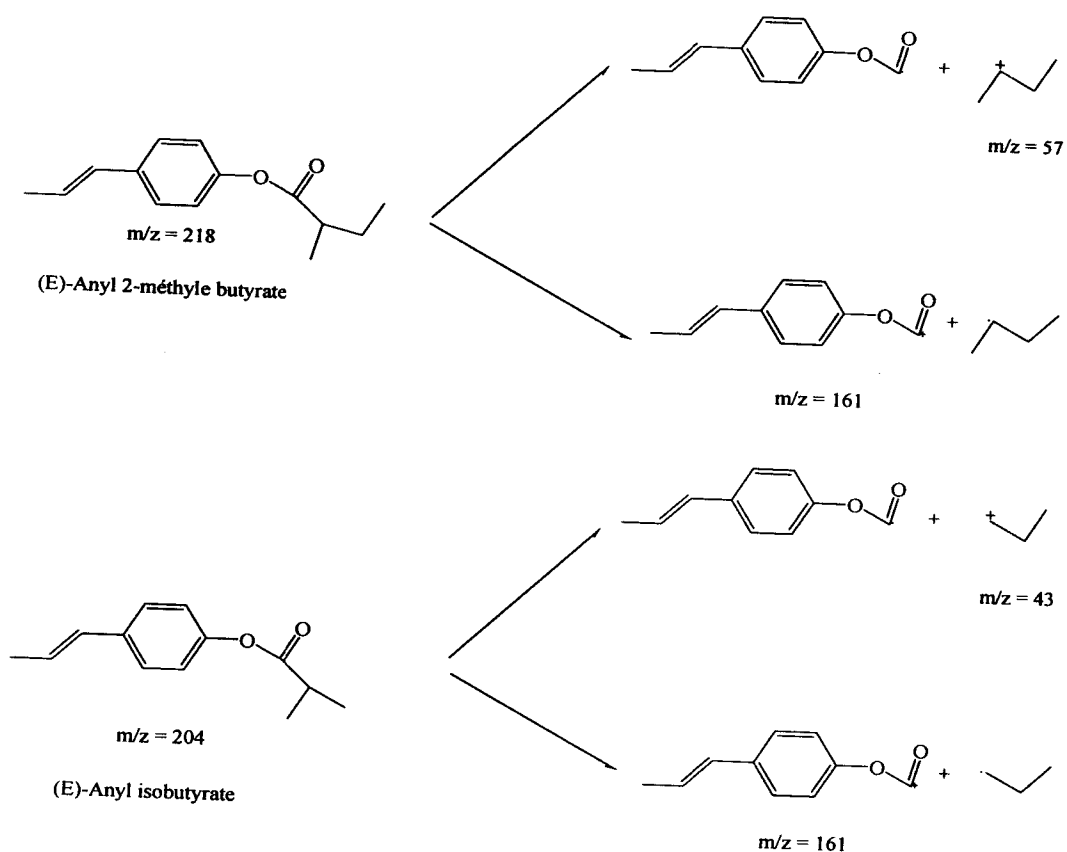


Figure 15 : Caractérisation des fragments $m/z = 43$ et $m/z = 57$ des composés aromatiques

Le fragment à $m/z = 134$ correspond à l'ion $[C_9H_9O]^+$. Cet ion, présent dans le spectre de masse du (E) Anyl 2-méthyle butyrate (et du composé inconnu), est caractéristique de la perte d'une molécule de cétène neutre qui donne naissance à un pic de base M' très intense correspondant à l'ion moléculaire $m/z = 134$ $[C_9H_{10}O]^+$ et un pic $m/z = 133$ $[M'-1]^+$ faible. (figure 16) [3]

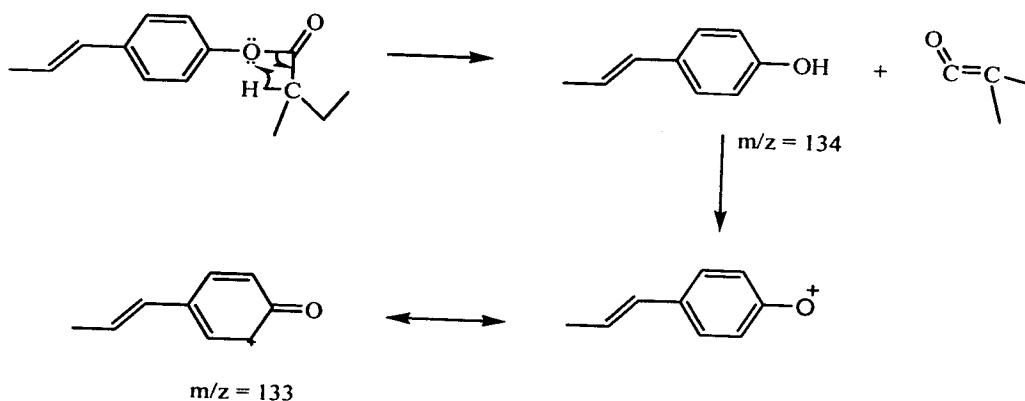


Figure 16 : Caractérisation des fragments $m/z = 133$ et $m/z = 134$ des composés aromatiques



L'ensemble de ces résultats et surtout l'absence du pic caractéristique de McLafferty nous laisse penser que la structure de ce composé est le (E)-Anyl isobutyrate.

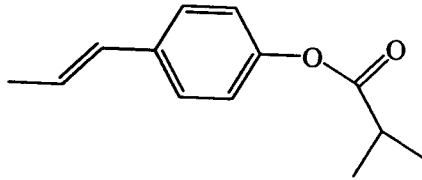


Figure 17 : (E)-Anyl isobutyrate

Le couplage de CPG/SM permet ainsi la détermination rapide de structure et est actuellement un des procédés les plus sûrs et les plus puissants d'identification de composé.

VI.4. Etude des acides gras et des insaponifiables des racines d'*Arbutus unedo*.

Au cours de ce travail, nous nous sommes essentiellement intéressés aux lipides non polaires extractibles par l'éther de pétrole ; nous avons ainsi analysé les acides gras après saponification et les constituants des insaponifiables d'extraits obtenus à partir des racines d'*Arbutus unedo*.

VI.4.1. Acides gras obtenu à partir des racines

Les acides gras transformés en leurs esters méthyliques comme décrit au chapitre III sont analysés par CPG-SM. Les résultats des analyses sont résumés dans le tableau 10.

