



# ETUDE DE LA VARIABILITÉ CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE *Ravensara aromatica* Sonnerat

Par ANDRIANOELISOA Hanitriniaina



Octobre 2009

# Objectif de l'étude

- Tenter de comprendre et expliquer la variabilité chimique des HE de *Ravensara aromatica*

# *Ravensara aromatica*, Lauraceae

-**endémique** de Madagascar

-Se rencontre dans les forêts denses, sempervirentes et humides de moyenne altitude, de l'Est de Madagascar

-Nom malgache: **Hazomanitra** (Hazo: **arbre**; manitra: **sent bon**)

-Le renouvellement du peuplement de *R. aromatica* s'effectue par **régénération naturelle** (dissémination des graines, drageons, rejets)

Propagation végétative par bouturage possible

-**productrice d'huiles essentielles**



## ➤ Grande diversité sur les résultats publiés

- o HE à méthyl chavicol
- o HE à méthyl eugénol
- o HE à  $\alpha$ -terpinène et limonène
- o HE sabinène et limonène
- o HE riche 1,8-cinéole (confusion entre terme «Huile de *Ravensara aromatica*» et «Huile Ravintsara» (*C. camphora*))

## ➤ Doutes et confusion



# Méthodologie

Echantillonnage

Feuilles  
Ecorces  
Tiges  
Racines  
Fruits



•Collecte  
•arbre/arbre  
(316 arbres)

200-400g

Distillation

Durée: 3h

Caractérisation:

CPG; CPG/SM

Spectroscopie proche infrarouge

Analyse olfactive: CPG-O

Traitement des données

ACP, CAH, K-means, AFD; PLS-DA

Evaluation biologique

Méthode du DPPH; Aromatogramme; Microatmosphère



# **Etude de la variabilité chimique**

**Etude de la variabilité individuelle**

**Examen des facteurs de variabilité**

**Conditions de distillation**

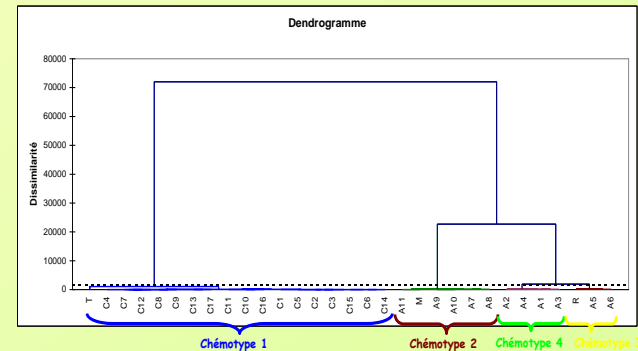
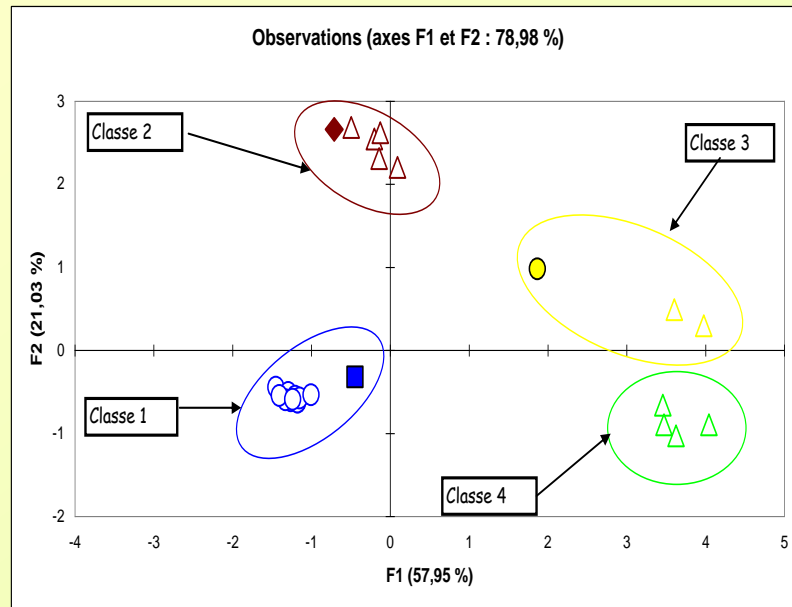
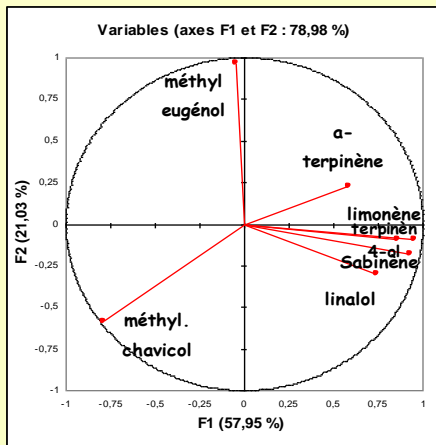
**Influence de la déshydratation des feuilles**

**Influence de la date de récolte**

**Influence de la partie de la plante examinée**

**Influence de l'origine géographique**

# Analyse Statistique



1. Représentation des variables structurant les axes factoriels F1 et F2

- Morarano
- △ Ampasina
- ◆ Tucker et Maciarelo
- ◇ Mollenbeck
- Raharivelomanana
- Chémotype 1
- Chémotype 2
- Chémotype 3
- Chémotype 4

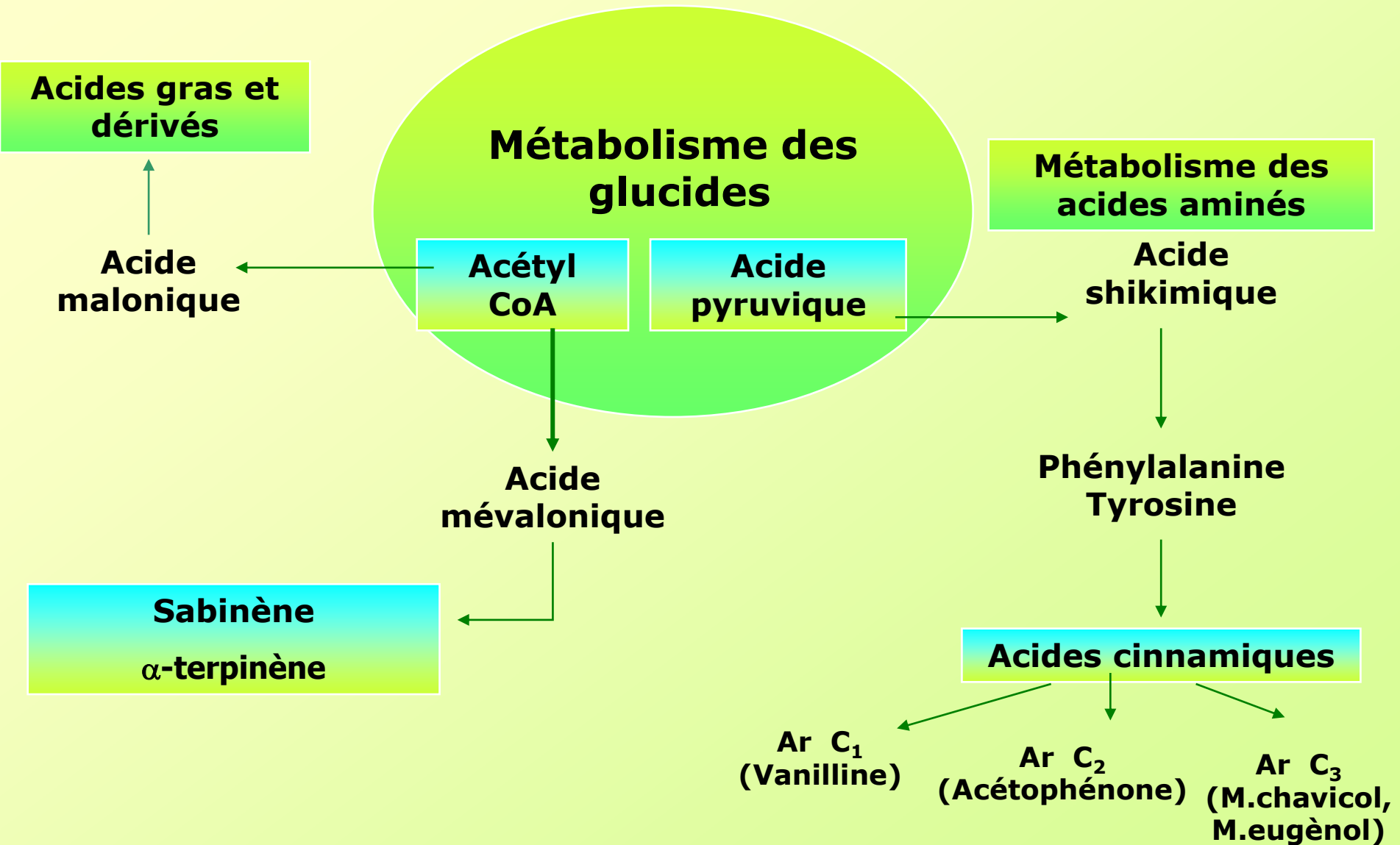
2. Représentation graphique des 28 individus et des trois références bibliographiques visualisées par ACP selon les axes factoriels F1 et F2

