

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

BADJIMOKHTAR-ANNABAUNIVERSITY
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA



جامعة باجي مختار – عنابة

Faculté des Sciences de l'Ingénierat
Département de Génie des Procédés

Année 2017

Option : Génie Chimique

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de **Master**

**EXTRACTION D'HUILE ESSENTIELLE DE L'ESPECE
VEGETALE *SALVIA OFFICINALIS* L. PAR
HYDRODISTILLATION : CARACTERISATION
PHYSICOCHIMIQUE ET MODELISATION PARAMETRIQUE**

Présentée par :

BAZIZI Marwa

DIRECTEUR DE MEMOIRE : ABIDI Abdenabi, Docteur, Université Badji Mokhtar- Annaba

Devant le jury :

Président : TOUBAL Abdelaziz,

Professeur, Université Badji Mokhtar-Annaba

Membre : FERTIKH Nadia,

Professeur, Université Badji Mokhtar-Annaba

Année universitaire : 2016/2017

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

BADJIMOKHTAR-ANNABAUNIVERSITY
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA



جامعة باجي مختار – عنابة

Faculté des Sciences de l'Ingénierat
Département de Génie des Procédés

Année 2017

Option : Génie Chimique

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de **Master**

**EXTRACTION D'HUILE ESSENTIELLE DE L'ESPECE
VEGETALE *SALVIA OFFICINALIS* L. PAR
HYDRODISTILLATION : CARACTERISATION
PHYSICOCHIMIQUE ET MODELISATION PARAMETRIQUE**

Présentée par :

BAZIZI Marwa

DIRECTEUR DE MEMOIRE : ABIDI Abdenabi, Docteur, Université Badji Mokhtar- Annaba

Devant le jury :

Président : TOUBAL Abdelaziz,

Professeur, Université Badji Mokhtar-Annaba

Membre : FERTIKH Nadia,

Professeur, Université Badji Mokhtar-Annaba

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

*Je tiens d'abord à remercier Dieu le tout puissant de m'avoir permis de mener à
terme ce travail*

*J'exprime ma profonde gratitude à mon encadreur, Dr. Abdenabi Abidi, pour
tous les efforts qu'il a consenti tout au long de l'élaboration de ce travail. Ses
encouragements, et ses précieux conseils.*

J'exprime toute ma reconnaissance envers tous les membres de jury :

Monsieur : Pr. Abdelaziz Toubal

Madame : Pr. Nadia Fertikhi

*Je remercie, également, toute personne qui a participé de près ou de loin à la
réalisation de ce travail. Et j'espère que ce travail soit la bonne expression de
ma gratitude.*

Dédicaces

Ce document est dédié à beaucoup de gens, dans ma tentative de tous me les rappeler, je peux en citer quelques-uns. Que les autres m'en excusent :

- À celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les grands hommes :

Mon père.

- À celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation :

Ma mère.

- Mon frère

- Mes sœurs

- Mes neveux et mes Nièces que Dieu les bénisse

- Mes amies

- Mes camarades de la promotion et mes enseignants.



SOMMAIRE

Liste des figures	VII
Liste des tableaux.....	IX
Introduction générale	1

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Introduction.....	3
1.2 Généralités sur les plantes médicinales	3
1.2.1 Définition	3
1.2.2 Historique	4
1.2.3 la phytothérapie	4
1.2.3.1 Définition	4
1.2.3.2 Avantages de la phytothérapie	5
1.2.3.3 Modes d'utilisation des PAMs pour la phytothérapie	5
1.2.3.4 Efficacité des plantes entières	6
1.2.4 Eléments actifs des plantes médicinales	7
1.2.4.1 Les phénols	7
1.2.4.2 Huiles essentielles	7
1.2.4.3 Les tanins	8
1.2.4.4 Les flavonoïdes	8
1.3 Les huiles essentielles	9
1.3.1 Qu'est-ce qu'une huile essentielle ?	9
1.3.2 Bref historique	9
1.3.3 Rôle des huiles essentielles chez les plantes	10
1.3.4 Composition chimique des HEs	11
1.3.4.1 Les terpènes	11
1.3.4.2 Composés aromatiques	12
1.3.4.3 Composés d'origines diverses.....	12
1.3.4.4 Notion de chémotype ou chimiotype.....	12
1.3.5 Facteurs influençant la composition chimique des HEs	12
1.3.5.1 Facteurs intrinsèques	12
1.3.5.2 Facteurs extrinsèques	13
1.3.6 Propriétés physico-chimiques des HEs	13

1.3.7	Caractérisation des huiles essentielles	14
1.3.7.1	Caractéristiques organoleptiques	14
1.3.7.2	Propriétés physico-chimiques	15
1.3.7.3	Analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles	16
1.3.8	Activités biologiques et pharmacologiques des HEs	19
1.3.8.1	Activités biologiques	19
1.3.8.2	Activités pharmacologiques	20
1.3.8.3	Toxicité des huiles essentielles	20
1.3.9	Principaux domaines d'application des HEs	21
1.3.9.1	En pharmacie	21
1.3.9.2	En parfumerie et cosmétologie	21
1.3.9.3	Dans les industries agro-alimentaires	21
1.4	Matériel végétal	22
1.4.1	Généralités sur la famille des Lamiacées	22
1.4.2	Description botanique du genre <i>Salvia</i>	23
1.4.3	Position systématique de l'espèce <i>Salvia officinalis</i> L.	23
1.4.4	Description botanique de l'espèce <i>Salvia officinalis</i> L.	23
1.4.5	Composition chimiques	24
1.4.6	Utilisation traditionnel	24
1.4.7	Propriétés biologiques et pharmacologiques	25
1.5	Conclusion	25

CHAPITRE 2 : MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1	Introduction	26
2.2	Matière végétale	26
2.2.1	Préparation de l'échantillon solide pour l'extraction	26
2.3	Dispositif expérimentale et mode opératoire	28
2.4	Etude de la cinétique d'extraction	29
2.5	Rendement en huile essentielle	29
2.6	Caractérisation d'huile extraite	29
2.6.1	Caractéristiques organoleptiques	29
2.6.2	Détermination des propriétés physico-chimiques	30
2.6.2.1	La densité relative	30
2.6.2.2	Indice de réfraction	30
2.6.2.3	Potentiel d'hydrogène	31

2.6.2.4 Indice d'acide	31
2.6.3 Analyse spectroscopique d'huile essentielle	32
2.6.3.1 Analyses par spectroscopie UV-VIS	32
2.6.3.2 Analyses par spectroscopie infrarouge	33
2.7 Conclusion	33

CHAPITRE 3 : HYDRODISTILLATION ET CARACTERISATION D'HUILE ESSENTIELLE DE LA PLANTE *SALVIA OFFICINALIS*

3.1 Introduction.....	34
3.2 Procédés d'extraction des huiles essentielles	34
3.2.1 Hydrodistillation.....	34
3.2.2 Entraînement à la vapeur d'eau	35
3.2.3 Hydrodiffusion	36
3.2.4 Extraction par solvants volatils	37
3.2.5 Extraction assistée par micro-onde.....	38
3.2.6 Extraction par fluides supercritiques	39
3.3 Choix de la méthode d'extraction (Hydrodistillation)	39
3.4 Rendement d'extraction	40
3.5 Cinétique d'extraction	40
3.6 Caractéristiques organoleptiques et propriétés physico-chimiques	42
3.7 Analyse spectroscopique d'huile essentielle	44
3.7.1 Interprétation de spectre d'analyse par UV-visible	44
3.7.2 Interprétation de spectre d'analyse par spectroscopie infrarouge	44
3.8 Conclusion	46

CHAPITRE 4 : MODÉLISATION PARAMETRIQUE DU RENDEMENT D'HYDRODISTILLATION

4.1 Introduction.....	48
4.2 Théorie d'optimisation expérimentales	48
4.2.1 Méthodes classiques	48
4.2.2 Méthodes des plans d'expériences	49
4.2.2.1 Principe et intérêt des plans d'expériences.....	49
4.2.2.2 Plan composite	50
4.2.2.3 Plan Box-Behnken.....	50

4.2.2.4	Méthode de surface de réponse	52
4.3	Méthode d'optimisation	52
4.3.1	Procédure d'application de plan d'expérience	52
4.3.2	Choix des paramètres opératoires	53
4.3.3	Application du plan Box-Behnken	53
4.3.4	Construction de la matrice d'expérimentation	53
4.4	Résultats et discussion.....	54
4.4.1	Rendement expérimental.....	55
4.4.2	Modélisation.....	55
4.4.2.1	Régression des résultats.....	56
4.4.2.2	Analyse de la variance (modèle quadratique).....	57
4.4.2.3	Interprétation graphique des résultats.....	59
4.4.2.4	Influence des paramètres sur le rendement d'huile extraite	60
4.5	Conclusion	67
	Conclusion générale et perspectives	68
	Références bibliographiques	71
	Annexe	76

	Liste des figures	
Figure 1.1	Structure chimique de quelques composés phénoliques	7
Figure 1.2	Structure chimique des tanins	8
Figure 1.3	Appareillage pour une CPG	17
Figure 1.4	Schéma de couplage CPG/SM	18
Figure 1.5	<i>Salvia officinalis</i> L.	23
Figure 2.1	Localisation du site d'étude	26
Figure 2.2	L'échantillon avant et après broyage	27
Figure 2.3	Tamiseur vibratoire	27
Figure 2.4	Echantillon après tamisage	27
Figure 2.5	Montage d'hydrodistillation manipulé (<i>Clevenger</i>)	28
Figure 2.6	Réfractomètre type ABBE	30
Figure 2.7	pH-mètre	31
Figure 2.8	Dispositif de mesure d'indice d'acide	31
Figure 2.9	Spectrophotomètre (SPECORD 200)	32
Figure 2.10	Spectrophotomètre (Spectro Scan 80 DV)	32
Figure 2.11	Spectrophotomètre IR-600	33
Figure 3.1	Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation	35
Figure 3.2	Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau	36
Figure 3.3	Montage d'hydrodiffusion	36
Figure 3.4	Montage d'extraction par solvant	37
Figure 3.5	Hydrodistillation assistée par micro-ondes	38
Figure 3.6	Schéma de la technique d'extraction par le CO ₂ supercritique	39
Figure 3.7	Courbe de la cinétique d'extraction d'huile par hydrodistillation	41
Figure 3.8	Huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	42

Figure 3.9	Spectre UV –Visible d’huile de <i>Salvia officinalis</i> donné par (SPECORD 200)	44
Figure 3.10	Spectre IR d’huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	46
Figure 4.1	Plan composite pour deux facteurs	50
Figure 4.2	Plan de Box-Behnken pour 3 facteurs (représentation dans l’espace d’étude)	51
Figure 4.3	Représentation du rendement théorique en fonction de celui expérimental	59
Figure 4.4	Représentation du rendement dans l’espace d’étude	60
Figure 4.5	Variation du rendement en fonction de d_p et D_c à $T_s = 150\text{min}$	61
Figure 4.6	Variation du rendement en fonction de d_p et D_c à $T_s = 180\text{min}$	61
Figure 4.7	Variation du rendement en fonction de d_p et D_c à $T_s = 210\text{min}$	62
Figure 4.8	Variation du rendement en fonction de d_p et D_c et T_s à $d_p = 1\text{mm}$	63
Figure 4.9	Variation du rendement en fonction de d_p et D_c et T_s à $d_p = 1,5\text{mm}$	63
Figure 4.10	Variation du rendement en fonction de d_p et D_c et T_s à $d_p = 2\text{mm}$	64
Figure 4.11	Variation du rendement en fonction de T_s et d_p à $D_c = 1,4\text{ml/min}$	65
Figure 4.12	Variation du rendement en fonction de T_s et d_p à $D_c = 2,4\text{ml/min}$	65
Figure 4.13	Variation du rendement en fonction de T_s et d_p à $D_c = 3,4\text{ml/min}$	66

	Liste des tableaux	
Tableau 3.1	Rendements d'HE de <i>Salvia officinalis</i> extraite par hydrodistillation	40
Tableau 3.2	Masse d'huile extraite cumulée en fonction du temps d'extraction	40
Tableau 3.3	Propriétés d'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	42
Tableau 3.4	Groupements fonctionnels d'huile de <i>Salvia officinalis</i> de spectre IR	45
Tableau 4.1	Plan de Box-Behnken pour 3 facteurs	51
Tableau 4.2	Domaine d'étude	54
Tableau 4.3	Plan de Box-Behnken pour 3 facteurs avec 3 niveaux	54
Tableau 4.4	Rendement expérimental en huile extraite	55
Tableau 4.5	Coefficients de l'équation (4.1)	56
Tableau 4.6	Comparaison entre le rendement théorique et expérimental	57
Tableau 4.7	Table ANOVA et résultats statistiques	58
Tableau 4.8	Suite de table ANOVA	58

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes permettent à l'homme non seulement de se nourrir, se vêtir, se loger, se chauffer, se parfumer ...mais aussi de maintenir son équilibre, soulager ses souffrances, préserver et soigner les maladies qui nuisent à sa santé. Par ailleurs, les plantes aromatiques et médicinales jouent un rôle économique considérable dans le secteur des industries de l'agroalimentaire, de la parfumerie, des cosmétiques, ...et de la pharmacie. En effet, les plantes représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïdes, flavonoïdes, phénols, tanins, vitamines, et huiles essentielles.

Les huiles essentielles sont des liquides concentrés en composés aromatiques (odorants), volatils. Leur utilisation est connue depuis l'antiquité par les anciennes civilisations pour soigner les pathologies courantes. Aujourd'hui, les huiles essentielles représentent l'un des principes actifs les plus importants en raison de leurs multiples et diverses applications grasses à potentiel thérapeutique et de leurs constituants.

Quel que soit le domaine d'utilisation des huiles essentielles (agroalimentaire, parfumerie, cosmétique, et industrie pharmaceutique), une parfaite connaissance de leurs propriétés est nécessaire pour en contrôler la qualité et y déceler une éventuelle spécificité en vue de leur valorisation. Donc seulement une connaissance détaillée de leurs caractéristiques et leurs constituants mènera à une utilisation appropriée.

Les points de contrôle à effectuer pour se prémunir de la falsification des huiles essentielles et éviter les confusions entre les différentes espèces concernent les caractéristiques organoleptiques, les propriétés physico-chimiques, et les analyses chimiques. Ce contrôle a pour but de définir et caractériser les huiles essentielles, ces caractéristiques propres à chaque huile seront ensuite utilisées pour décrire l'huile essentielle et servir de critère de qualité.

L'Algérie est riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, et agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques et odorantes. Ces plantes aromatiques sont, donc, la source de produits à forte valeur ajoutée. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier certaines plantes, poussant à l'état spontané dans les monts de la région de Sétif. Ce travail a pour objet l'extraction et l'analyse chimique des huiles essentielles d'une espèce appartenant à la famille des *Lamiacées* représentée par l'espèce *Salvia officinalis*. Cette plante est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement des troubles

digestifs, la bronchite, la toux, l'asthme, l'angine de poitrine, l'inflammation de la bouche et de la gorge, des maladies de la peau et de nombreuses autres maladies. En outre, l'huile essentielle de *Sauge* a été utilisée en médecine pour ses propriétés anticancéreux, antimicrobiens, antioxydants, anti-inflammatoires...etc.

Dans ce contexte notre étude s'inscrit en effet on se propose l'extraction des huiles essentielles de la plante *Salvia officinalis* L. par hydrodistillation et la caractérisation physicochimique de l'extrait avec une modélisation paramétriques par la méthode des plans d'expériences dont le but est l'optimisation des paramètres opératoires du processus expérimental pour atteindre le meilleur rendement massique en huile essentielle.

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé de deux parties. La première partie propose une mise au point bibliographique sur les différentes notions abordées dans ce travail : tel que les plantes médicinales, les huiles essentielles, ainsi que la nature de la plante employée dans cette étude ; Dans la seconde partie (pratique), nous avons décrit en détail le matériel végétal, les méthodes de caractérisation et l'instrumentation d'analyse ainsi que le protocole opératoire du procédé d'extraction de huile essentielle dans un deuxième chapitre et enfin les résultats obtenus et la caractérisation physicochimique de nos extraits sont amplement discutés dans un troisième chapitre. Le quatrième chapitre est consacré à une modélisation paramétrique du processus d'hydrodistillation par l'optimisation du rendement massique d'huile essentielle à travers l'application de la méthode des plans d'expériences. Le manuscrit est achevé par une conclusion générale, la liste des références bibliographiques et les annexes.

CHAPITRE 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Introduction

Depuis les temps les plus reculés, le monde végétal offre les éléments nécessaires à la survie de l'espèce humaine. En effet, les plantes demeurent la principale source de principes actifs dont le rôle et l'utilisation sont très variés. Les huiles essentielles, isolées à partir de plantes, constituent l'un des principes actifs les plus importants en raison de leurs multiples et diverses applications.

Le premier chapitre est une synthèse bibliographique sous forme de trois grandes parties.

Premièrement, nous donnons un aperçu général sur les plantes aromatiques et médicinales. Ensuite nous présentons les huiles essentielles en détaille comme l'un des meilleurs éléments actifs des plantes aromatiques à savoir, leur origine, compositions chimiques, diverses activités biologiques et pharmacologiques, ainsi que les principaux domaines. Finalement nous présenterons la plante médicinale à étudiée.

1.2 Généralités sur les plantes médicinales

1.2.1 Définition

Plusieurs définitions ont été données aux plantes aromatiques et médicinales (PAM) et la gamme de ces plantes s'avère très longue et élastique et peut concerner la plupart des plantes spontanées et de nombreuses espèces arboricoles et herbacées cultivées.

D'après (Peyron, 2000), ces diverses plantes peuvent être, tour à tour ou ensemble, aromatiques, médicinales, cosmétiques ou de parfumerie. Les unes et les autres sont utilisées sous diverses formes : en l'état, transformées (déshydratées, surgelées), élaborées (extraits, huiles essentielles, oléorésines, isolats). Elles peuvent également se distinguer selon les organes récoltés.

Pour éviter toute divergence dans la compréhension de certains mots clés, nous adoptons dans ce chapitre les définitions données par l'Organisation Mondiale de la Santé(OMS).

Selon l'OMS, "**une plante médicinale** est une plante qui contient, dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique héli-synthèse". Cette définition permet de distinguer entre les plantes médicinales déjà connues dont les propriétés thérapeutiques ou comme un précurseur de certaines molécules ont été scientifiquement établis, et d'autres plantes utilisées en médecine traditionnelle.

1.2.2 Historique

L'histoire de la médecine traditionnelle remonte aux plus anciennes civilisations (NCCAM). En effet, dès son origine, l'homme a cherché à calmer ses maux et à réduire ses souffrances. Pour cela, il a utilisé les produits immédiatement à sa portée. Le règne végétal lui fournissant en grande partie son alimentation fut son premier champ d'expériences. Peu à peu, il a appris à discerner les propriétés des plantes, leurs vertus, leur toxicité. Toutes les civilisations antiques : mésopotamienne, égyptienne, chinoise, indienne, précolombienne avaient une panoplie de remèdes végétaux. Ainsi, se constitua au fil du temps une pharmacopée traditionnelle. L'usage pratique fut la seule voie de connaissances acquises au cours des siècles, sans réelle approche théorique ni compréhension du mode d'action des plantes, constituant les données empiriques de la tradition.

- Moins 3.000 ans avant J.C. : Le premier recueil connu de formules végétales (décoctions, suspensions, et onguents) gravées en caractères cunéiformes sur des tablettes d'argile, découvert à Nippur en 1948, date de l'époque Sumérienne d'il y a quelque 5000 ans. Il recense jusqu'à 250 espèces de plantes.

- Moins 2.700 ans avant J.C. : Presque à la même époque, mais à plusieurs milliers de kilomètres de là en Chine, à l'époque légendaire des premiers grands empereurs, naissait le Pen-Tsao, fameux manuscrit dans lequel sont cités également de très nombreuses plantes, manuscrit qui fut remis en forme par Lee-Chee-Chen au 16ème siècle.

- Moins 2.000 ans avant J.C. : Découverte en 1973, dans les ruines d'Elba (près d'Alep en Syrie), de milliers de tablettes qui abondent en renseignements sur la médecine mésopotamienne et les échanges de ces thérapeutiques végétales avec les peuples voisins.

1.2.3 la phytothérapie

1.2.3.1 Définition

La phytothérapie (En grec, *Phyton* = végétal et *Therapein*= soigner) est l'art de soigner par les plantes. La phytothérapie permet à la fois de traiter le terrain du malade et les symptômes de sa maladie. Le malade est pris en charge dans sa globalité afin de comprendre l'origine de ses symptômes et d'en prévenir leur apparition.

Seules les plantes ayant fait preuve de leurs vertus médicinales ont un intérêt en phytothérapie. Les parties les plus concentrées en principes actifs seront choisies donc il peut s'agir de la plante entière, des feuilles, de la tige, des rameaux, des sommités fleuries, de l'écorce, des racines, des fruits ou des fleurs, utilisées fraîches ou sèches. Des modes de préparations seront privilégiés en fonction de la partie de la plante concernée, de la nature du principe actif qu'il soit hydrophile ou lipophile et du type de patient qui va

la recevoir : On ne traitera pas un jeune enfant avec une teinture mère à degré alcoolique élevé.

1.2.3.2 Avantages de la phytothérapie

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. L'opium, que l'on tire des graines du pavot, contient des alcaloïdes : morphine ou codéine, qui sont de puissants analgésiques largement utilisés dans la médecine moderne.

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. C'est pourquoi on utilise à nouveau l'absinthe chinoise (*Artemisia annua*) et surtout son principe actif pour soigner la malaria lorsque les protozoaires responsables de la maladie résistent aux médicaments. La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies

1.2.3.3 Modes d'utilisation des PAMs pour la phytothérapie

Une plante médicinale peut être utilisée en différentes formes pour se soigner, dont les modes les plus utilisés sont :

- **Décoction** : se pratique en faisant bouillir la plante de 3 à 20 minutes. Elle est utilisée pour les parties les plus dures des plantes : racines, écorces, feuilles dures, graines, fruits secs.
- **Infusion** : mise en contact de la plante avec de l'eau bouillante pendant plusieurs minutes. Elle se pratique pour les feuilles, les fleurs, les petites graines.
- **Macération** : action de faire tremper la plante dans de l'eau, de l'alcool, du ou de l'huile pendant plus ou moins longtemps.