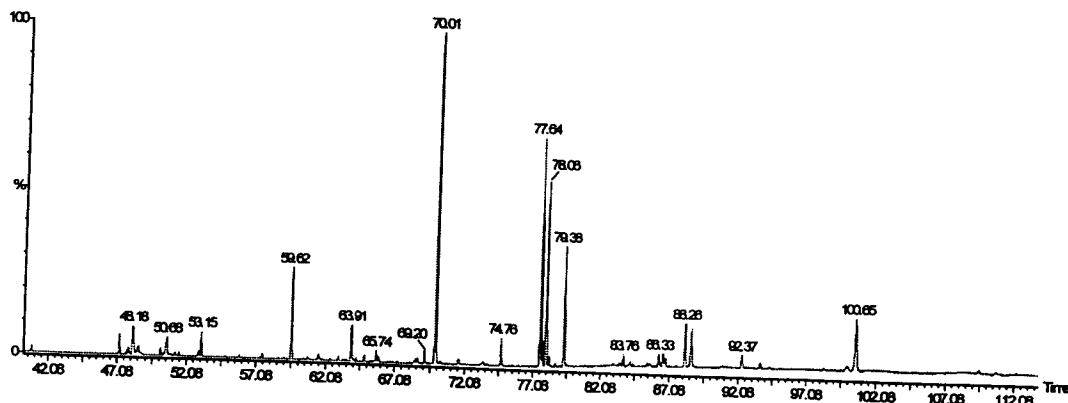


Figure 18 : Chromatogramme CPG/SM des acides gras des racines d'*Arbutus unedo* L.



Les acides gras après isolement et pesée représentent seulement 1,4% de l'extrait étheré. 77.22 % des acides gras ont été identifiés et quantifiés. Ils sont listés par ordre d'élution sur la colonne 51.99 % sont des acides gras saturés, parmi lesquels les acides : hexadécanoïque (14.05%), octadécanoïque (8.57%) et dodécanoïque (10.32%) sont les plus abondants.

Tableau 10 : Composition en acides gras de l'extrait étheré des racines d'*Arbutus unedo* (proportions m/m exprimées par rapport au total des acides gras).

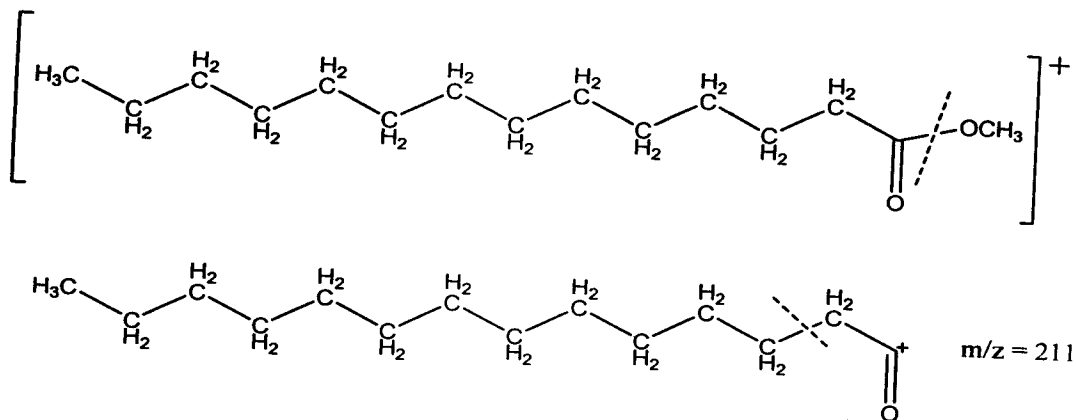
Acides	Temps de Rétention (min)	Proportions
Heptanoïque (C ₇ : 0)	50.68	1.52
Laurique (dodécanoïque, (C ₁₂ : 0)	59.62	10.32
Myristique (tétradécanoïque, (C ₁₄ : 0)	63.91	3.21
(Z)-pentadécénoïque, (C ₁₅ : 1)	69.20	1.57
Palmitique (hexadécanoïque, (C ₁₆ : 0)	70.01	14.05
Margarique (heptadécanoïque, (C ₁₇ : 0)	74.76	1.62
Linoléique (Octadécadiénoïque, (C ₁₈ : 2; 9,12)	77.64	13.66
Oléique ((Z)-octadécénoïque, (C ₁₈ : 1)	78.06	10.00
Stéarique (octadécanoïque, (C ₁₈ : 0)	79.38	8.57
Nonadécanoïque (C ₁₉ : 0)	83.76	1.57
Arachidique (eicosanoïque, (C ₂₀ : 0)	88.26	4.64
Béhénique (docosanoïque, (C ₂₂ : 0)	100.65	6.49
Total composés identifiés		77.22
Total composés non identifiés		22.78
Total		100,00

Les acides gras insaturés (25.23%) identifiés sont : le 9,12-octadécadiénoïque, (E, E) (13.66 %), oléique (10.00%) et le (Z)-pentadécénoïque (1.57%).

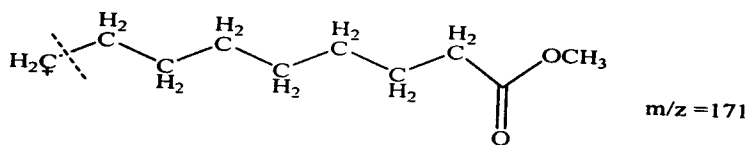
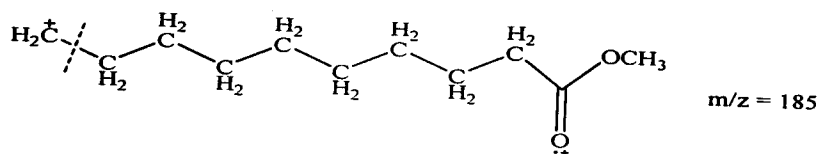
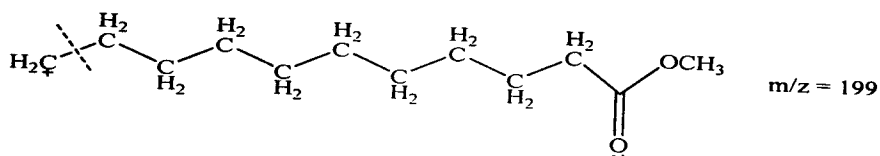
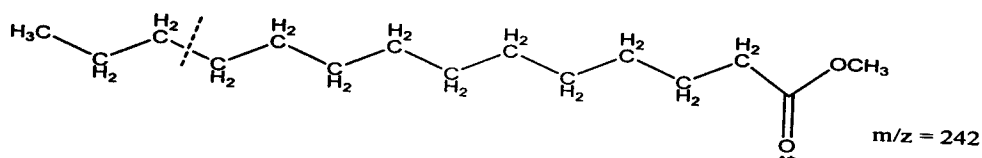
VI.4.2. Interprétation des spectres de masse.

