



Mémoire / Full paper

## *Ocimum gratissimum* L., siège de variations chimiques complexes au cours du développement

Eléonore Yayi <sup>a,\*</sup>, Joachin D. Gbenou <sup>a</sup>, Léon Akanni Ahoussi <sup>a</sup>,  
Mansour Moudachirou <sup>a</sup>, Jean Claude Chalchat <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de pharmacognosie et des huiles essentielles, département de chimie, faculté des sciences–université d'Abomey Calavi, 01 BP 526, Bénin

<sup>b</sup> Laboratoire de chimie des huiles essentielles, université Blaise-Pascal–Clermont-Ferrand-2, campus des Cézeaux, 63177 Aubière cedex, France

Reçu le 28 octobre 2003 ; accepté le 19 décembre 2003

Disponible sur internet le 17 septembre 2004

### Résumé

Deux lots de graines d'*Ocimum gratissimum* OG1 et OG2, provenant de plantes de profils chimiques initialement connus, ont été mis en culture sur cinq sites choisis en fonction de leur situation géographique. Les plantes ont été suivies au cours de leur cycle végétatif. En phase de pleine floraison, un prélèvement de parties aériennes des plantes, fait sur chaque site, montre, après hydrodistillation et analyse chimique par CPG et CPG/SM, une variation de la composition chimique des huiles essentielles en fonction des sites de culture. Cette variation est fortement relative au pourcentage du thymol (T), du gamma terpinène (G) et du *para*-cymène (P), composés majoritaires des huiles. Une étude plus poussée, réalisée sur OG1 pendant une période de huit mois, montre que les pourcentages de T, G et P varient énormément en fonction du cycle végétatif, de l'heure de la récolte et du séchage, la somme T + P+ G restant quasiment constante. Ces résultats, qui expriment des changements rapides et complexes du profil chimique chez *O. gratissimum* et une probable interconversion entre ces composés majoritaires, appellent à la prudence dans l'utilisation des huiles essentielles de cette plante. **Pour citer cet article :** E. Yayi et al., C. R. Chimie 7 (2004). © 2004 Académie des sciences. Publié par Elsevier SAS. Tous droits réservés.

### Abstract

***Ocimum gratissimum* L., site of complex chemical variations during the growth.** Two sets of *Ocimum gratissimum* seed OG1 and OG2 from plants of initially known chemical profile have been planted in five different fields that have been chosen according to their geographical location. The plants have been observed during their vegetative cycle. During the flowering phase, some external parts of the plants have been sampled in each field. After hydrodistillation and chemical analysis by GC and GC/MS, variation of the chemical composition of the essential oils has been pointed out depending on the field. This variation is highly dependent on the percentage of thymol (T), gamma terpinene (G) and *para* cymene (P), major components of these oils. Deep research on OG1 for an eight-month period shows that the percentages of T, G, and P vary a lot depending on the vegetative

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [j-claude.chalchat@univ-bpclermont.fr](mailto:j-claude.chalchat@univ-bpclermont.fr) (J.C. Chalchat).

cycle, the harvest hour and the drying out, the sum T + P + G remaining almost constant. These results, which show the fast and complex changes in the chemical profile of *O. gratissimum* and a probable interconversion between the major components, calls for care in the use of the essential oils of this plant. **To cite this article:** E. Yayi et al., C. R. Chimie 7 (2004).  
© 2004 Académie des sciences. Publié par Elsevier SAS. Tous droits réservés.

**Mots clés :** *O. gratissimum* ; Culture ; Cycle végétatif ; Variation diurne ; Séchage

**Keywords:** *Ocimum gratissimum*; Cultivation; Vegetative cycle; Daily variation; Drying out

## 1. Introduction

*O. gratissimum* est une plante très connue et utilisée au Bénin, aussi bien à des fins culinaires que thérapeutiques (infections oculaire, cutanée, intestinale, etc.) [1]. Diverses études faites sur cette espèce ont conduit à la mise en évidence de deux principaux types :

- le type à thymol, accompagné la plupart de temps de *p*-cymène et de  $\gamma$ -terpinène [2–4] ;
- le type à eugénol [5–7].

Dans une étude antérieure relative à l'inventaire systématique des *ocimum* poussant au Bénin [8], nous avons montré que *ocimum gratissimum* est caractérisé par un type à thymol influencé profondément par la coexistence du *p*-cymène et du  $\gamma$ -terpinène.