- **Cataplasmes** : préparation de plante en pâte pouvant être appliquée sur la peau dans un but thérapeutique. On peut également utiliser des bandes ou des compresses imbibées de préparation à base de plantes sur la peau.
- **Huile essentielle** : liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante. Il est obtenu par distillation ou extraction chimique par solvants (eau, alcool...)

1.2.3.4 Efficacité des plantes entières

S'il est capital de maîtriser l'action des différents principes actifs pris isolément, la phytothérapie, à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi « totum » plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Etudier les pièces d'une montre et réussir à en identifier les parties essentielles ne permet pas de comprendre comment elle fonctionne, de même que disséquer une plante médicinale pour isoler ses principes actifs ne suffit pas pour expliquer comment elle agit. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants. Ainsi, des chercheurs ont démontré que les principes actifs de nombreux végétaux, tels ceux du ginkgo, agissent de manière complexe et combinée pour produire un effet thérapeutique global (Encyclopedia, 1996).

Les plantes contiennent des centaines, voire des milliers de substances chimiques actives. Souvent, déterminer en détail l'action d'une plante est très difficile, sinon impossible - même si son effet médical est, en revanche, bien connu.

L'étude pharmacologique des plantes entières indique qu'elles fonctionnent comme un puzzle incomplet. En outre, bien qu'il soit utile de connaître les principes actifs d'une plante, cette information peut être trompeuse : ainsi, la rhubarbe de Chine (*Rheum palmatum*), dont l'action irritante des dérivés anthracéniques sur la paroi intestinale stimule les selles, est fréquemment employée comme purgatif. Mais elle n'est efficace qu'à hautes doses. A petites doses, d'autres de ses constituants comme les tanins ont un effet plutôt astringent sur les muqueuses intestinales. La rhubarbe de Chine produit donc des effets contradictoires selon la quantité absorbée : elle est laxative à des doses modérées ou importantes, antidiarrhéique à de faibles doses. Cet exemple démontre que l'expérience du praticien combinée à celle du patient est souvent le guide le plus sûr pour connaître l'effet thérapeutique des plantes entières ; ensuite, que la valeur d'une plante médicinale ne peut être limitée à la liste de ses principes actifs.

1.2.4 Eléments actifs des plantes médicinales

Les effets curatifs de certaines plantes sont bien connus. Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme.

1.2.4.1 Les phénols

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement anti-inflammatoires et antioxydants et peuvent avoir des propriétés antivirales (Encyclopedia, 1996).

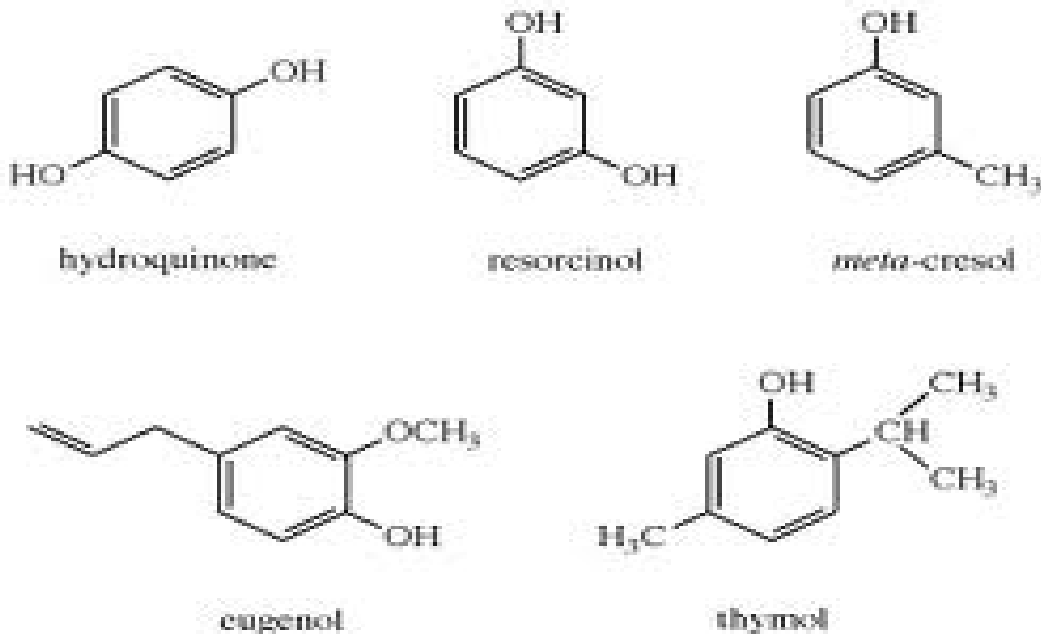


Figure 1.1 : Structure chimique de quelques composés phénoliques

1.2.4.2 Huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie. Les huiles essentielles contenues telles quelles dans les plantes sont des composés oxygénés, parfois d'origine trépanoïdes et possédant un noyau aromatique. Les huiles essentielles ont de multiples propriétés. Les huiles essentielles sont à différencier des huiles fixes ou des huiles obtenues par l'hydrolyse des glucosides (Encyclopedia, 1996).

1.2.4.3 Les tanins

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Encyclopedia, 1996).

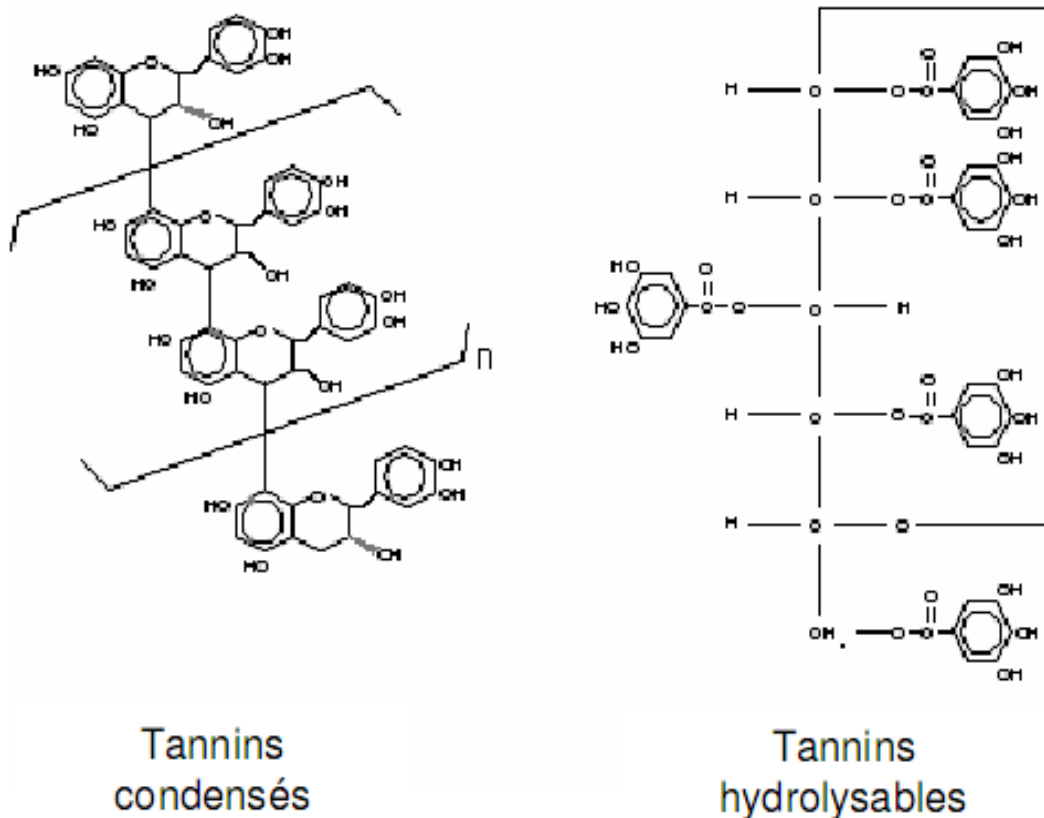


Figure 1.2 : Structure chimique des tanins

1.2.4.4 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc ils sont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Les antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation,

certaines flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie (Encyclopedia, 1996).

1.3 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes.

1.3.1 Qu'est-ce qu'une huile essentielle ?

Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques. Elle concentre l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs. Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles (Nogaret-Ehrhart, 2003). On ne peut définir une essence sans définir sa méthode d'extraction.

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

Selon Hurabielle, 1981, ce sont des produits généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau, de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certaines citrus. Cette définition excluant les essences obtenues par d'autres procédés d'extraction.

1.3.2 Bref historique

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. (Baser et Buchbauer, 2010). Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes... etc.

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et

scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques. Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice GATTEFOSSE a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (Besombes, 2008).

1.3.3 Rôle des huiles essentielles chez les plantes

Longtemps considérés comme métabolites secondaires, les constituants volatils ont un rôle encore mal défini dans la plante. Nous nous contenterons d'énumérer ici quelques hypothèses. Indépendamment des théories avancées, il semble que les compositions très variées des huiles essentielles autorisent des messages complexes et sélectifs si bien que chercher un rôle propre à chaque constituant paraît illusoire.

D'après Verschaffelt, 1910, les essences constituent un moyen de défense contre les prédateurs en modulant les comportements trophiques de ceux-ci vis à vis des plantes. Les constituants des huiles essentielles sont considérés par LUTZ comme des modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaire protégeant la plante contre les agents atmosphériques. Selon lui, certains de ces composés se comportent aussi comme source d'énergie à la suite d'une baisse de l'assimilation chlorophyllienne (Lutz, 1940). BOUQUET considère que certains de ces produits seraient des composés intermédiaires du métabolisme et qu'ils se trouveraient à l'état libre durant certaines périodes en relation avec l'activité végétale de la plante (Bouquet, 1972). Les travaux de NICHOLAS ont montré que les mono et sesquiterpènes peuvent jouer des rôles aussi importants dans la relation des plantes avec leur environnement. C'est le cas du 1,8-cinéole et du camphre qui inhibent la germination des organes infectés ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes (Nicholas, 1973). ERMAN dégage lui, le rôle incontestable des huiles essentielles dans la pollinisation et la dispersion des diaspores grâce à leur pouvoir attracteur sur les insectes pollinisateurs, relation d'une grande importance écologique et physiologique (Erman, 1985). BRUNETON estime que la volatilité et l'odeur marquée de ces essences en font des éléments de la communication chimique (Bruneton, 1987). Enfin, une mise au point de CROTEAU montre que les huiles volatiles auraient en réalité un rôle de mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique au profit de la plante. Elles réguleraient la transpiration diurne en absorbant les rayons ultraviolets par leurs

constituants insaturés. La présence et la teneur des plantes en huile essentielle seraient donc en rapport avec la photochimie (Croteau, 1986).

1.3.4 Composition chimique des HEs

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers et il en reste beaucoup à découvrir. Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane, beaucoup moins fréquents. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 1999).

1.3.4.1 Les terpènes

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8). Ces groupes est subdivisé selon le nombre d'entités isoprènes en deux sous-groupes principales représentent la majorité des composés terpéniques : mono-terpènes formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$); et sesquiterpènes, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$). Seuls les terpènes dont la masse moléculaire est relativement faible (mono – et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999) et leur confère un caractère volatil et est à la base de leurs propriétés olfactives (Pibiri, 2005).

a) Monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité (90%) est rencontrée dans les huiles essentielles. Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales.

b) Sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, 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.

1.3.4.2 Composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiacées (persil, anis, fenouil, etc...) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, de l'estragon, etc....

1.3.4.3 Composés d'origines diverses

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares. Enfin, il n'est pas rare de trouver dans les concrètes des produits de masses moléculaires plus importantes non entraînaibles à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants.

1.3.4.4 Notion de chémotype ou chimiotype

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'huile essentielle. C'est l'élément qui permet de distinguer des huiles essentielles extraites d'une même variété botanique mais, d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les huiles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Il est important de noter que les huiles essentielles à chemotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2005).

1.3.5 Facteurs influençant la composition chimique des HEs

Les facteurs d'origine naturelle peuvent être intrinsèques, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèques liés aux conditions de croissance et de développement de la plante.

1.3.5.1 Facteurs intrinsèques

Les facteurs génétiques, la localisation, le degré de maturité :

a) Chémotypes Génétique

Le premier paramètre influençant la composition chimique d'une plante est sa biosynthèse et donc son profil génétique. C'est la raison pour laquelle, une même espèce peut présenter plusieurs chémotypes de profils chimiques différents (polymorphisme

chimique). Les chémotypes ou races chimiques sont très fréquents chez les plantes aromatiques, on compte pour le *Thymus vulgaris*, espèce morphologiquement homogène, environ sept chémotypes différents.

b) Selon l'organe

Le potentiel et la composition de l'huile essentielle dépend de l'organe. Par exemple les parties fleuries de la sauge, ont une huile essentielle plus riche en certains terpènes que les feuilles.

c) Au cours du cycle végétatif

Les études portant sur la variation de la composition chimique des huiles en fonction du cycle circadien et des saisons, sont nombreuses, l'heure de la récolte du matériel végétal ainsi que le moment dans l'année sont en effet des facteurs importants (Lahlou, 2000).

1.3.5.2 Facteurs extrinsèques

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la pluviométrie, les conditions édaphiques (composition du sol), ainsi que la technique d'extraction, représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique de l'huile essentielle (Bruneton 1999).

Selon Fluck, 1963. Les facteurs écologiques prépondérants sont le climat et le sol. Chez la *Mentha piperita* par exemple, les nuits froides favorisent la formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celle du menthofuranne. Les Citrus ont une teneur plus importante en huile essentielle lorsque la température est élevée (Bruneton 1999). Les fleurs de *Chrysanthemum coronarium* sont plus riches en huile essentielle sous l'effet de fertilisants (Alvarez-Castellanos et al. 2003).

1.3.6 Propriétés physico-chimiques des HEs

Toutes substances d'origine naturelle ou chimiquement synthétisées possèdent des propriétés physico-chimiques spéciales, les huiles essentielles aussi ayant en commun un certain nombre de propriétés spécifiques, à savoir :

- A température ambiante, les huiles essentielles sont généralement liquides ;
- A basse température, certaines huiles essentielles cristallisent : celles de menthe et de thym, lorsque les flacons sont stockés au réfrigérateur ;
- Les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les oppose aux "huiles fixes" ou "huiles végétales". Cette volatilité explique leur caractère odorant ainsi que leur mode d'obtention par entraînement à la vapeur d'eau ;

- Les huiles essentielles sont très solubles dans les huiles grasses (qui constituent un très bon véhicule lorsque l'on souhaite les diluer), les lipides (d'où le principe de l'enfleurage anciennement utilisé pour extraire les huiles essentielles en les mettant en contact avec une graisse animale comme la lanoline), l'éther, la plupart des solvants organiques ainsi que dans l'alcool (de titre élevé) ;
- De caractère liposoluble, les huiles essentielles ne se dissolvent pas dans l'eau. Rajoutées dans un bain, par exemple, elles flottent – leur densité est généralement inférieure à 1 – et sont susceptibles de provoquer des irritations, voire des brûlures cutanées. Il faut donc impérativement utiliser un tensio-actif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles possèdent un indice de réfraction élevé et ont souvent un pouvoir rotatoire ;
- Les huiles essentielles sont altérables, sensibles à l'oxydation, mais ne rancissent pas. Elles ont, en effet, tendance à se polymériser pour former des produits résineux. Leur conservation nécessite de l'obscurité (flacons en verre opaque) et de l'humidité.

1.3.7 Caractérisation des huiles essentielles

L'importance des huiles essentielles dans divers domaines (pharmacie, cosmétique, parfumerie...) nous amène à vérifier leurs qualités. La caractérisation d'une essence consiste à :

- Vérifier ses caractéristiques organoleptiques (Aspect, couleur, odeur) ;
- Déterminer ses indices physico-chimiques (densité, indice de réfraction, potentiel d'hydrogène, et indice d'acide) ;
- Obtenir son profil chromatographique et une quantification relative des différents constituants.

1.3.7.1 Caractéristiques organoleptiques

Chaque extrait est caractérisé par ces propriétés organoleptiques telles que l'odeur, l'aspect et la couleur.

a) L'odeur :

L'odorat est un sens chimique très sensible et l'habileté des parfumeurs à classer et caractériser des substances chimiques parviennent à doser les produits naturels et leur perception peut aller jusqu'au dix millionnièmes de grammes par litre d'air.

b) La couleur :

La coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent. Certains solvants ont le pouvoir d'extraire beaucoup de pigments, ce qui intensifie la couleur d'une huile donnée.

c) L'aspect :

L'aspect d'un extrait dépend des produits qui la constituent, qui peuvent nous apparaître sous forme solide, liquide ou bien solide- liquide.

1.3.7.2 Propriétés physico-chimiques

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) étaient autre fois les seules indications permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques.

a) Densité :

La densité ou la masse volumique est une grandeur physique qui caractérise la masse d'un matériau par unité de volume, donc c'est le rapport du poids d'un certain volume d'un corps et le poids du même volume d'un corps de référence (eau).

b) Indice de réfraction :

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante (Mohamdi Z, 2005).

L'indice de réfraction n'a pas d'unité car c'est le rapport de deux vitesses. Plus la lumière est ralentie, plus la matière a un indice de réfraction élevé.

L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé. Il est supérieur à ceux de l'eau à 20°C = 1.3356, et de l'huile d'olive à 20°C= 1.4684. Ceci montre leur richesse en composants qui dévient la lumière polarisée.

c) Potentiel d'hydrogène :

L'abréviation de potentiel d'hydrogène est pH, mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H⁺) (appelés aussi couramment protons) en solution. Plus couramment, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre.

d) Indice d'acide :

C'est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle. La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps, l'indice d'acide permet donc de juger de leur état de détérioration. (Mohamdi Z, 2005).

1.3.7.3 Analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles

Les propriétés physico-chimiques sont des indices propres constants d'une substance pure. Elles sont toujours mesurées, mais elles sont indiquées à titre indicatif, car la complexité des huiles essentielles ne permet pas de détecter les fraudes uniquement grâce à elles. L'analyse physico-chimique reste donc indispensable et la mieux adaptée pour connaître la composition exacte d'huile essentielle, et donc la plante de laquelle elle est extraite.

L'analyse quantitative et qualitative des huiles essentielles fait appel à plusieurs techniques et méthodes. Parmi ces méthodes nous parlons sur les méthodes micro-analytiques qui permettent l'identification et le dosage des produits même à l'état de traces. Ces méthodes consistent en l'utilisation des techniques de séparation et d'analyse des structures chimiques.

1.3.7.3a La chromatographie en phase gazeuse

Il s'agit d'une technique de chimie analytique qui permet de séparer des composés volatils ou volatilissables sans dégradation (non-thermolabiles). Son pouvoir de séparation dépasse celui de toutes les autres techniques, du moins pour les huiles essentielles.

La chromatographie en phase gazeuse CPG est une technique très répandue. Elle possède plusieurs avantages : sensibilité, polyvalence, rapidité de mise au point des analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation, qui augmentent plus son intérêt (Rouessac. F et al, 2007).

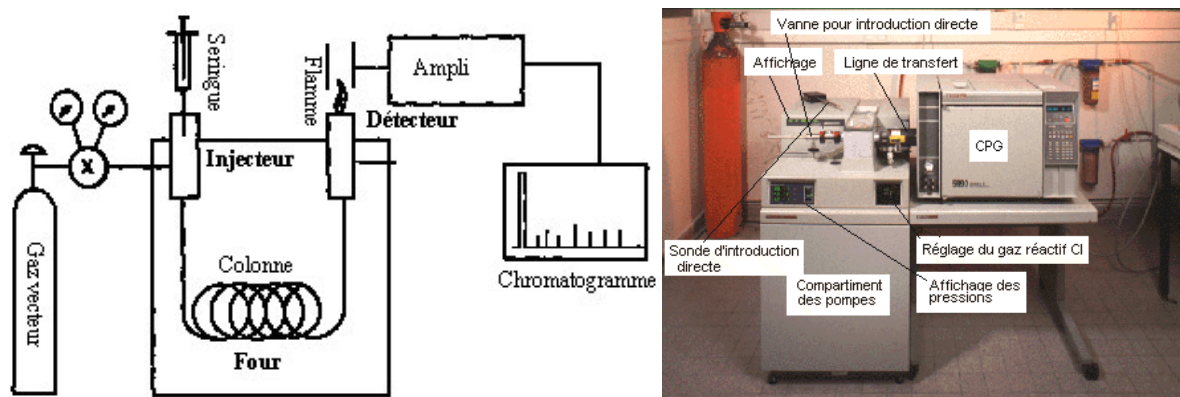


Figure 1.3 : Appareillage pour une CPG

La technique a été perfectionnée et permet maintenant de séparer les constituants des mélanges très complexes contenant jusqu'à 200 composés (Mendham J et al, 2005). Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur). Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules (Burgot G et Burgot J. L, 2011).

1.3.7.3b La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (mass spectrometry ou MS) est une technique physique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse, et de caractériser leur structure chimique.

Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge (m/z). Le spectromètre de masse est souvent couplé avec un système de chromatographie en phase gazeuse, et cette association, d'une méthode séparative et d'une méthode d'identification, permet d'étudier des mélanges complexes à l'état de traces (quelques nano grammes de mélange).

Le principe de la spectrométrie de masse est le suivant :

- Un composé organique introduit dans le spectromètre de masse est ionisé par bombardement électronique à 70 eV. L'ion ainsi obtenu, appelé ion moléculaire, permet la détermination de la masse molaire du composé.

- Il peut y avoir des ruptures des liaisons chimiques au sein de l'ion moléculaire, formant ainsi des ions fragments caractéristiques puisque cette dissociation éventuelle ne se fait pas au hasard mais selon des mécanismes bien déterminés.
- Ces ions fragments sont ensuite séparés en fonction de leur rapport masse/charge par l'application d'un champ magnétique et/ou électrique, puis collectés par un détecteur.
- L'ensemble de ces ions fragments constitue le spectre de masse dont la lecture permet l'identification de la structure moléculaire.

1.3.7.3c Analyse par couplage GC/MS

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par le biais de la SM.

