

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE  
« HOUARI BOUMEDIENE »

## FACULTE DE CHIMIE



# THESE

Présentée pour l'obtention du diplôme  
de Doctorat d'Etat

En **CHIMIE**

Spécialité : *Chimie Organique Appliquée*

*Par*

TIGRINE Née KORDJANI Nacéra

*Sujet*

**Apport de la technique du chauffage micro-ondes dans  
l'extraction et l'analyse des huiles essentielles  
algériennes *Zygophyllum album* L. et *Rosmarinus  
officinalis* L.**

Soutenue le 06 Mars 2007 devant le jury composé de :

Mr. A.Y. BADJAH HADJ AHMED	Professeur, USTHB	Président
Mr. B. Y. MEKLATI	Professeur, USTHB	Directeur de Thèse
Mr. H. AIT-AMAR	Professeur, USTHB	Examineur
Mr. F. CHEMAT	Professeur, Univ. Avignon - France -	Examineur
Mr. S. DJADOUN	Professeur, USTHB	Examineur
Mr. M. HADJ MAHAMMED	Professeur, Ouargla	Examineur
Mr. A. TOUABET	Professeur, USTHB	Examineur

## *Dédicaces*

*A mon père et à ma mère,*

*A mon époux,*

*A mes enfants Amina, Fella et Mounir,*

*A mes frères Mustapha, Mahfoud et Mahdi,*

*A mes sœurs Behdja, Assia, Noura, Hamida, Souhila, Anissa et Guilaïne.*

*En signe de reconnaissance  
et de profonde affection.*

## Remerciements

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle de la Faculté de Chimie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumédiène (USTHB) sous la direction de Monsieur B. Y. Meklati, Professeur à l'USTHB et Directeur du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC).

Je tiens, en premier, à rendre un hommage respectueux à Monsieur Le Professeur B.Y. Meklati. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude pour ses précieux conseils et encouragements.

J'exprime, ici aussi, ma profonde gratitude et mes plus vifs remerciements à Monsieur Le Professeur F. Chemat de l'Université d'Avignon (France) pour l'aide matérielle et morale qu'il m'a prodiguée tout au long de ce travail.

A Monsieur Le professeur A.Y. Badjah Hadj Ahmed, j'exprime ma sincère reconnaissance pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de soutenance.

Mes remerciements à Messieurs H. Ait Amar, S. Djadoun, A. Touabet, Professeurs à l'USTHB et Monsieur M. Hadj Mahammed, Professeur à l'Université de Ouargla, pour avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie de ce jury.

Que Monsieur Le Professeur A. Baaliouamer, Directeur du Laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle (LAOF-USTHB) trouve ici l'expression de mes remerciements.

Pour m'avoir accueillie dans son Laboratoire, je remercie vivement Monsieur Le Professeur M. Montury, Directeur du Laboratoire de Physico-Toxicochimie des Systèmes Naturels de l'Université de Bordeaux 1 (France), ainsi que toute son équipe.

A Monsieur B. Tigrine, j'adresse mes sincères remerciements pour son aide et l'intérêt qu'il a porté à ce travail.

Mes remerciements vont également aux membres du Laboratoire Organique Fonctionnelle ainsi qu'à tous les collègues du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-Chimique (CRAPC) et plus particulièrement à Monsieur K. Assami pour son aide dans la réalisation des analyses.

Ma sympathie va à toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

Pour m'avoir aidée, soutenue et encouragée dans la poursuite et la finalisation de ce travail, je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mes parents, à mon époux et à mes enfants.

# Sommaire

INTRODUCTION GENERALE .....	8
<b><u>PARTIE 1 : LES TECHNIQUES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES ET EXTRAITS AROMATIQUES : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE</u></b>	
<b>I - INTRODUCTION .....</b>	<b>12</b>
<b>II - LES TECHNIQUES D'EXTRACTION CONVENTIONNELLES .....</b>	<b>12</b>
<i>II. 1 - Procédés à usage de vapeur d'eau .....</i>	<i>12</i>
II.1.1 - Entraînement à la vapeur d'eau .....	12
II. 1.2 - Hydrodistillation .....	13
<i>II. 2 - Expression à froid .....</i>	<i>14</i>
<i>II. 3 - La distillation sèche .....</i>	<i>15</i>
<b>III - EXTRACTION PAR SOLVANTS NON VOLATILS .....</b>	<b>16</b>
<i>III. 1 - L'enfleurage à froid .....</i>	<i>16</i>
<i>III. 2 - Enfleurage à chaud « macération ou digestion » .....</i>	<i>16</i>
<b>IV - EXTRACTION PAR SOLVANTS ORGANIQUES VOLATILS .....</b>	<b>17</b>
<i>IV. 1 - L'hydrodistillation-extraction simultanées .....</i>	<i>17</i>
<i>IV. 2 - L'extraction par l'appareil de Soxhlet .....</i>	<i>18</i>
<b>V - LES TECHNIQUES D'EXTRACTION INNOVANTES .....</b>	<b>18</b>
<i>V. 1 - Les techniques d'espace de tête « headspace » .....</i>	<i>18</i>
<i>V. 2 - Extraction par fluide supercritique .....</i>	<i>20</i>
<i>V. 3 - Extraction par détente instantanée contrôlée DIC .....</i>	<i>21</i>
<i>V. 4 - Extraction par les ultrasons .....</i>	<i>23</i>
<i>V. 5 - Extraction assistée par micro-ondes .....</i>	<i>24</i>
<b>VI - LIMITES ET INCONVENIENTS DES PROCEDES TRADITIONNELS .....</b>	<b>33</b>
<i>VI. 1 - Entraînement à la vapeur d'eau et hydrodistillation .....</i>	<i>33</i>
<i>VI. 2 - Extraction par solvants organiques volatils .....</i>	<i>33</i>
<b>VII - INTERETS DES TECHNIQUES INNOVANTES .....</b>	<b>33</b>
<b>VIII - CONCLUSION .....</b>	<b>35</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>36</b>

## PARTIE 2 : LE ROMARIN

### **Chapitre 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

<b>I - INTRODUCTION .....</b>	<b>40</b>
<b>II - DESCRIPTION BOTANIQUE .....</b>	<b>41</b>
<b>III - L'HUILE ESSENTIELLE DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> L.....</b>	<b>43</b>
<i>III - 1 Edifices cellulaires sécréteurs .....</i>	<i>43</i>
<i>III - 2. Contrôle de qualité de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. ....</i>	<i>46</i>
<i>III - 3 - Composition chimique .....</i>	<i>47</i>
III - 3.1 - Les composés monoterpéniques.....	48
III - 3.2 - Les Sesquiterpènes.....	51
III - 3.3 - Autres composants de l'huile essentielle de romarin .....	52
<b>IV - ETUDE RETROSPECTIVE DES TRAVAUX ANTERIEURS .....</b>	<b>52</b>

## **Chapitre 2 : EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROSMARINUS OFFICINALIS L. POUSSANT A ALGER**

<b>I - INTRODUCTION</b> .....	<b>57</b>
<b>II - CONDUITE DE L'EXTRACTION SANS SOLVANT ASSISTEE PAR MICRO ONDES</b> .....	<b>58</b>
<b>III - CONDUITE DE L'HYDRODISTILLATION CLASSIQUE</b> .....	<b>59</b>
<b>IV - RESULTATS ET DISCUSSION</b> .....	<b>61</b>
<i>IV - 1 Constantes physico-chimiques</i> .....	61
<i>IV - 2 Analyse quantitative</i> .....	62
<i>IV - 3 Suivi de la cinétique du rendement</i> .....	62
<i>IV - 4 Composition des huiles essentielles</i> .....	66
<b>V - ETUDES COMPLEMENTAIRES</b> .....	<b>72</b>
<i>V - 1 Suivi de la cinétique d'extraction</i> .....	73
V - 1.1 Cinétique des composés majoritaires de l'H E de Romarin extraite par ESSAM...	73
V - 1.2 Cinétique des composés majoritaires de l'H E de Romarin extraite par HD .....	75
<i>V - 2 Comparaison des surfaces foliaires observées par MEB avant et apres extraction</i> .....	81

## **Chapitre 3 : VALORISATION DE LA TECHNIQUE ESSAM**

<b>I - INTRODUCTION</b> .....	<b>85</b>
<b>II - EXTRACTION</b> .....	<b>86</b>
<b>III – RESULTATS ET DISCUSSION</b> .....	<b>86</b>
<i>III – 1 Analyse quantitative</i> .....	86
<i>III – 2 Analyse qualitative</i> .....	87
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>94</b>

## **PARTIE 3 : LE ZYGOPHYLLUM**

### **Chapitre 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

<b>I - INTRODUCTION</b> .....	<b>98</b>
<b>II - CLASSIFICATION BIOSYSTEMATIQUE DE ZYGOPHYLLUM</b> .....	<b>98</b>
<b>III- REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE ZYGOPHYLLUM AU SAHARA</b> .....	<b>100</b>
<b>IV - DESCRIPTION DES ESPECES ALGERIENNES DE ZYGOPHYLLUM</b> .....	<b>101</b>
<i>IV- 1 Etude écologique de Zygophyllum</i> .....	103
<i>IV- 2 Utilisations de Zygophyllum en plante aromatique médicinale</i> .....	103
<i>IV- 3 Travaux antérieurs sur le Zygophyllum</i> .....	104

### **Chapitre 2 : L'HYDRODISTILLATION ET L'EXTRACTION SANS SOLVANT ASSISTEE PAR MICRO-ONDES**

<b>I - INTRODUCTION</b> .....	<b>106</b>
<b>II – CONDUITE DE L'HYDRODISTILLATION CLASSIQUE HD</b> .....	<b>106</b>
<b>III – CONDUITE DE L'ESSAM</b> .....	<b>108</b>
<b>IV – RESULTATS ET DISCUSSION</b> .....	<b>109</b>
<i>IV - 1 Analyse quantitative</i> .....	109
<i>IV - 2 Analyse qualitative</i> .....	110
IV – 2.1 : Composition de la fraction volatile Hydrodistillée .....	111
IV – 2.2 : Composition de la fraction volatile obtenue par ESSAM .....	119

### **Chapitre 3 : EXPLORATION D'UNE NOUVELLE TECHNIQUE DE DISTILLATION EXTRACTION SIMULTANEEES ASSISTEES PAR MICRO-ONDES**

<b>I - INTRODUCTION</b> .....	<b>122</b>
<b>II - CONDUITE DE LA DISTILLATION EXTRACTION SIMULTANEEES -SDE-</b> .....	<b>123</b>
<b>III - CONDUITE DE LA DISTILLATION EXTRACTION SIMULTANEEES ASSISTEES PAR MICRO-ONDES DES-MO</b> .....	<b>124</b>
<b>IV - RESULTATS ET DISCUSSION</b> .....	<b>125</b>
<i>IV - 1 Analyse Quantitative</i> .....	125
<i>IV - 2 Analyse Qualitative</i> .....	125
IV - 2.1 Composition de la fraction volatile obtenue par SDE .....	131
IV - 2.2 Composition de la fraction volatile obtenue par DES-MO .....	134
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>138</b>

### **PARTIE EXPERIMENTALE**

<b>I - MATIERES PREMIERES VEGETALES</b> .....	<b>141</b>
<b>II – EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES</b> .....	<b>141</b>
<i>II. 1 - Conditions opératoires de l'ESSAM</i> .....	141
<i>II. 2 - Conditions opératoires de l'HD</i> .....	142
<b>III – ANALYSE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE</b> .....	<b>142</b>
<b>IV – ANALYSE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE</b> .....	<b>143</b>
<b>V – ANALYSE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE</b> .....	<b>144</b>

### **CONCLUSION**

<b>CONCLUSION</b> .....	<b>147</b>
<b>TRAVAUX ENTREPRIS</b> .....	<b>149</b>

### **ANNEXES**

<b>ANNEXE I</b> .....	<b>151</b>
<b>ANNEXE II</b> .....	<b>154</b>
<b>ANNEXE III</b> .....	<b>158</b>
<b>ANNEXE IV</b> .....	<b>161</b>
<b>ANNEXE V</b> .....	<b>166</b>



# ***INTRODUCTION GENERALE***

## INTRODUCTION GENERALE

Depuis son existence, l'Homme s'est servi des plantes d'abord dans sa nourriture puis dans le traitement de plusieurs maladies et enfin comme parfum ou condiment. De part leurs variétés, les plantes possèdent des caractéristiques spécifiques et apportent un intérêt particulier nutritionnel, thérapeutique, cosmétique et ornemental. Avant la médecine moderne, pour guérir leurs malades le seul recours de nos ancêtres était la plante prise seule ou en mélange, sous forme de tisane, de poudre ou de décoction.

Se basant sur le principe que les produits naturels sont souvent sans danger pour notre santé, des recherches sur les bienfaits des plantes sont toujours d'actualité. Les domaines d'application sont multiples : médical, agroalimentaire et cosmétique. Dans une optique économique, des travaux s'orientent de nos jours vers la recherche d'une technique d'extraction innovante et à moindre coût de l'essence ou huile essentielle des plantes à caractère aromatique ou médicinal. Beaucoup d'investigations ont été entreprises en vue d'améliorer la qualité de l'huile essentielle, avec comme objectifs l'augmentation du rendement de l'extraction, le gain d'énergie et de temps.

De part sa diversité climatique du Nord au Sud et de l'Est à l'Ouest, l'Algérie renferme un patrimoine végétal très riche. Le travail que nous présentons dans ce mémoire porte sur l'analyse qualitative et semi quantitative des fractions volatiles de deux plantes : *Rosmarinus officinalis* L. et *Zygophyllum album* L. Le choix de ces deux plantes est fondé sur la différence de leur nature botanique engendrant des spécificités sur les caractéristiques physico-chimiques de leurs huiles essentielles. Le Romarin présente une huile essentielle faiblement soluble dans l'eau alors que le Zygophyllum possède une huile essentielle très soluble dans l'eau et difficile à séparer.

*Rosmarinus officinalis* L. est une plante aromatique très répandue sur tout le Nord de l'Algérie jusqu'aux portes du Sahara. Son nom usuel est « Aklil ». Elle a des applications médicinales traditionnellement reconnues depuis l'antiquité comme les traitements de la grippe, de l'asthme, de la diarrhée, de la défaillance du foie, etc... Pour ses propriétés anti-oxydantes et son activité anti-bactérienne remarquable un regain d'intérêt lui a été accordé dans le domaine de la conservation alimentaire.

*Zygophyllum album* L. est une plante médicinale localisée dans les zones arides. Son nom vernaculaire est « Aggaya ». Ses vertus sont nombreuses dont entre autres comme remède du diabète, du rhumatisme, de la goutte, de l'asthme, de l'hypertension et de la flatulence colique. Elle a également une activité expectorante, un pouvoir antifongique, une activité anti-microbienne, un effet anti-inflammatoire et un effet anti-diarrhéique.

Cette thèse a pour objectif de présenter nos travaux effectués dans l'étude des huiles essentielles des deux matrices végétales choisies (Romarin et Zygophyllum) mais aussi d'appliquer une nouvelle technique d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes développée au sein de notre laboratoire en partenariat avec un laboratoire de recherche INRA – France. Notre étude s'inscrit dans la validation de cette nouvelle méthode comme analyse de routine aussi bien pour l'extraction des huiles essentielles à partir de divers matrices végétales que d'extraits aromatiques avec un nouveau prototype mis au point et conçu au sein de notre laboratoire. Ces deux dernières décennies, l'avènement des micro-ondes dans le domaine de la chimie a apporté des solutions de choix aux problèmes de la chimie analytique. Les procédés d'extraction assistée par chauffage micro-ondes se sont ainsi développés, avec comme résultat la réduction considérable du temps d'extraction et de la consommation d'énergie.

Cette thèse est composée de trois parties, présentant les études antérieures dans le domaine de l'extraction et une étude détaillée de l'extraction du Romarin et du Zygophyllum. La première partie de ce travail est consacrée à une revue bibliographique, rétrospective, relative aux procédés d'extraction des essences et huiles essentielles des plus traditionnels jusqu'aux plus innovants. Les limites et les inconvénients des techniques d'extraction conventionnelles ainsi que les intérêts des techniques novatrices y sont rapportés.

L'objet de la seconde partie est l'étude générale de l'huile essentielle de Romarin avec comme application l'échantillon *Rosmarinus officinalis* L. provenant de l'Institut National d'Agronomie (INA). L'étude qualitative et quantitative de l'huile essentielle obtenue par extraction sans solvant assistée par micro-ondes ESSAM ainsi que la comparaison avec celle extraite par la méthode de référence, l'hydrodistillation classique, ont permis de mettre en relief les avantages de l'ESSAM. L'objectif recherché à travers l'étude cinétique est d'une part l'approfondissement de la compréhension des phénomènes régissant les deux procédés d'extraction et d'autre part la détermination de la durée optimale de l'extraction d'un constituant cible qui confèrerait à la fraction volatile un intérêt primordial pour une application particulière (médicinale, agroalimentaire, cosmétique). La comparaison des surfaces foliaires des différents organes de la plante soumises aux deux types d'extraction ESSAM et HD a été réalisée par microscopie électronique à balayage avant et après extraction. L'analyse des résultats obtenus complétés par la détermination des données physico-chimiques a permis une interprétation des phénomènes susceptibles de jouer un rôle particulier lors d'une extraction sans solvant assistée par micro ondes. La valorisation de la technique ESSAM a été réalisée à travers l'étude de caractérisation du Romarin algérien selon la zone géographique et son écosystème spécifique. Pour cela, les quatre régions suivantes ont été choisies : Chréa, Tébessa, Tlemcen et Ghardaia.

Dans la troisième partie, nous abordons la description des espèces algériennes de *Zygophyllum* et particulièrement la plante *Zygophyllum album* L. L'extraction de son huile essentielle, très hydrosoluble, est réalisée selon les quatre procédés suivants :

- 1 - L'hydrodistillation classique à l'aide de l'appareil de Clevenger modifié
- 2 - La Distillation et l'Extraction Simultanées à l'aide de l'appareil de Lickens & Nickerson,
- 3 - La Distillation et l'Extraction Simultanées, avec ajout de solvant, assistée par chauffage micro-ondes. Cette nouvelle technique a été mise en place au CRAPC.
- 4 - L'extraction de la partie volatile de la plante fraîche à sec sans ajout d'eau et de solvant, assistée par chauffage micro-ondes,

Les deux premiers procédés sont conventionnels et les deux autres sont innovants. Nous pouvons noter par ailleurs qu'aucun travail chimiotaxonomique sur l'huile essentielle des différentes variétés de *Zygophyllum* n'a été formellement réalisé à ce jour. Les avantages de chaque procédé sont rapportés à partir des paramètres expérimentaux mis en œuvre (temps d'extraction, intensité du chauffage et nature du solvant) en vue d'une extraction convenable pour ce type de plante. La définition du chémotype est faite à l'aide de marqueurs chimiques infra-spécifiques et définis directement à partir des résultats obtenus par chromatographie en phase gazeuse seule ou après couplage à la spectrométrie de masse dans le mode impact électronique. La chimiotaxonomie, basée sur la composition biochimique des végétaux, joue un rôle essentiel dans la détermination du pouvoir thérapeutique du taxon à travers l'étude de la variabilité biochimique qui englobe les proportions relatives des substances et la présence de constituants mineurs.

***LES TECHNIQUES  
D'EXTRACTION DES HUILES  
ESSENTIELLES ET EXTRAITS  
AROMATIQUES : Analyse  
Bibliographique***

## **I - INTRODUCTION**

Depuis l'antiquité classique, l'Homme s'est servi du potentiel aromatique des plantes suivant un parcours chronologique selon sa civilisation et son évolution technologique. Il a conçu différents procédés d'extraction d'huiles essentielles. Nous présenterons dans ce qui suit un aperçu de ces techniques depuis les plus traditionnelles jusqu'aux plus novatrices.

Dans cette partie, nous aborderons les techniques d'extraction conventionnelles utilisées dans l'extraction des huiles essentielles et des extraits aromatiques. Nous décrivons par la suite quelques techniques innovantes découvertes ces dernières années. Enfin, nous effectuerons une description détaillée du chauffage micro-ondes et son impact dans les procédés d'extraction.

## **II - LES TECHNIQUES D'EXTRACTION CONVENTIONNELLES**

### **II. 1 - Procédés à usage de vapeur d'eau**

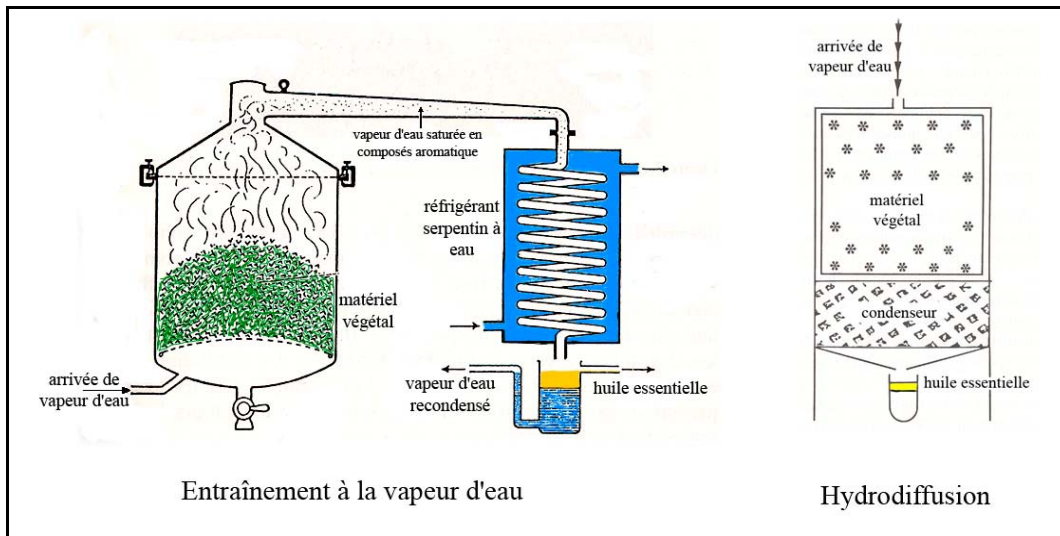
Dans ce mode de procédé, on produit des essences distillées ou huiles essentielles selon l'appellation normalisée. Cette appellation fait référence :

- à leur nature lipophile qui permet leur séparation du système d'extraction par simple décantation.
- à l'essence spécifique de la plante dont généralement la composition chimique est modifiée légèrement selon le mode d'extraction utilisé.

L'eau et les composés organiques volatils du matériel végétal co-distillent dans un système hétérogène. L'ébullition se produit lorsque la somme des tensions de vapeur des composés présents atteint la pression atmosphérique. La tension de vapeur des molécules organiques considérées étant basse, la co-distillation se fait à une température voisine de 100° C, température d'ébullition de l'eau.

#### **II.1.1 - Entraînement à la vapeur d'eau**

Ce procédé permet de traiter les matières végétales sensibles pouvant changer de composition lors d'une ébullition prolongée (phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation). Le procédé d'entraînement direct à la vapeur d'eau consiste à exposer le végétal à l'action d'un courant de vapeur sans macération au préalable, (ce dernier n'est pas en contact direct avec l'eau). La vapeur d'eau nécessaire à l'extraction, qui arrive à l'intérieur de l'alambic par le fond, emporte les composés volatils. Elle est ensuite véhiculée à l'aide d'un tuyau circulaire muni de nombreuses ouvertures.



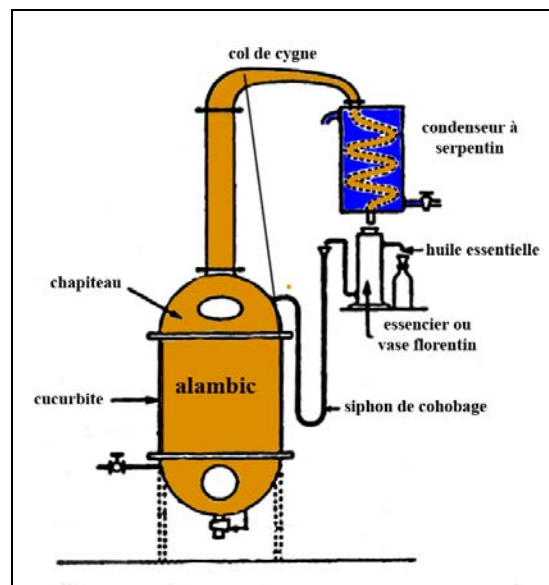
*Figure I.1 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante*

## II. 1.2 - Hydrodistillation

Le matériel végétal (intact ou broyé) est, cette fois-ci, immergé dans l'eau portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes formées sont condensées dans un essencier. L'huile essentielle est recueillie après décantation (par différence de densité) comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau.

L'hydrodistillation est généralement réalisée à pression atmosphérique. Cependant, certaines matières premières, telles que les rhizomes de vetiver [1], nécessitent une augmentation de l'efficacité énergétique (masse du corps entraîné/masse d'eau évaporée) car, à cause de leurs poids moléculaire élevé, leurs constituants ne peuvent être entraînés par la vapeur d'eau sous pression atmosphérique. Dans ce cas précis, l'hydrodistillation peut se faire sous pression. Cette technique n'est pas utilisée pour des produits fragiles qui seraient dénaturés à une température supérieure à 100° C. Pour cette raison, la surpression pratique est limitée à une valeur maximale de 1,5 bar au-dessus de la pression atmosphérique. La durée de distillation est généralement longue. Elle varie d'une matière à une autre et peut atteindre plusieurs heures. Elle influe sur le rendement et la composition de l'extrait. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage (appelé communément cohobage) de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le système équipé d'une cohobe, qui est généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles dans les laboratoires, est appelé le Clevenger [2] par référence à celui qui l'a conçu.

Récemment, la Société DCF-Aromaprocess- [3], a mis en place une nouvelle procédure appelée « **la turbo-distillation** » qui réduit la durée d'extraction. Le réacteur contenant la matière végétale est équipé d'une turbine qui facilite sa dilacération. Il permet une agitation turbulente, d'où un meilleur coefficient de transfert thermique et une augmentation de la surface de vaporisation. Outre le recyclage des eaux de cohobage, ce procédé permet aussi la récupération des fractions les plus volatiles grâce à un système de condensation secondaire. La présence d'une colonne à plateaux contribue à la condensation des vapeurs en huiles essentielles, d'où une amélioration du rapport d'entraînement.



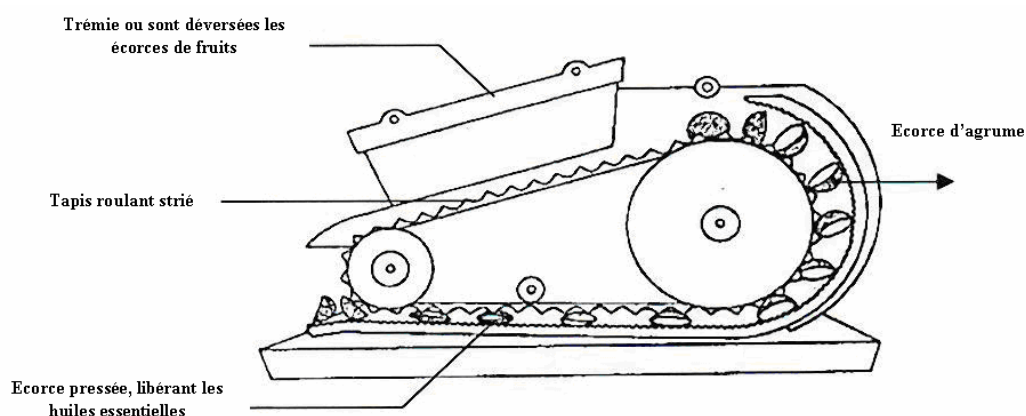
*Figure I.2 : L'hydrodistillation traditionnelle*

## II. 2 - Expression à froid

Ce procédé concerne particulièrement les essences d'agrumes. Il consiste à exprimer les péricarpes isolément sous un courant d'eau ou à faire passer les fruits entiers entre des cylindres métalliques. Le produit obtenu est nommé « essence » et non huile essentielle [4]. Ces essences de faible densité, sont ensuite séparées de la phase aqueuse par centrifugation. Elles sont constituées majoritairement d'hydrocarbures terpéniques. Elles sont donc sensibles aux températures d'hydrodistillation. D'autre part, elles sont localisées dans un péricarpe poreux riche en sacs oléifères facilement détruits. Le choix de ce procédé, simple action mécanique abrasive sur le péricarpe du fruit sous un courant d'eau à forte pression, est donc bien justifié.

Aujourd'hui, des procédés industrialisés et mécanisés ont été mis en place afin de diminuer les coûts, d'augmenter les rendements et de préserver le fruit en vue de l'extraction de son jus. On compte parmi eux, l'extracteur de l'IFAC, la sfumatrice,

la pelatrice, l'extraction « in-line » ou la machine polycitrus [5]. L'extracteur de l'Institut des Fruits et Agrumes Coloniaux devenu depuis l'Institut de Recherches Agronomiques Tropicales et des Cultures Vivrières (IRAT) a mis au point en 1952 une machine permettant l'expression à froid de l'huile essentielle des hespéridés sans emploi d'eau, ce qui évite ainsi des altérations telles les hydrolyses ou les solubilisations de certaines classes de composés aromatiques. Le principe de cette machine est basé sur l'ouverture des sacs oléifères par éclatement sous une dépression. La sfumatrice provoque la libération de l'huile essentielle des sacs oléifères au moyen de zones de vibrations ce qui a pour effet de restituer l'écorce de fruit sans traces de blessures et d'apparence intacte. L'huile essentielle est ensuite entraînée par un jet d'eau avant d'être séparée de la phase aqueuse par centrifugation. La pelatrice est constituée par une série de cylindres transversaux munis de pointes abrasives à travers lesquelles passent les fruits. La machine d'extraction « in line », relativement complexe, permet à la fois l'extraction du jus et de l'huile essentielle du fruit sans que ces deux produits soient en contact. Pendant la compression du fruit entre deux moules lacérant le fruit pour en extraire l'huile essentielle, un cylindre pénètre le fruit pour en extraire le jus. Le jus est ainsi récupéré dans le cylindre et un jet d'eau entraîne l'huile essentielle. La machine polycitrus est une des plus récentes sur le marché. Elle est constituée de la combinaison d'un extracteur d'huile essentielle et d'un extracteur de jus. Pour l'extraction de l'essence on utilise le principe de l'abrasion des sacs oléifères et pour l'obtention du jus, le principe du pressage de la moitié du fruit.



*Figure I.3 : Expression à froid*

### II. 3 – La distillation sèche

La distillation sèche est une méthode d'extraction des huiles essentielles des végétaux thermosensibles tels que les pétales de rose. Elle consiste à chauffer, de

façon modérée, le matériel végétal sans ajout d'eau ni de solvants organiques. L'eau du matériel végétal se vaporise en entraînant avec elle ses composés volatils.

### III - EXTRACTION PAR SOLVANTS NON VOLATILS

#### III. 1 - L'enfleurage à froid

Cette technique est connue depuis l'Égypte ancienne. Elle est généralement utilisée pour extraire les essences de fleurs fragiles, d'où le nom « **enfleurage** », telles que la rose, le jasmin. Elle consiste à mettre les pétales en contact avec des graisses purifiées, solides, à température ambiante. On observe une diffusion des molécules aromatiques dans la graisse.

En raison de son coût, cette technique n'est plus utilisée. En effet, d'une part la diffusion est lente et d'autre part, il est nécessaire de renouveler plusieurs fois les pétales pour obtenir des pommades concentrées en substances aromatiques qui sont parfois utilisées telles quelles pour enduire les cheveux ou les corps, ou alors après épuisement par un alcool dans lequel les corps gras sont peu solubles. Par simple évaporation, les composés volatils sont isolés. L'extrait aromatique obtenu est dénommé « **absolue** ».



*Figure I.4 : Ouvrière disposant le jasmin sur la graisse.*

#### III. 2 - Enfleurage à chaud « macération ou digestion »

Cette technique est similaire à la précédente, mais avec des graisses fondues au bain marie (50 – 70° C). Les fleurs plongées dans une matrice graisseuse infusent pendant une journée où elles sont agitées par des palettes de bois pendant 2 heures. Les pommades aromatisées sont enfin traitées pour donner des essences d'absolue.

## **IV - EXTRACTION PAR SOLVANTS ORGANIQUES VOLATILS**

Ce procédé classique consiste à épuiser la matière première de ses constituants odorants en mettant le végétal dans un extracteur avec un solvant volatil (hexane ou éthanol). En faisant recycler le solvant plusieurs fois sur le végétal, il va se charger de molécules aromatiques. Ce dernier est mis dans un concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le résidu est appelé « **concrète** » et est ensuite lavé avec de l'alcool, filtré et glacé pour en extraire les cires végétales. Après concentration, on obtient une « **absolue** ».

L'avantage de cette technique est qu'elle évite l'action hydrolysante de l'eau ou de sa vapeur. Cependant, des risques d'artefacts et la possibilité de contamination de l'échantillon par des impuretés contenues dans le solvant ne sont pas éloignés.

