

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أمحمد بوقرة بومرداس
Université M'hamed Bougara de Boumerdès



Faculté des Sciences - Département de Chimie

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Organique

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Présenté et soutenu par

Asma Ikhenazene

Nesrine Mahnane

Thème

Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de l'Achillée millefeuille L.

Soutenu le 9 novembre 2020 devant le jury composé de :

Mme. Karima DEHAK	MCA (FS-UMBB)	Présidente
Mme. Feryel DRIDI	MCB (FS-UMBB)	Encadrant
Mme. Leila DADDI-OUBEKKA	MCB (FS-UMBB)	Co-encadrant
Mme. Amel DJEDDI	MCA (FS-UMBB)	Examineur

Remerciements

Avant toute chose, on tient à remercier Dieu le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, et de nous avoir aidé à arriver à ce stade de notre vie particulièrement dans nos études.

*Nous commençons par exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à nos encadreurs : **Mme Feryel DRIDI** et **Mme Leila DADDI OUBEKKA**, Maitres de conférences à la Faculté des Sciences, de l'Université M'hamed Bouguerra (Boumerdes), qui nous ont honorées en acceptant de diriger ce travail, Nous les remercions également pour leurs conseils, leurs orientations qu'elles nous ont adressé afin que nous puissions finaliser notre mémoire de master et surtout pour leurs patience.*

Nous ne pouvons, Mesdames, que sincèrement vous exprimer notre respect et notre profonde gratitude.

*Nous adressons nos remerciements aux membres du jury : **Mme Karima DEHAK** présidente de Jury et **Mme Amel DJEDDI** examinatrice toute deux maitres de conférences à l'Université de Boumerdès qui nous ont fait l'honneur en acceptant de faire partie du jury .*

Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble des enseignants du département de chimie.

Nous n'oublierons pas de remercier toute personne ayant participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à mes parents en témoignage de mon profond amour.
Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.
Merci de toujours croire en moi.*

À mes chers frères Mohamed, Nassim et son épouse

À mes très chères sœurs Radia, Imene et son mari

*Qui m'ont toujours aidé financièrement pendant tout mon parcours à la fac et pour les
sacrifices qu'ils ont consenti pour mon instruction et mon bien être.*

À mes chers neveux et nièces (Wassim, Lyna, Iyad et Aya)

À ma grand mère, puisse Dieu la garder pour nous avec beaucoup de santé et de bonheur.

À ma grande famille

*À MES AMIS DE TOUJOURS spécialement Yasmine, Soumia, Nour et Lynda, ma
binôme Nesrine en souvenir de nos moments agréables que nous avons passés ensemble à la fac.*

Je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de réussite et succès. Je vous aime tellement !

*UNE DÉDICACE SPÉCIALE à toute personnes qui comptent ÉNORMÉMENT pour
moi, à toi ma meilleure amie Amina qui sait m'écouter, merci de toujours me comprendre et la
d'être aussi proche. À Mes très chères cousines Sabrina, Ania qui me manquent tellement, à
Rym et Mounira, sans oublier les autres!*

À tous ceux qui me sont chers

Je vous remercie pour tout le soutien, l'encouragement et l'amour que vous me portez.

Asma

Dédicace

Je dédie ce mémoire de Master

À ma Chère Maman

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que tu as consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu m'as apporté depuis mon enfance et j'espère que ta bénédiction m'accompagnera toujours.

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de ton vœu tant formulé
Puisse Dieu, t'accorder santé, bonheur et longue vie.*

À la Mémoire De Mon Père

Ce travail est dédié à mon père, décédé trop tôt, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. J'ai tant souhaité ta présence en ce moment pour partager ma joie avec toi, tu seras toujours présent dans mon esprit et dans mon cœur surtout en ce moment de joie.

Que ton âme repose en paix. Je t'aime papa très fort, tu me manques...

À mes Chères et Adorables Sœurs et Mon cher frère

Fatima la douce, au cœur si grand et son mari, Soumia l'aimable, Mohamed mon grand frère que j'aime profondément.

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

À ma Chère Binôme

Je te remercie pour ton soutien moral, pour ta patience et ta compréhension tout au long de ce projet. Je te souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et beaucoup de réussite. Merci pour tout. Je t'aime beaucoup ma chère binôme.

À mes chers petits neveux Camylia, Yacine et pour le futur bébé.

À mes grands-mères qui m'ont accompagné par leur prières, leur douceur, puisse Dieu vous accorder santé, longue vie et de bonheur.

À mes chers cousins et cousines et À toutes les personnes qui comptent pour moi.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon affection la plus sincère.

Nesrine

Liste des abréviations

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.

ISO : Organisation internationale de normalisation.

PPI : Isopenténylpyrophosphate.

CMR : cancérigène, mutagène et reprotoxique.

UV : Ultra-violet.

IR : Infrarouge.

SM : Spectrométrie de masse.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

CLHP : Chromatographie liquide à haute performance

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

IRTF : Infrarouge à transformée de Fourier.

CC : Chromatographie Liquide sur Colonne ouverte.

CPGP : Chromatographie en Phase Gazeuse Préparatoire.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

RMN-¹H : Résonance Magnétique Nucléaire du Proton.

RMN-¹³C : Résonance Magnétique Nucléaire du carbone-13.

AFNOR : Association française de normalisation

FID : détecteur à ionisation de flamme.

CG/SM ou CPG-SM : La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

IE : ionisation électronique.

IC : Ionisation chimique.

ICP : Ionisation chimique positive.

ICN : Ionisation chimique négative.

IK : Indice de Kovats.

HE : Huile essentielle.

CG/FID : Chromatographie en phase gazeuse couplée au détecteur à ionisation de flamme.

LSD : acide lysergique diéthylamide.

A.millefeuille L : *Achillée millefeuille L.*

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMF : Concentration minimale fongicide.

S. epidermidis : *Staphylococcus epidermidis.*

E. coli : *Escherechia coli.*

K. pneumoniae : *Klebsiella pneumoniae.*

C. albicans : *Candida albicans.*

R. dominica : *Rhyzopertha dominica.*

S. granarius : *Sitophilus granarius.*

Liste des tableaux

Tableau I- 1: Exemples de plantes médicinales	4
Tableau I- 2: Plantes médicinales toxiques	7
Tableau I- 3: Constituants majoritaires de l'huile essentielle d' <i>Achillée millefeuille L</i>	14
Tableau II- 1: Avantages et inconvénients des différentes méthodes d'extraction	32
Tableau IV- 3: Effet du temps de récolte sur la production d'huile essentielle de têtes florales d' <i>Achillée millefeuille L</i> pendant les saisons 2007-2008 et 2008-2009	50
Tableau IV- 5: Conditions d'extraction d'HE d' <i>Achillée millefeuille L</i> obtenues de différentes parties de la plante.....	52
Tableau IV- 7: Les principaux composés identifiés dans les huiles essentielles d'achillée millefeuille L.....	55
Tableau IV- 8: L'activité bactéricide et bactériostatique de l'huile essentielle d' <i>Achillée millefeuille L</i> contre différents micro-organismes.....	57

En annexe:

Tableau IV- 1: Composition chimique (%) de l'huile essentielle de l' <i>Achillée millefeuille L</i>	63
Tableau IV- 2: Composition principale (plus de 5 %) des huiles essentielles d'inflorescence (F) et de feuille (L) de la fleur blanche (W, f. millefolium) et rose (P, f. rosea) <i>Achillea millefolium L</i>	64
Tableau IV- 4: Effet du moment de la récolte sur la composition en huile essentielle des sommités fleuries d' <i>Achillée millefeuille L</i> pendant la saison 2008-2009.....	66
Tableau IV- 6: Concentrations relatives des principaux composants identifiés dans les huiles essentielles brutes d' <i>Achillée millefeuille L</i>	67
Tableau IV- 9: Informations sur les parties utilisées de la plante (année de récolte, durée d'extraction pour quelques études traitées)	68

Liste des figures

Figure I. 1: la molécule d'aconitine et la plante l'aconit napel.....	8
Figure I. 2: La molécule d'émétine et la plante de l'ipéca.....	8
Figure I. 3 : La molécule de quinine et la plante de quinquina	8
Figure I. 4 : Plante de l' <i>Achillée millefeuille L</i>	11
Figure I. 5 : <i>Achillée millefeuille L</i> à fleurs blanches et à fleurs roses	11
Figure II. 1: Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes	18
Figure II. 2: Biosynthèse simplifiée des essences dans les plantes aromatiques	20
Figure II. 3: Structure chimique de l'isoprène	21
Figure II.4: Assemblage tête à queue de deux unités d'isoprène	21
Figure II.5: Exemples de structures de monoterpènes	22
Figure II.6: Exemples de structures de sesquiterpènes.....	23
Figure II.7: Exemples de structures de composés dérivées de phénylpropane	23
Figure II.8: Exemples de structures de composés issus de la dégradation d'acides gras ou de terpènes.....	24
Figure II.9: Méthode de l'entraînement à la vapeur d'eau	28
Figure II.10: Schéma d'une installation de distillation sèche	29
Figure II.11: Presse hydraulique et centrifugeuse séparatrice utilisées dans l'expression à froid	29
Figure II.12: Montage de la percolation	30
Figure II.13: Schéma simplifié d'un extracteur au CO ₂ supercritique	31
Figure II.14: Montage d'extraction par Hydrodistillation/ Montage Clevenger	31
Figure II.15: Extracteur de type Soxhlet	32
Figure III. 1: Montage de la technique CLHP	38
Figure III.2: Principe d'un appareil à spectroscopie IR	39
Figure III.3: Principe de la spectrométrie de masse	39
Figure III.4: Appareillage de CPG	40
Figure III.5: Chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse.....	42
Figure III.6: Spectres de masse du géranial et du néral	43
Figure III.7: Schéma du couplage CPG-IRTF	44
Figure IV. 1: Teneur en HE d' <i>Achillée millefeuille L</i> à différents stades phénologiques	53
Figure IV.2: (à gauche) Variation des monoterpènes et des sesquiterpènes de l'huile essentielle d' <i>Achillée millefeuille L</i> à différents stades phénologiques/(à droite) Variations de la teneur en constituants majeurs des huiles essentielles d' <i>Achillée millefeuille L</i> à différents stades phénologiques.....	54

Sommaire

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

Chapitre I : matière végétale et plantes médicinales

I-1 Introduction	4
I-2 Plantes médicinales.....	4
I-3 Importance des plantes médicinales	6
I-4 Avantages des plantes médicinales.....	6
I-5 Inconvénients des plantes médicinales	6
I-6 Les plantes en médecine moderne	7
a. Les drogues extraites des plantes	7
b. Les extraits de plantes.....	8
c. Les teintures	9
d. Les poudres	9
e. Les huiles essentielles	9
e.1-Composition chimique de l'huile essentielle	10
I-7 Matière végétale : L' <i>Achillée millefeuille</i> L	10
a. Origine.....	10
b. Nom et classification botanique	10
c. Description botanique	11
d. Conditions de culture et implantation	11
I-8 Propriétés physicochimiques et biologiques.....	12
I-9 Composition de l'huile essentielle d' <i>Achillée millefeuille</i> L.....	13
Constituants majoritaires de l'huile essentielle d'<i>Achillée millefeuille</i> L	13
I-10 Propriétés de l'huile essentielle de L' <i>Achillée millefeuille</i> L	14
I-11 Conclusion	15

Chapitre II : Huiles essentielles et procédés d'extraction

1) Huiles essentielles	17
II .1. Introduction	17
II .2. Différentes définitions de l'huile essentielle	17
II .2.1. Selon l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) ...	17
II .2.2. Selon l'Organisation internationale de normalisation (Norme ISO).....	17
II .3. Familles de plantes aromatiques productrices des huiles essentielles	18

II .4. Répartition et localisation des huiles essentielles.....	18
II .5. Biosynthèse des essences au sein de la plante.....	19
II .6. Composition chimique des huiles essentielles.....	20
II.6.1. Terpènes.....	20
II .6.1.1. Monoterpènes.....	21
II.6.1.2. Sesquiterpènes.....	22
II .6.2. Composés aromatiques.....	23
II .6.3. Composés d'origine diverse.....	24
II .7. Facteurs affectant la variabilité de la composition des huiles essentielles.....	24
II .8. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	25
II .9. Conservation des huiles essentielles.....	25
II .10. Utilisation des huiles essentielles.....	26
2) Procédés d'extraction.....	27
II.11. Introduction.....	27
II.12. Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	28
II.12.1 L'entraînement à la vapeur d'eau.....	28
II.12.2 La distillation sèche.....	28
II.12.3 L'expression à froid.....	29
II.13. Autres méthodes d'obtention des huiles essentielles.....	30
II.13.1 Percolation (ou hydrodiffusion).....	30
II.13.2 Extraction au CO2 supercritique.....	30
II.13.3 Hydrodistillation.....	31
II.13.4 Extraction par solvant organique.....	32
II.14 Conclusion.....	34

Chapitre III : Techniques d'analyses : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

III.1. Introduction.....	36
III. 2. Caractérisation des huiles essentielles.....	36
III.3. Les techniques d'analyse chromatographiques et spectroscopiques/ Application aux huiles essentielles.....	37
III.3.1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	37
III.3.2. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP).....	37
III.3.3. Spectroscopie UV.....	38

III.3.4. Spectroscopie infrarouge	38
III.3.5. Spectrométrie de masse (SM)	39
III.3.6. La RMN 13C.....	40
III.3. 7. Technique d'analyse la plus utilisée	40
III.3.7.1. Chromatographie en phase gazeuse CPG	40
III.3.7.2. Principe	41
III.3.8.Couplage de la CPG avec d'autres techniques.....	41
III.3.8.1. Le couplage CG/SM	42
III.3.8.2. Les couplages CPG-IRTF et CPG-IRTF-SM	43
III.3.8.3. LA CPG bidimensionnelle et le couplage CLHP-CPG-SM	44
III.4. Conclusion.....	44
Chapitre IV : Étude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays	
IV.1. Introduction	46
IV.2. Étude comparative de la composition chimique des HE.....	46
IV.2.1. Variation selon l'origine géographique	46
IV.2.2. Principaux composants signalés en d'autres pays.....	48
IV.2.3. Variation selon les morphotypes	48
IV.2.4.Variation selon la période de récolte	50
IV.2.5. Variation selon l'organe producteur	51
IV.2.6. L'influence du stade de développement botanique (cycle végétatif)	52
IV.3. Composition générale de l' <i>Achillée millefeuille L</i>	54
IV.4. Étude de l'effet antifongique et médicinal de l'HE de l'achillée.....	56
IV.4.1. L'effet antifongique.....	56
IV.4.2. L'activité antimicrobienne	56
IV.5. L'effet insecticide	58
IV.6. Existence de la plante <i>Achillée millefeuille L</i> en Algérie.....	59
IV.7. Conclusion	59
Conclusion générale	61
Annexe	63

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Les plantes médicinales et aromatiques constituent un patrimoine précieux pour l'humanité. Elles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'homme, puisqu'elles représentent une source immense de molécules chimiques naturelles et actives : alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, huiles essentielles...et qui les utilisait autant afin de profiter de leurs effets biologiques et chimiques : pour se parfumer, aromatiser, pour se soigner, et même pour se nourrir [1].

L'usage des végétaux est très présent avec un taux de croissance très important dans la plupart des pays du monde. La quantité totale de plantes aromatiques et médicinales utilisées par les industries pharmaceutiques, cosmétiques, chimiques et agroalimentaires est difficile à estimer.

Les progrès de la chimie ont aidé à isoler les composés chimiques de ses plantes, par des méthodes d'extraction. Les huiles essentielles en étant des principes actifs ou connues même sous le nom de métabolite secondaires ont un très grand intérêt, et un très large spectre d'action sur diverses thérapies.

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore, on s'est intéressé aux espèces de la famille des Astéracées qui sont considérées comme la plus large famille des plantes à fleurs qui se rencontrent sur toute la surface de la terre, avec une prédominance dans les régions tempérées sèches, comme par exemple, dans le bassin méditerranéen, le sud de l'Afrique, le Mexique et l'Amérique du Sud ainsi qu'au sud-ouest des Etats-Unis.

Les Astéracées ont une grande diversité de genres et d'espèces. En effet, cette famille comporte des plantes ayant différents intérêts. Certaines sont utilisées pour leurs propriétés médicinales comme par exemple l'Arnica montana qui est connue sous différentes formes médicamenteuses (granules homéopathiques, gel, comprimés, huile de massage ...), notamment pour son action contre les coups, les bleus et les bosses. D'autres sont utilisées dans le domaine ornemental, comme les Soucis (*Calendula officinalis*), les Chrysanthèmes (*Chrysanthemum* spp.) ou encore les Œillets d'Inde (*Tagetes patula*) [1].

Dans notre travail on s'est intéressés à la plante appelée *Achillée millefeuille L.*, connue depuis des millénaires, comme un excellent remède naturel pour l'homme. Cette plante a une grande valeur thérapeutique due notamment à l'huile essentielle qu'elle renferme. L'achillée millefeuilles L est formée d'importants groupes de principes actifs tels que les flavonoïdes et les acides phénols carboniques qui lui confèrent des propriétés pharmacologiques importantes telles que spasmolytique, cholérétique, traitement des plaies et

activités anti-inflammatoires. Toutes ses propriétés font de l'achillée millefeuille une plante médicinale très intéressante.

Ce mémoire de master est structuré en 4 chapitres. Le premier chapitre porte sur des notions générales des plantes médicinales et leur utilisation dans différents domaines. Nous présentons également une description botanique détaillée de l'*Achillée millefeuille L.*, ainsi que sa composition et ses propriétés pharmacologiques importantes.

Le deuxième chapitre est consacré aux huiles essentielles, un aperçu général est donné sur leurs compositions chimiques, caractéristiques, leur biosynthèse, principales applications et utilisations, suivi des différentes méthodes d'extraction.

Dans le troisième chapitre, nous nous sommes intéressés aux principales méthodes d'analyses utilisées pour identifier les composants chimiques des huiles essentielles (IRTF, CPG et CPG/SM).

Le quatrième chapitre est consacré à l'étude comparative de la composition chimique de l'huile essentielle extraite des différentes parties de la plante de l'*Achillée millefeuille L.*, dans différents pays, tels que : Brésil, Turquie, Iran, la Lituanie. Dans cette partie, nous décrirons la composition chimique (qualitative et quantitative) de l'huile essentielle en mettant en évidence les similitudes et les différences entre ces différents extraits. Nous examinerons la variabilité interspécifique de l'huile essentielle de l'*Achillée millefeuille L.*, mentionnant les causes qui mènent à cette diversité.

En conclusion, nous terminons sur une synthèse globale des travaux récents effectués sur l'*Achillée millefeuille L.*, en proposant quelques perspectives en relation avec notre thème.

CHAPITRE I
MATIÈRE
VÉGÉTALE
ET PLANTES
MÉDICINALES

Chapitre I : matière végétale et plantes médicinales


I-1 Introduction

Les plantes médicinales font partie de l'histoire de tous les continents ; l'homme a découvert que les animaux sauvages utilisent instinctivement certaines plantes pour se soigner ! Depuis ce jour la médecine par les plantes existe. Un chiffre global permet de rendre compte de l'importance du recours à la médecine traditionnelle : on estime que 80 % de la population y recourt pour ses premiers soins de santé [2].




I-2 Plantes médicinales

Une plante médicinale est une plante qu'on peut utiliser pour ses propriétés thérapeutiques, car elle contient au niveau de ses organes un ou plusieurs principes actifs [2].

Tableau I- 1: Exemples de plantes médicinales [3].

NOM	PARTIES UTILISÉES	PRINCIPAUX CONSTITUANTS	PRINCIPAUX EFFETS	IMAGE DE LA PLANTE
<i>Achillea Millefolium</i>	Les fleurs et les feuilles	<ul style="list-style-type: none">- Huile essentielle- Flavonoïdes- Alcaloïdes- Poly acétylènes- Acide salicylique- Coumarines- Tannins	<ul style="list-style-type: none">- Antispasmodique- Astringent- Tonique amer- Active la transpiration- Hypotenseur- Fait baisser la fièvre- Diurétique léger et antiseptique urinaire- Arrête les hémorragies internes- Provoque les règles- Anti-inflammatoire	

Chapitre I: Matière végétale et plantes médicinales

<p>Marronnier</p>	<p>Feuilles fraîches Fruit frais</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Environ 10% de saponosides triterpéniques (aescine) - Polysaccharides ou amidon (environ 50%) - Coumarines dont esculoside dans l'écorce - Flavonoïdes - Tannins - Proanthocyanidols dans les graines Huile essentielle (2 à 3 %) 	<ul style="list-style-type: none"> - Tonique veineux - Astringent - Anti-inflammatoire - Antioxydant - Réduit la rétention des fluides 	
<p>Aloé Vera</p>	<p>Feuilles</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Anthraquinones (aloïne) - Résines (aloésines, aloéluines) - Tanins - Polysaccharides - Aloétine 	<ul style="list-style-type: none"> - Soigne les plaies - Emollient - Stimule les sécrétions biliaires - Laxatif 	
<p>Petit Galanga</p>	<p>Rhizome séché Rhizome frais</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Huile essentielle (environ 1 %) contenant de l'alpha-pinène, - Du cinéol et du linanol - Lactones sesquiterpéniques - Flavonoïdes (galangine) 	<ul style="list-style-type: none"> - Tonique digestif «réchauffant» - Stimulant - Favorise l'expulsion des gaz - Arrête les vomissements - Fongicide 	

I-3 Importance des plantes médicinales

Depuis que l'homme existe sur terre, il découvre très tôt dans son évolution que ces plantes ne représentent pas uniquement une source d'alimentation, mais pouvaient également soulager, voir guérir certaines maladies. Malgré les multiples progrès de la médecine moderne, la phytothérapie existe jusqu'à ce jour. Il est intéressant de remarquer que 30% environ des médicaments prescrits en médecine sont d'origines naturelles [4].

I-4 Avantages des plantes médicinales

Les plantes médicinales d'usage courant provoquent très peu ou aucun effet indésirable : c'est l'un de leurs principaux avantages [5].

- Capacité gastrite.
- Réguler les maladies du système cardiovasculaire.
- Capacité d'inhibition des réactions oxydatives.
- Avoir des propriétés anti-inflammatoires.
- Contenir beaucoup d'antioxydants.

Par contre, les médicaments de synthèse ont souvent une action directe et plus spectaculaire puisqu'ils sont formulés pour être immédiatement assimilés par l'organisme. Malgré les actions directes les médicaments représentent des effets secondaires notifiés. Dans chaque notice, les effets secondaires et indésirables figurent. Certains sont prévisibles, comme les effets toxiques dus à un surdosage ou ceux d'accoutumance liés à la durée du traitement. Il est alors facile de les éviter en respectant scrupuleusement la prescription du médecin.