Les spectres de masse des acides gras sous leur forme d'esters méthyliques à longue chaîne sont en général représentés par une série de "clusters" séparés par des unités de masse 14 (CH₂). Ceci résulte de la coupure de chaque liaison C-C, avec la charge qui se place soit sur le fragment qui porte l'oxygène soit sur le fragment alcyli. Si l'on observe comme exemple le spectre de masse de l'acide tétradécanoïque méthyle ester (annexe), on retrouve toutes ces caractéristiques. Pic du ion moléculaire m/z : 242 - 31 (OCH) = m/z : 211 (figure 19).





Si la charge se place sur le fragment qui porte l'oxygène on aura :



etc....

Figure 19 : Fragmentation de l'acide tétradécanoïque méthyle ester

A partir de ce pic moléculaire on a des coupures au niveau des liaisons C-C pour avoir la série m/z : 43, 57, 71, 87, 97, 111, 129, 143, 157, 171, 185, 199. Les pics 57 et 71 sont moins forts.



En plus un pic caractéristique de la fragmentation des acides gras ou des esters, est celui apparaissant à m/z : 74, et provenant du réarrangement de McLafferty [4].

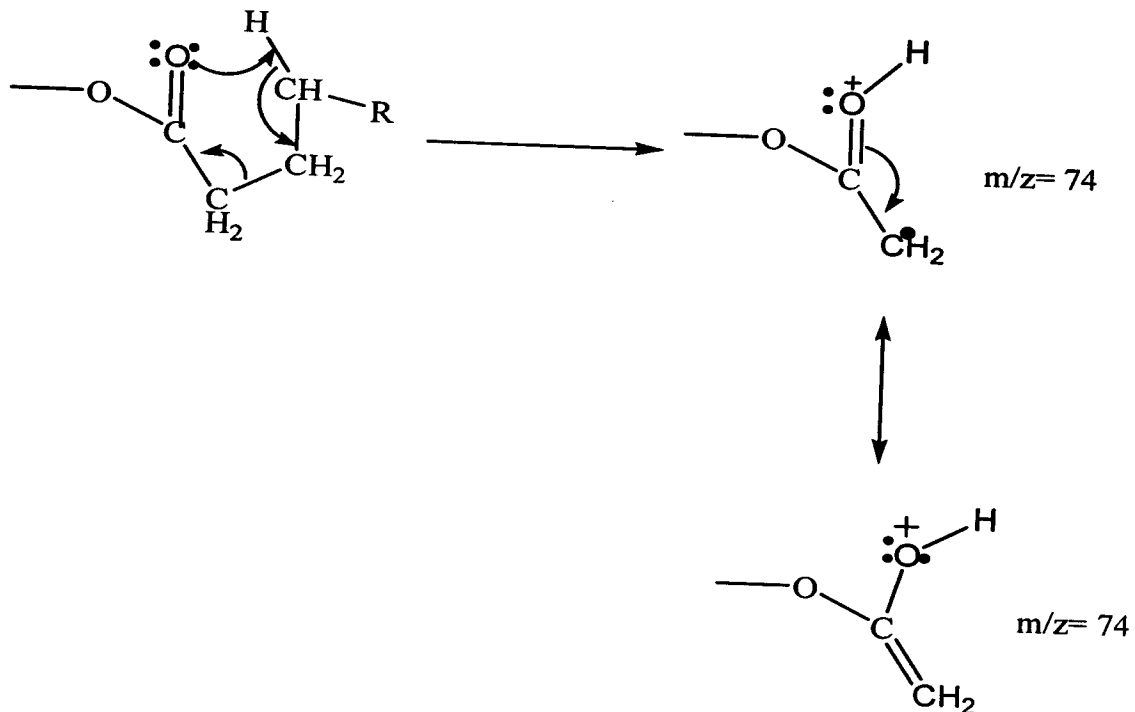


Figure 20 : Caractérisation du fragment $m/z = 74$ des acides gras ou des esters

Etant donné l'existence des acides gras dans les racines d'*Arbutus unedo*, on peut mentionner tout de même leur importance. Ces produits volatils ont déjà été extraits de plusieurs plantes, avec différents solvants organiques (acétone, chloroforme, éther diéthylique, acétate d'éthyle et méthanol), voir les travaux de Rosell (1987) [5]. Cet auteur a montré que les acides gras saturés et insaturés des certaines algues, peuvent avoir une activité antibactérienne.

VI.4.3. Insaponifiables obtenus de l'extrait des racines

Cette fraction après isolement et pesée représente 50.31% de l'extrait étheré. Sept composés ont été identifiés et représentent un pourcentage d'identification de 80.35% (tableau 11).



Tableau 11 : Les insaponifiables de l'extrait des racines d'*Arbutus unedo* (proportions m/m exprimées par rapport au total des constituants).

Acides	Temps de Rétention (min)	Proportions
2,4-Diméthylnonane	21.74	12.42
Undécane	21.95	14.99
2-Nonenal (E)	27.53	4.53
Décanal	40.84	5.69
n-décyl acetate	53.17	5.64
Cis 3 héxényle benzoate	55.95	0.50
Benzyle cinnamate	76.40	36.58
Total composés identifiés		80.35
Total composés non identifiés		19.65
Total		100.00

L'extrait est constitué de composés carbonylés comme le décanal, le 2-nonéal (E), le n-décyl acetate, le Cis 3 hexenyl benzoate et le benzyle cinnamate présentent les familles majoritaires avec (52.94%). Le second constituant majeur est l'undécane (14.99%). Suivi du le 2,4-diméthyle nonane (12.42%).