Pour les produits à destination agroalimentaire, on est confronté au choix du solvant qui doit répondre aux normes internationales d'hygiène et de santé. Celui-ci doit, non seulement, être autorisé mais posséder également une certaine stabilité face à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène. Sa température d'ébullition sera de préférence basse pour faciliter son élimination. Il doit être inerte chimiquement par rapport à l'extrait. Parmi les solvants les plus utilisés, nous comptons l'hexane, le méthanol, l'éthanol, l'éther de pétrole et le dichlorométhane.

Plusieurs améliorations ont été apportées à cette technique. De nos jours, l'hydrodistillation-extraction simultanées et l'extraction par Soxhlet sont présentes dans les laboratoires.

### **IV. 1 - L'hydrodistillation-extraction simultanées (Simultaneous Distillation Extraction : SDE)**

Elle est élaborée pour la première fois par Lickens & Nickerson, [6] en 1964. L'originalité de la technique est que la vapeur d'eau chargée de molécules aromatiques provenant de l'hydrodistillation et la vapeur du solvant se rencontrent au sein de l'appareil qui porte le nom des deux chercheurs. Cette rencontre va entraîner l'extraction des composés aromatiques de la phase aqueuse vers la phase organique ce qu'on appelle « **extraction vapeur-vapeur** ».

L'appareil Lickens & Nickerson, représenté en Figure I.5.b, comporte un système de réfrigération qui permet la condensation et la séparation des deux phases dans une portion en U. La conception du procédé assure le recyclage des deux phases. La SDE est non seulement très utilisée dans l'extraction des molécules aromatiques d'origine végétale [7] à des fins cosmétiques, thérapeutiques et autres,

mais aussi dans le domaine agroalimentaire pour la détermination de la composition chimique de la partie volatile de certains produits alimentaires.

#### IV. 2 - L'extraction par l'appareil de Soxhlet

On place, dans une cartouche de cellulose, le végétal finement broyé qui subit une percolation par des vapeurs condensées de solvant (plusieurs cycles) Figure I.5.c. Le solvant chargé en extrait retourne dans le ballon par siphonage et est redistillé. Dernièrement, cette technique a été combinée aux micro-ondes [8] et aux ultrasons [9].

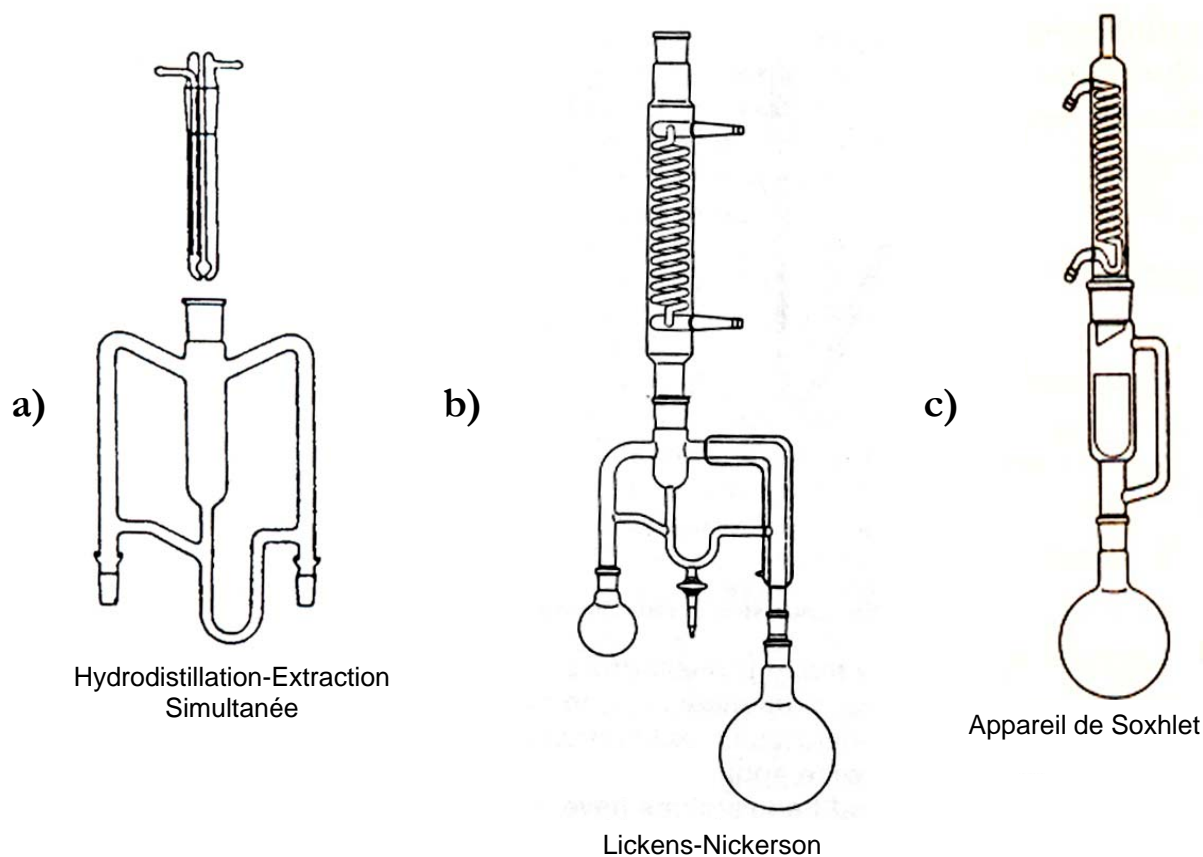


Figure I.5 : Les différents types d'extraction par solvant volatils

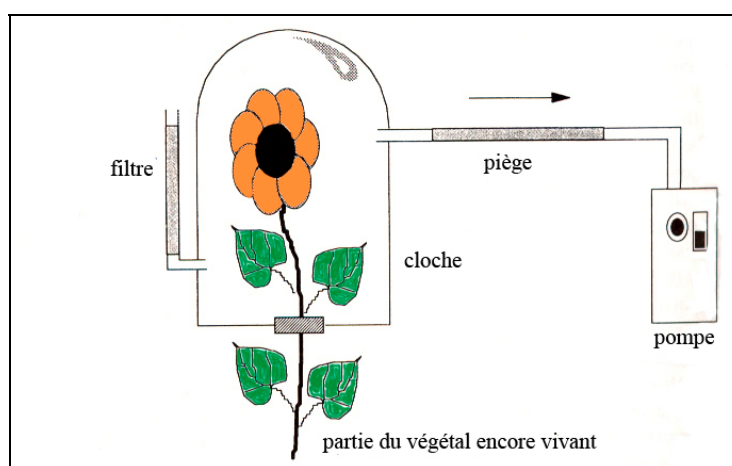
### V - LES TECHNIQUES D'EXTRACTION INNOVANTES

#### V. 1 - Les techniques d'espace de tête « headspace »

Cette technique est utilisée pour étudier les compositions odorantes les plus volatiles et les plus délicates [10,11] qui sont libérées naturellement par la plante. Les informations obtenues par cette technique sont quasiment proches de l'état naturel car elle sauvegarde le végétal qui ne subit ni chaleur, ni contact avec un solvant aqueux ou organique.

Pour ce faire, trois techniques sont utilisées. Toutes subissent une première étape identique qui consiste à placer le matériel végétal dans une enceinte fermée. Elle est ensuite traversée par un courant gazeux. Le procédé de récupération des composés volatils entraînés est propre à chacune des techniques suivantes :

- 1 - Barbotage d'un courant gazeux dans un solvant approprié pour retenir les composés volatils. On change la nature du solvant pour séparer les différentes fractions chimiques.
- 2 - Condensation des composés volatils dans une série de pièges réfrigérés, dénommée méthode cryogénique.
- 3 - L'adsorption sur solide consiste à faire passer le courant gazeux inerte (azote, hélium) à travers un lit d'adsorbant tel que XAD-4 (polystyrène) ou le TENAX (polyoxyde de para-diphényl-2,6-phénylène) contenu dans une colonne. Les composés volatils sont ensuite récupérés par désorption thermique ou par élution au moyen d'un solvant organique.



*Figure I.6 : Principe de la technique headspace*

La technique headspace a connu plusieurs investigations, d'où l'apparition de l'espace de tête statique, de l'espace de tête dynamique (purge and trap headspace) et la micro extraction sur phase solide (SPME : Solid Phase Micro-Extraction). La SPME est une méthode d'analyse développée par Pawliszyn au Canada en 1989 [12]. Elle a été mise au point par la société Supelco en 1993 [13]. Elle permet de concentrer les composés volatils et non volatils présents dans des échantillons liquides ou gazeux avant leur analyse par chromatographie en phase gazeuse, chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ou chromatographie en phase liquide.

Elle consiste à utiliser une fibre de silice couverte de phase stationnaire (Carbowax, polyacrylate ou polydiméthyl-siloxane). La phase stationnaire peut être mélangée à des adsorbants solides tels que des polymères de divinylbenzène, des résines ou du carbone poreux. La fibre est fixée à un piston en acier inoxydable à l'intérieur d'un support protecteur.

Les premières applications de la technique ont été destinées à l'environnement. Actuellement, on a recours à cette technique dans plusieurs autres domaines tels que l'analyse d'arômes de produits alimentaires (application à la fraise [14,15] ) et l'analyse toxicologique du taux d'alcool dans le sang et des médicaments dans les urines.

La SPME présente les avantages suivants:

- Elle est très économique parce qu'elle n'utilise pas de solvant ou très peu. La fibre peut être utilisée plus de 50 fois de suite en moyenne.
- Elle est rapide et polyvalente du fait qu'elle s'adapte à n'importe quel système chromatographique.

## **V. 2 - Extraction par fluide supercritique**

Dans cette technique, la séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse sous forte pression (état critique ou supercritique). Le solvant est recyclé en boucle fermée par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque stade du processus. Selon le cas de l'échantillon, on fait varier les valeurs de la pression et de la température pour optimiser l'extraction qui est généralement réalisée à de basses températures, inoffensives vis à vis du végétal. Par simple décompression, on parvient à éliminer le solvant qui est gazeux à température ambiante et à pression atmosphérique. Ces deux facteurs confèrent à cette technique un grand intérêt.

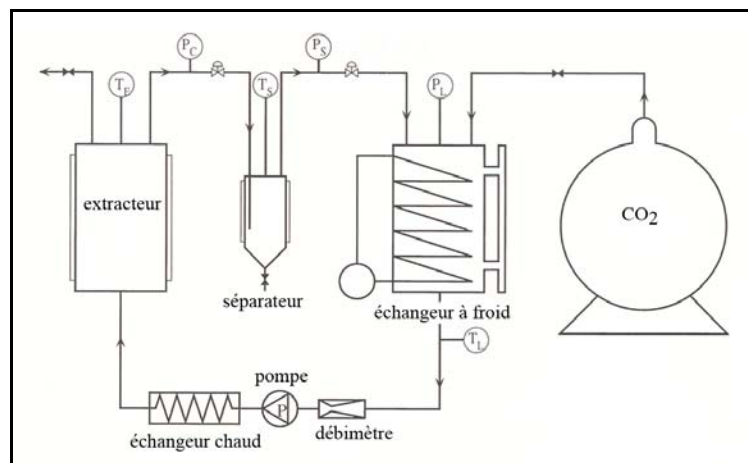
Le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) est le solvant le plus utilisé en raison de ses température et pression critiques peu élevées. La température est égale à  $31,3\text{ }^\circ\text{C}$  et la pression est égale à 73,8 bars [16]. De plus, il est ininflammable, inerte, non nuisible et son prix peu coûteux. Il est également intéressant parce qu'il se comporte comme un solvant apolaire. Cette polarité peut être, en outre, modifiée par addition de faibles quantités de produits polaires de façon à mieux extraire les composés oxygénés. Son spectre d'extraction est comparable à celui de l'hexane qui est souvent utilisé pour la production de matières premières aromatiques.

La matière végétale à extraire est placée dans une enceinte à travers laquelle circule le  $\text{CO}_2$  à l'état supercritique. Il emporte les molécules solubles dans les conditions opératoires définies de pression et température. Il est, ensuite, détendu

dans un séparateur pour devenir gazeux, état où son pouvoir solvant est nul. L'extrait précipite et tombe au fond du séparateur. A basse température, le CO<sub>2</sub> est liquéfié dans un échangeur, puis renvoyé de nouveau dans l'extracteur. L'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique est rapide. Elle permet, aussi, d'obtenir des rendements en extraits aromatiques supérieurs avec une grande pureté.

Reverchon et al. ont proposé un recensement de plantes extraites par fluides supercritiques. Ils ont conclu que les extraits aromatiques obtenus par fluide supercritique sont plus riches en composés oxygénés pour être les plus odorants et les plus intéressants [17].

L'extraction par CO<sub>2</sub> supercritique présente de nombreux avantages, notamment le fait de ne laisser dans l'extrait obtenu que très peu de solvants résiduels et donc d'être beaucoup moins toxique que les autres procédés. Le problème est que ce procédé fournit une huile qui comporte encore des cires et des résines. Un traitement supplémentaire est donc nécessaire.



*Figure I.7 : Unité d'extraction par CO<sub>2</sub> supercritique*

### V. 3 - Extraction par détente instantanée contrôlée DIC

La Détente Instantanée Contrôlée utilise un traitement haute température-courte durée « High Temperature Short-Time » capable d'intervenir dans de nombreux procédés industriels de séchage, de texturation, de débactérisation, d'étuvage et d'extraction. Elle a été définie et mise au point par Allaf et al. en 1992 [18]. Le traitement DIC concerne des produits biologiques divers : agricoles, agroalimentaires, pharmaceutiques, cosmétiques, etc.... Il consiste à soumettre le produit à un traitement thermique sous une pression donnée durant quelques dizaines de secondes. La pression et le chauffage sont généralement assurés par la vapeur d'eau. Il est, toutefois, possible d'obtenir le chauffage par convection, par conduction ou par rayonnement (IR) voire par micro-ondes. La détente proprement dite est obtenue par une communication très rapide (instantanée) de la

chambre de traitement à un réservoir de volume nettement plus important et sous une pression de vide très poussée; cette ouverture provoque une chute de pression et une auto-vaporisation au niveau du produit.



*Figure I.8 : Pilote DIC-MP*

Le séchage est un procédé de séparation fondé sur la volatilité. Il permet d'éliminer l'eau et les produits volatils. Or dans le cas des plantes aromatiques, l'huile essentielle est contenue dans des dépôts superficiels (sous forme de glandes cellulaires ou poils sécréteurs). Une analogie a été faite entre ce procédé de séchage et l'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau ou par hydrodistillation.

Un phénomène d'auto-évaporation (principalement de l'eau) a lieu, engendrant éventuellement le soufflage du produit traité. Ce phénomène dépend des conditions opératoires (pressions et températures initiales et finales, temps de traitement, durée de détente, etc...), mais aussi des propriétés intrinsèques des produits considérés (physiques, rhéologiques, thermiques, thermodynamiques, etc...) et de leurs évolutions thermiques possibles. L'impact de ce nouveau procédé est immédiat au niveau de :

- 1 - la durée totale de l'opération de séchage, quand elle est couplée à la DIC, et où elle peut être réduite de plus de 50%.
- 2 - la qualité du produit déshydraté qui est hautement améliorée.

La DIC consiste à soumettre la matière première à un traitement thermique de courte durée sous haute pression (<20 bars) et haute température (<200 °C). On procède par une détente vers une pression relativement faible qui provoque des phénomènes d'autovaporisation dans le produit traité.

L'extraction par DIC ne nécessite pas l'utilisation de solvants. Elle a l'avantage d'être rapide et sélective. Elle est particulièrement adaptée pour les secteurs du cosmétique et de la parfumerie ainsi que de la pharmacie. Elle présente également les avantages suivants :

- 1 - arrêt immédiat ou absence de dégradation thermique des extraits.
- 2 - libération « instantanée » des molécules volatiles
- 3 - facilité d'extraction d'autres molécules par rupture des parois cellulaires grâce à la contrainte mécanique.
- 4 - absence de solvants,
- 5 - réduction d'eaux usées et de matières résiduelles.

Par comparaison avec l'extraction par entraînement à la vapeur, l'extraction par DIC assure une opération de vitesse particulièrement importante (capacité d'extraire en moins de dix minutes l'équivalent de 100 minutes par entraînement à la vapeur), avec une amélioration de la qualité des extraits et une réduction de la consommation énergétique et des rejets en eaux usées.

Cette technique a été appliquée à l'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. sans séchage au préalable par Rezzoug et al. [19]. Après établissement des conditions optimales, ces auteurs ont réussi à extraire 97% des composés aromatiques au bout de 10 min seulement.

Les conditions optimales de l'extraction de l'huile essentielle de Romarin par le procédé DIC [13] sont les suivantes :

- 1 - Pression : 3 bars
- 2 - Durée : 10 minutes
- 3 - Nombre de décompressions : 2
- 4 - Aucun pré- ou post-traitement nécessaire

Les caractéristiques obtenues de l'huile sont :

- Une odeur très proche de l'odeur naturelle du Romarin.
- Des pourcentages en composés principaux comparables à ceux obtenus par extraction par CO<sub>2</sub> supercritique.

#### **V. 4 - Extraction par les ultrasons**

L'extraction d'une huile essentielle par ultrasons a fait sa première apparition il y a environ une trentaine d'années [20]. Elle consiste à placer la matière végétale dans un solvant. L'ensemble est soumis à une source ultrasonore.

Les images des fleurs de chrysanthèmes obtenues par microscopie électronique à balayage [21] témoignent d'une action mécanique des ultrasons permettant la destruction des poils sécréteurs qui renferment les molécules aromatiques. La libération de l'huile essentielle s'effectue de façon rapide. La sonification en vue de l'extraction par solvant permet une meilleure pénétration du solvant qui intervient simultanément avec la fragmentation du tissu végétal.

Le principe de la technique repose à la fois sur le phénomène de cavitation (qui est la formation de bulles d'air ou de vapeur liquide à la suite d'une

propagation d'une onde ultrasonore dans le milieu d'extraction) et sur l'éclatement des glandes sécrétrices de l'huile essentielle par effet mécanique.

Les travaux de S. Chemat [22] dans l'extraction de la carvone et du limonène à partir des graines de carvi ont montré l'avantage de cette technique induit par l'augmentation du rendement et la diminution du temps d'extraction. L'extrait obtenu est de meilleure qualité comparativement au mode d'extraction conventionnel par solvant (Soxhlet).

## V. 5 - Extraction assistée par micro-ondes

De nos jours, le chauffage assisté par micro-ondes est de plus en plus sollicité en synthèse organique et inorganique. De plus, il commence à s'étendre dans le vaste domaine de l'extraction des huiles essentielles. Les premiers travaux ont été publiés en 1986 par Ganzler et al. [23] d'une part et par Lane et Jenkins [24] d'autre part.

### Présentation générale des micro-ondes

Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques couvrant les gammes des ondes décimétriques UHF, centimétriques SHF et millimétriques EHF. Dans le spectre électromagnétique, elles occupent une bande en fréquence de trois décades de 300 GHz à 300 MHz. Les longueurs d'ondes associées s'étalent de 1 millimètre à 1 mètre. Les micro-ondes sont donc du même ordre de grandeur que les dimensions des objets qui nous entourent. La Figure I.9 représente la place des micro-ondes dans le spectre électromagnétique. La nomenclature des fréquences énoncées [25] est regroupée dans le Tableau I.1.

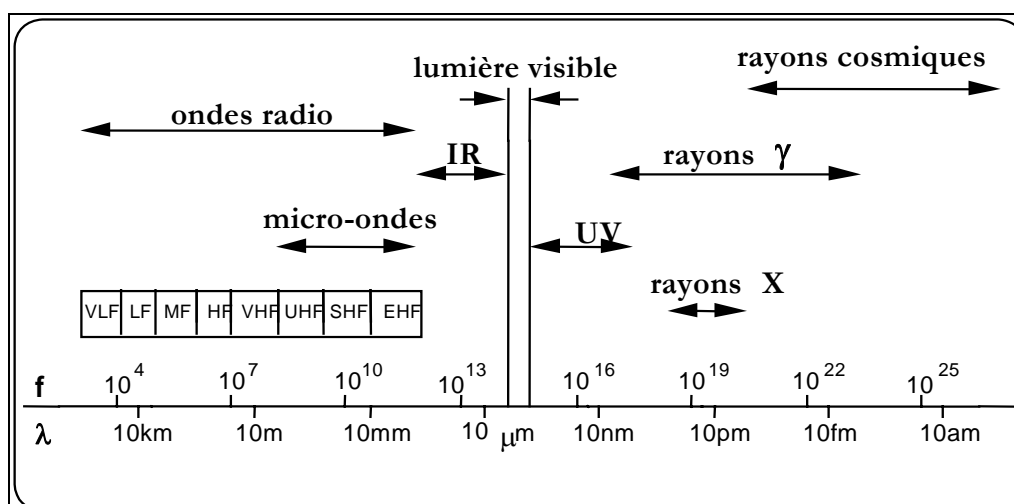


Figure I.9 : Spectre électromagnétique [25]

Il est intéressant de savoir que le spectre électromagnétique en ce qui concerne les bandes HF (High Frequency 3-30 MHz) et les hyperfréquences (300 MHz-300 GHz) est considéré comme une ressource naturelle dont la gestion est confiée à des organismes internationaux. La Fédération Internationale des Télécommunications a adopté à Genève en 1959 un accord sur l'utilisation des micro-ondes pour l'usage industriel, scientifique et médical (I.S.M) avec les fréquences suivantes :  $915 \pm 25$ ,  $2450 \pm 13$ ,  $5800 \pm 75$  et  $22125 \pm 125$  MHz.

La fréquence la plus utilisée est de 2450 MHz. Ce qui correspond à la fréquence de la majorité des magnétrons des fours micro-ondes de cuisine ayant une puissance de 600 à 800 watts et une longueur d'onde dans l'air de 12,2 cm [25,26].

*Tableau I.1 : Nomenclature des fréquences d'après le règlement des radiocommunications [25]*

	<i>Désignation</i>	<i>Limites fréquences</i>	<i>Limites longueurs d'onde</i>
	VLF (very low frequency )	< 30 kHz	> 10 km
	LF (low frequency )	30 à 300 kHz	10 à 1 km
	MF ( medium frequency )	300 kHz à 3 MHz	1 km à 100 m
	HF ( high frequency )	3 MHz à 30 MHz	100 à 10 m
H Y P E R  F R E Q U E N C E	VHF ( very high frequency )	30 à 300 MHz	10 à 1 m
	UHF ( ultra high frequency )	300 MHz à 3 GHz	1 m à 10 cm
	SHF ( super high frequency )	3 à 30 GHz	10 à 1 cm
	EHF ( extremely high frequency )	30 à 300 GHz	1 cm à 1 mm

### Applications des micro-ondes

Les applications des micro-ondes sont nombreuses et diverses. Elles sont classées en trois grandes catégories [27,28] :

- 1 - les applications de mesures,
- 2 - les applications de télécommunications,
- 3 - les applications énergétiques.

Dans la première catégorie, l'altération apportée par un objet physique sur l'onde émise permet de déduire, par comparaison du signal émis au signal récupéré après réflexion ou transmission, la valeur de certaines grandeurs relatives à cet objet. Dans cette catégorie, on retrouve la détection électromagnétique ou radar, la poursuite des satellites, la mesure des dimensions d'un objet en cavité résonnante, la mesure de température par radiométrie et la mesure de l'humidité d'un matériau par le biais de ses caractéristiques diélectriques.

Dans la deuxième catégorie, sont regroupées les applications de télécommunications : l'onde hyperfréquence sert à transporter l'information d'un point à un autre. Le signal à transmettre, digital ou analogique, module des caractéristiques de la porteuse hyperfréquence (amplitude, fréquence, phase). C'est le cas, de la télévision et des télécommunications par liaisons hertziennes et spatiales.

La troisième catégorie regroupe l'ensemble des applications énergétiques. Ici l'onde est utilisée comme vecteur de puissance électromagnétique. Cette catégorie est rencontrée aussi bien dans les foyers domestiques (chauffage, cuisson, décongélation) que dans l'industrie (séchage, réticulations, ...).

Cette dernière catégorie intéresse les chimistes et génie chimistes pour l'application énergétique des micro-ondes dans les procédés de synthèse ou d'extraction. Nous développerons cette application énergétique en détail dans la suite de notre étude.

### Aspects technologiques des micro-ondes [27-36]

Un four micro-ondes est constitué de trois éléments principaux : le magnétron, le guide d'onde et l'applicateur. La Figure I.10 représente un schéma général d'un four micro-ondes.

Le magnétron crée une onde électromagnétique à partir du secteur sur une antenne rayonnante. Le guide d'onde permet l'acheminement de cette onde vers l'applicateur. Ce dernier est une cavité contenant l'élément à traiter. Il est possible de greffer, en périphérie de l'applicateur, un certain nombre d'éléments : appareils de mesure, éléments d'adaptation, etc....

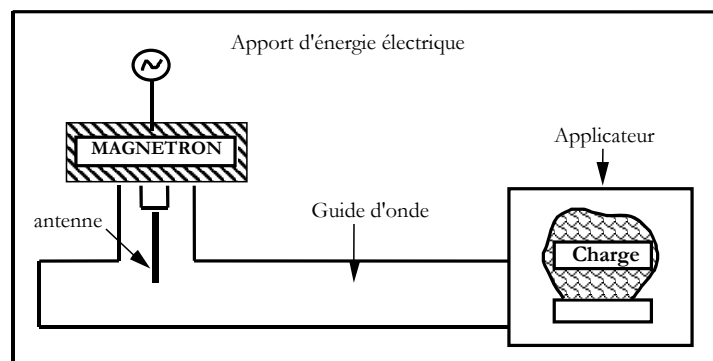


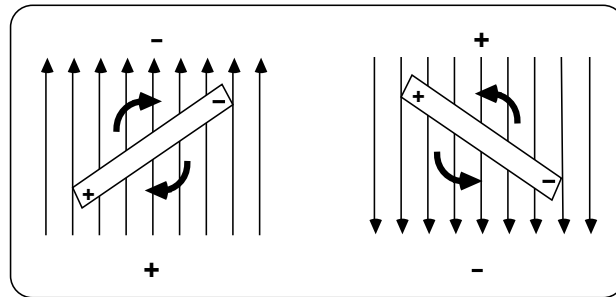
Figure I.10 : Four micro-onde [27]

Les molécules sont en général des édifices électriques globalement neutres dont la répartition des charges électriques est souvent asymétrique : les molécules possèdent un moment dipolaire permanent. En l'absence de champ électrique, les

dipôles d'un milieu diélectrique se trouvent orientés au hasard sous l'effet de l'agitation thermique du milieu.

Sous l'effet d'un champ électrique continu, les molécules tendent à s'orienter dans la direction du champ électrique. Plus le champ électrique est intense, plus l'agitation thermique qui tend à désorganiser l'alignement a une importance plus faible. Lorsque toutes les molécules sont orientées, un moment dipolaire global induit apparaît.

Sous l'effet d'un champ électrique alternatif de fréquence  $f$ , les dipôles s'orientent dans la direction du champ sur une demi alternance, se désorientent lorsque le champ s'annule et se réorientent dans l'autre sens pendant la seconde demi alternance : c'est la rotation dipolaire illustrée sur la Figure I.11



*Figure I.11 : Rotation dipolaire [33]*

L'énergie électrique est convertie en énergie cinétique par la rotation des dipôles, cette dernière étant transformée partiellement en chaleur : l'alignement des dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par les forces d'interaction entre molécules (forces de liaison par pont hydrogène, forces de liaisons de Van der Waals). Ces forces peuvent être assimilées à des forces de frottement internes qui existent dans les contacts solide-solide. Elles s'opposent ainsi à la libre rotation des molécules. De la friction ainsi produite, naît le dégagement de chaleur.

La dissipation d'énergie par le produit peut être maximale si la fréquence du champ électrique est égale à la fréquence de relaxation. Le phénomène de relaxation correspond à l'apparition d'un déphasage entre l'oscillation du champ électrique et celui des dipôles.

### **Intérêt des micro-ondes**

Selon les caractéristiques diélectriques respectives du solvant et de la charge, deux cas extrêmes sont à considérer :

1. Le solvant absorbe la totalité de l'énergie micro-ondes
2. Le solvant est transparent aux micro-ondes et le solide absorbe la totalité de l'énergie micro-ondes

### **Solvant absorbant la totalité de l'énergie micro-ondes**

Dans le cas d'un solvant absorbant la totalité de l'énergie micro-ondes, le transfert de chaleur dans la matrice solide s'effectue par conduction à partir du solvant. Le gradient de température dans le solide s'établit avec la température la plus basse au cœur de celui-ci. Le mécanisme de l'extraction assistée par micro-ondes n'est donc pas fondamentalement différent de celui de l'extraction solide-liquide traditionnelle. Cependant, les micro-ondes présentent l'intérêt d'être une source d'énergie contrôlable de façon instantanée et réglable avec précision. Le chauffage micro-ondes n'a pas l'inertie thermique du chauffage par conduction et convection à partir d'une paroi chaude, pour lequel l'efficacité du transfert thermique est limitée notamment par la surface de contact du produit avec la double enveloppe et par la température maximale pouvant être supportée par le produit en contact avec la paroi chaude.

L'intérêt des micro-ondes est, alors, de permettre l'application sur la charge d'une puissance dissipée pouvant être très importante, conduisant à un échauffement rapide, tout en évitant les risques de surchauffe au contact de la double enveloppe, ce qui limite les risques de dégradation.

### **Solvant transparent aux micro-ondes**

Le deuxième cas de figure est celui d'un solide placé dans un solvant n'absorbant pas les micro-ondes. Le produit solide, s'il possède un facteur de pertes  $\epsilon''$  élevé, va absorber la totalité de l'énergie micro-ondes et s'échauffer très rapidement. Le solvant n'est chauffé que par les pertes thermiques issues de la surface du solide.

D'après Paré [37], l'élévation brutale de la température à l'intérieur des structures cellulaires riches en eau provoque une augmentation de la pression interne des cellules, conduisant à leur dislocation et au relargage de leur contenu dans le milieu d'extraction.

Dans le cas de matières premières à faible teneur en eau, ce sont les constituants polarisables du solide qui vont s'échauffer sous l'action des micro-ondes. Un gradient thermique inversé va s'établir dans le produit, avec la température la plus élevée au cœur de celui-ci. Il est admis que sous l'effet de ce gradient thermique inversé, la vitesse de diffusion des solutés est augmentée. Une autre interprétation s'appuie sur l'hypothèse d'une microébullition du solvant d'imprégnation dans le volume intraparticulaire. La solution interparticulaire serait alors expulsée par les micro-volumes gazeux en expansion.

Quels que soient les mécanismes impliqués, l'extraction sous micro-ondes est caractérisée par des vitesses d'extraction supérieures à celle de l'extraction traditionnelle et qui peuvent, dans certains cas, s'accompagner d'une modification de la sélectivité de l'extraction.

## **Interactions Micro-ondes – Matière**

### **Matériaux s'échauffant sous l'action des micro-ondes**

L'expérience de l'utilisation du four à micro-ondes ménager indique que les aliments s'échauffent en général très rapidement sous l'effet des micro-ondes. On remarque également que les matériaux des récipients contenant les aliments s'échauffent également plus ou moins rapidement selon leur nature. En revanche, les parois métalliques du four restent froides.

En fait, seuls certains matériaux isolants ou mauvais conducteurs de l'électricité sont capables de s'échauffer sous l'action des micro-ondes. Au niveau moléculaire, ces matériaux se présentent comme des entités globalement neutres d'un point de vue électrique mais avec une répartition dissymétrique de leurs charges ioniques partielles. Autrement dit, une partie de la molécule est chargée positivement, l'autre partie négativement. Ces molécules forment donc des dipôles électriques.

L'absence de tout champ électrique, l'orientation de ces dipôles est plus ou moins aléatoire. Sous l'action d'un champ, les dipôles s'orientent dans le sens du champ électrique.

Dans un champ électrique alternatif, l'orientation de chaque dipôle change à chaque alternance du sens du champ électrique. Dans un champ micro-ondes, à fréquence élevée, les « frictions » entre les dipôles vont se traduire par un échauffement du matériau [38 ,39].

### **Facteur de perte diélectrique**

L'aptitude d'un matériau à s'échauffer sous l'action d'un rayonnement micro-ondes est qualifiée par le facteur de pertes diélectriques. Les valeurs de  $\epsilon''$  pour des produits usuels à la fréquence de 2450 MHz et à une température donnée sont indiquées dans le Tableau 1.2.

Les produits ayant un facteur de pertes supérieur à 1 s'échauffent facilement par micro-ondes. Parmi ces composés à pertes diélectriques élevées, on peut citer

l'eau à l'état liquide, les produits naturels riches en eau, des solvants polaires comme les alcools (éthanol, méthanol, etc...).

Quand le facteur de pertes est supérieur à 0,1 environ, le chauffage par micro-ondes reste possible mais il peut nécessiter une mise en œuvre particulière. C'est le cas de solvants ou de produits peu polaires, comme l'acétate d'éthyle ou les corps gras.

Les produits à facteur de pertes encore plus faible ne se prêtent pas au chauffage par micro-ondes. Il s'agit :

- Des gaz, dans lesquels les molécules ne sont pas liées.
- Des métaux, car ils réfléchissent les micro-ondes
- De matériaux qui ne permettent pas les mouvements des dipôles comme la glace pure et parfaitement cristallisée.
- De matériaux qui ne se polarisent pas sous l'effet des micro-ondes comme le Téflon et la silice.
- Des solvants apolaires comme l'hexane.