Des études ont montré que les allergies représentent 15 à 30 % des effets indésirables. Certaines personnes réagissent à des antibiotiques comme la pénicilline, d'autres le sont vis-à-vis de l'acide acétylsalicylique (analgésique et antipyrétique) [6].

I-5 Inconvénients des plantes médicinales

Il existe des plantes toxiques qui sont utilisées sous des formes bien contrôlées, exclusivement commercialisées en pharmacie. Si on les utilise directement de la nature, on peut avoir une intoxication grave et mortelle.

Il existe une liste des plantes toxiques qui se trouvent à travers le monde dont quelques exemples sont énumérés dans le tableau I-2.

Chapitre I: Matière végétale et plantes médicinales

Tableau I- 2: Plantes médicinales toxiques [1].

Nom	Partie toxique	Propriétés
<i>Absinthe</i>	Parties de la plante peuvent être toxique en cas de surdosage	Plante toxique mais elle a également des propriétés médicinales elle favorise la digestion ; stimule l'appétit
<i>Ambroisie</i>	La plante n'est que faiblement toxique, en revanche, elle est extrêmement allergisante à cause de son pollen.	Activité allergénique, activité contre certains pathogènes
<i>Arnica</i>	Toxique à forte dose, une poignée de fleurs pourrait entraîner la mort	Anti-inflammatoires, analgésique et anti-ecchymotiques
<i>Séneçon commun</i>	La plante entière et toxique car elle contient des alcaloïdes pyrrolizidiniques	Calmer les douleurs des règles et les douleurs lombaires. Effet positif sur la circulation veineuse et il était préconisé contre les hémorroïdes

I-6 Les plantes en médecine moderne

a. Les drogues extraites des plantes

Grace à des techniques comparables, on tire l'aconitine de l'aconit, l'émétine de l'ipéca, la quinine de l'écorce du quinquina. Ce sont des molécules extrêmement puissantes représentées dans les schémas ci-dessous :

L'aconitine : est un alcaloïde trouvé chez plusieurs espèces, principalement l'aconit napel. Remarquable par son action venimeuse, l'aconitine est toxique [7].

Chapitre I: Matière végétale et plantes médicinales

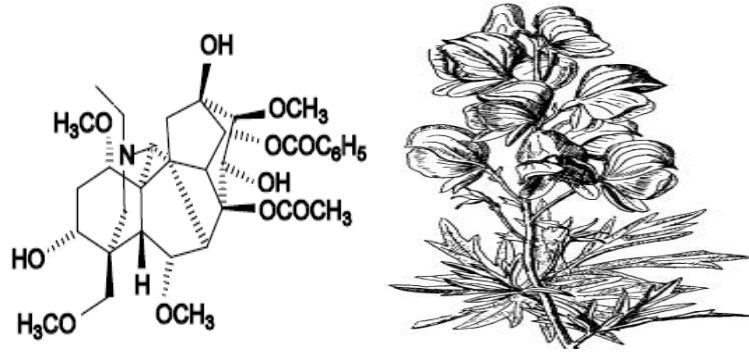


Figure I. 1 : la molécule d'aconitine et la plante l'aconit napel [7].

L'émétine : est un alcaloïde naturel originaire du Brésil. Ce trouve principalement dans les racines d'ipéca [8].

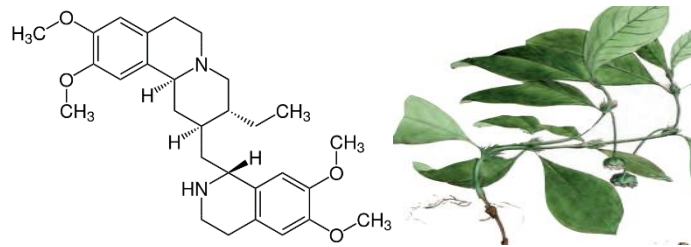


Figure I. 2 : La molécule d'émétine [8] et la plante de l'ipéca [9].

La quinine : est un alcaloïde constituée d'hétérocycles azotés elle présente un caractère basique et possède des propriétés pharmacologiques. Cette molécule est extraite naturellement de l'écorce du quinquina sous forme d'une poudre blanche [10].

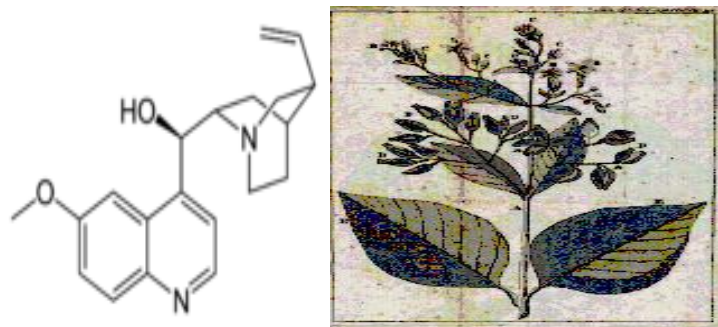


Figure I. 3 : La molécule de quinine [10] et la plante de quinquina [11].

b. Les extraits de plantes

Les extraits des plantes sont des substances de consistance fluide, semi solide, ou solide, résultant de l'évaporation soit d'un suc de plante, soit d'une solution extractive obtenue en traitant les matières premières végétales par un solvant approprié.

Chapitre I: Matière végétale et plantes médicinales

Le supplément 1976 du codex précise : « chaque extrait est défini par son mode de préparation, la nature du solvant d'extraction, l'identification de certains composants, la teneur éventuelle en principes actifs, la perte à la dessiccation ou le résidu sec ».

Un extrait se prépare donc en deux temps :

- La préparation du liquide extractif
- La concentration des solutions extractives effectuée par évaporation.

On peut classer les extraits d'après leur mode de préparation, les solvants employés, les drogues d'origine (extrait résineux, aromatiques...), d'après les propriétés physiques, leur degré de concentration ou leur teneur en eau [2].

c. Les teintures

Ce sont des préparations liquides généralement obtenues soit à partir d'une partie de plante ou de matière animale et qui sont mélangées à des solvants d'extraction.

Les plantes utilisées en teinture peuvent être sèches ou fraîches : il faut les laisser flétrir quelques heures afin d'enlever un maximum d'eau de la plante.

Préparation : la première phase, lors de la fabrication d'une teinture-mère, consiste à broyer les plantes fraîches triées auparavant et à les mettre immédiatement en macération dans de l'éthanol à 95°. On ajoute alors au mélange la quantité d'eau distillée nécessaire pour obtenir un degré alcoolique de 60 à 70, selon la solubilité des principes actifs. La macération est conservée au frais, en récipient étanche et à l'abri de la lumière pendant trois semaines. On l'agite de temps à autre, et en termine par filtration [12].

d. Les poudres

Il s'agit de remèdes réduits en minuscules fragments, de manière générale, plus une poudre est fine, plus elle est de bonne qualité. Les plantes préparées sous forme de poudre peuvent s'utiliser pour en soin tant interne qu'externe [13].

e. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils. Elles peuvent être isolées par hydro distillation ou par expression ou extraction mécanique elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits [14].

e.1-Composition chimique de l'huile essentielle

Elle est une mixture naturelle d'hydrocarbures et d'oxygène, sa composition chimique est très complexe. Elle est susceptible de s'oxyder rapidement, donc sa composition peut évoluer après extraction selon les conditions de stockage.

La plupart des huiles essentielles sont constitués de 20 à 60 composés. Ce sont des mélanges complexes de composants appartenant principalement à deux groupes, caractérisés par des origines biogénétiques apparentes dont les triploïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane [15].

I-7 Matière végétale : *L'Achillée millefeuille L.*

a. Origine

Les plantes astéracées sont réparties dans le monde entier. L'achillée contient environ 130 espèces fleuries et vivaces, trouvée en Europe et dans les régions tempérées d'Asie et d'Amérique. Elle est représentée en Turquie avec 49 espèces, et en Iran avec 19 espèces. L'achillée millefeuille est originaire d'Europe et d'Asie occidentale, mais elle est également répandue dans la plupart des régions tempérées, y compris l'Amérique du Nord, et est représentée par environ 85 espèces principalement présentes en Europe, en Asie et en Amérique du Nord [16].

b. Nom et classification botanique

- *L'achillée millefeuille* est une plante vivace herbacée.
- Nom scientifique : *Achillea millefolium*
- Nom communs : millefeuille, herbe à dinde, herbe de la saint-joseph, herbe aux charpentiers, saigne-nez, herbe aux coupures, sourcil de venus.
- Nom anglais: yarrow, blood wort carpenter's weed.
- Règne : plantae (plante)
- Super division : Embryophyta (plantes à tige)
- Division : spermatophytina (plantes à graines)
- Classe : Magnoliopsida (plante à fleurs)
- Super ordre : Asterales
- Classification phylogénétique
- Ordre : Astéales

Chapitre I: Matière végétale et plantes médicinales

- Famille des astéracées [3].

c. Description botanique

Achillée millefeuille L. est une plante herbacée, aromatique, de 4 à 90 cm de hauteur, à tige fleurie dressées, sillonnées dans la longueur.

Les feuilles sont alternes, plus longues que larges, divisées en segments étroits nombreux et disposées dans des plans différents, comme autant de petite feuilles (Figure I. 4).



Figure I. 4 : Plante de l'*Achillée millefeuille L* [4].

Les fleurs : des capitules, petits, de 2 à 5 mm de largeurs eux-mêmes réunis en corymbes serrés. Chaque capitule au premier abord ressemble à une fleur simple, les fleurs en languette étant peu nombreuses et pouvant être prises pour des pétales. Les fleurs, toutes de la même couleur, blanches ou roses (figure I.5) [17].



Figure I. 5 : *Achillée millefeuille L* à fleurs blanches [4] et à fleurs roses [18].

d. Conditions de culture et implantation

L'achillée est une plante très facile à implanter. Il existe deux façons de procéder : par semis et par division de plants matures.

Les parties récoltées de l'*achillée millefeuille* sont les sommités fleuries et les feuilles supérieures, dans lesquelles on trouve les principes actifs. Les tiges ligneuses ne contiennent

Chapitre I: Matière végétale et plantes médicinales

pas de principes actifs en quantités significatives.

La récolte doit se faire lorsque les fleurs sont bien ouvertes et blanches, avant que le cœur des fleurs ne brunisse. Il faut idéalement récolter lors d'une journée sèche et ensoleillée. C'est à ce moment que l'achillée sera plus forte en principes actifs. Au Québec, deux récoltes par année sont possibles : une au mois de juillet et une autre à la fin août-début septembre. Quelques semaines avant la récolte, des dépistages fréquents sont de rigueur afin d'éviter de récolter des fleurs contenant des insectes.

Après la récolte on passe au séchage : Le séchage est très important pour préserver la qualité du produit. Les sommités fleuries de l'achillée doivent être séchées immédiatement après la récolte. Il faut d'abord enlever les parties mortes et étaler les plantes, le plus vite possible, en une seule couche. Il faut aussi éviter le tassement, qui provoque l'oxydation et le brunissement de l'achillée. Le séchage se fait à une température entre 35°C et 40°C.

Les fleurs contiennent entre 65 et 70 % d'eau. Dans de bonnes conditions, le séchage devrait être complété à l'intérieur de 48 heures et le produit final ne doit subsister aucune trace d'humidité qui provoquerait des moisissures et rendrait la récolte impropre à l'utilisation. Au terme du séchage, les fleurs doivent être encore blanches, alors que les feuilles et les tiges doivent être vertes. Le rapport de séchage est de 2,4 à 2,6 kg de plantes fraîches pour 1 kg de matière sèche contenant 5 à 8 % d'humidité.

Si la récolte d'achillée fraîche est transformée en huile essentielle, elle doit être transportée rapidement à la distillerie. Le matériel végétal est placé dans un distillateur qui, par un principe d'entraînement à la vapeur, pourra extraire l'huile essentielle. L'opération peut durer jusqu'à 12 heures. Le produit obtenu est une huile de couleur bleue acier, qui dégage un puissant arôme camphré [19].

I-8 Propriétés physicochimiques et biologiques

Plusieurs recherches ont été ciblées vers l'étude de l'azulène dans l'huile essentielle depuis la découverte de sa responsabilité dans la coloration bleue de l'huile essentielle [20].

Le chercheur Oswiecimska a démontré que la présence de l'azulène ou des précurseurs d'azulène dans les différentes variétés de l'Achillée est reliée au nombre de chromosomes [21]. Les tétraploïdes produisent de l'azulène ; par contre, les octaploïdes et les hexaploïdes n'en produisent pas. Les auteurs ont concentré leurs travaux sur *Achillea millefolium* L. qui est une variété hexaploïde donc ne produisant pas d'azulène. La composition chimique de l'huile essentielle de l'*Achillée millefeuille* dépend du nombre de chromosomes de l'espèce,

Chapitre I: Matière végétale et plantes médicinales

l'huile distillée d'une espèce tétraploïde, octaploïde et hexaploïde est caractérisée par la présence de chamazulène. Les di et tétraploïdes contiennent des proazulènes, qui se transforment à leur tour en azulène coloré. L'huile distillée de l'Estonie et de Grèce est riche en chamazulène (jusqu'au 25%) [21].

L'effet de la durée d'hydrodistillation sur la formation de chamazulène et sur la variation de % des monoterpènes, monoterpènes oxygénés, et les autres familles de terpènes est étudié [23]. En effet, les auteurs ont remarqué que le pourcentage de monoterpènes diminue avec l'augmentation de la durée de l'hydrodistillation (0,5, 1, 2 et 3 heures), par contre le pourcentage des monoterpènes oxygénés reste stable. Le pourcentage de chamazulène Augmente 3 fois plus en passant de 0,5 à 3 heures d'hydrodistillation [23].

Orav et ses collaborateurs ont analysé l'huile essentielle de l'Achillée millefeuille provenant de France (partie traitée non précisée); leur résultats montrent une quantité élevée des monoterpènes oxygénés (53,9-76,1%), principalement le camphre (jusqu'au 24,5%), ainsi les α et β -thujone (jusqu'au 26,8%), 1,8-cinéole (jusqu'au 20,3%) et artemisia cétone (jusqu'au 10,1%) [24].

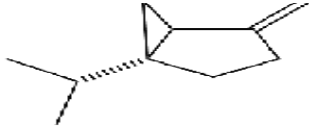
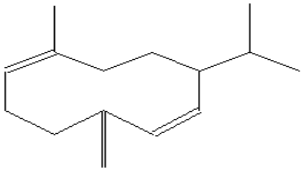
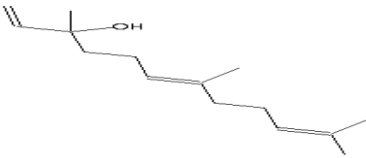

I-9 Composition de l'huile essentielle d'*Achillée millefeuille L.*

L'herbe et l'inflorescence contiennent une huile essentielle. Les inflorescences fraîches en donneraient de 0,07 à 0,25%. L'huile essentielle contient différentes molécules telles que des mono terpènes oxygénés, du chamazulène, du sabinène, bêta-pinène, 1,8-cinéole, terpine-4-ol, eucalyptol [17].

❖ Constituants majoritaires de l'huile essentielle d'*Achillée millefeuille L.*

Les résultats des analyses par chromatographie en phase gazeuse à ionisation de flamme couplée à la spectrométrie de masse (CPG-DIF-SM) de l'huile essentielle d'achillée issues de l'hydro distillation des parties aériennes sont présentées dans le tableau I-3 [24].

Tableau I- 3: Constituants majoritaires de l'huile essentielle d'*Achillée millefeuille L.*

Pics	IR ^a (TIC)	IR ^a (fid)	IRTF ^b	Identification ^c	% ^d	CV ^e	Structures chimique
1	970	974	975	Sabinène	6,72	10,46	
2	1447	1483	1485	Germacrène-D	11,73	13,09	
3	1155	1559	1563	(E)-nérolidol	7,23	15,84	
4	1146	1151	1146	Camphre	12,46	11,38	

^a indice de rétention calculé à partir des n-alcanes C₅-C₁₈.

^c identification réalisée à partir des indices de rétention théoriques (IRth) des bibliothèques Adams, NIST, Agilent France, Wiley, Hewlett Packard France et de la littérature

^d pourcentage moyen sur 6 réplicats

^e coefficient de variation (%)

I-10 Propriétés de l'huile essentielle de L'*Achillée millefeuille L.*

L'huile essentielle d'*Achillée Millefeuille* est utilisée par voie cutanée. Elle est fortement concentrée en chamazulène, sabinène, germacrène D, beta-caryophyllène et beta-pinène notamment. Ces différentes molécules lui confèrent les propriétés principales suivantes :

- **Anti-inflammatoire** : une des principales actions établie ; une action anti-inflammatoire très puissante. Cette dernière limite les rougeurs, les sensations de chaleur et les inflammations douloureuses de l'organisme.

Chapitre I: Matière végétale et plantes médicinales

- **Cicatrisantes, hémostatiques** : L'huile essentielle est reconnue pour être fortement hémostatique, stopper les saignements. À cela s'ajoute le rôle des lactones qui la composent dans la cicatrisation des tissus.
- **Apaisantes, réparatrices** : les vertus apaisantes et réparatrices de l'huile essentielle d'*Achillée Millefeuille* sont également mises en avant. Les peaux irritées ou réactives, agressées par un rasage sont particulièrement ciblées.
- **Emménagogue** : L'huile essentielle est reconnue pour agir en cas de règles peu abondantes ou douloureuses.
- **Équilibrant émotionnel** : la richesse en mono-terpènes de l'huile essentielle d'*Achillée Millefeuille* (sabinène, beta-pinène...), lui confère des propriétés toniques et stimulantes générales de l'organisme. C'est en agissant sur les corticosurrénales (hormones sécrétées par la glande surrénale) que cette huile essentielle est efficace en cas de déprime légère ou pour le gain de confiance en soi.
- **Antispasmodiques, cholagogues, cholérétiques** : Certaines études révèlent des actions de l'huile essentielle d'*Achillée Millefeuille* en cas d'inconforts digestifs et hépatiques [25].

I-11 Conclusion

Les plantes médicinales, reste une très grande découverte pour la médecine traditionnelle et moderne. L'homme a découvert les principes actifs et les effets thérapeutiques des plantes, il a pu les utiliser pour la préparation des médicaments. Mais Aujourd'hui, la phytothérapie est beaucoup plus utilisée dans la vie de tous les jours, car elle est plus douce est sans effets secondaires. Parmi, les plantes connues, on a choisi l'*Achillée millefeuille L.* pour ses diverses propriétés utilisées dans le domaine médicinal et sa richesse en principes actifs.

CHAPITRE II
HUILES ESSENTIELLES /
PROCÉDÉS
D'EXTRACTION

1) Huiles essentielles

II .1. Introduction

L'utilisation des huiles essentielles n'est pas récente. Bien au contraire, elles ont été employées de façon courante et systématique depuis longtemps.

Durant le dernier siècle elles ont perdu du terrain par les progrès incroyables de la chimie et notamment de la synthèse organique des molécules. Mais ces dernières années, les huiles essentielles réapparaissent de nouveau sur scène ; le marché mondial connaît une croissance rapide et significative, dû à leurs usages dans les différents secteurs.

II .2. Différentes définitions de l'huile essentielle

Plusieurs explications coexistent, le terme « huile essentielle » est notamment défini selon le type d'usages (pharmaceutiques, aromatiques, cosmétiques, etc.).

II .2.1. Selon l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM)

« Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est la plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » [26].

II .2.2. Selon l'Organisation internationale de normalisation (Norme ISO)

« Produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche » [26].

Selon la monographie de la Pharmacopée Européenne, qui en donne la définition très proche de celle de la norme ISO, la matière première végétale peut être fraîche, flétrie, sèche, entière, contusée ou pulvérisée, à l'exception des fruits du genre Citrus qui sont toujours traités à l'état frais [27].

II .3. Familles de plantes aromatiques productrices des huiles essentielles

Parmi les espèces végétales, selon les botanistes, 10 % seulement sont dites aromatiques. Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs [27], elles sont réparties et rassemblées dans un nombre limité de famille, parmi les plus productrices d'huiles essentielles, on distingue :

Les *Lamiacées* (thym, lavande, sauge, menthe, romarin, origan), les *Myrtacées* (eucalyptus, giroflier, melaleuca (tea tree)), les *Rutacées* (citron, orange, bergamote), les *Cupressacées* (cyprès, genévrier), les *Pinacées* (sapin, pin, cèdre...), les *Apiacées* (coriandre, fenouil, anis...) les *Astéracées* (camomille romaine), les *Lauracées* (laurier noble, cannelle de Ceylan, bois de rose camphrier), les *Géraniacées* (géranium bourbon et géranium rosat) et plus rarement, les *Poacées* (citronnelle de Java, palmarosa), les *Éricacées* (gaulthérie), les *Annonacées* (ylang-ylang), *Zingiberacées* (gingembre) [28].

II .4. Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent se trouver dans tous les organes producteurs de la plante, en particulier : les sommités fleuries, les fruits, les feuilles, les graines et les boutons floraux, le bois et les écorces, les organes souterrains comme les racines ou les rhizomes peuvent également fournir des huiles essentielles.

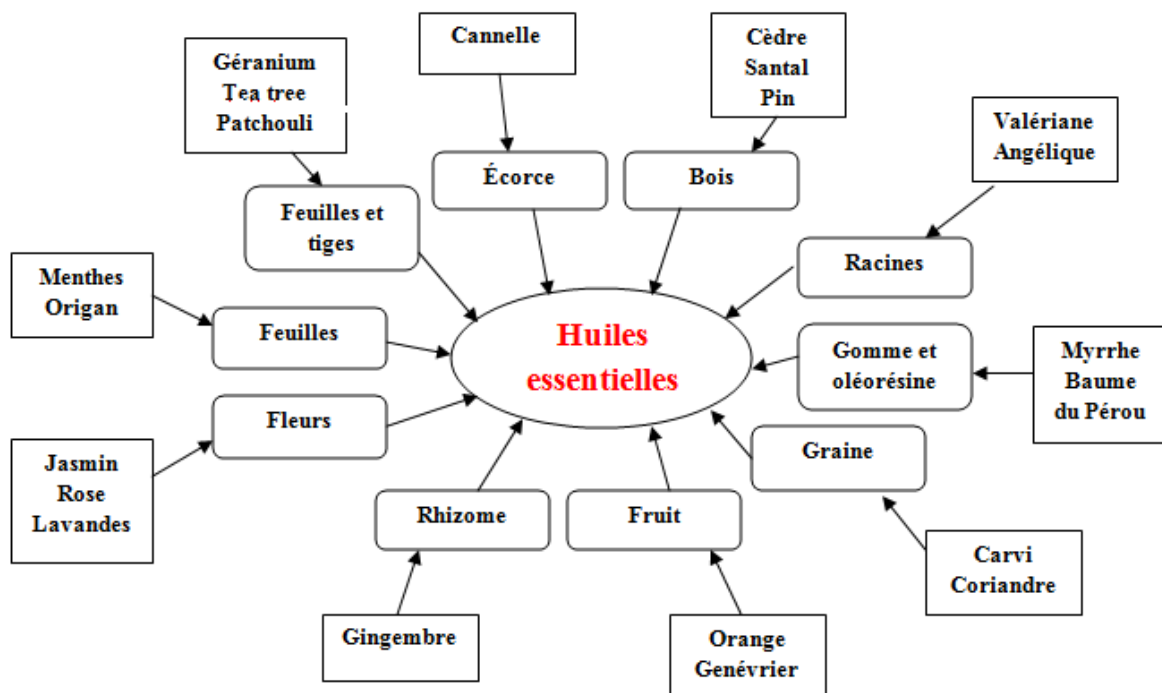


Figure II. 1: Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes [29].