Conclusion

L'analyse des huiles essentielles des tiges et des feuilles d'*Arbutus unedo* présentée dans ce travail, n'est qu'une étude préliminaire. Effectivement, nous avons pu isoler et identifier par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPGSM), plusieurs composés volatils intéressants.

Les acides gras saturés C₇, C₁₂, C₁₄, C₁₆, C₁₇, C₁₈, C₁₉, C₂₀ et C₂₂ sont présents à l'état libre dans les racines avec une prépondérance pour les acides gras C₁₆, C₁₂ et C₁₈ c'est-à-dire l'acide Palmitique, l'acide laurique et l'acide stéarique.



Références bibliographiques

- [1] M. Lahlou, Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential Oils, *Phototherapy Research*, 2004, 18, 435-448.
- [2] B. Kivcak, T. Mert, B. Demirci, and K. H. C. Baser, Composition of the essential oil of *Arbutus unedo*, *Chemistry of Natural Compounds*, 2001, 37(5), 445-446.
- [3] M. Silverstein Robert, G.C. Bassler & T.C. Morrill, Identification spectrométrique de composés organiques, 5^{éd}, Américaine par Emanuel Larue, 2000.
- [4] M. Silverstein Robert., G.C. Bassler & T.C. Morrill, Spectrometric identification of organic compounds, 4^{ème} édition, N-Y, Toronto: J. Wiley, 1981 .
- [5] K.G. Rosell & L.M. Srivastava, Fatty acids as antimicrobial substances in brown algae, *Hydrobiologia*, 1987, 151-152(1), 471-475.



VII.1. Matériels végétaux

VII.1.1. Origine géographique et période de récolte

L'*Arbutus unedo L.* provient de la région de Tlemcen située à l'ouest algérien. Les différentes parties de la plante sont collectées en mois de février 2009 pour la station de Terni située à 34°47' de latitudes nord et à 1°34' de longitude ouest puis en mois de mai 2009 dans la zone de Ain Ghoraba située à 34°58' de latitudes nord et à 0°59' de longitude ouest.

VII.2. Extraction des huiles essentielles

VII.2.1. Procédé d'extraction

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par l'hydrodistillation pour les différentes parties de la plante qui consiste à immerger directement le matériel à traiter dans de l'eau distillée qui est portée à ébullition.

Le dispositif utilisé est constitué d'un ballon en verre placé au dessus d'un chauffe ballon, contenant l'eau distillée et surmonté d'une colonne en verre, celle-ci est reliée à un réfrigérant qui condense les vapeurs d'eau que l'on recueille sous forme de distillat dans une ampoule à décanter.

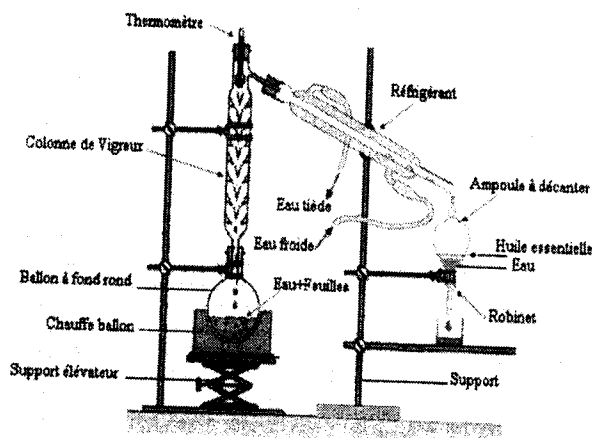


Figure 21 : Schéma d'un montage d'hydrodistillation

La durée moyenne de l'extraction est d'environ 6 heures. L'huile essentielle est récupérée dans un tube à essai, fermé et enveloppé puis gardé au réfrigérateur à une température de 0 à 4°C.

VII.2.2. Calcul du rendement

Le rendement en huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielles obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter [1].

$$R = (m/m_0) \cdot 100$$

Où m : représente la masse en gramme de l'HE.

Où m_0 : représente la masse en gramme du matériel végétal sec.

VII.3. Extraction des acides gras et les insaponifiables

VII.3.1. Dégraissage du matériel végétal

Les matières grasses sont extraites à l'aide d'un solvant organique dans un montage de type soxhlet [2]. L'opération consiste à introduire dans un siphon une cartouche de papier épais et poreux dans la quelle est mis 25 g de poudre végétale et 150 ml de l'hexane dans le ballon. Le solvant est porté à ébullition, puis condensé avec le condenseur à boules, dans le réservoir à siphon. Le contact entre le solvant et le produit à extraire dure pendant l'accumulation de solvant dans le réservoir, puis quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute. Ce cycle peut être répété plusieurs fois, selon la facilité avec laquelle le produit diffuse dans le solvant. Filtrer, ensuite évaporer le solvant (figure 22). Le résidu obtenu, sous forme d'un extrait huileux, représente généralement la matière grasse.

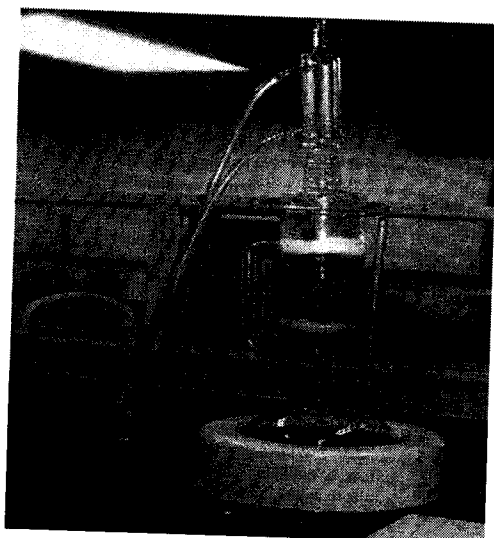


Figure 22 : Schéma d'un montage de Soxhlet.