En pratique, le principal paramètre pour estimer si un produit naturel peut être chauffé par micro-ondes est sa teneur en eau. Quand celle-ci est supérieure à 20% en masse, le produit va s'échauffer facilement sous l'effet des micro-ondes. Quand cette teneur est inférieure à 20%, la mise en œuvre des micro-ondes est plus délicate, mais l'eau qui reste présente, en association avec les autres constituants (protéines, lipides, hydrocolloïdes, etc...) peut rendre possible un chauffage par micro-ondes. Dans le cas d'une extraction, le solvant peut également être directement chauffé par micro-ondes, si son facteur de pertes est suffisamment élevé.

### **Constante diélectrique $\epsilon'$ et angle de pertes $\delta$**

Le facteur de perte  $\epsilon''$  représente le comportement global du matériel soumis au rayonnement. Il peut être décomposé en deux phénomènes, la polarisation et la friction. La permittivité relative  $\epsilon'$  ou constante diélectrique traduit la faculté du diélectrique à se polariser, autrement dit à s'orienter dans le sens du champ électrique. La friction se manifeste par le léger retard pris par les matériaux polarisés pour s'orienter après l'application du champ électrique. Ce déphasage est représenté par l'angle de pertes  $\delta$ .

Le facteur de pertes diélectriques  $\epsilon''$  est égal à la constante diélectrique multipliée par la tangente de l'angle de perte :

$$\epsilon'' = \epsilon' \cdot \tan \delta$$

Les deux composantes du facteur de pertes, la constante diélectrique et la tangente de l'angle de pertes, varient à la fois avec la fréquence appliquée et avec la température du matériau. En pratique, on ne peut pas modifier la fréquence appliquée qui est fixée par la réglementation (2450 MHz). Par contre, l'évolution en fonction de la température est une donnée à connaître. Si  $\epsilon''$  augmente fortement avec la température, il faut réduire progressivement la puissance micro-ondes pour éviter un emballement thermique.

**Tableau 1.2 :** Constante diélectrique  $\epsilon'$  et facteur de pertes  $\epsilon''$  à 2450 MHz et à température ambiante pour différents produits

Produit	$\epsilon'$	$\epsilon''$
Silice	4,0	1 . 10-4
Téflon	2,1	3 . 10-4
Glace (-12°C)	3,2	3 ; 10-3
Eau distillée	72	12
Méthanol	33	2,9
Ethanol	24	2,0
Acétone	21	1,9
Acétate d'éthyle	6,5	0,5
Dichlorométhane	9,5	0,5
Hexane	1,9	5 . 10-4
Corps gras	2,42 à 2,53	0,12 à 0,14
Feuilles de romarin (teneur en eau : 62% en masse)	19,0	4,3
Feuille de menthe (teneur en eau : 74% en masse)	39,4	13,2

## Différents procédés

Le mode d'extraction assistée par micro-ondes consiste à irradier la matière végétale, broyée ou intacte, seule ou en présence d'un solvant. L'ensemble est chauffé dans un four pendant un temps réduit. L'ordre de grandeur temporel est la minute au plus. Ce mode regroupe différents procédés parmi lesquels on peut citer :

- 1- l'extraction par solvant assistée par micro-ondes ou « MAE : Microwave Assisted Extraction ».** Le solvant étant transparent, les micro-ondes atteignent directement les glandes et poils sécréteurs du végétal. Des essais effectués sur la menthe soulignent à nouveau la réduction du temps d'extraction ainsi qu'une quantité d'essence similaire à celle obtenue par entraînement à la vapeur [37].

- 2 - l'hydrodistillation par micro-ondes sous vide ou « VMHD : Vacuum Microwaves Hydrodistillation ».** Ce type d'extraction s'effectue sans ajout de solvant dans le milieu (eau ou autre). Il consiste à extraire des composés aromatiques d'une matière végétale par irradiations micro-ondes accompagnées de réduction séquentielle de la pression du milieu. Cette réduction de pression permet d'obtenir un rendement d'extraction équivalent à celui d'une hydrodistillation classique avec une durée d'extraction dix (10) fois plus faible [40].
- 3 - l'entraînement à l'air assisté par micro-ondes.** Craveiro et al. [41] développèrent en 1989 une technique originale d'extraction par micro-ondes sans solvant en utilisant un compresseur à air. L'huile essentielle de *Lippia sidoides* extraite en cinq (5) min était similaire à celle obtenue en 90 min par entraînement à la vapeur.
- 4 - la distillation sèche assistée par micro-ondes ou « DSAM ».** Cette nouvelle technique a été développée et brevetée au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA) de l'Université de la Réunion (France) [42]. Le concept de l'extraction est similaire à celui d'une hydrodistillation. Cependant, le chauffage du matériel végétal frais (sans ajout de solvant : eau ou autre) a lieu dans un four à micro-ondes.

Le chauffage de l'eau interne de la plante permet la rupture des glandes sécrétrices d'huile essentielle. Celle-ci, libérée, est ensuite entraînée par la vapeur d'eau in situ de la plante. Un système réfrigérant, à l'extérieur du four micro-ondes, assure une double fonction :

- la condensation du distillat (composé d'eau et d'huile essentielle) de façon continue.
- le retour de l'excès d'eau à l'intérieur du ballon afin de préserver le taux d'humidité propre au matériel végétal.

Les extraits, après 30 min seulement à l'aide de cette technique, sont identiques à ceux obtenus après 4 à 5 heures d'hydrodistillation avec une composition chimique identique mais avec des proportions différentes [43,44].

- 5 - l'hydrodistillation assistée par micro-ondes.** Cette technique est similaire à la MAE en prenant l'eau comme solvant mais en petite quantité contrairement à l'hydrodistillation classique qui nécessite une grande quantité d'eau. Elle a été mise au point par Stashenko et al. [45]. Parmi ses avantages, on peut citer la rapidité et la similitude de la composition de l'huile par rapport à celle de l'hydrodistillation classique.

## **VI - LIMITES ET INCONVENIENTS DES PROCÉDES TRADITIONNELS**

Les procédés traditionnels présentent incontestablement des limites et des inconvénients. Chaque procédé est réservé à un type d'extraction particulier et présente des limites que l'utilisateur devra considérer afin de pouvoir prendre les mesures nécessaires à l'extraction d'une essence suffisamment représentative de la matrice naturelle.

### **VI. 1 - Entraînement à la vapeur d'eau et hydrodistillation**

Du fait que la durée de chauffe de ces deux procédés soit longue (3 à 4 heures en moyenne), des réactions chimiques peuvent se produire entre les composants organiques natifs du végétal et l'eau donnant lieu ainsi à des artefacts qui modifient sensiblement l'odeur et la composition de l'essence originelle.

Des travaux réalisés par Morin et al. [46] ont montré que pour minimiser ces artefacts, il faut diminuer au maximum la durée de l'extraction.

### **VI. 2 - Extraction par solvants organiques volatils**

Tout en gardant le même procédé d'extraction, seule la nature du solvant (polaire, moyennement polaire ou apolaire) influe sur la composition de l'essence. Le solvant choisi doit avoir un grand pouvoir de solubilisation des molécules de l'extrait sans, toutefois, avoir une action destructrice et solubilisatrice de la matière première. Il doit également avoir une bonne sélectivité et une bonne pénétration des cellules du tissu végétal. Les facteurs rendement et concentration maximale des composés odorants sont généralement recherchés. Le solvant retenu doit être inerte avec la matière du système d'extraction ou de l'appareillage. L'utilisateur du solvant doit prendre en considération le degré de toxicité de ce dernier car il est quasiment impossible d'éliminer la totalité du solvant. Au mieux, il reste à l'état de trace dans l'extrait final.

## **VII - INTERETS DES TECHNIQUES INNOVANTES**

Les procédés d'extraction classiques des huiles essentielles exploités à l'échelle industrielle présentent des inconvénients liés principalement à la qualité des extraits obtenus, au coût du procédé et aux temps d'extraction relativement importants.

Les techniques d'extraction innovantes (irradiation aux micro-ondes, ondes ultrasonores, fluides supercritiques et détente instantanée contrôlée) offrent, à

partir de végétaux frais ou partiellement déshydratés, de nouvelles possibilités d'amélioration de la qualité du produit extrait avec des coûts de production réduits par rapport aux techniques classiques.

Depuis la mise en place de ces nouvelles technologies, les paramètres temps d'extraction et qualité de l'huile essentielle extraite ont été incontestablement valorisés avec un gain d'énergie.

Les analyses au microscope électronique à balayage (Scanning Electronic Microscopy SEM) des feuilles de romarin et de la menthe poivrée ont révélé la rupture d'un grand nombre de glandes sécrétrices d'où augmentation du rendement d'extraction comparativement à l'extraction par solvant où les glandes sont juste endommagées et où aucune rupture n'est notée [47,48].

## VIII - CONCLUSION

Suite aux résultats néfastes dûs aux produits synthétisés chimiquement à des fins thérapeutiques, cosmétiques ou agroalimentaires dans les laboratoires, l'avènement des technologies innovantes sus-citées ouvre des perspectives nouvelles dans le vaste domaine de la chimie extractive.

Pour une meilleure hygiène et santé, l'Homme revient vers les produits naturels et œuvre pour leur développement et pour l'extraction harmonieuse des essences des plantes conformément à une normalisation de plus en plus contraignante et exigeante.

Dans le contexte actuel de la mondialisation et de la banalisation des produits de recherche ainsi que de la vitesse imprimée à la vulgarisation aux nouvelles technologies et aux innovations qui les accompagnent, la notion « produire » n'est plus le maître mot. Produire est devenu l'action banale et quotidienne que tout le monde sait accomplir. Il ne s'agit plus simplement de produire, mais de fabriquer à moindre coût des produits de qualité. Il faut donc mettre sur le marché des produits compétitifs. Pour rester rentable et offrir des prix compétitifs, il faut maîtriser la qualité du produit.

La rentabilité des huiles essentielles, composées principalement de molécules volatiles de différentes familles (hydrocarbures terpéniques, alcools, cétones, esters, etc....) est intimement liée au mode d'extraction. L'opération d'extraction est une opération capitale car elle détermine la qualité finale du produit.

Dans le cas des produits naturels (dont les huiles essentielles), les dernières technologies ont permis l'élaboration de techniques d'extraction innovantes mettant en jeu les micro-ondes, les ultrasons, les fluides supercritiques et la détente instantanée contrôlée et qui concourent toutes vers l'amélioration de la qualité du produit.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- [1] - E. Bocchio, *Parfums, Cosmétiques, Arômes*, 63, 61-62, 1985.
- [2] - J. F. Clevenger, *Amer. Parfum. Essent.l Oil Rev.*, October, 467-503, 1928.
- [3] - F. Perineau, A. Ziouani, M. Delmas, A. Gaset, G. Levy, *Parfums, Cosmétiques, Arômes*, 90, 1990.
- [4] - J. Chane-Ming, *Thèse de Doctorat, Université de la Réunion, France*, 1998.
- [5] - M. C. Martini, M. Sellier, *Edition TEC & DOC*, 579, (Lavoisier), 1999.
- [6] - G. B. Nickerson, S. T. Lickens, *J. Chromatogr.*, 21, 1-3, 1966.
- [7] - F. Peng, L. Sheng, B. Liu, H. Tong, S. Liu, *J. Chromatogr. A*, 1040, 1-17, 2004.
- [8] - J. L. Luque-Garcia, M. D. Luque de Castro, *Talanta*, 64, 571-577, 2004.
- [9] - J. L. Luque-Garcia, M. D. Luque de Castro, *J. Chromatogr. A*, 1034, 237-242, 2004.
- [10] - C. Bicchi, *Flav. Fragr. J.*, 3, (4), 143, 1988.
- [11] - T. Talou, M. Delmas, A. Gaset, *J. Agric. Food Chem.*, 35, 774, 1987.
- [12] - R. Berlardi, J. Pawliszyn, *Water Poll. Res. J. Canada*, 24, 179-185, 1989.
- [13] - C. Boutekedjiret, *Thèse de Doctorat d'Etat, Ecole Nationale Polytechnique. Département de Génie Chimique*, 1999.
- [14] - V. Boishebert, M. Montury, *J. Agric. Food Chem.*, 52, 2472-2478, 2004.
- [15] - V. Boishebert, M. Montury, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 80, 13-23, 2006.
- [16] - T. L. Chester, J. D. Pinkston, D. E. Rayne, *Anal. Chem.*, 66, 106-130, 1994.
- [17] - E. Reverchon, *J. Supercritical fluids*, 10, 1-37, 1997.
- [18] - K. Allaf, N. Louka, M. Parent, M. Forget, *Brevet Français N° 9309726*, 1993.
- [19] - A. Rezzoug, M. W. Baghdadi, N. Louga, C. Boutekedjiret, K. Allaf, *Flav. Fragr. J.*, 13, 251-258, 1998.

- [20] - M. Salisova, S. Toma, T.J. Mason, *Ultrasonics Sonochemistry*, 4, 131-134, 1997.
- [21] - V. Lopez-Avila, R. Young, N. Teplitsky, *J. AOAC Intern.*, 79 (1), 142-156, 1996.
- [22] - S. Chemat, Thèse de Doctorat en Sciences, Faculté de Chimie, USTHB, Alger 2005.
- [23] - K. Ganzler, A. Salgo, K. J. Valko, *J. Chromatogr.*, 371, 229-306, 1986.
- [24] - D. Lane, S. W. D. Jenkins, 437-449, 1986.
- [25] - Federal communications commission, Rules and Regulations, Vol. 2, Part. 2, 7-84, Washington D.C., 1972.
- [26] - A. Gourdenne, A. H. Maassarani, P. Mouchaux et S. Anssurde *Polym. prepr.*, 20, 471, 1979.
- [27] - H. M. Kingston et L. B. Jassie, Ed *Amer. Chem. Soc.*, Washington, 1988.
- [28] - J. Thuéry, « Technique et Documentation », Lavoisier, Paris, 1989.
- [29] - S. Lefeuvre, « Cours de formation continue », Institut National Polytechnique (INP) de Lorraine, Nancy, 1989.
- [30] - E. Argence, Th. Kahan, Dunod, 1964.
- [31] - S. Lefeuvre, « Hyperfréquences », Dunod, 1969.
- [32] - R. V. Decaream, R. A. Peterson, Ed. VCH, Chichester, 1986.
- [33] - K. Cann-Pailler, Thèse de l'INP Toulouse, Spécialité Génie des Procédés, 1991.
- [34] - R. Laurent, Thèse de l'université Paul Sabatier, Toulouse, Spécialité Chimie Moléculaire, 1994.
- [35] - Micro-ondes et Hautes fréquences, Vol. 1, cours, Congrès International, Nice, 9-571, 1991.
- [36] - R. J. Giguere, Ed. T. Hudlicky *J. A. I. Press*, London, 1, 153-172, 1989.

- [37] - J. R. J. Pare, M. Sigomin, J. Lapointe, Brevet Européen, EP 398798, 1990.
- [38] - A. Guathier, Les applications de l'électricité dans l'industrie, Lavoisier Tec & Doc, 1998.
- [39] - A. J. Berteaud, M. Delmotte, La Recherche, 24, N° 252, 286-294, 1993.
- [40] - P. Mengal, D. Behn, M. Bellido Gil, B. Monpon, Parfums, Cosmétiques, Arômes, 114, 66-67, 1993.
- [41] - A. A. Craveiro, F. J. A. Matos, J. W. Alencar, M. M. Plumel, Flav. Fragr. J., 4, 43-44, 1989.
- [42] - F. Chemat, J. Smadja, M. E. Lucchesi, Brevet Européen, EP 1 439 218 A1, 2004.
- [43] - M. E. Lucchesi, F. Chemat, J. Smadja, J. Chromatogr. A, 1043, 323-327, 2004.
- [44] - M. E. Lucchesi, F. Chemat, J. Smadja, Flav. Fragr. J., 19, 134-138, 2004.
- [45] - E. E. Stashenko, B. E. Jaramillo, J. R. Martinez, J. Chromatogr. A, 1025, 93-103, 2004.
- [46] - P. Morin, H. Richard. Elsevier Sciences Publishers B. V., 563-576, Amsterdam, 1985.
- [47] - M. Spiro, S. S. Chen, Flav. Fragr. J., 10, 259-272, 1995.
- [48] - S. S. Chen, M. Spiro, Flav. Fragr. J., 10, 101-112, 1995.

# ***1ère Partie***

***Rosmarinus officinalis L.***

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

---

### I - INTRODUCTION

Le Romarin est une plante qui pousse spontanément dans toute la région méditerranéenne. Elle est médicinale, condimentaire, aromatique et dégage une odeur agréable.

Le Romarin tire son nom du latin « *rosmarinus* » qui vient de « ros » signifiant rosée, soit parce qu'il reçoit la rosée du matin, soit parce qu'une légère poussière blanche telle une fine rosée saupoudre ses feuilles et de « marinus », autrement dit, proche de la mer. Il a d'autres noms vernaculaires tels que : Ros marine, Encensier, Herbe aux couronnes, et Herbe des troubadours. Il est utilisé dans les événements religieux et culturels dès l'Ancienne Egypte (an 5000 avant J.-C.). Les Egyptiens, les Grecs et les Romains lui confèrent la connotation symbolique de l'immortalité.

Vers les X<sup>ème</sup> et XI<sup>ème</sup> siècles, le Romarin éloignerait encore les mauvais esprits et rêves lorsque l'on en dispose un rameau sous l'oreiller. Il prend aussi place dans les cuisines en raison de ses propriétés condimentaires. Grâce aux vertus aromatisantes de son huile essentielle, il se fait connaître auprès des dames de l'époque.

Enfin, c'est vers le début du XIX<sup>ème</sup> siècle que les chercheurs se penchent sur les utilisations médicinales ancestrales de la plante aromatique. Les propriétés thérapeutiques suscitent beaucoup d'intérêt. Sa forte teneur en bornéol lui confère des propriétés antiseptiques et fait de lui un bactéricide recherché en conserverie.

De nombreuses études chimiques et pharmacologiques sont initiées. Une meilleure connaissance des substances du Romarin a, certes, un intérêt médical, pharmacologique, cosmétologique et agroalimentaire important, mais de plus, elle permettra de développer les sélections variétales et les conditions de culture, d'améliorer les méthodes d'extraction et de purification des extraits. L'objectif final est d'obtenir des extraits de plus en plus riches en principes actifs et de formulation standardisée, afin que le Romarin poursuive le développement industriel qu'il a connu.

## II - DESCRIPTION BOTANIQUE

Le *Romarin* appartient à la famille des Lamiacées, l'une des plus importantes de la flore d'Algérie et à la classe des Dicotylédones [1].

La classification complète du genre *Rosmarinus Linnaeus* n'a été terminée définitivement qu'au début du XXème siècle. Trois espèces ont été décrites [2,3] :

1. *Rosmarinus officinalis*. L : la plus populaire de part le monde.
2. *Rosmarinus eriocalyx* ou *Tournefortii* : espèce endémique algérienne très abondante à Djelfa (Senalba) et dans la région de l'Oranie (Ouest).
3. *Rosmarinus tomentosus* : localisée en Espagne.



Il est l'ornement des collines et des montagnes basses calcaires, argileuses ou argileuses limoneuses (de 500 à 1000 m d'altitude) [1,4,5]. Il forme une des plus belles parures avec la lavande des garrigues du littoral méditerranéen. On le rencontre abondamment dans tous les pays sauf l'Égypte, le Liban et Chypre où il est plus rare [6-9].

Il est souvent présent aux alentours des aires peuplées de pins d'Alep, de sauge, de myrte et de thym. Dans toutes les régions favorables à l'espèce, les conditions hivernales sont clémentes et les précipitations neigeuses sont rares et peu abondantes. Le *Romarin* est un héliophyte, il colonise essentiellement les emplacements bien ensoleillés et où la durée d'insolation est grande.

Il ressort que les régions où prospère le *Romarin* présentent en commun un hiver doux, une sécheresse estivale accusée, un ensoleillement important. En Algérie, le *Romarin* est l'une des sept (07) espèces végétales rencontrées sur une superficie excédent 50 000 hectares du territoire national [10].

Des trois (03) espèces citées précédemment, *Rosmarinus officinalis* L. a bénéficié du plus grand nombre de travaux d'éminents chercheurs pour son abondance et sa disponibilité.

### **Morphologie de *Rosmarinus officinalis* L.**

Le Romarin est un sous arbrisseau vivace pouvant atteindre 2 mètres de hauteur, mais à l'état sauvage il est souvent d'un mètre. Cette plante possède une odeur caractéristique qui rappelle celle de l'encens et une saveur fortement aromatique. La tige, très ramifiée, est ligneuse et noueuse.



*Feuilles de Romarin*

Elle porte des feuilles coriaces, persistantes, opposées, linéaires, subulées, sessiles et enroulées sur les bords qui mesurent 2 à 3 cm de long sur 1 à 3 mm de large. Elles sont dures et cassantes. La face supérieure est verdâtre, la face inférieure est plus ou moins hispide et blanchâtre. Elle est parcourue par une nervure saillante

Les fleurs sont disposées vers le sommet des rameaux en courtes grappes axillaires et terminales. Leurs bractées, lancéolées et velues, sont plus courtes que les fleurs.

Rarement blanches, ponctuées intérieurement de petites taches violettes, les fleurs sont de couleur bleu pâle. Elles donnent naissance à un fruit composé de quatre petits akènes (tétrakène), luisant et brun foncé. Le calice est gamosépale, bilabié en forme de cloche, pubescent. Il possède seulement 3 lobes. Le plus long constitue la lèvre supérieure entière, striée en forme de voûte, les deux autres lobes forment la lèvre inférieure. La corolle est gamopétale, longuement tubuleuse sur 2cm. Elle présente une lèvre supérieure en forme de casque à deux lobes redressés latéralement obtus.

### III - L'HUILE ESSENTIELLE DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* L.

L'essence d'une plante est un mélange complexe de composés chimiques naturels très variés tels que des composés volatils et d'autres plus polaires. Ces substances sont sécrétées par des organes producteurs tels que les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, l'écorce ou encore les racines. Par divers procédés d'extraction, l'homme extrait la fraction volatile et odorante de l'essence de ces organes. Le mélange recueilli, non miscible à l'eau, est appelé « huile essentielle ».

#### III – 1 Edifices cellulaires sécréteurs

Chez *Rosmarinus officinalis* L., l'épiderme inférieur des feuilles, la face externe du calice et la surface externe basale de la corolle des fleurs sont équipés en edifices cellulaires spécialisés dans la sécrétion d'essences.

Quatre sortes d'édifices sécréteurs sont observées :

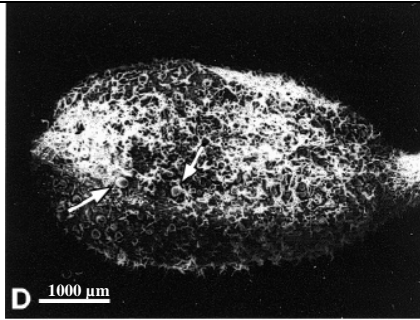
- **Type 1** : les poils glanduleux octocellulaires constitués d'une cellule basale encrée dans l'épiderme des organes, d'une seule cellule porteuse, et d'une large tête sécrétrice à huit cellules disposées en rosace. Ces cellules sécrètent les substances sous la cuticule les protégeant. Les sécrétions sont excrétées dans le milieu extérieur par rupture de la cuticule sous l'effet de fortes températures, d'humidité atmosphérique basse, d'agressions mécaniques causées par des prédateurs, l'homme (passages, pratiques culturelles) ou par des éléments atmosphériques (vents forts, précipitations brutales).
- **Type 2** : les poils glanduleux unicellulaires et à pied long. Ils sont composés d'une cellule basale épidermique, de deux à trois cellules constituant le « pied », qui porte au bout une cellule sécrétrice. Le mode de sécrétion et d'excrétion des essences se fait de la même manière que précédemment.
- **Type 3** : les poils glanduleux à tête unicellulaire et à pied court. Ils sont constitués d'une cellule basale dans la couche cellulaire épidermique, d'une cellule porteuse et d'une cellule sécrétrice. Le mode de sécrétion et d'excrétion des composés chimiques est identique aux cas précédents.
- **Type 4** : les poils glanduleux à tête unicellulaire et à pied court. La cellule sécrétrice est portée par une ou deux cellules; sa cuticule est très mince. Mais la particularité de ce type réside en son mode d'excrétion des substances sécrétées. Durant l'activité de sécrétion, les substances produites sont libérées par un pore situé au-dessus de la cellule productrice sous l'effet de la déformation de la tête sécrétrice quand elle se remplit.

La surface abaxiale des feuilles de Romarin est tapissée de poils tecteurs simples et ramifiés, témoignant de l'adaptation de la plante à la sécheresse. Parmi eux sont parsemés des poils sécréteurs de type 1 et de type 2 cités précédemment.

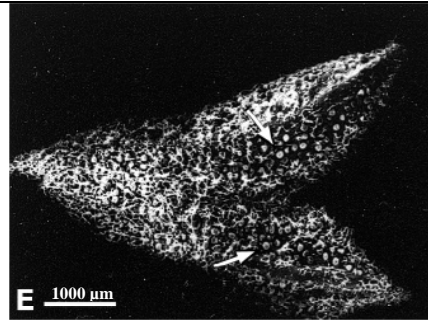
Sur la surface externe du calice des fleurs, en plus de poils tecteurs simples, nous retrouvons des poils glanduleux de type 1, mais aussi de type 3 nombreux, et de type 4 en nombre bien moindre. Les poils de type 4 sont préférentiellement implantés au niveau des nervures du calice, tandis que ceux de type 3 sont remarqués à la fois sur et entre ces axes vasculaires. Les poils glanduleux octocellulaires sont aussi en nombre supérieur sur la surface interne du calice. Tous ces poils glanduleux sont présents durant toutes les étapes de développement du calice, du bourgeon à la mort de la fleur.

Seuls quelques poils sécréteurs octocellulaires, situés à la base et cachés par les pétales recourbés lorsque la fleur éclot, sont présents sur la surface externe de la corolle de la fleur.

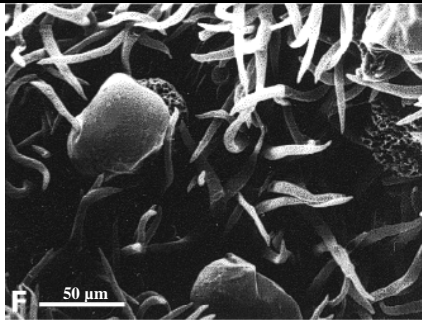
1. Bourgeon floral mature couvert de poils tecteurs et de poils glanduleux de type 1 (flèches).



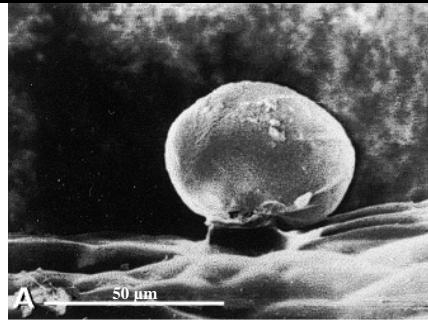
2. Ecllosion du bourgeon floral : nombreux poils glanduleux de type 1 sur l'épiderme interne du calice (flèches).



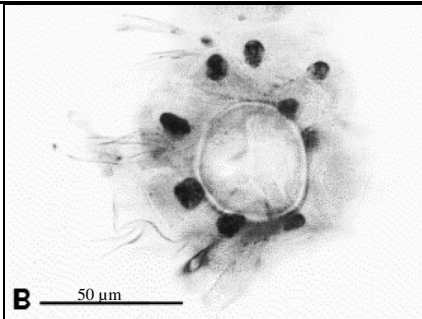
3. Couverture dense de poils tecteurs simples. Présence de deux poils octocellulaires.



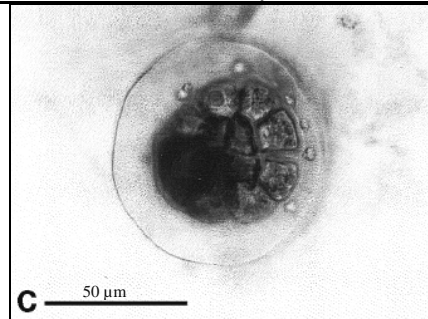
4. Poil sécréteur octocellulaire vu de profil.



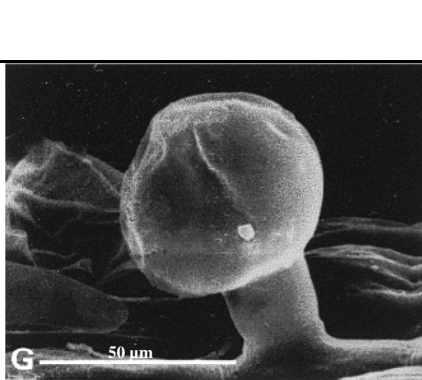
5. Poil sécréteur octocellulaire en vue de dessus : observation des huit cellules de la tête sécrétrice.



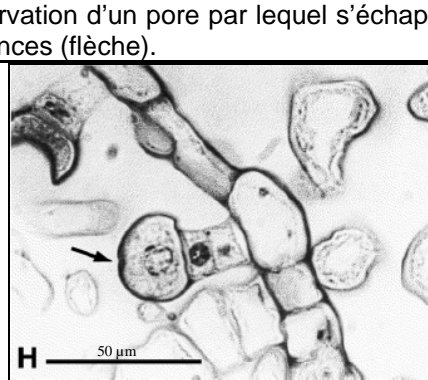
6. Poil sécréteur octocellulaire en vue de dessus : observation de la tête sécrétrice entourée de la poche sous-cuticulaire remplie de substances.



7. Poil sécréteur unicellulaire de type I, sans pore.



8. Poil sécréteur unicellulaire de type II : observation d'un pore par lequel s'échappent les essences (flèche).



Planches 1 à 8 : Observations des expansions épidermiques du calice de *Rosmarinus officinalis* L. par microscopie électronique, à balayage

### III - 2. Contrôle de qualité de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.

De nombreux paramètres peuvent affecter la qualité d'une huile essentielle et son rendement : les techniques, le temps d'extraction, les parties végétales utilisées, et l'âge de la plante. En général, la production d'huile essentielle de Romarin est optimale lorsqu'on distille uniquement les feuilles, juvéniles préalablement séchées. Le temps d'extraction ne doit pas excéder 4 heures afin d'éviter l'enrichissement du distillat en sesquiterpènes, composés qui altèrent les qualités olfactives de l'essence très appréciées des parfumeurs dans certaines circonstances. Les huiles essentielles sont sensibles à la lumière lors de leur conservation.

Les falsifications d'huile essentielle de Romarin sont peu fréquentes. Il s'agit souvent d'additions d'alcool ou d'essence de térébenthine. Néanmoins, afin de permettre un contrôle de qualité des huiles essentielles de Romarin avant leur mise sur le marché des critères ont été définis. Ainsi en 1973, l'Organisation Internationale de Normalisation décrit la norme française homologuée NFT 75-214 pour l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. obtenue par hydrodistillation de rameaux et de sommités fleuries cultivées en France, en Afrique du Nord, en Espagne et au Portugal. Cette norme définit les caractéristiques organoleptiques, physiques et chimiques, que nous énumérons ci-dessous :

Caractéristiques organoleptiques		
Aspect	Couleur	Odeur
Liquide, mobile, limpide.	Presque incolore à jaune pâle.	Agreste, avec une note plus ou moins camphrée selon la provenance.

Caractéristiques Chimiques	Régions d'origine			
	France	Afrique du Nord	Espagne	Portugal
<b>Indice d'acide maximal</b>	1			
<b>Indice d'ester</b>				
Minimal	2			2
Maximal	20			10
<b>Indice d'ester après acétylation</b>				
Minimal	43	43	43	19
Maximal	76	72	65	56
<b>Réaction avec HCl</b>	Noircissement			
<b>Réaction avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Coloration jaune orange trouble			
<b>Réaction avec l'iode</b>	Augmentation de température accompagnée d'un mouvement tumultueux avec dégagement de vapeurs rougeâtres.			

Caractéristiques Physiques	Régions d'origine			
	France	Afrique du Nord	Espagne	Portugal
<b>Densité relative à 20/20°C</b>				
Minimale	0,895	0,908	0,895	0,860
Maximale	0,916	0,920	0,905	0,880
<b>Indice de réfraction à 20°C</b>				
Minimal	1,467	1,467	1,467	1,466
Maximal	1,474	1,474	1,474	1,475
<b>Dérivation polarimétrique à 20°C</b>	Comprise entre - 1° et + 16°	Comprise entre - 1° et + 6°	Comprise entre - 3° et + 10°	Comprise entre + 4° et + 25°
<b>Miscibilité à l'éthanol à 80 % (v/v) à 20°C</b>	Miscible dans moins de 10 volumes	Miscible dans 1 volume et plus	Miscible dans moins de 10 volumes	
	En continuant l'addition de solvant, une opalescence peut apparaître.			
<b>Pouvoir rotatoire</b>	varie de - 8° à + 25°			
	Fortement dextrogyre		Faiblement lévogyre	
<b>Miscibilité à l'éthanol à 90 % (v/v) à 20°C</b>				Miscible dans moins de 1 volume
<b>Température d'ébullition</b>	Environ 160°C			

**Remarque :** le pouvoir rotatoire dépend de la présence de l' $\alpha$ -pinène, du camphène, du camphre et du 1,8-cinéole. On a observé qu'une augmentation en teneur du 1,8-cinéole diminue le pouvoir rotatoire.