3. Dendrogramme de classification des 28 individus

Analyse en composantes principales (ACP)

Classification ascendante hiérarchique (CAH)

# Biosynthèse



# Etude de la variabilité chimique

Etude de la variabilité individuelle

Examen des facteurs de variabilité

Conditions de distillation

(Alambic, appareil type Clevenger)

Influence de la déshydratation des feuilles

(10 arbres 7 temps de séchage)

Influence de la date de récolte

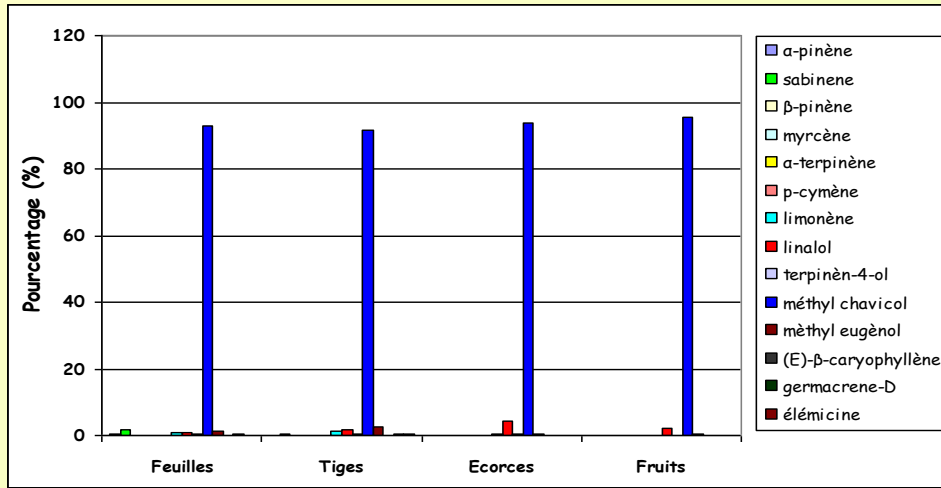
(10 arbres 7 dates de récolte)