VII.3.2 Séparation des insaponifiables (Saponification)

Dans un ballon de 250 ml, surmonté d'un réfrigérant à reflux, mettre 1g d'extrait huileux. Ajouter 50 ml de la solution d'hydroxyde de potassium éthanolique à 2 N. Porter l'ensemble à reflux pendant 1h et 30 min. Après refroidissement, ajouter 20 ml d'eau distillée Débrancher le réfrigérant et refroidir le ballon. Faire transvaser le contenu du ballon, dans une ampoule à décanter de 500 ml. Ajouter 10 ml d'hexane, agiter énergiquement et laisser la séparation se faire. Séparer la phase aqueuse (contenant les acides gras) en la recueillant dans une autre ampoule. Faire encore deux extractions sur la phase aqueuse. Réunir les insaponifiables (la phase organique) dans une ampoule et laver à l'eau distillée (10 ml à chaque fois) jusqu'à réaction neutre. Décanter et sécher la phase organique sur CaSO_4 anhydre. Enfin, évaporer le solvant, il reste un résidu d'insaponifiable.

La phase aqueuse est acidifiée jusqu'à précipitation des acides gras ($\text{pH} \approx 5$), les acides gras libérés sont alors extrait au moyen d'éther diéthylique.



VII.3.3. Estérification des acides gras

Dans un ballon de 250 ml, surmonter d'un réfrigérant à reflux, mettre 0.4g d'acide gras en présence de 50 ml de méthanol. Ajouter, goûte à goûte, à l'aide d'une ampoule à addition, 1 ml d'acide sulfurique concentré. Porter l'ensemble à reflux pendant 2 h. Faire écouler le mélange dans une ampoule à décanter contenant 20ml d'eau glacée. Extraire la phase aqueuse avec du chloroforme. Décanter et sécher la phase organique sur CaSO₄ anhydre. Enfin, évaporer le solvant, il reste un résidu d'esters méthylique.

VII.4. Techniques d'analyse

VII.4.1. Principe de la technique

L'analyse chimique des huiles essentielles est généralement réalisée en utilisant la GC (l'analyse quantitative) et la GPC/MS (l'analyse qualitative) [3-5] qui sont deux méthodes intéressantes et performantes pour l'identification chimique des composés.

La CPG/SM elle permet d'obtenir le spectre de masse de molécules séparées et de connaître la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation [6].

Les spectres de masse, ainsi obtenus, sont ensuite comparés à ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles.

Afin de pallier à ce problème, l'identification par CPG/SM doit être confirmée par les indices de rétention de Kovats par deux colonnes de polarité différentes qui se trouvent dans la littérature [4].

VII.4.2. Conditions opératoires

Analyse par CPG

Les analyses ont été faites à l'aide d'un chromatographe Perkin-Elmer (Waltham, MA, USA) Autosystem XL, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et deux colonnes capillaire en silice fondue, polaire (Rtx-wax, polyéthylenglycol) et apolaire Rtx-1 (DB5), polydiméthylsiloxane).

Les conditions opératoires sont les suivantes :

- Programmation de température : de 60 à 230 °C à 2°C/min
- Température de l'injecteur: 280 °C.
- Temperature de détecteur: 280°C.
- Injection: mode split (1:50).
- Gaz vecteur: Hélium (1ml/min).
- Volume injecté : 0.2 µL.



Analyse par CPG/SM

Un chromatographe Perkin-Elmer Autosystem XL équipé d'une colonne capillaire en silice fondue Rtx.-Wax couplé à un spectromètre de masse Perkin-Elmer Turbo, muni d'un détecteur de type quadripôle. Les spectres de masses ont été acquis dans un intervalle de masse compris entre 35 et 350 Da

Les conditions opératoires sont les suivantes :

- Programmation de température : de 60 à 230 °C à 2°C/min
- Température de l'injecteur: 280 °C.
- Temperature de détecteur: 280°C.
- Injection: mode split (1:50).
- Gaz vecteur: Hélium (1ml/min).
- Volume injecté : 0.2 µL.
- Mode ionization : mode I.E positif 70ev

VII.4.3. Identification des constituants.

L'identification des constituants des huiles essentielles a été faite sur la base de leurs indices de rétention et de leurs spectres de masse par comparaison avec les données de la littérature (Joulain et al. 1998 ; Adams, 2001) et le NIST 2004.



Références bibliographiques

- [1] P. Carré, *Precis De Technologie Et De Chimie Industrielle*, Edition Bailliere, Vol 3, 1953.
- [2] R. Lecop, *Manuel d'analyse alimentaire et d'expertise usuelle*, Edition Doin, Vol II, Paris, 1995.
- [3] M. Robert Silverstein, G. Clayton Bassler, C. Morrill Terence, *Identification spectrométrique de composés organiques*, Edition De Boeck Université, 2004, p.7.
- [4] M. Lahlou, *Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential Oils*, *Phototherapy Research*, 2004, 18, 435-448.
- [5] HJ. Dorman, SG. Deans, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, *Journal of applied microbiology*, 2000, 88(2), 308-16.
- [6] N. Bendimerad, *Etude des huiles essentielles de Pseudocytisus integrifolius (Sabisb) Rehder et Sinapis arvensis L., plantes crucifères de la région ouest d'Algérie, Mise en évidence de composés et conséquences nutritives*, Thèse de Docteur d'état, Chimie Organique Appliquée, Tlemcen, 2006, p.54.
- [7] D. Joulain (Robertet S. A.) and W. A. König, *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*, University of Hamburg, Germany: EB-Verlag, 1998, p.661.
- [8] R.P. Adams, *Identification of essential oils by gas chromatography quadrupole mass spectroscopy*, Carol Stream, IL, USA: Allured Publishing Corporation, 2001.
- [9] National Institute of Standards and Technology, NIST WebBook, available at: <http://webbook.nist.gov/chemistry>, 2005.



Conclusion générale



Arbutus *Unedo* comparé aux plantes aromatiques ou les rendements en huiles essentielles sont parfois voisins de 1%, l'huile des fruits d'*Arbutus unedo* présente un rendement appréciable de l'ordre de 0.3%. Pour le rendement des tiges on a un maximum atteint à 0,18 % pour la station d'Ain Ghoraba et un minimum à 0,03 %. Pour la station de Terni, de même pour les feuilles nous avons un maximum atteint à 0,12 % (station de Ain Ghoraba) et un minimum de 0,02%. (station de Terni).

Il faut tout de même noter qu'il n'existe aucune corrélation entre la variation des rendements en huile obtenue et la nature de la région. Plusieurs facteurs incontrôlés, d'ordre technique, peuvent influencer la mesure du poids de l'huile.