Cette plante se retrouve généralement, de par sa pérennité, dans les habitations où les populations peuvent s'en servir pour leurs besoins. La coexistence du trio T, G et P dans les huiles essentielles nous a amené à procéder à une expérimentation à partir des graines obtenues chez des plantes de profils chimiques connus.

Nous montrons dans cette étude que différents paramètres, tels que le site de culture, le cycle végétatif, l'heure de récolte ou le séchage, modifient constamment la composition chimique de l'huile essentielle de cette plante.

## 2. Matériel et méthode

Les semences sont constituées des graines OG1 et OG2, récoltées respectivement à Tanguiéta (Nord-Ouest) et à Pobè (Sud-Est) du Bénin. Le matériel végétal représente la partie aérienne des plantes.

Les sites de culture sont : le Centre national d'agropédologie (C) au sud, Pobè (Po) au sud-est, Niaouli (N) au sud, Savè (S) au centre, Parakou (Pa) au nord.

En période de pleine floraison, des prélèvements de parties aériennes des plantes ont été effectués sur chaque site en vue d'analyser l'influence du site de culture sur la qualité des huiles essentielles. Parallèlement, une étude de l'influence du cycle végétatif sur la composition chimique des huiles essentielles a été réalisée à Kansoukpa (K), au sud, à partir des graines OG1. Les plantes ont été suivies pendant huit mois à travers des prélèvements mensuels. Au stade de pleine floraison, des prélèvements ont été faits à différentes périodes de la journée : 7 h, 10 h, 12 h, 16 h et 19 h en vue d'examiner la variation diurne de la composition chimique des huiles.

Une récolte abondante a été faite en période de maturité des graines sur les plantes OG1 cultivées sur le site C. Après répartition en neuf lots quantitativement équitables, séchés à l'ombre dans un endroit sec et aéré, chaque lot a été extrait par intervalle de temps de 72 h en vue d'étudier l'influence du séchage sur le profil chimique des huiles.

Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation à l'aide d'un appareil du type Clévenger et les analyses chimiques par CPG et CPG/SM.

Nous représentons les échantillons d'huile essentielle par XLa, avec :

X = OG1 ou OG2

L = Site de culture (C, N, Po, Pa, S, K)

$\alpha$  = n° de récolte (1, 2, 3...)

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Influence du site de culture

Les Tableaux 1 et 2 rapportent les résultats obtenus sur chacun des sites en période de pleine floraison. Les

Tableau 1  
Influence du site de récolte sur la composition chimique des huiles essentielles de OG1

	OG1	OG1C3	OG1Po3	OG1N3	OG1S3	OG1Pa3
$\alpha$ -Thujène	8,2	4,3	5,3	7,3	5,1	6,1
$\alpha$ -Pinène	2,3	1,1	1,5	1,9	1,2	1,6
1,8-Cinéole	2	1,1	1,2	1,4	1,2	1,3
$\alpha$ -Terpinène	3,2	5	3,6	1,3	6	5,6
Myrcène	5,2	3,9	4,1	5,2	4	4,6
$\beta$ -Caryophyllène	2,3	1	0,9	0,9	1,2	1
Germacrène D	3	1,4	1,1	1	1,2	1,1
<i>p</i> -Cymène	<b>35</b>	<b>23</b>	<b>13,5</b>	<b>19</b>	<b>17</b>	<b>24</b>
$\gamma$ -Terpinène	<b>15,2</b>	<b>18,7</b>	<b>35,2</b>	<b>23,4</b>	<b>35,1</b>	<b>19,7</b>
Thymol	<b>8,5</b>	<b>30,1</b>	<b>25,4</b>	<b>30</b>	<b>19,7</b>	<b>26</b>
Rendements (%)	0,2	0,9	0,9	1,9	0,8	0,8

Tableau 2  
Influence du site sur la composition chimique des huiles essentielles de OG2