Une analyse chromatographique supplémentaire sur couche mince en présence de vanilline sulfurique peut être aussi menée pour authentifier une huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. En effet, une composition chimique qualitative suffisamment stable pourrait servir de critère de qualité. Nous décrivons cette composition chimique dans le paragraphe suivant.

### III - 3 - Composition chimique

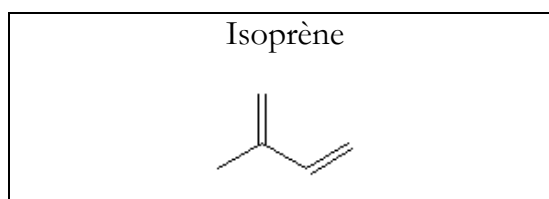
Beaucoup de résultats analytiques sur l'huile essentielle de Romarin ont été publiés dans la littérature spécialisée dès la deuxième moitié du XIX<sup>e</sup> siècle [78]. Voici la teneur, par famille, de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. pouvant être déduite de ces travaux épars.

	Nombre de composés	Teneur (%)
Composés aliphatiques	10 – 20	0,5 – 1
Hydrocarbures monoterpéniques	20 – 25	40 – 55
1,8-cinéole (Ether oxyde)	1	20 – 50
Alcools monoterpéniques	5 – 10	5 – 10
Esters monoterpéniques	2 – 5	2 – 12
Monoterpènes carbonylés	5 – 10	5 – 20
Hydrocarbures sesquiterpéniques	15 – 20	2 – 6
Composés benzéniques	5 – 10	0,5 – 1
Composés sous forme de traces	5 – 10	0,5

En plus du 1,8-cinéole (éther oxyde), les principaux groupes de composés volatils de l'huile essentielle sont l'ensemble des composés monoterpéniques, les hydrocarbures sesquiterpéniques et quelques dérivés benzéniques.

### III - 3.1 - Les composés monoterpéniques

Ces molécules terpéniques en C<sub>10</sub>, dérivées de l'acétyl coenzyme A, sont constituées de deux unités d'isoprène :



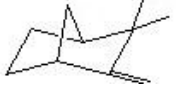
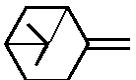
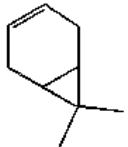
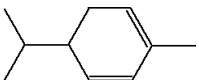
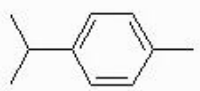
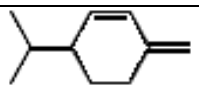
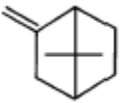
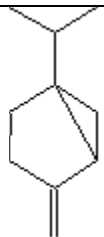
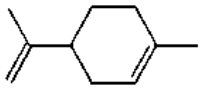
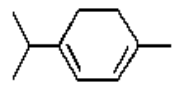
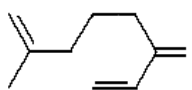
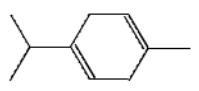
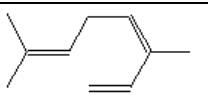
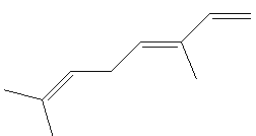
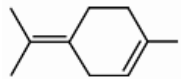
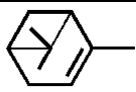
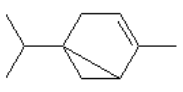
Elles sont apparues tardivement au cours de l'évolution de la plante et sont liées essentiellement à la présence d'appareils sécréteurs chez les plantes vasculaires. Leur formation est favorisée par les climats secs et ensoleillés.

Ce sont les composés majoritaires des huiles essentielles du fait de leur caractère lipidique et hautement volatil. La plupart d'entre eux possèdent une propriété odorante souvent plaisante.

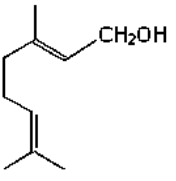
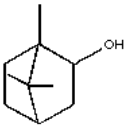
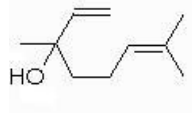
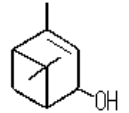
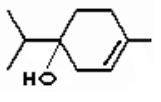
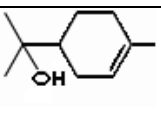
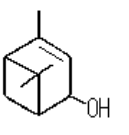
Les monoterpènes ont des fonctions écologiques importantes :

- Senteurs des fleurs pour l'attraction des insectes pollinisateurs et disséminateurs de pollen,
- Senteurs des parties chlorophylliennes pour la répulsion des insectes et des animaux prédateurs,
- Certaines molécules sont potentiellement toxiques ou irritantes et contribuent donc également à protéger la plante contre les prédateurs, insectes ou animaux.

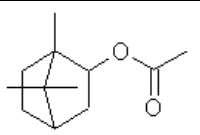
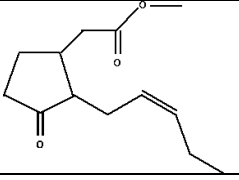
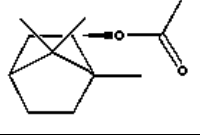
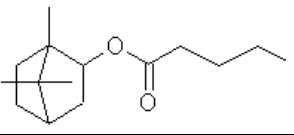
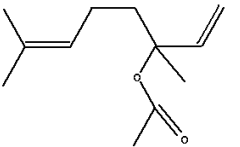
L'huile essentielle de Romarin est constituée de plusieurs groupes différents de composés monoterpéniques. Les tableaux suivants citent les monoterpènes les plus connus et identifiés à ce jour dans l'essence de *Rosmarinus officinalis* L.


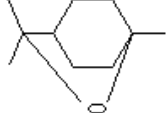
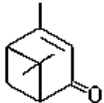
Les hydrocarbures monoterpéniques du Romarin			
Noms	Structures chimiques	Noms	Structures chimiques
Camphène		$\beta$ -pinène	
$\delta$ -3-carène		$\alpha$ -phellandrène	
p-cymène		$\beta$ -phellandrène	
$\alpha$ -fenchène		Sabinène	
Limonène		$\alpha$ -terpinène	
$\alpha$ -myrcène		$\gamma$ -terpinène	
$\beta$ -ocimène	  cis trans	$\delta$ -terpinène	
$\alpha$ -pinène		$\alpha$ -thujène	

### Les alcools monoterpéniques du Romarin

		Noms	Structures chimiques			Noms	Structures chimiques
<b>ACYCLIQUES</b>		Géraniol		<b>BICYCLIQUES</b>		Bornéol	
		Linalol				Verbéol	
<b>MONOCYCLIQUES</b>		Terpinèn-4-ol					
		α-Terpinéol					
		Verbéol					

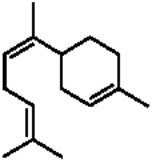
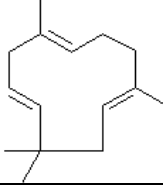
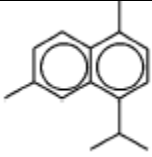
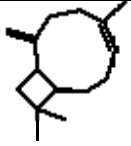
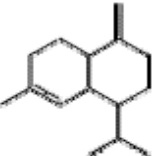
### Les esters monoterpéniques du Romarin

Noms	Structures chimiques	Noms	Structures chimiques
Acétate de bornyle		Jasmonite de méthyle	
Acétate d'isobornyle		Valérianate de bornyle	
Acétate de linalyle			

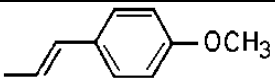

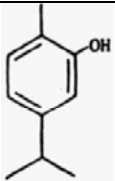
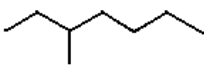
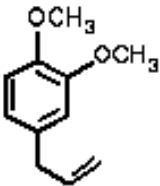

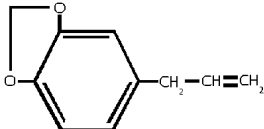
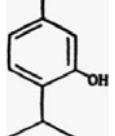
Les monoterpènes carbonyles du Romarin		Le seul étheroxyde monoterpénique du romarin	
Noms	Structures chimiques	Nom	Structure chimique
Camphre		1,8-cinéole (dit aussi eucalyptol)	
Verbénone			

### III - 3.2 - Les Sesquiterpènes

Comme les monoterpènes, ils appartiennent au groupe des terpènes et se composent de trois unités isopréniques ( $C_{15}$ ). Ils sont formés par cyclisation du Farnésyl-pyrophosphate. Leurs fonctions biologiques et écologiques sont variées et rejoignent celles des monoterpènes.

Les sesquiterpènes de l'huile essentielle du Romarin			
Noms	Structures chimiques	Noms	Structures chimiques
cis- $\alpha$ -bisabolène		$\alpha$ -caryophyllène	
Cadalène		$\beta$ -caryophyllène	
$\gamma$ -cadinène			

### III - 3.3 - Autres composants de l'huile essentielle de romarin

Les dérivés benzéniques de l'huile essentielle de Romarin		Dérivés aliphatiques de bas poids moléculaire (teneur < 0,5 %)	
Noms	Structures chimiques	Noms	Structures chimiques
Anéthole		Octan-3-one	
Carvacrol		3-méthyl heptane	
Méthyl eugénol		2-méthyl propène (isobutène)	
Safrole			
Thymol			

## IV - ETUDE RETROSPECTIVE DES TRAVAUX ANTERIEURS

Le Romarin, plante médicinale et aromatique, a été cité depuis le moyen âge par des praticiens arabes et grecs du bassin méditerranéen qui l'utilisaient en médecine traditionnelle [11]. Cependant, l'identification de la composition chimique des extraits de Romarin n'est réalisée qu'avec l'avènement des méthodes d'analyse telles que la chromatographie en phase gazeuse qui a connu le jour dans les années 1950.

C. Boutekedjiret [12] relève qu'en 1953 S. Balansard a mis en évidence dans l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. plusieurs acides organiques (glycolique, citrique et glycérique) et des hydrocarbures sesquiterpéniques comme le caryophyllène et l'humulène. Par ailleurs, Pourrat [13] isola l'acide ursolique contenu dans les feuilles sèches de *Rosmarinus officinalis* L.

En 1958, Semrau [14], identifia deux flavonoides de *Rosmarinus officinalis* L. : la diosmétrine et la lutéoline, tandis que Scarpati et al. [15] isolèrent l'acide rosmarinique.

Dans la période 1962-1964, Brieskorn et al. [16,17] isolèrent l'acide carnosolique et le carnosol à partir des sommités fleuries de *Rosmarinus officinalis* L.

Plus tard, entre 1967 et 1969, Brieskorn et al. [18,19] isolèrent des flavonoides tels que la 5-hydroxy-4,7-diméthylflavone. A la même période, Sendra et al. [20] isolèrent l'apigénine et la lutéoline.

En 1970, Granger et al. [21] identifiaient l' $\alpha$ -pinène et la verbénone. Ils déduisirent que la verbénone a une structure dérivée du pinane. Elle est obtenue par oxydation de l' (+)  $\alpha$ -pinène.

En 1971, Brieskorn et al. [22] mirent en évidence des acides gras hydroxylés contenus dans la membrane cuticulaire de *Rosmarinus officinalis* L. Par ailleurs, des compositions chimiques d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. furent publiées [23,24].

En 1972, Skrubis et al. [25] étudièrent l'huile essentielle du Romarin de Grèce. Elle contenait 51% de 1,8 cinéole, 10% d' $\alpha$ -pinène et 5% de camphre – bornéol. A la même période, Rasmussen et al. [26] isolèrent un grand nombre de composés parmi lesquels nous comptons le camphre, l'acétate de bornyle, l' $\alpha$ -terpinéol, le  $\gamma$ -terpinéol, le  $\gamma$ -terpinène, le terpinène-4-ol, le bornéol et la verbénone. Par ailleurs, Cabo Torres et al. [27] identifiaient les  $\alpha$  et  $\beta$ -pinènes, le camphre, le limonène, le linalol et le 1,8-cinéole.

En 1977, Devetak [28] publia les compositions chimiques des huiles essentielles de Romarin provenant de Yougoslavie et de Bulgarie. Les composés majoritaires étaient le 1,8 cinéole, l' $\alpha$ -pinène, le camphène, le camphre, le  $\gamma$ -terpinène et le terpinolène.

En 1980, Hartmann [11] identifia le géraniol, et le myrcène dans l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. L, tandis que Cardoso DoVale [29] publia la composition chimique du Romarin portugais qui était à 30% de myrcène, 25% d' $\alpha$ -pinène.

En 1984, Verotta et al [30] identifiaient des acides phénoliques par chromatographie en phase liquide.

En 1986, Da Cunha et al. [31] étudièrent la composition chimique du Romarin portugais au cours du cycle végétatif et remarquèrent une influence sur la composition des constituants majoritaires de l'huile. La teneur de myrcène qui était de 40% avant floraison devint 25% après floraison. A la même période, Farag et al. [32] étudièrent la composition chimique du Romarin égyptien. Elle était de 36% en  $\alpha$ -pinène et de 11% en camphène et en p-cymène. De leur côté, Tucker et al. [33] publièrent des listes exhaustives des compositions chimiques de 24 peuplements de Romarin des Etats-Unis d'Amérique.

En 1987, Hethelyi et al. [34] publièrent les compositions chimiques des huiles essentielles de Romarin provenant de Yougoslavie et de Hongrie. Les composés majoritaires étaient le 1,8-cinéole, le camphre et l' $\alpha$ -pinène. Parallèlement, Steinmetz et al. [35] étudièrent l'influence du 1,8-cinéole et du camphre de l'huile essentielle de Romarin sur le système nerveux central du rat. Par ailleurs, Rosua et al. [3] menèrent une étude comparative des trois espèces de *Rosmarinus* : *officinalis*, *ericalyx* et *tomentosus* provenant d'Espagne. Ils trouvèrent que les composés majoritaires étaient communs aux trois espèces avec une concentration en  $\alpha$ -pinène beaucoup plus élevée pour *Rosmarinus officinalis* (70%) alors qu'elle était de l'ordre de 50% dans les deux autres espèces.

En 1989, Fournier et al. [36] publièrent la composition chimique de *Rosmarinus officinalis* L. provenant de Tunisie. Elle était à plus de 50% en 1,8-cinéole.

En 1991, Boukhalfa [37] étudia l'apport des couplages chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse et chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie infra-rouge à transformée de Fourier dans l'analyse des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de différentes régions d'Algérie.

En 1992, Flamini et al. [38] firent une étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. au cours du cycle végétatif et en fonction de la coloration de la fleur. A la même période, Svoboda et al. [39] évaluèrent les propriétés antioxydantes de l'huile essentielle du Romarin anglais.

En 1997, Arnold et al. [40] comparèrent les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. d'Espagne et d'Italie à celles de *Rosmarinus ericalyx* Jordan et Fourr d'Algérie. Les différentes huiles contenaient les mêmes composés à des teneurs différentes. A la même période, Kirby et al. [41] étudièrent le pouvoir antioxydant de *Rosmarinus officinalis* L. dans le traitement de l'eczéma en Chine.

En 1998, Rezzoug et al. [42] étudièrent un nouveau procédé d'extraction « Détente Instantanée Contrôlée (DIC) » et firent l'application à l'extraction des feuilles de *Rosmarinus officinalis* L. Boutekdjiret et al. [43] publièrent également la

composition de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. de Bordj Bou-Arreidj (240Km à l'est d'Alger). Celle-ci était de 52,4% en 1,8 cinéole et de 12,6% en camphre.

A la même période, Pino et al. [44] étudièrent la composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. de Cuba. Celle-ci contenait 34,81% de camphre, 11,63% de bornéol et 11% de 1,8-cinéole. En parallèle, Basile et al. [45] réalisèrent l'extraction rapide de la partie volatile de *Rosmarinus officinalis* L. avec un nouveau procédé « surchauffage de l'eau (125-175 °C) et sous pression ». L'extrait obtenu était riche en composés oxygénés et contenait peu de monoterpènes et de sesquiterpènes comparativement à celui obtenu par entraînement à la vapeur classique.

En 1999, Ibanez et al. [46] réalisèrent l'extraction par fluide supercritique de *Rosmarinus officinalis* L. et montrèrent que l'extrait obtenu par cette méthode avait une activité antioxydante supérieure à celle d'un extrait obtenu par extraction par solvant. A la même période, Dellacassa et al. [47] étudièrent la chimiotaxonomie de *Rosmarinus officinalis* L. poussant dans différentes régions d'Uruguay et du sud du Brésil. Les huiles d'Uruguay étaient riches en  $\alpha$ -pinène (37,8 – 46,2 %) et en 1,8-cinéole (13,4 – 13,8%). Celles du sud du Brésil contenaient l' $\alpha$ -pinène (32,2%) et le 1,8 cinéole (14,7%). Par contre, celles des autres régions du Brésil contenaient l' $\alpha$ -pinène (12,4%), le myrcène (22,7%) et le 1,8-cinéole (15,3%).

En 2000, Porte et al. [48] publièrent la composition chimique de *Rosmarinus officinalis* L. de Rio De Janeiro (Brésil). Les constituants majeurs de l'huile étaient le camphre (26%), le 1,8-cinéole (22,1%), le myrcène (12,4%) et l' $\alpha$ -pinène (11,5%).

Par ailleurs, dans l'optique d'une utilisation des antioxydants naturels dans la conservation des aliments, Torre et al. [49] isolèrent « l' $\alpha$ -tocophérol », la vitamine E à raison de 420 – 1000  $\mu\text{g/g}$  de feuilles séchées de *Rosmarinus officinalis* L.; tandis que Tunç et al. [50] utilisèrent la vapeur d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. comme insecticide dans les silos de stockage des récoltes de blé et autres légumes secs.

En parallèle, Elamrani et al. [51] étudièrent la chimiotaxonomie de *Rosmarinus officinalis* L. de plusieurs régions du Maroc. Ils définirent trois chémotypes : l' $\alpha$ -pinène (37-40%), le camphre (41-53%) et le 1,8-cinéole (58-63%).

En 2001, Benhabiles et al. [52] publièrent une étude comparative de deux espèces de Romarin algériens : *officinalis* et *ericalyx*, poussant à Bordj Bou-Arreidj (240Km à l'est d'Alger), extraits par hydrodistillation et aboutirent à deux

chémotypes différents : *Rosmarinus eriocalyx* à type Eucalyptol (42,8%) et *Rosmarinus officinalis* à type  $\beta$ -Caryophyllène (13,9%), camphre (12,1%) et Bornéol (10,1%).

Parallèlement, une étude comparative menée par Guazzi [53] sur *Rosmarinus officinalis* L. provenant d'écosystèmes différents du sud de l'Italie montra des différences dans les compositions chimiques respectives des huiles essentielles.

En 2002, Serrano et al. [54] évaluèrent les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de différentes zones du sud du Portugal. Celles-ci étaient riches en myrcène (16,6-29,5%), 1,8-cinéole (8,3-14,5%) et camphre (14,3-23,1%).

En 2003, Djenane et al. [55] étudièrent, avec de bons résultats, la conservation de la viande fraîche avec des extraits de *Rosmarinus officinalis* L. Par ailleurs, Thorsen et al. [56] isolèrent à partir des feuilles de *Rosmarinus officinalis* L. plusieurs diterpènes phénoliques antioxydants, dont l'acide carnosique et le carnosol. Valéro et al. [57] montrèrent une activité antibactérienne remarquable de *Rosmarinus officinalis* L. Nassu et al. [58] d'une part et Dorman et al. [59] d'autre part évaluèrent et caractérisèrent le pouvoir antioxydant de *Rosmarinus officinalis* L.

En 2004, Rezzoug et al. [60] utilisèrent la méthodologie de réponse de surface (RSM) pour évaluer les effets des paramètres pression et temps les plus significatifs dans l'extraction des feuilles de Romarin par Détente Instantanée Contrôlée (DIC). A la même période, Wang et al. [61] isolèrent par une méthode simple l'acide rosmarinique et l'acide caféique par HPLC. Wada et al. [62] évaluèrent le pouvoir antioxydant de la plante *Rosmarinus officinalis* L.

A travers cette revue bibliographique, on constate que le Romarin a bénéficié de plusieurs travaux de recherche dans les domaines médical, agroalimentaire et cosmétique en raison de ses nombreuses qualités et vertus. On relève également que les travaux de recherche de ces dernières années se sont focalisés sur le pouvoir antioxydant et sur l'activité antibactérienne du Romarin.

### *EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROSMARINUS OFFICINALIS L. POUSSANT A ALGER*

---

#### **I - INTRODUCTION**

La technique d'extraction assistée par chauffage à micro-ondes, définie et mise au point en 1986 par Ganzler [63], est une nouvelle technologie qui présente l'avantage de recueillir les composés aromatiques présents en très faible quantité en un temps d'extraction considérablement court. L'ordre temporel, qui est la minute, confère à cette technique une faible possibilité de formation d'artefacts d'où une meilleure qualité de la fraction volatile. Bien que récente, cette technologie a fait l'objet de nombreux travaux dans différents domaines d'analyse [64-71]

L'extraction par solvant assistée par micro-ondes (ESAM) consiste à traiter sous micro-ondes un solide, sec ou humide, en contact avec un solvant partiellement ou totalement transparent aux micro-ondes. Les micro-ondes permettent d'accélérer la cinétique d'extraction et de réduire le ratio solvant/charge. Un paramétrage adapté conduit, pour des durées d'extraction de l'ordre de la minute, à des rendements ordinairement obtenus en 30 à 60 minutes. Cette mise en œuvre extrêmement courte préserve les composés les plus thermolabiles (acides gras polyinsaturés, caroténoïdes, chlorophylles par exemple) des réactions de dégradation traditionnelles. De plus, en raison du procédé, on observe parfois une augmentation de la sélectivité de l'extraction par rapport à la méthode traditionnelle.

Pour résumer, les avantages du procédé ESAM sont :

- L'augmentation de la vitesse d'extraction d'un facteur 2 à 20
- Une plus grande sélectivité de l'extraction
- La diminution de la consommation de solvant d'un facteur 2 à 5

La première publication sur l'extraction de produits naturels par solvant assistée par micro-ondes [63] décrit l'extraction d'espèces polaires par des solvants absorbant fortement les micro-ondes (méthanol ou mélanges hydrométanoliques) ainsi que l'extraction d'espèces apolaires par un solvant non absorbant par les micro-ondes (hexane). Depuis cette première publication, l'extraction assistée par

micro-ondes est devenue une méthode répandue dans les laboratoires d'analyse. La plupart des procédés utilisent des équipements à cavité multimode avec des énergies spécifiques de l'ordre de 10kWh par kilogrammes de matière première. Cependant, ce type de cavité ne permet pas d'obtenir de bilan fiable sur la quantité d'énergie réellement absorbée par le produit. Dans la démarche d'une extrapolation à l'échelle pilote puis industrielle, les premiers essais de faisabilité à l'échelle du laboratoire doivent donc être réalisés avec des outils permettant d'établir un bilan énergétique précis.

## **II - CONDUITE DE L'EXTRACTION SANS SOLVANT ASSISTEE PAR MICRO ONDES**

Cette technique d'extraction très récente, mise en place par F. Chemat en 2004 [68] est basée sur le même principe que celui d'une hydrodistillation classique sauf que le chauffage est assisté par micro-ondes et l'eau, sous forme de vapeur, qui entraîne la fraction volatile, n'est pas ajoutée à la plante mais provient du matériel végétal frais.

Mis à part les avantages communs aux techniques innovantes tels que l'augmentation du rendement et la réduction du temps de l'extraction, cette technique qui ne nécessite pas de solvant (eau ou solvant organique) offre une qualité de fraction volatile très naturelle. Cependant, elle exige une maîtrise de sa mise en œuvre notamment dans le choix de la longueur d'onde et de la puissance du four à micro-ondes spécifiquement aux structures moléculaires ciblées.

Nous avons pris 200g de la partie aérienne de la plante composée de tiges fines, de feuilles et de fleurs. Le matériel végétal fraîchement cueilli est introduit sans ajout d'eau ni de solvant organique dans un réacteur de type ballon, d'une contenance de 2 litres, placé dans une cavité multimode du four micro-ondes « Dry Dist » 2004 (Figure II.1).

La durée de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes de végétaux frais a été fixée après observation de la quantité d'huile extraite au cours du temps. Après trente minutes (30 min) d'extraction, la proportion en essence cesse d'évoluer de façon significative. Un temps de chauffe de deux minutes trente secondes (2,5min) représente le temps d'apparition de la première goutte d'huile. La puissance du four micro-ondes est de 1000 Watts (Tableau II.1). Grâce au système de cohobation, le taux d'humidité au sein du ballon est quasiment le même tout au long de l'extraction. L'huile essentielle obtenue est séparée de l'eau par simple décantation. Aucun solvant organique n'est utilisé au cours de ce protocole.

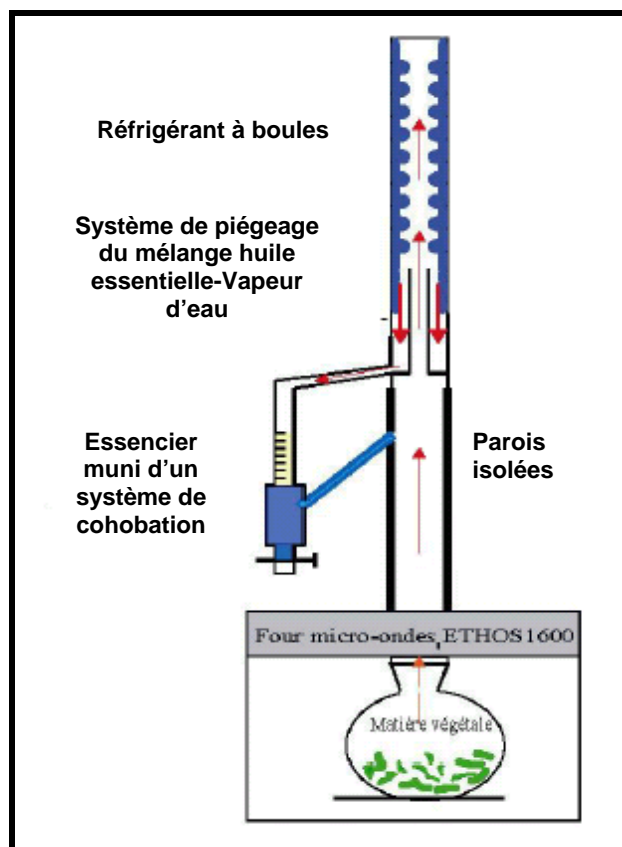


Figure II.1 : Schéma du montage de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes

Tableau II.1 : Conditions expérimentales utilisées lors de l'extraction du Romarin sans solvant assistée par micro-ondes.

Paramètres	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.
Masse Végétale fraîche (g)	200
Pourcentage d'humidité (%)	63,76
Puissance MO appliquée (W)	1000
Temps de chauffage (min)	2,5
Durée totale de l'extraction (min)	32,5

### III - CONDUITE DE L'HYDRODISTILLATION CLASSIQUE

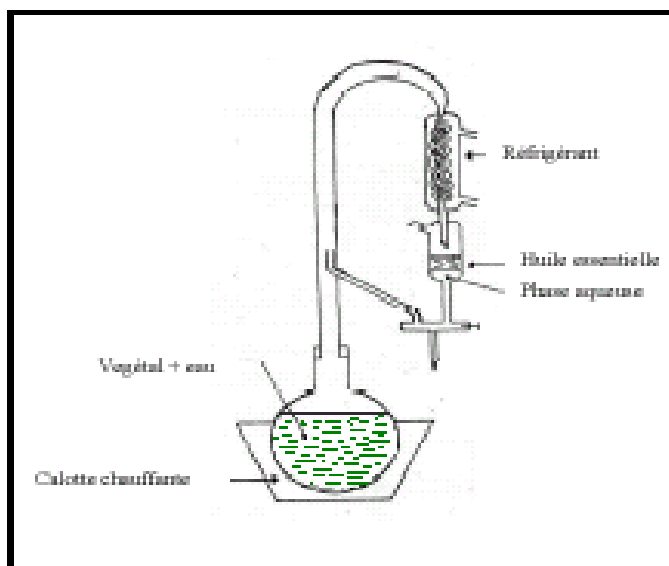
Ce procédé est recommandé dans le cas des matières végétales riches en huile essentielle et dont les constituants sont stables à haute température. Il est considéré comme un cas particulier de la distillation des mélanges liquides dont les constituants sont soit complètement insolubles (eau et huile), soit complètement solubles (cas de l'huile essentielle hydrosoluble) ou encore partiellement solubles (eau contenant des traces d'huile). Il est basé sur le principe selon lequel la plupart des composés volatils sont extraits du végétal par entraînement à la vapeur d'eau

créée par le chauffage du mélange « eau-matériau végétal » en raison de leurs points d'ébullition relativement faibles. Ils sont ensuite séparés de la matrice végétale sous l'effet de la température.

Il est à noter que la température de l'hydrodistillation est basse au début du processus. Elle ne permet que l'extraction des constituants très volatils dès les premières minutes (2–10 minutes) sur une durée moyenne d'extraction de 3 heures. Elle augmente ensuite graduellement permettant l'extraction des constituants à points d'ébullition relativement élevés. Ainsi, la composition de l'huile obtenue au début du processus est différente de celle obtenue en fin de celui-ci.

Durant ce procédé, la matière végétale immergée dans l'eau est exposée à une température élevée. Dans ces conditions, la fragilité thermique des constituants et/ou l'hydrolyse de certains d'entre eux conduisent à la formation d'artefacts. Toutefois la difficulté d'extraire les produits peu volatils et/ou ceux qui sont hydrosolubles constitue le plus gros inconvénient de ce procédé. Dans notre travail, l'hydrodistillation classique à pression atmosphérique a été réalisée à l'aide de l'appareil de Clevenger modifié schématisé par la Figure II.2.

Pour une comparaison significative des résultats, nous avons repris la même masse (200 g) de matériau végétal, utilisée dans la technique ESSAM, composée de tiges fines, de feuilles et de fleurs fraîchement cueillies que nous avons introduites dans un ballon de capacité de 4 litres où 2 litres d'eau distillée ont été ajoutés. L'ensemble est chauffé pendant trois heures après l'obtention de la première goutte d'huile essentielle. L'essence obtenue est séparée de l'eau par simple décantation. Aucun solvant organique n'est utilisé au cours de ce protocole.



*Figure II.2 : Schéma du montage de l'hydrodistillation*

## IV - RESULTATS ET DISCUSSION

Pour une meilleure fiabilité des résultats, l'expérience a été reprise trois fois pour chaque technique d'extraction. Les huiles essentielles obtenues par ESSAM et HD sont séchées au préalable sur sulfate de sodium anhydre, puis pesées afin de calculer les rendements respectifs des extractions et conservées enfin à une température de 4° C au réfrigérateur à l'abri de la lumière.

### IV - 1 Constantes physico-chimiques

Les constantes physico-chimiques des huiles essentielles de Romarin extraites par hydrodistillation et par micro-ondes ont été déterminées selon les normes AFNOR relatives aux huiles essentielles. Les résultats des mesures de densité, d'indice de réfraction, de pouvoir rotatoire et de miscibilité dans l'éthanol sont regroupés dans le Tableau II.2.

*Tableau II.2 : Constantes physico-chimiques des huiles essentielles de Romarin obtenues par ESSAM et HD*

Romarin	Densité	Indice de réfraction	Pouvoir rotatoire	Solubilité dans l'éthanol (V/V)
ESSAM	0,90	1,466	+2	1,9 / 1
HD	0,90	1,470	+3	2,1 / 1

A partir des valeurs présentées ci-dessus, on constate que :

- les densités et les indices de réfraction ont des valeurs relativement proches pour l'huile essentielle de Romarin quelque soit son mode d'extraction.
- les valeurs de la solubilité dans l'éthanol, tout en restant du même ordre de grandeur, présentent des différences plus significatives selon leur mode d'obtention.
- la miscibilité dans l'éthanol des huiles essentielles obtenues par ESSAM est toujours plus élevée par rapport à celle des huiles essentielles hydrodistillées.

## IV - 2 Analyse quantitative

Le Tableau II.3 présente les résultats des rendements en huiles essentielles obtenues d'une part par extraction sans solvant assistée par micro-ondes et d'autre part, par hydrodistillation classique. Dans le cas de la plante fraîche de *Rosmarinus officinalis* L., le rendement en huile essentielle de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes est similaire à celui obtenu par hydrodistillation. Ce résultat est d'autant plus intéressant que la durée totale d'une ESSAM n'excède pas 32,5 min en comptant le temps de chauffage du système qui est de 2,5 min alors que l'hydrodistillation classique nécessite 7 fois plus de temps, soit 45 min de chauffage et 3 heures d'extraction pour épuiser la plante en huile essentielle.