La détermination de la composition chimique d'une huile essentielle, de la mise en évidence d'une éventuelle spécificité ou du contrôle de sa qualité, sont des étapes importantes qui nécessitent l'utilisation de différentes méthodes d'analyses. La première approche pour l'analyse d'une huile essentielle est l'utilisation du couplage, tel que la CPG-SM, permettant l'identification des constituants. Les huiles essentielles peuvent être soumises à un fractionnement par chromatographie sur colonne ouverte pour faciliter l'identification des composés minoritaires.

L'analyse par CPG-SM de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, nous a permis l'isolement de l'huile des différentes parties de la plante un total de plus de 25 composés neutres volatils séparés sur colonne apolaire DB-5 qui ont été identifiés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire couplée à la spectrométrie de masse et par comparaison avec les spectres des composés purs.

♦ Ainsi, les huiles essentielles des feuilles d'*Arbutus unedo* sont caractérisées par la prédominance de composés aliphatique notamment les alcanes (42.93%), les aldéhydes (17.11%) et les esters (11.48%).

♦ La composition de l'huile essentielle des tiges d'*Arbutus unedo* se caractérise par la présence importante de composés aliphatique (52.90%), de composés aromatiques (10.91%) et de composés sesquiterpéniques (9.61%)

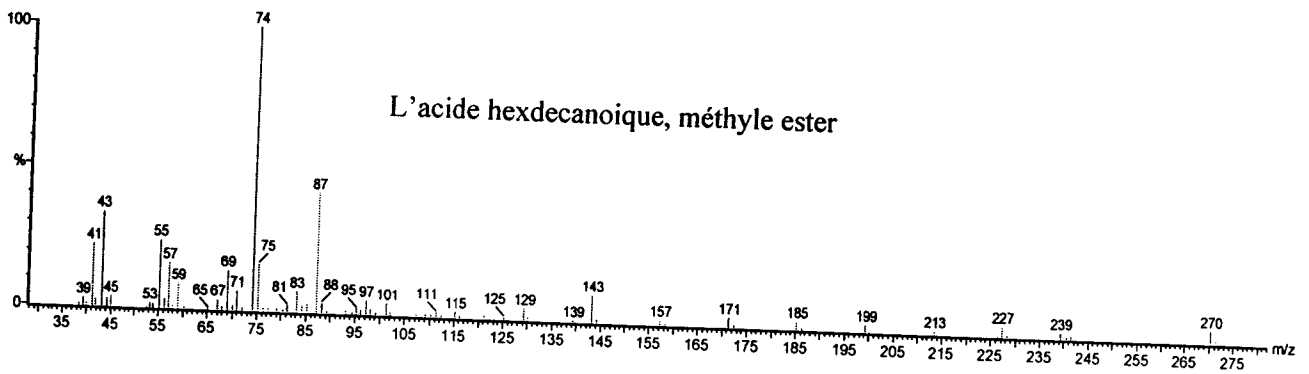
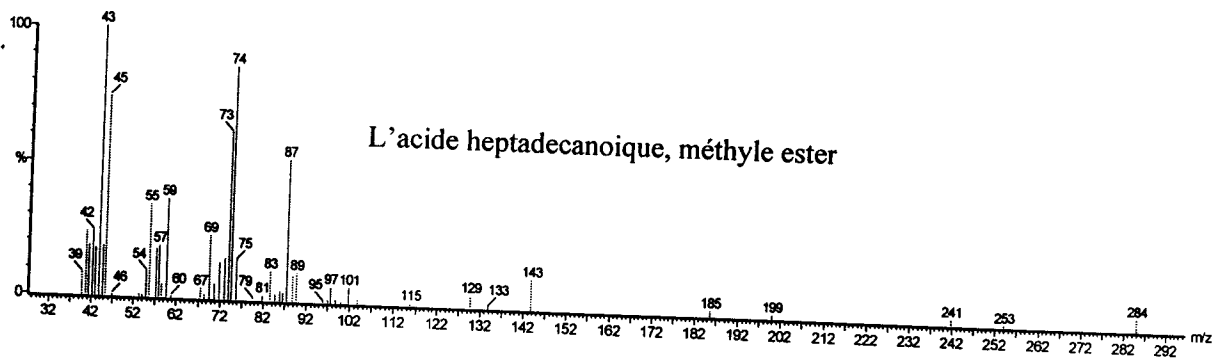
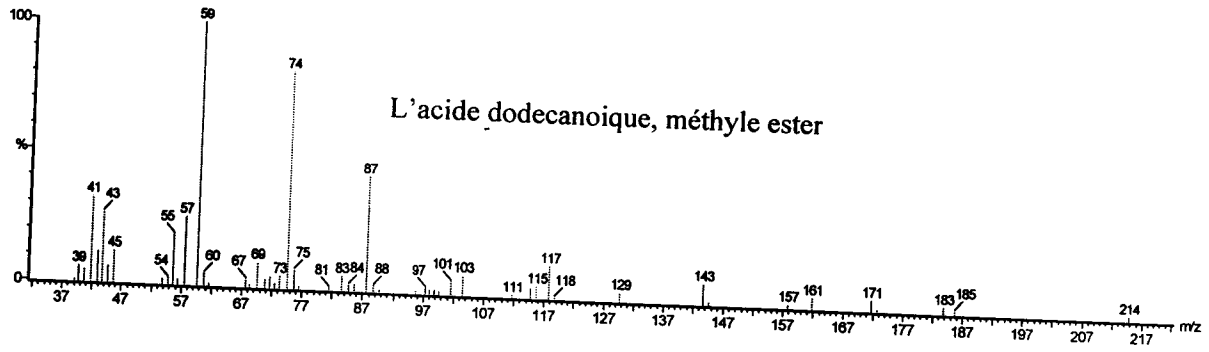
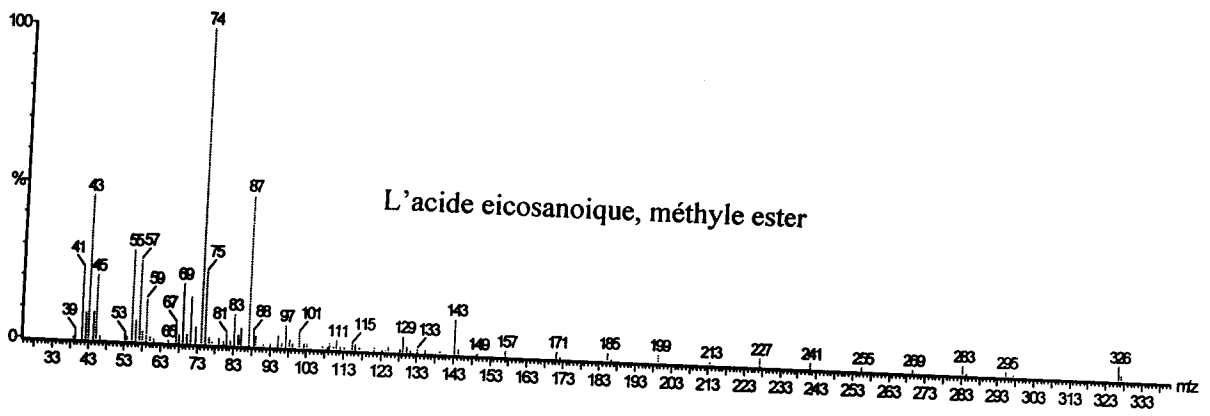