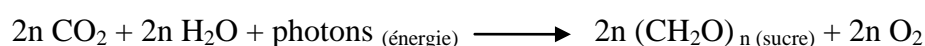
Chapitre II : Huiles essentielles et procédés d'extraction

Dans le cas où tous les organes d'une même espèce végétale peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de celle-ci (qualitative et quantitative) peut varier selon sa localisation dans la plante [30].

II .5. Biosynthèse des essences au sein de la plante

La production de l'essence donne à la plante l'avantage de s'adapter à son environnement, en lui offrant la possibilité : de se protéger du soleil et de la chaleur, de trouver son équilibre thermique, d'attirer les insectes pollinisateurs ou disséminateurs de grains afin de se reproduire, de se défendre en repoussant les insectes herbivores, de lutter contre les pathogènes : détruire les bactéries, les champignons, les virus, et bien d'autres fonctions.

Les molécules aromatiques contenues dans la cellule végétale ont pour origine de la photosynthèse, plus précisément, des sucres fabriqués lors ce processus, notamment le glucose, selon l'équation simplifiée :



En coordination aussi avec multiples réactions enzymatiques conduisant à la production d'huiles essentielles.

La biosynthèse des constituants des huiles essentielles passe par deux voies principales :

La voie des terpénoides , utilisant des intermédiaires comme l'acide mévalonique qui permet de fabriquer, à partir de l'isopenténylpyrophosphate IPP₃, des molécules terpéniques (monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes). Avec la présence des autres types de molécules aromatiques, créés par des réactions d'oxydo-réduction : phénols, aldéhydes, cétones, oxydes, acides, esters, etc.

La voie des phénylpropanoïdes, utilisant l'acide shikimique comme intermédiaire qui permet la synthèse des molécules aromatiques par oxydation, incluant des phénols, des coumarines ou des acides. Il peut apparaitre par la suite, d'autres molécules, comme des lactones ou des phénols méthyl-éthers [26].

La biosynthèse et l'accumulation des molécules aromatiques sont généralement associées à la présence de structure histologique spécialisées (cellules à essence, poches sécrétrices, canaux sécréteurs souvent localisées sur/ou à proximité de la surface de la plante [30].

Sur le site de stockage, des membranes spéciales entourent les gouttelettes d'huile essentielle, qui limitent fortement l'évaporation et l'oxydation de ces dernières [31].

Chapitre II : Huiles essentielles et procédés d'extraction

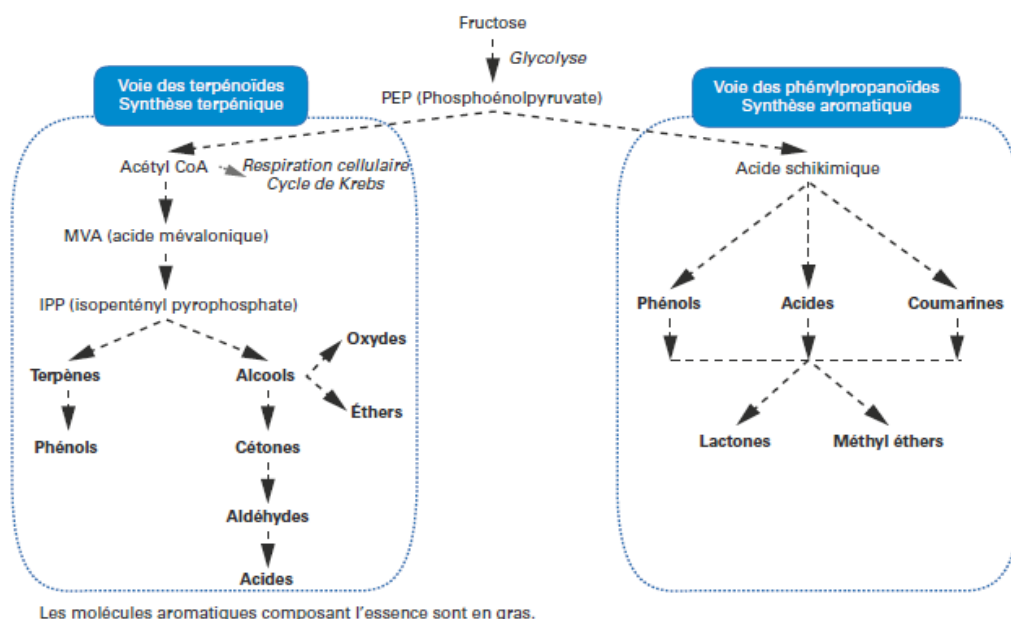


Figure II. 2: Biosynthèse simplifiée des essences dans les plantes aromatiques [26].

II .6. Composition chimique des huiles essentielles

En général, la distinction de la composition de l'huile essentielle semble très difficile. L'analyse de celle-ci montre qu'elle comporte un composant nettement majoritaire à côté d'une dizaine d'autres minoritaires. Il existe, par contre, d'autres constituants qui sont particulièrement complexes et fortement variables : elles peuvent contenir plus d'une centaine de composés [32].

En outre, l'huile essentielle est un mélange de constituants qui appartiennent à deux groupes majeurs : le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, elle peut renfermer un nombre non négligeable de composés volatils issus de la dégradation mettant en jeu des constituants non volatils [33].

II .6.1. Terpènes

Les terpènes sont des composés organiques largement répandus dans le règne végétal. Ils sont connus comme principes odorants, du fait qu'ils sont très volatils.

Les terpènes sont formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques, ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute (C_5H_8) [33].

Chapitre II : Huiles essentielles et procédés d'extraction

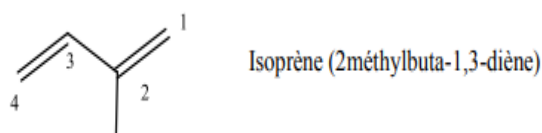


Figure II. 3: Structure chimique de l'isoprène [34].

Les terpènes sont divisés en plusieurs classes en fonction des unités pentacarbonées ramifiées (C_5). On distingue donc les monoterpènes (C_{10}), les sesquiterpènes (C_{20}), les diterpènes (C_{30}), les triterpènes (C_{40}), et les polyterpènes (comme le caoutchouc naturel). Ils peuvent être (acycliques, monocycliques, bicycliques,...).

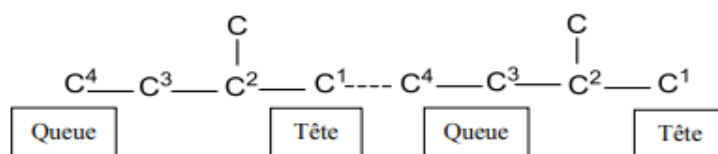


Figure II. 4: Assemblage tête à queue de deux unités d'isoprène [34].

II .6.1.1. Monoterpènes

Les monoterpènes considérés comme les plus simples constituants des terpènes dont la majorité (90%) est rencontrée dans les huiles essentielles [35].

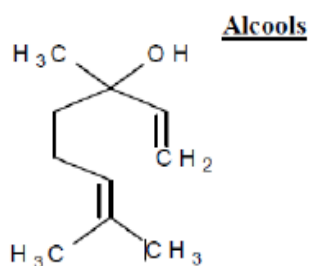
Ce sont des hydrocarbures aliphatiques, saturés ou insaturés, constitués par le couplage de deux unités isopréniques (C_5H_8). Il existe plusieurs groupements fonctionnalisés : carbures, alcools, aldéhydes, cétones, esters, peroxydes, phénols.

On trouve des monoterpènes acycliques comme le myrcène, ocymène..., ou cycliques comme le pinène, comphère..., et même aromatiques comme le p-cymène [36].

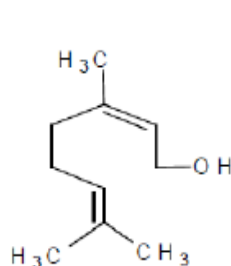
Ils sont légèrement antiseptiques atmosphériques, stimulants digestifs, expectorants, immunostimulants et décongestionnants respiratoire [26].

Chapitre II : Huiles essentielles et procédés d'extraction

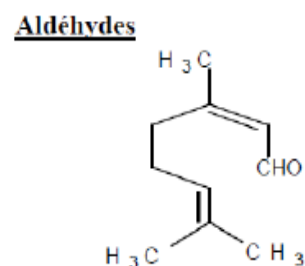
a- Acycliques



Linalol (lavande)

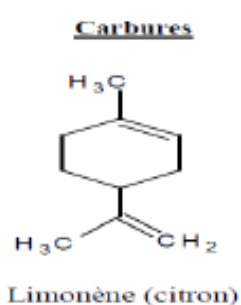


géraniol (Rose)

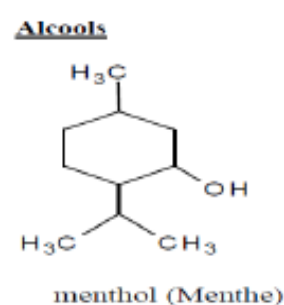


citral (citron), Mélisse, Verveine)

b- Monocycliques

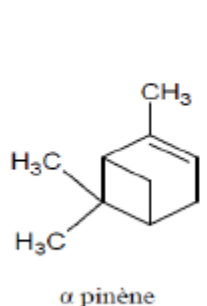


Limonène (citron)

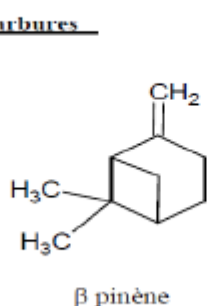


menthol (Menthe)

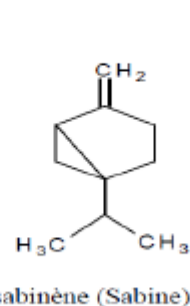
c- Bicycliques



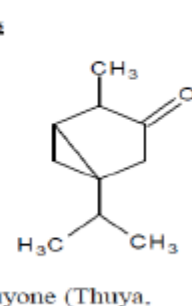
α pinène



β pinène



sabinène (Sabine)



thuyone (Thuya, Absinthe)

Figure II. 5: Exemples de structures de monoterpènes [37].

II.6.1.2. Sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Leurs variations structurales se divise en plusieurs catégories : acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature. Leurs fonctions restent similaires à celles des monoterpènes [35].

Chapitre II : Huiles essentielles et procédés d'extraction

Parmi les propriétés que possèdent les sesquiterpènes : d'être anti inflammatoires, décongestionnants veineux, antiallergiques, calmants et légèrement hypotenseurs [26].

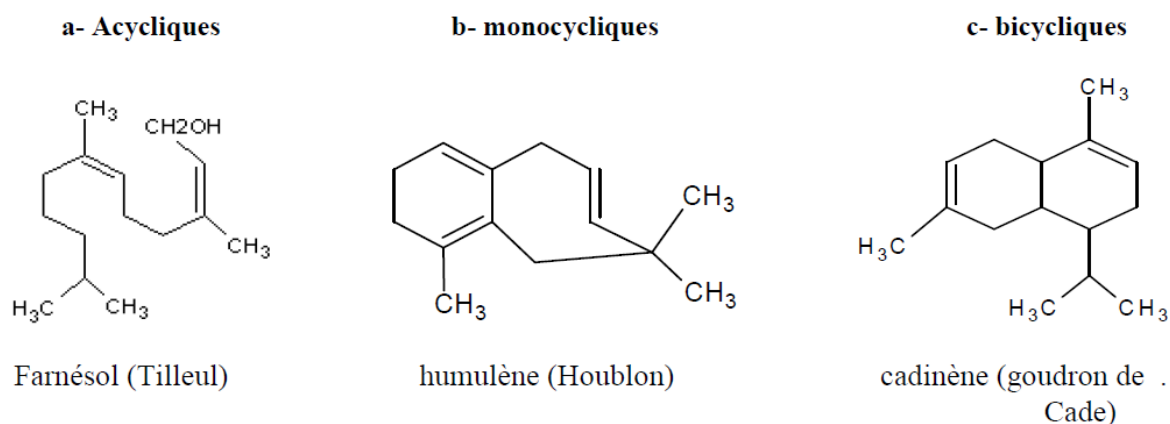


Figure II. 6: Exemples de structures de sesquiterpènes [36].

II .6.2. Composés aromatiques

Les composés aromatiques, non volatiles, dérivent du phénylpropane (C_6-C_3). Ils sont moins fréquents que les terpènes. Cette classe comporte des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, qui sont fréquemment rencontrés dans les huiles essentielles d'*Apiacées* (cumin, fenouil, persil, etc...) Ils comprennent : les aldéhydes, les alcools, les phénols, les dérivés méthoxy, les composés de méthylène dioxy [36].

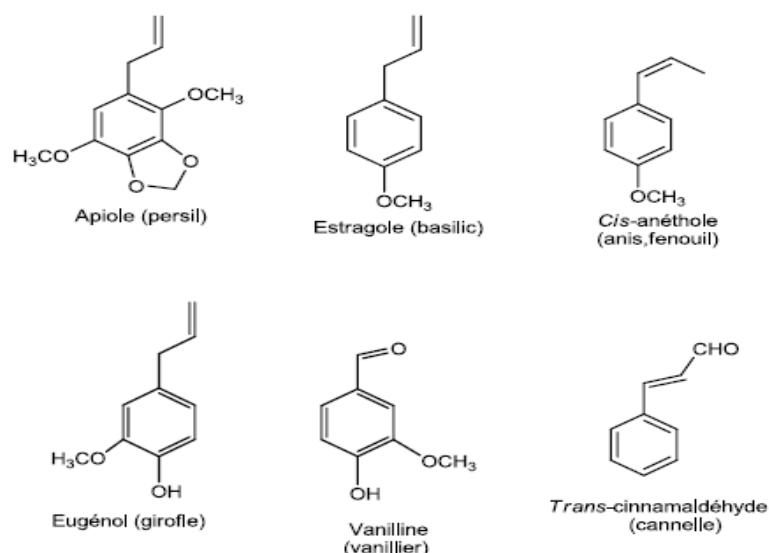


Figure II. 7: Exemples de structures de composés dérivées de phénylpropane [34].

II .6.3. Composés d'origine diverse

En général ces composés, de faible masse moléculaire, sont issus de la dégradation d'acides gras et de terpènes, entraînés lors de l'hydrodistillation.

En effet, ce sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions à savoir les carbures, les acides, les alcools, les aldéhydes et les esters [38].

Ils comprennent aussi les produits azotés et soufrés : sont rarement présents dans les huiles essentielles, les composés soufrés sont le plus souvent à l'état de traces.

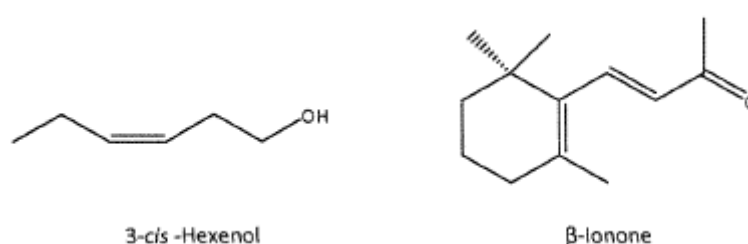


Figure II. 8: Exemples de structures de composés issus de la dégradation d'acides gras ou de terpènes [39].

II .7. Facteurs affectant la variabilité de la composition des huiles essentielles

De profondes modifications dans la composition chimique de l'huile essentielle interviennent lors de l'exploitation des végétaux : depuis leur collecte jusqu'à leur transformation industrielle. Il convient de souligner aussi que le rendement et les teneurs en huiles essentielles sont généralement très faibles : il faut une quantité très importante de plante pour tirer un volume modeste d'huile essentielle. La concentration en principe actif doit donc être maximale [35]. Cela est dû considérablement à de multiples facteurs, on cite [36,38] :

- **L'origine botanique :** la composition d'une huile essentielle varie en fonction de l'espèce productrice.
- **Mode d'obtention :** le mode de récolte et les conditions d'extraction.
- **Conservation des plantes :** durée et lieu de stockage.
- **L'organe producteur :** la composition et le rendement varient dans une même plante selon la partie à partir de laquelle l'huile essentielle est extraite (feuille, fleur, fruit, bois...).
- **Cycle végétatif :** la période de récolte.

Chapitre II : Huiles essentielles et procédés d'extraction

- **Existence de chimiotypes** : des plantes appartenant à la même espèce botanique présentant des compositions différentes en fonction des conditions écologiques, et la différence dans les voies de biosynthèse.
- **Origines géographique** : le pays, la fertilité et nature du sol, l'altitude.
- **Les conditions climatiques** : l'ensoleillement, humidité, les végétaux environnants (les parasites, les virus et les mauvaises herbes).
- **Facteurs génétiques** : les hybridations, les mutations.

II .8. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent en commun un certains nombres de propriétés physiques qui doivent répondre à des critères imposés par les normes :

- Elles sont des liquides à température ambiante, volatiles, de consistance huileuse mais non grasse et d'odeur aromatique très prononcée. Elles peuvent être incolores ou de couleur jaune pâle à l'exception de quelques huiles essentielles telles que l'huile de l'Achillée et l'huile de la Matricaire, qui se caractérisent par une coloration bleue à bleue verdâtre, due à la présence de l'azulène et du chamazulène.
- La densité le plus souvent inférieure à celle de l'eau. Seules les huiles essentielles de Sassafras, de Girofle et de Cannelle ont la densité supérieure à celle de l'eau.
- Un indice de réfraction souvent élevé. Elles sont douées de pouvoir rotatoire, cela est dû à leurs constitutions de molécules asymétriques.
- Liposolubles et solubles dans les alcools, et dans les solvants organiques, peu solubles dans l'eau. Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires, peu polaires, très altérables et sensibles à l'oxydation, ce qui entraîne des modifications en leurs odeurs, leurs points d'ébullition (augmentent) et leurs solubilités (diminuent) [28,40].

II .9. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne dépassent pas une année, sans subir d'importantes modifications physico-chimiques [32]. Étant des substances sensibles et très délicates, ainsi à cause de l'instabilité relative aux molécules constitutives de ces derniers, rend leur conservation difficile.

On distingue trois facteurs qui jouent un rôle dans l'altération des huiles essentielles : la lumière, la chaleur et l'oxygène. Dans le but de limiter les risques de leur dégradation, une

Chapitre II : Huiles essentielles et procédés d'extraction

meilleure préservation de leurs qualités est nécessaire en respectant certaines règles élémentaires de stockage [33]. Il est donc obligatoire de les enfermer d'une façon étanche dans des flacons en verres brun, en aluminium ou en acier inoxydable ; et de les stocker dans l'obscurité.

Il est possible de recourir à l'adjonction d'antioxydants pour protéger l'huile essentielle [41].

II .10. Utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles présentent un grand intérêt comme des matières premières possédant un champ d'application très vaste et, dans bien des cas, la même huile peut être recherchée pour des différentes applications selon les secteurs industriels.

➤ **Dans l'industrie de parfumerie et cosmétique**

Les huiles essentielles ont toujours été utilisées, en étant des produits de base, dans la fabrication de parfums vue leurs propriétés odoriférantes, comme les huiles essentielles de rose, de jasmin [34].

On les utilise également dans l'industrie cosmétique comme éléments parfumant et assurant une odeur agréable, elles sont aussi employées comme cicatrisants, anti-âge ou purifiants, et qui entrent dans la fabrication des savons, des shampoings, des crèmes ; des masques de beauté...

➤ **Dans l'industrie du nettoyage**

Les produits d'hygiène, détergents et lessives consomment eux aussi les huiles essentielles pour masquer les odeurs des produits purs [34].

➤ **Dans le secteur alimentaire**

Connues par leurs propriétés antiseptiques et aromatisants, les huiles essentielles sont employées comme exhausteur de goût, aussi, dans le but de parfumer et colorer les divers produits et aliments (cafés, thés, tabacs, vins, yaourts, plats cuisinés ...).

Leur activité antimicrobienne bien reconnue est également exploitée pour augmenter la durée de conservation des aliments, en évitant aussi les moisissures de ces derniers [29].

➤ **Dans le secteur médicinal**

Chaque huile essentielle possède des propriétés et vertus thérapeutiques particulières, ce qui permet d'élargir le champ de traitement médicinal.

Les huiles essentielles sont utilisées comme agents thérapeutiques mais aussi comme matières premières pour synthétiser des principes actifs.

Chapitre II : Huiles essentielles et procédés d'extraction

Connues par leurs effets anti-infectieux, antalgiques, anti-inflammatoires, sédatives, antimicrobiens, antispasmodiques et antioxydants [42].

Les huiles essentielles sont employées donc, pour traiter différents pathologies : comme inhalant pour soulager les difficultés respiratoires, comme bain de bouche pour rafraîchir ou soulager les maux de gorge [40], comme traitement de certains types de cancers, le stress oxydatif, la cataracte, les accidents vasculaires cérébraux, la polyarthrite, l'arthrose, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson [42].

➤ **Dans le secteur agricole**

Les pesticides naturels basés, notamment, sur les huiles essentielles qui sont connues par leur pouvoir insecticide, représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons [33].

➤ **Dans l'industrie chimique**

Les molécules isolées des huiles essentielles peuvent également être un support de réactions d'hémisynthèse. Ces matières premières (isolats), sont transformées en produits chimiques plus élaborés ou directement utilisables pour la synthèse de principes médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes etc. On prend l'exemple de l'essence de pin, riche en *α*-pinène, qui est utilisé comme un solvant et qui entre aussi dans la synthèse du camphre (agent plastifiant) [33].