Influence de la partie de la plante examinée

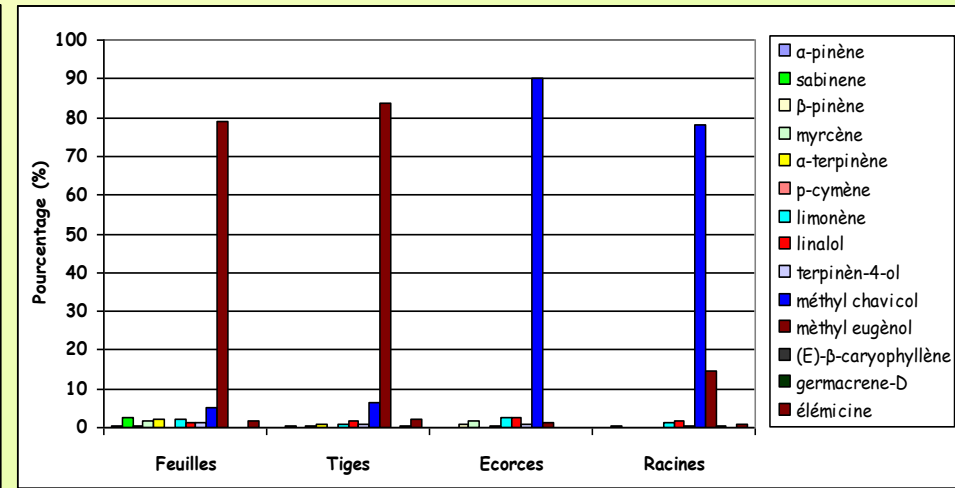
Influence de l'origine géographique

# Individus (arbre, organe de la plante)

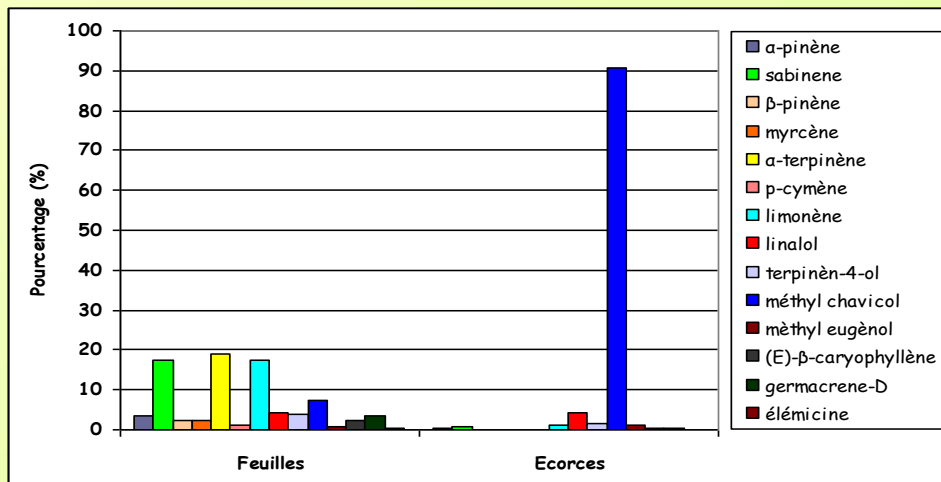
## Chémotype 1



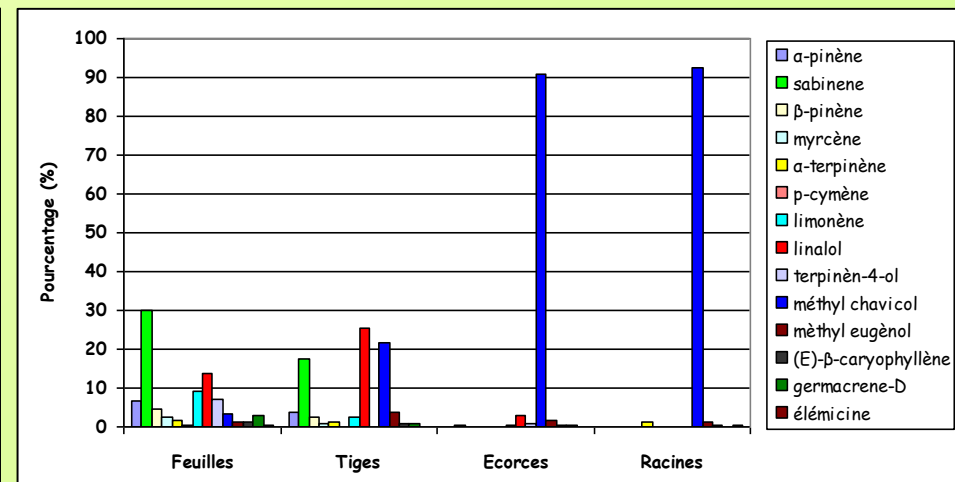
## Chémotype 2



## Chémotype 3



## Chémotype 4



# Etude de la variabilité chimique

Etude de la variabilité individuelle

Examen des facteurs de variabilité

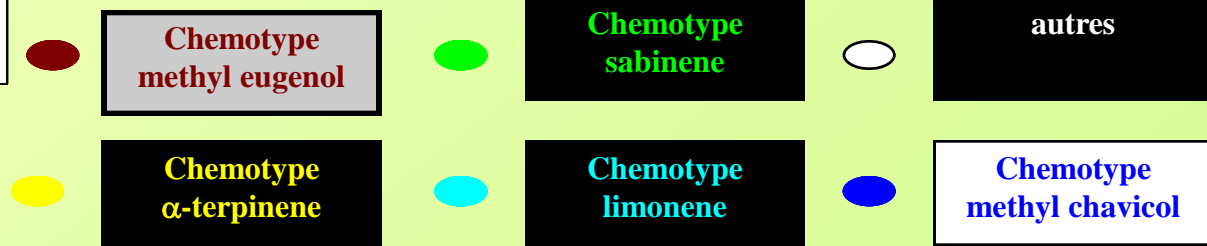
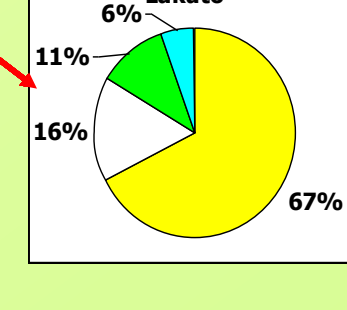
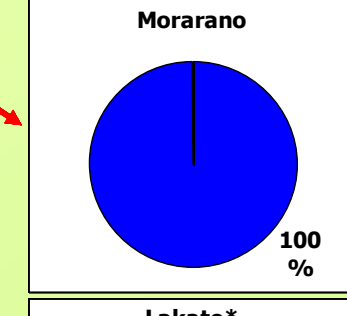
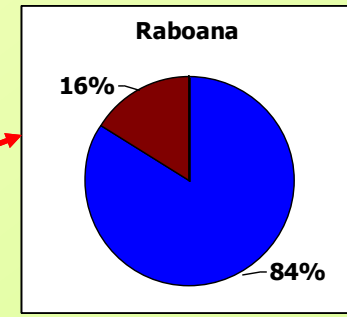
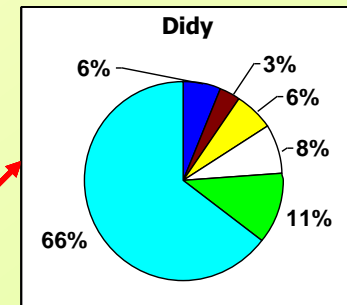
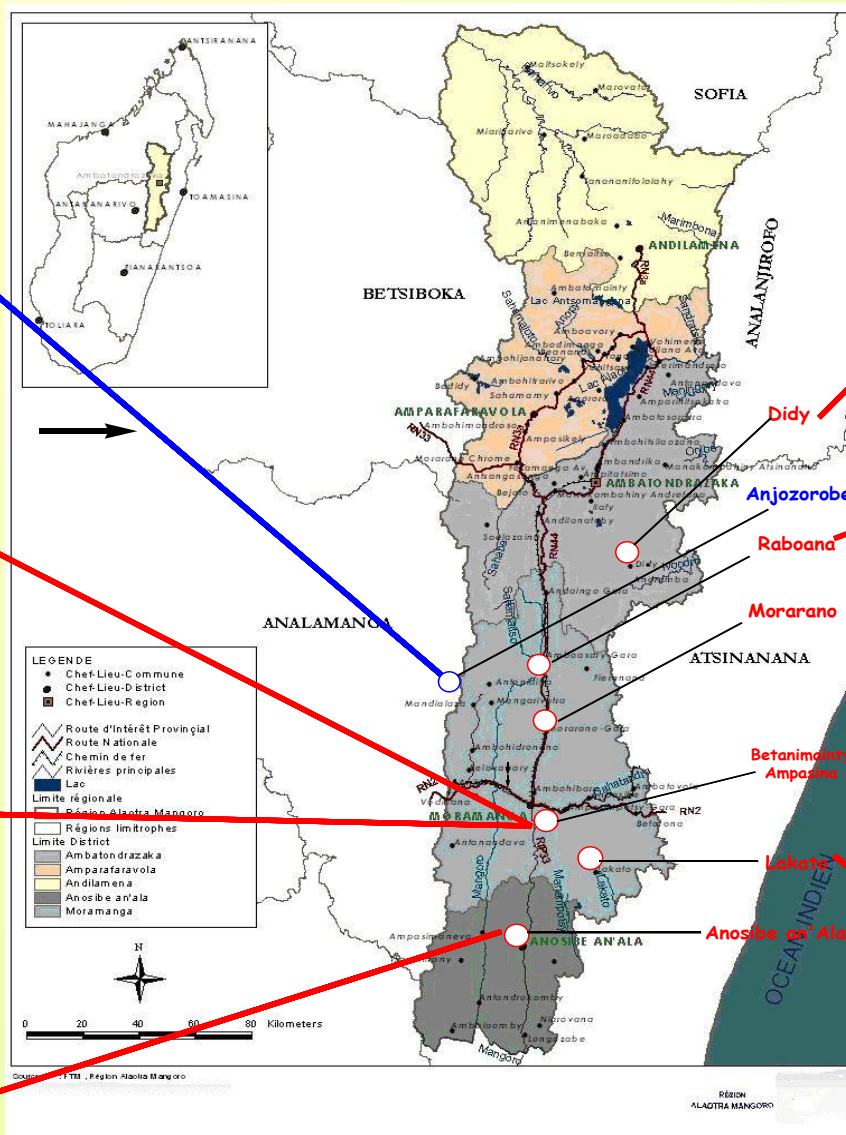
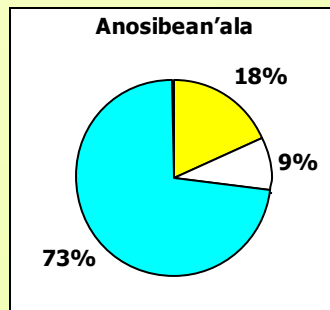
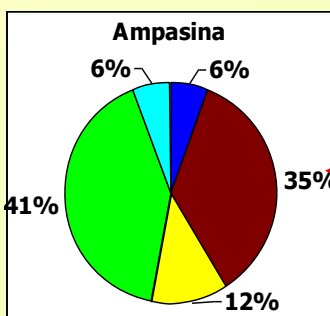
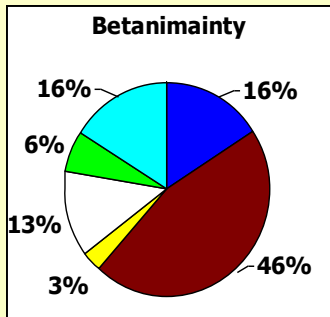
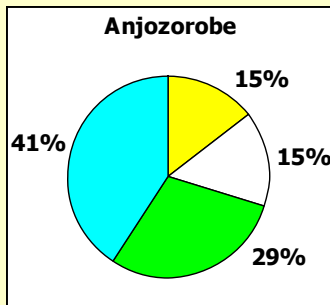
Conditions de distillation