La chromatographie en phase gazeuse sépare des fractions moléculaires composant l'échantillon en se basant sur la vitesse de déplacement et le temps de rétention mis pour parcourir une colonne remplie d'une phase stationnaire. La spectroscopie de masse utilise des sources énergétiques pour ioniser, fragmenter et enfin séparer les groupements moléculaires selon le rapport masse/charge électrique (m/q).

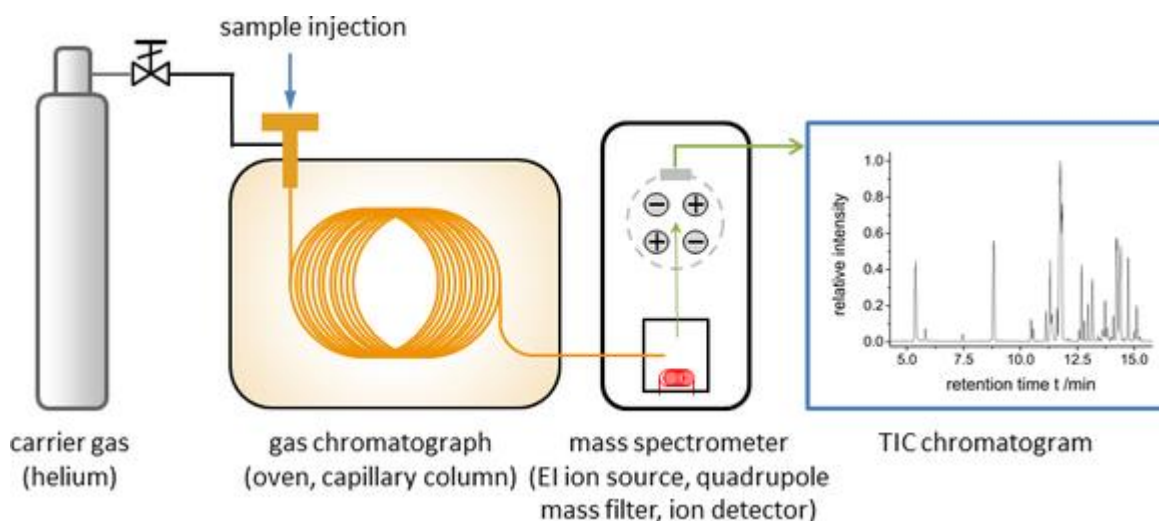


Figure 1.4 : Schéma de couplage CPG/SM

La combinaison de ces deux techniques d'analyses CPG/SM permet de séparer les composants de l'échantillon et d'identifier chaque composant, donc de faire une analyse complète aussi bien qualitative que quantitative du produit à analyser. L'identification est

ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (Ir) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres. L'avantage d'un couplage en chaîne d'une interface chromatographique avec un spectromètre est la possibilité d'analyser le spectre individuel d'un composé.

Il s'agit de la technique la plus utilisée pour l'analyse des huiles essentielles en raison en grande partie de la facilité de prise en main des systèmes de séparation et de détection performants, avec un coût relativement faible.

1.3.8 Activités biologiques et pharmacologiques des HEs

Les effets bénéfiques des composés volatils des huiles essentielles sont utilisés depuis fort longtemps par les anciennes civilisations pour soigner les pathologies courantes. Aujourd'hui, après avoir été délaissées, un tant soit peu par la médecine, le potentiel thérapeutique des huiles essentielles et de leurs constituants volatils est reconsidéré et les études qui leurs sont consacrées abondent dans la littérature scientifique.

1.3.8.1 Activités biologiques

L'origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont autant de plantes aromatiques fréquemment utilisées comme ingrédients alimentaires. Les huiles essentielles de ces plantes ont toutes une particularité commune : elles sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol est l'ingrédient actif des rince-bouches et l'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires, et dentaires. Ces trois composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* et *Helicobacterpyroli* (Pauli 2001). D'autres familles de composés présentent aussi des propriétés antibactériennes intéressantes : certains alcools, aldéhydes et cétones monoterpéniques (géraniol, linalol, menthol, terpinéol, thujanol, myrcénol, citronellal, néral, thujone, camphre, carvone, etc.), des phénylpropanes (cinnamaldéhyde) et des monoterpènes (γ -terpinène, p-cymène). Les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques sont très intéressées par les propriétés de ces composés d'autant plus qu'il s'agit d'aromatizants naturels. De ce fait, beaucoup de chercheurs à travers le monde étudient leur potentiel en tant qu'agent de conservation (Burt. S, 2004).

Les huiles sont employées pour leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums (Smallfield. B, 2001). La plupart de ces composés sont également de très bons agents antifongiques. Le thymol, le carvacrol, et l'eugénol sont encore ici les composés les plus actifs. Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme de champignons : *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* et bien d'autres (Kalemba et Kunicka, 2003).

1.3.8.2 Activités pharmacologiques

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En aromathérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires ou au niveau de la microflore vaginale et d'origine fongique contre les dermatophytes (Chaumont et Leger, 1989).

Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires, telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (Maruyama et al, 2005). Plusieurs études ont, mis en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* (Caldefie-Chézet et al, 2006) et de son composé principal, l' α -terpinéol. Les composés actifs agissent en empêchant la libération d'histamine ou en réduisant la production de médiateurs de l'inflammation. Un autre exemple : l'huile essentielle de géranium ainsi que le linalol et son acétate (Peana et al. 2002) ont montré une activité anti-inflammatoire sur des oedèmes de pattes de souris induit par le carraghénane. Les huiles essentielles représentent donc une nouvelle option dans le traitement des maladies inflammatoires.

1.3.8.3 Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène comme les huiles riches en cinnamaldéhyde ou phototoxique (Naganuma et al, 1985). D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique. Les étones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux.

1.3.9 Principaux domaines d'application des HEs

En raison de leurs diverses propriétés, les huiles essentielles sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie par leurs pouvoirs, antispasmodique, antidiabétique, analgésique, apéritif, antiseptique..., en alimentation par leur activité antioxydante et leur effet aromatisant, en parfumerie et en cosmétique par leur propriété odoriférante.

1.3.9.1 En pharmacie

Les essences issues des plantes sont utilisées en grande partie dans la préparation d'infusion (menthe, verveine, thym...) et sous la forme de préparations galéniques. Plus de 40% de médicaments sont à base de composants actifs de plantes, par exemple gastralgine est un digestif antiacide qui se compose d'huile essentielle de carvi.

De même, elles permettent par leurs propriétés aromatisants de masquer l'odeur désagréable de médicaments absorbés par voie orale. Aussi beaucoup de médicaments vendus en pharmacie sont à base des huiles essentielles comme par exemple les collyres (goute), les crèmes, ... (Richard, 1999).

1.3.9.2 En parfumerie et cosmétologie

Les d'huile essentielle sont recherchées dans l'industrie des parfums et des cosmétiques en raison de leurs propriétés odoriférantes. L'industrie de la parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celles de rose, de jasmin, de violette, de verveine... Les d'huile essentielle sont aussi consommées en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques : les dentifrices, les shampoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les savons, etc.... (Seu-Saberno, et Blakeway, 1984).

Les produits d'hygiène, détergents et lessives par exemple, consomment eux aussi beaucoup des huiles essentielles pour masquer les odeurs (souvent peu agréables) des produits purs

1.3.9.3 Dans les industries agro-alimentaires

En vertu de leurs propriétés antiseptiques et aromatisants, les huiles essentielles sont employées quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, laurier, thym...). Elles sont également très prisées en boissons anisées et en confiserie (bonbons, chocolat...). Leur pouvoir antioxydant leur permet de conserver les aliments en évitant les moisissures, conservation par exemple par le thym et le romarin (Teissedre et al, 1994).

1.4 Matériel végétal

1.4.1 Généralités sur la famille des Lamiacées

Selon (Christian et al, 2010 ; Makhlouf et al, 2014), la famille des *Lamiacées* (*Labiées*) représente une proportion considérable de la somme des plantes médicinales avec une distribution mondiale, où elle comprend environ 240 genres et plus de 7200 espèces qui sont classés au niveau mondial. Les plantes médicinales appartenant à la famille des *Lamiacées* ont une grande importance à cause de leurs différents domaines d'application telle que la médecine, la cosmétique, et la culinaire.

La forme de la fleur et la présence d'huiles essentielles signent cette famille. Ces plantes sont herbacées (ou plus ou moins ligneuses), à feuilles opposées sans stipule, à tige quadrangulaire et à fleurs irrégulières et gamopétales disposées en grappes (parfois d'apparence verticillée, en épis ou en capitule) (Makhlouf et al, 2014). Généralement la famille des *Lamiacées* est une famille qui regroupe les plantes avec ces caractéristiques botaniques (Moreau, 1960) :

- La plante est couverte de poils glanduleux renfermant une huile essentielle. Le calice persistant, à 5 divisions (rarement 3 à 12), est soit régulier, soit disposé en 2 lèvres ;
- La corolle est constituée de pétales soudés entre eux qui forment 2 lèvres :
 - La lèvre supérieure est entière ou échancrée ;
 - La lèvre inférieure comporte 3 lobes (rarement 5) ;
- Les étamines au nombre de 4 (rarement 2), dont les 2 plus grandes sont soudées à la corolle, possèdent des anthères à 2 loges (rarement 1). Celles-ci s'ouvrent dans la largeur (rarement par une fente en arc) ;
- L'ovaire à 2 carpelles divisés en 2 parties, d'où semble sortir le style. Celui-ci se termine par un stigmate divisé en 2 parties ;
- Le fruit est un tétrakène, se dissociant à maturité en 4 méricarpes indéhiscent renfermant chacun 1 graine sans albumen (ou très peu).

Ces caractères ainsi définis pour la famille des *Lamiacées*, présentent des variations en fonction des différents genres. Ces genres sont classés suivant des détails anatomiques communs.

1.4.2 Description botanique du genre *Salvia*

Le genre *Salvia* comprend près de 900 espèces. Le mot *Salvia* provient de l'italien "salvare" qui veut dire sauver. La *Salvia* a toujours été considérée comme une plante magique qui sauve des vies humaines. Ces espèces sont des arbustes ou des plantes herbacées. Le calice est bilabié, variable, à lèvre supérieure tridentée, l'inférieure bidentée. La corolle est bilabiée. Elle comporte 2 étamines, à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches inégales, l'une portant une loge de l'anthere et l'autre, le plus court, une écaille, ou bien terminé en pointe (Kabouche, 2005).

1.4.3 Position systématique de l'espèce *Salvia officinalis* L. (Demet. A, Nüket, 2016)

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classekl : *Magnoliopsida*

Sous classe : *Asteridae*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Salvia*

Espèces : *Salvia officinalis* L., 1753

Noms vernaculaires :

- Arabe : mirmia ; miriamia ;
- Anglais : Roman laurel ;
- Français : Sauge.



Figure 1.5 : *Salvia officinalis* L.

1.4.4 Description botanique de l'espèce *Salvia officinalis* L.

La sauge (figure 1.5) est un sous arbrisseau buissonnant formant une touffe pouvant atteindre 80 cm de haut. Les feuilles sont opposées, pétiolées à la base, de 3 à 10 cm de long sur 3 cm de large. Elles sont de couleur vert grisâtre d'aspect velouté, les bords du limbe sont légèrement crénelés. Les fleurs, de couleur bleu violacé, sont groupées par 3 à 5 en petites grappes verticillées. La corolle tubuleuse munie à sa base d'un anneau de poils bilabiée, la lèvre supérieure est presque droite. Les fruits sont des tétrakènes sphériques, de couleur brun foncé à noir (Taleb, 2015).

1.4.5 Composition chimiques

Les principales études phytochimiques des fleurs, des feuilles et des tiges de l'espèce *Salvia officinalis*. Ont été bien identifiés un large éventail de constituants à savoir : les alcaloïdes, les glucides, les acides gras, les dérivés glycosidiques (glycosides cardiaques, les glycosides de flavonoïdes, les saponines), les composés phénoliques (Les coumarines, les flavonoïdes, les tanins), les polyacétylènes, les stéroïdes, les terpènes / terpénoïdes (Monoterpénoïdes, diterpénoïdes, triterpénoïdes, sesquiterpénoïdes) et des cires se trouvent dans cette espèce (Ghorbani et Esmailizadeh, 2017).

Selon Ghorbani et Esmailizadeh, 2017, plus de 120 composants ont été caractérisés dans l'huile essentielle extraite à partir de parties aériennes de *Salvia officinalis*. Les principaux composants de l'huile incluent le borneol, le camphre, le caryophyllène, le cineole, l'elemène, l'humulène, le ledène, le pinène et la thuyone.

Mohsen et al, 2014. Ont mentionnent que dans la plupart des analyses de l'huile de *Salvia officinalis*, les composants principaux, bien que présents dans différentes concentrations, sont : 1,8-cineole, camphre, borneol, acétate de bornyl, camphène, α et β -thujone, linalool, acide rosmarinique, α - et β -Caryophyllène, α -humulène, acide ursolique, α et β -pinène, viridiflorol, pimaradiène, acide salvianolique, et l'acide carnosique.

L'étude caractéristique effectuée par Taleb, 2015 sur l'huile essentielle de l'espèce *Salvia officinalis* L. d'origine Algérienne (Tizi-Ouzou), a montré la présence de quatre constituant majoritaire dans le pourcentage : α -pinène 8.71 %, le β -pinène 7.61 %, le camphre 10.32 % et l'eucalyptol 41.7 % (1,8-cineole).

1.4.6 Utilisation traditionnel

Salvia officinalis (Sauge) est originaire du Moyen-Orient et de la région de la méditerranée, mais aujourd'hui elle a été naturalisée à travers le monde. Dans la médecine traditionnelle, cette plante a été utilisée pour traiter les différents types de troubles, y compris la convulsions, les ulcères, la goutte, les rhumatismes, l'inflammation, les étourdissements, les tremblements, la paralysie, la diarrhée et l'hyperglycémie. Ces dernières années, cette plante a fait l'objet d'études intensives pour documenter son utilisation traditionnelle et pour trouver de nouveaux effets biologiques (Ghorbani et Esmailizadeh, 2017).

Selon (Mohsen et al, 2014), le thé à la Sauge a été traditionnellement utilisé pour le traitement des troubles digestifs et de la circulation, de la bronchite, de la toux, de l'asthme, de l'angine de poitrine, de l'inflammation de la bouche et de la gorge, de la dépression, de la transpiration excessive, des maladies de la peau et de nombreuses autres maladies. Les

huiles essentielles de *Salvia* ont été utilisées dans le traitement d'une large gamme de maladies comme celles du système nerveux, du cœur et de la circulation sanguine, du système respiratoire, du système digestif et des maladies métaboliques et endocrines. En outre, l'huile essentielle de *Sauge* a été démontrée pour avoir des propriétés antispasmodiques, carminatives, antiseptiques et astringentes.

1.4.7 Propriétés biologiques et pharmacologiques

Les huiles essentielles sont des sources très importantes pour le dépistage des agents anticancéreux, antimicrobiens, antioxydants et radicaux libres (Ghorbani et Esmaeilizadeh, 2017). La plante *Salvia officinalis* est considéré comme ayant la plus grande quantité d'huile essentielle par rapport aux autres espèces de *Salvia*.

Aujourd'hui, il existe beaucoup d'intérêt pour les médicaments traditionnels et les traitements à base de plantes dans le monde entier. Par conséquent, de nombreuses études expérimentales et cliniques sont en cours sur les plantes médicinales. Des résultats pharmacologiques disponibles qui ont été fréquemment signalés pour la plante *Salvia officinalis* sur la base de la preuve de la littérature disponible, cette plante présente des effets anticancéreux, anti-inflammatoires, hypoglycémiant, hypolipidémiques, antinociceptifs, antioxydants, antimicrobiens, et d'amélioration de la mémoire. L'efficacité de *Salvia officinalis* en tant que plante médicinale antinociceptive, hypolipidémique et stimulante de la mémoire a été confirmée par des essais cliniques (Ghorbani et Esmaeilizadeh, 2017).

1.5 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons identifié les différents termes abordés dans ce travail. On a présenté en générale les plantes aromatiques et médicinales, leurs bienfaits, et leurs propriétés. Donc d'après cette étude bibliographique on peut dire que la phytothérapie (traitement à base de plantes médicinales) a une grande importance socio-économique grâce à diverses principes actifs des plantes médicinales.

Notre travail est porté sur l'un des éléments le plus actif des plantes aromatiques et médicinales, qui est l'huile essentielle. Ces huiles sont connues pour leurs excellente propriétés et leur exploitation dans de produits assez importants pour des secteurs très sensibles comme les industries agroalimentaires et pharmaceutiques. Pour cela nous avons défini les huiles essentielles, ces propriétés chimiques, physiques et biologiques ainsi que leurs principaux domaines d'utilisation.

CHAPITRE 2

MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Introduction

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce à leurs différents principes actifs notamment les huiles essentielles. En effet, ce chapitre est consacré à l'extraction et la caractérisation d'huile essentielle de la plante médicinale *Salvia officinalis* L.

Dans ce chapitre on va présenter les différentes étapes de préparation de la matière végétale investiguée, la méthodologie adoptée pour le travail expérimental pour l'extraction et la caractérisation d'huile extraite, et le matériel manipulé.

2.2 Matière végétale

La plante utilisée pour l'extraction d'huile essentielle (*Salvia officinalis* L) a été prélevée dans la wilaya de Sétif (Ain Oualmen) à l'East d'Algérie (figure 2.1), et seul ses feuilles on fait l'objet de l'extraction.

Ain Oualmen est une daïra située à 33 Km au sud de Sétif, à une altitude de 950 m.

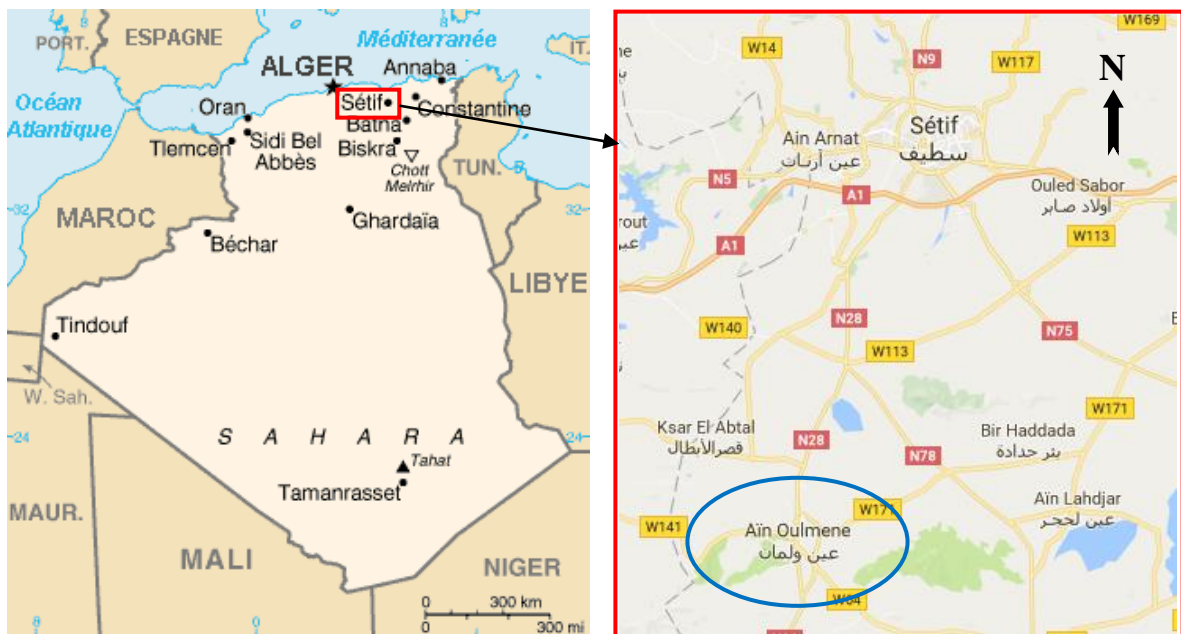


Figure 2.1 : Localisation du site d'étude

2.2.1 Préparation de l'échantillon solide pour l'extraction

Les différentes étapes de préparation de l'échantillon aux expériences sont présentes de la manière suivant :

- **Mondation** : pour débarrasser la matière première des parties inutiles afin de garder seulement les feuilles de *Salvia officinalis*.

- **Broyage** : effectué à l'aide d'un moulin à café pour 15 à 20 secondes jusqu'à l'obtention d'une poudre.



Figure 2.2 : L'échantillon avant et après broyage

- **Tamissage** : la poudre est placée dans un tamiseur vibratoire ordinaire GB/T600 3.1-1997 (figure 2.3), qui sert à récupérer les particules ayant les diamètres désirés (figure 2.4).



Figure 2.3 : Tamiseur vibratoire



Figure 2.4 : Echantillon après tamisage

2.3 Dispositif expérimentale et mode opératoire

- **Dispositif expérimental**

L'extraction d'huile essentielle a été effectuée par d'hydrodistillation à l'aide d'un appareillage de type *Clevenger* (figure 2.5) à une pression atmosphérique.