2) Procédés d'extraction

II.11. Introduction

L'extraction des huiles essentielles est nécessairement une opération complexe et délicate. Elle a pour but, de capter et recueillir les produits les plus volatils, subtils et les plus fragiles qu'élabore le végétal, et cela sans en altérer leur qualité.

Les huiles essentielles subissent généralement des modifications de leur composition chimique lors du processus d'extraction [43], résultant de la perte ou la dégradation de quelques composés insaturés par effet thermique (chaleur) ou par hydrolyse (interactions avec l'eau), ainsi que la présence de résidus de solvants organiques.

Au cours de cette partie, nous allons aborder quelques procédés d'extraction et de distillation des huiles essentielles. Nous allons citer aussi les différents avantages et inconvénients de quelques techniques, afin de désigner la meilleure pour obtenir des constituants aromatiques plus proche possible de leur structure native et dans des concentrations maximales.

II.12. Procédés d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles, dont certaines ont été développées bien avant l'essor de la chimie moderne. À l'heure actuelle, trois procédés d'obtention des huiles essentielles à usage thérapeutique sont retenues par la pharmacopée européenne [44].

II.12.1 L'entraînement à la vapeur d'eau

C'est la méthode la plus utilisée. Dans ce système d'extraction le contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter est absent, alors les phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation qui peuvent altérer la qualité de l'huile essentielle sont évités.

Le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur qui a été fourni par une chaudière. Les cellules de l'espèce végétale, éclatent et libèrent des substances aromatiques qui sont par la suite vaporisées afin de former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite condensé, afin d'être décanté dans l'essencier et séparé en deux phases : aqueuse et organique [42].

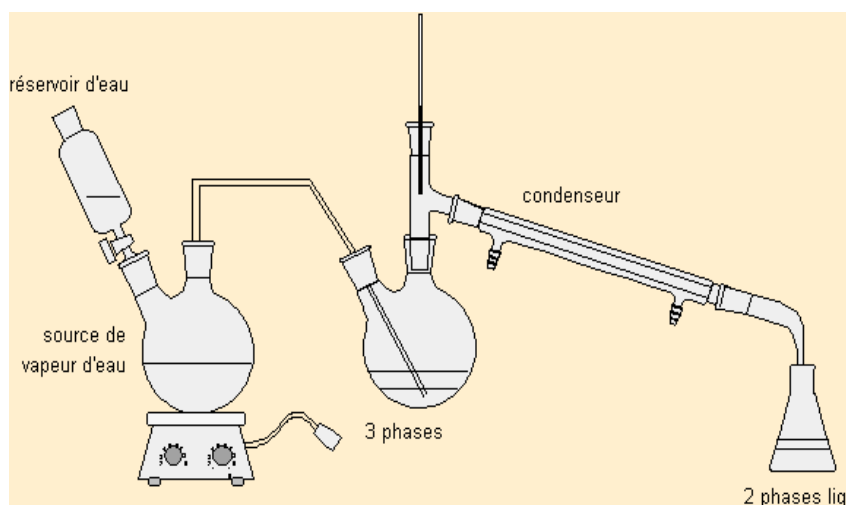


Figure II. 9: Méthode de l'entraînement à la vapeur d'eau [35].

II.12.2 La distillation sèche

Aussi appelée distillation destructive, est utilisée pour la séparation des produits chimiques liquides contenus dans des matériaux solides [45].

L'huile essentielle est donc obtenue par distillation des bois, écorces ou racines, sans addition d'eau ou de vapeur d'eau.

Chapitre II : Huiles essentielles et procédés d'extraction

La distillation sèche est très peu utilisée, elle donne un distillat ressemblant à un goudron. Ce dernier a une certaine cancérogénicité, qui fait appeler à la distillation fractionnée pour le raffinage de l'huile obtenue afin d'éliminer les produits toxiques [46].

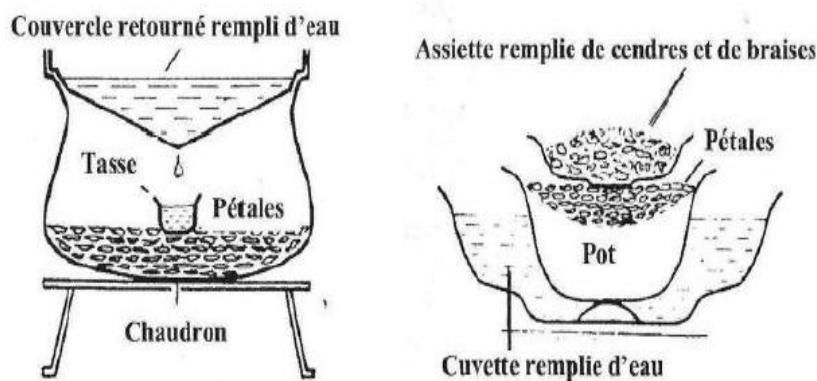


Figure II. 10: Schéma d'une installation de distillation sèche [29].

II.12.3 L'expression à froid

Décrite par la pharmacopée européenne comme un « procédé mécanique sans chauffage », l'extraction par expression à froid est principalement utilisée pour les fruits d'agrumes (citron, orange, mandarine,...) en étant des produits fragiles composés des terpènes et des aldéhydes. Les huiles essentielles de ces fruits sont contenues dans les petites glandes de leur écorce (zestes) [46].

Son principe consiste à briser mécaniquement les poches oléifères de zestes frais d'agrumes en exerçant un courant d'eau sur toute la surface du fruit pour libérer leur contenu aromatique [28]. Après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation.



Figure II. 11: Presse hydraulique et centrifugeuse séparatrice utilisées dans l'expression à froid [47].

II.13. Autres méthodes d'obtention des huiles essentielles

Il existe, de plus, des procédés plus rentables ou améliorant la qualité du produit fini, qui ont été testés, mais ils ne sont pas encore validés pour une utilisation thérapeutique, ce sont :

II.13.1 Percolation (ou hydrodiffusion)

Cette technique est particulière, le contact du matériel végétal et l'eau n'est pas présent, son principe est de faire injecter du haut vers le bas et à faible pression, un courant de vapeur d'eau qui traverse le végétal. Après refroidissement, le mélange subi une décantation afin d'isoler l'huile essentielle de l'eau.

Cependant, le produit obtenu est chargé des composés non volatils, donc il ne bénéficie pas de l'appellation d'huile essentielle, mais d'essence de percolation [48].

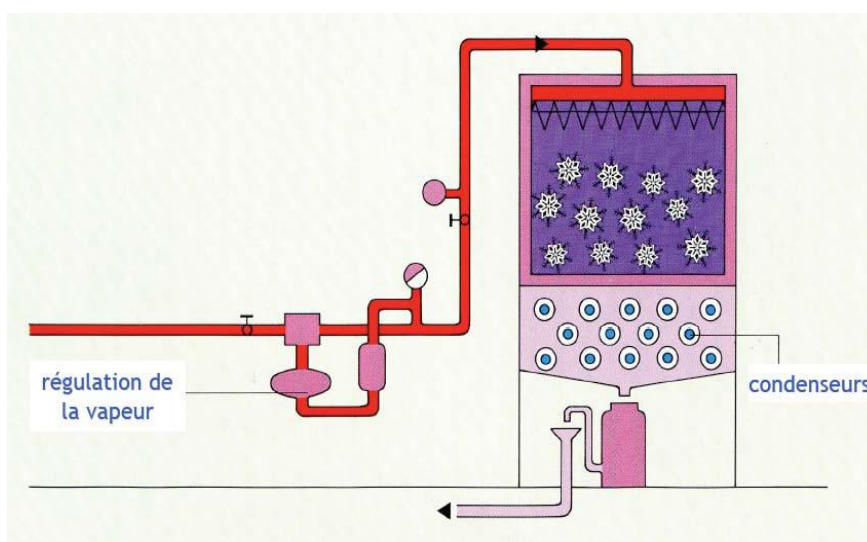


Figure II. 12: Montage de la percolation [47].

II.13.2 Extraction au CO₂ supercritique

A son état supercritique (plus de 74 bar et de 31°C), le CO₂ est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal à traiter. Lorsque le flux de CO₂ supercritique traverse l'extracteur, les « poches à essence » s'éclate et le fluide se charge en composés aromatiques, puis il se détend (le CO₂ retrouve son état gazeux), pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé du composé extrait (huile essentielle) [49].

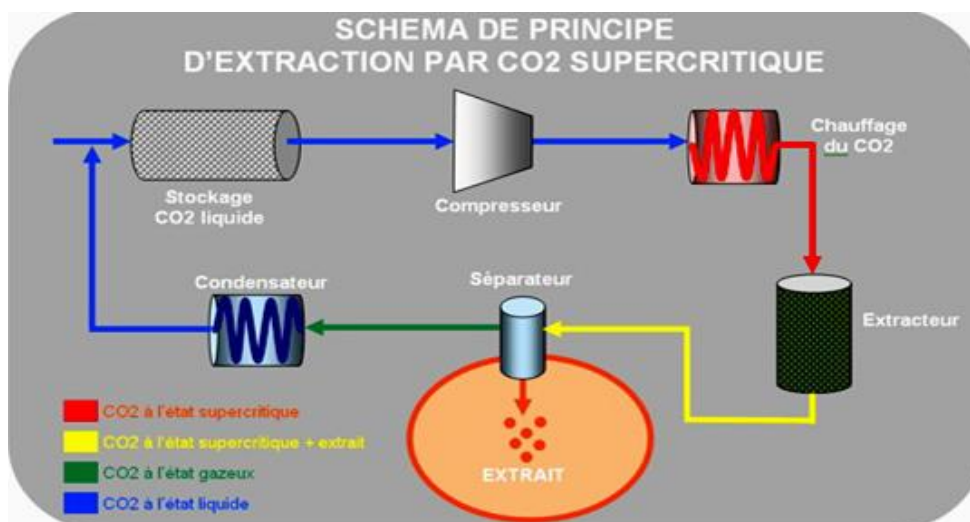


Figure II. 13: Schéma simplifié d'un extracteur au CO₂ supercritique [49].

II.13.3 Hydrodistillation

Le matériel végétal est en contact direct avec l'eau, l'ensemble est ensuite porté à ébullition. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Il y a formation d'un mélange azéotrope « eau + huile essentielle ».

Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. Il y a alors séparation en deux phases : l'une aqueuse et l'autre organique, cette dernière contenant l'huile essentielle qu'on cherche [35].

L'hydrodistillation peut s'effectuer sans ou avec retour d'eau dans le ballon. Ce recyclage est dit cohobage et le système conçu pour l'opération est appelé Clevenger [36].

Parfois un additif ionique est ajouté, il s'agit souvent de NaCl qui permet d'augmenter la force ionique de l'eau et donc d'obtenir un meilleur rendement en huile essentielle [50].

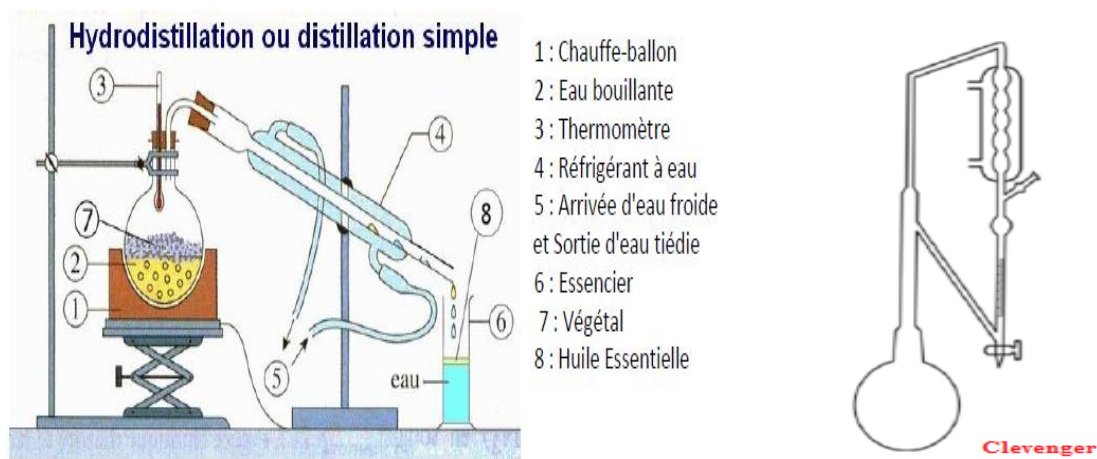


Figure II. 14: Montage d'extraction par Hydrodistillation [51] Montage Clevenger [36].

II.13.4 Extraction par solvant organique

L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet. Cette technique consiste à placer dans un extracteur, la matière végétale à traiter et un solvant volatil dans lequel l'huile essentielle se solubilise. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, et il sera par la suite éliminé par distillation afin d'isoler complètement l'huile essentielle désirée [52].

Le solvant choisi ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait : il est préférable d'utiliser un solvant qui a une certaine stabilité face à la lumière, la chaleur ou l'oxygène, et qui possède une faible température d'ébullition comme (hexane, propane ou dérivés chlorés) [43].

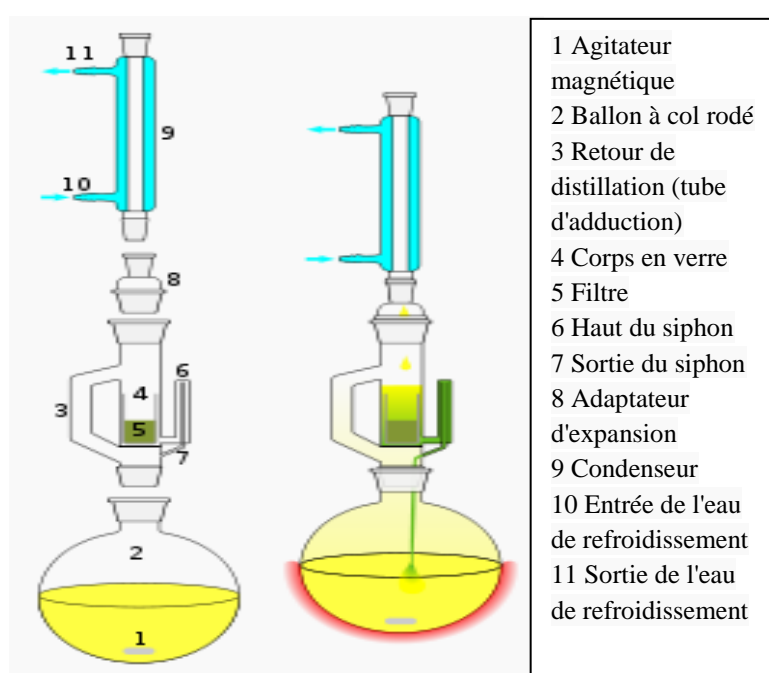


Figure II. 15: Extracteur de type Soxhlet [49].

Dans le tableau II.1, nous présentons les avantages et les quelques inconvénients des différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles.

Tableau II- 1: Avantages et inconvénients des différentes méthodes d'extraction [53].

Mode d'extraction	Inconvénients	Avantages
Entraînement à la vapeur d'eau		- Rendement acceptable - Pas des réactions d'hydrolyse
Expression à froid	- Durée de vie courte - Que pour la famille des agrumes	- Très bonne qualité /le produit obtenu, il n'aura subi aucune

Chapitre II : Huiles essentielles et procédés d'extraction

	- Main d'œuvre coûteuse	transformation chimique.
Solvant organique (Extraction au Soxhlet)	<ul style="list-style-type: none"> - Grand risque de pollution et d'inflammation/ quantité de solvant importante - Traces résiduelles de solvant possible donc altération de la qualité de l'huile essentielle, cependant elle est inutilisable en thérapeutique. - Plus chère que la distillation - Durée de l'opération très longue 	<ul style="list-style-type: none"> - Température très faible - Rendement plus important par rapport aux autres méthodes.
Hydrodistillation	<ul style="list-style-type: none"> - Dilemme qualité/ quantité (plus la durée d'extraction est longue plus la qualité olfactive est moindre) - Plus grande quantité d'eau - Réactions d'hydrolyse des esters, des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations / dénaturation - Pertes de quelques composés volatils 	<ul style="list-style-type: none"> - Rendement plus grand - Matériel de base suffisant - Coût faible
CO₂ supercritique	<ul style="list-style-type: none"> - Très coûteuse 	<ul style="list-style-type: none"> - Solvant (CO₂) naturel pas inflammable/non toxique/sélectif/ disponible/s'élimine facilement - Degré de pureté élevé - Odeur très proche de l'odeur naturelle [15] - Pas de CMR (substances cancérigène, mutagène et reprotoxique) - Basse température / pas

Chapitre II : Huiles essentielles et procédés d'extraction

		d'agressivité pour les constituants les plus fragiles - La qualité, le gain de temps
Hydrodiffusion	Les huiles essentielles chargées en substances non volatiles [44]	- Amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée /moins susceptible de transformer la qualité des composés volatils - L'économie du temps, de vapeur et d'énergie.

II.14 Conclusion

Aujourd'hui, avec l'essor des huiles essentielles, on assiste à une large tendance de l'exploitation de ces extraits naturels dans des différents domaines : thérapeutique, cosmétique et parfumerie, l'alimentation...

Les huiles essentielles contiennent des substances à l'efficacité prouvée mais aussi potentiellement toxiques. En effet, il faut distinguer l'activité de l'huile essentielle et celle de la plante infusée avant son utilisation. Ainsi que les caractéristiques physico-chimiques qu'elle possède : odeur, couleur, saveur, densité spécifique, points d'ébullition, solubilité, etc.

L'extraction des huiles essentielles de la matière végétale peut se faire par plusieurs procédés, basés sur des techniques anciennes ou récentes. Le choix de ces dernières est délicat à cause de la diversité et la complexité des huiles essentielles.

Les processus d'obtention, ont fait d'immenses progrès en présentant de nombreux avantages, ce qui leur permettra de rester une étape préliminaire, primordiale, et souvent clé dans la recherche de nouvelles molécules.

De plus, les méthodes de production tout comme l'origine géographique, le climat, le sol, la période de récolte ou bien encore les pratiques agricoles, peuvent avoir une influence directe sur la composition chimique de l'huile essentielle distillée.

Cependant, il n'existe pas de procédé meilleur que d'autres. Chaque méthode possède sa propre indication selon le végétal ou la partie du végétal traité, l'utilisation du produit obtenu commande ainsi que l'aspect économique qui est tout aussi important.

CHAPITRE III
TECHNIQUES
D'ANALYSES :
CHROMATOGRAPHIE
EN PHASE GAZEUSE
COUPLÉE À LA
SPECTROMÉTRIE DE
MASSE

Chapitre III : Techniques d'analyses : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

III.1. Introduction

Quelle que soit l'application des huiles essentielles, avant leur commercialisation et consommation, elles doivent toujours précédées d'une étape de caractérisation.

En effet, l'analyse des huiles essentielles, l'identification de ses constituants, aussi le contrôle de leur qualité reste des étapes importantes nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques analytiques [35].

Dans le but de caractériser les principaux constituants de l'huile essentielle de l'*Achillée millefeuille L*, nous ferons appel aux méthodes chromatographiques et spectroscopiques.

III. 2. Caractérisation des huiles essentielles

À l'heure actuelle, il existe une variété de techniques analytiques spectroscopiques (UV, IR, SM) et/ou chromatographiques (CCM, CLHP, CPG) pouvant être mises en œuvre pour déterminer la composition chimique des huiles essentielles et qui nécessitent souvent l'utilisation de plusieurs techniques complémentaires.

En outre, cette caractérisation peut être réalisée selon différentes voies :

La première voie est adaptée dans le cas où les constituants des huiles essentielles ont déjà été décrits dans la littérature. Elle fait intervenir le couplage « en ligne » d'une technique chromatographique : soit la chromatographie en phase gazeuse (CPG), ou la chromatographie liquide de haute performance (CLHP), avec une technique spectroscopique (pour l'identification spectrale), généralement la spectrométrie de masse (SM), ou IRTF (Infrarouge à transformée de Fourier). Ils permettent simultanément l'individualisation, et l'obtention des temps de rétention des constituants ; par la suite, on compare les données spectrales (spectre de masse ou infrarouge) des constituants individualisés avec celles de produits connus (produits de référence) contenus dans des bibliothèques de spectres. Elle est la plus couramment utilisée, tout au moins pour les analyses de routine [54].

La deuxième voie en deux étapes, s'impose lorsqu'un ou plusieurs constituants de l'huile essentielle sont inconnus dans les bibliothèques de comparaison et présentent des difficultés d'identification (structures complexes et/ou très proches). On doit alors les purifier/isoler par distillation fractionnée ou par des techniques chromatographiques préparatoires telles que la Chromatographie sur Couche Mince (CCM), la Chromatographie Liquide sur Colonne ouverte (CC), la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) ou encore la Chromatographie en Phase Gazeuse Préparative (CPGP). Par la suite, une identification structurale sera réalisée en s'appuyant sur les techniques spectroscopiques

Chapitre III : Techniques d'analyses : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

usuelles : Résonance Magnétique Nucléaire du Proton (RMN-¹H) et du carbone-13 (RMN-¹³C), SM, IRTF, UV. Donc à partir de la combinaison de ces techniques complémentaires, la structure de la molécule inconnue sera facilement établie.

Enfin, l'analyse selon **la troisième voie**, plus récente, qui met en œuvre la Résonance Magnétique Nucléaire du ¹³C (RMN-¹³C) pour l'identification des composés dans un mélange complexe sans individualisation et sans séparation préalable, ou précédée d'une étape de fractionnement réduite au minimum si l'huile essentielle est jugée trop complexe, ou si les abondances des constituants sont trop faibles. On peut également employer cette technique pour la quantification des constituants lorsque celle-ci ne peut être réalisée par les méthodes usuelles [55, 56].

III.3. Les techniques d'analyse chromatographiques et spectroscopiques/

Application aux huiles essentielles

III.3.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Il s'agit de la première des techniques indiquée en test de routine pour une détermination rapide des familles chimiques présentes dans une huile essentielle. Elle permet à la fois la séparation des espèces chimiques contenues dans une substance, et leur identification par comparaison avec une référence.

La plaque de CCM s'agit d'un support en verre, en aluminium ou en plastique sur lequel une couche uniforme de la phase stationnaire est étalée.

Le mélange est fixé sur un support appelé phase stationnaire puis entraîné par un solvant approprié (phase mobile ou éluant) qui migre par capillarité sur la plaque. Dans la tache de soluté, sont présents plusieurs composés qui peuvent être polaires (P) ou apolaires (A). Si l'éluant choisi est polaire, la migration du composé (P) est plus facile.