Influence de la déshydratation des feuilles

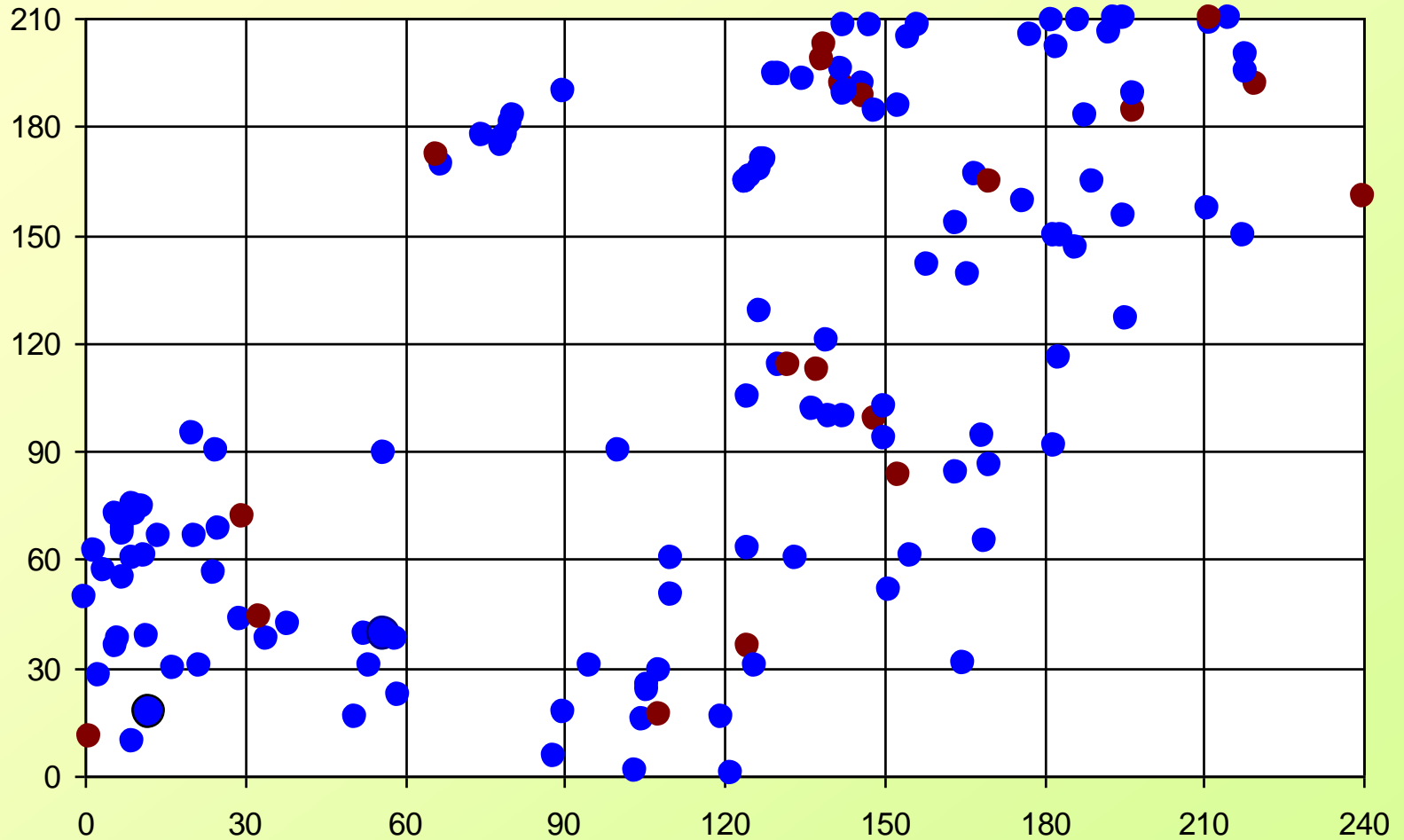
Influence de la date de récolte

Influence de la partie de la plante examinée

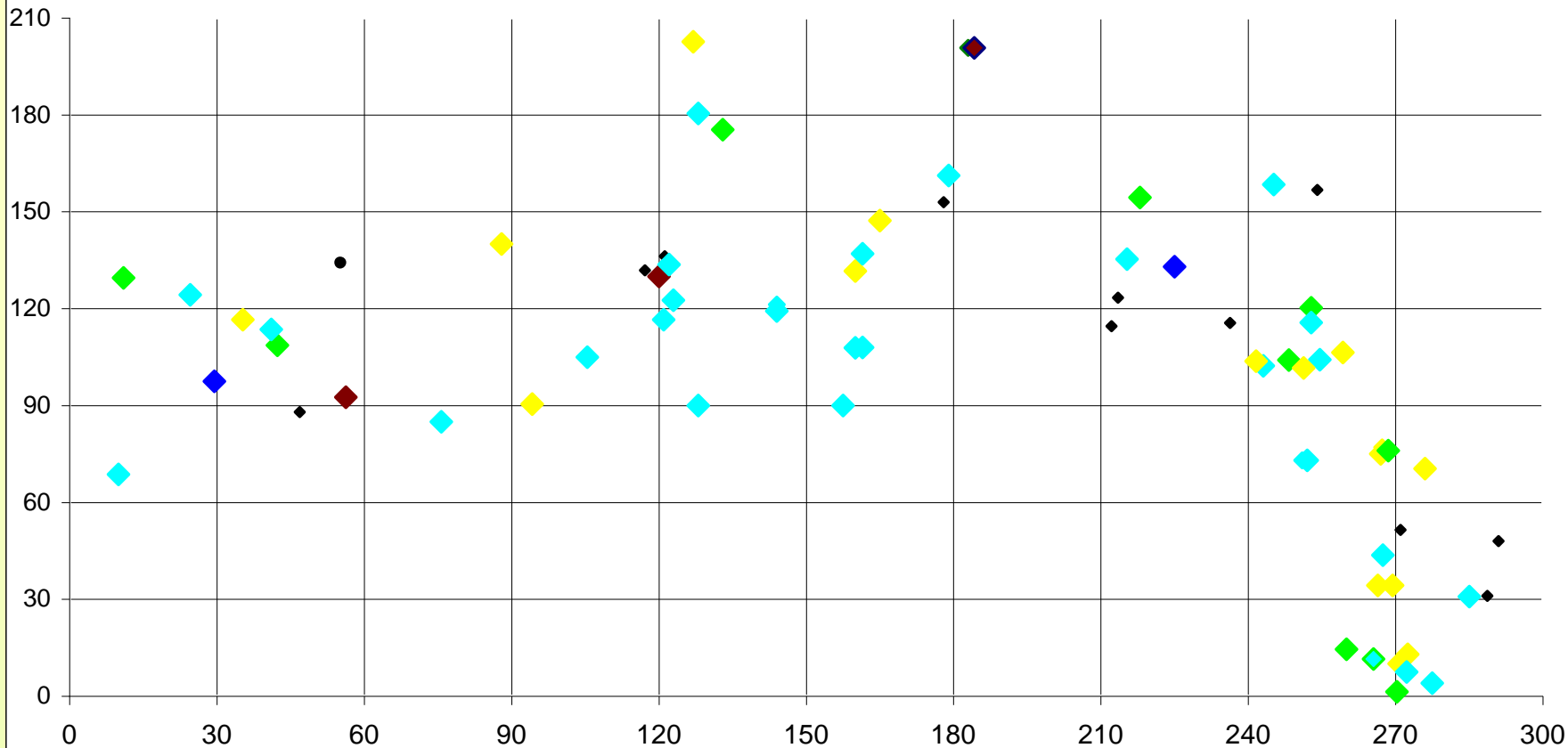
Influence de l'origine géographique



# Forêt de RABOANA



# Forêt de DIDY



chemotype 1



chemotype 3



chemotype 5



chemotype 2

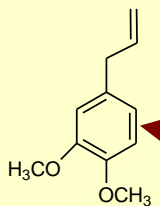


chemotype 4

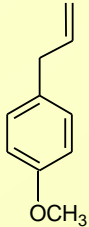


non analysé

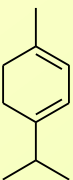
# Bilan sur l'ensemble d'échantillons d'huiles essentielles des feuilles de *R. aromatica*