**Tableau II.3 :** Rendement en huile essentielle de Romarin par les techniques d'extraction ESSAM et HD

Paramètres	ESSAM	HD
Durée totale de l'extraction (min)	32,5	225
Rendement moyen (%)	0,566	0,572

L'extraction s'effectue en deux étapes de durée inégale. L'étape de chauffage traduit l'augmentation de la température au sein du réacteur jusqu'à la température de distillation sensiblement égale à la température d'ébullition de l'eau. Cette période de chauffage est toujours de l'ordre de 2,5 min pour l'ESSAM et de l'ordre de 45 min pour l'HD. En revanche, l'étape d'extraction proprement dite, durant laquelle les molécules aromatiques sont effectivement distillées, est nettement plus longue (de l'ordre de 30 min pour l'ESSAM et de l'ordre de 3 heures pour l'hydrodistillation).

## IV - 3 Suivi de la cinétique du rendement

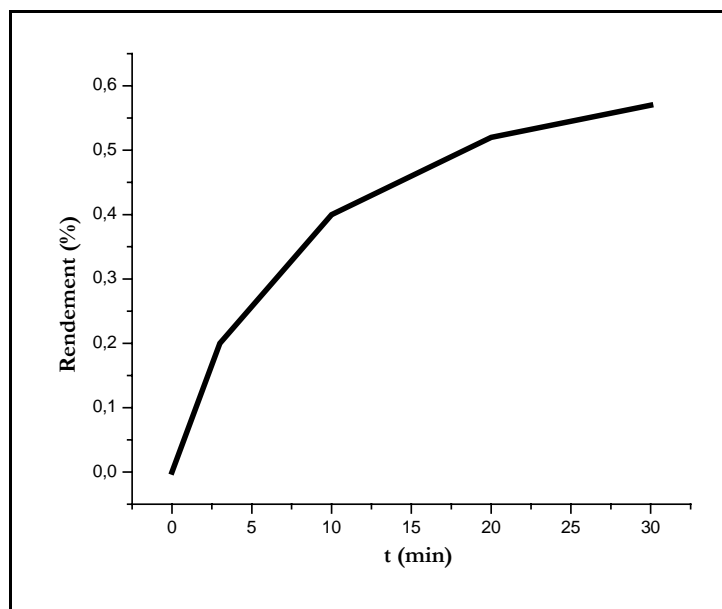
Le suivi du rendement d'extraction au cours du temps a été mené dans les deux procédés d'extraction cités ci-dessus. Dans la technique ESSAM, il a été réalisé de deux manières différentes :

- Dans une première voie, nous réalisons des extractions ponctuelles du matériel végétal pour des masses toujours égales à 200g et pour des durées successives de 3, 5, 10, 15, 20 et 30 minutes après l'obtention de la première goutte d'huile qui correspond à un temps de chauffage de 2,5min (Tableau II.4 et Graphe II.1).

- Dans une seconde voie, le rendement est suivi lors d'une même extraction en gardant la même masse de matériel végétal (200 g) et en suivant l'évolution de la quantité d'huile essentielle recueillie dans l'essencier au cours de l'extraction d'une durée de 30 minutes. Pour cela, nous avons fixé sur les parois du tube récepteur de l'huile essentielle un papier millimétré. A partir de la première goutte d'huile, nous avons relevé la hauteur (en millimètre) de l'huile essentielle recueillie au bout de 3, 6, 10, 15, 20 et 30 minutes (Tableau II.5 et Graphe II.2).

*Tableau II.4 : Rendement de l'huile essentielle de Romarin en fonction de durées spécifiques dans l'extraction par le procédé ESSAM (voie 1)*

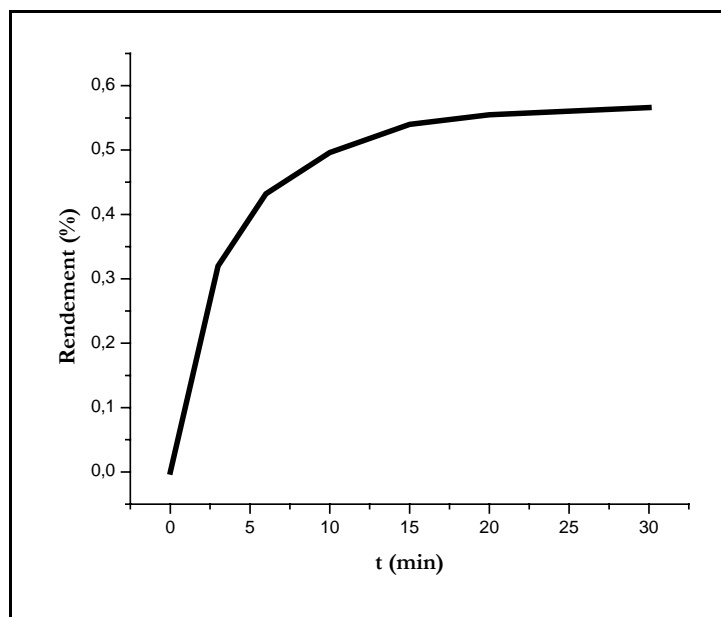
<b>t (min)</b>	3	5	10	15	20	30
<b>Rendement (%)</b>	0,20	0,36	0,40	0,50	0,52	0,57



*Graphe II.1 : Rendement de l'huile essentielle de Romarin en fonction de durées spécifiques dans l'extraction par le procédé ESSAM (voie 1)*

*Tableau II.5 : Rendement de l'huile essentielle de Romarin obtenue en continu durant la même extraction par le procédé ESSAM (voie 2)*

<b>t (min)</b>	3	6	10	15	20	30
<b>Rendement (%)</b>	0,320	0,432	0,496	0,540	0,555	0,566



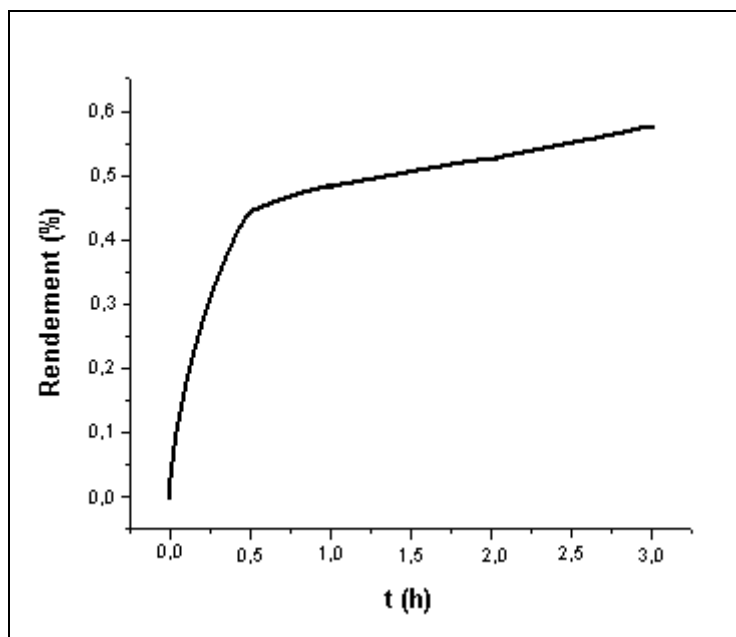
*Grphe II.2 : Rendement de l'huile essentielle de Romarin obtenue en continu durant la même extraction par le procédé ESSAM (voie 2)*

De même, pour l'hydrodistillation, le suivi du rendement d'extraction au cours du temps a été également réalisé de deux manières différentes :

- Dans la première voie, le matériel végétal (200 g) a été changé à chaque extraction. Les rendements ont été calculés pour des durées de 0,5 , 1, 2, et 3 heures. Le temps de chauffage du système est de 45min (Tableau II.6 et Graphe II.3).
- Dans la seconde voie, tout en gardant le même matériel végétal (donc même extraction), des fractions d'huile essentielle ont été prélevées successivement au bout de 5, 10, 30, 45, 75, 120, 150 et 180 minutes après un temps de chauffage qui a duré 45min (Tableau II.7 et Graphe II.4).

*Tableau II.6 : Rendement de l'huile essentielle de Romarin en fonction de durées spécifiques dans l'extraction par le procédé HD (voie1)*

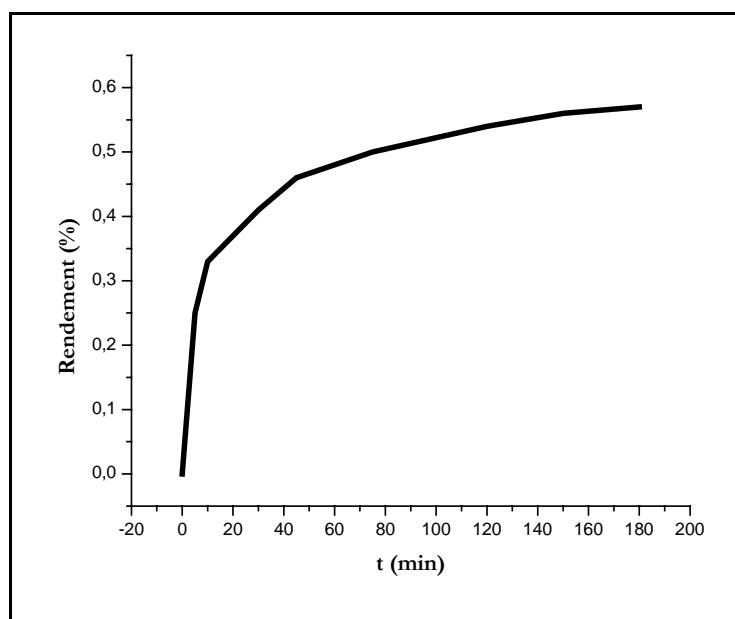
<b>t (heure)</b>	0,5	1	2	3
<b>Rendement (%)</b>	0,440	0,481	0,517	0,572



*Graphe II.3 : Rendement de l'huile essentielle de Romarin en fonction de durées spécifiques dans l'extraction par le procédé HD (voie1)*

*Tableau II.7 : Rendement de l'huile essentielle de Romarin obtenue en continu durant la même extraction par le procédé HD (voie 2)*

<b>t (min)</b>	5	10	30	45	75	120	150	180
<b>Rendement (%)</b>	0,25	0,33	0,41	0,46	0,50	0,54	0,56	0,57



*Graphe II.4 : Rendement de l'huile essentielle de Romarin obtenue en continu durant la même extraction par le procédé HD (voie2) .*

De façon générale, la cinétique d'extraction peut se diviser en trois étapes :

- 1 - La première est relative au chauffage de la matière végétale et correspond à la montée en température au sein du réacteur. Durant cette étape, nettement plus courte pour une ESSAM, aucune extraction d'huile essentielle ne se produit.
- 2 - La seconde étape correspond au début de la distillation de l'huile essentielle proprement dite. Au cours de cette étape, le rendement augmente de façon significative jusqu'à environ 0,5%.
- 3 - La troisième étape indique un ralentissement de l'augmentation du rendement avec apparition d'un pseudo palier.

Par conséquent, pour atteindre un même rendement en huile essentielle, il est nécessaire de chauffer la matière végétale durant seulement 32,5 minutes en ESSAM et 225 minutes en HD. De ce fait, lors d'une ESSAM, le matériel végétal subirait moins les effets négatifs du chauffage.

Dans le but d'une étude comparative de la cinétique d'extraction des composés majoritaires de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L., toutes les fractions des essences recueillies selon les deux techniques d'extraction -ESSAM et HD- ont été conservées dans des tubes ambrés à 4°C afin d'être analysées ultérieurement.

#### **IV - 4 Composition des huiles essentielles**

Les huiles essentielles obtenues par les deux techniques d'extraction ESSAM et HD ont été analysées d'abord par chromatographie gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID) sur une colonne capillaire apolaire HP5 MS (de type méthylsilicone). Pour une identification plus exhaustive des composés aromatiques, ces huiles essentielles ont été analysées, par la suite, par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) sur deux colonnes capillaires de polarité différente HP5 MS (apolaire) et Carbowax 20M, (moyennement polaire). Les conditions opératoires sont détaillées dans la partie expérimentale. Le Tableau II.8 donne, selon l'ordre d'élution les familles chimiques regroupant les compositions qualitative et quantitative des deux huiles essentielles extraites par les deux technique ESSAM et HD. Les résultats sont illustrés par l'Histogramme II.1.

*Tableau II.8 : Composition de deux huiles essentielles de Romarin obtenues par ESSAM et HD selon leur famille chimique*

N°	Composés	I.R.R	I.R.R	ESSAM	HD
		HP5MS	CW20M		
<b>Hydrocarbures monoterpéniques</b>					
1	Bornylène	905	980	0,01	0,01
2	Tricyclène	921	1009	0,24	0,30
3	Pinène <Alpha->	937	1031	39,51	43,53
4	Camphène	949	1065	5,34	6,96
5	Verbénène	953	1121	0,96	1,34
6	Sabinène	969	1116	0,00	0,01
7	Pinène <Béta->	972	1105	0,60	0,82
8	Myrcène <Béta->	989	1163	1,31	1,55
9	l-phellandrène	1000	1166	0,19	0,27
10	Carène <Délta-3->	1005	1145	0,05	0,07
11	Terpinène <Alpha->	1012	1181	0,53	0,78
12	Cymène <Para->	1023	1268	2,08	2,78
13	dl Limonène	1027	1206	4,67	5,75
14	Ocimène <Béta->	1033	1249	0,02	0,03
15	Ocimène <Cis->	1042	1233	0,01	0,01
16	Terpinène <Gamma->	1052	1247	0,82	1,33
17	Terpinolène <Alpha->	1080	1287	0,96	1,24
18	Déhydro Cymène <Para->	1081	1402	tr	tr
<b>Monoterpènes Oxygénés</b>					
19	1,8-Cinéole	1029	1210	tr	tr
20	Sabinène Hydrate <Cis->	1059	1428	0,01	0,01
21	Linalol Oxyde <Cis->	1064	1437	0,01	0,01
22	Camphénilone	1073		0,00	0,00
23	Fenchone	1077	1369	0,01	0,01
24	Filifolone	1094	1402	tr	tr
25	Linalol	1105	1520	3,90	3,62
26	Hotriénol	1107	1603	tr	tr
27	Fenchyl Alcool	1114	1571	0,01	0,02
28	Chrysanténone	1116	1493	0,08	0,08
29	Campholénal <Alpha->	1120	1471	1,57	1,14
30	Camphre	1146	1506	9,26	9,14
31	Camphène Hydrate	1147	1574	0,04	tr
32	Pinocarvone	1160	1548	1,29	1,45
33	Bornéol	1166	1682	2,37	2,76
34	Terpinéol <4->	1177	1574	1,06	1,11
35	Campholénol <Gamma->	1181	1703	1,27	0,96
36	Terpinéol <Alpha->	1189	1677	4,21	3,06
37	Myrténol	1201	1851	0,56	tr
38	Verbénone	1205	1696	8,44	4,70
39	Trans-Carvéol	1226	1828	0,54	0,53
40	Citronellol	1234	1749	0,06	0,01
41	Carvone	1244	1722	0,52	0,46

42	Carvotanacétone	1247	1658	0,14	0,11
43	Pipéritone	1252	1709	0,61	0,30
44	Géraniol	1258	1830	0,09	0,03
45	3(10)-Carène-2-ol <E->	1261	1526	tr	tr
46	Isopipériténone	1269	1828	0,03	tr
47	Bornyl Acétate	1281	1558	0,25	0,36
48	Thymol	1288	2167	0,04	0,03
49	Carvacrol	1303	2102	0,07	0,02
50	Eucarvone	1314	1715	0,03	tr
51	Verbanyl Acétate	1328	1665	0,01	tr
52	Pipériténone	1334	1916	0,02	0,03
53	Eugénol	1353	2172	0,14	0,07
54	4-Méthyl-2-(3-Méthyl-2-Butényl)-Furane	1388		0,07	0,01
55	Méthyl Eugénol	1397	2020	0,06	0,09
56	Géranyl Acétone	1444	1848	0,82	0,19
<b>Hydrocarbures sesquiterpéniques</b>					
57	Caryophyllène <iso->	1392	1581	tr	tr
58	Caryophyllène <trans->	1408	1577	2,01	0,37
59	Bergamotène <Alpha-Trans->	1427	1563	0,04	0,01
60	Humulène <Alpha->	1442	1651	0,07	0,10
61	Farnésène <E-Béta->	1447	1641	0,05	0,01
62	Acoradiène <Alpha->	1454	1658	0,09	0,02
63	Curcumène <Gamma->	1469	1730	0,04	0,01
64	Curcumène <Alpha->	1473	1769	0,47	0,10
65	Zingibérène	1486	1727	0,03	0,01
66	Bisabolène <Alpha->	1490	1751	tr	0,01
67	Farnésène <Alpha->	1500	1758	0,05	0,01
68	Bisabolène <Béta->	1502	1712	0,02	tr
69	Calaménène <cis->	1510	1833	tr	tr
70	Sesquiphellandrène <Béta->	1513	1765	0,02	0,01
71	Bisabolène <Trans-Gamma->	1520	1751	0,02	0,01
<b>Sesquiterpènes Oxygénés</b>					
72	Caryophyllène Alcool <Alpha->	1555	2057	0,03	0,02
73	Caryophyllène Oxyde	1564	1995	0,13	0,11
74	Humulène Epoxyde <1,2->	1587	2051	0,09	0,02
75	Bisabolène Epoxyde <Cis-Alpha->	1611	2288	0,04	0,01
76	Caryophylla-4(12),8(13) diène 5-ol <Béta->	1615	2290	0,03	0,02
77	Caryophylla-3(8)[13] diène 5-ol <Béta->	1641	2380	0,06	0,08
78	Sesquicyclogéranol <Béta->	1648	2208	0,10	0,08
79	Bisabolol <Alpha->	1673	2219	0,14	0,10
<b>Diterpènes</b>					
80	Isopimar-9(11)-15-diène	1898	2183	0,02	tr
81	Déhydro Abiétane	2052	2510	0,02	0,01
<b>Autres composés Oxygénés</b>					
82	1-Octen-3 ol	977	1411	tr	tr
83	3-Octanone	983	1251	tr	tr

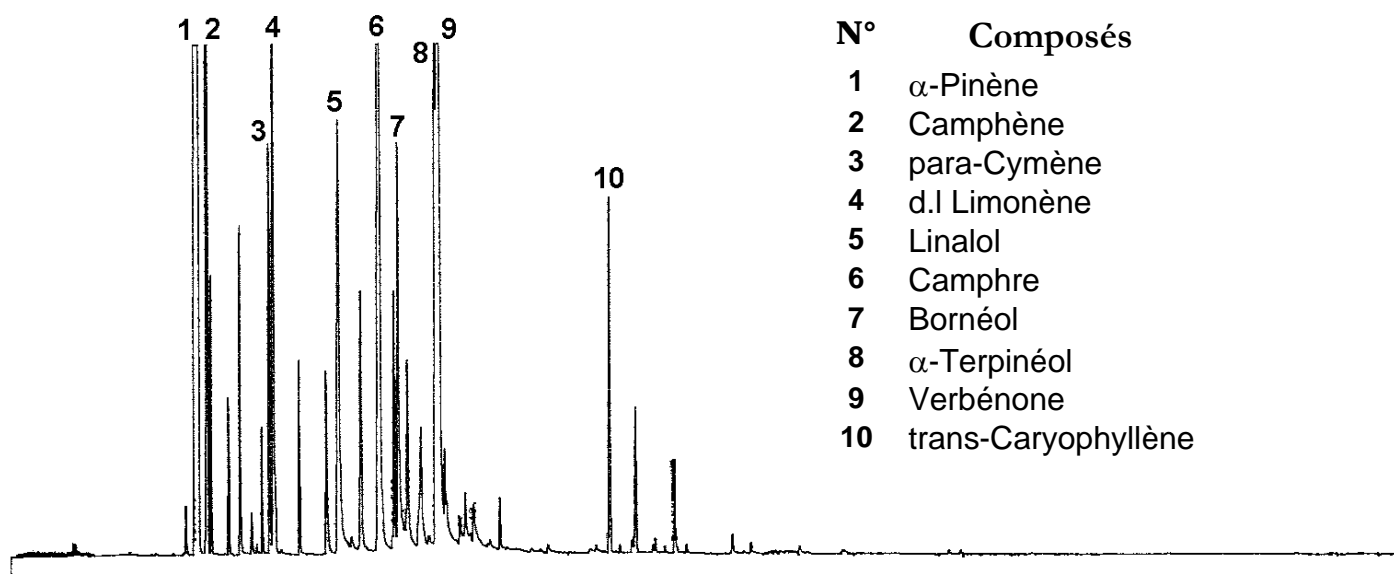
<b>84</b>	3,6-Octadiénoic Acid-3,7-Diméthyl Méthyl Ester	1274	1610	tr	0,07
<b>85</b>	Undécanone-2	1295		tr	0,02
<b>86</b>	Damascénone <Béta->	1379	1820	tr	0,01
<b>87</b>	Méthyl-Jasmonate	1635	2340	0,06	0,02
	Durée d'extraction (min.)			32,5	225
	Rendement (%)			0,57	0,57
	Monoterpènes			57,31	66,79
	Monoterpènes Oxygénés			37,58	30,30
	Sesquiterpènes			2,92	0,65
	Sesquiterpènes Oxygénés			0,60	0,45
	Diterpènes			0,04	0,01
	Autres composés Oxygénés			0,06	0,12
	<b>% total des composés Oxygénés</b>			<b>38,24</b>	<b>30,87</b>
	<b>% total des composés non oxygénés</b>			<b>60,26</b>	<b>67,45</b>
				<b>98,50</b>	<b>98,31</b>

C'est au total 91 composés décelés dont 87 ont été identifiés. Le pourcentage des composés non identifiés n'excède pas 0,7% (Annexe I). Tous les composés sont présents dans les deux huiles essentielles mais avec des proportions différentes. Pour l'identification, nous avons d'abord calculé leurs indices de rétention que nous avons comparés à ceux de la littérature. Nous avons, par la suite, procédé au dépouillement de leurs spectres de masse en se référant à ceux donnés dans les différentes librairies [72,73].

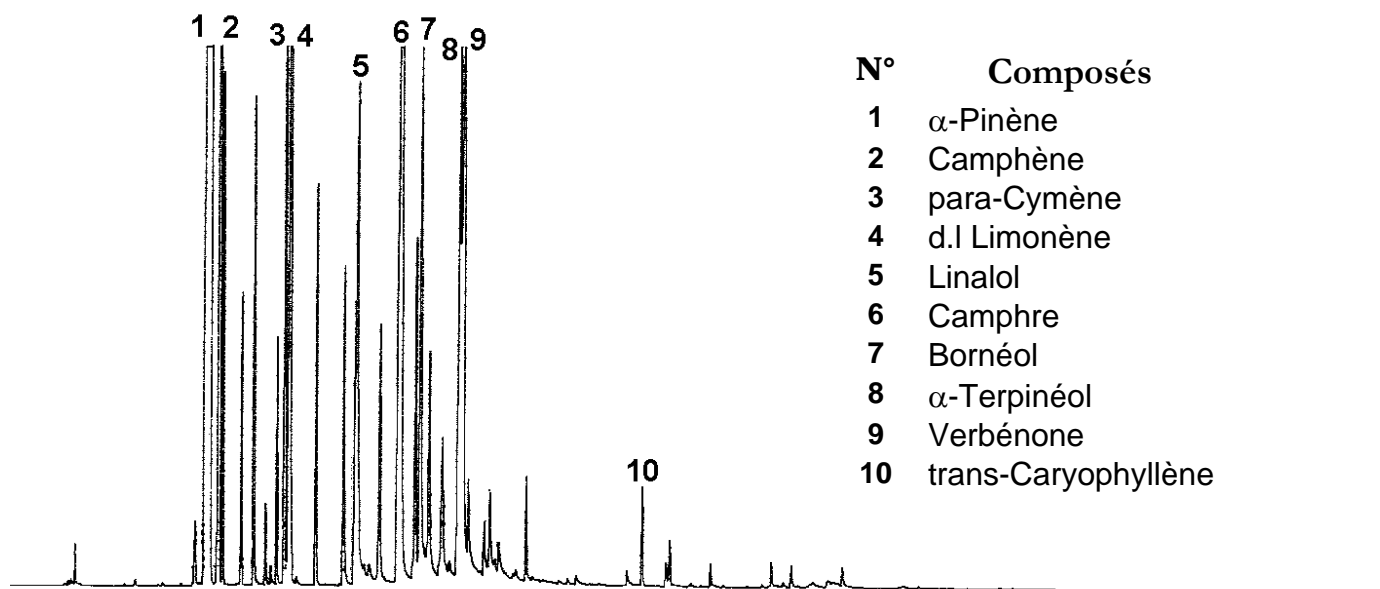
L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. d'Alger, dont les chromatogrammes sont présentés dans les Figures II.3 et II.4, est caractérisée en majeure partie par l' $\alpha$ -pinène avec une teneur de 43,53% en HD et de 39,51% en ESSAM. Ce dernier a une note olfactive bien caractéristique rafraîchissante, résineuse et chaude.

Le camphre, la verbénone, le camphène, le dl limonène, l' $\alpha$ -terpinéol, le linalol, le bornéol, le p-cymène et le trans-caryophyllène contribuent à la composition de cette huile essentielle mais de façon moins prépondérante.

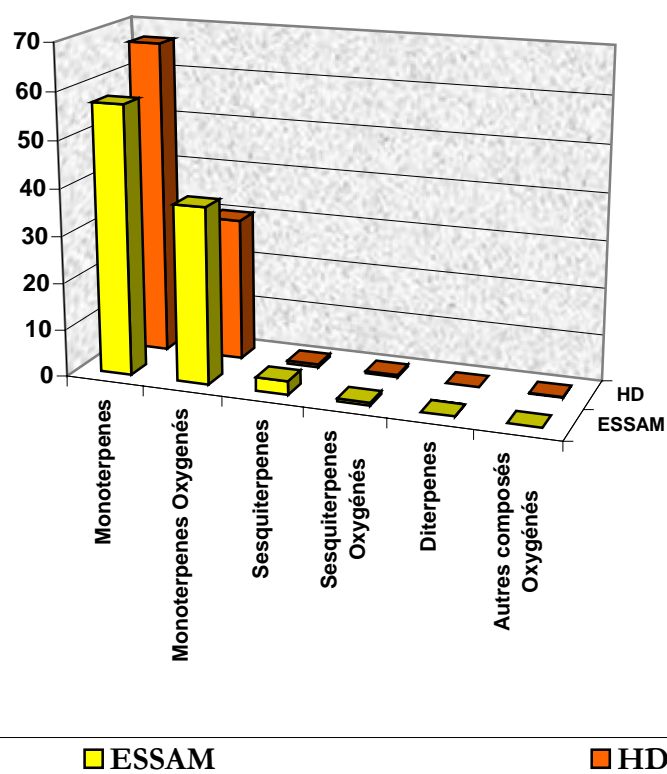
Nous remarquons que les teneurs du camphre, deuxième composé majoritaire, sont du même ordre dans les deux huiles essentielles (9,26% dans l'huile essentielle extraite par micro-ondes et 9,14% dans celle hydrodistillée). Par contre, la verbénone possède une teneur de 8,44% en ESSAM et presque le double de celle hydrodistillée qui est de 4,69%. Les hydrocarbures monoterpéniques tels que le camphène, le dl limonène, le p-cymène ont des teneurs supérieures en HD et les monoterpènes oxygénés tels que l' $\alpha$ -terpinéol et le linalol ont des teneurs supérieures en ESSAM à l'exception du bornéol qui présente une teneur de 2,37% en ESSAM très voisine de celle de l'huile hydrodistillée (2,76%).



*Figure II.3 : Chromatogramme de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis L. extraite sans solvant par micro-ondes (ESSAM)*



*Figure II.4 : Chromatogramme de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis L. extraite par Hydrodistillation (HD)*



*Histogramme II.1 : Teneurs des familles chimiques des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis L. obtenues par ESSAM et HD*

L'huile essentielle obtenue par ESSAM est plus riche en terpènes oxygénés connus pour leurs grandes valeurs olfactives tels que le camphre et la verbénone. Par contre, l'huile essentielle hydrodistillée est plus riche en hydrocarbures monoterpéniques tels l' $\alpha$ -pinène, le camphène et le dl limonène.

Le Tableau II.9 nous montre les 10 premiers composés majoritaires, donnés par famille, dans l'ordre décroissant des teneurs dans l'huile extraite par ESSAM. Ils représentent 81,76% de l'huile essentielle obtenue par ESSAM et 81,98% de l'huile obtenue par HD. Nous remarquons que 9 composés sont des monoterpènes très volatils.

*Tableau II.9 : Composés majoritaires du Romarin décelés par les méthodes ESSAM et HD*

	ESSAM	HD
<b>Hydrocarbures monoterpéniques</b>		
α-Pinène	39,51	43,53
Camphène	5,33	6,96
dl Limonène	4,66	5,75
p-Cymène	2,08	2,78
<b>Teneur (%)</b>	<b>51,58</b>	<b>59,02</b>
<b>Monoterpènes Oxygénés</b>		
Camphre	9,26	9,14
Verbénone	8,44	4,69
α-Terpinéol	4,21	3,06
Linalol	3,90	3,62
Bornéol	2,37	2,76
<b>Teneur (%)</b>	<b>28,18</b>	<b>23,27</b>
<b>Sesquiterpène</b>		
Trans-Caryophyllène	2,01	0,36
<b>Teneur Totale (%)</b>	<b>81,76</b>	<b>81,98</b>

Ces 10 composés majoritaires se répartissent comme suit :

- 4 hydrocarbures monoterpéniques : α-pinène, camphène, dl limonène et p-cymène,
- 5 monoterpènes oxygénés dont :
  - ✓ 2 cétones : camphre et verbénone dont la somme de leur pourcentage est de 17,70% en ESSAM et de 13,83% en HD.
  - ✓ 3 alcools : α-terpinéol, linalol et bornéol dont la somme des pourcentages est de 10,48% en ESSAM et 9,44% en HD.
- 1 hydrocarbure sesquiterpénique : le trans-caryophyllène

## **V - ETUDES COMPLEMENTAIRES**

Après l'étude générale de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. obtenue par les deux techniques ESSAM et HD, une étude comparative du suivi de la cinétique des composés majoritaires selon les deux techniques ainsi qu'une observation au microscope électronique à balayage MEB des différents organes de la plante ont été réalisées.

## V - 1 Suivi de la cinétique d'extraction

L'identification de la composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L., a montré que plus de 80% de l'essence sont représentés par 10 composés majeurs (Tableau II.9).

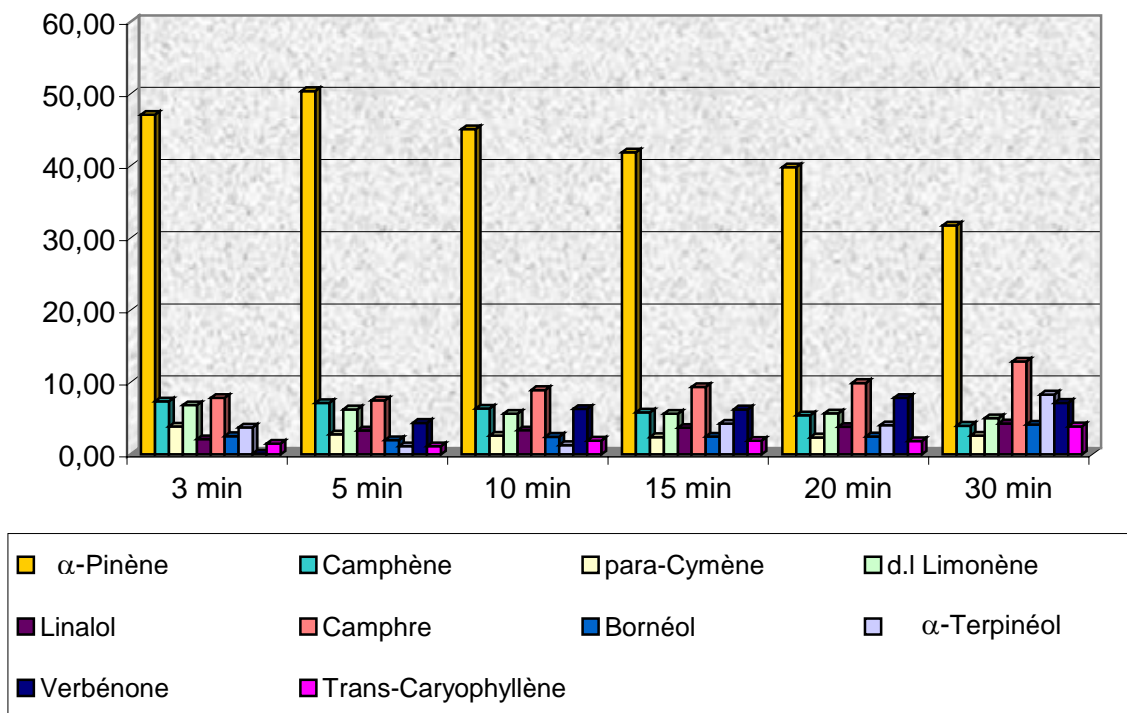
Pour évaluer l'influence du temps d'extraction sur la composition de l'huile essentielle, toutes les fractions d'huile recueillies lors de l'étude de la cinétique des rendements des deux techniques d'extraction ESSAM et HD (Pages 54-56) ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse seule avec un détecteur à ionisation de flamme GC-FID et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse GC/MS. Nous avons pu suivre l'évolution de la teneur des 10 composés majoritaires en se référant aux fichiers des chromatogrammes obtenus par GC-FID.