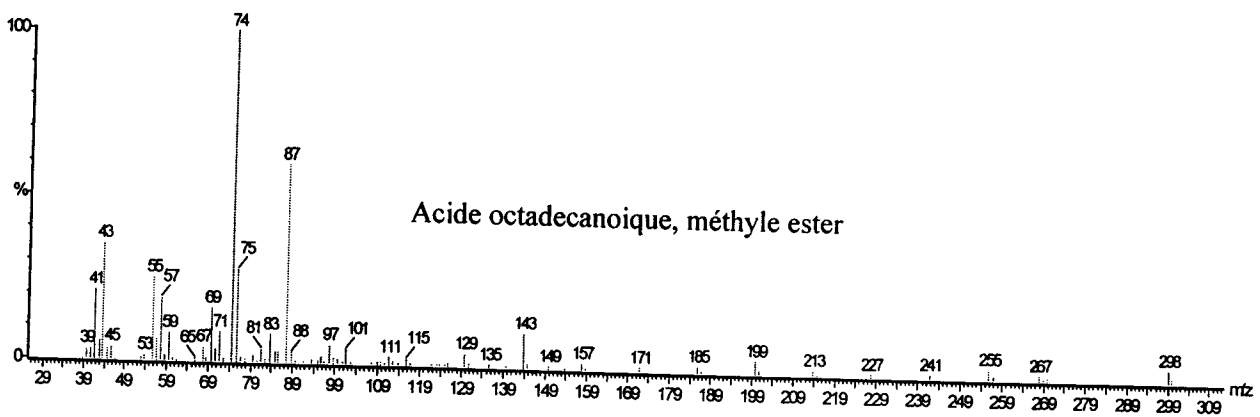
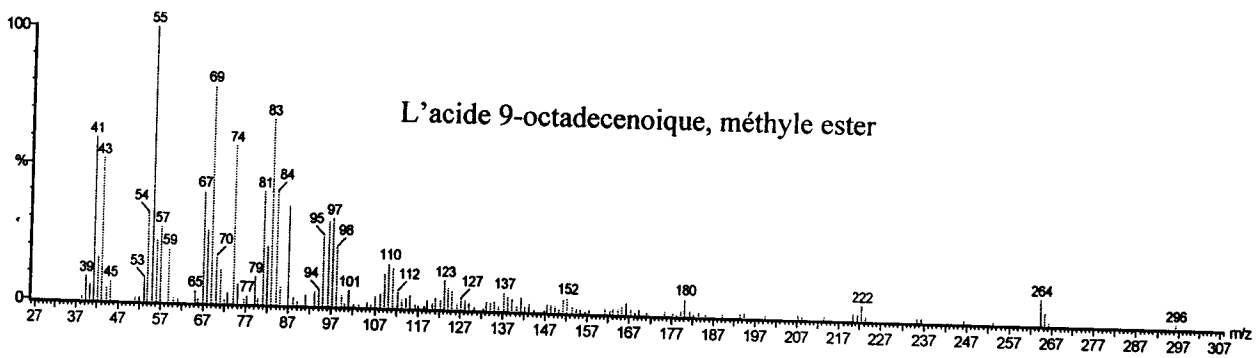
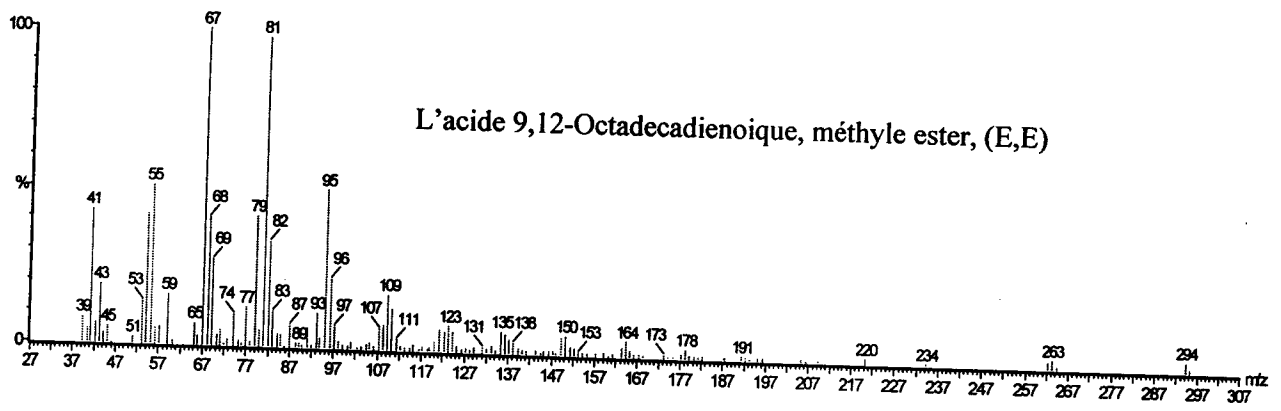
En ce qui concerne la deuxième partie des résultats, nous nous sommes intéressés aussi à l'extraction des acides gras et des insaponifiables des racines de l'*Arbutus unedo*. Leur identification et quantification par CPG/SM a permis l'identification de 12 acides gras dont 9 acides gras saturés (51.99%) et 3 acides gras insaturés (25.23%).