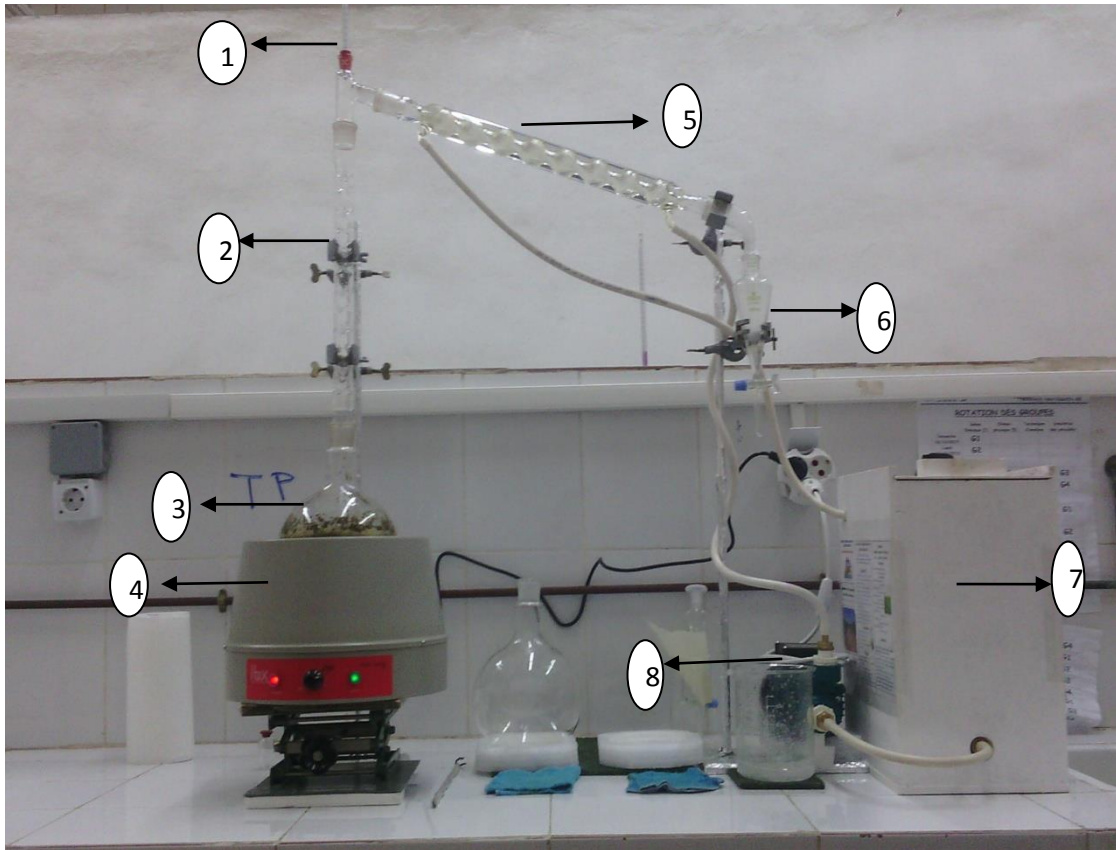


Figure 2.5 : Montage d'hydrodistillation manipulé (*Clevenger*)

- | | |
|-----------------------------|-------------------------|
| 1 : Thermomètre | 5 : Colonne réfrigérant |
| 2 : Colonne de distillation | 6 : Ampoule |
| 3 : Ballon | 7 : Réservoir |
| 4 : Chauffe ballon | 8 : Pompe à eau |

- **Protocole opératoire**

Le principe de la technique d'hydrodistillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. L'opération consiste à introduire une masse végétale (100 g) dans un ballon en verre (2 L), on y ajoute une quantité suffisante d'eau de robinet sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition et le phénomène de stagnation. En suite le mélange est porté à l'ébullition à l'aide d'un chauffe ballon.

Avec un réglage du chauffage pour permettre une stabilité de l'extraction. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical (colonne de rectification) puis dans la colonne de refroidissement où aura lieu la condensation, le

distillat (H+E) est récupéré dans une ampoule à décanter pour la séparation du mélange par différence de densité. Le temps d'extraction est mesuré à partir de la chute de la première goutte dans l'ampoule.

L'huile récupérée est séchée par filtration sur une surface de chlorure de calcium (CaCl₂) pour éliminer toute trace d'eau, finalement l'huile essentielle extraite est conservée dans des flacons en verre opaque fermés hermétiquement au réfrigérateur à une température voisine de 4°C, pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de température.

2.4 Etude de la cinétique d'extraction

L'étude de la cinétique d'extraction a pour but de déterminer le temps nécessaire au bout duquel il n'est plus rentable de poursuivre l'extraction, qualifié par le rendement optimum. Pour cela et afin d'illustrer la cinétique d'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* par hydrodistillation à l'aide du montage du type « Clevenger » décrit précédemment, on a suivi la variation de la masse d'huile essentielle en fonction de temps jusqu'à l'extraction totale d'huile essentielle.

2.5 Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (M) et la masse de la matière végétale utilisée (M_S). Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$\text{RHE} = \left(\frac{M}{M_S} \right) * 100$$

2.6 Caractérisation d'huile extraite

2.6.1 Caractéristiques organoleptiques

L'analyse sensorielle est une source d'information essentielle qui, reflète les attentes et les tendances des consommateurs. L'analyse a été effectuée en observant et en inhalant directement l'huile essentielle. L'évaluation des propriétés organoleptiques constitue généralement une partie des études visant à analyser les facteurs qui affectent la qualité de l'huile essentielle. La couleur d'huile essentielle est un paramètre très important pour certaines applications, en la déterminer directement par les yeux.

2.6.2 Détermination des propriétés physico-chimiques

2.6.2.1 La densité relative

A l'aide d'une balance électronique de précision 10^{-4} , on pèse une seringue de 5 ml propre et sèche et on fait la tare. Ensuite on prend une quantité de 1 ml d'huile essentielle et on la pèse afin d'obtenir son poids exact.

2.6.2.2 Indice de réfraction

La mesure de l'indice de réfraction de notre huile a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre de marque ABBE (figure 2.6).

Après étalonnage et nettoyage de l'appareil à l'aide d'une substance d'indice de réfraction connu à la température fixée à 20°C , on passe 2 gouttes d'huile essentielle au milieu du prisme. Puis on regarde dans l'oculaire et la mesure se fait en tournant le bouton de réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre du réticule, finalement on note la valeur de l'indice par l'échelle de lecture.



Figure 2.6 : Réfractomètre type ABBE

Une formule empirique permet d'évaluer l'indice de réfraction d'un liquide à 20°C quand on l'a mesuré à une température légèrement différente. :

$$I_r = I_t + 0,00045(T-20)$$

I_{r20} = Indice à 20°C

I_t = Indice à la température de mesure.

T = Température de mesure.

2.6.2.3 Potentiel d'hydrogène

Le pH ou « potentiel hydrogène » mesure l'activité chimique des ions hydrogènes H^+ en solution. Le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Cette méthode décrit l'acidité ionique du produit à analyser, son principe consiste à introduire l'électrode du pH-mètre dans le produit après le réglage de la température d'étalonnage. La lecture se fait directement sur le pH-mètre (figure 2.7).



Figure 2.7 : pH-mètre

2.6.2.4 Indice d'acide

C'est le nombre de milligramme de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huiles essentielles. Les acides libres sont neutralisés par une solution d'Ethanol titrée de KOH, c'est-à-dire la mesure d'indice acide est réalisée par titrage (figure 2.8).

1g d'huile essentielle est introduit dans une erlenmeyer de 25ml ; on ajoute 5ml d'éthanol à 96° neutralisé et 3 gouttes de l'indicateur coloré phénophtaléine. Puis on neutralise la solution obtenue avec l'hydroxyde de potassium 0,1N.



Figure 2.8 : Dispositif de mesure d'indice d'acide

A la fin on prend le volume exact de KOH consommé pour le calcul de l'indice d'acide par la relation suivante :

$$I_A = (5,61 * V_{KOH}) / m_h$$

I_A : Indice d'acide.

V_{KOH} : Volume d'hydroxyde de potassium en (ml).

m_h : Masse d'huile en (g).

2.6.3 Analyse spectroscopique d'huile essentielle

L'analyse qualitative et quantitative d'huiles essentielles nécessite des moyennes d'analyse spécifiques vu la complexité de mélange, et le choix des méthodes de caractérisation repose sur l'efficacité de la technique utilisée pour l'identification de la composition. Dans notre cas nous avons appliqué deux méthodes à savoir : la spectroscopie UV-VIS, et la spectroscopie IR.

Cette partie de travail a été effectuée au sein du laboratoire de génie des procédés, de l'Université Kasdi Merbah de Ouargla.

2.6.3.1 Analyses par spectroscopie UV-VIS

Les spectromètres UV-VIS permettent d'obtenir le spectre des composés examinés sous la forme d'un tracé de la transmittance, ou de l'absorbance, en fonction des longueurs d'onde repérées en abscisses. Pour cette analyse nous avons utilisés un appareil de type SPECORD 200 (figure 2.9), et un autre de type Spectro Scan80 DV (figure 2.10). Le solvant utilisé pour la dilution d'huile essentielle est le méthanol.



Figure 2.9 : Spectrophotomètre (SPECORD 200)



Figure 2.10 : Spectrophotomètre (Spectro Scan 80 DV)

2.6.3.2 Analyses par spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge est une méthode d'analyse qualitative et quantitative permet de caractériser les principales fonctions d'une molécule organique. Le rayonnement infrarouge est un rayonnement électromagnétique d'une longueur d'onde supérieure à celle de la lumière visible mais plus courte que celle de la micro-onde.

Le domaine infrarouge se situe entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} ($2.5\text{--}25\text{ }\mu\text{m}$, $1.2 \cdot 10^{13}$ à $1.2 \cdot 10^{14}\text{ Hz}$) correspond au domaine d'énergie de vibration des liaisons.

L'appareil manipulé dans cette analyse est du type **IR-600** (figure 2.11), premièrement le mise on marche de l'appareil et l'ordinateur, après rinçage de la cuve (cristal ZnSe), on place l'échantillon dans la cuve, et finalement la lecture.



Figure 2.11 : Spectrophotomètre IR-600

2.7 Conclusion

Le travail réalisé au cours de cette étude nous a permis d'approfondir les notions et de maîtriser les techniques de valorisation des huiles essentielles à savoir :

- Dominer la manipulation d'un montage d'extraction par hydrodistillation de type *Clevenger* ;
- Maîtriser les différentes techniques de caractérisation des huiles essentielles par analyse sensorielle (caractérisation organoleptique), et par détermination des propriétés physico-chimiques ;
- L'analyse qualitative et quantitative d'huile essentielle par application de deux techniques, la spectroscopie ultra-violette visible (UV-VIS), et la spectroscopie infra-rouge (IR).

CHAPITRE 3

HYDRODISTILLATION ET CARACTERISATION D'HUILE ESSENIELLE DE LA PLANTE *SALVIA OFFICINALIS L.*

3.1 Introduction

Le travail expérimental réalisé au cours de ce chapitre consiste à choisir la méthode d'extraction à travers une comparaison des techniques d'extraction existants dans la littérature, ce choix sera justifié par l'estimation du rendement et le temps nécessaire de l'extraction, suivi par caractérisation d'huile essentielle de la plante *Salvia officinalis* L. afin de déterminer ses caractéristiques organoleptiques et ses propriétés physicochimiques.

3.2 Procédés d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) (Jacqueline, 2009). Ce qui en fait des substances fragiles, rares, et précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes. Le procédé d'extraction est basé sur la différence de solubilités des composés d'un mélange dans un solvant. Le mélange peut être solide ou liquide et le solvant liquide ou fluide supercritique.

Il existe plusieurs techniques d'extraction des produits de haute valeur ajoutée présents dans les plantes. Ces techniques peuvent être dites conventionnelles (utilisées depuis longtemps) et nouvelles (développées plus récemment).

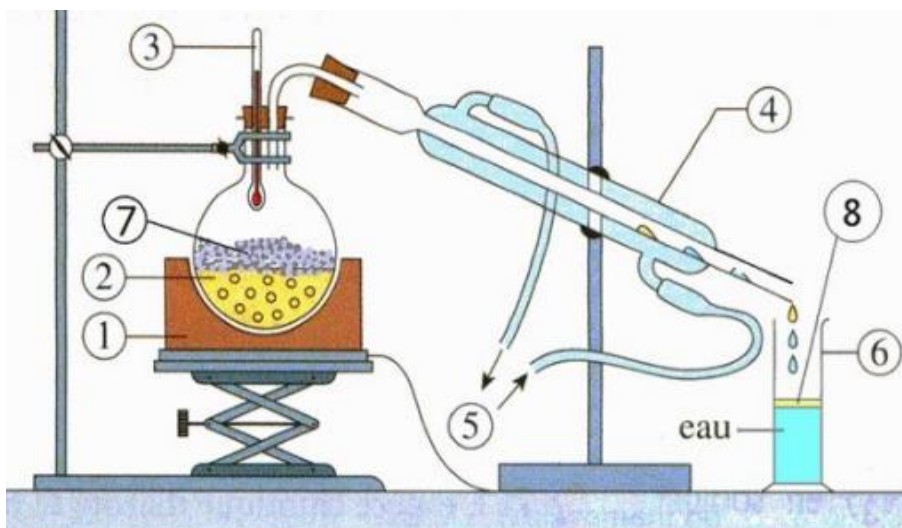
Parmi les techniques conventionnelles, on trouve l'entraînement à la vapeur, l'hydrodistillation, l'extraction par solvant volatil, et l'hydrodiffusion.

Dans la catégorie « techniques nouvelles » on peut citer l'extraction assistée par microondes (Microwave Assisted Extraction), et l'extraction par des fluides supercritiques.

3.2.1 Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait-là plus anciennement utilisée. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult) (Pavida et al, 1976). Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence

de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger (Lucchesi, 2005)



- | | |
|-------------------|---|
| 1- Chauffe ballon | 5-Entrer et sortie d'eau de refroidissement |
| 2- Ballon | 6- Epreuve graduée |
| 3- Thermomètre | 7- Matière à extraire l'essence |
| 4- Réfrigérant | 8- La couche d'HES |

Figure 3.1 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter.

La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

3.2.2 Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau (figure 3.2) est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

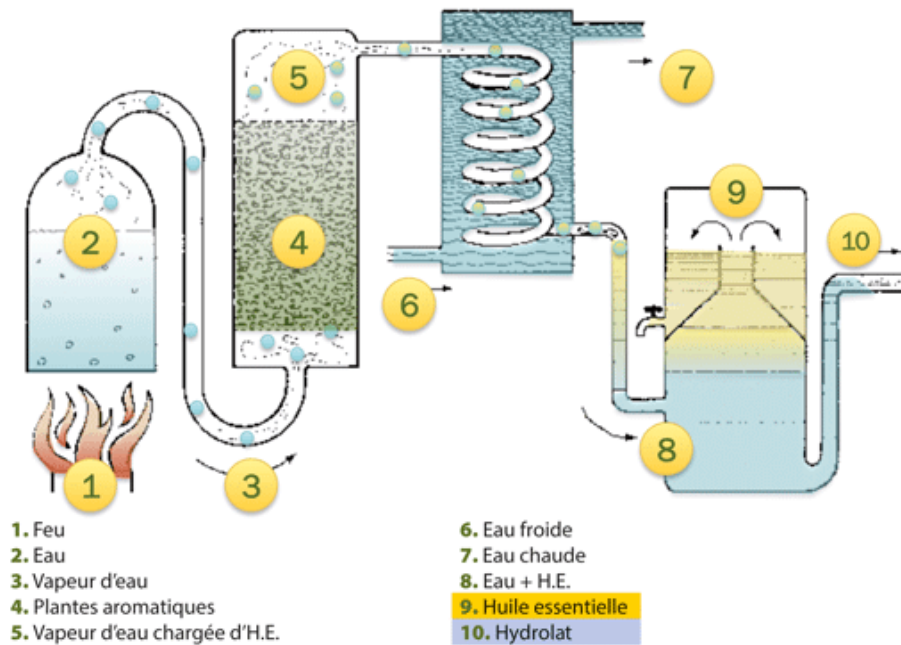


Figure 3.2 : Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau

3.2.3 Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur (figure 3.3). Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale.

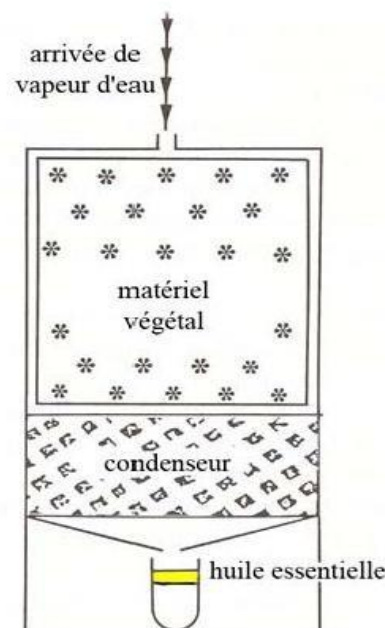


Figure 3.3 : Montage d'hydrodiffusion

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

3.2.4 Extraction par solvants volatils

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique.

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone (Kim et al, 2002). Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson.

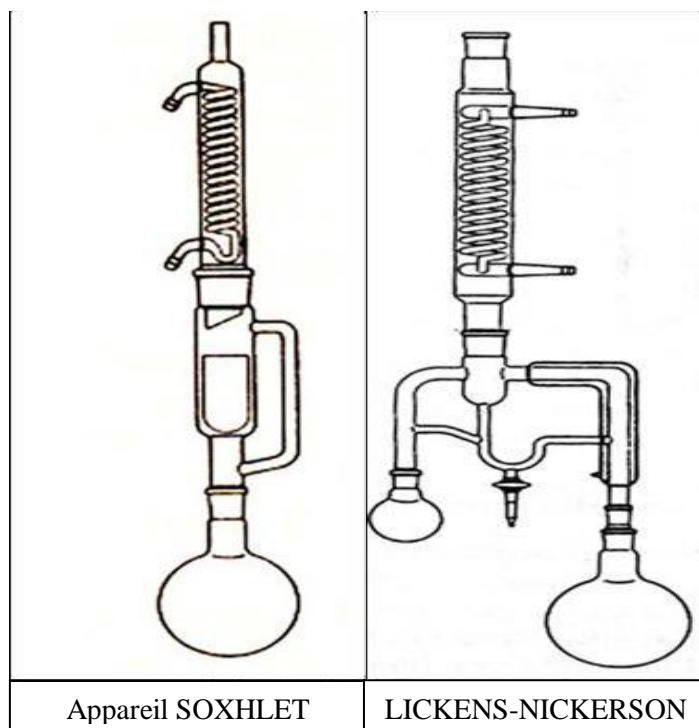


Figure 3.4 : Montage d'extraction par solvant

Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de

composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances (Hubert, 1992).

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement. Cependant, les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysant de l'eau ou de la vapeur d'eau.

3.2.5 Extraction assistée par micro-onde

C'est une technique récente développée dans le but d'extraire des produits naturels comparables aux huiles essentielles et aux extraits aromatiques. Dans cette méthode, la plante est chauffée par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle : les molécules volatiles sont entraînées dans le mélange azéotrope formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (Brennecke. J. F et C. A. Eckert, 1989). Ce chauffage, en vaporisant l'eau contenue dans les glandes oléifères, crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et libère ainsi le contenu en huile (figure 3.5).

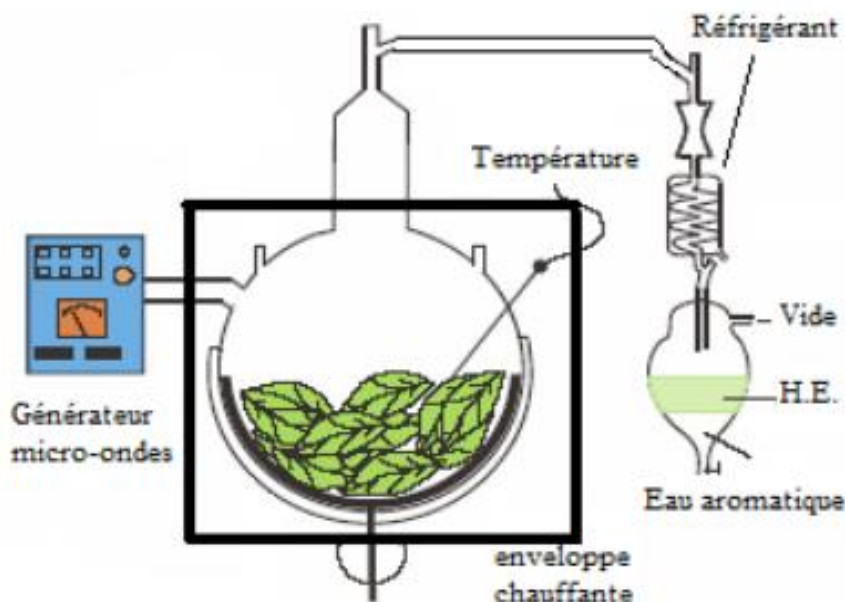


Figure 3.5 : Hydrodistillation assistée par micro-ondes

Les auteurs de ce procédé lui attribuent certains avantages tels que le temps d'extraction (dix à trente fois plus rapide), l'économie d'énergie et une dégradation thermique réduite.

3.2.6 Extraction par fluides supercritiques

L'extraction avec des fluides supercritiques est une méthode très attractive qui mérite une attention particulière. La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans les fluides à l'état supercritique. Les avantages de cette méthode devant les méthodes conventionnelles, elle basée sur une durée d'extraction plus courte, une sélectivité élevée et la facilité d'éliminer et de recycler le solvant après l'extraction par simple décompression (Danielski. L et al, 2006). De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles. Cette technique est utilisable pour les essences difficilement distillables.

La figure 3.6 représente la technique d'extraction par le CO₂ supercritique (comme exemple).

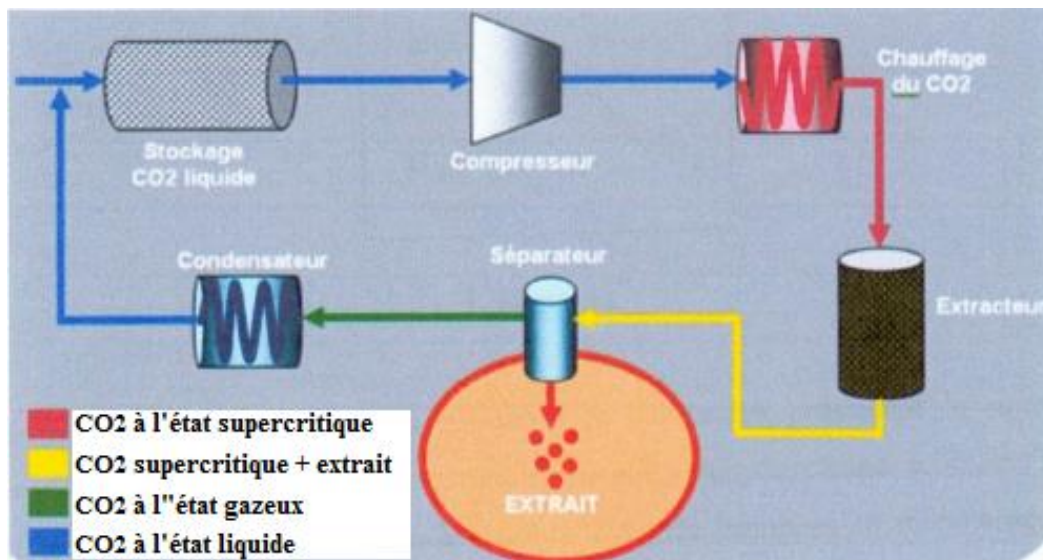


Figure 3.6 : Schéma de la technique d'extraction par le CO₂ supercritique

3.3 Choix de la méthode d'extraction (Hydrodistillation)

Le choix de la méthode utilisée définit la nature de l'essence ainsi que son éventuelle utilisation. L'entraînement par la vapeur ou l'hydrodistillation de la plante fraîche ou sèche restent les techniques les plus utilisées.