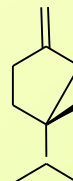
méthyl-eugénol



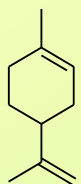
méthyl-chavicol



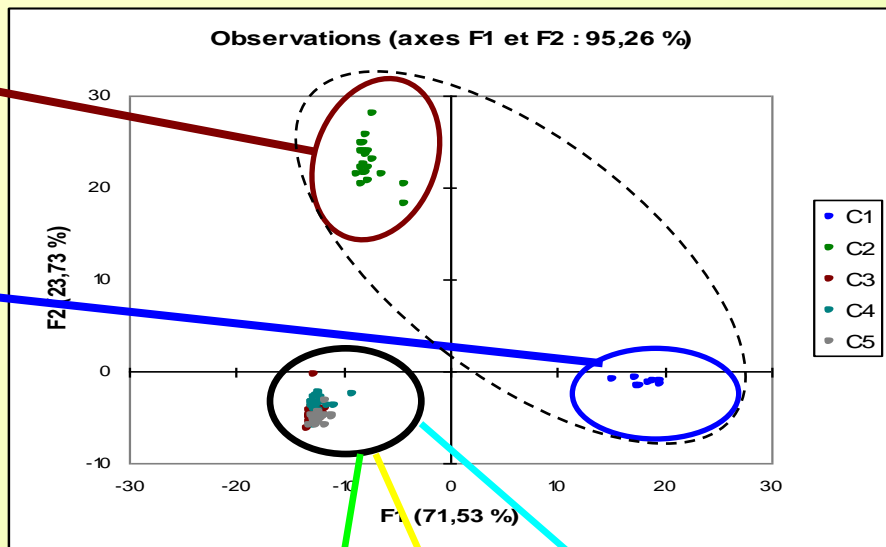
$\alpha$ -terpinène



sabinène



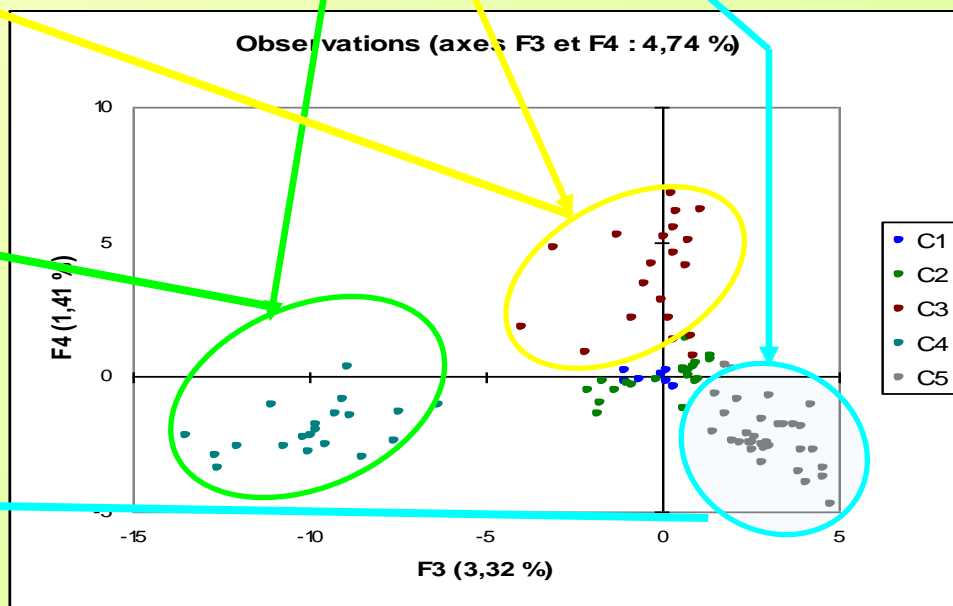
limonène



316 individus

56 constituants identifiés

2 groupes  
chimiques dans  
le plan F1/F2



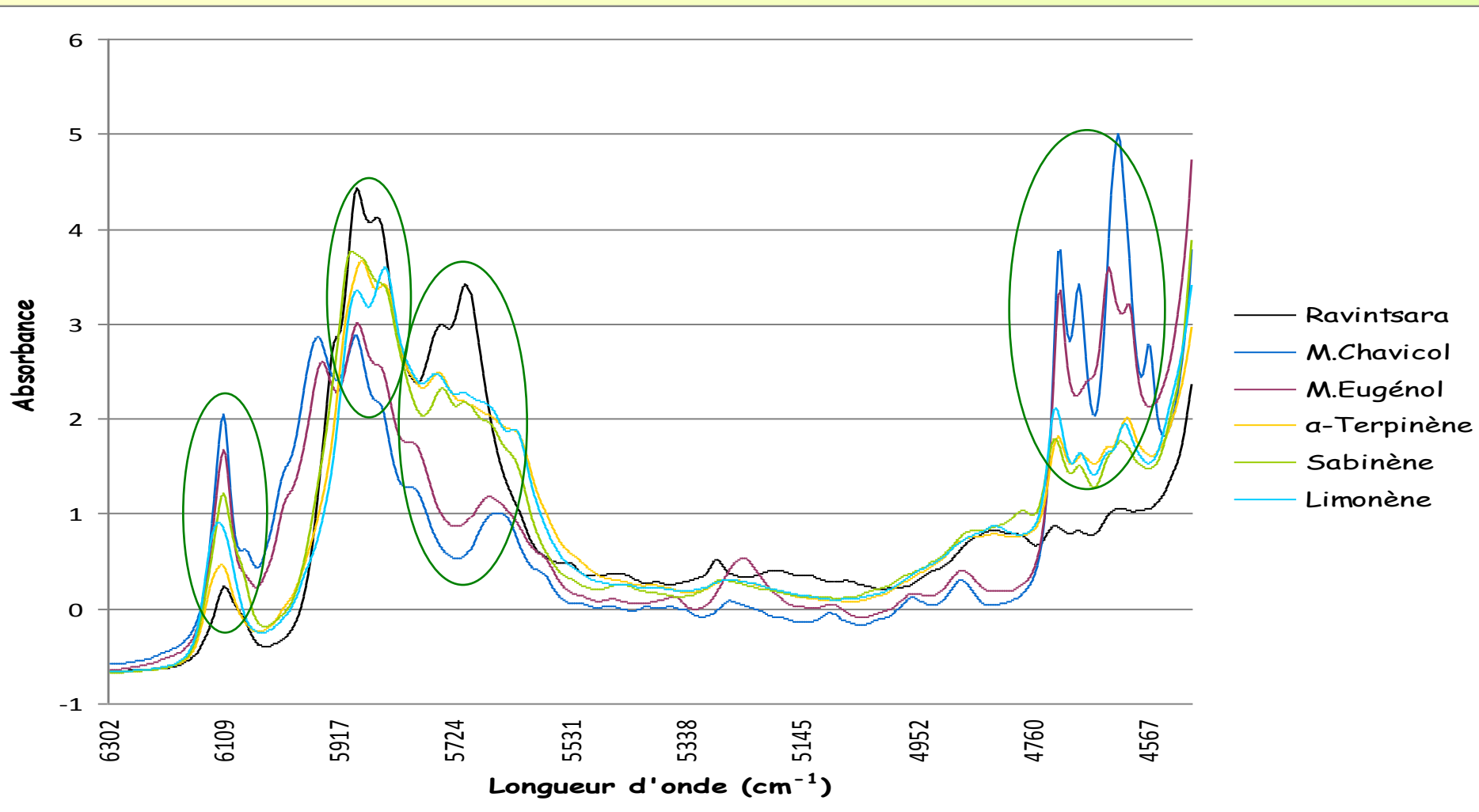
3 classes chimiques  
dans F3/F4

# PLAN

1. Présentation de l'espèce botanique et des zones d'étude
2. Méthodologie
3. Résultats et interprétation
  - Etude de la variabilité chimique  
(NIRS, Analyse olfactive)
  - Caractérisation des chémotypes par d'autres techniques