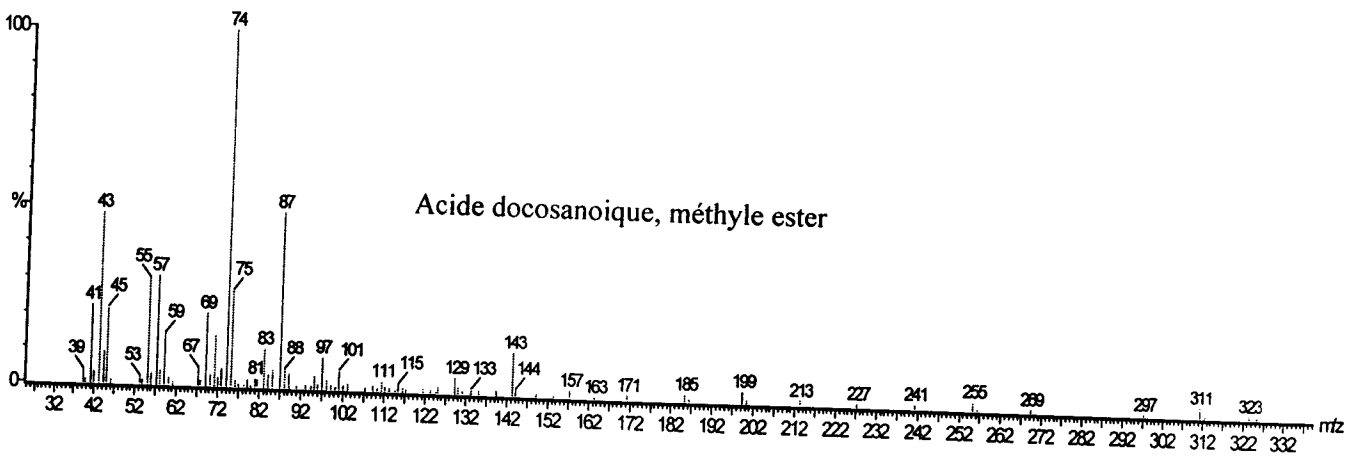
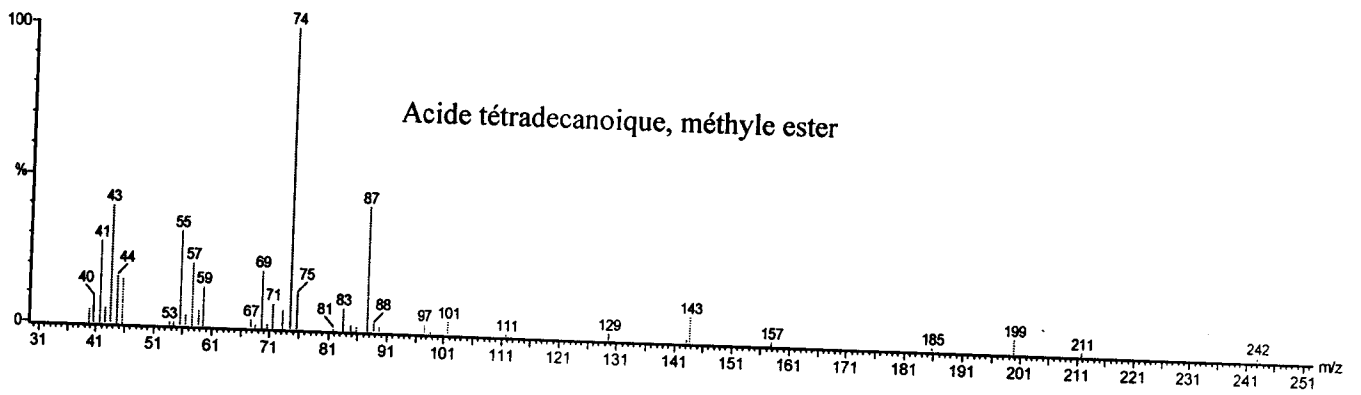
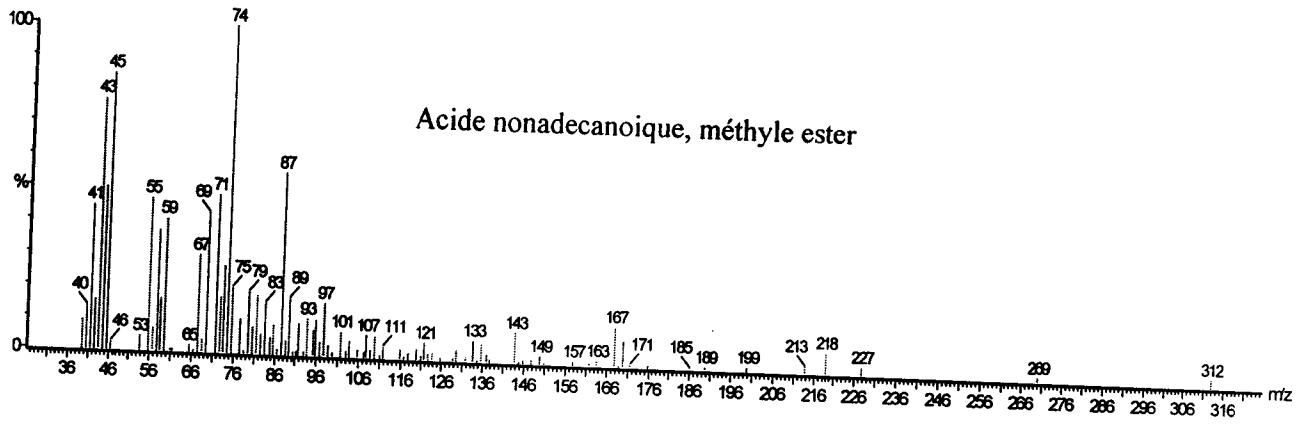
D'autre part l'identification des insaponifiables des racines nous a permis d'identifier 7 composés dont le constituant majoritaire est le benzyle cinnamate avec un pourcentage de 36.58%.

Enfin ce travail n'est qu'une contribution à l'étude du contenu en substances naturelles présentes chez cette espèce. La poursuite de suivi saisonnier, régional et surtout l'analyse de l'huile essentielle des fruits obtenus par hydrodistillation est à encourager.









Annexe 2
Spectres de masse
de quelques huiles essentielles