Après migration, la détection des tâches peut se faire soit par : pulvérisation d'un réactif caractéristique ou par observation à la lumière UV si la plaque de silice comporte un indicateur de fluorescence. A chaque tâche correspond une espèce chimique [57].

III.3.2. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

L'échantillon à analyser est poussé par une phase mobile dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie. Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé, il y aura donc une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue

Chapitre III : Techniques d'analyses : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire. La fine granulométrie de la phase stationnaire permet une meilleure séparation des composants.

L'utilisation de cette technique est limitée par la faible résolution qu'elle autorise en faveur de la CPG, cependant l'analyse par CLHP sera utile lors de la recherche de composés difficiles à analyser par CPG.

Le pouvoir séparateur de l'CLHP n'est remarquable que pour les sesquiterpènes et les diterpènes, la CPG sera mieux adaptée pour les monoterpènes. Il est à noter quand même que des chercheurs ont réussi à séparer les énantiomères de sesquiterpènes d'une huile essentielle par CLHP, en utilisant une phase stationnaire chirale [58].

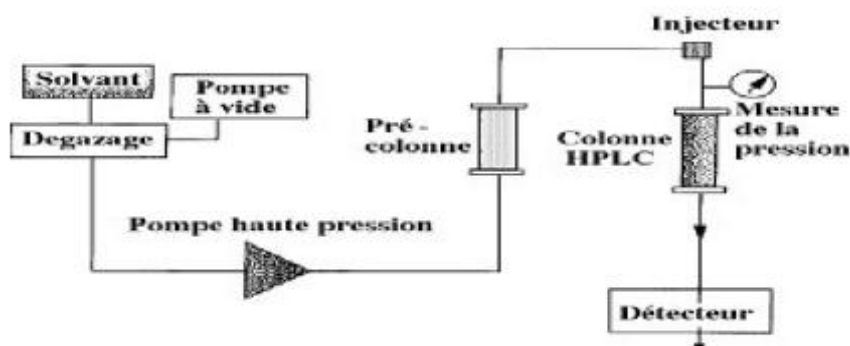


Figure III. 1: Montage de la technique CLHP [58].

III.3.3. Spectroscopie UV

Est une technique de spectroscopie mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine de l'ultraviolet (200 nm – 400 nm), du visible, et jusqu'au proche infrarouge (750 nm -1400 nm). Soumises à un rayonnement, les molécules subissent une transition électronique.

L'analyse des huiles essentielles par cette technique est assez restreinte dans la mesure où il est impossible d'obtenir d'information sur un composé chimique individuellement. Elle est recommandée par la Pharmacopée Européenne pour l'analyse de l'huile essentielle de citron vert [58].

III.3.4. Spectroscopie infrarouge

En 1971 deux cents huiles essentielles ont été analysées pour la publication de « Infrared analysis of essential oils » qui est la référence du genre dans ce domaine. Seule, la spectroscopie infrarouge classique ne permet pas de mesures quantitatives. Les nouvelles

Chapitre III : Techniques d'analyses : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

techniques telles que la spectroscopie infrarouge à réflexion atténuée ou la NIR-FT raman spectroscopy, ouvrent une nouvelle voie d'analyse des huiles essentielles puisque l'on peut identifier les composants des huiles essentielles en utilisant des références spectrographiques de composés chimiques purs. L'avantage certain de ces techniques réside dans la facilité de contrôle de qualité des huiles essentielles avec la possibilité de quantifier et analyser les composants du matériel végétal vivant (sans isolation préalable) [58].

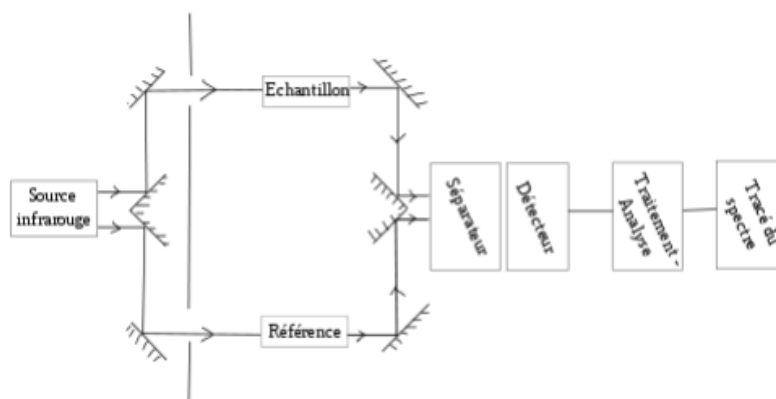


Figure III. 2: Principe d'un appareil à spectroscopie IR [58].

III.3.5. Spectrométrie de masse (SM)

Est une méthode physico-chimique qui apporte les informations structurales des composés organiques, et les identifier par mesure de leur masse moléculaire [53]. Son principe : L'échantillon à analyser est injecté dans le spectromètre de masse puis ionisée ; l'ionisation peut être par impact chimique ou par impact électronique [59].

Une série de fragments est produite et enregistrée. L'analyse de ces fragments informe sur la structure de la molécule. Chacun des ions formés est caractérisé par son rapport masse/charge (m/z), ces ions sont donc séparés (par un champ magnétique ou électrique) et détectés/caractérisés (qualitativement et quantitativement) [60].

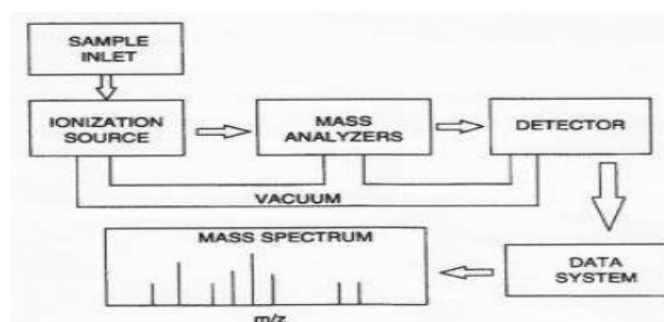


Figure III. 3: Principe de la spectrométrie de masse [59].

Chapitre III : Techniques d'analyses : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

III.3.6. La RMN ^{13}C

En tant qu'outil d'analyse des mélanges, dans le domaine des huiles essentielles, la plupart des études continuent à utiliser la RMN comme méthode de confirmation plutôt que méthode d'identification. Son principe est d'observer dans le spectre du mélange, les raies de résonance appartenant à un composé donné afin de l'identifier [49].

La RMN du ^{13}C peut être utilisée pour identifier et quantifier des composés volatils ou non volatils, des molécules thermosensibles, et de distinguer les isomères dans des huiles essentielles sans séparation préalable [55].

III.3.7. Technique d'analyse la plus utilisée

III.3.7.1. Chromatographie en phase gazeuse CPG

Largement adaptée, la chromatographie est la technique la plus fiable pour l'analyse des huiles essentielles, elle occupe une position dominante.

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode analytique (qualitative/quantitative) qui s'adapte particulièrement aux composés aromatiques susceptibles d'être vaporisés sans décomposition. Son rôle est de séparer les constituants à partir d'échantillon de l'ordre de milligramme voire du microgramme [56].

Selon (Pharmacopée, ISO, AFNOR), la CPG est la méthode de choix qui permet de réaliser le profil chromatographique de l'huile essentielle [27]. Elle permet donc de faire une analyse complète et d'obtenir la composition précise de plus d'une centaine de molécules chimiques que contient l'huile essentielle.

Elle possède plusieurs avantages qui augmentent plus son intérêt, on cite : facilité de mise en œuvre, rapidité de mise au point des analyses et fiabilité des résultats [36].

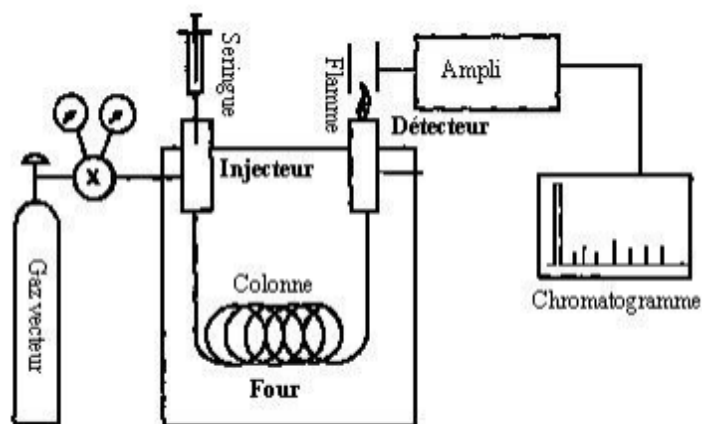


Figure III. 4: Appareillage de CPG [58].

Chapitre III : Techniques d'analyses : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

III.3.7.2.Principe

Le produit à analyser est vaporisé et introduit dans l'injecteur. Il est entraîné par un gaz vecteur qui représente la phase mobile (N_2 , H_2 , He ou un mélange de H_2/N_2). Le mélange traverse la phase stationnaire où les différents constituants vont se séparer en fonction de leur polarité (si la phase stationnaire est polaire, de leur volatilité si cette dernière est apolaire), et sortir de la colonne analytique (colonne capillaire semble plus adaptée ; elle est en métal, en verre ou plus souvent en silice fondue les unes après les autres). Par la suite, les constituants sont captés par un détecteur et vont être affichés sur le chromatogramme ; enregistrés sous forme des pics dont chacun de ces derniers est caractérisé par le temps de rétention et la surface, permettent de déterminer l'identité et le pourcentage de chaque constituant. Les temps de rétention donnent une information sur la nature des molécules et les aires des pics fournissent une quantification relative [34].

En effet, les temps de rétention de chacun des composés ont tendance à varier d'une analyse à l'autre puisqu'ils dépendent des conditions expérimentales (nature et épaisseur de la phase stationnaire, programmation de la température, état de la colonne, etc).

L'utilisation des indices de rétention, mesurés sur les colonnes apolaire et polaire est plus fiables. Ils peuvent donner une meilleure information, par rapport aux temps de rétention [49].

Ces indices sont calculés à partir d'une gamme étalon d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires. Le calcul peut se faire pour une expérimentation à température constante (indice de Kovats) ou en programmation de température (indice de rétention). Ensuite, ils sont comparés avec ceux de produits de référence (mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature) [59].

Bien que la CPG occupe une position importante, ces données ne peuvent suffire à une bonne identification, sans l'apport du couplage de la CPG avec une technique d'identification spectroscopique.

III.3.8.Couplage de la CPG avec d'autres techniques

La chromatographie en phase gazeuse autorise le couplage de différents détecteurs qui permettent d'avoir une approche beaucoup plus précise de l'identification. Parmi ces détecteurs on cite : le détecteur à ionisation de flamme (FID) et le détecteur infrarouge à transformée de Fourier (IRTF), mais le détecteur de masse (SM) tend à supplanter tous les

Chapitre III : Techniques d'analyses : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

autres car il est le seul à fournir des informations structurales sur les composés séparés par chromatographie [61].

III.3.8.1. Le couplage CG/SM

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une technique qui combine les performances de ces deux méthodes analytiques, basée simultanément sur la séparation par CPG et l'identification par la SM de différents constituants d'un mélange complexe, présents en très petites quantités, voir à l'état de traces. Il existe deux modes d'ionisation : l'ionisation par impact électronique (IE) et l'ionisation chimique (IC). Dans ce dernier cas, on distingue l'ionisation chimique positive (ICP) et l'ionisation chimique négative (ICN).

En effet, le couplage CPG-SM en mode impact électronique (IE), dit CPG-SM(IE), est la technique utilisée en routine pour l'analyse dans le domaine des huiles essentielles. Il permet de connaître la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation [62]. Le spectre de masse obtenu est comparé avec celui d'une bibliothèque informatisée.

Les spectres de masse peuvent présenter de nombreuses similitudes, notamment dans le cas d'isomères où les différenciations se basent sur des variations d'intensité de pic (Figure III.6).

Donc, il devrait avoir une bonne bibliothèque qui contient les spectres de molécules enregistrés pour diverses conditions d'ionisation. En effet, l'identification d'un spectre inconnu s'avère particulièrement complexe et requiert une connaissance approfondie des méthodes de fragmentation [63].



Figure III. 5: Chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse [27].

Chapitre III : Techniques d'analyses : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

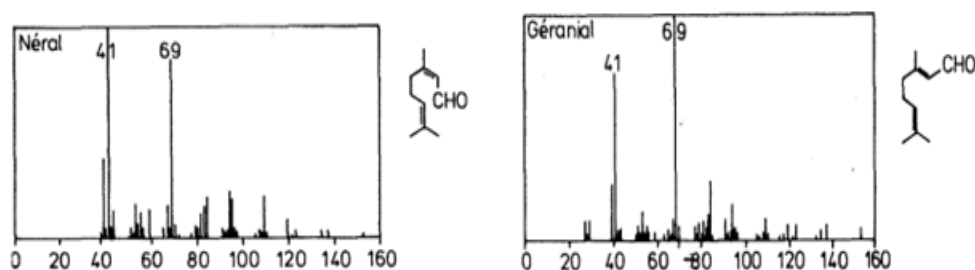


Figure III. 6: Spectres de masse du géranial et du néral [63].

III.3.8.2. Les couplages CPG-IRTF et CPG-IRTF-SM

Le couplage de la CPG avec l'IRTF peut s'appliquer à l'analyse de diverses familles de composés contenant des substances volatiles, et de distinguer les isomères des composés élués par CPG non observables avec la spectrométrie de masse, il s'agit donc d'une méthode complémentaire de SM et des IK, plutôt qu'être utilisée seule.

En effet, l'IRTF renseigne sur les fonctions chimiques présentes dans les molécules, différencie les stéréoisomères géométriques éventuels et permet l'identification de certaines molécules par l'examen du domaine des « empreintes digitales ». Herres (1987) a étudié l'huile essentielle de menthe pouliot pour distinguer les 4 isomères du pulegol et du dihydrocarveol [58, 62].

La spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) autorisant une grande vitesse d'acquisition a permis de réaliser le couplage CPG-IRTF. Le spectre obtenu peut être comparé à ceux contenus dans une bibliothèque informatisée de spectres Infrarouges. L'appareil de chromatographie peut être couplé en parallèle à la fois au détecteur IR et au spectromètre de masse [49].

De plus, une meilleure séparation et détection peuvent être obtenues par l'utilisation de la CPG multidimensionnelle (CPGMD) à trois colonnes, une pré-colonne de polarité intermédiaire et deux colonnes analytiques polaire et apolaire, combinées avec deux détecteurs spectroscopiques (CPGMD/IRTF/SM) [62].

Chapitre III : Techniques d'analyses : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

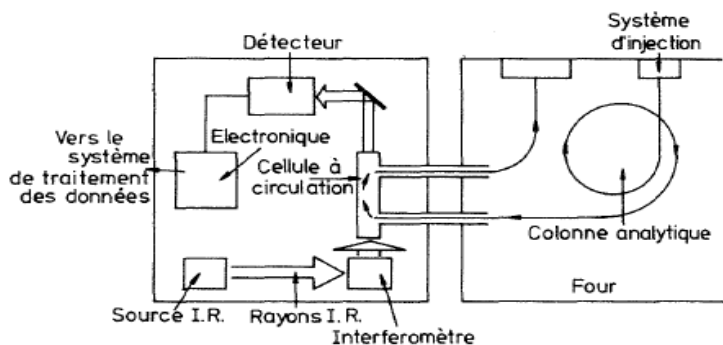


Figure III. 7: Schéma du couplage CPG-IRTF [63].

III.3.8.3. LA CPG bidimensionnelle et le couplage CLHP-CPG-SM

Dans le domaine de l'analyse des huiles essentielles, l'objectif individualisation /identification/ quantification reste difficile à atteindre à cause des problèmes qui se posent à chaque étape. Alors, d'autres couplages sont apparus avec l'objectif d'améliorer soit l'étape d'individualisation en associant deux techniques chromatographiques, soit l'étape d'identification en couplant deux techniques spectroscopiques.

Le dispositif permet de recueillir une fraction non résolue à la sortie de la première colonne pour la réinjecter ensuite dans la seconde colonne. L'installation comporte deux détecteurs et une vanne d'introduction entre les deux colonnes.

Dans le couplage CLHP/CPG/SM, la CLHP réalise une séparation préalable des constituants du mélange en fonction de la famille à laquelle ils appartiennent. Ce dispositif permet une fiabilité plus grande dans l'identification de constituants présents à l'état de traces dans des huiles essentielles en limitant le nombre de Co-élutions voir les supprimer [49].

III.4. Conclusion

Actuellement, la méthode d'identification la plus couramment utilisée pour les huiles essentielles, est la chromatographie en phase gazeuse. Cette technique est aujourd'hui l'outil indispensable pour une évaluation quantitative et qualitative de la composition chimique des huiles essentielles, elle permet de séparer de faibles quantités de différents composants de l'huile essentielle et résout la plupart des problèmes posés par la séparation des composés volatils des huiles.

Après séparation chromatographique, on combine souvent la CPG avec des techniques spectroscopiques (SM, IRTF) dans le but d'y ajouter une deuxième dimension analytique. La spectrométrie de masse étant une méthode complémentaire permet d'établir, avec une certitude suffisante, la structure de la molécule du constituant inconnu.

CHAPITRE IV :
ÉTUDE COMPARATIVE
DE LA COMPOSITION
DES HUILES
ESSENTIELLES DE
L'ACHILLÉE DE
DIFFERENTS PAYS

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'*Achillée* de différents pays

IV.1. Introduction

L'*Achillée millefeuille* L est un remède bien connu depuis l'antiquité, comme déjà mentionner dans le 1^{er} chapitre, cette plante a été utilisée en raison de ses propriétés anti-inflammatoires, spasmolytiques, hémostatiques, antirhumatismales, antiseptiques, astringentes, carminatives, diaphorétiques, digestives, expectorantes, toniques, stomachiques.

Une grande biodiversité au sein des espèces d'*Achillée millefeuille* L détermine une large gamme de variabilité chimique des métabolites secondaires. Les huiles essentielles (HE) de cette plante ont fait l'objet de nombreuses études au fil des ans. Les enquêtes ont montré un niveau élevé de polymorphisme chimique des huiles volatiles de cette plante.

Dans ce dernier chapitre, nous allons procéder à une étude comparative des résultats collectés, relatifs à l'extraction des HE, du rendement ainsi que de la caractérisation chimique des divers échantillons d'HE, prenant comme bases de données, les travaux déjà effectués sur l'*Achillée millefeuille* L de différents pays, afin d'expliquer les causes qui mènent à la variété chimique.

En effet, les HE d'*Achillée millefeuille* L indiquées ci-dessous sont obtenues par méthode d'hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger et, afin de les caractériser, elles ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) ou par CG/FID, qui permettra d'identifier les composés chimiques avec des résultats tout à fait fiables. On note que, les plantes ou les différentes parties des plantes utilisées dans ces études ont été séchées et conservées à l'ombre et les échantillons ont été stockés dans des conditions adéquates jusqu'au jour de l'analyse.

IV.2. Étude comparative de la composition chimique des HE

IV.2.1. Variation selon l'origine géographique

L'*Achillée millefeuille* L, est une espèce officinale riche en composés, inscrite dans de nombreuses pharmacopées et monographies. Notre recherche a été basée sur différents articles décrivant le rendement et la composition chimique de son HE de différentes régions dans le monde. Dans cette partie, on montre la diversité de la composition de cette huile essentielle dans différents pays cités ci-dessous :

- **Brésil (2020)** : la teneur en HE de l'*Achillée millefeuille* L trouvée dans cette étude était de 0,4%. 20 composés chimiques ont été détectés. La classe d'hydrocarbures

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

sesquiterpéniques a été majoritaire avec 74,29%. Le composé chimique le plus abondant était le α -fernésène (31,66%), suivi du chamazulène (17,17%) du β -caryophyllène (10,27%) et du sabinène (8,77%) (Tableau IV.1 en annexe) [64].

Selon la Pharmacopée Européenne, la composition de l'HE de l'*Achillée millefeuille L* est riche en chamazulène, β -pinène, sabinène, 1,8-cinéole et β -caryophyllène. Cela corrobore avec l'étude citée ci-dessus, dans laquelle les composés trouvés, figurent parmi les quatre principaux composés. En outre, une étude de De Sant'Anna et al (2009) a identifié le chamazulène dans l'HE avec une concentration de 42,15%, suivie du sabinène (19,72%) et du β -caryophyllène (4,44%) [64].

- **Turquie (2020)** : dans cette étude, les principaux composants de l'HE sont le pipéritone (10,01%), le 7-épi-amiteol (3,63%) et le trans-para-menth-2-èn-1-ol (3,55%). Au total, 89 composés ont été identifiés qui représentent 76,44% de l'HE [65].

D'autre part, dans une étude faite en 2015 dans le même pays, un total de 57 composés a été identifié, qui représente 84,8 % de l'huile totale. Cette huile se caractérise par une forte teneur en α -bisabolol (11,7 %), en oxyde de caryophyllène (7,7 %) et en muurolo-4,10(14)-diène-1-ol (6,8 %). Cette HE est constitué majoritairement par des sesquiterpènes oxygénés [66].

- **Darrehshar, Iran (2014)** : dans cette étude, environ 41 composés de l'HE ont été reconnus, soit 97,66% de l'huile totale. Le rendement obtenu est de 0,56%. Les principaux composés de l'HE d'*Achillée millefeuille* sont : dihydrocarvéol (34,97%), ombelulone (16,65%), 1,8-cinéole, acétate de bornyl (6,08%), acétate de chrysanthényle cis (5,24%), camphène (4,21%), para-cymène (3,29%) et α -pinène (3,24%) [67].

En effet, certains de ces composés n'ont pas été indiqués auparavant en quantité dominante parmi les principaux composés de l'HE. L'étude montre que parmi différents groupes de terpènes, les monoterpènes oxygénés ont la concentration la plus élevée. Certains dérivés de ce composé principal (tels que: α -terpinéol, β -pinène, γ -terpinène, terpinéolène et trans (E) -nérolidol) ont été trouvés avec un pourcentage plus faible d'HE [67].

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

IV.2.2. Principaux composants signalés en d'autres pays

Selon les rapports de Azizi et al (2010), l'huile essentielle de l'A.millefeuille L d'Iran est dominée par le 1,8-cinéol sans chamazulène. Plus tard, Abdossi et Kazemi (2016) ont rapporté que le bornéol était un composant majeur de l'A.millefolium en Iran [68, 69].