	OG2	OG2C3	OG2Po3	OG2N3	OG2S3	OG2Pa3
$\alpha$ -Thujène	7,7	5,3	6,9	5,1	5,2	6,8
$\alpha$ -Pinène	1,9	1,5	2	1,3	1,4	1,9
1,8-Cinéole	1,8	1,3	1,5	1,2	1,3	1,6
$\alpha$ -Terpinène	3,2	6,9	9,4	4,8	6,8	10
Myrcène	5,8	4,4	5,4	4,3	4,4	5,5
$\beta$ -Caryophyllène	2,3	4	1,1	1,6	1,1	1,3
Germacrène D	2,4	1,5	0,8	1,3	3	1,3
<i>p</i> -Cymène	<b>24,5</b>	5,7	<b>14,2</b>	<b>15,9</b>	9,6	<b>8,9</b>
$\gamma$ -Terpinène	<b>13,4</b>	<b>21,5</b>	<b>18,4</b>	<b>12</b>	<b>18,8</b>	<b>22,3</b>
Thymol	<b>23,1</b>	<b>31,7</b>	<b>29,4</b>	<b>43</b>	<b>36,4</b>	<b>28,8</b>
Rendements (%)	0,6	0,9	0,7	1,7	0,3	0,5

rendements d'huile essentielle, rapportés au poids de matériel frais varient de 0,3 à 1,9 %. Les valeurs les plus élevées ont été obtenues sur le site de Niaouli, et particulièrement chez les échantillons OG1.

L'analyse de la composition chimique montre une variation du profil chimique des huiles lorsqu'on passe des échantillons mères à la première génération.

La mise en culture d'un échantillon de graine OG1 riche en *p*-cymène (35 %) donne, suivant les sites de culture, des plantes riches en thymol (CENAP, Niaouli), ou en  $\gamma$ -terpinène (Pobè, Savè), ou encore en thymol, *p*-cymène et  $\gamma$ -terpinène (Parakou). Quant aux échantillons OG2, en dehors des sites du CENAP, de Niaouli et de Savè, dans lesquels le pourcentage en thymol est plus élevé que dans l'échantillon mère, les deux autres sites (Parakou et Pobè) donnent des résultats représentatifs de ce dernier.

Ces différences auraient pu être liées aux facteurs pédologiques ou climatiques si, d'une part, les résultats

obtenus par exemple sur les sites de Pobè et de Savè relativement au pourcentage de  $\gamma$ -terpinène avaient été identiques pour OG1 et OG2 et, d'autre part, si les sites du CENAP et de Parakou, différents du point de vue pédologique et climatique, ne donnaient pas des résultats semblables.

On pourrait donc a priori lier ces variations à la plante elle-même.

### 3.2. Influence du cycle végétatif

Les résultats inscrits dans le [Tableau 3](#) montrent :

- en dehors de la phase de « jeune pousse », où le rendement est significativement plus faible (0,3 %) (OG1K1), on observe une augmentation importante de ce rendement jusqu'à la phase de maturité moyenne des graines (OG1K2 à OG1K5), où il devient maximum (2,2 %), puis une autre vers la fin du cycle végétatif (OG1K7,OG1K8) ;

Tableau 3  
Influence du cycle végétatif sur le profil chimique des huiles

	OG1K1	OG1K2	OG1K3	OG1K4	OG1K5	OG1K6	OG1K7	OG1K8	OG1
$\alpha$ -Thujène	3	5,4	4,8	4,6	5,3	6,1	6	6,2	8,2
$\alpha$ -Pinène	0,8	1,5	1,3	1,2	1,4	1,5	1,6	1,6	2,3
1,8-Cinéole	1	1,2	1,1	1	1,1	1,2	1,2	1,2	2
$\alpha$ -Terpinène	3,8	4,2	3,3	3,9	3,8	3,6	4,2	3,8	3,2
Myrcène	3,2	4,1	3,7	3,6	4,1	4,4	4,5	4,1	5,2
$\beta$ -Caryophyllène	1,2	0,8	1	1,1	1,1	1	0,7	1,1	2,3
Germacrène D	1,2	0,7	1,1	1,2	1,2	1,2	1	1,5	3
<i>p</i> -Cymène	<b>5</b>	<b>8,4</b>	<b>14,8</b>	<b>10,6</b>	<b>13</b>	<b>13,7</b>	<b>17,2</b>	<b>13,6</b>	<b>35</b>
$\gamma$ -Terpinène	<b>32,6</b>	<b>42,8</b>	<b>46</b>	<b>47,7</b>	<b>37,6</b>	<b>35,2</b>	<b>36,9</b>	<b>42,3</b>	<b>15,9</b>
Thymol	<b>36,6</b>	<b>22</b>	<b>13,7</b>	<b>16,7</b>	<b>23</b>	<b>22,6</b>	<b>19,2</b>	<b>15,4</b>	<b>8,5</b>
Rendement	0,3	1,4	1,2	1,7	2,2	1,5	1,7	2,1	0,2
S = T + G + P (%)	74,2	73,2	73,8	75	73,6	71,5	73,3	71,3	59,4

- ici aussi la mise en culture des graines provenant d'une catégorie de plantes riches en *p*-cymène (P = 35 %) conduit à l'obtention des plantes riches en  $\gamma$ -terpinène (G  $\approx$  40 %) et en thymol (T  $\approx$  18 %), le pourcentage en *p*-cymène étant réduit à environ P = 12 % ;
- une valeur constante de la somme S des pourcentages des trois constituants prédominants (G, T, P), ce qui rend compte des fluctuations contrastées entre ces composés.