### V - 1.1 Cinétique des composés majoritaires de l'huile essentielle de Romarin extraite par ESSAM

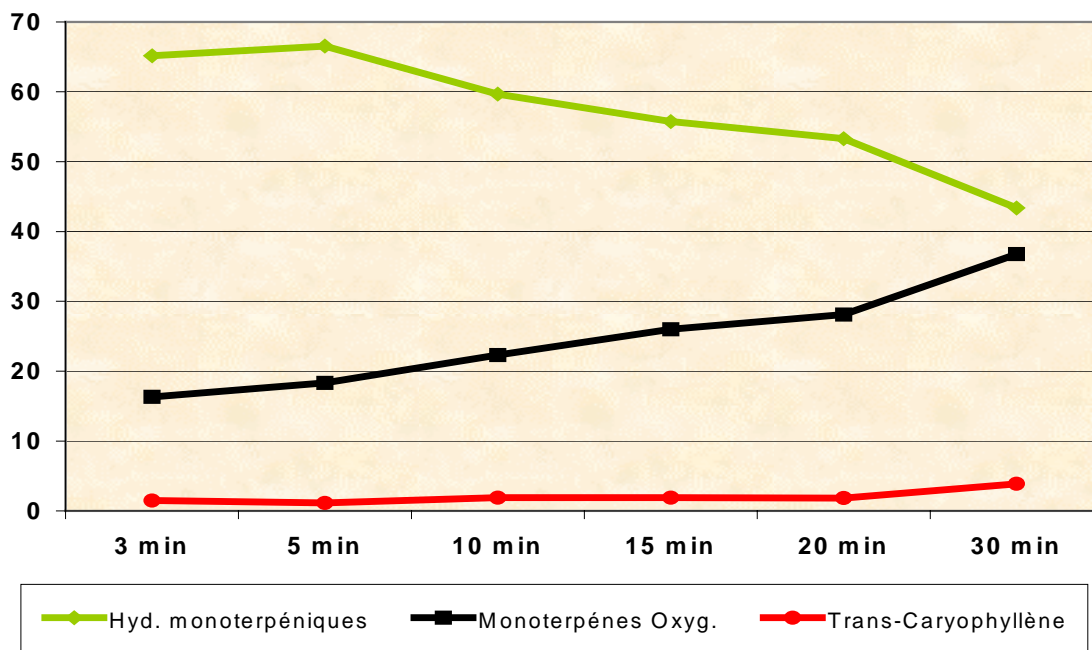
Le suivi de l'évolution des teneurs des composés majoritaires de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. obtenue par la technique ESSAM est réalisée en faisant différentes extractions de 200 g de la partie aérienne de la plante fraîche à des durées indépendantes, progressivement croissantes de 3, 5, 10, 15, 20 et 30 minutes après un temps de chauffage de 2,5 minutes. Les résultats sont regroupés dans le Tableau II.10 et illustrés conjointement par le Graphe II.5 et l'Histogramme II.2.

Tableau II.10 : Cinétique des composés majoritaires ESSAM

Durée de l'extraction (min)	3	5	10	15	20	30
$\alpha$ -Pinène	47,09	50,38	45,11	41,88	39,80	31,75
Camphène	7,37	7,15	6,35	5,82	5,42	3,99
para-Cymène	3,87	2,77	2,59	2,39	2,35	2,60
d.l Limonène	6,82	6,24	5,63	5,65	5,69	5,02
<b>% total hydrocarbures monoterpéniques</b>	<b>65,15</b>	<b>66,54</b>	<b>59,68</b>	<b>55,74</b>	<b>53,28</b>	<b>43,36</b>
Linalol	2,10	3,32	3,35	3,71	3,82	4,30
Camphre	7,85	7,50	8,93	9,33	9,90	12,86
Bornéol	2,53	1,98	2,44	2,47	2,49	4,13
$\alpha$ -Terpinéol	3,74	1,15	1,29	4,26	4,06	8,31
Verbénone	0,11	4,38	6,30	6,23	7,84	7,16
<b>% total monoterpènes oxygénés</b>	<b>16,33</b>	<b>18,33</b>	<b>22,31</b>	<b>26,00</b>	<b>28,11</b>	<b>36,76</b>
trans-Caryophyllène	1,49	1,15	1,91	1,90	1,85	3,89



*Histogramme II.2 : Cinétique des composés majoritaires ESSAM*



*Graphe II.5 : Cinétique des composés majoritaires ESSAM*

## INTERPRETATION DU GRAPHE II. 5

La courbe du suivi de la cinétique des composés majoritaires des hydrocarbures monoterpéniques très volatils de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. extraite par ESSAM est composée de deux parties :

- 1 - Une première partie croissante, s'étalant de 3 à 5 minutes où nous observons une augmentation de leurs teneurs de 65,15% à 66,54%. Ces derniers nécessitent un temps très réduit pour leur extraction.
- 2 - Une seconde partie, décroissante s'étalant de 5 à 30 minutes. L'extraction des composés moins volatils augmente à partir de 5 min et par conséquent, la teneur des hydrocarbures monoterpéniques décroît jusqu'à atteindre 43,36% en 30 minutes.

L'extraction des monoterpènes oxygénés est progressive au cours du temps. La courbe est croissante durant toute l'extraction. A 3 minutes, la teneur est de 16,33%. Cette dernière ne cesse d'augmenter jusqu'à atteindre un pourcentage de 36,76% en 30 minutes d'extraction.

Le trans-Caryophyllène, composé sesquiterpénique relativement lourd, est extrait dès les trois premières minutes. Son extraction est progressive au cours du temps jusqu'à atteindre un pourcentage de 3,89% en 30 minutes d'extraction.

### ***V - 1.2 Cinétique des composés majoritaires de l'huile essentielle de Romarin extraite par HD***

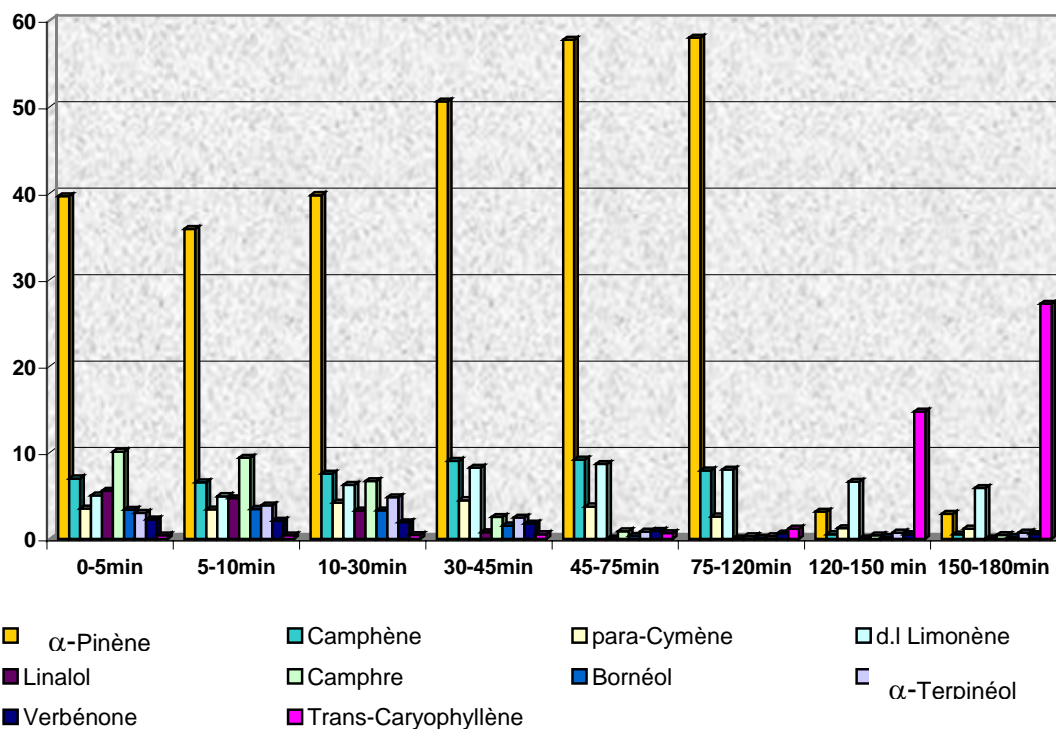
Le suivi de la cinétique d'extraction des composés majoritaires de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. par la technique d'hydrodistillation a été mené de deux manières différentes.

#### **V - 1.2.1 Cinétique des composés majoritaires lors de la même extraction HD**

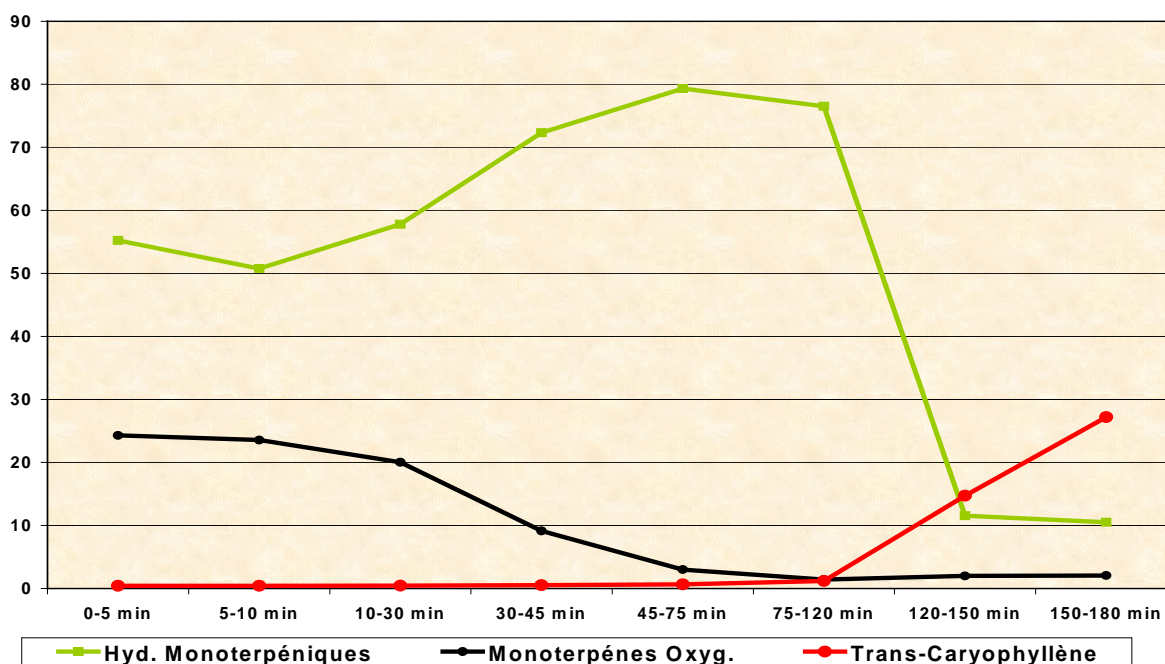
Lors de la même extraction de 200 g de plante fraîche composée de tiges fines, de feuilles et de fleurs, nous faisons des prélèvements successifs de fractions d'essence pour des intervalles de temps précis en vue d'une analyse ultérieure. La durée de l'extraction est de 3 heures. Les résultats sont regroupés dans le Tableau II.11 et illustrés conjointement par le Graphe II.6 et l'Histogramme II.3.

*Tableau II.11 : Cinétique des composés majoritaires lors de la même extraction HD*

Fraction d'H.E récupérée entre	0-5 min	5-10 min	10-30 min	30-45 min	45-75 min	75-120 min	120-150 min	150-180 min
$\alpha$ -Pinène	39,66	35,87	39,77	50,61	57,74	57,99	3,16	2,9
Camphène	7,00	6,55	7,56	9,02	9,18	7,92	0,54	0,51
para-Cymène	3,52	3,41	4,19	4,47	3,75	2,6	1,25	1,19
d.l Limonène	5,04	4,94	6,27	8,23	8,67	8,01	6,61	5,9
<b>% total hydrocarbures monoterpéniques</b>	<b>55,22</b>	<b>50,77</b>	<b>57,79</b>	<b>72,33</b>	<b>79,34</b>	<b>76,52</b>	<b>11,56</b>	<b>10,5</b>
Linalol	5,57	4,70	3,28	0,79	0,03	0,05	0,07	0,06
Camphre	10,10	9,40	6,69	2,55	0,89	0,32	0,43	0,45
Bornéol	3,37	3,46	3,29	1,55	0,33	0,12	0,23	0,25
$\alpha$ -Terpinéol	3,00	3,88	4,82	2,47	0,85	0,32	0,72	0,75
Verbénone	2,25	2,11	1,94	1,79	0,91	0,62	0,54	0,55
<b>% total des monoterpènes oxygénés</b>	<b>24,29</b>	<b>23,55</b>	<b>20,02</b>	<b>9,15</b>	<b>3,01</b>	<b>1,43</b>	<b>1,99</b>	<b>2,06</b>
<b>trans-Caryophyllène</b>	<b>0,43</b>	<b>0,43</b>	<b>0,45</b>	<b>0,54</b>	<b>0,67</b>	<b>1,19</b>	<b>14,73</b>	<b>27,2</b>



*Histogramme II.3 : Cinétique des composés majoritaires lors de la même extraction HD*



*Graphe II.6 : Cinétique des composés majoritaires lors de la même extraction HD*

## INTERPRETATION DU GRAPHE II.6

La courbe des hydrocarbures monoterpéniques est composée de trois parties :

- 1 -** La première partie de la courbe, située de 0 à 10 min, est décroissante. Elle correspondrait à l'extraction de l'huile des sites sécréteurs exogènes superficiels qui sont facilement endommagés par la température dès les premières minutes.
- 2 -** La deuxième partie de la courbe, située de 10 à 75 min, est croissante. Elle correspondrait à l'éclatement graduel des sites sécréteurs endogènes. Dans la fraction d'huile de 45 à 75 minutes, la teneur des hydrocarbures monoterpéniques est la plus grande, elle atteint une hauteur maximale de 79,34%.
- 3 -** La troisième partie de la courbe, située de 75 à 180 minutes, décroît brusquement. A 150 minutes, apparaît un point d'inflexion qui correspond à l'épuisement de la plante en hydrocarbures monoterpéniques.

La courbe des monoterpènes oxygénés est composée de deux parties :

- 1 - La première, située de 0 à 120 minutes, est décroissante. La teneur des monoterpènes oxygénés est maximale après 5 minutes d'extraction et atteint une hauteur de 24,29%. Elle est minimale durant la période allant de 75 à 120 minutes avec une hauteur de 1,43%.
- 2 - Dans la deuxième partie de la courbe, comprise entre 120 et 180 minutes, nous remarquons une légère augmentation de la teneur des monoterpènes oxygénés. Cette faible augmentation, de 1,43 à 2,06%, correspond à l'épuisement des hydrocarbures monoterpéniques qui constituent la majeure partie de l'huile essentielle dans cet intervalle de temps.

La courbe de l'évolution de la teneur du sesquiterpène trans-caryophyllène est composée de deux parties :

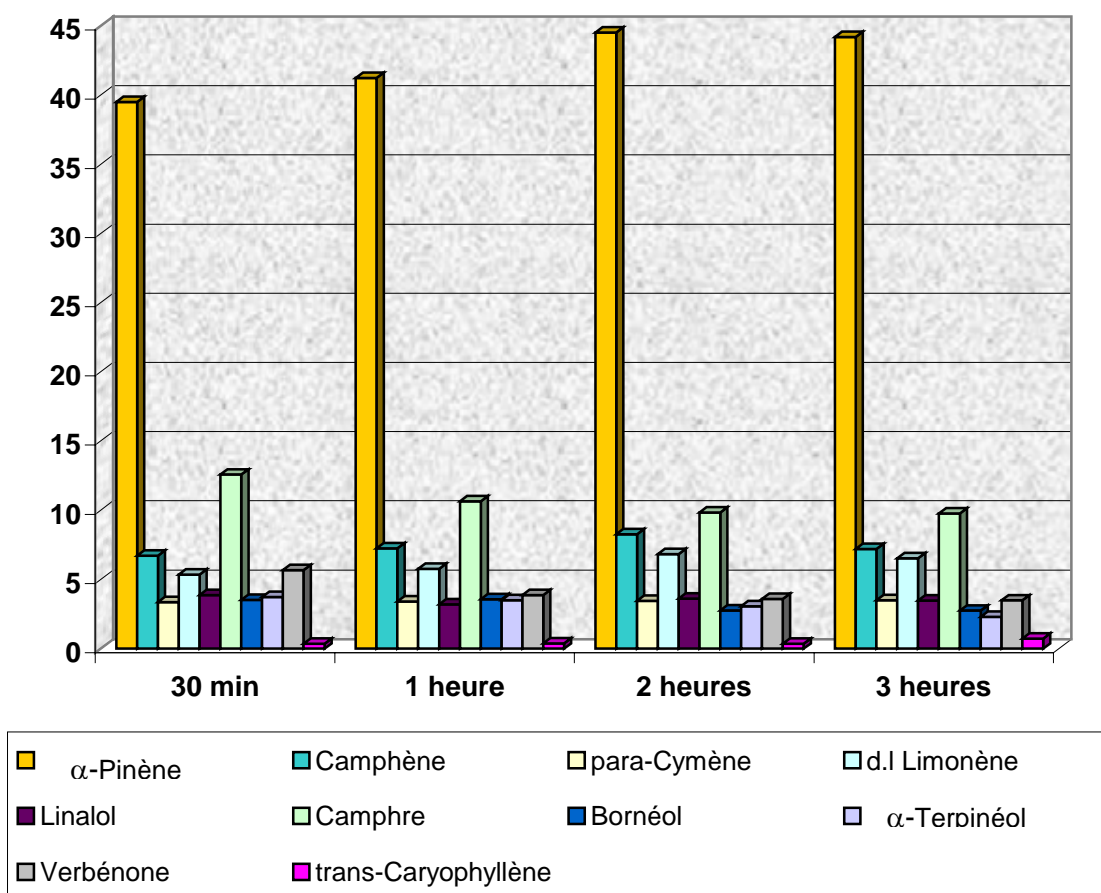
- 1 - La première partie, comprise entre 0 et 120 minutes, est croissante avec un taux tellement faible que nous pouvons considérer la courbe comme linéaire.
- 2 - La deuxième partie de la courbe, comprise entre 120 et 180 minutes, est brusquement croissante, son allure étant celle d'une fonction exponentielle.

#### **V - 1.2.2 Cinétique des composés majoritaires lors d'extractions différentes par HD**

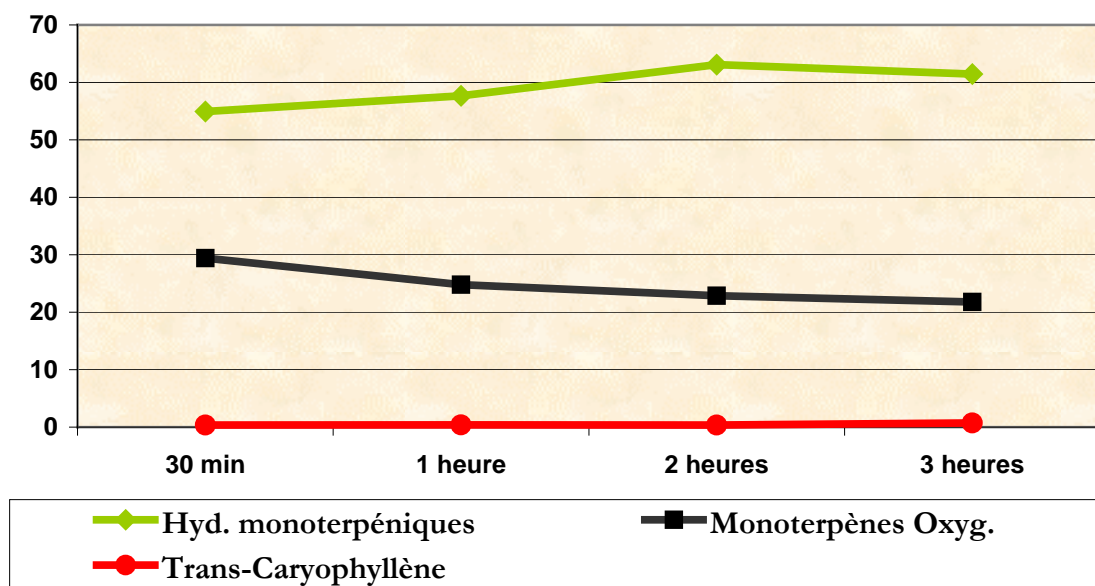
Des extractions différentes de 200 g de la partie aérienne de la plante fraîche de *Rosmarinus officinalis* L. pour des chauffes croissantes de 0,5 , 1, 2 et 3 heures sont réalisées. Les huiles essentielles récupérées à la fin de chaque extraction sont analysées. Les résultats sont reportés dans le Tableau II.12 et illustrés conjointement par le Graphe II.7 et l'Histogramme II.4.

*Tableau II.12 : Cinétique des composés majoritaires de l'huile essentielle de Romarin lors d'extractions différentes par HD*

Durée d'extraction	30 min	1 heure	2 heures	3 heures
$\alpha$ -Pinène	39,50	41,25	44,53	44,21
Camphène	6,71	7,25	8,26	7,21
para-Cymène	3,37	3,40	3,45	3,50
d.l Limonène	5,35	5,76	6,84	6,53
<b>% total hydrocarbures monoterpéniques</b>	<b>54,93</b>	<b>57,66</b>	<b>63,08</b>	<b>61,45</b>
Linalol	3,88	3,20	3,62	3,48
Camphre	12,58	10,64	9,84	9,76
Bornéol	3,53	3,58	2,76	2,75
$\alpha$ -Terpinéol	3,74	3,50	3,06	2,30
Verbénone	5,68	3,87	3,60	3,49
<b>% total monoterpènes Oxygénés</b>	<b>29,41</b>	<b>24,79</b>	<b>22,88</b>	<b>21,78</b>
trans-Caryophyllène	0,35	0,39	0,36	0,72



*Histogramme II. 4 : Cinétique des composés majoritaires de l'huile essentielle de Romarin lors d'extractions différentes par HD*



*Graphe II.7 : Cinétique des composés majoritaires de l'huile essentielle de Romarin lors d'extractions différentes par HD*

### INTERPRETATION DU GRAPHE II.7

La courbe du suivi de la cinétique des composés majoritaires des hydrocarbures monoterpéniques très volatils de l'huile essentielle hydrodistillée de *Rosmarinus officinalis* L., à des extractions indépendantes progressivement croissantes, est composée de deux parties :

- 1 - La première, comprise entre 30 minutes et 2 heures, est croissante. La teneur des hydrocarbures monoterpéniques est maximale dans l'huile essentielle extraite au bout de 2 heures.
- 2 - La deuxième partie de la courbe, comprise entre 2 et 3 heures, est décroissante et correspond à l'épuisement des hydrocarbures monoterpéniques.

La courbe des monoterpènes oxygénés est décroissante au cours du temps. Ces derniers atteignent une hauteur maximale de 29,41% en 30 minutes et une hauteur minimale de 21,78% en 3 heures.

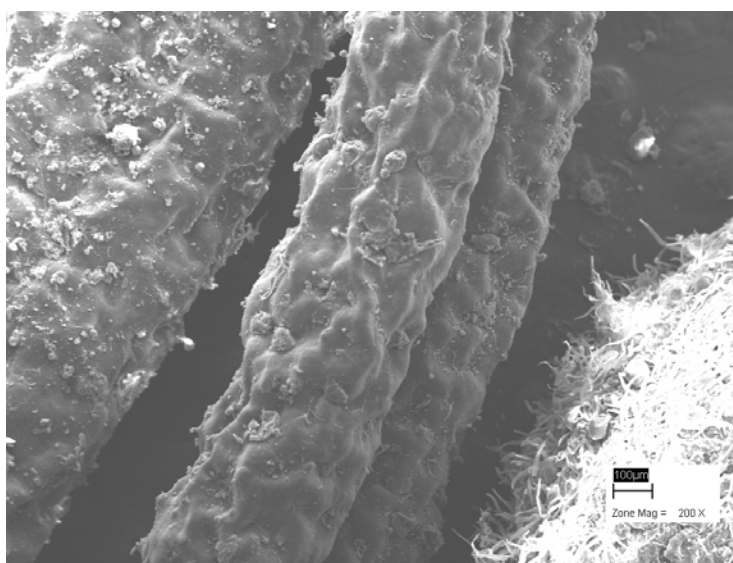
La courbe de l'évolution du trans-caryophyllène est presque constante dans l'intervalle allant de 30 minutes à 2 heures. Elle croît légèrement au-delà de 2 heures. Sa hauteur maximale est de 0,72%.

Le procédé relatif aux «prélèvements successifs des fractions d'huile essentielle au cours d'une même extraction d'une durée de 3 heures» et celui propre aux «extractions différentes de la même masse de végétal avec des durées croissant progressivement de 30 minutes à 3 heures» conduisent à des résultats identiques de la cinétique des composés majoritaires de l'huile essentielle hydrodistillée. Les hydrocarbures monoterpéniques sont extraits dès les premières minutes et marquent un sommet au bout de 2 heures d'extraction. La teneur des monoterpènes oxygénés est la plus importante au début de l'extraction et décroît progressivement jusqu'à l'épuisement de la plante en huile essentielle. L'extraction du trans-caryophyllène, composé relativement lourd de la famille des sesquiterpènes est faible durant les deux premières heures d'extraction. Elle devient relativement importante à partir de 2 heures.

## V - 2 Comparaison des surfaces foliaires observées par microscopie électronique à balayage avant et après extraction

Plusieurs photographies par microscopie électronique à balayage des différents organes de la plante *Rosmarinus officinalis* L. soumis aux deux types d'extraction ESSAM et HD ont été réalisées afin de permettre une meilleure compréhension des phénomènes d'extraction. Cette étude nous a permis d'évaluer les dommages occasionnés au tissu végétal selon la nature du chauffage utilisé.

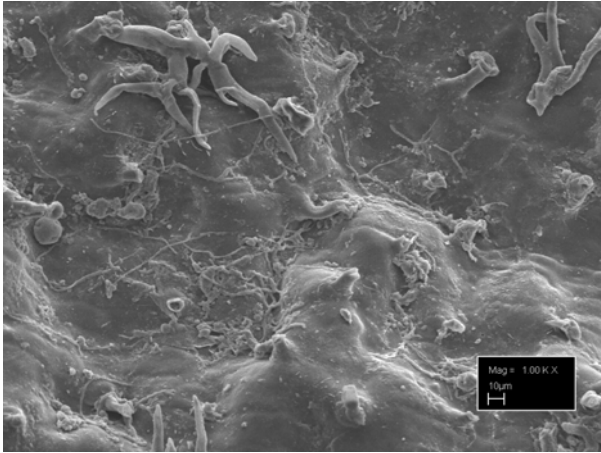
Les deux techniques ESSAM et HD présentent des effets différents sur les surfaces foliaires de *Rosmarinus officinalis* L. La micrographie de la plante fraîche non traitée illustrée par la Figure II.5 montre de gauche à droite la tige, la feuille et la fleur. Dans ces trois organes les cellules sont fermes et présentent une surface rugueuse. Des glandes unicellulaires et des poils sécréteurs apparaissent sur la tige et la feuille. Quant à la fleur, elle est recouverte de poils sécréteurs rigides.



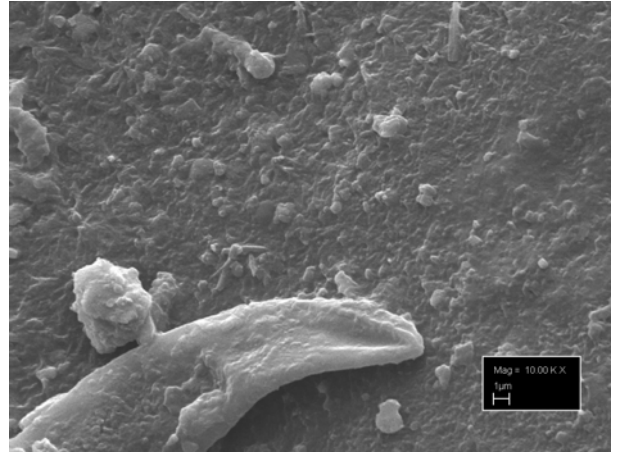
*Figure II.5 : Plante non traitée de gauche à droite : tige, feuille, fleur*

Les micrographies de la feuille et de la fleur soumises à l'extraction assistée par micro-ondes durant 15 minutes, illustrées respectivement par les Figures II.6 et II.7, montrent certaines glandes unicellulaires endommagées et d'autres encore intactes, alors que celles de la feuille et de la fleur soumises à la même technique d'extraction durant 30 minutes, illustrées respectivement par les Figures II.8 et II.9, révèlent des changements spectaculaires. La surface foliaire est fortement endommagée au point où nous ne distinguons plus les formes cellulaires qui étaient nettes dans la plante non traitée (Figure II.5).

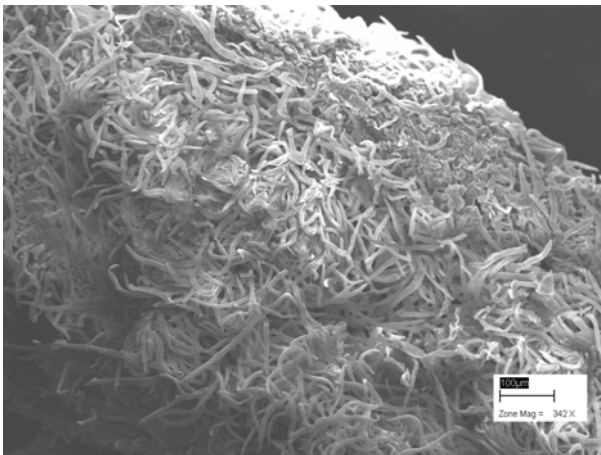
Les changements révélés sur les micrographies des deux organes feuille et fleur de la plante de *Rosmarinus officinalis* L. relevant de l'extraction assistée par micro-ondes après 30 minutes d'extraction sont très importants. Elles montrent des cellules ainsi qu'une surface foliaire très endommagées en raison de l'explosion produite au niveau de la paroi cellulaire, conséquence de l'augmentation soudaine de la température expliquée par Paré [74]. Ces dommages sont générés par des points chauds produits à l'interface des parois lors de l'irradiation par micro-ondes. En effet, quand les glandes sont sujettes à un stress thermique très sévère et à de hautes pressions localisées induites par un chauffage spécifique de type micro-ondes, la pression interne dans les glandes peut excéder leur capacité d'expansion extrême. En conséquence, une rupture plus rapide survient par rapport à celle réalisée par chauffage traditionnel dans la technique HD. Les mécanismes observés sont en accord avec ceux proposés par Paré [74] et repris par Chen et Spiro [75] au cours de l'extraction assistée par micro-ondes de feuilles de romarin en présence d'hexane. De plus, la présence de composés polaires tels que l'eau et les composés oxygénés, peut provoquer une augmentation soudaine de la température, favorisant un processus de déshydratation localisé avec une vitesse de chauffage très élevée à l'intérieur de la cellule. Ce dernier phénomène augmente la vitesse de transfert des constituants de la cellule à travers les parois cellulaires.



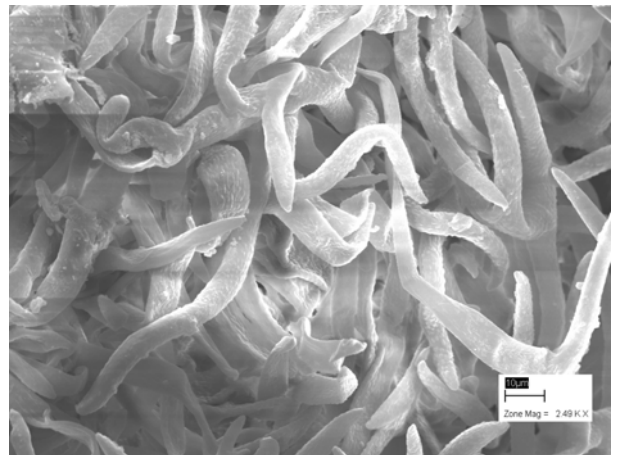
*Figure II.6 : Feuille après traitement (15 min)*



*Figure II.8 : Feuille après traitement (30 min)*



*Figure II.7 : Fleur après traitement (15 min)*



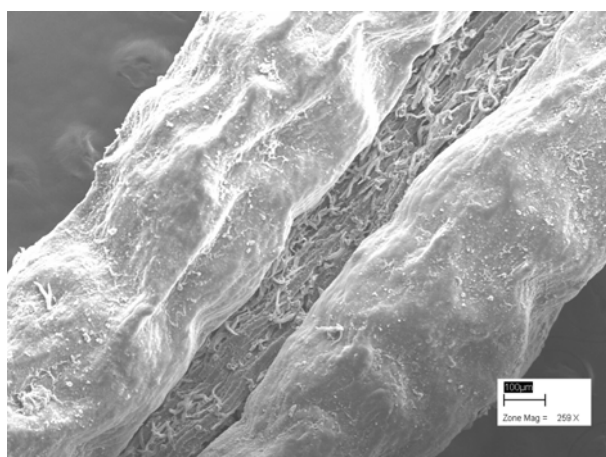
*Figure II.9 : Fleur après traitement (30 min)*

Le mécanisme d'extraction souligné par Chen et Spiro [75] propose la présence de deux mécanismes d'extraction distincts.