Conclusion

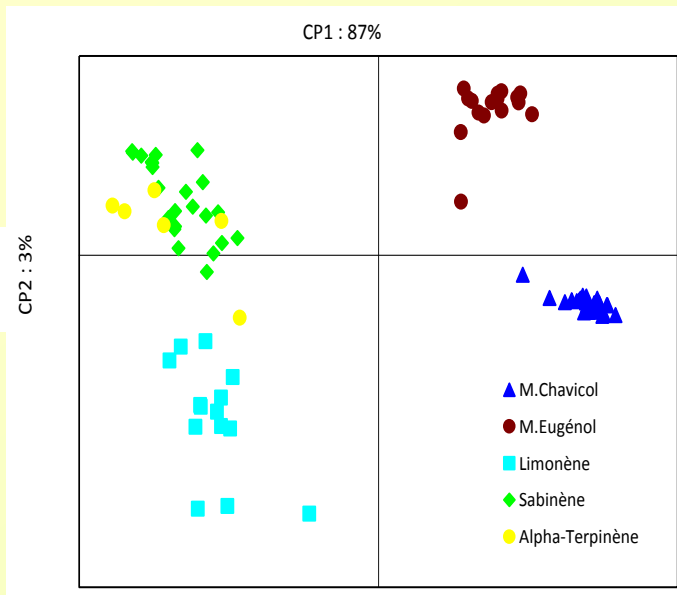
# Spectres 89 Huiles essentielles: *Ravensara* et Ravintsara



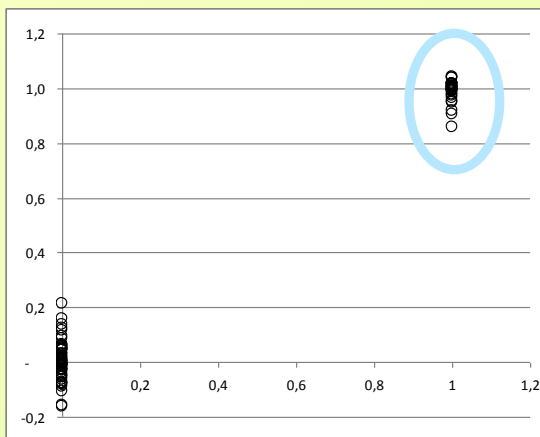
**Distinction des 5 chémotypes et du Ravintsara**

**Score PLS-DA des spectres  
des 89 HE  
des cinq chémotypes préétablis**

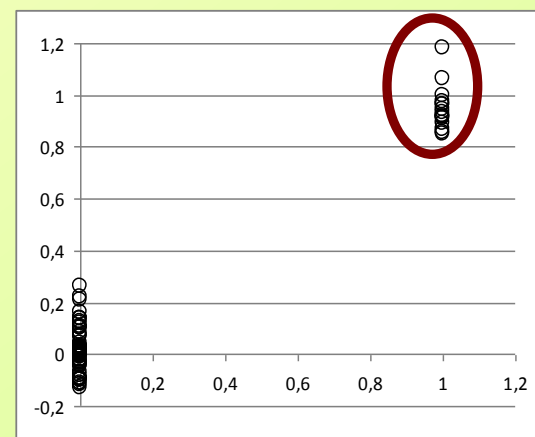
**Résultats de la validation croisée du  
modèle PLS DA pour :**