L'HE du Brésil contient du sabinène comme principal constituant (Alvarenga et al, 2015). Le germacrène D, le sabinène et le bornéol sont les principaux constituants des huiles essentielles indiennes d'A.millefeuille L (Verma et al, 2017). Selon Paduch et al. (2008), les principaux composants de l'huile volatile d'A.millefeuille L de Pologne sont α -pinène et 1,8-cinéole, tandis que les HE de Serbie contiennent des quantités élevées de 1,8-cinéole et de camphre (Smelcerovic et al, 2010) [60, 71, 72, 73].

D'après tous ces résultats, la quantité et la qualité des HE varient d'un pays à un autre. Ces polymorphismes peuvent être liés à des différences dans les facteurs génétiques, environnementaux et le moment de la récolte des plantes ainsi qu'à l'existence de plusieurs chémotypes de cette espèce.

IV.2.3. Variation selon les morphotypes

Dans cette étude faite en Lituanie (2015), les données relatives à la composition chimique principale des huiles essentielles d'inflorescence (F, nombres pairs) et de feuille (L, nombres impairs) de deux morphotypes d'*Achillée millefeuille L* poussent ensemble (fleurs blanches : f. millefolium) et (fleurs roses : f. rosea) dans quatre localités de culture ont été présentées par seize échantillons au total et soumises à une analyse statistique [74].

Trois HE de feuilles (échantillons AWL₁ APL₃ BWL₅) étaient caractérisées par des quantités appréciables de 10-epi- γ -eudesmol. Les autres composants représentatifs étaient l'oxyde de caryophyllène, le bornéol, le β -pinène, le 1,8-cinéol et le sélin-11-en-4 α -ol.

Le premier constituant principal de l'HE de feuille (CWL₉) est le sélin-11-én-4-ol (24,0 %), alors que la teneur du composé varie de 0 à 8,5 % dans les autres échantillons.

L'HE contenait également des quantités appréciables d'oxyde de caryophyllène (10,0%) et de trans-nerolidol (9,6%).

L'échantillon 13 d'huile de feuille (DWL₁₃), contient comme composant principal du cis-chrysanthénol (27,3%). D'autres composés représentatifs se sont révélés être l'oxyde de caryophyllène (14,5%) et le 1,8-cinéol (9,3%).

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

L'échantillon 11 (CPL₁₁) contenait une quantité appréciable d'oxyde de caryophyllène (19,0 %), tandis que le β -pinène (23,0 %) est le principal constituant de l'échantillon 12 (CPF₁₂).

L'HE foliaire (appartenant à la feuille) d'A.millefeuille L à fleurs roses (DPL₁₅) contient ces principaux constituants : viridiflorol (13,7%), oxyde de caryophyllène (11,7%) et sélin-11-en-4-ol (8,5%). Le viridiflorol n'a été trouvé qu'en quantités insignifiantes (0-2,8%) dans les autres huiles.

Les huit autres huiles (sept de fleurs et une de feuilles : AWF₂, APF₄, BWF₆, BPF₈, CWF₁₀, DWF₁₄, DPF₁₆ et BPL₇) contiennent les principaux composants : cis-chrysanthénol (10,9%), 1,8-cinéole (10,2%) et β -pinène (9,2%).

Il est constaté que les sesquiterpènes oxygénés constituaient la principale fraction. Toutes les huiles essentielles étudiées ont été trouvées exemptes de chamazulène. Au total, 67 constituants ont été identifiés (comprenant 76,8-94,1%), tandis que la composition principale (plus de 5%) des HE d'*Achillée millefeuille L* a été présentée (**Tableau IV.2** en annexe).

Les résultats de cette recherche ont montré que les constituants suivants : le cis-chrysanthénol, le viridiflorol, le 10-epi- γ -eudesmol et le sélin-11-en-4-ol n'ont jamais été identifiés auparavant comme les constituants les plus abondants de l'HE de cette plante (tant sauvage que cultivée). Les nouveaux profils chimiques décrits étaient surtout caractéristiques des huiles volatiles foliaires d'A.millefeuille (f. millefolium), alors que ces chémotypes (sous catégories d'HE) n'ont pas été trouvés auparavant dans les localités où les plantes à fleurs blanches prédominent.

- Une étude faite auparavant (en 2003), dont 13 huiles essentielles sur les 14 produites par les inflorescences d'A.millefeuille L à fleurs roses ont été réparties en deux chimiotypes : (E)-nerolidol (7 huiles) et β -pinène (6 échantillons). Les chémotypes de chamazulène et de bornéol des huiles d'inflorescence à fleurs blanches n'ont pas été déterminés dans les inflorescences à l'étude [75].

Dans une autre étude précédente de celle-ci, seules 3 des 21 huiles d'inflorescence trouvées dans les plantes à fleurs blanches étaient de type (E)-nerolidol, alors que 11 des 14 huiles d'inflorescence de plantes à fleurs roses contenaient du (E)-nerolidol entre les quatre principaux composants. Les inflorescences roses avaient un meilleur système de biosynthèse du (E)-nérolidol que les inflorescences à fleurs blanches [75].

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

La plante d'*Achillée millefeuille L* à fleurs blanches et roses appartenant à la même espèce botanique présente des compositions différentes, cela est dû aux conditions écologiques, et à la différence dans les voies de biosynthèse. En effet, l'évaluation de nouveaux profils chimiques des huiles volatiles a permis d'élargir les connaissances chimio-taxonomiques sur cette plante.

IV.2.4. Variation selon la période de récolte

Dans cette étude, (Egypte) les rendements des HE des quatre récoltes des deux saisons sont indiqués dans le tableau suivant [76] :

Tableau IV- 3: Effet du temps de récolte sur la production d'huile essentielle de têtes florales d'*Achillée millefeuille L* pendant les saisons 2007-2008 et 2008-2009.

Saison 2007- 2008			
La période des récoltes	%	ml plante⁻¹	L ha⁻¹
1^{er} 21 Février	0.067	0.027	0.741
2^{ème} 10 Avril	0.144	0.068	1.894
3^{ème} 15 Mai	0.186	0.156	4.308
4^{ème} 7juillet	0.183	0.145	4.014
LSD à 5%	0.001	0.006	0.005
Saison 2008- 2009			
La période des récoltes	%	ml plante⁻¹	L ha⁻¹
1^{er} 10 Mars	0.082	0.033	0.906
2^{ème} 5 Mai	0.127	0.145	4.011
3^{ème} 21 Juillet	0.148	0.087	2.406
4^{ème} 30 Septembre	0.177	0.057	1.571
LSD à 5%	0.004	0.009	0.005

Au cours de la première saison, le pourcentage d'HE le plus élevé a été obtenu lors de la troisième récolte (le 15 mai), tandis que lors de la deuxième saison, la quatrième récolte (le 30 septembre), a eu le pourcentage d'HE le plus élevé. En outre, le rendement en huile essentielle le plus élevé (ml de plante⁻¹ et L ha⁻¹) a été observé lors de la troisième récolte (le 15 mai) de la première saison et lors de la deuxième récolte (le 5 mai) de la deuxième saison.

Les résultats du tableau (IV.4 en annexe) montrent que les principaux composants à différents moments de récolte (saison 2008-2009) se caractérisaient par la présence de sesquiterpènes avec des quantités élevées de chamazulène (10,1-26,7%), suivie du

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

germacrène-D (1,3-10,3%) et du β -caryophyllène (0,9-6,4%). Les principaux monoterpènes sont le β -pinène (24,1-54,6 %) et le sabinène (3,1-7,4 %).

En effet, lors de la (saison 2007-2008) les plantes récoltées le 21 février ont produit de l'HE avec des concentrations relatives élevées en chamazulène et en germacrène-D, tandis que le β -pinène et le limonène sont les plus importants dans l'HE des plantes récoltées le 15 mai.

Les quantités de sabinène et β -caryophyllène sont les plus importantes lors de la première récolte du 21 février et ont progressivement diminué avec les récoltes suivantes. En outre, les quantités de α -terpinène et de camphre sont faibles lors de la première récolte et ont atteint leurs plus fortes concentrations relatives lors des troisième et quatrième récoltes, respectivement.

- Almadiy et al. (Égypte **2016**), ont évalué quatre espèces du genre *Achillée*, La principale composante chimique était le chamazulène (26,2%), le sabinène (9,2%) et le β -caryophyllène (5,9%). En effet, les composés trouvés dans l'étude précédente, figurent parmi les principaux composés de celle-ci, la différence est remarquée dans la teneur [77].

La production de sommités fleuries ainsi que la teneur, et la composition de l'HE d'*A. millefeuille L* sont influencées par le moment de la récolte et les conditions écologiques et climatiques.

IV.2.5. Variation selon l'organe producteur

Les huiles essentielles de l'*Achillée millefeuille L*, sont obtenues à partir de différentes parties de la plante; l'extraction révèle ce qui suit [78] :

Les rendements d'HE pour les racines et les tiges sont de 0,9% et 1,16%, respectivement, tandis que les HE de fleurs et de feuilles ont été obtenues avec des rendements de 0,5 à 0,7%. (Voir le tableau **Tableau IV.5**).

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

Tableau IV- 5: Conditions d'extraction d'HE d'*Achillée millefeuille L* obtenues de différentes parties de la plante.

N °	Code	Partie végétale utilisée	Masse de plante (g)	V _{hexane} (mL)	V _{eau} (mL)	Masse d'HE (g)
1	Am_Fw	A.millefeuille (fleurs)	93,70	15	1200	0,5
2	Am_Lf	A.millefeuille (feuilles)	99,90	15	1200	0,7
3	Am_Rt	A.millefeuille (racines)	99,90	15	1200	0,9
4	Am_St	A.millefeuille (tiges)	103,5	15	1200	1,2

Les rendements d'extraction des HE étaient de l'ordre de 0,5 à 1,2%, les principaux composés étant des monoterpènes cycliques (tels que l' α et le β -pinène, le β -phellandrène) et les sesquiterpènes (β -caryophyllène, β -cubebène et chamazulène), ainsi que certains époxydes qui ont été identifiés (eucalyptol, oxydes de bisabolol).

La concentration la plus élevée dans l'extrait de fleurs d'achillée est celle du β -pinène et le chamazulène (17% et 13%, respectivement), tandis que pour l'extrait de feuilles, le composé principal est le α -bisabolol. Le chamazulène est en très forte concentration dans les extraits de racines et de tiges (34% et 46%, respectivement). Il est trois à quatre fois plus concentré que dans la fleur et la feuille de l'achillée. (Voir le **Tableau IV.6** en annexe).

L'ensemble des résultats obtenus, nous fait constater que la composition et/ou la teneur en l'HE d'*Achillée millefeuille L* varie dans la même espèce selon l'organe producteur (fleurs, feuilles, racines, tiges). Le constituant majoritaire qui est le chamazulène est présent en grande concentration dans les tiges et les racines.

IV.2.6. L'influence du stade de développement botanique (cycle végétatif)

Dans cette étude (Iran 2020), un total de 28 constituants représentant 92,89 à 97,28% de la composition totale des HE de l'achillée ont été caractérisés. Le principal constituant de tous les échantillons est le 1,8-cinéol (21,28-34,51 %) qui est un monoterpène oxygéné ; suivi

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

du camphre (7,27-14,07 %), le chamazulène (4,18-11,34 %) et le α -eudesmol (2,09-9,63 %) [79].

Comme le montre la figure (IV.1) les teneurs en HE de l'achillée varient selon les stades de croissance. Les parties aériennes récoltées au stade de la floraison ont donné la plus forte teneur en HE, suivi du stade végétatif et fructifère (0,24%, 0,17% 0,14% v/m) respectivement.

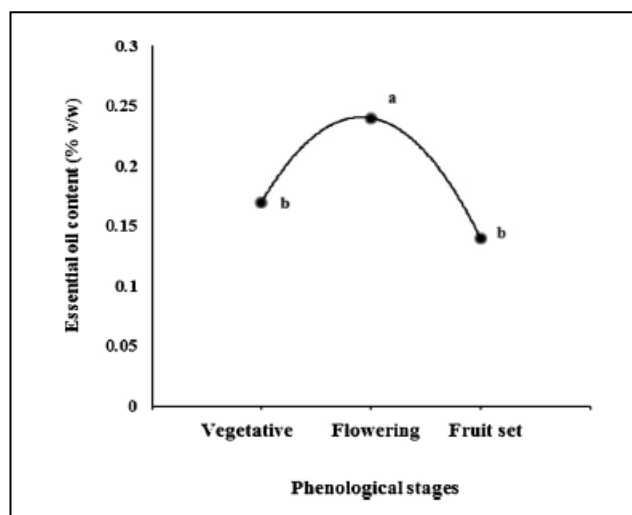


Figure IV. 1: Teneur en HE d'*Achillée millefeuille L* à différents stades phénologiques.

La figure (IV.2) ci-dessous à gauche montre que les composés du type monoterpènes ont diminué alors que les sesquiterpènes ont augmenté pendant les stades de croissance, la teneur la plus élevée en 1,8-cinéole a été observée au stade végétatif.

En outre, la figure de droite montre que la teneur la plus élevée du 1,8-cinéole, Δ -3-carène et du bornéol a été obtenue dans l'échantillon récolté au stade végétatif. Les constituants : α -cadinol, α -eudesmol, et chamazulène sont en abondances au stade de la nouaison.

Les changements de la teneur en camphre ont montré beaucoup d'irrégularités : la teneur a diminué au stade de la floraison puis a augmenté pendant la nouaison. Le constituant α -bisabolène oxyde n'a pas été trouvé au stade végétatif et a été observé au stade de la floraison et de la nouaison (1,43 et 3,95 %, respectivement).

Cependant, le p-cymène, le β -phellandrene, et le α -terpinolène ont été trouvés dans les HE aux stades végétatifs et de floraison. Le terpène-4-ol n'a pas été identifié dans l'HE au stade de la floraison.

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

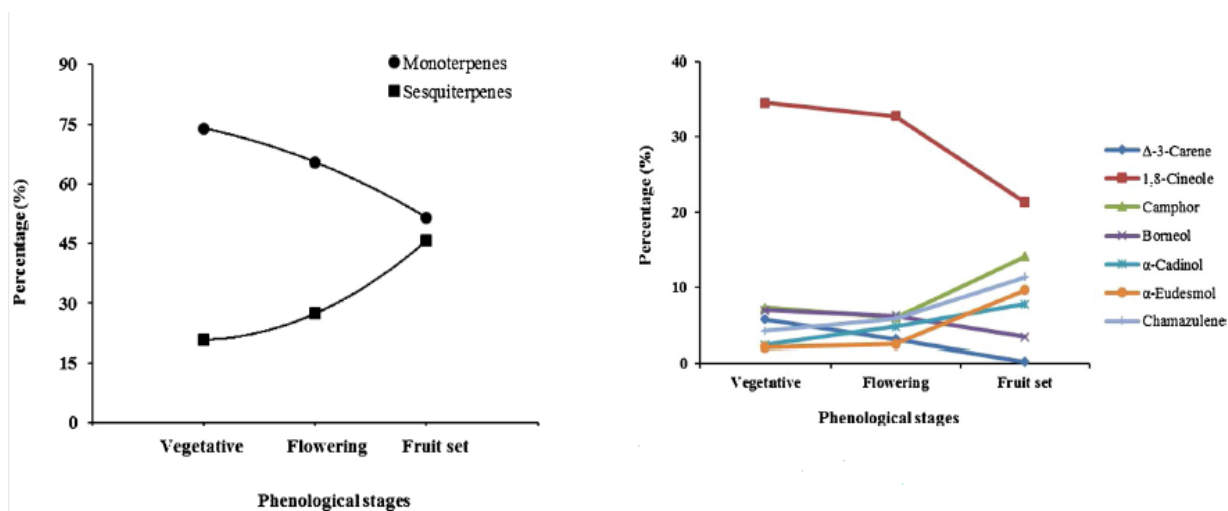


Figure IV. 2: (à gauche) Variation des monoterpènes et des sesquiterpènes de l'huile essentielle d'*Achille millefeuille L.* à différents stades phénologiques/ (à droite) Variations de la teneur en constituants majeurs des huiles essentielles d'*Achille millefeuille L.* à différents stades phénologiques.

La variation de la composition de l'huile volatile des différentes espèces d'achillée a été précédemment signalée par Afshari et Rahimmalek (2018); Verma et al. (2017). Mirahmadi et autres (2012). Les chercheurs ont constaté que l'expression des gènes liés à la biosynthèse et à l'accumulation des terpénoïdes varie considérablement selon les différents stades de croissance [80, 81, 82].

En effet, il y a des divergences entre les différentes publications concernant les changements de la teneur des constituants des HE au cours du développement de la plante. Cela pourrait être expliqué par le fait que la corrélation entre la synthèse des terpénoïdes et le stade phénologique n'étaient pas seulement différente entre les différentes espèces de plantes (Boukhris et al, 2015) mais aussi au sein d'une même espèce (Bimbiraite et al, 2008) [83, 84].

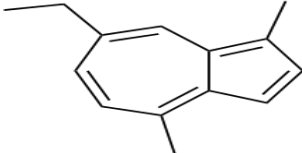

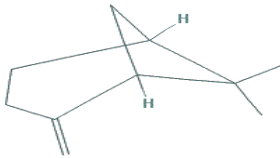
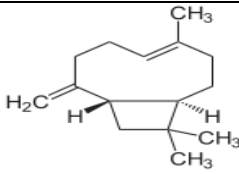
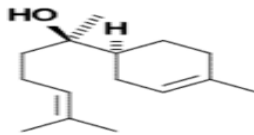
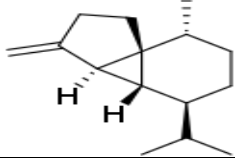
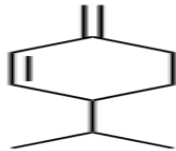
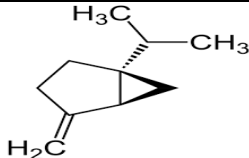
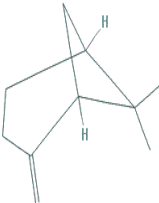
Le stade de croissance de la plante est un facteur important qui affecte la quantité et la qualité de l'huile volatile ainsi que la capacité antioxydante de l'achillée. Selon les résultats obtenus, il est recommandé que la collecte des parties aériennes de l'A.millefeuille faite au stade de la floraison donne la meilleure quantité et qualité d'HE.

IV.3. Composition générale de l'*Achille millefeuille L.*

Nous présentons dans ce tableau les constituants majoritaires de notre plante.

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

Tableau IV- 7: Les principaux composés identifiés dans les huiles essentielles d'achillée millefeuille L [78, 24].

Nom de la molécule	Formule brute	Structure chimique
Chamazulène Hydrocarbure aromatique polycyclique	$C_{14}H_{16}$	
1,8-cinéole ou Eucalyptol Monoterpène : éther cyclique	$C_{10}H_{18}O$	
β-Pinène monoterpène bicyclique	$C_{10}H_{16}$	
β-Caryophyllène sesquiterpène bicyclique	$C_{15}H_{24}$	
α-Bisabolol alcool sesquiterpène monocyclique (isomère)	$C_{15}H_{26}O$	
β-Cubébène sesquiterpène	$C_{15}H_{24}$	
β-Phellandrène monoterpène cyclique	$C_{10}H_{16}$	
Sabinène Carbure monotérpénique	$C_{10}H_{16}$	
Germacrène D Hydrocarbure sesquiterpénique	$C_{15}H_{24}$	

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

IV.4. Étude de l'effet antifongique et médicinal de l'HE de l'achillée

IV.4.1. L'effet antifongique

Le but de cette étude (Turquie 2018) est de déterminer l'effet antifongique de l'HE isolée d'A.millefeuille L contre les champignons pathogènes. Une analyse a été conduite sur un total de 4 champignons pathogènes qui sont : *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* et *Saccharomyces cerevisiae*, et l'effet de l'HE sur la croissance de ces champignons ont fait l'objet d'une étude [85].

Il a été montré qu'elle a donné des résultats positifs pour les quatre champignons à des degrés variables. L'effet antifongique le plus élevé a été observé pour le *S. cerevisiae*, alors que l'effet le plus faible a été observé pour le *C. parapsilosis*. Les valeurs de concentrations minimales d'inhibition (CMI) sont de 10, 5 et 1,25 µL/mL pour les souches de *C. albicans*, *C. tropicalis* et *C. parapsilosis*, respectivement.

El-Kalamouni et ses collaborateurs ont examiné l'activité antifongique de l'HE d'A.millefeuille L recueillie en France, ils ont trouvé que les HE pouvaient inhiber la croissance de différents champignons (*Rhizopus stolonifer*, *Verticillium dahliae*, *Colletotrichum gloeosporoides*, *Botrytis cinerae* et *Aspergillus niger*) [86].

Les chercheurs Karamenderes et Candan ont révélé que l'HE de l'A.millefeuille L est actif pour le *C. albicans* [87, 88].

Falconieri et al ont étudié l'activité antifongique des HE des parties aériennes fleuries d'A.millefeuille sauvage poussant sur la côte méditerranéenne (île de Sardaigne, Italie) et sur la côte atlantique. Les deux HE ont inhibé les souches de *C. albicans* (CMI : 2,5 µL/mL), *C. tropicalis* (CMI : 2,5 µL/mL) et *C. parapsilosis* (CMI : 2,5 µL/mL) [89].

La différence des résultats peut être due à plusieurs facteurs comme les conditions locales, climatiques, saisonnières et expérimentales de l'utilisation et la croissance de notre plante.

IV.4.2. L'activité antimicrobienne

La résistance aux antimicrobiens est considérée comme un problème de santé mondial qui compromet l'efficacité des antibiotiques et empêche le traitement des infections courantes. Elle peut être liée à l'utilisation excessive de médicaments bactéricides, bactériostatiques ou antifongiques, lorsque l'ignorance et l'automédication favorisent l'induction de ce facteur. Par conséquent, il est nécessaire de découvrir de nouvelles

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

substances à partir de sources naturelles, y compris des plantes. À cet effet, une étude a été réalisée au Brésil (2020) afin d'identifier l'activité antimicrobienne de l'HE de l'A.millefeuille L contre quatre micro-organismes in vitro (*Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherechia coli* et *Klebsiella pneumoniae*) [64].

La concentration minimale inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF) ont été déterminées par une méthode de micro-dilution. Selon la littérature, l'activité antimicrobienne est considérée comme forte pour des valeurs de CMI comprises entre 0,05 et 0,50 mg mL⁻¹, une activité modérée est entre 0,6 et 1,50 mg mL⁻¹ et une activité faible au-dessus de 1,50 mg mL⁻¹. Dans la présente étude, les tests d'action antimicrobien de l'HE d'*Achillée millefeuille L* ont montré que deux des quatre micro-organismes (*S. epidermidis* et *E. coli*), avaient une activité bactériostatique à la concentration de 150 mg mL⁻¹. *K. pneumoniae* a montré une activité bactéricide à la concentration de 150 mg mL⁻¹ et *C. albicans* à la concentration de 37,5 mg mL⁻¹, démontrant un profil fongistatique. Cependant, toutes les espèces microbiennes testées ont présenté une faible activité antimicrobienne.