La méthode d'extraction d'huile essentielle choisie est l'hydrodistillation vu sa manipulation facile avec un simple montage qui fonctionne à une pression atmosphérique, et aussi sa capacité à extraire la totalité d'huile contenue dans les plantes sans utilisation de solvants chers et néfastes pour la santé.

3.4 Rendement d'extraction

L'estimation du rendement massique en huile essentielle obtenu par hydrodistillation révèle une valeur comprise entre 0,41-0,9% (tableau 3.1), La lecture dans les résultats du rendement de l'extraction d'huile essentielle de *Salvia officinalis* de différentes origines obtenues par hydrodistillation rapporté dans la littérature montre que manière générale que le rendement obtenu est en accord avec les rendements mentionnés dans la littérature ; les rendements sont de même ordre de grandeur. En effet Nabil. A, 2015 et Alessandra. R et al, 2013 rapport des valeurs du rendement de l'ordre de 0,97%, et 0.55-2.20% dans la région de Bejaia en Algérienne et dans l'Italie respectivement, qui sont dans la gamme de nos résultats.

Tableau 3.1 : Rendements d'HE de *Salvia officinalis* extraite par hydrodistillation

Pays	Rendement	Références
Algérie (Sétif)	0,41-0,9%	La présente étude
Algérie (Tizi-Ouzou)	0,2%	Taleb. T. K, 2015
Algérie (Bejaia)	0,97%	Nabil. A, 2015
France	2,05%	
Tunisie	1,8%	
Portugal	2,9%	
Romanie	2,3%	
Italie	0.55-2.20%	Alessandra. R et al, 2013

3.5 Cinétique d'extraction

La cinétique d'extraction consiste à suivre l'évolution de la masse d'huile extraite cumulée en fonction du temps, pour cela et afin de montrer cette variation on laisse le temps suffisant jusqu'à l'extraction totale de l'huile essentielle, le tableau 3.2 résume les différentes valeurs de masse d'huile récupérée chaque **20 min** pendant un temps d'extraction de **240 min**, ces résultats ont été représentés graphiquement sur la figure 3.7.

Tableau 3.2 : Masse d'huile extraite cumulée en fonction du temps d'extraction

Temps (min)	0	20	40	60	80	100	120
Masse cumulée (g)	0	0,8184	1,1196	1,1617	1,196	1,2129	1,2239
Temps (min)	140	160	180	200	220	240	
Masse cumulée (g)	1,2276	1,2301	1,2325	1,234	1,2356	1,236	

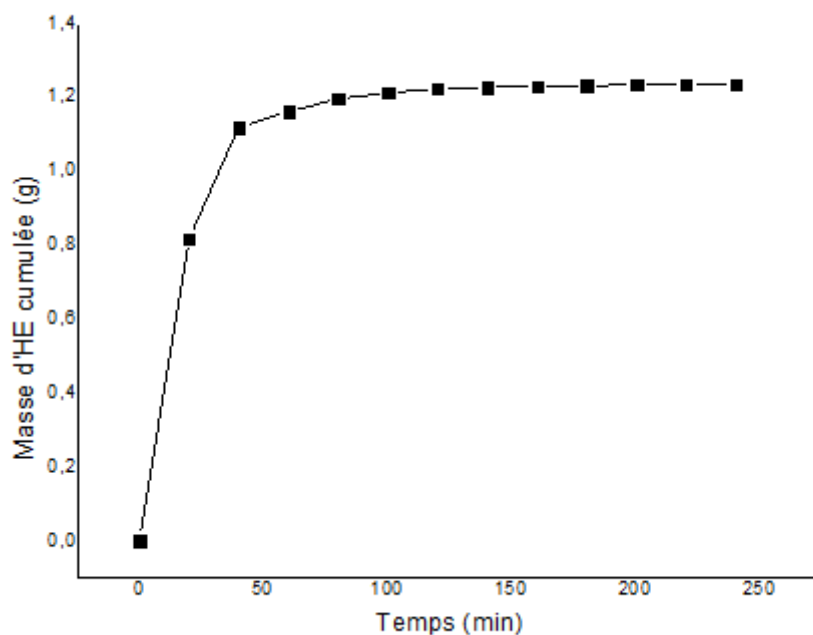


Figure 3.7 : Courbe de la cinétique d'extraction d'huile par hydrodistillation

La figure 3.7 représente la variation de la masse cumulée en huile essentielle de *Sauge* en fonction du temps, elle montre clairement l'allure générale attendue d'une courbe classique de la cinétique d'extraction, dont le rendement calculé à la fin de l'extraction est de **0,68 %**.

D'après l'allure de la cinétique d'extraction figure 3.7, on peut distinguer trois différentes parties d'extraction :

- La première partie (de 0 jusqu'à 20 min) de l'extraction, c'est la phase d'accélération où l'extraction est rapide (diffusion externe), elle est représentée par une droite. La pente de cette partie montre la facilité de l'extraction, donc cette phase représente 66.2 % de la masse totale extraite pendant 240 min ;
- La deuxième partie (de 20 jusqu'à 150 min) correspond à la phase de ralentissement où l'extraction est limitée par la diffusion interne ;
- Enfin au cours de la troisième étape (150 jusqu'à 240 min), la courbe tend vers un palier qui correspond à l'épuisement d'huile de la plante et à la fin de l'extraction donc à une phase plus lente.

La quantité d'huile extraite après 180 min et jusqu'à 240 min présente environs 0.3 % de la quantité totale extraite. Partant du concept de minimiser le temps d'extraction et réduire la consommation énergétique, on peut déduire le temps adéquat pour l'extraction d'huile essentielle de *Salvia officinalis* par une valeur de 180 min.

3.6 Caractéristiques organoleptiques et propriétés physico-chimiques

Les résultats de la détermination des caractéristiques organoleptiques et des propriétés physico-chimiques de notre huile essentielle sont réunis dans le tableau 3.3.

Tableau 3.3 : Propriétés d'huile essentielle de *Salvia officinalis*

Propriétés	Notre étude	Taleb.T. K, 2015	Amrouni. S, 2015
Aspect	Liquide	Liquide	Liquide
Couleur	Incolore	Incolore	Incolore
Odeur	Camphrée	Camphrée	Camphrée
Densité (g/ml) à 20°C	0,85	ND	0,91
Indice de réfraction à 20°C	1,4650	ND	1,4645
Potentiel d'hydrogène	4,36	ND	ND
Indice d'acide	1,122	0,561	ND

ND : Non déterminé

Les huiles essentielles issues de la méthode d'hydrodistillation possèdent des notes olfactives proches des arômes originelles des plantes fraîches utilisées avec des odeurs d'herbes aromatiques. L'odeur dégagée est agréable malgré une légère altération, mais toujours avec un caractère herbal rappelant les plantes fraîches. On note que notre huile essentielle a un aspect liquide, une odeur propre à la matière végétale (camphrée), et incolore (figure 3.8).



Figure 3.8: Huile essentielle de *Salvia officinalis*

La densité d'une H.E constitue un critère très important pour évaluer la qualité d'une huile essentielle dans différents domaines de la vie (cosmétique, pharmacie, chimique, agroalimentaire, etc.). Elle peut facilement donner un aperçu sur la naturalité du produit ainsi que les tentatives de fraudes et d'adultération.

Notre huile essentielle a un pH acide de l'ordre de **4,36**, cette valeur est acceptable dont la majorité des huiles essentielles qui présentent un caractère acide. Il convient de souligner que le pH joue un rôle déterminant au cours des réactions chimiques et biochimiques et peut influencer les propriétés stabilisatrices d'une huile essentielle (effets antioxydant et antimicrobien). Par conséquent, ce résultat peut amener à un bon caractère stabilisateur contre les micro-organismes ; ce qui permettra à ces huiles de jouer le rôle de conservateurs dans les produits alimentaires.

L'indice d'acide indique le comportement et la quantité des acides libres présents dans notre huile. Il peut aussi nous renseigner sur la susceptibilité d'huile à subir des altérations, notamment l'oxydation.

Donc il indique d'une part le degré de conservation d'une huile et d'autres part la qualité d'huile alimentaire, souvent cet indice est de valeur inférieure ou égale à 2. D'après les résultats, nous avons un d'indice d'acide de **1,122** qui affirme la bonne qualité de notre huile essentielle. Une faible valeur d'indice d'acide nous laisse penser qu'elle ne contient pas beaucoup d'acides libres et ne sont pas altérées, lors de leur extraction par et leur conservation.

Un indice d'acide élevé pour les huiles essentielles peut être bénéfique par addition de ces essences à un produit alimentaire possédant des matières grasses et des acides gras libres et oxydables. Cet effet stabilisateur se manifeste dans la mesure où l'oxydation affecte plutôt les acides libres de l'essence utilisée comme conservateur et protège ou limite donc l'oxydation des acides gras libres insaturés des produits alimentaires ce qui améliore à la fois la qualité nutritionnelle et organoleptique de ces produits.

L'indice de réfraction est un paramètre d'identification qualitative et une manière de vérifier le degré de pureté des huiles essentielles. Chaque substance a son indice de réfraction spécifique, plus l'indice de réfraction d'un produit est près de la valeur attendue, plus sa pureté est grande. Notre indice est très proche à celui déterminé par Amrouni. S, 2015, ce qui témoigne la haute pureté de notre huile.

En termes de validation en comparant nos résultats expérimentaux avec ceux de la littérature, on remarque que les caractéristiques organoleptiques de notre huile sont identiques aux autres huiles de la région de Bejaia (Taleb.T. K, 2015) et Annaba (Amrouni. S, 2015). Néanmoins on observe un petit écart pour les propriétés physico-chimiques concernant la densité et l'indice d'acide, cette différence peut être attribuée à divers facteurs (l'organe de la plante, lieu de culture, période de récolte, méthode d'extraction, etc...), mais ces valeurs restent toujours dans les normes avec une densité inférieure à celles d'eau, et un indice d'acide compris entre 0 et 2.

3.7 Analyse spectroscopique d'huile essentielle

3.7.1 Interprétation de spectre d'analyse par UV-visible

Le spectre d'absorption UV-visible de notre extrait végétal est présenté sur la figure 3.9. Le constat global sur ce spectre montre que l'absorption maximale est située dans le domaine UV pour tous les extraits analysés et correspond à une longueur d'onde de l'ordre de 275 nm d'autre part la représentation des courbes de tendance $A = f(\lambda)$ pour identifier l'aspect qualitative des huiles essentiels indique la présence des molécules avec hétéroatome porteur de doublet libre appartenant à un système insaturé de type carbonyle dont la bande d'absorption est située entre 270 et 280 nm.

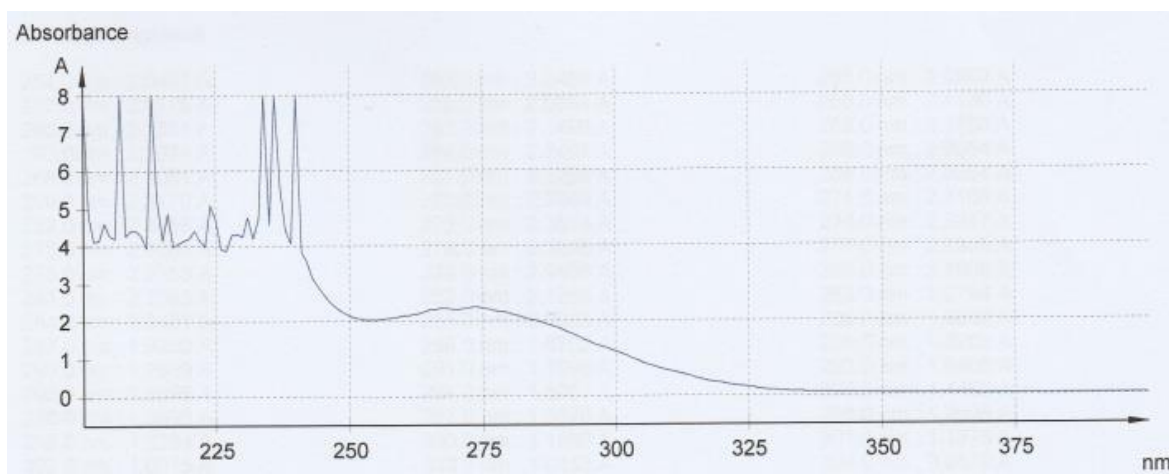


Figure 3.9 : Spectre UV –Visible d'huile de *Salvia officinalis* donné par (SPECORD 200)

D'après les deux spectres UV on note la présence de bande d'insaturation de type C=C et C=O.

3.7.2 Interprétation de spectre d'analyse par spectroscopie infrarouge

Le spectre infrarouge se présente sous forme d'une suite de bandes d'absorption, fine et plus ou moins larges, l'axe des abscisses représente le nombre d'onde en cm^{-1} , l'axe est orienté de la droite vers la gauche (de 400 cm^{-1} à 4000 cm^{-1}) L'axe des ordonnées est orienté vers le haut et représente la transmittance en % Dans la pratique, on ne cherche pas à identifier toutes les bandes compte tenu de leur grand nombre ; on vérifie seulement la présence ou l'absence d'une bande caractéristique d'un groupement fonctionnel donné.

Par interprétation du spectres IR, on peut déterminer les groupements fonctionnels contenus dans une molécule : alcool, aldéhyde, cétone, acide..., ainsi que les liaisons entre les carbones d'une chaîne (chaîne saturée, insaturée, caractère aromatique d'une molécule) par indication des principales bandes de vibration en s'appuyant sur les tables fournies.

L'étude de trois grands domaines du spectre permet de repérer les groupements fonctionnels importants.

- La région 4000 - 1500 cm^{-1} contient les bandes de vibration longitudinale des principaux groupements C-H, O-H, C=O, N-H, ...

Pour OH et N-H, on observe souvent des bandes plus ou moins larges en raison de l'existence de liaison hydrogène.

- La région 1500 - 1000 cm^{-1} contient entre autres, la bande d'étirement longitudinal de la liaison C—O C'est par ailleurs, une zone appelée « empreinte digitale » car on y trouve de nombreuses absorptions correspondant aux déformations angulaires de la molécule.

- La région 1000 – 600 cm^{-1} correspond aux déformations angulaires des liaisons C-H des composés éthyléniques et des cycles aromatiques.

La lecture dans les résultats d'analyses par spectroscopie infrarouge représentés sur le spectre ci-dessous (figure 3.10) montre la présence d'un pic, plus prononcé localisé aux nombres d'ondes [1742 cm^{-1}], ce pic est attribué à la liaison de C=O. En effet les vibrations dans la région [1700 cm^{-1} à 1740 cm^{-1}], sont caractéristiques aux vibrations de la liaison carbonyle dont la bande est des plus caractéristiques en IR vu la forte polarité de la liaison C=O qui la rend très intense et donc très reconnaissable.

Une autre observation est la présence d'une bande large et forte localisé aux nombres d'ondes [2958 cm^{-1}], correspondant à la vibration de la liaison O-H de l'acide carboxylique qui présente souvent des vibrations dans l'intervalle [2500 cm^{-1} à 3300 cm^{-1}].

Par ailleurs, la bande observée sur le spectre à [3472 cm^{-1}] est attribuée à la vibration d'élongation O-H de la fonction alcool qui présente souvent une vibration d'élongation dans la région [3250 cm^{-1} à 3500 cm^{-1}].

On observe aussi une bande plus au moins large vers 1455 cm^{-1} correspondant aux vibrations C-C des liaisons du cycle aromatique (benzénique) alors qu'une bande faible est constatée à 1644 cm^{-1} traduit probablement la présence des alcènes sous forme de terpènes.

Tableau 3.4 : Groupements fonctionnels d'huile de *Salvia officinalis* de spectre IR

Fonction	Liaison	Nombre d'onde (m^{-1})	Intensité*
Alcool	O-H	3472	Large
Acide Carboxylique	O-H	2958	Large
Carbonyle	C=O	1742	Forte
Alcènes	C=C	1644	Moyen
Aromatique	C-C	1455	Moyen

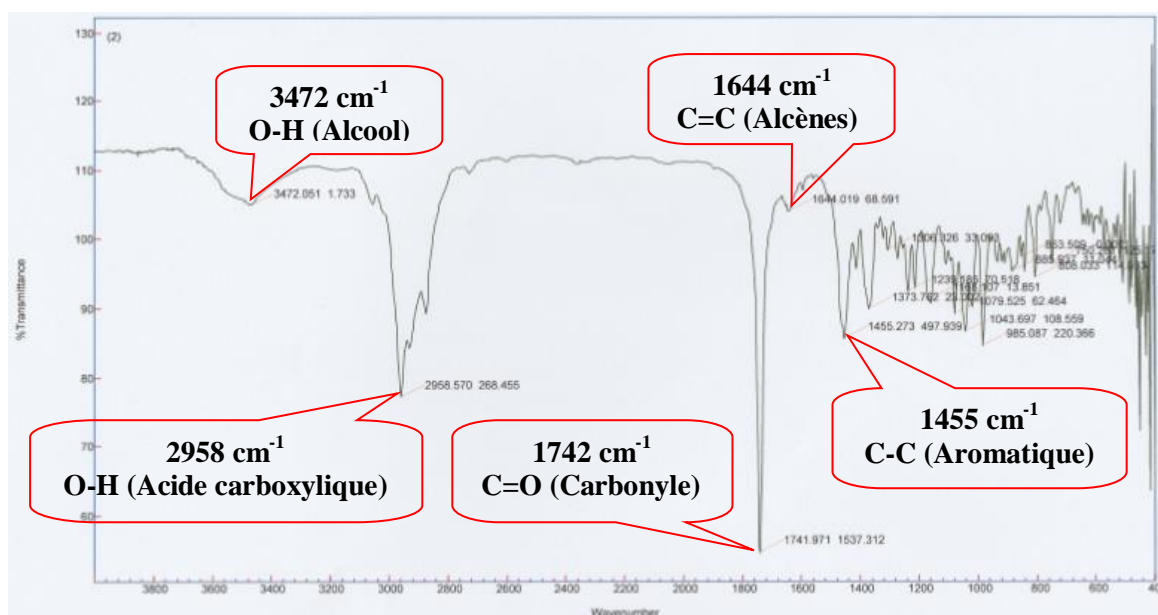


Figure 3.10 : Spectre IR d'huile essentielle de *Salvia officinalis*

3.8 Conclusion

Les principaux résultats obtenus au cours de cette étude expérimentale sont :

- Le rendement massique en huile essentielle obtenu expérimentalement est compris entre **0,41** et **0,9** %. Cette valeur est accord avec la littérature, néanmoins une légère différence peut être attribuée aux : conditions opératoires appliquées ; la partie de la plante utilisée, ainsi que l'origine de la récolte de la plante ;
- L'étude de la cinétique d'hydrodistillation d'huile essentielle extraite a permet de constater qu'un temps d'extraction de 180 minute est suffisant pour extraire la quasi-totalité de l'huile contenue dans la plante ;
- L'analyse physicochimique établi peut juger partiellement la qualité de notre huile essentielle extraite à partir de la plante médicinale *Salvia officinalis* (de la région de -Ain Oualmen- wilaya de Sétif) par hydrodistillation grâce aux critères suivants :
 - Leurs caractéristiques organoleptiques (aspect, odeur, couleur) qui sont du même ordre que celles retrouvées dans la littérature affirment la bonne identification de notre espèce ;
 - Un indice de réfraction de valeur de **1,4650** est très proche à celui cité par la littérature, témoigne son haute pureté ;
 - L'acidité d'une huile essentielle est un critère d'estimation de sa qualité en effet la valeur de l'indice d'acide enregistré est **1,122**. Cette faible valeur traduit la stabilité d'huile essentielle sur le plan d'oxydation (caractère antioxydant).

Ce qui nous ramène à dire initialement que l'huile est de bonne qualité

L'analyse par spectroscopie UV-Visible et IR prévoit initialement le type de fonction organique disponible dans la composition de notre huile et traduit dans un premier temps la nature de notre produit mais cette caractérisation reste modeste sur le plan qualitatif et nécessite des méthodes d'analyses séparatives chromatographiques pour l'identification réelle des constituants d'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

CHAPITRE 4

MODÉLISATION PARAMÉTRIQUE DU RENDEMENT D'HYDRODISTILLATION

4.1 Introduction

Ce travail consiste à étudier le procédé d'hydrodistillation des huiles essentielles extraites à partir de la plante médicinale *Salvia officinalis* L. dans ce contexte des expériences ont été réalisées afin d'investiguer l'effet de certains paramètres opératoires sur ce procédé à savoir : la granulométrie, le débit de condensation et le temps de l'opération, sur le rendement d'extraction d'huile de *Sauge*, par l'application d'un plan expérimental *Box-Behnken* à trois facteurs.

L'application des plans d'expériences était un moyen pour minimiser le nombre d'expériences à réaliser, montrer l'effet des paramètres étudiés et en déduire les conditions optimales dans le domaine d'étude imposé.

Dans ce chapitre on va présenter la méthodologie des plans d'expériences adoptée afin de chercher les conditions optimales pour une extraction avec un meilleur rendement.

4.2 Théorie d'optimisation expérimentales

La stratégie dans le choix des méthodes d'optimisation d'expérimentation doit faciliter l'organisation progressive de l'acquisition des connaissances. Elle doit également minimiser le plus possible le nombre d'expériences mais elle ne doit pas sacrifier la qualité des résultats, au contraire, on recherche la meilleure précision possible. L'étude d'un phénomène peut se résumer à l'intérêt d'une grandeur, par exemple le rendement d'un processus donné, grandeur qui, généralement dépendra d'un grand nombre de variables.