Cependant, contrairement à ce qui a été observé sur les cinq autres sites de culture, les plantes restent du type à dominance G tout au long du cycle végétatif.

Cette observation avait été soulignée par Poulouse et Croteau [9] qui, examinant la biosynthèse des monoterpènes de l'huile de *thymus vulgaris* au moyen de précurseurs marqués, ont ainsi pu déterminer que l'or-

dre de formation de ces trois composés était le suivant : G  $\rightarrow$  P  $\rightarrow$  T.

Cependant, la similarité des résultats obtenus à deux stades différents d'évolution des plantes – floraison (OG1K3) et maturité maximale des graines (OG1K8) – montre que les trois constituants se transforment l'un en l'autre : non seulement G peut donner T et P (comme l'ont montré Poulouse et Croteau) mais P et T peuvent aussi redonner G !

Il apparaît ainsi une influence du cycle végétatif, non seulement sur le rendement en huile essentielle, mais aussi sur le profil chimique de celle-ci.

### 3.3. Influence de la période de récolte

Le Tableau 4 montre que le rendement en huile essentielle, faible le matin (0,3 % à 7 h) croît rapide-

Tableau 4  
Variation diurne de la composition chimique de l'huile de OG1

	7 h	10 h	12 h	16 h	19 h
$\alpha$ -Thujène	4,7	4,7	4,8	4,9	4,5
$\alpha$ -Pinène	1,3	1,3	1,2	1,3	1,2
1,8-Cinéole	1,2	1,2	1,1	1,1	1
$\alpha$ -Terpinène	3	3,4	3,2	3,5	3,3
Myrcène	3,9	4	4	4,1	3,8
$\beta$ -Caryophyllène	0,9	1,2	1,1	1,1	1,1
Germacrène D	1,1	1,4	1,3	1,3	1,3
<i>p</i> -Cymène	<b>16,4</b>	<b>19,6</b>	<b>16,1</b>	<b>16,1</b>	<b>17,2</b>
$\gamma$ -Terpinène	<b>27</b>	<b>31,6</b>	<b>27,3</b>	<b>33,6</b>	<b>31,9</b>
Thymol	<b>30</b>	<b>23,1</b>	<b>30,5</b>	<b>24,6</b>	<b>25,9</b>
Rendement	0,3	1,7	1,8	1,7	1,6
Types	TPG	GTP	TGP	GTP	GTP

Tableau 5  
Influence du séchage sur le profil chimique des huiles essentielles

	OG1-0	OG1-3	OG1-6	OG1-9	OG1-12	OG1-15
$\alpha$ -Thujène	2	5	5,2	5,3	5,4	4,9
$\alpha$ -Pinène	1,2	1,2	1,2	1,2	1,4	1,1
1,8-Cinéole	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4
$\alpha$ -Terpinène	3	3,7	3	3,2	3,1	2,5
Myrcène	3,1	3,7	3,9	4,2	4,5	3,7
$\beta$ -Caryophyllène	1,5	1,6	1,5	1,5	1,5	1,4
Germacrène D	1,8	1,7	1,7	1,8	1,8	1,9
<i>p</i> -Cymène	<b>9</b>	<b>15,5</b>	<b>24,6</b>	<b>25,5</b>	<b>27,4</b>	<b>26,5</b>
$\gamma$ -Terpinène	<b>30</b>	<b>30,5</b>	<b>23,1</b>	<b>25,2</b>	<b>22,5</b>	<b>20,6</b>
Thymol	<b>35,8</b>	<b>26,6</b>	<b>24,2</b>	<b>21,3</b>	<b>21,3</b>	<b>24,1</b>
Rendements (%)	0,8	1,1	1	1,1	1	1
Perte en eau	0	34,8	72	72,3	73,6	74
S = T + G + P	74,8	72,6	71,9	72	71,2	71,2

ment dans la matinée (1,7 % à 10 h), passe par un maximum à midi (1,8 %) et diminue régulièrement dans le courant de l'après-midi (1,6 % à 19 h). Par ailleurs, on note une variation opposée des pourcentages de T et de G au cours de la journée : alors que P, le moins abondant, oscille entre 16 et 19,5 %, les pourcentages de T oscillent entre 23 et 30,5 % à contre-temps de ceux de G (27–33,5 %).