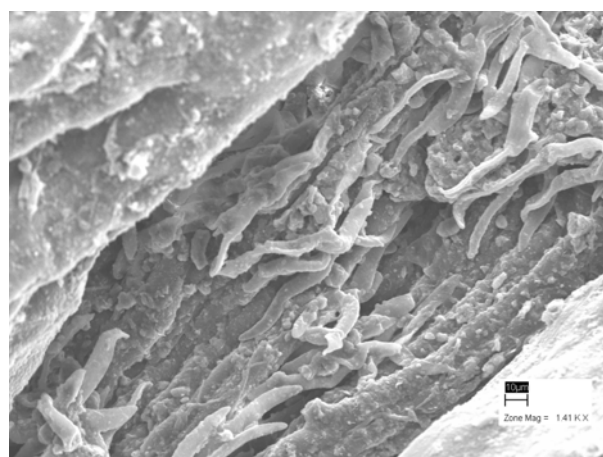
- 1 - Le premier faisant intervenir la diffusion de l'huile essentielle à travers la paroi glandulaire qui peut survenir dans toutes les procédures.
- 2 - Le second est traduit par l'exsudation rapide de l'huile dans le milieu suivie de la rupture des parois glandulaires attribuée probablement à une implosion causée soit par le processus de déshydratation proposé par Chen et Spiro [75] soit par une explosion survenue au niveau des parois cellulaires sujettes à un stress thermique très sévère, avancé par Paré et Bélanger [74].

Par ailleurs, les micrographies de la feuille et de la fleur après 1 heure d'hydrodistillation, illustrées par les figures II.10 et II.11, signalent encore la présence des cellules à huile essentielle. Même après 3 heures de traitement par la technique HD, les cellules ont gardé leurs formes initiales. Elles apparaissent, cependant, flasques donc vidées de leurs contenus comme le montrent les Figures II.12 et II.13.

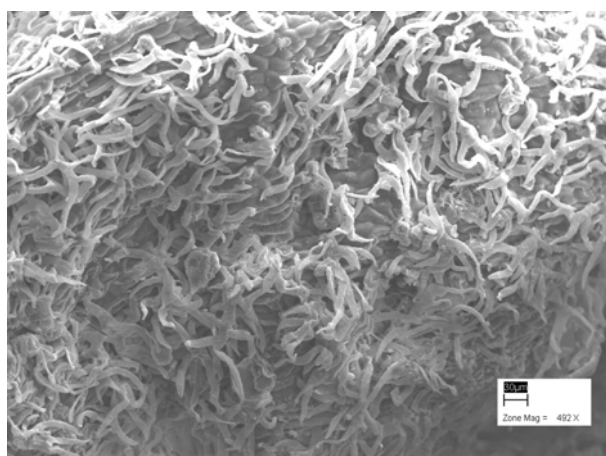
## HD



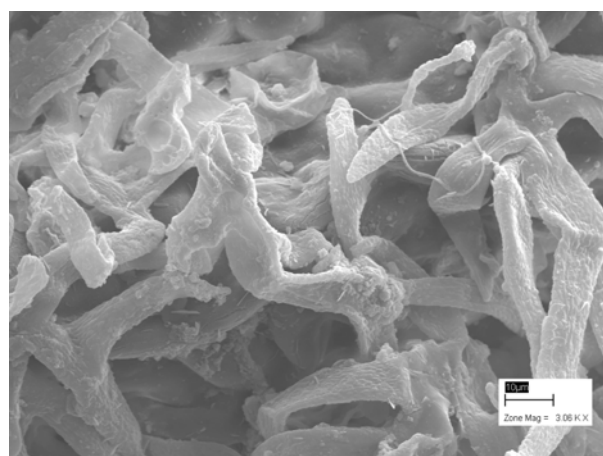
*Figure II.10 : Feuille après traitement (1h)*



*Figure II.12 : Feuille après traitement (3h)*



*Figure II.11 : Fleur après traitement (1h)*



*Figure II.13 : Fleur après traitement (3h)*

### VALORISATION DE LA TECHNIQUE EXTRACTION SANS SOLVANT ASSISTEE PAR MICRO-ONDES -ESSAM-

---

#### I - INTRODUCTION

Les huiles essentielles largement utilisées dans l'industrie des arômes, des parfums et des produits pharmaceutiques sont généralement obtenues par différentes méthodes d'extraction à partir des feuilles, des fleurs et même des tiges séchées. L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM), nouvelle technique proposée en « chimie verte », utilise la plante fraîche. Elle résulte de la combinaison d'un chauffage à micro-ondes et d'une distillation sèche à pression atmosphérique sans ajout de solvant (eau, ou autre). Une durée de 30 minutes seulement est suffisante à l'épuisement total de l'huile essentielle de Romarin. Le gain de temps et d'énergie, la performance, l'originalité et la simplicité de mise en œuvre de cette nouvelle technique d'extraction des huiles essentielles nous ont encouragés à poursuivre nos recherches sur la caractérisation du Romarin algérien selon la zone géographique où les conditions climatiques et la nature du sol sont différentes. Les travaux menés, sur ce thème, par Moretti et al. [76] ont montré les effets des propriétés du sol sur le rendement et la composition de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant en Sardaigne (Italie). D'autre part Guazzi [53], dans une étude comparative sur *Rosmarinus officinalis* L. provenant d'écosystèmes différents du Sud de l'Italie a montré des différences dans les compositions chimiques des huiles essentielles respectives.

Notre travail se propose de faire une étude chimiotaxonomique du Romarin algérien en fonction de son aire géographique. A cet effet, l'échantillonnage de quinze (15) lots de Romarin provenant de quinze (15) régions d'Algérie a été réalisé.

Nous présentons ici, les résultats des régions de Chréa, de Tébessa, de Tlemcen et de Ghardaïa, représentatives du Nord, de l'Est, de l'Ouest et du Sud du pays. Tenant compte du problème de l'influence du cycle végétatif, qui est un des facteurs de variabilité des huiles essentielles [77], la récolte a eu lieu à la même période de végétation (Novembre 2005). Pour éviter, également, l'influence du stockage de la plante sur le rendement en huile essentielle et sur la composition de celle-ci [12], les extractions des parties aériennes sont réalisées dès réception du matériel végétal.

Précédemment, dans le chapitre II, nous avons montré que sous les mêmes conditions opératoires, l'hydrodistillation classique de *Rosmarinus officinalis* L. conduisait, à rendement égal, à une huile essentielle de composition chimique

différente de celle obtenue par ESSAM, cette dernière étant plus riche en composés oxygénés, nettement plus valorisables d'un point de vue aromatique et olfactif (38,24% en ESSAM et 30,87% en HD) car très recherchée dans les domaines cosmétique et agroalimentaire.

## II - EXTRACTION

Le protocole d'extraction des différents échantillons est identique à celui décrit dans la partie expérimentale de l'extraction du romarin provenant de l'Institut National d'Agronomie INA, Alger (page 132).

## III – RESULTATS ET DISCUSSION

### III – 1 Analyse quantitative

Après avoir mesuré les taux d'humidité des différents échantillons et avoir pesé les huiles essentielles, les rendements par rapport à la plante séchée ont été calculés. Le Tableau III.1 présente les résultats des rendements en huile essentielle des différentes régions obtenues par ESSAM.

*Tableau III.1 : Rendements en huiles essentielles de Romarin de différentes régions d'Algérie après extraction par ESSAM*

Régions	Conditions climatiques *			Rendement %	Localisation Géographique
	Pluviométrie Mensuelle (mm)	Température Moyenne (°C)	Insolation Mensuelle (heure)		
INA	224	16,7	175	1,35	Nord
Ain Oussara	23	11,2	194	0,20	Sud
Bab Ezzouar	102	14,3	175	0,71	Nord
Bainem	224	16,7	175	0,30	Nord
Chlef	71	14,5	165	0,90	Ouest
Chrèa	62	10	168	0,24	Nord
Djelfa	19	13,5	190	0,49	Sud
Ghardaïa	1	17	252	0,77	Sud
Miliana	74	12,3	164	0,10	Nord
Sidi-Belabes	77	13	172	0,23	Ouest
Souk-Ahras	21	12,7	189	1,10	Est
Tébessa	32	12,5	209	1,64	Est
Tizi-Ouzou	72	14,8	161	0,62	Nord
Tlemcen	22	14,4	159	0,34	Ouest
Zéralda	224	16,7	175	0,10	Nord

\* : *Bulletin mensuel d'informations climatologiques, Office National de la Météorologie, Novembre 2005.*

Il est à noter que l'échantillon végétal de la région de Djelfa est une espèce endémique algérienne et correspond à *Rosmarinus Tournefortii de Noé*, tandis que le reste des échantillons correspond à l'espèce *Rosmarinus officinalis* L. L'identification de ces espèces a été faite par Monsieur Beloued botaniste à l'INA.

Nous constatons que le Romarin de la région de Tébessa offre le plus grand rendement (1,64%) alors que ceux des régions de Miliana et de Zéralda présentent le plus faible rendement (0,10%).

### III – 2 Analyse qualitative

Les huiles essentielles des quatre échantillons (Chrèa, Tébessa, Tlemcen et Ghardaïa) ont été analysées d'une part par chromatographie gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID) et d'autre part par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) sur une même colonne capillaire, apolaire, HP5 MS. Les conditions opératoires sont détaillées dans la partie expérimentale. Le Tableau III.2 donne, selon les familles chimiques, les compositions qualitatives et quantitatives des quatre huiles essentielles. L'identification des composés est basée sur les indices de rétention calculés à partir d'une série d'alcane allant de C<sub>5</sub> à C<sub>28</sub> injectés sous les mêmes conditions opératoires ainsi que sur le dépouillement de leurs spectres de masse à partir des ions fragments. Comme le montre l'Histogramme III.1, les huiles essentielles sont principalement constituées de composés oxygénés avec des teneurs respectives de 69,18%, 58,52%, 71,75% et 60,38% dans les échantillons de Chrèa, Tébessa, Tlemcen et Ghardaïa.

*Tableau III.2 : Compositions des huiles essentielles de Romarin originaire de quatre régions d'Algérie*

N°	Composés	I.R.R HP5MS	Chrèa	Téb.	Tlem.	Ghard.
<b>Hydrocarbures Monoterpéniques</b>						
1	Tricyclène	921	0,16	0,48	0,21	0,34
2	<b>Pinène &lt;Alpha-&gt;</b>	937	5,15	<b>9,34</b>	<b>8,18</b>	<b>7,96</b>
3	Camphène	949	1,74	6,40	3,03	6,30
4	Verbénène	953	0,88	0,15	0,89	0,57
5	Sabinène	969	-	-	-	tr
6	Pinène <Béta->	972	0,45	3,47	0,70	1,30
7	Myrcène <Béta->	989	1,17	1,91	1,40	1,00
8	Phellandrène <Alpha>	1000	0,34	0,31	0,31	0,22
9	Carène <Delta-3->	1005	1,80	0,21	1,68	-
10	Terpinène <Alpha->	1012	0,36	0,89	0,39	0,45

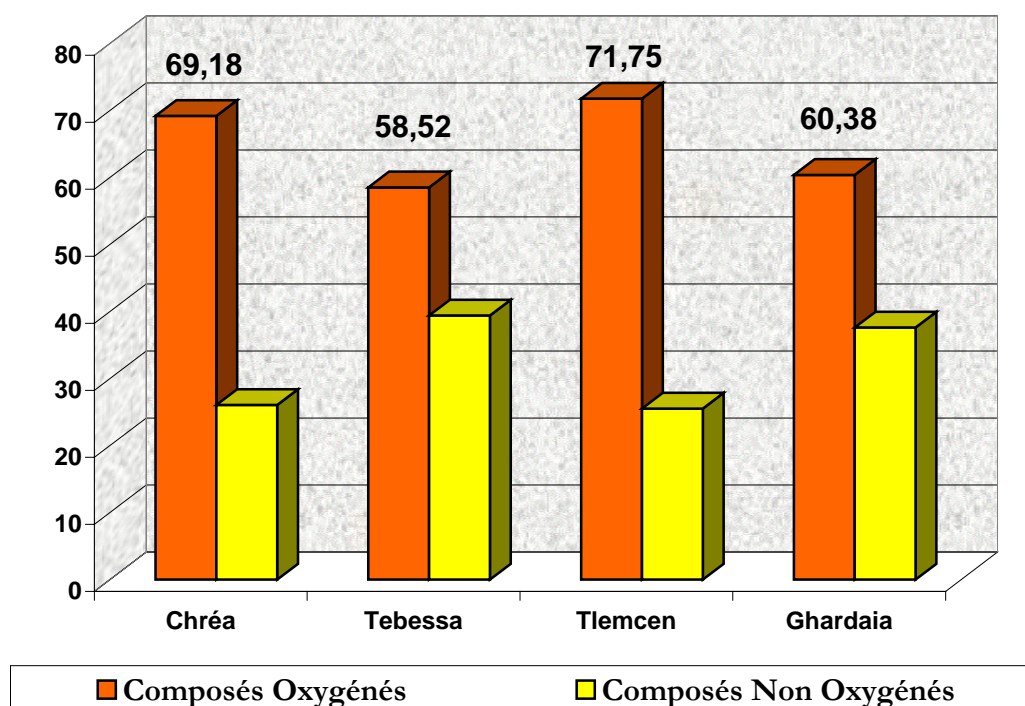
11	Cymène <Para->	1023	-	-	tr	2,90
12	dl Limonène	1027	tr	tr	tr	4,41
13	Ocimène <Béta->	1033	-	5,26	0,10	0,41
14	Ocimène <Cis->	1042	0,05	0,05	0,05	0,09
15	Cymène <Méta->	1042	0,03	-	0,04	-
16	Terpinène <Gamma->	1052	0,28	0,98	0,23	0,91
17	Terpinolène <Alpha->	1080	0,54	0,66	0,41	0,90
18	Déhydro Cymène <Para->	1081	0,32	tr	0,28	0,30
			<b>13,27</b>	<b>30,11</b>	<b>17,90</b>	<b>28,06</b>
<b>Monoterpènes Oxygénés</b>						
19	<b>1,8-Cinéole</b>	1029	9,38	<b>17,67</b>	<b>13,44</b>	tr
20	Sabinène Hydrate <Cis->	1059	0,04	0,17	0,04	0,25
21	Linalol Oxyde <Cis->	1064	0,06	0,03	0,06	-
22	Filifolone	1094	0,36	0,21	0,24	0,30
23	Linalol	1105	5,65	1,34	5,79	3,00
24	Chrysanténone	1116	0,54	-	1,12	-
25	Campholénal <Alpha->	1120	-	-	-	1,41
26	<b>Camphre</b>	1146	<b>12,23</b>	<b>14,04</b>	<b>14,19</b>	<b>22,27</b>
27	Camphène Hydrate	1147	-	tr	tr	tr
28	Isopulégol	1156	-	0,08	-	0,04
29	Pinanone <3-Trans>	1159	1,93	0,11	1,24	0,47
30	Pinocarvone	1160	tr	0,09	0,42	0,44
31	<b>Bornéol</b>	1166	<b>10,82</b>	<b>13,34</b>	<b>10,95</b>	7,60
32	Pinanone <3-Cis>	1173	-	-	-	1,12
33	Terpinéol <4->	1177	1,52	1,52	1,80	1,70
34	Campholénol <Gamma->	1181	0,30	-	-	-
35	Terpinéol <Alpha->	1189	0,57	4,44	3,45	2,25
36	Myrténol	1201	-	0,24	-	0,60
37	<b>Verbénone</b>	1205	<b>14,56</b>	1,43	<b>11,56</b>	<b>9,62</b>
38	Carvéol <Trans>	1226	tr	0,03	0,24	1,19
39	Thymol méthyl éther	1232	-	-	-	0,13
40	Citronellol	1234	1,67	-	tr	-
41	Nérol	1234	-	0,03	-	-
42	Bornyl formiate	1237	-	0,08	2,10	2,10
43	Carvone	1244	-	0,02	-	tr
44	Myrtanol <Cis>	1248	2,68	-	0,14	-
45	Sabinène hydrate acétate <Cis>	1249	-	-	-	-
46	Pipéritone	1252	-	-	-	0,30
47	Géraniol	1258	0,05	-	0,25	0,17
48	Myrtanol <Trans>	1261	0,26	-	-	-
49	Isopipéritone	1269	-	-	0,10	0,12
50	Bornyl Acétate	1281	0,82	1,25	0,97	2,25
51	Thymol	1288	0,12	0,12	0,12	0,32
52	Périllia alcool	1295	0,06	-	-	-

53	Carvacrol	1303	0,25	0,39	0,20	0,29
54	Eucarvone	1314	0,21	-	0,70	0,07
55	Verbanyl Acétate	1328	0,04	-	0,05	0,32
56	Pipéritenone	1334	0,13	0,02	0,16	0,08
57	Eugénol	1353	0,11	0,11	0,12	0,08
58	Méthyl Eugénol	1397	0,19	0,17	0,26	0,21
59	Géranyl Acétone	1444	0,35	-	0,17	0,23
			<b>64,90</b>	<b>56,93</b>	<b>69,88</b>	<b>58,93</b>
<b>Hydrocarbures sesquiterpéniques</b>						
60	Cubébène <Alpha->	1351	0,06	0,06	-	0,09
61	Ylangène	1372	0,37	0,14	0,24	0,21
62	Copaène <Alpha->	1380	1,02	0,44	0,52	0,52
63	Bourbonène <Béta->	1384	0,03	0,03	0,02	-
64	Cubébène <Béta->	1390	-	0,04	-	0,04
65	Caryophyllène <iso->	1392	-	-	0,04	0,11
66	Amorphène <Alpha->	1393	0,03	-	0,02	0,02
67	Caryophyllène <Trans->	1408	4,34	4,15	2,63	2,87
68	Gurjunène <Béta->	1432	0,14	0,12	0,09	0,10
69	Bergamotène <Alpha-Trans->	1427	0,04	0,02	0,03	0,03
70	Aromadendrène	1439	0,27	0,13	0,14	0,22
71	204 *	1441	0,05	0,02	0,03	-
72	Humulène <Alpha->	1442	1,05	0,65	0,51	0,54
73	Farnésène <E-Béta->	1447	0,13	-	0,12	0,19
74	204 *	1450	-	0,40	0,41	-
75	Murolène <Gamma->	1477	-	-	0,06	0,48
76	Curcumène <Gamma->	1480	-	-	-	0,11
77	Curcumène <Alpha->	1483	0,29	0,13	0,16	0,31
78	Valencène	1491	0,03	-	-	-
79	Zingiberène	1492	-	0,19	0,16	0,23
80	Murolène <Alpha->	1499	0,54	0,24	0,27	0,24
81	Farnésène <Alpha->	1500	0,02	0,01	-	-
82	Bisabolène <Béta->	1502	0,47	0,26	0,25	0,84
83	Cadinène <Gamma->	1510	0,84	0,42	0,42	0,55
84	Cadinène <Delta->	1524	1,90	0,92	0,89	1,10
85	Cadina-1,4-diène	1532	0,11	0,08	0,06	0,08
86	Cadinène <Alpha->	1538	0,14	0,06	0,06	0,07
87	Calacorène <Alpha->	1542	0,21	0,08	0,09	0,10
88	Calacorène <Béta->	1563	-	-	-	0,02
			<b>12,08</b>	<b>8,59</b>	<b>7,22</b>	<b>9,07</b>
<b>Sesquiterpènes Oxygénés</b>						
89	Caryophyll-5en-12-al	1552	0,13		0,07	
90	Caryophyllène Alcool <Alpha->	1565	0,10	-	-	-
91	Caryophyllène Oxyde	1580	1,22	0,59	0,50	0,43
92	Humulène Epoxyde <1,2->	1600	0,26	0,07	0,11	0,07

93	Cubénol	1618	-	0,04	-	0,05
94	Bisabolène Epoxyde <Cis-Alpha->	1621	0,15	0,06	-	-
95	Caryophylla-4(12),8(13) diène 5-ol <Béta->	1625	0,24	0,11	0,11	-
96	t-au Cadinol	1645	0,22	0,08	0,08	0,10
97	Cadinol <Alpha->	1653	0,09	0,06	0,05	0,09
98	Caryophylla-3(8)[13] diène 5-ol <Béta->	1657	0,67	0,28	0,31	0,20
99	Bisabolol <Alpha>	1673	0,27	0,12	0,13	0,14
100	Lancéol	1753	0,01	0,03	-	0,05
101	Hexahydro Farnésyl acétone	1840	0,04	-	0,01	-
102	Farnésyl acétone	1911	0,11	-	0,04	-
			<b>3,51</b>	<b>1,44</b>	<b>1,41</b>	<b>1,13</b>
<b>Diterpènes</b>						
103	270 *	1865		0,05	-	0,04
104	270 *	1890		0,09	-	0,08
105	270 *	1970	0,03	0,15	-	0,17
106	272 *	1986	0,03	0,09	0,04	0,03
107	272 *	2000	0,03	-	-	-
108	270 *	2052	0,04	-	0,02	-
			<b>0,13</b>	<b>0,38</b>	<b>0,06</b>	<b>0,32</b>
<b>Non identifiés</b>						
109	Non identifié	965	0,16	-	0,13	0,03
110	Non identifié	1072	0,06	-	0,04	-
111	Non identifié	1109	-	0,45	-	-
112	Non identifié	1236	-	-	1,45	-
113	Non identifié	1394	0,25	-	0,10	-
114	Non identifié	1776	0,11	-	-	-
			<b>0,58</b>	<b>0,45</b>	<b>1,72</b>	<b>0,03</b>
<b>Autres</b>						
115	1-Octen-3 ol	977	0,37	-	0,39	0,18
116	3-Octanone	983	tr	tr	tr	0,07
117	Benzène Acétaldéhyde	1043	0,04	-	-	-
118	3,6-Octadiénoic Acid-3,7-Diméthyl Méthyl Ester	1274	0,12	-	0,07	0,07
119	Méthyl-Jasmonate	1647	0,10	0,15	-	tr
120	Cadalène	1670	0,32	0,16	0,13	0,14
121	Pentadécanal	1704	0,05	-	-	-
122	Pentadécanol	1772	0,06	-	-	-
123	Hexadécanal	1804	0,03	-	-	-
			<b>1,09</b>	<b>0,31</b>	<b>0,59</b>	<b>0,46</b>
<b>Alcanes</b>						
124	Heptadécane	1700	0,03	-	-	-
125	Tricosane	2300	-	-	-	-
126	Tétracosane	2400	-	-	0,21	-
127	Heptacosane	2700	0,07	-	-	-

128 Octacosane	2800	0,04	-	-	-
129 Nonacosane	2900	0,12	0,16	-	0,03
		<b>0,26</b>	<b>0,16</b>	<b>0,21</b>	<b>0,03</b>
Temps d'extraction (min)		30	30	30	30
Rendement (%)		0,24	1,64	0,34	0,77
Total des composés Oxygénés		69,18	58,52	71,75	60,38
Total des composés non Oxygénés		26,06	39,40	25,52	37,62

\* : ion  $M^{+}$  du composé considéré



*Histogramme III.1 : Compositions des huiles essentielles de romarin de quatre régions*

Il ressort du Tableau III.2 que le camphre est d'une part le composé majoritaire dans les huiles essentielles de Ghardaïa (22,27%) et de Tlemcen (14,19%) et d'autre part il est le deuxième composé majoritaire (12,23%) après la verbénone (14,56%) dans l'échantillon de Chréa ainsi que dans celui de Tébessa (14,04%) après le 1,8-Cinéole (17,67%).

Nous remarquons, également, que l'eucalyptol est présent, avec un pourcentage élevé, dans les échantillons de Tébessa (17,67%), de Tlemcen (13,44%) et de Chréa (9,38%). Il est à l'état de traces dans l'échantillon de Ghardaïa. A l'inverse, le dl limonène est présent avec une teneur de 4,41% dans ce dernier échantillon alors qu'il se trouve à l'état de traces dans les trois précédents.

La verbénone, composé majoritaire dans l'échantillon de Chréa (14,56%), a respectivement une teneur de 11,56% et de 9,62% dans les échantillons de Tlemcen et de Ghardaïa et seulement de 1,43% dans l'échantillon de Tébessa.

Le bornéol, alcool bicyclique reconnu pour ses propriétés anti-oxydantes remarquables, atteint un pourcentage de 13,34% dans l'échantillon de Tébessa. Il a respectivement une teneur de 10,98%, 10,82% et 7,60% dans les échantillons de Tlemcen, de Chréa et de Ghardaïa, tandis que les autres alcools ( $\alpha$ -Terpinéol, 4-Terpinéol et Linalol) contribuent de façon moins importante dans la composition de l'huile essentielle de Romarin algérien.

Pour ce qui est des composés non oxygénés, nous constatons que les hydrocarbures monoterpéniques sont les plus prépondérants avec des teneurs respectives de 13,27%, de 30,11%, de 17,90% et de 28,06% dans les échantillons de Chréa, de Tébessa, de Tlemcen et de Ghardaïa. Ils sont représentés en majorité par l' $\alpha$ -pinène, le camphène, le  $\beta$ -myrcène, le p-cymène, le  $\beta$ -pinène et le dl limonène. Par contre, les hydrocarbures sesquiterpéniques, représentés principalement par le trans-Caryophyllène, le  $\delta$ -Cadinène, l' $\alpha$ -Humulène et l' $\alpha$ -Copaène, contribuent dans une moindre proportion à la composition de l'essence.

La connaissance des chimiotypes ou chémotypes est indispensable pour différencier les huiles essentielles d'origines diverses. Leur mise en évidence s'explique par le fait qu'une même plante aromatique bien définie synthétise une essence biochimiquement différente en fonction de divers facteurs qui peuvent influencer sur sa variabilité tels que la nature du sol, l'altitude, le soleil, les conditions climatiques et même les populations végétales avoisinantes. Il y a donc primauté des facteurs écologiques dans la sélection des chimiotypes, ce qui conduit à définir chez *Rosmarinus officinalis* L. l'existence de types biogénétiques qui correspondent à des aires géographiques bien déterminées [79]. On relève ainsi trois types :

- Type 1,8-cinéole : présent en Italie, Tunisie et Maroc. Dans les plantes de ce type, la biosynthèse se trouve presque entièrement axée vers la formation du 1,8-cinéole.
- Type camphre-bornéol : commun en Espagne. Ces deux composés sont reliés puisqu'ils appartiennent au même édifice bornane et qu'ils se déduisent l'un de l'autre par oxydo-réduction.
- Type pinène-verbénone : répandu dans le Sud Ouest Ibérique, Portugal et Espagne.

Les résultats des analyses qualitatives et quantitatives des quatre échantillons permettent de donner le classement suivant :

- Chréa : verbénone (14,56%), camphre (12,23%) et bornéol (10,82%).
- Tebessa : 1,8-cinéole (17,67%), camphre (14,04%) et bornéol (13,34%)
- Tlemcen : camphre (14,19%), 1,8 cinéole (13,44%) et verbénone (11,56%)
- Ghardaia : camphre (22,27%), verbénone (9,62%) et  $\alpha$ -pinène (7,96%).

Ils montrent qu'ils correspondent à des chémotypes nouveaux bien différenciés des trois types ci-dessus, rencontrés dans le bassin méditerranéen occidental.

Ces premiers résultats seront complétés par une étude portant sur les quinze (15) régions déjà citées en vue de l'établissement d'une cartographie nationale des chémotypes algériens de *Rosmarinus officinalis* L.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- [1] – J. A. Battandier, L. Trabut, Ed. Adolpe & Jourdan, Alger.
- [2] – R. Maire, Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord, 23, 1932.
- [3] – J.L. Rosua, A. Garcia - Grandados, Plant. Medicin. Phytother. 21, 1987.
- [4] – NT. W. S. Beniston, Ed. Entreprise Nationale du Livre, Alger, 1984.
- [5] – E. Gildmeister, F. Hoffman, Die aetherischen Oele, VII, 2, 1961.
- [6] – L. Trabaudt, Industrie de la parfumerie, 1948.
- [7] – Y. Suc, Thèse de Doctorat, Alger, 1935.
- [8] – R. Granget, J. Passet, G. Arbousset, La France et ses parfums, N°97, Vol 13, 1970.
- [9] – G. Hussain, Pak. J. Sci. Res, Vol 16 (5), 1973.
- [10] – Direction du Fonds National Forestier (Ministère de l'Hydraulique et des Forêts, Alger), Plantes à intérêt cosmétique et médicinal.
- [11] – V. E. Hartmann, P. Racine, J. Garnerio, Y. Tollard D'Audiffret, Parf. Cosm. Arôm., 36, 1980.
- [12] – C. Boutekedjiret, Thèse de Doctorat d'Etat, Ecole Nationale Polytechnique, Département de Génie Chimique, 1999.
- [13] – H. Pourrat, J. Le Men, Ann. Pharm, Fr., 2, 1953.
- [14] – R. Semrau, Inaug. Dissert., Mursche, 1958.
- [15] – M. L. Scarpati, O. Oriente, Ricerca. Sci., 28, 1958.
- [16] – C. H. Brieskom, A. Fuchs, Chem. Ber., 95, 1962.
- [17] – C. H. Brieskom, A. Fuchs, J. Org. Chem., 29, 1964.
- [18] – C. H. Brieskom, H.J.Domling, Arch. Pharm., 300, 1967.
- [19] – C. H. Brieskom, H.J.Domling, Arch. Pharm., 302, 1969.
- [20] – J. Sendra, O. Seidl, Dissert. Pharm. Pharmacol., 21 (2), 1969.
- [21] – R. Granger, J. Passet, J. C. R. Acad. Sci. Paris, 270, 1970.
- [22] – C. H. Brieskom, L. Kabelitz, Phytochem., 10, 1971.
- [23] – A. Baerhein, J. Karlsen, Praep. Pharm., 121 (9), 1971.
- [24] – R. Granger, J. Passet, Bull. Tech. Gattefosse SFPA., 66, 1971.
- [25] – B. G. Skrubis, Flav. Indust., 3, 1972.
- [26] – K. E. Rasmussen, S. Rasmussen, Pharm. Weekblad, 107, 1972.
- [27] – J. Cabo-Torres, R. Maldonado, Boll. Chim. Farm., 111, 1972.

- [28] – Z. Devetak, Zbornik simpozija Hvar u Prirodnim Znanostima, 109, 1977, Zagreb.
- [29] – J. Cardoso Dovale, A. Proenca Da Cunha, O. Roque, Boll. Fac. Farm. Coimbra, 4, 1980.
- [30] – L. Verotta, Fitoterapia, 56 (1), 1984.
- [31] – A. P. Da Cunha, O. R. Roque, Bol. Fac. Farm. Coimbra, 10 (1), 1986.
- [32] – R. S. Farag, H. Salem, A. Z. M. A. Badei, D. E. Hassanein, Fette Seifen Austrich., 60, 1986.
- [33] – A. O. Tucker, M. J. Maciarello, Flav. Fragr. J., 1, 1986.
- [34] – E. Hethelyi, P. Kaposi, J. Domonko, Z. S. Kernoczi, Acta. Pharm. Hung., 57, 1987.
- [35] – M. O. Steinmetz, M. Vial, Y. Millet, Toxicol. Clin. Exper., 7, 1987.
- [36] – G. Fournier, J. Habib, A. Reguigui, F. Safta, S. Guetari, R. Chemli, Plant. Med. Phytother., 23, 1983.
- [37] – T. Boukhalfa, Thèse de Magister, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumédiène, Faculté de Chimie, 1991.
- [38] – G. Flamini, P. L. Cioni, Rivista Ital. EPPOS., Ottavo, 1992.
- [39] – K. P. Svoboda, S. G. Deans, Flav. Fragr. J., 7, 1992.
- [40] – N. Arnold, G. Valentini, B. Bellomaria, H. Laouer, J. Essent. Oil. Res., 9, 1997.
- [41] – A. J. Kirby, R. J. Schmidt, J. Ethnopharm., 1997.
- [42] – S. A. Rezzoug, M. W. Baghdadi, N. Louka, C. Boutekdjiret, K. Allaf, Flav. Fragr. J., 13, 1998.
- [43] – C. Boutekdjiret, F. Bentahar, R. Belabbes, J. Essent. Oil. Res., 10, 1998.
- [44] – J. A. Pino, M. Estarron, V. Fuentes, J. Essent. Oil Res., 10, 1998.
- [45] – A. Basile, M. M. Jimenez-Carmona, J. Agric. Food. Chem., 46, 1998.
- [46] – E. Ibanez, A. Oca, G. De Murga, J. Agric. Food Chem., 47, 1999.
- [47] – E. Dellacassa, D. Lorenzo, P. Moyna, J. Essent. Oil Res., 11, 1999.
- [48] – A. Porte, R. L. Godoy, S. L. Gonçalves, J. Essent. Oil Res., 12, 2000.
- [49] – J. Torre, M. P. Lorenzo, M. P. Martinez, J. Chromatogr. A, 919, 2001.
- [50] – I. Tunç, B. M. Berger, J. Stored Prod. Res., 36, 2000.
- [51] – A. Elamrani, S. Zrira, J. Essent. Oil Res., 12, 2000.
- [52] – N. E. H. Benhabiles, H. Ait-Amar, Perfumer & Flavorist, 26, 2001.
- [53] – E. Guazzi, S. Maccioni, G. Flamini, J. Essent. Oil Res., 13, 2001.