Sous une forme mathématique, on peut écrire que la grandeur d'intérêt Y , que nous appellerons également réponse par la suite, est une fonction de plusieurs variables X_i (variables que nous appellerons aussi facteurs par la suite)

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_i)$$

L'étude du phénomène se ramène alors à la mesure de la réponse en fonction des différentes valeurs que l'on peut donner aux facteurs. Deux méthodes peuvent être utilisées pour résoudre le problème.

4.2.1 Méthodes classiques

Dans les méthodes classiques on fixe le niveau de toutes les variables sauf une et l'on mesure la réponse Y en fonction de plusieurs valeurs de la variable non fixée X_1 . Si l'on veut étudier toutes les variables, il faut recommencer le même calcul pour chacune d'elles.

Si l'on désire étudier simplement quatre facteurs et que l'on décide de prendre cinq points expérimentaux par variable, il faut réaliser $5^4 = 625$ expériences (Bendriss, 2003).

Ce qui nécessite, selon le nombre de variable et le nombre de points expérimentaux à réaliser, un travail qui peut dépasser les limites du faisable.

4.2.2 Méthodes des plans d'expériences

La différence capitale avec la méthode classique tient au fait que l'on fait varier les niveaux de tous les facteurs à la fois, à chaque expérience, mais de manière programmée et raisonnée. Le fait de faire varier tous les facteurs à la fois n'est pas un inconvénient en soi mais au contraire offre de nombreux avantages. Les plans d'expériences permettent l'étude de nombreux facteurs tout en maintenant le nombre des essais à une valeur raisonnable, c'est pourquoi l'une de leurs applications principales est la recherche des facteurs influents (Bendriss, 2003).

4.2.2.1 Principe et intérêt des plans d'expériences

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt Y et des variables X_i . Il faut penser aux plans d'expériences si l'on s'intéresse à une fonction du type (Jacques, 2006) :

$$Y = F(X_i)$$

L'application des plans d'expériences offre de nombreux avantages parmi lesquels :

- Diminution du nombre des essais ;
- Nombre de facteurs étudiés très grand ;
- Détection des interactions entre facteurs ;
- Meilleure précision sur les résultats ;
- Modélisation des résultats ;
- Optimisation des résultats.

Il existe de nombreux plans d'expériences adaptés à tous les cas rencontrés par un expérimentateur, dont les plus utilisés : le Composite et Box-Behnken.

4.2.2.2 Plan composite

Un plan composite est constitué de trois parties :

- Un plan factoriel dont les facteurs prennent deux niveaux ;
- Au moins un point expérimental situé au centre du domaine d'étude ;
- Des points axiaux. Ces points expérimentaux sont situés sur les axes de chacun des facteurs.

La figure 4.1 représente un plan composite pour deux facteurs. Les points A, B, C et D sont les points expérimentaux d'un plan 2^4 . Le point E est le point central. Ce point peut avoir été répliqué une ou plusieurs fois. Les points F, G, H et I sont les points axiaux. Ces quatre derniers points forment ce que l'on appelle le plan en étoile. On réalise 9 essais et 6 coefficients doivent être déterminés. Il faut donc résoudre un système de 9 équations à 6 inconnues.

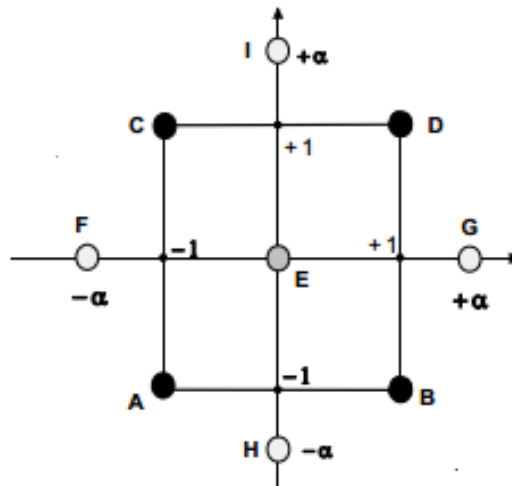


Figure 4.1 : Plan composite pour deux facteurs

Les plans composites prennent facilement la suite d'un premier plan factoriel dont les résultats sont insuffisamment expliqués par un modèle du premier degré. Il suffit d'effectuer les expériences correspondant aux points en étoile et de faire les calculs sur l'ensemble de toutes les expériences. Les plans composites sont parfaitement adaptés à une acquisition progressive des résultats (Jacques, 2006).

4.2.2.3 Plan Box-Behnken

Un plan *Box-Behnken* permet d'établir directement des modèles du second degré. Tous les facteurs ont trois niveaux : -1, 0 et +1. Ces plans sont faciles à mettre en œuvre et possèdent la propriété de séquentialité. On peut entreprendre l'étude des k premiers facteurs en se réservant la possibilité d'en ajouter de nouveaux sans perdre les résultats des essais déjà effectués. Le plan de *Box-Behnken* pour trois facteurs est construit sur un cube (figure

4.2). On place les points expérimentaux non pas aux sommets du cube mais au milieu des arêtes ou au centre des faces (carrés) ou au centre des cubes (Jacques, 2006). Cette disposition a pour conséquence de répartir tous les points expérimentaux à égale distance du centre du domaine d'étude, On ajoute des points au centre du domaine d'étude.

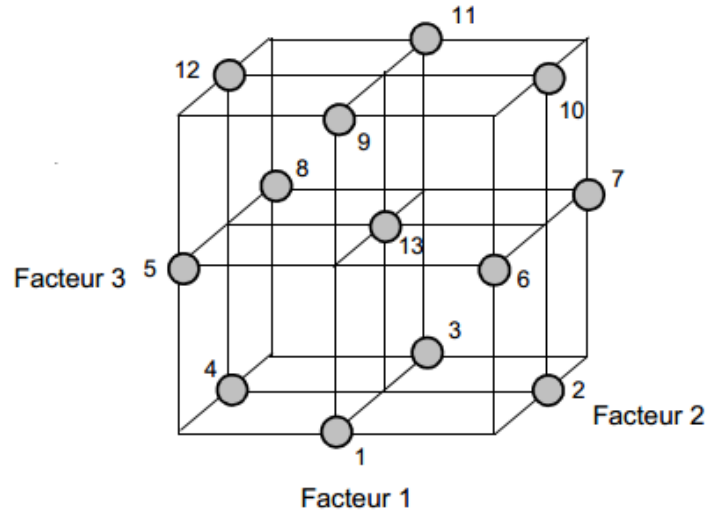


Figure 4.2 : Plan de Box-Behnken pour 3 facteurs (représentation dans l'espace d'étude)

Un exemple des 3 facteurs A, B, C avec modalités codées (-1, 0, 1) est représenté par le tableau 4.1 :

Tableau 4.1 : Plan de Box-Behnken pour 3 facteurs

N° essai	A	B	C
1	-1	-1	0
2	-1	+1	0
3	+1	-1	0
4	+1	+1	0
5	-1	0	+1
6	-1	0	+1
7	+1	0	-1
8	+1	0	+1
9	0	-1	-1
10	0	-1	+1
11	0	+1	-1
12	0	+1	+1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

4.2.2.4 Méthode de surface de réponse

Le but de l'étude des surfaces de réponses est une modélisation du phénomène étudié, c'est une suite assez naturelle d'une étape de criblage et constitue un moyen efficace de l'optimisation du dispositif expérimentale ou du procédé étudié. Dans la méthodologie des surfaces de réponses, on cherche à relier une réponse continue Y à k facteurs continus et contrôlés X_1, X_2, \dots, X_k , à l'aide d'un modèle de régression, il est courant d'utiliser un modèle du second degré incluant les effets quadratiques des facteurs. Dans la plupart des cas, ce dernier est suffisant pour modéliser correctement les phénomènes étudiés.

Après l'étape d'ajustement du modèle on représente graphiquement celui-ci à l'aide de graphiques de type « surface de réponse » et courbes isoréponses, qui permettent de visualiser le comportement de la réponse en fonction des facteurs, ces graphiques procurent une aide appréciable dans l'exploitation du modèle en vue d'une optimisation du système expérimental (Jacques, 2006).

4.3 Méthode d'optimisation

L'étude bibliographique présentée au début de ce chapitre, concernant la discussion des méthodes d'optimisation d'expérimentation et leurs principes d'application, permis la réalisation de ce chapitre qui consiste à étudier le procédé d'hydrodistillation d'huile essentielle extraite à partir d'une plante locale (*Salvia officinalis* L.), afin d'investiguer l'effet et d'optimiser certains paramètres opératoires sur ce procédé.

4.3.1 Procédure d'application de plan d'expérience

La problématique visée par le présent travail est de trouver un outil permettant d'obtenir un jeu de paramètres intéressant pour étudier le procédé d'hydrodistillation, tout en menant un nombre réduit d'expériences vu la contrainte du temps mis à la réalisation de cette étude. Par conséquent et afin de répondre à cette exigence on a fait recours à l'application de la technique des plans d'expériences.

En effet, le principe de cette technique consiste à faire varier simultanément les niveaux d'un ou plusieurs facteurs (*qui sont les variables*) à chaque essai.

Ceci va permettre de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés, en détectant les interactions entre les facteurs et les optimaux par rapport à une réponse, c-à-d une grandeur utilisée comme critère (*rendement dans notre cas*) et en permettant de modéliser facilement les résultats.

Afin d'obtenir des informations pertinentes, une démarche méthodologique doit être suivie :

- Définitions des objectifs et critères ;
- Définition des facteurs étudiés et du domaine expérimental ;
- Construction du plan d'expériences ;
- Expérimentation ;
- Analyse des résultats ;
- Validation des résultats ;
- Conclusion de l'étude.

En pratique, il existe deux grandes familles de plans qui permettent de résoudre des problèmes différents : étudier les effets de différents paramètres sur un critère au moyen des plans factoriels fractionnaires ou bien rechercher un jeu de paramètres optimum pour un critère grâce aux surfaces de réponses. Dans ce contexte on va présenter le plan *Box- Behnken* appliqués dans notre étude.

4.3.2 Choix des paramètres opératoires

Dans l'application du procédé d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles beaucoup de paramètres qui peuvent être à étudier tel que : la pression, la granulométrie (dp), le débit de condensation (D_c) ou la puissance d'échauffement, le temps d'extraction (T_s), et le rapport massique (*eau/plante*). Dans la présente étude nous choisissons d'étudier l'effet des paramètres suivant : le débit de condensation, le temps d'extraction, et la granulométrie sur le rendement massique en huile essentielle.

4.3.3 Application du plan Box-Behnken

La méthodologie des plans d'expérience fait parfois appel à des notions de statistiques et d'analyses un peu poussées, de nombreux logiciels donnent un accès simple et rapide à ces outils performants pour les non spécialistes.

Dans cette étude on a utilisé le logiciel *Design-expert7* pour établir le plan expérimental, et interpréter les résultats à travers la modélisation avec les surfaces des réponses (*Un exemple d'exécution du logiciel est inséré en annexe*).

4.3.4 Construction de la matrice d'expérimentation

Dans la présente étude on a étudié les trois facteurs suivant : temps d'extraction, débit de condensation et le diamètre des particules. Le domaine d'étude défini par les niveaux : haut, moyen et bas de chaque facteur est résumé dans le tableau 4.2.

Tableau 4.2 : Domaine d'étude

Facteurs	Min (-1)	Moy (0)	Max (+1)
Diamètre des particules d_p (mm)	1	1,5	2
Débit de condensation D_c (ml/min)	1,4	2,4	3,4
Temps d'extraction T_s (min)	150	180	210

Le plan d'expérience associé aux surfaces de réponse (*Box-Behnken*) a été appliqué, pour le problème défini dans le tableau 4.2. Par conséquent quinze expériences ont été définies (tableau 4.3), ces différentes combinaisons d'expériences constituent la matrice expérimentale choisie par le logiciel *Design-Expert7* (*La démonstration d'exécution du logiciel est insérée en annexe*).

Tableau 4.3 : Plan de Box-Behnken pour 3 facteurs avec 3 niveaux

StdOrder	RunOrder	Blocks	Factor 1 A : d_p (mm)	Factor 2 B : D_c (ml/min)	Factor 3 C : T_s (min)
1	6	1	1	1,4	180
2	13	1	2	1,4	180
3	15	1	1	3,4	180
4	12	1	2	3,4	180
5	1	1	1	2,4	150
6	7	1	2	2,4	150
7	8	1	1	2,4	210
8	14	1	2	2,4	210
9	5	1	1,5	1,4	150
10	4	1	1,5	3,4	150
11	11	1	1,5	1,4	210
12	2	1	1,5	3,4	210
13	3	1	1,5	2,4	180
14	9	1	1,5	2,4	180
15	10	1	1,5	2,4	180

4.4 Résultats et discussion

L'objectif principal du présent travail est d'investiguer expérimentalement l'effet des paramètres considérés sur l'opération d'extraction d'une part, et de modéliser les résultats obtenus par la méthode de surface de réponse d'autre part. Dans cette partie on va présenter tous les résultats obtenus avec leurs discussions.

4.4.1 Rendement expérimental

Les expériences ont été réalisées suivant un plan d'expérience dont les paramètres visés par l'étude sont : la granulométrie (d_p), le débit de condensation (D_c), et le temps d'extraction (T_s). Les résultats du rendement expérimental sont résumés dans le tableau 4.4.

Tableau 4.4 : Rendement expérimental en huile extraite

Expérience N°	dp (mm)	Dc (ml/min)	Ts (min)	Masse d'huile extraite (g)	Rendement expérimental (%)
1	1	1,4	180	0,59	0,59
2	2	1,4	180	0,8984	0,9
3	1	3,4	180	0,6770	0,68
4	2	3,4	180	0,6707	0,67
5	1	2,4	150	0,5935	0,59
6	2	2,4	150	0,6917	0,69
7	1	2,4	210	0,6695	0,67
8	2	2,4	210	0,8383	0,84
9	1,5	1,4	150	0,5576	0,56
10	1,5	3,4	150	0,4065	0,41
11	1,5	1,4	210	0,7128	0,71
12	1,5	3,4	210	0,4553	0,46
13	1,5	2,4	180	0,6042	0,6
14	1,5	2,4	180	0,6248	0,62
15	1,5	2,4	180	0,617	0,62

D'après ces résultats on constate que les valeurs du rendement les plus élevées ont été enregistrées pour le diamètre des particules de **2 mm** avec le débit de condensation et le temps d'extraction : (**1,4 ml/min et 180 min, 2,4 ml/min et 210 min**) avec des rendements de **0,9** et **0,84 %** respectivement. On note aussi que pour le diamètre des particules à (**3,4 ml/min, 180 min**) et (**2,4 ml/min, 150 min**) les rendements sont un peu inférieurs aux deux expériences optimales, la plus petite valeur du rendement est de (**0,41 %**) obtenue aux conditions opératoires suivantes : **1,5 mm ; 3,4 ml/min et 150 min** de temps d'extraction.

4.4.2 Modélisation

Comme il a été déjà indiqué précédemment l'un des objectifs visés dans ce travail est d'appliquer la méthode de surface de réponse pour modéliser le rendement en appliquant un plan d'expérience « *Box-Behnken* », à trois effets (paramètres : granulométrie, débit de condensation et temps d'extraction), pour optimiser le rendement de l'opération qui représente la réponse voulue.

4.4.2.1 Régression des résultats

Après avoir construit le plan d'expérience désiré et la matrice des expériences proposées, et réaliser ces expériences, les résultats du rendement d'extraction obtenus expérimentalement présentés sur le tableau 4.4 ont été exécutés sur le logiciel *Design-Expert7*, l'application d'un modèle quadratique a permis de corréler le rendement en fonction des trois paramètres étudiés (avec toutes les combinaisons possibles des trois paramètres), le modèle est donné par l'équation suivante :

$$R (\%) = C_0 + C_4 \times d_p^2 + C_5 \times D_c^2 + C_6 \times T_s^2 + C_7 \times d_p \times D_c + C_8 \times d_p \times T_s + C_9 \times D_c \times T_s + C_1 \times d_p + C_2 \times D_c + C_3 \times T_s$$

Avec : d_p : Diamètre des particules ; D_c : Débit de condensation ; T_s : temps d'extraction,
 C_i : coefficients.

Les valeurs des coefficients du polynôme obtenus sont regroupées dans le tableau 4.5.

Tableau 4.5 : Coefficients de l'équation (4.1)

Coefficient	Valeur	Coefficient	Valeur
C ₀	-1.04027	C ₅	-0.032917
C ₁	-1.23850	C ₆	-5.04630E-05
C ₂	0.48050	C ₇	-0.16000
C ₃	0.020208	C ₈	1.16667E-03
C ₄	0.51833	C ₉	-8.33333E-04

Par conséquent l'équation (4.1) peut être réécrite comme suit :

$$R (\%) = -1.04027 + 0.51833 \times d_p^2 - 0.032917 \times D_c^2 - 5.04630 \cdot 10^{-5} \times T_s^2 - 0.16000 \times d_p \times D_c + 1.16667 \cdot 10^{-3} \times d_p \times T_s - 8.33333 \cdot 10^{-4} \times D_c \times T_s - 1.23850 \times d_p + 0.48050 \times D_c + 0.020208 \times T_s \quad (4.1)$$

Cette équation permet de prédire des rendements d'extraction à n'importe quelles valeurs des trois paramètres : le diamètre des particules, le débit de condensation et le temps d'extraction appartenant au domaine d'étude considéré. Pour établir une comparaison entre les rendements obtenus expérimentalement et ceux calculés par le logiciel en appliquant l'équation (4.1) ; on a résumé les résultats dans le tableau 4.6 où on peut constater la différence à travers la valeur de l'erreur calculée pour chaque expérience. Une valeur moyenne de $2,2266.10^{-5}$ a été enregistrée avec une erreur maximale de 0,036 et autre minimale de 0,006667.

Tableau 4.6 : Comparaison entre le rendement théorique et expérimental

N° d'essais	Rendement expérimental (%)	Rendement théorique (%)	Erreur
1	0,59	0.63	-0.036
2	0,9	0.93	-0.029
3	0,68	0.65	0.029
4	0,67	0.63	0.036
5	0,59	0.59	0.000
6	0,69	0.70	- 0,007500
7	0,67	0.66	0,007500
8	0,84	0.84	0.000
9	0,56	0.52	0.036
10	0,41	0.44	-0.029
11	0,71	0.68	0.029
12	0,46	0.50	-0.036
13	0,6	0.61	-0.013
14	0,62	0.61	0,006667
15	0,62	0.61	0,006667

4.4.2.2 Analyse de la variance (modèle quadratique)

L'analyse de la variance (son appellation est couramment abrégé en *ANOVA*) est un outil statistique très utilisé aussi bien en validation et comparaison de modèle qu'en analyse de données, cette méthode utilise des mesures de variance afin de juger de la significativité des facteurs et de modèle. L'intérêt de cette analyse est de pouvoir tester de manière absolue l'influence des facteurs sur les variations d'une réponse donnée, l'analyse est représentée dans le tableau 4.7 donné par le logiciel *Design-Expert7*.

Tableau 4.7 : Table ANOVA et resultats statistiques

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	0.21	9	0.023	14.96	0.0058	<i>Significant</i>
A-dp	0.041	1	0.041	24.71	0.0050	
B-Dc	0.036	1	0.036	20.38	0.0063	
C-Ts	0.023	1	0.023	14.92	0.0156	
AB	0.026	1	0.026	14.32	0.0128	
AC	1.225E-003	1	1.225E-003	0.68	0.4456	
BC	4.500E-003	1	4.500E-003	1.40	0.2902	
A^2	0.062	1	0.062	34.67	0.0020	
B^2	4.001E-003	1	4.001E-003	4.24	0.1950	
C^2	7.616E-003	1	7.616E-003	4.26	0.0940	
Residual	8.942E-003	5	1.788E-003			
Lack of Fit	8.675E-003	3	4.892E-003	21.69	0.0444	<i>Significant</i>
Pure Error	4.667E-004	2	1.333E-004			
Cor Total	0.22	14				

On appelle effets les coefficients de facteurs et ceux des interactions dans l'écriture du modèle. Les calculs statistiques qui permettent de savoir si les effets sont significatifs, de calculer les intervalles de confiances ou de valider la cohésion du modèle font intervenir d'une part les résidus : c'est-à-dire la différence entre la valeur expérimentale et la valeur prédite par le modèle.

Les résultats des tests de signification sont générés par le logiciel *Design-Expert7* et ils sont résumés comme suit :

- Si *F-value* est de 14.96, le modèle significatif ;
- Les valeurs de "*Prob > F*" inférieurs à 0.050 indiquent que le modèle est **significatif**, pour notre cas les termes *A (dp)*, *B (Dc)*, *C (Ts)*, *AB (dp*Dc)*, *A² (dp²)* sont des termes **signifiants** ;
- Les valeurs de "*Prob > F*" supérieurs à 0.1000 indiquent que les termes du modèle ne sont pas signifiants, cela est dû probablement due à un « bruit » ;
- La valeur du terme "*Lack of Fit F-value*" est **21.69**, implique que *Lack of Fit* est significatif ;

Tableau 4.8 : Suite de table ANOVA

Std. Dev	0.042	R-Squared	0.9589
Mean	0.64	Adj R-Squared	0.8849
C.V. %	6.60	Pred R-Squared	0.3591
PRESS	0.14	Adeq Precision	14.191

- Le facteur de corrélation pour cette étude $R^2=0.9589$ témoigne la bonne concordance entre le modèle et les résultats expérimentaux ;
- La valeur négative de "Pred R-Squared" implique généralement un meilleur prédicteur de notre réponse pour le modèle présent ;
- Le terme "Adeq Precision" mesure le signal du rapport de dispersion (signal-bruit). Un rapport supérieur à 4 est désirable. Notre rapport est de **14.191** indique que le signal est satisfaisant. Donc on peut naviguer dans tout l'espace du modèle.

4.4.2.3 Interprétation graphique des résultats

La représentation graphique représente mieux la contribution du modèle dans la restitution de la variation de la réponse observée, quand R^2 est plus proche à 1 les réponses calculées par le modèle sont proche de celles obtenues lors de l'expérimentation.

Partant de cette considération la courbe représentative des valeurs des rendements théoriques en fonction des rendements expérimentaux est montrée sur la figure 4.3, où on constate d'après le graphe que le nuage des points n'est pas loin de la droite d'équation ($y=x$) avec un facteur de corrélation $R^2 = 0.9589$, ce qui indique que le modèle a une bonne qualité descriptive.