Tableau IV-8: L'activité bactéricide et bactériostatique de l'huile essentielle d'*Achillée millefeuille L* contre différents micro-organismes [64].

Micro-organismes	Concentration d'HE (mg mL ⁻¹)	Activité microbienne
<i>Candida albicans</i>	≥ 37,5	Fongistatique
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	150	Bactériostatique
<i>Escherechia coli</i>	150	Bactériostatique
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	150	Bactéricide

Selon les examens systématiques effectués par Mohammad hosseini et al. (2017) et Ali et al. (2017), la composition chimique des HE et des extraits des différentes espèces du genre *Achillée* et leurs activités biologiques dans la plupart des espèces présentes comme ayant une activité antimicrobienne modérée à forte. Cependant, selon l'étude ci-dessus, l'*Achillée millefeuille L* présente un profil faible à modéré contre l'activité antimicrobienne [90, 91].

L'HE de l'A.millefeuille L ne possède pas une activité antimicrobienne significative contre les espèces testées. Il est recommandé de tester l'HE sur d'autres souches bactériennes. En effet, cette faible activité antimicrobienne est probablement due à la présence de l'eucalyptol en faible concentration (1,96%). Selon Tzakou et al. 2001), l'eucalyptol (1,8-

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

cinéol) et le camphre sont des substances chimiques bien connues pour leur fort potentiel antimicrobien [92].

IV.5. L'effet insecticide

Selon ALKAN Mustafa, de nombreux ravageurs attaquent les plantes après la récolte surtout si elles ne sont pas conservées dans des conditions de stockage adéquates, il y aura donc des pertes qualitatives et quantitatives. Pour minimiser les dégâts causés par les parasites stockés, la lutte chimique est la méthode la plus largement utilisée. Le bromure de méthyle, le phosphore d'aluminium, le fluorure de sulfuryle, le sulfure de carbone, le nitrile d'éthane et le format éthyle sont les produits chimiques synthétiques les plus couramment utilisés pour la lutte contre ces parasites. Par contre, leur utilisation a été limitée en raison de leur toxicité et des dommages qu'ils causent à la couche d'ozone [65].

D'autre part, les plantes ont différents mécanismes de défense pour se protéger contre leurs ennemis. Parmi ces mécanismes, des différents métabolites secondaires synthétisés dans l'organisme, ont des effets insecticides classés en alcaloïdes, glycosides, phénols, terpénoïdes, tanins et saponines. On sait que les HE sont riches en composés volatils terpéniques ou non terpéniques, tous constitués d'hydrocarbures et de leurs dérivés.

Dans cette étude, l'effet insecticide et comportemental de l'HE de l'*Achillée millefeuille L* a été mesuré contre deux principaux ravageurs des produits stockés, *Sitophilus granarius* (Coleoptera : Curculionidae) et *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera : Bostrichidae). Pour les deux insectes, l'HE n'a pas démontré un effet fumigant significatif. Au bout de 48 heures, l'effet le plus élevé a été déterminé avec un taux de mortalité de 19,7% pour *R. dominica*. Par ailleurs aucun effet n'a été montré contre *Sitophilus granarius*. Au bout de 24 heures, l'activité de contact la plus élevée a été déterminée contre *R. dominica* avec un taux de mortalité de 99,2%, et pour *S. granarius* à 83,4%. Par conséquent, l'HE a montré une activité répulsive significative contre les deux parasites.

D'après ces résultats, on constate que l'activité de l'HE sur les deux espèces d'insectes est différente ; *R. dominica* est plus sensible à l'effet répulsif de l'HE que *S. granarius*. Cela peut être dû à la réaction des insectes aux substances contenues dans la composition chimique de la plante, ainsi qu'à la physiologie de l'insecte.

En outre, l'HE change en fonction de la durée d'application. Cela peut être vérifié par le temps d'exposition ou la capacité du/des composés actifs à pénétrer dans l'organisme. Des

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

études antérieures ont montré que l'activité des HE dépend principalement de l'origine de la plante.

IV.6. Existence de la plante *Achillée millefeuille L* en Algérie

L'Algérie est le plus grand pays riverain de la méditerranée. Il est caractérisé par une grande diversité géographique constituée de zones côtières, des zones montagneuses, des hautes plaines steppiques et d'un grand Sahara. La flore algérienne est donc reconnue par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays.

Ces plantes sont abondantes, dispersées géographiquement et ont des potentialités de rendement faible, leur contrôle est difficile, leur exploitation ne suffit pas à couvrir les besoins nationaux de la médecine, la pharmacie.

L'accès à l'information s'est avéré extrêmement difficile, en raison notamment du manque de statistique concernant la plante d'*Achillée millefeuille L*, mais aussi, nous pouvons dire, que le secteur des plantes aromatiques et médicinales en Algérie demeure modeste, il se développe très difficilement. En effet, la majorité des études sur les plantes aromatiques et médicinales, ce sont des études des pays où l'accès à l'information ne pose pas réellement de problèmes (Maroc, France, Espagne, etc.), grâce notamment à la disponibilité de bases de données qui facilitent le travail du chercheur en lui permettant d'accéder à des données précises et sur plusieurs années [93].

L'*Achillée millefeuille L* en Algérie semble absente et/ou très rare, on a trouvé qu'une seule source où ils ont reconnue cette plante. En effet, cet article a documenté un grand nombre de plantes médicinales sauvages utilisées dans la région de M'Sila (nord de l'Algérie). Le nom de cette plante local est (Ekhelia), utilisée comme infusion de ses sommités fleuries. Elle est recommandée à usage tonique [94].

Enfin, l'*Achillée millefeuille L* est une plante très intéressante et nécessite d'être valorisée pour ses propriétés nutritionnelles, thérapeutiques et cosmétiques.

IV.7. Conclusion

Il existe des différences qualitatives et quantitatives considérables dans la composition des HE d'*Achillée millefeuille L*. En effet, elle diffère par le dosage de ces différents composés. Il n'existe pas deux HE totalement identiques car chaque HE extraite à partir des différents

Chapitre IV : Etude comparative de la composition des huiles essentielles de l'Achillée de différents pays

organes de la plante et à différentes saisons de l'année possède un profil plus ou moins différent. Il existe donc une variabilité du rendement et de la composition chimique.

En effet, cette variabilité dépend de plusieurs paramètres : comme la technique d'extraction, la conservation, les conditions environnementales, géographiques, climatiques, génétiques, les chémotypes, l'âge de la plante, le sol, la phase de végétation, la partie anatomique de la plante, ainsi que la saison de récolte.

Comme le type et la concentration des composants chimiques des HE des plantes de chaque région sont différents de ceux des autres régions, il est donc important de réaliser de nombreuses études dans ce cas, à différents endroits, pour diverses utilisations médicinales.

Il faut souligner que, lorsque la composition des HE varie d'un pays à un autre, de l'espèce même selon l'organe producteur, leurs efficacité dans le traitement médicinale est probablement différentes. L'activité antifongique et antimicrobienne des HE peut être attribuée à leur teneur relativement élevée en monoterpènes oxygénés (comme le 1,8scinéole).

Les effets médicaux les plus importants des HE d'*Achillée millefeuille L* (par exemple: traitement des inflammations, maladies spasmodiques, dyspepsie) sont dû à la présence de substances contenues dans les huiles (dihydrocarvéol avec un pourcentage élevé, carvone, limonène, dihydrocarvone, carvéol). On constate que, les capacités thérapeutiques des HE changent vu que la teneur et la composition chimique varie pour chaque HE. Il existe des composants chimiques bien précis, responsables de donner les propriétés et caractéristiques thérapeutiques. Ils donnent l'avantage aux HE pour traiter certains soucis médicaux. Par exemple, le chamazulène est un sesquiterpène qui a des propriétés bactéricides, fongicides, anti-inflammatoires et antioxydantes (Singh et al, **2011**) [95].

Le β -caryophyllène est un sesquiterpène bicyclique responsable des propriétés anti-inflammatoires, anti-œdème, anti-tumorales, bactéricides, insecticides et spasmolytiques (Carneiro et al, 2010) [96].

Conclusion Générale

Conclusion générale

Les plantes médicinales, restent une très grande découverte pour la médecine traditionnelle et moderne. Elles sont utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques grâce à/aux principes actifs qu'elles contiennent au niveau de leurs organes.

Dans notre travail, nous nous sommes focalisés sur la plante de l'*Achillée millefeuille* L. Cette plante de la famille des astéracées connue depuis des millénaires comme un excellent remède naturel pour l'homme, aujourd'hui elle est utilisée sans cesse pour ces propriétés médicinales. En effet, sa valeur thérapeutique est due notamment à l'HE qu'elle renferme.

Dans le premier chapitre de ce mémoire, nous avons apporté des notions générales sur les plantes médicinales avec des exemples de plantes. Nous nous sommes intéressés à la plante de l'*Achillée millefeuille* L en donnant ses propriétés médicinales les plus importantes.

Dans le deuxième chapitre, nous avons décrit les huiles essentielles d'une manière générale, avec les propriétés physico-chimiques spécifiques de ses derniers, suivie des différents procédés d'extractions connus en littérature (entraînement à la vapeur d'eau, la distillation sèche et l'expression à froid), ainsi que leurs avantages et inconvénients par rapport à la qualité de l'huile essentielle obtenue.

Dans le troisième chapitre, nous avons passé en revue les principales techniques conventionnelles utilisées pour la caractérisation des HE, en outre, la technique la plus couramment utilisée qui est la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Nous avons plus particulièrement détaillé le couplage de cette méthode d'analyse avec le spectromètre de masse (CPG/SM) qui est une technique d'analyse très répandue dans le domaine des plantes médicinales.

Nous avons terminé notre recherche bibliographique par une étude comparative de la composition chimique des HE d'achillée de différents pays. Nous avons constaté que la quantité et la qualité des HE varient selon la partie de la plante utilisée d'une région à une autre. L'HE est fortement concentrée en chamazulène, sabinène, germa crène D, beta-caryophyllène et beta-pinène. Ces différentes molécules lui confèrent les propriétés anti-inflammatoires, antispasmodiques, cholagogues, cholérétiques, cicatrisantes, toniques et stimulantes.

Les polymorphismes de cette plante peuvent être liés à des différences dans les facteurs génétiques, environnementaux et le moment du prélèvement des plantes ainsi qu'à l'existence de plusieurs chémotypes de cette espèce.

Notre recherche nous a permis de remarquer une différence dans les rendements de

Conclusion Générale

l'HE dans les périodes de récolte. Cela peut être expliqué par les conditions écologiques et climatiques, et l'organe producteur (fleurs, feuilles, racines, tiges) dans la même espèce végétal. Nous avons remarqué aussi une différence importante entre les composants et les teneurs lors des trois stades de croissance : végétatif, floraison et nouaison. À cet effet, la collecte des parties aériennes de l'A.millefeuille est recommandée au stade de la floraison pour une quantité et une qualité meilleure d'HE.

Notre recherche nous a permis de savoir que l'HE de l'achillée à un effet antifongique sur différents champignons pathogènes, cela peut être liée à plusieurs facteurs comme les conditions locales, climatiques, saisonnières et expérimentales.

L'activité antimicrobienne de l'HE de l'A.millefeuille L demeure faible contre les espèces testées (*Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*).

L'effet insecticide de l'HE a été étudié et a donné un effet positif. Cela peut être dû à la réaction des insectes aux substances contenues dans la composition chimique de la plante, ainsi qu'à la physiologie de l'insecte.

En résumé, notre recherche bibliographique nous a permis d'enrichir nos connaissances sur les plantes médicinales en particulier l'*Achillée millefeuille L*. En raison de la pandémie du covid-19 nous n'avons pas pu réaliser la partie expérimentale concernant l'extraction et l'analyse de l'huile essentielle de cette dernière. Nous espérons que notre travail sera poursuivie par d'autres étudiants afin d'arriver à nos l'objectif escompté.

Annexe

Tableau IV- 1 : Composition chimique (%) de l'huile essentielle de l'*Achillée millefeuille L*

Composés	Temps de rétention	(%)
Monoterpènes		17.54
Hydrocarbures monoterpènes		11.76
Sabinène	9.495	8.77
β -Myrcène	10.062	0.78
δ -Limonène	11.380	0.88
γ -Terpinène	12.466	1.33
Monoterpènes oxygénés		5.06
Eucalyptol	11.459	1.96
Terpinène-4-ol	16.887	2.24
α -Terpinéol	17.419	0.86
Sesquiterpènes		79.60
Sesquiterpènes hydrocarbures		74.29
Copaène	23.536	0.72
β -Caryophyllène	25.043	10.27
β -Copaène	25.291	0.99
Humulène	26.097	3.73
Bicyclogermacrène	27.522	5.84
α -Farnesène	27.820	31.66
δ -Amorphène	28.288	3.91
Chamazulène	34.493	17.17
Sesquiterpènes oxygénés		5.31
Oxyde de caryophyllène	30.083	0.66
α -Cadinol	32.240	4.65
Composés non identifiés		1.99
Composés non identifiés	26.175	1.18
Composés non identifiés	27.400	0.81
Autres composés		1.58
Acide palmitique	41.840	1.58

Tableau IV- 2 : Composition principale (plus de 5 %) des huiles essentielles d'inflorescence (F) et de feuille (L) de la fleur blanche (W, f. millefolium) et rose (P, f. rosea) *Achillée millefeuille* L.

I.R	Composants	A.W.	A.W.	B.W.	B.W.	C.W.	C.W.	D.W.	D.W.
		L ₁	F ₂	L ₅	F ₆	L ₉	F ₁₀	L ₁₃	F ₁₄
939	α -Pinène	2.4	4.4	1.8	4.8	1.1	1.0	3.5	3.5
976	Sabinène	3.9	6.8	3.0	7.0	0.4	5.0	1.0	1.5
980	β -Pinène	8.0	10.0	6.7	12.4	1.0	9.2	4.5	9.2
1033	1,8-Cinéole	5.1	7.3	8.6	10.0	0.1	5.3	9.3	10.2
1143	Camphor	2.2	2.2	4.4	4.4	5.8	4.2	t	t
1162	Cis-Chrysanthénol	t	0.1	t	0.1	t	t	27.3	10.9
1165	Bornéol	3.1	2.6	5.7	3.2	3.6	3.4	0.2	2.1
1177	Terpinèn-4-ol	2.3	3.1	1.5	2.8	4.3	5.3	0.1	t
1285	Acétate de bornyle	1.2	0.8	1.6	2.5	5.8	3.5	3.8	1.3
1418	β -Caryophyllène	2.7	3.3	1.7	3.6	2.3	1.8	0.5	4.4
1480	Germacrène D	1.2	1.4	t	2.7	t	6.8	t	4.1
1514	Cubèbol			t	t	t	t		
1534	Cis-Nerolidol	3.3	6.1		t	t			t
1564	Trans-Nerolidol	0.9	0.4	1.6	9.0	9.6	5.8	4.6	8.0
1576	Spathuléol	5.8	T	5.3	1.0	T	0.4	3.0	t
1581	Oxyde de caryophyllène	8.3	2.8	7.4	2.8	10.0	1.4	14.5	5.5
1590	Viridiflorol	1.5	T	1.6	t	0.4	1.2	t	0.4
1624	10-épi- γ -Eudesmol	15.6	5.1	11.7	4.8	0.4	3.1	2.7	4.2
1647	Himachalol			t	0.4	5.7	7.4	2.4	4.9
1660	Sélin-11-én-4 α -ol	5.3	5.0	7.5	6.0	24.0	5.2	3.8	2.7
1718	(2Z, 6Z)-Farnésol	1.0	1.0	0.6	1.5	5.0	1.0	0.3	1.3
1735	Isomère de bisabolone	3.2	5.7	0.6	t	t	t	t	t

Suite du tableau IV.2.

I.R	Composants	A.P.L ₃	A.P.F ₄	B.P.L ₇	B.P.F ₈	C.P.L ₁₁	C.P.F ₁₂	D.P. L ₁₅	D.P.F ₁₆
939	α -Pinène	0.6	4.7	1.0	6.3	1.5	2.4	2.1	9.9
976	Sabinène	1.0	6.8	2.0	6.9	4.0	7.1	1.7	3.9
980	β -Pinène	2.3	9.0	4.5	17.9	7.2	23.0	8.0	15.0
1033	1,8-Cinéole	0.9	5.5	3.7	10.3	0.9	t	7.9	10.5
1143	Camphor	t	4.1	1.9	4.1	5.4	2.7	1.4	t
1162	Cis- Chrysanthénol	1.4	0.7		t	t	t	2.0	t
1165	Bornéol	11.1	4.6	4.0	3.1	6.2	3.0	3.1	t
1177	Terpinèn-4-ol	2.2	2.6	0.8	2.3	2.5	6.1	t	t
1285	Acétate de bornyle		0.4	0.6	0.6	1.9	0.7	t	t
1418	β - Caryophyllène	3.2	3.1	2.1	3.1	2.1	5.2	2.5	6.5
1480	Germacrène D		2.3	1.8	2.0	t	1.0		1.0
1514	Cubèbol	0.2	t					6.6	
1534	Cis-Nerolidol	3.3	t		t	t	t		
1564	Trans-Nerolidol	1.0	6.0	3.5	6.8	11.1	2.6	0.8	3.4
1576	Spathuléol	7.4	1.0	3.4	t	2.8	t	2.1	0.4
1581	Oxyde de caryophyllène	10.0	2.8	6.8	2.4	19.0	8.0	11.7	5.1
1590	Viridiflorol		0.7	2.8	0.3	0.5	0.5	13.7	0.4
1624	10-épi- γ - Eudesmol	10.0	3.1	1.1	2.2	t	0.8		0.8
1647	Himachalol		1.1	1.1	0.9	3.2	1.5	t	1.3
1660	Sélin-11-én-4 α - ol		0.2	5.7	4.3	4.5	6.5	8.5	5.9
1718	(2Z, 6Z)- Farnésol	3.8	0.5	2.5	1.6	2.9	2.5		0.5
1735	Isomère de bisabolone								

RI-Indices de rétention sur la colonne non polaire CP-Sil8 CB, t-traces (< 0,05%),

Les premières lettres A-D indiquaient les localités de culture (A: région de Rokiskis; B : région de Vilnius ; C : ville de Vilnius, D : région de Kedainiai)

Tableau IV.4: Effet du moment de la récolte sur la composition en huile essentielle des sommités fleuries d'*Achillée millefeuille L* pendant la saison 2008-2009.

Composition d'HE	10Mars %	T.R	5Mai %	T.R	21Juillet %	T.R	30Septembre %	T.R
α -Pinène	1.4	2.48	0.4	2.39	0.70	2.40	0.5	2.41
Sabinène	7.4	2.92	3.1	2.50	4.20	2.51	4.3	2.52
β -Pinène	24.1	3.03	53.0	3.08	54.6	3.10	53.0	3.13
Myrcène	0.4	3.40	0.5	3.41	1.0	3.42	0.7	3.44
Limonène	6.4	3.68	8.8	3.71	11.9	3.73	9.8	3.74
1,8 cinéole	1.0	3.92	1.1	3.93	1.6	3.94	1.2	3.96
α -terpinène	2.2	5.41	1.3	5.41	3.0	5.43	5.1	5.47
Camphor	1.3	5.83	1.5	5.85	3.7	5.87	2.8	5.88
Acétate de bornyle	0.8	6.10	1.3	6.12	2.6	6.14	2.4	6.16
Chamazulène	26.7	9.15	13.5	9.13	10.1	9.12	11.6	9.51
Germacrène-D	10.3	9.57	4.6	9.94	1.3	9.90	2.2	9.94
β -caryophellène	6.4	10.17	2.1	10.15	1.0	10.13	0.9	10.14
Total identifié	88.4		91.2		95.7		94.5	

T.R : Temps de rétention

Tableau IV- 6: Concentrations relatives des principaux composants identifiés dans les huiles essentielles brutes d'*Achillée millefeuille L.*

N°	KI ^(a)	RT ^(b) (min)	MS Identification	Area%	Area%	Area%	Area%
				(Am_Fw)	(Am_Lf)	(Am_Rt)	(Am_St)
1	847	3.64	Hexanal	-	0.02	0.11	-
2	906	4.49	2-Hexenal, (E)-	-	0.04	-	-
3	920	4.71	1-Hexanol	-	0.01	-	-
4	994	6.08	α -Pinen	3.4	1.2	0.4	0.67
5	1035	6.95	β -Phellandrene	12.1	8.0	2.56	3.18
6	1042	7.11	β -Pinen	17.2	9.9	4.2	0.11
7	1096	8.34	Eucalyptol (1,8-cineol)	6.8	7.7	0.64	0.2
8	1105	8.57	Ocimen	0.4	0.18	0.08	-
9	1242	11.75	Borneol	1.5	2.3	0.64	0.45
10	1264	12.26	α -Terpineol	2.1	3.3	0.36	0.66
11	1338	13.91	Tuienyl acetate	1.3	0.55	0.32	0.87
12	1503	17.37	β -Caryophyllene	6.0	2.3	5.04	7.67
13	1527	17.88	β -Farnesen	-	0.6	0.42	0.11
14	1540	18.13	Humulen	-	0.3	0.63	1.02
15	1545	18.24	Caryophyllene oxide	-	0.24	0.22	0.19
16	1566	18.65	β -Cubeben	4.2	1.15	3.59	5.6
17	1581	18.95	Elixen	-	0.52	0.71	0.51
18	1672	20.74	Caryophyllene oxide	2.1	2.7	4.43	2.42
19	1685	20.98	Ledol	2.5	1.8	3.62	3.24
20	1745	22.07	α -Bisabolol oxide B	-	7.3	3.48	0.69
21	1775	22.63	α -Bisabolol	0.68	16.0	10.27	0.76
22	1827	23.55	Camazulene	12.9	9.7	33.82	45.79
23	1841	23.84	Bisabolol oxide A	0.08	2.8	0.97	-
			<i>Other minor compounds</i>	<i>26.74</i>	<i>21.39</i>	<i>23.49</i>	<i>25.86</i>

(Am_Fw: fleurs; Am_Lf: feuille; Am_Rt: racine; Am_St: vapeur)

(a) Indices de Kovats (déterminer avec solution étalon d'alcane linéaire)

(b) Temps de rétention

Tableau IV- 9: Informations sur les parties utilisées de la plante (année de récolte, durée d'extraction pour quelques études traitées).