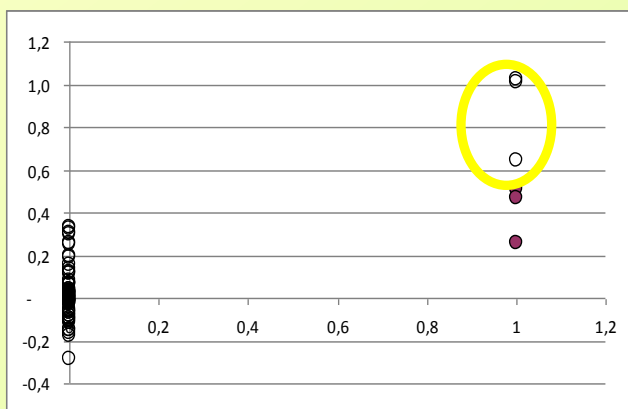
**Chémotype à méthyl chavicol**



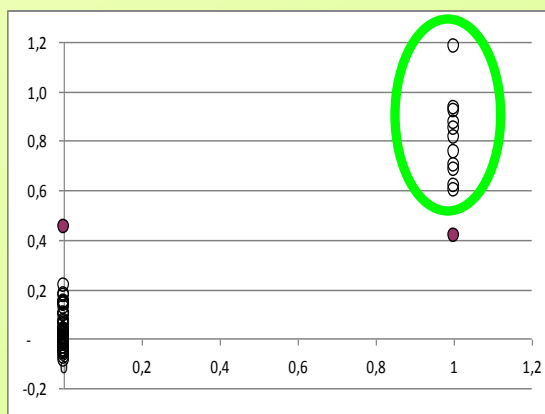
**Chémotype à méthyl eugénol**



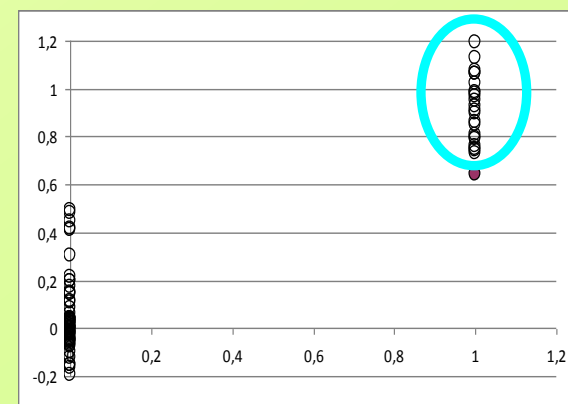
**Chémotype à a-terpinène**



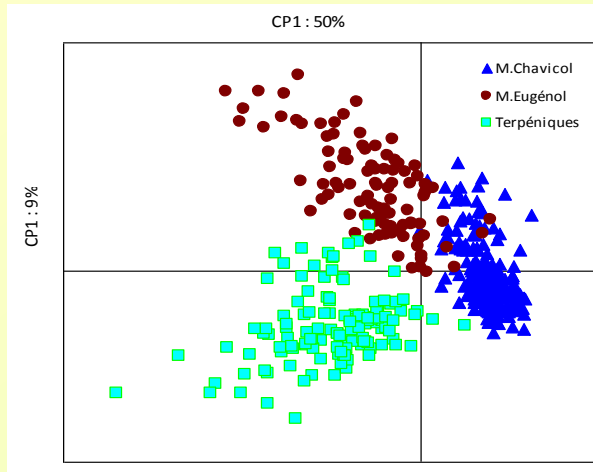
**Chémotype à sabinène**



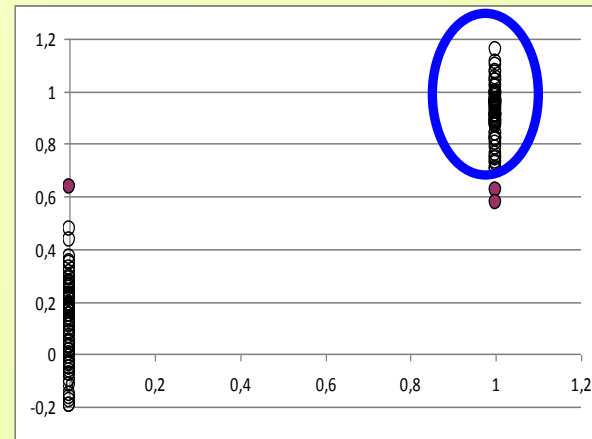
**Chémotype à limonène**



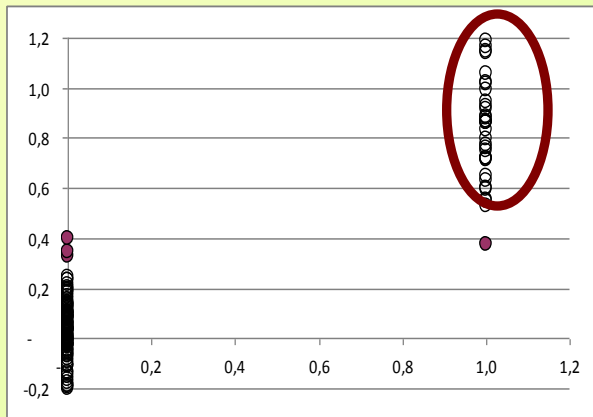
Score PLS-DA des spectres  
des 300 feuilles des trois  
types chimiques



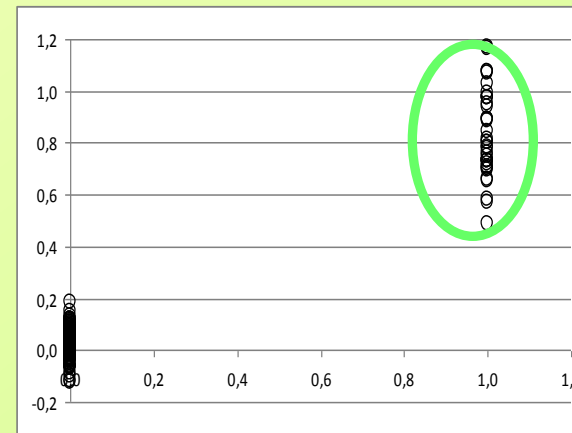
Chémotype à méthyl chavicol  
(2% d'erreur)



Chémotype à méthyl eugénoles  
(2,7% d'erreur)



à composés terpéniques



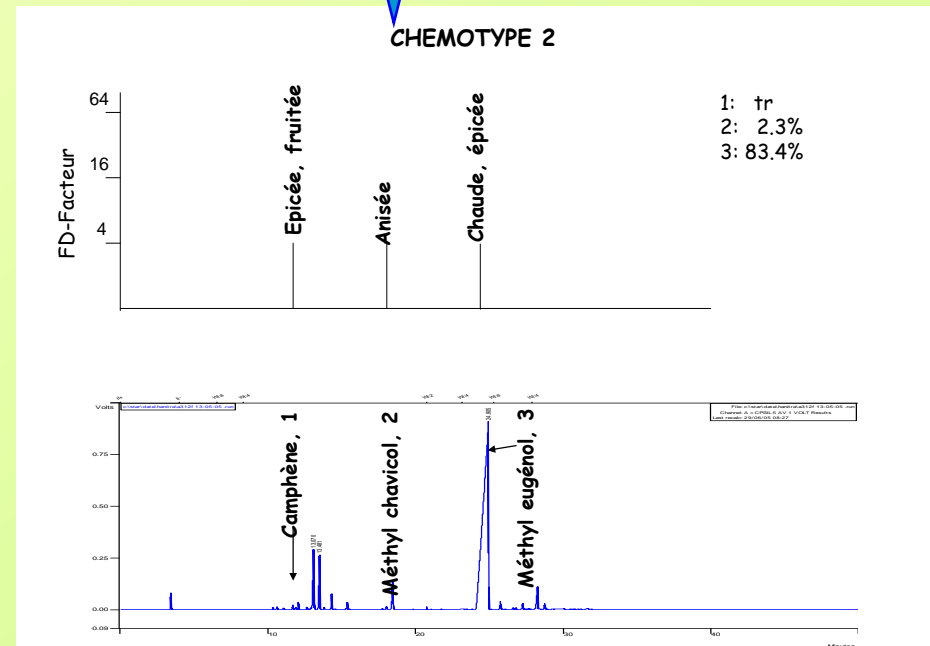
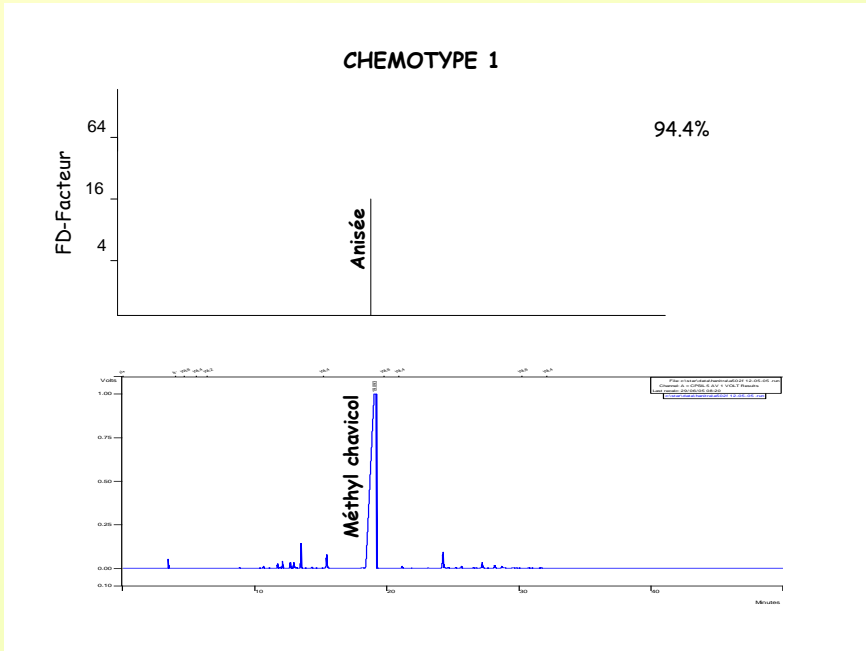
# PLAN

1. Présentation de l'espèce botanique et des zones d'étude
2. Méthodologie
3. Résultats et interprétation
  - Etude de la variabilité chimique  
(NIRS, analyse olfactive)
  - Caractérisation des chémotypes par d'autres techniques