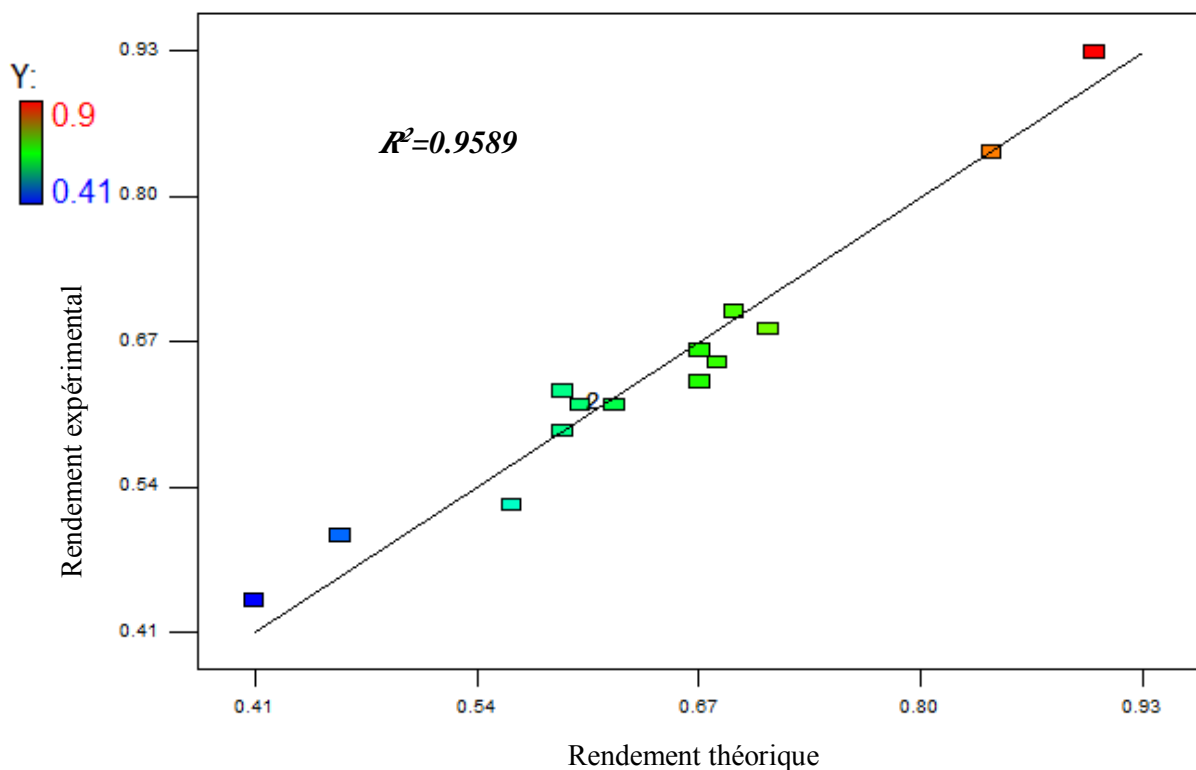


Figure 4.3 : Representation du rendement expérimental en fonction de celui théorique

Autre représentation cubique du rendement dans l'espace d'étude considéré (diamètre des particules, débit de condensation et temps d'extraction) est illustrée par la figure 4.4

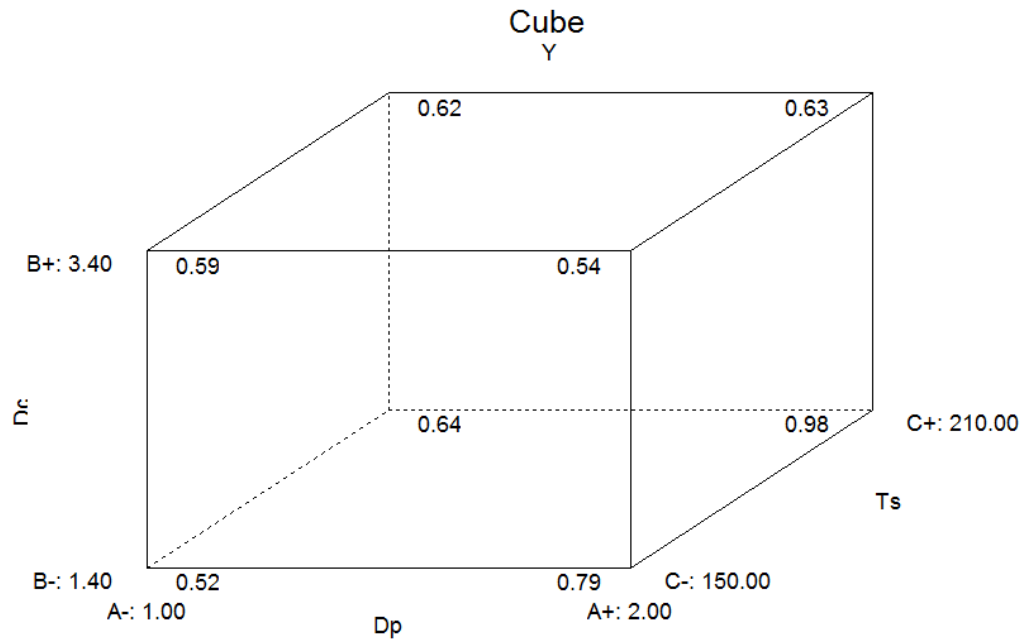


Figure 4.4 : Représentation du rendement dans l'espace d'étude


4.4.2.4 Influence des paramètres sur le rendement d'huile extraite

L'influence des facteurs étudiés peut être illustrée graphiquement à travers la représentation des surfaces de réponse dans un espace à trois dimensions, ces surfaces permettent de montrer la variation du rendement en fonction de deux facteurs tout en maintenant le troisième constant (pour chaque niveau), donc dans notre étude trois facteurs et trois niveaux conduisent à tracer neuf surfaces de réponse.

4.4.2.4a Influence de la granulométrie et de débit de condensation (temps constant)

Dans ce cas les représentations graphiques donnent la variation du rendement en huile extraite exprimée en termes de pourcentage en fonction du débit de condensation et du diamètre des particules pour les trois niveaux du temps d'extraction.

Les trois figures (4.5, 4.6, et 4.7) illustrent la variation du rendement en fonction du débit de condensation et du diamètre des particules pour les trois niveaux du temps d'extraction considérées, d'après ces représentations on observe que la tendance est presque identique pour les trois cas de figure, car en fixant le temps et en faisant varier le débit et le diamètre des particules.

 $T_s = 150 \text{ min}$

D'après la figure 4.5 et dans le cas des petits diamètres des particules, et des valeurs élevées de débit de condensation la variation du rendement est très faible en fonction de l'un par rapport à l'autre. Par contre l'augmentation du diamètre des particules engendre une très grande augmentation du rendement avec la plus basse valeur du débit de condensation. D'autre part, pour le plus grand diamètre des particules la diminution du débit de condensation provoque une augmentation considérable dans le rendement.

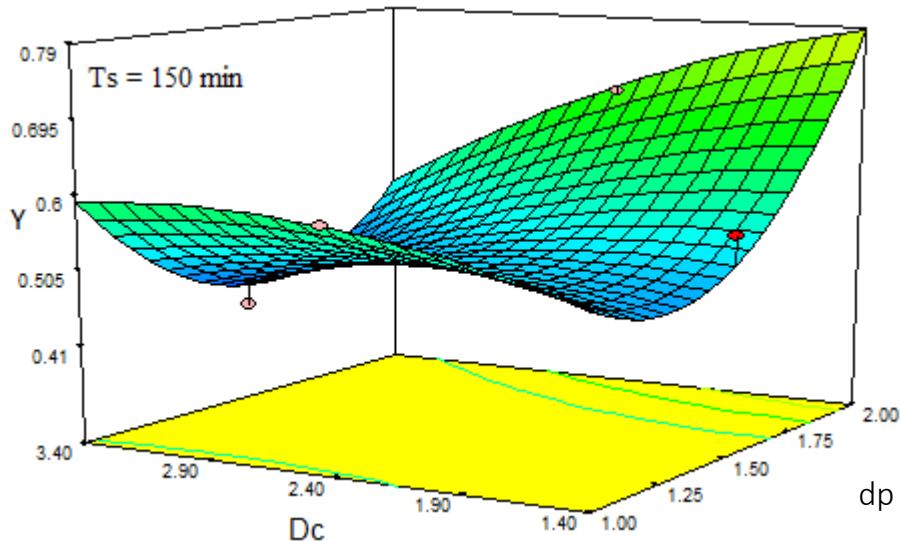



Figure 4.5 : Variation du rendement en fonction de d_p et D_c à $T_s = 150 \text{ min}$

 $T_s = 180 \text{ min}$

La même tendance est observée dans la figure 4.6, où on remarque que l'augmentation du diamètre des particules et la diminution du débit de condensation provoquent une augmentation du rendement, dans les deux cas suivant respectivement : petit débit de condensation et le grand diamètre des particules.

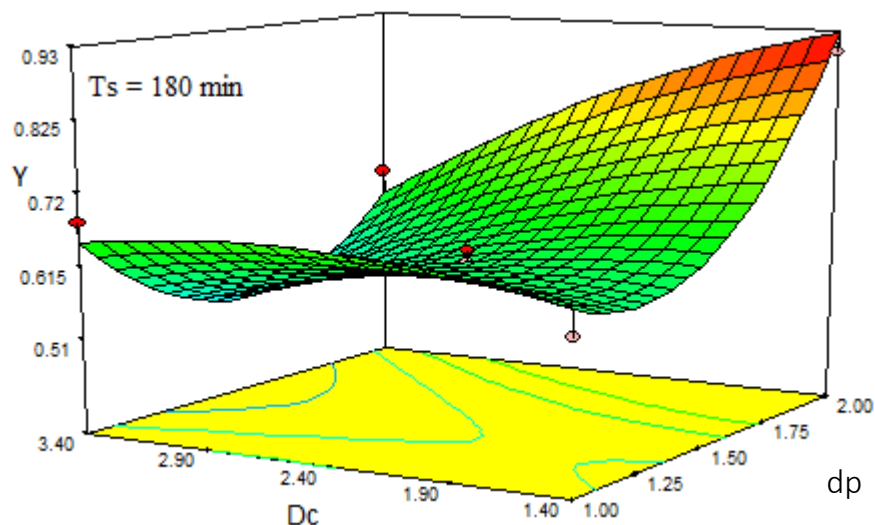



Figure 4.6 : Variation du rendement en fonction de d_p et D_c à $T_s = 180 \text{ min}$

 $T_s = 210 \text{ min}$

De la même manière, pour la figure 4.7 la variation du rendement est inversée au débit et proportionnelle avec le diamètre des particules pour le grand diamètre des particules et des petites valeurs de débit. Aussi le rendement est presque constant pour un débit et un diamètre des particules de 3,4ml/min et 1mm quel que soit en variant le diamètre où le débit respectivement.

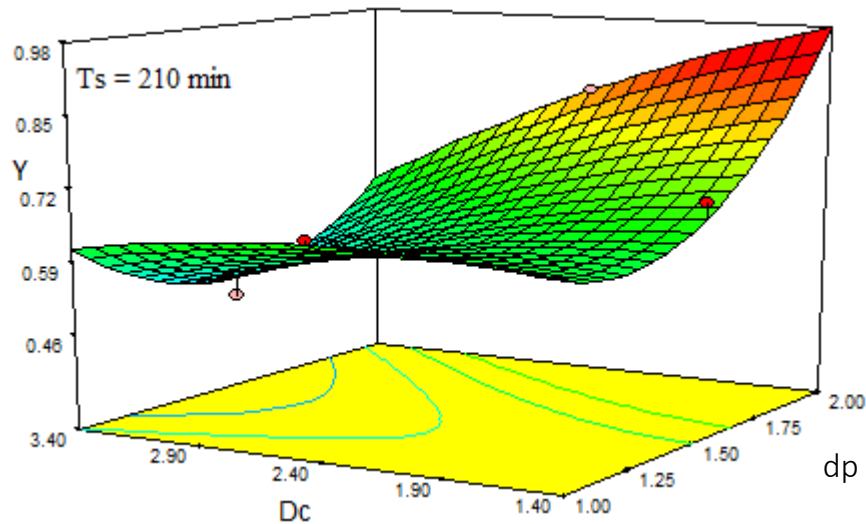



Figure 4.7 : Variation du rendement en fonction de d_p et D_c à $T_s = 210 \text{ min}$

D’après les représentations on remarque que la variation du rendement est inversement proportionnelle au débit, et proportionnelle à la granulométrie. Où dans les trois cas la plus faible valeur du débit considérée (**1,4 ml/min**) avec le diamètre des particules de (**2 mm**) conduisent à la valeur maximale du rendement.

En outre, par la comparaison des trois valeurs maximales du rendement on peut dire que pour avoir un rendement maximal de **0,98 %**, il faut augmenter le diamètre des particules, diminuer le débit de condensation, et aller au plus long temps d’extraction (**210 min**).

4.4.2.4b Influence de débit de condensation et de temps d’extraction (diamètre constant)

De la même façon nous interprétons les ces trois surfaces en fonction de débit de condensation et de temps d’extraction à des diamètres des particules constants.

 $d_p = 1 \text{ mm}$

Pour ce premier cas illustré par la figure 4.8 la variation du rendement est faible quel que soit la valeur du débit pour des valeurs longs de temps d’extraction, ainsi quel que soit

la valeur du temps d'extraction avec un débit de condensation élevé on avoir une variation faible du rendement d'extraction. Dont l'influence du temps d'extraction sur le rendement est évidente pour un faible débit de condensation, aussi pour un court temps d'extraction l'augmentation du débit de condensation provoque l'augmentation du rendement.

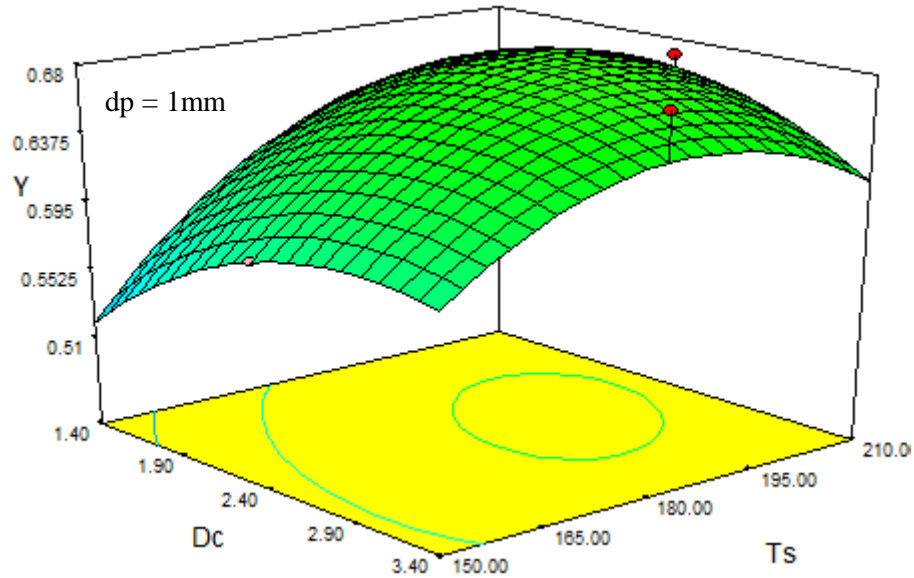


Figure 4.8 : Variation du rendement en fonction de D_c et T_s à $d_p = 1 \text{ mm}$

$d_p = 1,5 \text{ mm}$

Contrairement à la précédente figure, la figure 4.9 montre une variation inverse du rendement avec le débit de condensation et proportionnel avec le temps d'extraction, car la plus grande valeur du rendement est obtenue pour le plus débit de condensation et pour le temps d'extraction le plus long.

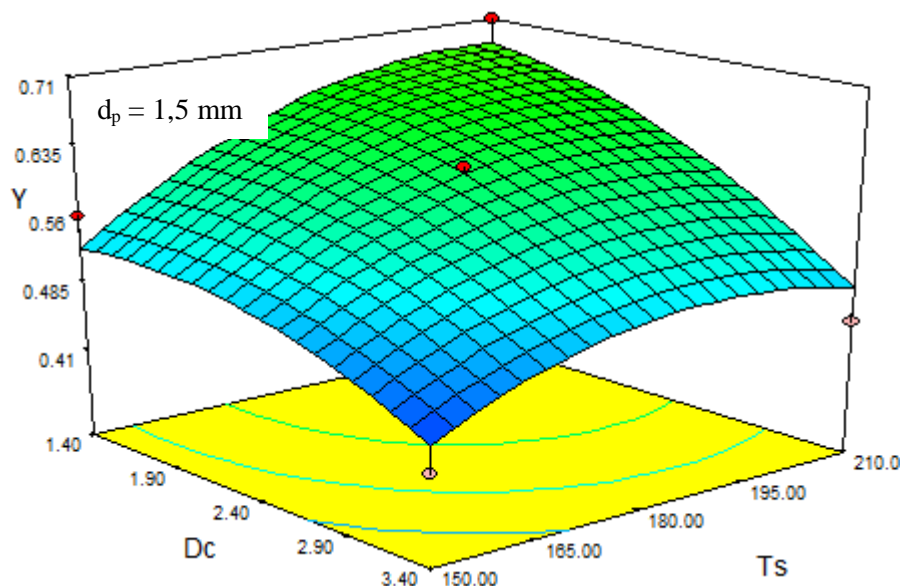


Figure 4.9 : Variation du rendement en fonction de D_c et T_s à $d_p = 1,5 \text{ mm}$

$$d_p = 2 \text{ mm}$$

Les mêmes constatations de la figure 4.9 précédente ont été enregistrées pour cette figure 4.10, à savoir une augmentation du rendement d'huile extraite avec l'augmentation du temps d'extraction, et d'autre part une variation inversement proportionnelle au débit de condensation.

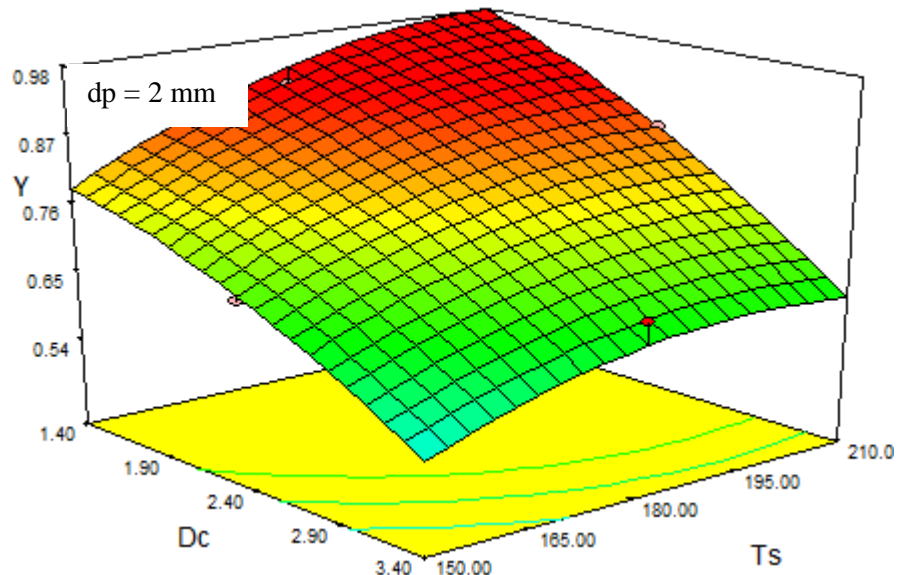


Figure 4.10 : Variation du rendement en fonction de D_c et T_s à $d_p = 2 \text{ mm}$

D'après ces trois présentations on peut conclure que le rendement est proportionnel avec le temps d'extraction et le diamètre des particules, et inversement proportionnel avec le débit de condensation, où la valeur la plus grande du rendement en huile extraite **0,98 %** est située aux conditions : petit débit de condensation (**1,4 ml/min**), le grand diamètre des particules (**2 mm**), et le long temps d'extraction (**210 min**).

4.4.2.4c Influence du diamètre des particules et du temps d'extraction (débit de condensation constant)

De la même manière nous interprétons les trois surfaces en fonction de diamètres des particules et du temps d'extraction à des débits de condensation constants.

$$D_c = 1,4 \text{ ml/min}$$

D'après la figure 4.11 une large variation dans le temps d'extraction engendre une faible augmentation du rendement. Par contre, l'influence du diamètre des particules est très évidente quel que soit le temps d'extraction et surtout dans l'intervalle de [1,5 à 2mm], dont une petite augmentation du diamètre provoque une forte augmentation du rendement.

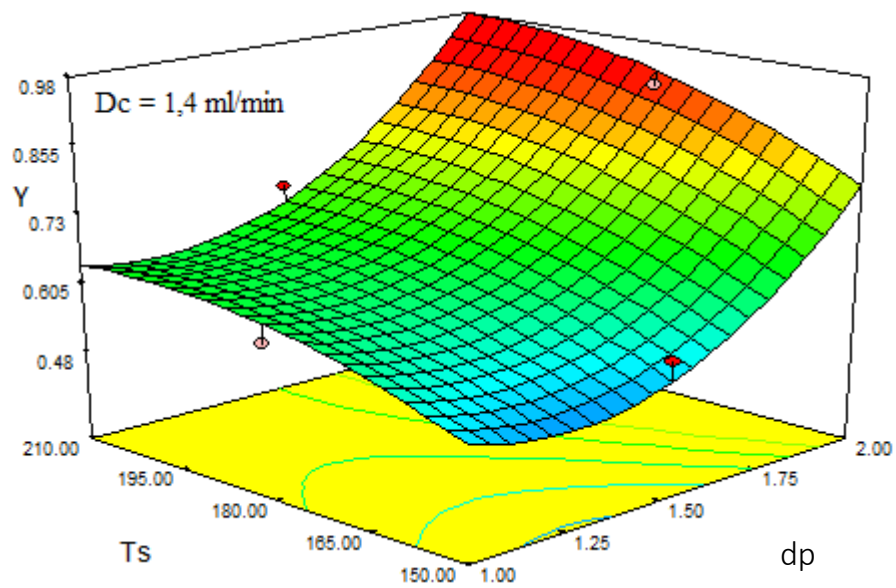



Figure 4.11 : Variation du rendement en fonction de Ts et d_p à $D_c = 1,4 \text{ ml/min}$

 $D_c = 2,4 \text{ ml/min}$

Les mêmes constatations du cas précédent ont été enregistrées pour la figure 4.12 avec une légère modification, où on a une diminution du rendement en fonction de diamètre des particules dans l'intervalle de [1 à 1,5 mm], cette diminution est devenue plus petite avec l'augmentation du temps d'extraction. Et pour le temps on a toujours une augmentation dans le rendement est remarqué en fonction temps d'extraction.