Ces résultats confirment la complexité des réactions biosynthétiques qui se produisent au sein de la plante et montrent qu'en réalité aucune conclusion ne pouvait être tirée.

#### 3.4. Effet du séchage

L'analyse du [Tableau 5](#) met en relief :

- une augmentation du rendement entre le premier et le troisième jour (0,8 % à 1,1 %), qui reste ensuite constant au cours du séchage ;
- une constance de la somme S (71–75 %) au cours du temps, ce qui montre une interconversion entre les trois composés T, P, et G. La diminution de G (30 à 20,6 %) et de T (35,8 à 24,1 %) au profit de P (9 à 26,5 %) entre le premier et le quinzième jour confirme bien ces transformations et montre que, même après la coupe des feuilles, celles-ci poursuivent leur évolution.

#### 4. Conclusion

Il apparaît que *O. gratissimum*, objet d'utilisations diverses par la population locale, est caractérisé par

l'existence, dans son essence, du trio T, P, G, indissociable du fait de la rapide interconversion d'un composé en un autre au cours de sa croissance.

Si cette plante se comporte comme celles des autres pays africains, il devient dorénavant très délicat de parler d'un chémotype réel à partir d'un simple prélèvement de matériel végétal à un stade quelconque de l'évolution physiologique.

Ceci appelle d'autres études pouvant aider à maîtriser le mécanisme d'interconversion entre le thymol, le gamma terpinène et le *p*-cymène, afin de valoriser l'huile essentielle de cette plante.

#### Remerciements

Nos sincères remerciements vont à la Fondation internationale pour la science (FIS), qui a financé la grande partie de ces travaux, ainsi qu'au Pr. Gérard Lamaty, du laboratoire de chimie organique physique de l'université Montpellier-2, pour ses multiples conseils et aides.

#### Références

- [1] E.J. Adjanohoun, Médecine traditionnelle et pharmacopée : contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en république du Bénin, ACCT, Paris, 1989, p. 274.
- [2] M. Sainsbury, E.A. Sofowora, Essential oil from the leaves and inflorescences of *Ocimum gratissimum*, *Phytochemistry* 10 (1971) 3309.

- [3] C. Menut, G. Valet, Étude de la composition chimique de l'huile essentielle d'une plante aromatique cultivée au Cameroun : *Ocimum gratissimum*, Ann. Fac. Sci., Biol-Biochim, Yaoundé III (3) (1985).
- [4] L. Ntézurubanza, J.C.C. Scheffer, A. Baerheim Svendsen, Composition of essential oil of *Ocimum gratissimum* grown in Rwanda, Planta Med. 35 (1987) 421.
- [5] R.K. Khanna, O.S. Sharma, M.L. Sharma, P.N. Misra, A. Singh, Essential oil of clocimum. A strain of *Ocimum gratissimum* L. raised on alkaline soils, Parfum. Kosmet. 69 (1988) 564.
- [6] V.A. Zamureeko, N.A. Klyuer, L.B. Dimitrev, S.G. Polakova, I.I. Grandberg, Component composition of essential oils in eugenol-type basils, Izv. Timiryazevsk S-Kh. Akad. 2 (1986) 172.
- [7] B.M. Lawrence, Progress in essential oils: *Ocimum gratissimum* oil, Parfum. Flavor. 22 (4) (1997) 70.
- [8] E. Yayi, M. Moudachirou, J.-C. Chalchat, Inventaire systématique de trois *Ocimum* du Bénin : *O. basilicum*, *O. canum* et *O. gratissimum*, in: 4<sup>e</sup> colloque sur les produits naturels d'origine végétale, Montréal, Québec, 26–29 mai 1998.
- [9] A.J. Poullose, R. Croteau, Biosynthesis of aromatic monoterpenes: conversion of  $\gamma$ -terpinene to *p*-cymene and thymol in thymus vulgaris L, Arch. Biochem. Biophys. 187 (1978) 307.