Pays	Partie de la plante utilisée	Année de récolte	Durée d'extraction
Paraná, Brésil (2020)	Les feuilles fraîches	La matinée, début octobre 2018	/
Lithuanie (2015)	inflorescences et feuilles (A.millefeuille de fleurs blanches et roses)	Stade de la pleine floraison	3h
zone de Zile, dans la province de Tokat, Turquie (2020)	100 g de parties aériennes	2017	4h
conditions désertiques sur un sol nouvellement régénéré en Égypte (2013)	150 g de sommités fleuries fraîches	Deux saisons (2007-2008) (2008-2009)	3h
Région de Salonta, Roumanie (2014)	Fleurs, feuilles, racines et tiges	Printemps –été 2007	/
Ardahan/Turquie (2018)	Plante complète	Juin 2013	/
Chaldoran Comté, Province de l'Azerbaïdjan occidental, Iran (2020)	Les parties aériennes (des plantes sauvages cultivées)	récoltées à trois stades de croissance incluant végétative (fin mai), floraison (fin juin), et nouaison (début juillet) en 2018	4h

Les références

- [1] FILLEUL Elisa, Thèse de doctorat : Les Astéracées : description botanique, biologique et étude de plantes médicinales et toxiques, université de Limoges, **2019**.
- [2] ZBALAH Halima, BELARBI Yamina, Mémoire de master : Effet de séchage des plantes médicinales de la famille des *Lamiacées (Romarin)* sur l'activité antibactérienne, université Abdelhamid ibn badis-mostaganem, **2018**.
- [3] PAUL Iserin; Encyclopédie des plante médicinales, 2ème édition, 57- 60, **2001**.
- [4] BENGUELIL Ines, AOUIFOUR Meriem Rayane, Mémoire de master : Etude photochimique et évaluations des activités anti-bactérienne et antifongique des deux espèces : *Achillea millefolium L* et *Sambucus nigra L*, université des frères mentouri Constantine, **2017**.
- [5] KADDACHI Djamila, MIHOUBI Sara, Mémoire de master : Extraction et caractérisation de l'huile essentielle extraite à partir de la plante *Artemisia herba-alba*, université Akli Mohand Oulhadj-Bouira, **2015**.
- [6] Médicaments : entre avantages, rédaction d'allocteurs.fr
https://www.allodocteurs.fr/se-soigner/medicaments/medicaments-entre-avantage-et-risque_190.html, **2008**.
- [7] MORET Jean-Louis, A propos de l'aconit napel et sa toxicité. Bulletin du cercle vaudois de botanique 93-97, **2004**.
- [8] EMMANUEL s Akinoboye, OLADAPO Bakare, Biological activities of Emetine, université d'Havard Haward, *The open Natural products journal*, 8-15, **2011**.
- [9] Dolivo Adrien, Vrais et faux ipécas, Bulletin du Cercle vaudois de botanique 42, 75-78, **2013**.
- [10] ESCALLE-LEWIS Aurélie, JONATHAN Piard, Dosage spectrofluorimétrique de la quinine dans le Schweppes, *école normale supérieure(ENS) - 94325 Cachan Cedex*, 599-610, **2012**.
- [11] KECH Frédéric, L'histoire de la conquête par les plantes. Révolutions épistémologiques et pharmacologiques, *gradhiva*, 212-221, **2017**.
- [12] JEAN-YVES Chabrier, Thèse de doctorat : Plantes médicinales et formes d'utilisation en photothérapie, université Henri Poincare-Nancy1, **2010**.
- [13] BOUZIANE Zahira, Mémoire de master : Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales de la région d'Azail (Tlemcen-Algérie), université Aboubakr Belkaid-Tlemcen, **2017**.

- [14] DAOUDA Toure, Thèse de doctorat: Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire, université Félix Houphouët- Boigny, **2015**.
- [15] HAMDANI Hassan, BOUREGA.Housseem Eddine, Mémoire de mastère : Effet insecticide de l'huile essentielle de pittosporum tobira (pittosporaceae) sur l'insecte ravageur du blé en post-récolte, universités Djilali bounaama de khemis-Miliana, **2017**.
- [16] SOFI IMTIYAZ Ali, GOPALAKRISHNAN.B, VENKATESALU.V, Photochemistry and pharmacological properties of achillea millefolium L, Phototherapy research, *Wiley online Library*, 1140–1161, **2017**.
- [17] SCHAAL Stéphanie, Thèse de doctorat : Les plantes médicinales des pelouses calcaires de la réserve naturelle des Montenach, université Henri Poincaee-Nancy1, **2010**.
- [18] BATTAIER Taoufik, TISSAOUI Tahar, DALY Najer, AINI Rafik, Plantes florales a massifs en tunisie, Republique tunisienne ministere de l'agriculture, *De l'environnement et des ressources hydrauliques*, 1-104, **2004**.
- [19] Rioux Alain, Barrette Johanne Aliksir, filière des plantes médicinales biologiques du Québec, L'Achillée millefeuille, *guide de production sous régie biologique, Québec*, 1-28, **2009**.
- [20] Weber M, Knoy C, Kindscher K, Brown R C D, Niemann S, Chapman J, Identification of medicinally active compounds in prairie plants by HPLC couple to electron impact-mass spectrometry, *American Laboratory* 39, 9-11, **2007**.
- [21] Oswiecimska M, Korrelation zwischen Chromosomenzahl und Prokamazulenen in Achillea von Osteuropa, *Planta Medica* , 25,389-394, **1974**.
- [22] Orav A, Arak E, Raal A, Phytochemical analysis of the essential oil of Achillea millefolium L from various European Countries, *Natural product research* 20, 1082-1088, **2006**.
- [23] Orav A, Kailas T, Ivask K, Composition of the essential oil from Achillea millefolium L from Estonia, *Journal of Essential Oil Research*, 13, 290-294, **2001**.
- [24] EL KALAMOUNI Chaker, Thèse de doctorat : Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plante aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, université de Toulouse, **2010**.
- [25] Huile essentielle d'Achillée millefeuille : comment l'utiliser correctement ? Théophane de la charie, et l'équipe de la compagnie des sens.

<https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-achillée-millefeuille/>

- [26] BOUARFA Mahdi, Aromathérapie. Propriétés thérapeutiques et réglementation des huiles essentielles, *Techniques de l'ingénieur : Cosmétiques : ingrédients* ,89-96, **2019**.
- [27] FERKOUS Imene, Mémoire de master : Les huiles essentielles et l'aromathérapie. Cas de la menthe poivrée (*Mentha x piperita*), université des Frères Mentouri Constantine, **2016**.
- [28] LAURENT Julia, Thèse de doctorat : Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine, université Paul Sabatier Toulouse III, **2017**.
- [29] DESCHEPPER Robin, Thèse de doctorat : Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie, université d'Aix-Marseille, **2017**.
- [30] DESMARES Catherine, LAURENT Anne, DELERME Céline, Document : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé : Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielle de l'Afssabs (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé) : contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles, **2008**.
- [31] BRUNETON J, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales Paris, Lavoisier, **1993**.
- [32] DJIBO Alfa Keita, Thèse de doctorat : Analyse des huiles essentielles de quelques plantes de la flore du BURKINA FASO appartenant aux familles des lamiaceae (*hyptis spiciger lam*, *hyptis suaveolens ppoit*, *ocimum americanum L*) et des poaceae (*cymbopogon schoenanthus L*) Spreng, *Cymbopogon giganteus Chiov* et *Cymbopogon citratus (CD) Stapf*, université d'Ouagadougou, **2000**.
- [33] ZARITH ASYIKIN Abdul Aziz, AKIL Ahmed, SITI HAMIDAH Mohd Setapar, ALPTUG Karakucuk, MUHAMMAD Mohsin Azim, DAVID Lokhat, MOHD Rafatullah, MAGDAH Ganash, MOHAMMAD A Kamal, GHULAM Mohammed ashref, Essential oils : Extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential- A review, *Bentham science, Current Drug Metabolism*, 1100-1110, **2018**.
- [34] OUIS Naouel, Thèse de doctorat : Étude chimique et biologiques des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil, université d'Oran, **2015**.
- [35] BETTAHAR Ridha, Mémoire de master : Extraction des huiles essentielles, analyse par FT-IR et UV-Visible, université Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem, **2015**.

- [36] FEKIH Nadia, Thèse de doctorat : Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre pinus poussant en Algérie, université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, **2015**.
- [37] ELHADDAD Salah. Mémoire de master: Les extrais des plantes médicinales, université Abdelhamid Ibn Badis –Mostaganem, **2014**.
- [38] HESSAS Thafsouth, SIMOUD Sounia, Thèse de doctorat : Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de Thymus sp, université Mouloud Mammeri-Tizi-Ouzou, **2018**.
- [39] PIOCHON Marianne, Mémoire de master : Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : Composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse, université du Québec, **2008**.
- [40] LARBI Souhila., RABAH Souhila, Mémoire de master : Étude de l'efficacité des huiles essentielles de curcuma longa comme un Biopesticide cas antifongique, université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, **2014**.
- [41] BOUGHENDJIOUA Hicham, Thèse de doctorat : Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau, Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de Citrus limon, Cinnamomum zeylanicum et Thymus numidicus, université Badji-Mokhtar – Annaba, **2015**.
- [42] BESSAH R, BENYOUSSEF El-Hadi, La filière des huiles essentielles, Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques, *Revue des Energies Renouvelables*, vol 18, N°3, 513-528, **2015**.
- [43] BOUKHATEM Mohamed Nadjib, FERHAT Amine, KAMELI Abdelkrim Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles, *Revue Agrobiologia*, 1653-1659, **2019**.
- [44] ATTOU Amina, Thèse de doctorat : Détermination de la composition chimique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques de l'ouest algérien (région d'Ain Témouchent), étude de leurs activités antioxydante et antimicrobienne, université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, **2017**.
- [45] BENOUALI Djilali : Extraction et identification des huiles essentielles, Polycopie Contrôle de qualité, **2015**.
- [46] GAYDA Arnaud, Thèse de doctorat : Etude des principales huiles essentielles utilisées en Rhumatologie, université Toulouse III Paul Sabatier, **2013**.
- [47] BOUSBIA Nabil, Thèse de doctorat : Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires, université d'Avignon, **2011**.

- [48] BOUADJEMI Khaled, Mémoire de master : Etude comparative des différentes parties de la plante romarin «*Rosmarinus officinalis*» par rapport aux pouvoirs antibiotiques sur le yaourt, université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, **2018**.
- [49] MEBARKI Rim, BOUGUEFFA Ilham, Mémoire de master : Mise en évidence des huiles essentielles de quelques plantes médicinales, université Larbi Ben M'hidi- Oum el Bouaghi, **2012**.
- [50] ECHCHAOUI Meryem, Thèse de doctorat : Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles, université Mohammed V – Rabat, **2018**.
- [51] LAMINE Sarra, Mémoire de Master : Les huiles essentielles et l'aromathérapie, université Mohamed Boudiaf - M'SILA, **2019**.
- [52] MAOUCHE Naoual, BAZIZ Nouara, Mémoire de master : Effets des huiles essentielles et des extraits éthanoliques du thym sur les propriétés physicochimiques et biologiques du PLA, université de Bejaia, **2018**.
- [53] HAMEURLAINE Samir, Mémoire de magister : Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* de la région de Ghardaïa, université de Kasdi Merbah– Ouargla, **2009**.
- [54] BOUGHENDJIOUA Hicham, Thèse : Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau : Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Thymus numidicus*, université Badji-Mokhtar – Annaba, **2015**.
- [55] SUTOUR Sylvain, Thèse de doctorat : Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de Corse et de Kumquats, université de Corse Pascal Paoli, **2010**.
- [56] BURGOT G, BURGOT J.L, Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications: Méthodes chromatographiques électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques, 3ème Edition Tec & Doc Lavoisier, **2011**.
- [57] <https://bio-environnement.blogspot.com/2018/12/huiles-essentielles-analyse-par.html>
- [58] BENAZZOUZ Mohammed Azzedine, Thèse de doctorat : Les huiles essentielles, importance et potentialités : mise à jour bibliographique des dernières recherches sur leurs emplois et toxicité et analyse de la composition des huiles essentielles de quinze plantes des plus consommées au Maroc, université Mohammed V, **2011**.
- [59] HAMLAOUI Haoues, Mémoire de master : Étude comparative des huiles essentielles de la plante *Rosmarinus officinalis*, université Larbi Ben M'hidi- Oum el Bouaghi, **2011**.

- [60] BOUKABACHE Meriem, BOUDJEFDJOUF Fatima Zohra, Mémoire de master : Extraction, identification de l'huile essentielle par CPG-SM de l'espèce Citrus limon et mise en évidence de son activité antibactérienne. Fabrication du parfum, université des Frères Mentouri Constantine, **2016**.
- [61] CONSTANTIN E, Spectrométrie de masse, Lavoisier Tec & Doc, Paris, **1996**.
- [62] CAVALLI Jean-François, Thèse de doctorat: Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du Carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar, université de Corse Pascal Paoli, **2002**.
- [63] LUCACCIONI F, DENAYER R, Tilquin B, Pour une analyse des huiles essentielles, *Chimie Nouvelle - vol 11, n' 43 - 09/93*, 1253-1257, **1993**.
- [64] PAULO Sergio Daniel, BOTELHO Lourenço Emerson Luiz, Rayane Monique Sete da Cruz, Carlos Henrique De Souza Gonçalves, Luiz Renato Marques Das Almas, Jaqueline Hoscheid, Camila da Silva, Ezilda Jacomassi, Liberato Brum Junior, Odair Alberton, Composition and antimicrobial activity of essential oil yarrow (*Achillea millefolium* L), *Australian journal of Crop science*, 545-550, **2020**.
- [65] ALKAN Mustafa, Chemical composition of *Achillea millefolium* L (Asteraceae) essential oil and insecticidal effect against sitophilus granaries Coleoptera: Curculionidae) and *Rhyzopetha dominica* (Coleoptera: Bostichidae), *Plant protection bulletin*, 85-93, **2020**.
- [66] TURKMENOGLU Fatma Pinar, TUNCAY AGAR Osman, Galip Akaydin, Mutlu Hayran, DEMERCI Betul, Characterization of volatile compounds of eleven *Achillea* species from Turkey and biological activities of essential oil and methanol extract of *A. hamzaoglu* Arabaci & Budak, *Molecules*, 11432-11458, **2015**.
- [67] YOUSEFZADEH Noorkhoda, ZEINIVAND Javad , Essential oil composition of *Achillea millefolium* growing in Darrehshahr township, *Iranian Chemical Communication*, 153-156, **2013**.
- [68] AZIZI M, CHIZZOLA R, GHANI A, OROOJALIAN F, Composition at different development stages of the essential oil of four *Achillea* species grown in Iran, *Nat Prod Commun*, 5 (2), 283–290, **2010**.
- [69] ABDOSSI.V, KAZEMI.M, Bioactivities of *Achillea millefolium* essential oil and its main terpenes from Iran, *Int J Food Prop*, 19 (8), 1798–1808, **2016**.
- [70] ALVARENGA I.C.A, BOLDRIN P.F, PACHECO F.V, SILVA S.T, BERTOLUCCI S.K.V, PINTO J.E.B.P, Effects on growth, essential oil content and composition of the volatile fraction of *Achillea millefolium* L Cultivated in

hydroponic systems deficient in macroand microelements, *Sci Horti*, 197, 329–338, **2015**.

- [71] VERMA R.S, JOSHI N, PADALIA R.C, GOSWAMI P, SINGH V.R., Chauhan, A., VERMA S.K., IQBAL H, VERMA R.K, CHANDA D, SUNDARESAN V, DAROKAR M.P, Chemical composition and allelopathic, antibacterial, antifungal and in vitro acetylcholinesterase inhibitory activities of yarrow (*Achillea millefolium* L.) native to India, *Ind. Crops Prod*, 104, 144–155, **2017**.
- [72] PADUCH R, MATYSIK.G, NOWAK-KRYSKA M, NIEDZIELA P, KANDEFER-SZERSZEN M, Essential oil composition and in vitro biological activity of *Achillea millefolium* L. Extracts, *J Pre-Clin Clin Res*, 2, 49–58, **2008**.
- [73] SMELCEROVIC A, LAMSHOEFT M, RADULOVIC N, ILIC D, PALIC R, LC–MS analysis of the essential oils of *Achillea millefolium* and *Achillea crithmifolia*, *Chromatographia*, 71, 113–116, **2010**.
- [74] JUDZENTINE Asta, Atypical chemical profiles of wild yarrow (*Achillea millefolium* L) essential oils, *Records of natural products*, 262-268, **2015**.
- [75] JUDPENTIENĖ Asta, MOCKUTĖ Danutė, Chemical composition of essential oils produced by pink flower inflorescences of wild *Achillea millefolium* L, *Chemija*, 28–32, **2004**.
- [76] E E Aziz, E M Badawy, V.D Zheljakov, S.M Nicola, H Fouad, Yield and chemical composition of essential oil of *Achillea millefolium* L as affected by harvest time, *Egypte J Chem* 62, N°3, 533- 540, **2019**.
- [77] ALMADIY A.A, NENAAH G.E, ASSIUTY B.A.A, MOUSSA E.A, Chemical composition and antibacterial activity of essential oils and major fractions of four *Achillea* species and their nanoemulsions against foodborne bacteria, *LWT-Food Sci Technol* 69, 529–537, **2016**.
- [78] COSTESCU Corina Iuliana, RĂDOI Bogdan Petru, HĂDĂRUGĂ Nicoleta Gabriela, TEODORA GRUIA Alexandra, RIVIȘ Adrian, PÂRVU Dorel, DAVID Ioan, HĂDĂRUG Daniel Ioan, Obtaining and characterization of *Achillea millefolium* L extracts, *Journal of agroalimentary processes and technologies*, 142- 149, **2014**.
- [79] FERHADI Nesrin, BABAEI Kheyrollah, FARSARAEI Sara, MOGHADDAM Mohammad, GHASEMI PIRBALOUTI Abdollah, Changes in essential oil compositions, total phenol, flavonoids, and antioxidant capacity of *Achillea millefolium* at different growth stages, *Industrial crops and products*, 1-6, **2020**.
- [80] AFSHARI M, RAHIMMALEK M, Variation in essential oil composition, bioactive compounds, anatomical and antioxidant activity of *Achillea aucheri*, an

endemic species of Iran, at different phenological stages, *Chem. Biodivers*, 15 (11), **2018**.

- [81] VERMA R.S, JOSHI N, PADALIA, R.C, GOSWAMI P, SINGH V.R, CHAUHAN A, VERMA S.K, IQBAL H, VERMA R.K, CHANDA D, SUNDARESAN V, DAROKAR M.P, Chemical composition and allelopathic, antibacterial, antifungal and in vitro acetylcholinesterase inhibitory activities of yarrow (*Achillea millefolium* L) native to India, *Ind Crops Prod*, 104, 144–155, **2017**.
- [82] MIRAHMADI S.F, SEFIDKON F, HASSANDOKHT M.R, HASSANI M.E, Essential oil content and composition of *Achillea biebersteinii* Afan in different plant parts and phenological stages, *Journal of essential oil research*, 24 (1), 25–29, **2012**.
- [83] BOUKHRIS M, HADRICH F, CHTOUROU H, DHOUIB A, BOUAZIZ M, SAYADI S, Chemical composition, biological activities and DNA damage protective effect of *Pelargonium graveolens* L'Hér, Essential oils at different phenological stages, *Ind. Crops Prod*, 74, 600–606, **2015**.
- [84] BIMBIRAITE K, RAGAZINSKIENE O, MARUSKA A, KORNYSOVA O, Comparison of the chemical composition of four yarrow (*Achillea millefolium* L) morphotypes, *Biologija*, 54, 208–212, **2008**.
- [85] AYDIN Sinem, SEVINDIK Emre, *Achillea millefolium* L subsp *millefolium* essential oil's antifungal effect, *European Journal of Biological Research*, 153-156, **2018**.
- [86] EL-KALAMOUNI C, VENSKUTONIS PR, ZEBIB B, MEROH O, RAYNAUD C, TALOU T, Antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Achillea millefolium* L grown in France, *Medicines (Basel)*, 30-39, **2017**.
- [87] Karamenderes C, Karabay NÜ, Zeybek U, Composition and antimicrobial activity of the essential oils of some *Achillea* L. species in Turkey, *Acta Pharmaceuturc*, 221-225, **2002**.
- [88] CANDAN F, UNLU M, TEPE B, DEFERARA D, POLISSIOU M, SÖKMEN A, AKPULAT H.A, Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp *millefolium* Afan (Asteraceae), *Journal Ethnopharmacol*, 215-220, **2013**.
- [89] FALCONIERI D, PIRAS A, PORCEDDA S, MARANGIU B, GONÇALVES M.J, CABRAL C, Chemical composition and biological activity of the volatile extracts of *Achillea millefolium*, *Nat Prod Commun*, 1527-1530, **2011**.

- [90] MOHAMMADHOSSEINI M, SARKER S.D, AKBARZADEH A, Chemical composition of the essential oils and extracts of *Achillea* species and their biological activities: A review *J Ethnopharmacol*, 199: 257–315, **2017**.
- [91] SI Ali, B Gopalakrishnan, V Venkatesalu, Pharmacognosy, phytochemistry and pharmacological properties of *Achillea millefolium* L : A Review *Phytother Res* 31, 1140–1161, **2017**.
- [92] Tzakou O, Pitarokili D, Chinou IB, Harvala C, Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Salvia ringens*, *Planta Med*, 67: 81–83, **2001**.
- [93] ILBERT Hélène, HOXHA Valter, SAHI Lamia, COURIVAUD Alix, CHAILAN Claude, BOUDJELAL Amel, HENCHIRI Cherifa, SARI Madani, SARRI Djamel, HENDEL Noui, Document : Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie, *CIHEAM*, 103-104, **2016**.
- [94] BENKHALED Abderrahim, RUBERTO Giuseppe, Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (NorthAlgeria): An ethnopharmacology survey, *Journal of ethnopharmacology*, 395-402, **2013**.
- [95] SINGH O, KHANAM Z, MISRA N, SRIVASTAVA MK, Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview, *Pharmacogn Rev*, 5: 82-95, **2011**.
- [96] B CARNEIRO Fabiola, D JUNIOR Irinaldo, Q LOPES Pablo, O MACEDO Rui, Variação da quantidade de β -cariofileno em óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng, Lamiaceae, sob diferentes condições de cultivo, *Rev Bras Farmacogn*, 20: 600-606, **2010**.