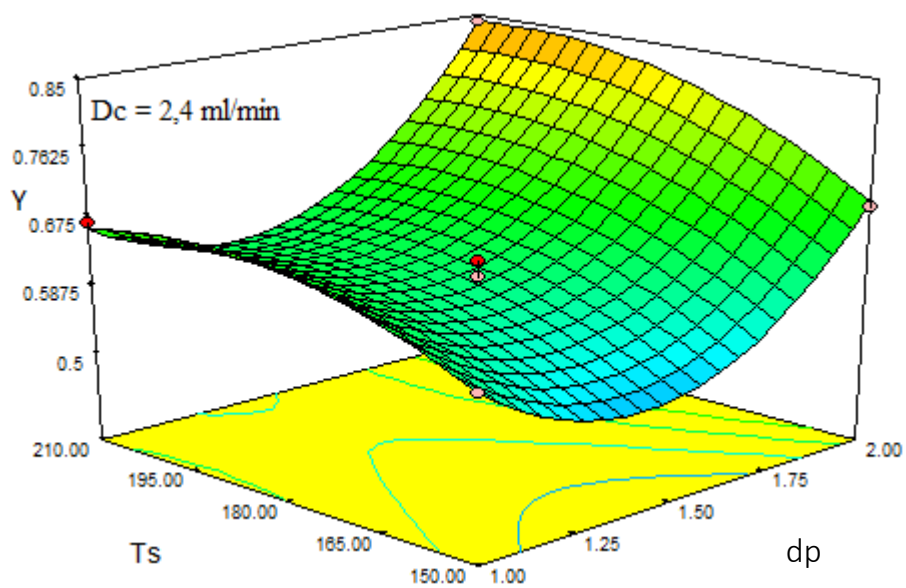


Figure 4.12 : Variation du rendement en fonction de Ts et d_p à $D_c = 2,4 \text{ ml/min}$

$$D_c = 3,4 \text{ ml/min}$$

La figure 4.13 confirme la remarque mentionnée ci-dessus. Le rendement est toujours proportionnel avec le temps d'extraction. Mais dans ce cas la réponse se présente sous forme d'une surface quasi symétrique par rapport à la valeur moyenne du diamètre des particules (1,5mm), où cette dernière représente les valeurs les plus faibles du rendement.

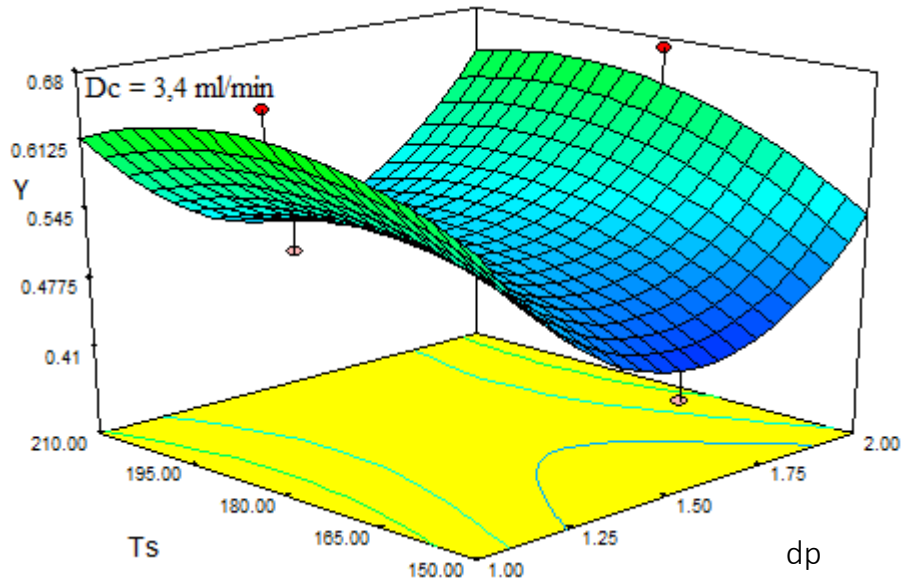


Figure 4.13 : Variation du rendement en fonction de T_s et d_p à $D_c = 3,4 \text{ ml/min}$

Donc d'après ces trois figures on peut dire que la combinaison entre le plus grand diamètre des particules (**2 mm**), le plus long temps d'extraction (**210 min**), et la basse valeur du débit de condensation (**1,4 ml/min**) conduit à la valeur maximale **0,98 %** du rendement en huile extraite.

Finalement, et après l'interprétation de toutes les surfaces on constate que la meilleure valeur du rendement (la plus grande valeur **0,98 %**) est obtenue par la combinaison des conditions suivantes (diamètre **2 mm**, débit **1,4 ml/min**, et temps **210 min**). Ce rendement dit maximal n'a pas été trouvé expérimentalement mais calculé théoriquement par le logiciel *Design-Expert 7* au moyen du polynôme équation (4.1).

Par conséquent l'application des surfaces de réponse a permis d'avoir un maximum d'information sur l'effet des paramètres opératoires sans pour autant faire beaucoup d'expériences en plus on a obtenu une très bonne concordance entre les résultats expérimentaux et ceux obtenus par le plan d'expérience.

4.5 Conclusion

D'après les résultats obtenus, on peut juger l'effet de chaque paramètre sur le rendement d'extraction d'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. par hydrodistillation, et d'optimiser le procédé lui-même. La lecture dans les réponses du modèle montre :

- Qu'une durée de **210 min** donne un meilleur rendement pour une distillation complète (épuisement total d'huile essentielle dans la matière végétale) ;
- Un faible débit de condensation **1,4 ml/min** (équivalent à une puissance moyenne de chauffe) permet de récupérer une quantité importante d'huile ;
- Aussi un grand diamètre des particules de la matière végétale **2 mm** est indispensable pour améliorer le rendement en huile essentielle extraite.

La compilation statistique établit traduit du manière interdépendante le comportement de notre système vis-à-vis de plusieurs variables on effet la corrélation mathématique déduite montre que le rendement massique en huile est proportionnel avec le temps d'extraction et le diamètre des particules, et inversement proportionnel avec le débit de condensation.

Une très bonne concordance entre le modèle (surface de réponse) et les résultats expérimentaux a été observée avec un facteur de corrélation de $R^2=0.9589$ tiré du tableau d'*ANOVA*.

Finalement, la valeur optimale du rendement **Y=0,98 %** est obtenue par la combinaison entre les conditions opératoires suivantes : diamètre des particules de (**2 mm**), temps d'extraction (**210 min**) et débit de condensation de (**1,4 ml/min**).

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Cette étude concerne l'extraction d'huile essentielle de l'espèce Algérienne végétale *Salvia officinalis* L. par hydrodistillation qui présente la particularité d'être à la fois simple, peu coûteuse et facile à mettre en œuvre pour une meilleure compréhension des conditions fondamentales nécessaires pour réaliser ce processus. Ce travail s'est initialement fixé comme objectif dans un premier temps la réalisation pratique de la technique choisie et l'effet des paramètres opératoires tels que, la granulométrie, le débit de condensation et le temps de l'opération d'hydrodistillation sur le rendement d'extraction d'huile.

La lecture dans les résultats obtenus montre que le processus d'extraction a été réalisé avec succès dans tous les essais choisis dans notre plan d'expériences. L'huile essentielle a été obtenue au laboratoire par hydrodistillation avec un appareil de type Clévenger (réacteurs de 2 L) jusqu'à extraction totale de l'huile essentielle (trois heures en moyenne) à partir d'une masse végétale de l'ordre de 100 g.

L'optimisation des conditions opératoires (granulométrie, débit de condensation, et temps d'extraction) d'extraction a permis de mettre en évidence les résultats suivants :

Un maximum de rendement est de l'ordre de **0,9 %** est enregistré pour **2 mm** de granulométrie, **1,4 ml/min** de débit et **210 min** de temps d'extraction, par contre la valeur minimale du rendement de **0.41 %** a été obtenu pour les conditions de **1,5 mm**, **3,4 ml/min** et **150 min**. En revanche le suivi cinétique de l'hydrodistillation nous a permis de déterminer le temps nécessaire pour extraire la quantité maximale d'huile contenue dans la plante en effet un temps d'extraction de **180 min** est suffisant pour achever le procédé.

Plusieurs expériences de caractérisation d'huile essentielle ont d'abord été effectuées à travers la détermination de quelques paramètres indiquant les propriétés organoleptiques et chimiques dans un premier temps et une analyse spectroscopique par UV-visible et infrarouge pour savoir l'aspect qualitatif du mélange dans un deuxième temps.

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, odeur, couleur) de notre huile présentent un aspect liquide, incolore, l'odeur dégagée est agréable avec un caractère des odeurs d'herbes aromatique, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur notre essence il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises à savoir : l'indice d'acide ; l'indice de réfraction ; le pH ; et la densité.

Le constat global dans les résultats traduits la qualité de notre huile en termes de pureté avec un indice de réfraction de **1,465** compatible avec les huiles de haute pureté, et

en termes de stabilité avec un indice d'acide faible de l'ordre de **1,122** qui témoigne le caractère antioxydant de notre huile essentielle.

L'analyse par spectroscopie UV-Visible et IR prévoit initialement le type de fonction organique disponible dans la composition de notre huile et traduit dans un premier temps la nature de notre produit, la lecture dans les valeurs des réponses spectroscopiques révèle une composition riche en composés aromatiques, carbonylés, alcools et alcènes. Mais cette caractérisation reste modeste sur le plan qualitatif et nécessite des méthodes d'analyses séparatives chromatographiques pour l'identification réelle des constituants d'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

La compilation statistique établie traduit du manière interdépendante le comportement de notre système vis-à-vis de plusieurs variables on effect la corrélation mathématique déduite montre que le rendement massique en huile est proportionnel avec le temps d'extraction et le diamètre des particules, et inversement proportionnel avec le débit de condensation.

La lecture dans les réponses du modèle montre :

- Qu'une durée de **210 min** donne un meilleur rendement pour une distillation complète (épuisement total d'huile essentielle dans la matière végétale) ;
- Un faible débit de condensation **1,4 ml/min** (équivalent à une puissance moyenne de chauffage) permet de récupérer une quantité importante d'huile ;
- Aussi un grand diamètre des particules de la matière végétale **2 mm** est indispensable pour améliorer le rendement en huile essentielle extraite ;
- Une très bonne concordance entre le modèle (surface de réponse) et les résultats expérimentaux a été observée avec un facteur de corrélation de $R^2=0.9589$, et la valeur optimale du rendement **Y=0,98 %** est obtenue par la combinaison entre les conditions opératoires suivantes : diamètre des particules de (**2 mm**), temps d'extraction (**210 min**) et débit de condensation de (**1,4 ml/min**).

Finalement, l'objectif premier de cette étude a été atteint puisque nous avons contribué à extraire et caractériser l'huile essentielle de l'espèce végétale Algérienne *Salvia officinalis* L. par hydrodistillation, d'autre part un modèle empirique spécifique pour cette matrice expérimentale a été développé et validé avec succès.

Les perspectives de cette thématique initiés récemment dans l'équipe de recherche modélisation et optimisation des procédés chimiques (LOMOP) ouvrent de nombreux pistes de recherche à travers l'exploration des ressources naturelles par l'identification de substances actives pour une éventuelle utilisation en plusieurs applications comme la

caractérisation du mode d'action des huiles essentielles à activité antibactérienne et anti oxydantes, ce défi sera l'objet de plusieurs études dans nos projets de recherches.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alessandra. R et al. Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food and Chemical Toxicology* 55 (2013) 42–47.

Alvaez-Castellanos P.P. & Pascual-Viilalobos M.J. 2003. Effect of fertilizer on yield and composition of flowerhead essential oil of *Chrysanthemum caronarium* (Asteraceae) cultivated in Spain. *Ind. Crops Prod.* 17, 77-81.

Amrouni. S. 2015. Activité complémentaire d'extraits de lamiacées (répandues en Algérie) dans le traitement des infections bactériennes chez l'homme. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, 2015.

Baser K.H.C. and Buchbauer G., 2010. Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. 994p.

Bendriss. H, Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales : "*Ruta chalpensis* et *Marrubium vulgare*". Mémoire de magister, 2003

Besombes C., 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, 289p.

Bouquet A., 1972. Plantes médicinales du Congo-Brazzaville : *Uvariopsis*, *Pauridiantha*, *Diospyros*. ORSTOM.Paris.

Brennecke. J. F and C. A. Eckert, Phase Equilibria for Supercritical Fluid Process Design, *AIChE Journal*, 35 (9) (1989), 1409-1423.

Bruneton J., 1987. Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, France.

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Deuxième édition, Lavoisier, Paris. 915p.

Burgot G., Burgot J. L., Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications : Méthodes chromatographiques électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques, 3^{ème} Edition Tec & Doc Lavoisier, 2011, p.10, ISBN : 978-2-7430-1337-0.

Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223-253

Caldefie-Chézet F., Fusillier C., Jarde T., Laroye H., Damez M. & Vasson M.P. 2006. Potential anti-inflammatory effects of *Malaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes. *Phytother. Res.* 20, 364-370.

Chaumont J.P. & Leger D. 1989. Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement très voisin. Relation structure –activité. *Plant Med. Phyto.* 23(2), 124-126.

Christian. B, Harald. M, Günther. H. Molecular phylogeny of Menthinae (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae) Taxonomy, biogeography and conflicts. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55 (2010) 501–523.

Croteau, 1986: Croteau F., 1986. Biochemistry of monoterpenes and sesquiterpenes of the Essential Herbs: spices and medicinal plants; Recent advances in botany horticulture and pharmacology. Vol. 1, Craken, Simon, Oryx Press, Phoenix.

Danielski. L et al, Marigold (*Calendula officinalis* L.) oleoresin: Solubility in supercritique CO₂ and composition profile, *Chemical Engineering and Processing*, 46 (2), (2006), 99–106.

Demet. A, Nüket. A. Sage (*Salvia officinalis*) Oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, 2016.

Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition). Copyright © 1996, 2001 Dorling Kindersley Limited, Londres; Text copyright © 1996, 2001 Andrew Chevallier

Erman, 1985: Erman W. F., 1985. *Chemistry of monoterpenes, part B*, Marcel Dekker, New York. *European Journal of Pharmacology.* 1991; 201:35-39

Fluck H. 1963. *Chemical Plant Taxonomy*, T. SWAIN Academic, London. *Food and Chemical Toxicology* 55 (2013) 42–47.

Ghorbani. A, Esmailizadeh. M, Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components, Journal of Traditional and Complementary Medicine, 2017.

Hubert. R., Epices et aromates, Tec et Doc – Lavoisier, APRIA., Paris, 1992.

Hurabielle. 1981 ; Paris M., Hurabielle M. Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie, Tome I, édition Masson 1981.

Jacqueline Smadja. Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA). Université de La Réunion. Colloque GP3A -Tananarive 2-3 juillet 2009.

Jacques Goupy. Tutoriel les plans d'expériences. N° 34, (2006), PP (75, 101).

Kabouche. A. Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Thèse de doctorat d'état, 2005.

Kalembe D. & Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med. Chem. Vol.10 (10), 813-829.

Kim et al, 2002: Kim.N.S, D.S. Lee. J. Chrom. A. 2002, 982, 31.

Lahlou M., Hmamouchi M., & Agoumi A. 2000. Molluscicidal activity of some Moroccan medicinal plants. Fitoterapia, 71(3) : 308.

Lucchesi M. E. (2005). Extraction sans solvant assisté par micro-onde conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse en doctorat en Sciences, discipline : chimie. Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies

Lutz, 1940 : Lutz, 1940. Bulletin de la Société de plantes à huile essentielle. *Chimical and Biology*. 22, pp 497

Makhlouf. B. L, Nabya. K. K, Khodir. M. Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae Industrial Crops and Products 61 (2014) 41–48

Maruyama N., Sekimoto N. & Ishibashi H. 2005. Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. J. inflamm, 2, 1-11.

Mendham J., Vogel A.I, Denny R.C., Toullec J., Barnes J., Barnes J.D., Mottet M., Tomas M.J.K., Analyse chimique quantitative de Vogel, Ed. De Boeck Université, 2005, p.231-314.

Mohamdi. Z. Etude du pouvoir et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat, université Abou Baker belkaïd Tlemcen, 2005, 89-92.

Mohsen. H, Rafie. H, Soheila. H, Mina. S. Chemistry, Pharmacology, and Medicinal Property of Sage (*Salvia*) to Prevent and Cure Illnesses such as Obesity, Diabetes, Depression, Dementia, Lupus, Autism, Heart Disease, and Cancer. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 2014. Vo1. 4, No. 2, pp. 82-88

Moreau F., Botanique : Procaryotes (cyanophites et bactéries). Eucaryotes (algues, champignons et végétaux supérieurs) La plante dans ses rapports avec le milieu, Ed.Paris, Gallimard. 1960,104.

Nabil. A, Naima. O, Fatiha. B. Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. Industrial Crops and Products, 2015.

Naganuma M., Hirose S., Nakayama Y., Nakajima K. & Someya T. 1985. A study of the phototoxicity of lemon oil. Arch. Dermatol. Res. 278, 31-36.

NCCAM, National Center for Complementary and Alternative Medicine .
www.nccam.nih.gov; 1-888-644-6226

Nicholas, 1973: Nicholas H. J., 1973. Phytochemistry . Organic metabolites, Vol. 2, Yonkers, New York.

Nogaret-Ehrhart. 208 : Nogaret-Ehrhart A-S. La phytothérapie : se soigner par les plantes. Ed. Eyrolles, Paris 2008.

Pauli A. 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. Int. J. Aromather. 11, 126-133.

Pavida. D. L, Introduction to organic laboratory techniques, W.B. Saunders Co. Philadelphia, USA. 1976, 567.

Peana A.T., D'Aquila P.S., Panin F., Serra G., Pippia P., Moretti M.D.L. 2002. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine* Vol. 9 (8), 721-726.

Peyron L. (2000) : Aspect international du marché des PAM. Communication à la journée de réflexion sur les plantes aromatiques et médicinales, Casablanca, 16 Novembre 2000 ; *Annales de la recherche forestière au Maroc, N spécial (Actes de la Journée)*, pp 3-14.

Pibiri M.C. (2005). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Doctorat. Polytechniques Fédérale de Lausanne.

Richard, J. A. *Toxicology Brief* 1999.

Rouessac F., Rouessac A., Brooks S., *Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques*, Ed. John Wiley and Sons, 2007, p.31.

Seu-Saberno, M. ; Blakeway, J. « *La mouse de chêne, une base de la parfumerie* », Pour la science, Edition Française de Scientific American, 1984, Mai, 83.

Smallfield B. 2001. Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*. Number 45, 4p.

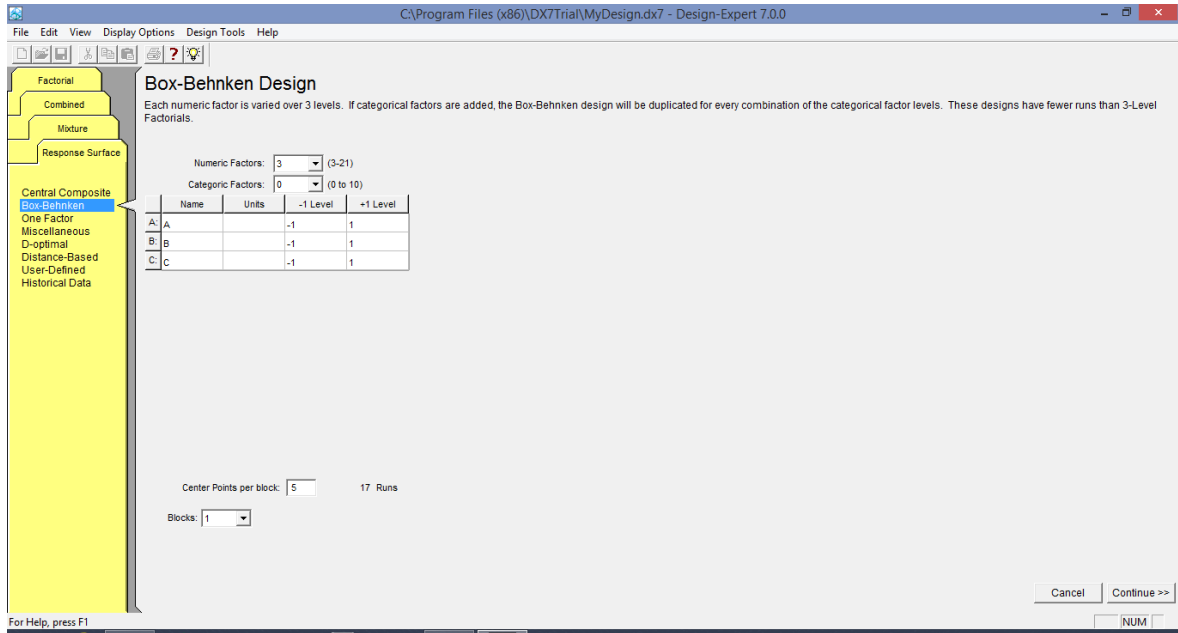
Teissedre, P.L; Waterhouse, A. L. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 3801-3805; b) Ismaili Alaoui, M. et Bendjilali, B. *1er Séminaire Magrebin sur les plantes aromatiques*, Tlemcen le 29-31Mai, 1990; c) Latloui, N. et Tantaoui-Elaraki, A. *J. Essent. oil Res.* 1994, 165.

Taleb. T. K. Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur le bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de doctorat, 2015.

Verschaffelt, 1915: Verschaffelt, 1915. K. gl. Ak., Amsterdam, Gertz, Jahr, Wis. *Botanica*. 56, pp 536.

ANNEXE

Fenêtre de logiciel Design-Expert7



Exécution du logiciel Design-Expert7