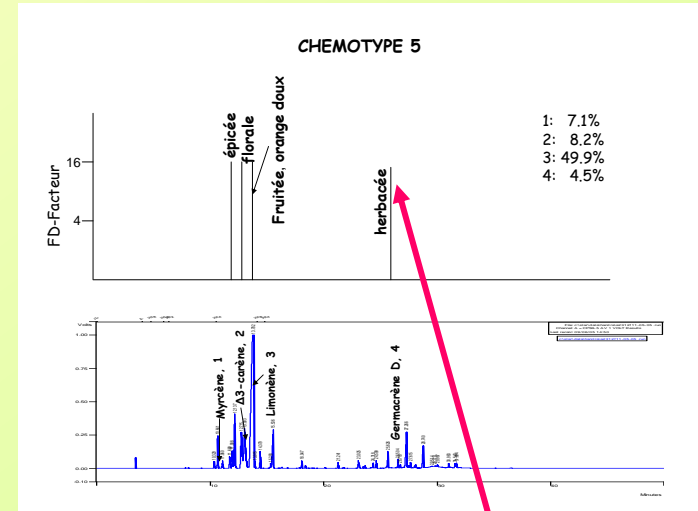
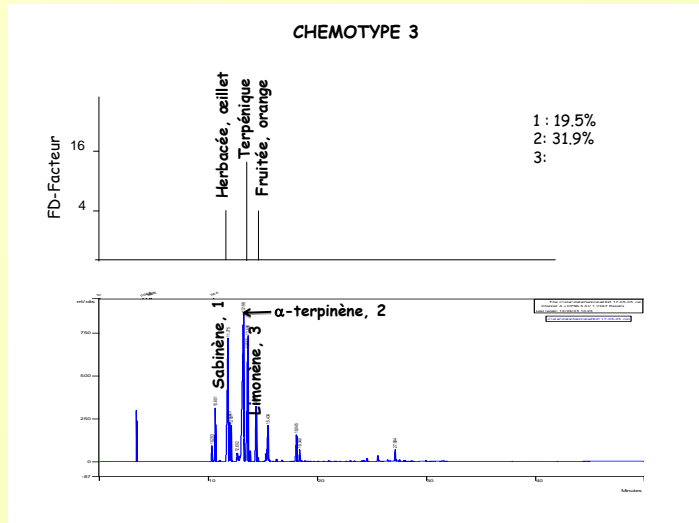
Conclusion

# Aromagrammes et Chromatogrammes des HE des 2 chémotypes à structures aromatiques

**Forte puissance olfactive du méthyl chavicol**

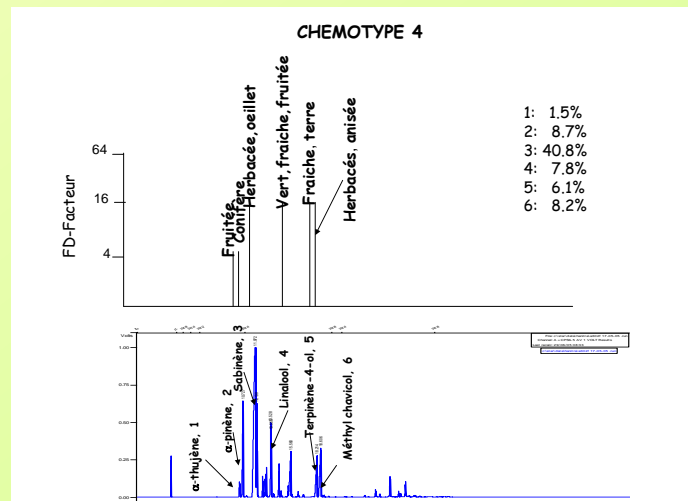


# Aromagrammes et Chromatogrammes des HE des 3 chémotypes à structures terpéniques



Méthyl  
chavicol

Linalol



Germacrène D

# PLAN

1. Présentation de l'espèce botanique et des zones d'étude
2. Méthodologie
3. Résultats et interprétation
  - Etude de la variabilité chimique
  - Caractérisation des chémotypes par d'autres techniques (NIRS, Analyse olfactive)
  - Évaluation des propriétés biologiques des huiles essentielles par chémotype (test antiradicalaire, pouvoir antimicrobien)

Conclusion

# Activité antiradicalaire

Méthode au DPPH

- Faible activité antiradicalaire

Chémotype 5, chémotype 4 les plus actives

# Pouvoir antimicrobien

HE de *Ravensara aromatica*:

- ni fongicide,
- ni bactéricide
- Pas d'activité vis-à-vis

des bactéries Gram (-)

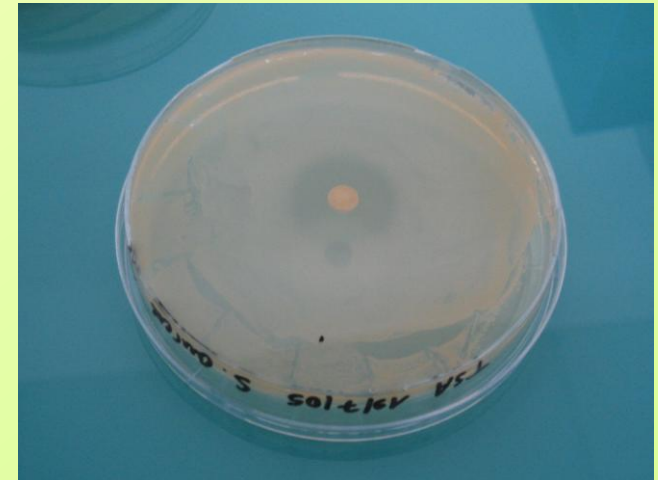
- Plus actives que le témoin vis-à-vis du *S. aureus*

Chémotype 2, chémotype 5 :

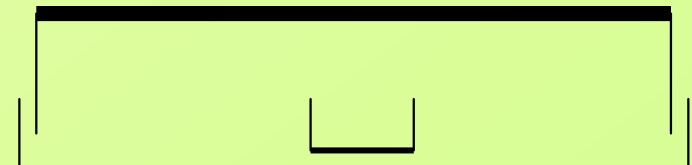
- fongistatiques

Chémotype 1: bactériostatique

Aromatogramme



Microatmosphère



# Utilisations potentielles

Ces huiles ont des propriétés différentes selon leur chémotype :

- HE à méthyl chavicol** : antiseptique,  
cicatrisante
- HE à methyl eugéno**l : anesthésique,  
anticonvulsante  
hypothermique
- HE à limonène** : antivirale,  
anticonvulsante,  
anti-stress,  
antifongique

# Conclusion

- L'étude chimique des 316 huiles essentielles de *Ravensara aromatica* a mis en évidence 56 constituants chimiques caractérisant **cinq chémotypes** après validation par analyse statistique
- La **stabilité** de ces chémotypes a été vérifiée au cours de l'année et d'une génération à l'autre
- **Homogénéité** de la composition chimique des huiles essentielles des écorces et des racines (taux élevé de méthyl chavicol) quel que soit le chémotype défini par les HE des feuilles

- **Similarité** de la composition chimique des huiles des feuilles et celle des tiges. La distillation des rameaux est donc possible (à l'exception du chémotype 4 à sabinène)
- La cartographie des chémotypes de 3 zones d'études a été établie (Variabilité individuelle et effet terroir)
- L'utilisation de la spectroscopie proche infrarouge ou **Nirs** comme **outil de contrôle** du *Ravensara aromatica* pour la détermination précoce et rapide des chémotypes a été un succès
- La détermination des profils olfactifs des huiles essentielles permet d'envisager la sélection olfactive des chémotypes au ramassage, à condition que les collecteurs aient été entraînés et sensibilisés à la technique

# PERSPECTIVES

Compte tenu des résultats obtenus dans cette étude, une proposition d'une gestion durable de cette espèce peut être avancée:

- Contribution à l'élaboration d'un cahier de charge pour la production des huiles essentielles du *R. aromatica*
- Formation et entraînement des collecteurs de feuilles à reconnaître les chémotypes
- Constitution de plantations conservatoires par chémotype
- Exploitation de la ressource sur pied

# REMERCIEMENTS



*Liberté • Égalité • Fraternité*

**RÉPUBLIQUE FRANÇAISE**

**Ministère des affaires  
étrangères**



**Projet FOREAIM**



**FSP MADES  
(France/Madagascar)**



**FOFIFA  
CIRAD  
Université d'Antananarivo  
(Madagascar)**



**ENSCM  
Montpellier (France)**