- [54] – E. Serrano, T. Tinoco, F. Venâncio, J. Essent. Oil Res., 14, 2002.
- [55] – D. Djenane, A. Sanchez-Escalante, Meat Science, 64, 2003.
- [56] – M. A. Thorsen, K. S. Hildebrandt, J. Chromatogr. A, 995, 2003.
- [57] – M. Valero, M. C. Salmeron, Int. J. Food Microbiol., 85, 2003.
- [58] – R. T. Nassu, L. A. G. Gonçalves, Meat Science, 63, 2003.
- [59] – H. J. D. Dorman, A. Peltoketo, Food Chem., 83, 2003.
- [60] – S. A. Rezzoug, C. Boutekdjiret, K. Allaf, J. Food Engin., 2004.
- [61] – H. Wang, G. J. Provan, Food Chem., 87, 307-311, 2004.
- [62] – M. Wada, H. Kido, Food Chem., 87, 261-267, 2004.
- [63] – K. Ganzler, A. Salgo, K. J. Valko, J. Chromatogr., 371, 229-306, 1986.
- [64] – D. Lane, S. W. D. Jenkins, 9<sup>th</sup> International Symposium”, 1986.
- [65] – J. R. J. Pare, M. Sigomin, J. Lapointe, Brevet Européen, EP 398798, 1990.
- [66] – P. Mengal, D. Behn, M. Bellido Gil, B. Monpon, Parfums, Cosmétiques, Arômes, 114, 1993.
- [67] – A. A. Craveiro, F. J. A. Matos, J. W. Alencar, M. M. Plumel, Flav.Fragr. J., 4, 1989.
- [68] – F. Chemat, J. Smadja, M. E. Lucchesi, Brevet Européen, EP 1 439 218 A1, 2004.
- [69] – M. E. Lucchesi, F. Chemat, J. Smadja, J. Chromatogr. A, 1043, 2004.
- [70] – M. E. Lucchesi, F. Chemat, J. Smadja, Flav.Fragr. J., 19, 2004.
- [71] – E. E. Stashenko, B. E. Jaramillo, J. R. Martinez, J. Chromatogr. A, 1025, 2004.
- [72] – W. Jennings, T. Shibamoto, Academic Press, New-York, 1980.
- [73] – R. P. Adams, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 1995.
- [74] – J. R. J. Pare, M. Sigomin, J. Lapointe, US patent 5.0002.784, 1991
- [75] – S. S. Chen, M. Spiro, Flav.Fragr. J., 10, 1995.
- [76] – M. D. L. Moretti, A. T. Peana, J. Essent. Oil Res., 10, 261-267, 1998.
- [77] – C. Boutekdjiret, R. Belabbes, J. Essent. Oil Res., 11, 238-240, 1999.
- [78] – E. Guenther, The essential Oils III, 695, 1949.
- [79] – N. Abdoulhousen, Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Montpellier, Faculté de Pharmacie, 1990.

## **2<sup>ème</sup> Partie**

***Zygophyllum album L.***

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

---

### I - INTRODUCTION

La famille des Zygophyllacées comprend environ deux cent cinquante (250) espèces des régions arides du globe comme le Sahara [1]. Ce sont des espèces herbacées tel que *Zygophyllum simplex* L., plus souvent buissonnantes tels que *Zygophyllum cornutum* Coss., *Zygophyllum album* L. et dans quelques cas rares des arbres tel que Guayacum. Cette famille doit son nom à la présence de feuilles opposées (typiques du genre *Zygophyllum*), mais le caractère n'est pas général puisque d'autres types ont été progressivement introduits dans cette famille comme les Balanites, type dont le positionnement dans cette famille ne requiert pas un large consensus [2]. Elle est généralement classée dans l'ordre des Géraniales [3]. Ses caractères sont intermédiaires entre ceux des Rutacées dont elle diffère par l'absence d'appareil sécréteur et ceux des Géraniacées dont elle diffère par la présence d'un disque nectarifère. Au Sahara, la famille des Zygophyllacées est représentée par huit genres et quarante trois espèces [4] représentant 3% de la flore saharienne dont plus du tiers des espèces et variétés sont endémiques [5].

### II - CLASSIFICATION BIOSYSTEMATIQUE DE ZYGOPHYLLUM (Espèces d'Algérie)

Le *Zygophyllum* constitue le genre le plus important de la famille des *Zygophyllacées* avec environ quatre vingt (80) espèces des déserts du vieux monde. Engler distingue dans ce genre dix sept (17) sections dont deux seulement sont représentées en Afrique du Nord. Au Sahara, ces deux sections sont représentées par sept (07) espèces [2] :

- 1 - **Section Bipartia** : *Zygophyllum simplex* L.
- 2 - **Section Mediterranea** : *Zygophyllum cornutum* Coss., *Zygophyllum album* L., *Zygophyllum gaetulum* Emb. et Maire, *Zygophyllum geslini* Coss., *Zygophyllum fontanesii* Weeb. et *Zygophyllum waterlotii* Maire.

Du point de vue taxonomique, la position de ces espèces demeure confuse : les différents taxons cités précédemment représentent des espèces pour certains auteurs et seulement des sous espèces ou variétés pour d'autres. En 1900, Murbeck [6] considérait le *Zygophyllum geslini* Coss. comme une variété du *Zygophyllum album* L. de part leur grande ressemblance. Ces deux taxons, ainsi que *Zygophyllum cornutum* Coss. seront considérés plus tard au rang d'espèce par Maire en 1933 [7]. Ce dernier auteur distingue alors deux variétés pour *Zygophyllum geslini* Coss. :

- 1 - La variété genuina Maire : avec des lobes apicaux très peu déprimés et le fruit nettement arrondi.
- 2 - La variété ambigum Maire : avec des lobes apicaux peu déprimés.

Le statut d'espèce pour les trois taxons cités est maintenu par Ozenda et Quezel en 1956 [2]. Ils caractérisent le *Zygophyllum geslini* Coss. comme étant un hybride entre le *Zygophyllum album* L. et le *Zygophyllum gaetulum* Emb. en raison de sa forme intermédiaire et de sa position géographique. Plus tard en 1959 Le Houerou [8] estime que *Zygophyllum cornutum* Coss. n'est pas différent du *Zygophyllum album* L. Alors que Quezel et Santa en 1963 [9] distinguent *Zygophyllum cornutum* Coss. comme espèce à part mais classent *Zygophyllum gaetulum* Emb. et *Zygophyllum geslini* Coss. comme des sous-espèces de *Zygophyllum album* L. En 1977, Ozenda [5] revient au statut d'espèce pour *Zygophyllum album* L., *Zygophyllum geslini* Coss., et *Zygophyllum cornutum* Coss.

Le tableau suivant résume les classifications de *Zygophyllum* « espèces d'Algérie » par différents auteurs.

*Tableau III.1 : Classification des espèces Algériennes de Zygophyllum.*

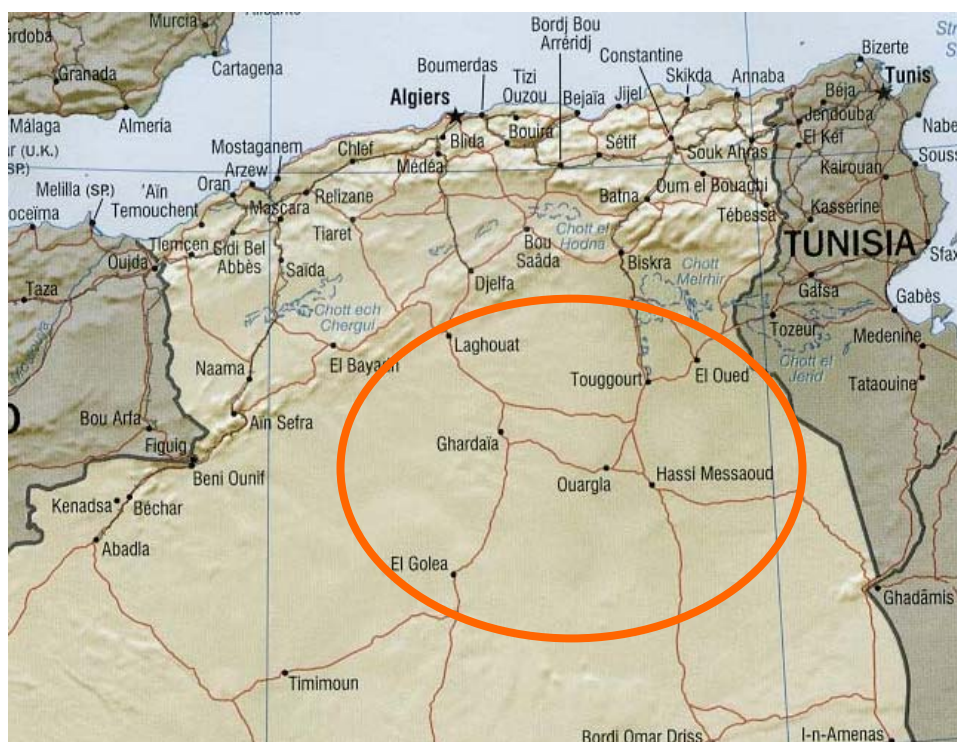
Année	Auteurs	<i>Zygophyllum Cornutum</i> Coss.	<i>Zygophyllum album</i> L.	<i>Zygophyllum geslini</i> Coss.	Réf
1900	Murbeck			Variété de <i>Zygophyllum album</i> L.	6
1933	Maire	espèce	espèce	Espèce à deux variétés : genuina, ambigum	7
1956	Ozenda et Quezel	espèce	espèce	Hybride entre <i>Zygophyllum album</i> L. et <i>Zygophyllum gaetulum</i> Emb.	2
1959	Le Houerou	Pas de différence entre <i>Zygophyllum album</i> L. et <i>Zygophyllum cornutum</i> Coss.			8
1963	Quezel et Santa	espèce	espèce	Sous espèce de <i>Zygophyllum album</i> L.	9
1977	Ozenda	espèce	espèce	espèce	5

### III- REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE ZYGOPHYLLUM AU SAHARA

En 1940, Maire signale la présence de *Zygophyllum album* L. en abondance à Touat dans la région d'Adrar [10], plus tard en 1954, Guinet annonce qu'il se trouve aussi à Igli au sud-ouest [11]. De la carte publiée sur les Zygophyllacées en Afrique du Nord et au Sahara (1956) par Quezel [2], nous relevons la répartition suivante de *Zygophyllum*.

*Tableau III.2 : Répartition géographique de Zygophyllum au Sahara.*

<i>Zygophyllum simplex</i> L.	Abondant dans le Sahara central, méridional et occidental
<i>Zygophyllum cornutum</i> Coss	Se trouve dans les hauts plateaux et les régions présahariennes du Nord-Est ; endémique région algéro-tunisienne (Biskra, Boussaâda, Oued Ghir, ...)
<i>Zygophyllum album</i> L.	Présent au Nord-Est du Sahara : Algérie (Ouargla, El Goléa,...), Tunisie, Egypte...
<i>Zygophyllum gaetulum</i> Emb. et Maire.	Endémique du Maroc
<i>Zygophyllum geslini</i> Coss.	Endémique d'Algérie
<i>Zygophyllum waterlotii</i> Maire	Endémique du Sahara occidental
<i>Zygophyllum fontanesii</i> Weeb.	Abondant à l'Ouest du Sahara : Maroc, Sahara occidental, Mauritanie.



*Figure 1 : Carte géographique du Sahara*

#### **IV - DESCRIPTION DES ESPECES ALGERIENNES DE ZYGOPHYLLUM**

Nous nous intéressons plus particulièrement aux espèces algériennes qui sont le *Zygophyllum cornutum* Coss., le *Zygophyllum album* L. et le *Zygophyllum gestini* Coss.

Le genre *Zygophyllum* comprend des espèces presque toujours vivaces, formant de petits buissons très ramifiés, dressés ou prostrés, effondrés. Les feuilles sont opposées et composées de deux folioles subcylindriques et crassulescents. Ce sont des plantes grasses qui s'adaptent aux milieux arides tels que murs et rocailles des régions chaudes et tempérées.

##### *Zygophyllum album* L.



Les tiges et les feuilles sont recouvertes de poils. Les racines sont pivotantes et très profondes. Les fleurs sont de petite taille, environ 5 mm. Elles sont légèrement plus grandes chez le *Zygophyllum cornutum* Coss. Elles sont solitaires ou géminées, de couleur blanche. Une espèce à fleur rose a toutefois été signalée en Algérie par Maire en 1933 [7].

La fleur est pentamère, pentacyclique, actinomorphe et hermaphrodite. L'androcée comprend dix (10) étamines libres disposées en deux cycles. Le fruit est une capsule loculicide dont la forme varie. Ce sont les caractères du fruit qui ont été retenus principalement par les botanistes comme organe de référence dans la détermination de l'espèce. Les graines, de petite taille, 2 à 3 mm de long sont de couleur foncée (marron-noir) et luisantes. A la loupe, leur surface apparaît toute ridée. Le hile se présente sur le côté pointu.

La détermination de l'espèce proposée par Quezel et Santa en 1963 [9] se présente comme suit :

- Fruit dilaté au sommet. Portion libre des carpelles prolongée par cinq (05) cornes divergentes : *Zygophyllum cornutum* Coss.
- Fruit non cornu à l'apex (à son extrémité). Simply dilaté en cinq (05) lobes apicaux plus ou moins saillants (apical qualifie la partie terminale de l'axe du végétal). Deux cas se présentent :
  - 1 - Pédoncule (Axe portant une fleur puis un fruit) plus court que le fruit, lobes apicaux profonds : *Zygophyllum album*. L.
  - 2 - Pédoncule plus long ou aussi long que le fruit : *Zygophyllum geslini* Coss.

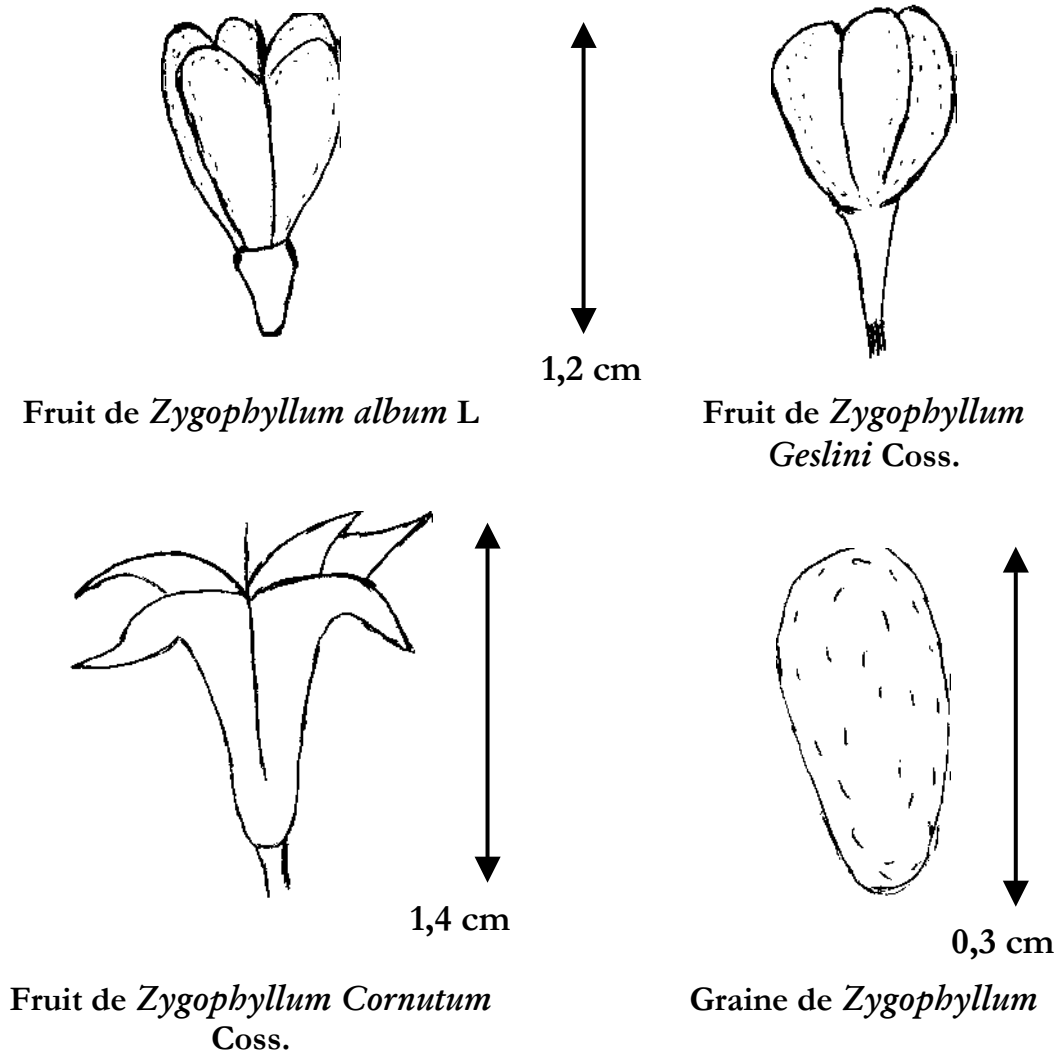


Figure 2 : Morphologie des fruits de *Zygophyllum*

#### IV- 1 Etude écologique de *Zygophyllum*

En général, les Zygophyllacées ne poussent pas dans les régions de grande altitude (au delà 1500 m) [2]. Les espèces de *Zygophyllum* d'Algérie (*Zygophyllum cornutum* Coss, *Zygophyllum album* L. et *Zygophyllum geslini* Coss) se rencontrent dans des terrains plus ou moins salés et gypseux ou chotteux, dans des lits d'oueds et cuvettes humides. Elles semblent donc attachées aux sols salés et gypseux [12,13].

Le *Zygophyllum album* L. est considéré comme une gypso-halophyte et constitue avec *Halocnemum strobilaceum* le groupement le plus halophile [14]. Par ailleurs nous constatons que le *Zygophyllum album* L. participe à plusieurs associations :

- Pseudosteppe à *Randonia africana*, associée à *Zygophyllum album* L., sur reg argilo-sableux, faciès : Type halophile [11]
- Pseudosteppe à *Salsola foetida*, associée à *Traganum nudatum*, *Saldola Sieberi* et *Zygophyllum album* L., sur sol salé un peu sec : c'est une association instable qui peut passer dans certaines conditions à la formation de *Tamarix* [11].
- Pseudosteppe arborée à *Tamarix articulata*, avec de fortes proportions de *Salsola*, *Zygophyllum* dans des vallées à fond sableux.

*Zygophyllum album* L. montre donc une pluralité écologique. Quand une espèce participe à plusieurs associations bien distinctes, nous pouvons déduire qu'elle est représentée par des types différents même si ces derniers ne sont pas immédiatement discernables [15].

#### IV- 2 Utilisations de *Zygophyllum* en plante aromatique médicinale

La médecine traditionnelle utilise de nombreuses « espèces » de *Zygophyllum*, notamment *Zygophyllum simplex* L., *Zygophyllum cornutum* Coss. et *Zygophyllum album* L. pour des traitements thérapeutiques. Les enquêtes locales montrent que les *Zygophyllums* des différentes régions sont utilisés contre le diabète. En agriculture, on a signalé d'une part l'utilisation de ces plantes comme engrais vert. En alimentation animale elles présentent l'inconvénient de rendre malades les animaux (chameaux, moutons, chèvres,...) lorsqu'elles sont broutées fraîches, alors que sèches elles seraient sans effet [16].

*Zygophyllum album* L. est utilisé contre les courbatures [7] et pour calmer la soif [17]. Associé à *Salsola verminiculata*, il est utilisé pour le soin des plaies, le traitement des caries dentaires et le diabète. Il est également utilisé pour le lavage du linge et des cheveux. Les sommités fleuries sont utilisées en infusion pour le soin du visage, la beauté du teint et la toilette corporelle des jeunes enfants [18].

### IV- 3 Travaux antérieurs sur le *Zygophyllum*

Les travaux de recherche sur ce genre de plante sont rares et irréguliers dans le temps. Ils sont classés en trois axes :

- 1 - Le premier axe regroupe les travaux portant sur les problèmes de physiologie (de la germination à la sécheresse) notamment sur *Zygophyllum album* L. [19-22].
- 2 - Le deuxième axe concerne la recherche taxonomique comme l'étude chimiotaxonomique utilisant les flavonoides comme marqueurs entreprise par El Hadidi [23] et Salah [24]. Ces deux auteurs ont mis en évidence la présence de cinq (05) aglycones flavoniques dans cette famille : le Kaempférol, la quercétine, l'isorhamnétine, l'herbacétine et l'herbacétine-8-O-méthyl éther. Ces aglycones se présentent sous forme de mono-, di-, ou triglycosides.
- 3 - Le troisième axe concerne les potentialités thérapeutiques de ces plantes. L'effet hypoglycémiant a été mis en évidence en 1958 par Perez et Paris [17]. Les découvertes d'une substance amère nommée « Zygophylline » et de l'acide quinovique, substance qui aurait une action anti-inflammatoire semblable aux cortisones, ont eu lieu dans la période allant de 1960 à 1966 [25].

L'activité expectorante de *Zygophyllum album* L. a été déterminée par Gerlack en 1967 [26]. Le pouvoir anti-fongique de *Zygophyllum album* L. a été mis en évidence par Tschesche en 1968 [27]. L'activité anti-microbienne de certaines saponines de *Zygophyllum album* L. a été montrée par Amoros en 1979 [28]. De nouvelles saponines de *Zygophyllum album* L. possédant un pouvoir anti-inflammatoire ont été identifiées par Jacker [29] et Sugishita en 1982 [30]. Des études effectuées sur *Zygophyllum album* L. ont aussi révélé la présence de saponines glycosidales et des acides oléanolique et ursolique qui ont un effet anti-tumoral et anti-leucémique [31,32].

En 1989, l'analyse de la fraction lourde de la partie aérienne de *Zygophyllum album* L. a permis de déterminer quatre (04) nouvelles saponines triterpénoides [33] :

- Acide 14-décarboxyquinovique -O-(3 →1)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside,
- Acide quinovique -(28 →1)- $\alpha$ -L- rhamnopyranosyl ester,
- Acide quinovique -O- (3 →1)- $\alpha$ -L- rhamnopyranoside,
- Acide quinovique -O- (3 →1)- $\beta$ -D-glucopyranoside,

En 1995, à partir de la fraction lourde de la partie aérienne de *Zygophyllum album* L., une nouvelle saponine de structure Acide 3-O-[ $\beta$ -D-2-O-sulphonylquinovopyranosyl]-quinovique-27-O-[  $\beta$ -D-glucopyranosyl ] ester à été mise en évidence par Hani Elgamal [34]. C'est ce qu'on appelle « **Zygothyloside F** ».

En 1997, à partir des racines de *Zygophyllum album* L., Pollman [35] a extrait deux nouvelles saponines de structures :

- **Zygothyloside G** : Acide 3-O-[ $\beta$ -D-2-O-sulphonylglucopyranosyl]-quinovique -28-O-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl] ester,
- **Zygothyloside H** : Acide 3-O-[ $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-quinovopyranosyl]-quinovique-28-O-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl] ester

Récemment, en 2004, Atta [36] a montré l'activité anti-diarrhéique de la partie aérienne de *Zygophyllum album* L.

Selon leur utilisation, ces plantes sont préparées en infusion ou en poudre dans le remède du diabète, du rhumatisme, de la goutte, de l'asthme, de l'hypertension et de la flatulence colique [37-39]. Elles ont un effet diurétique, anti-pyrétique, anesthésique et antihistaminique [40] et présentent également des activités antifongique [27], anti-tumorale et anti-leucémique grâce aux saponines glycosidales des acides oléanolique et ursolique qu'elles contiennent [31,32].

En conclusion, il est important de souligner que différentes espèces de *Zygophyllum* sont consommées par les populations dans un but thérapeutique. Il est donc primordial de vérifier, sur des taxons préalablement ciblés, tous les effets thérapeutiques accordés à ces plantes.

Si quelques travaux ont bien été engagés sur le *Zygophyllum album* L. algérien dans une optique bio-systématique, aucune étude chimiotaxonomique, à partir de l'huile essentielle, n'a été formellement réalisée à ce jour. Les rares travaux antérieurs ont été plutôt orientés vers les flavonoïdes [1,23, 24].

Les résultats contradictoires obtenus dans les essais pharmacologiques de l'effet hypoglycémiant de *Zygophyllum cornutum* Coss. [41, 42] seraient-ils dûs au choix de la méthode d'extraction ou à des qualités intrinsèques des plantes qui montreraient des effets variables? L'utilisation comparée des méthodes conventionnelles et innovantes d'extraction, à partir des huiles essentielles de *Zygophyllum album* L. qui est l'objet de notre travail permettra de répondre à cette question.

### **L'HYDRODISTILLATION ET L'EXTRACTION SANS SOLVANT ASSISTEE PAR MICRO-ONDES**

---

#### **I - INTRODUCTION**

Dans l'optique de la mise en place d'un protocole applicable à l'extraction de la fraction volatile de *Zygophyllum album* L. et de l'optimisation des rendements de l'extraction tout en conservant la qualité de l'huile essentielle, plusieurs expériences préliminaires ont été menées sur l'extraction de la partie aérienne de la plante fraîche. La technique d'extraction, la charge de matière végétale traitée, la durée d'extraction, la quantité d'eau à utiliser ainsi que la nature du solvant d'extraction sont les paramètres qui ont été modifiés au cours des expériences dans le but de trouver le meilleur compromis entre chacun d'eux.

Dans une première phase, nous avons utilisé deux procédés d'extraction :

- 1 - L'hydrodistillation HD est le procédé le plus traditionnel dans l'extraction des huiles essentielles. Il utilise l'appareil de « Clevenger ». Aujourd'hui, il est préconisé par la Pharmacopée Européenne pour l'extraction des huiles essentielles à des fins analytiques.
- 2 - L'Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-Ondes ESSAM, mise au point par le Professeur F. Chemat (Université d'Avignon, France), elle a été développée au CRAPC avec sa collaboration. Appliquée dans l'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L., elle a conduit à des résultats probants [43].

#### **II – CONDUITE DE L'HYDRODISTILLATION CLASSIQUE HD**

Pour déterminer le comportement de la plante de *Zygophyllum album* L. face au protocole d'hydrodistillation, nous avons effectué des expériences avec des masses de matières végétales variant de 200 à 450 g dans le but d'obtenir une quantité de fraction volatile suffisante pour une séparation sans solvant organique. Etant riche en saponines [29-35], l'extraction de son huile essentielle par hydrodistillation

simple devient impossible à cause du pouvoir moussant élevé de ces dernières en solution aqueuse. Dans ce milieu, l'huile est hydrosoluble. Même l'utilisation d'une grande quantité de matière végétale n'améliore pas ce résultat. Donc, une extraction ultérieure liquide-liquide avec un solvant organique s'est avérée indispensable.

L'hydrodistillation classique à pression atmosphérique a été réalisée à l'aide de l'appareil de Clevenger modifié (schématisé dans la Figure II.2, page 52). Cet appareil est fixé sur un ballon d'une capacité de 4 litres dans lequel 450 g de végétal frais ont été introduits conjointement avec 2 litres d'eau distillée puis chauffés pendant 3 heures après l'obtention de la première goutte d'huile essentielle. Grâce au système de cohobation, la quantité d'eau au sein du ballon est quasiment la même tout au long de la distillation. Le distillat formé d'une émulsion « eau-huile » est récupéré dans la partie de l'appareil prévue initialement pour la séparation de l'huile et de la phase aqueuse. Après l'ajout de quelques millilitres d'un solvant organique au distillat et agitation du mélange pour optimiser l'extraction liquide-liquide, on procède à une décantation de la phase aqueuse et de la phase organique. Une fois les deux phases séparées, on chasse le solvant par un courant d'azote. Afin de comparer l'aptitude d'extraction de la partie volatile de *Zygophyllum album* L. en fonction de la nature du solvant, on a utilisé une première fois l'éther diéthylique solvant moyennement polaire et une seconde fois l'hexane, apolaire. Dans les deux cas, l'extraction a été reprise selon les conditions opératoires définies dans le Tableau III.4.

**Tableau III.4 : Paramètres relatifs à l'extraction par hydrodistillation HD**

Paramètres	<i>Zygophyllum album</i> L.
Masse Végétale fraîche (g)	450
Type de chauffage	Chauffe ballon 1000W
Temps de chauffe (min)	45
Durée totale de l'extraction (min)	225

Dans l'extraction de la fraction volatile de *Zygophyllum album* L. par hydrodistillation classique à l'aide de l'appareil de Clevenger modifié, nous avons rencontré deux problèmes :

- 1 - L'hydrosolubilité totale de l'huile essentielle. Durant toute l'extraction une émulsion entre la phase aqueuse et la fraction volatile est observée.
- 2 - Le rendement de l'extraction est faible.

Pour améliorer ces résultats, nous avons été contraints d'explorer une autre technique qui s'adapte mieux à ce genre de plante. Dans l'optique d'obtenir une quantité d'huile essentielle suffisante pour une séparation par simple décantation et afin d'éviter au maximum l'usage de solvant pour une meilleure qualité d'huile, nous nous sommes proposés de tester la nouvelle technique d'Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes (ESSAM). Cette technique ne nécessite l'utilisation d'aucun solvant (eau ou autre).

Afin de comparer les résultats éventuels de cette technique à ceux déjà obtenus par HD, nous avons repris l'extraction de la fraction volatile avec la même quantité de la matrice végétale : 450 g de plante fraîche du même lot de *Zygophyllum album* L. utilisé en HD. Cette nouvelle technique est détaillée dans la partie II (page 50).

### **III – CONDUITE DE L'ESSAM**

Le protocole expérimental est identique à celui suivi lors de l'ESSAM de l'huile essentielle de la plante fraîche de *Rosmarinus officinalis* L. Nous mettons 450 g de la partie aérienne, lavée et coupée préalablement dans un ballon de capacité de 2 litres sans ajout d'eau que nous plaçons dans le four à micro-ondes. Le dispositif illustré dans la Figure II.1 (page 51) est fixé sur ce ballon. Initialement, nous introduisons 10 ml d'eau distillée dans la cohobe de l'essencier réservé à la récupération de l'huile essentielle afin de régénérer l'eau propre à la plante durant toute l'extraction et d'éviter la cuisson de la matrice végétale. La température initiale au sein du réacteur est voisine de la température ambiante du laboratoire, soit 20°C. Grâce au chauffage généré par la source micro-ondes qui dure 2 min 30 sec, la température de la matrice augmente jusqu'à atteindre la température de distillation sensiblement égale à 100°C, température d'ébullition de l'eau pure. La puissance du four à micro-ondes est fixée à 1000W et la durée d'extraction est de 30 minutes.

Par cette technique, nous ne sommes pas également parvenus à extraire l'huile essentielle de la phase aqueuse. Nous avons alors récupéré un distillat formé d'une émulsion « eau-huile » à laquelle nous avons ajouté quelques millilitres de solvant organique. Après agitation et décantation, la phase organique est séparée de la phase aqueuse et le solvant est chassé par un courant d'azote.

L'extraction liquide-liquide dans la technique ESSAM a été réalisée une première fois avec l'éther diéthylique et une seconde fois avec l'hexane. Les paramètres de la technique ESSAM sont regroupés dans le Tableau III.5.

**Tableau III.5 :** Paramètres relatifs à l'Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes (ESSAM).

Paramètres	<i>Zygodhylum album</i> L.
Masse Végétale fraîche (g)	450
Puissance MO appliquée (W)	1000
Temps de chauffe (min)	2,5
Durée totale de l'extraction (min)	32,5

Après calcul des rendements, les quatre extraits obtenus lors des deux techniques d'extraction, HD et ESSAM, ont été resolubilisés chacun dans son solvant d'extraction et stockés dans des flacons ambrés à + 4° C en vue de leurs analyses par chromatographie en phase gazeuse seule et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les conditions opératoires des analyses sont reportées dans la partie expérimentale.

## **IV – RESULTATS ET DISCUSSION**

### **IV - 1 Analyse quantitative**

Les résultats des rendements en fractions volatiles obtenus soit par hydrodistillation classique soit par extraction sans solvant assistée par micro-ondes sont reportés dans le Tableau III.6. Dans le cas précis de la plante fraîche de *Zygodhylum album* L., l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes a conduit à un rendement en fraction volatile supérieur à celui obtenu par hydrodistillation. Ce résultat est d'autant plus intéressant que la durée totale d'une ESSAM n'excède pas 32,5 minutes en comptant le temps de chauffage du système (2,5 minutes) alors que l'hydrodistillation classique nécessite 7 fois plus de temps (soit 45 minutes de chauffage) et 3 heures d'extraction pour épuiser la plante en fraction volatile.

Les avantages de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM) sont incontestablement le gain de temps, par conséquent une économie d'énergie et l'obtention d'une fraction volatile de qualité. Nous pouvons considérer que la composition chimique qualitative naturelle de la fraction volatile de *Zygodhylum album* L. est très proche de celle donnée par la technique ESSAM où la formation d'artefacts est minimisée par le temps réduit de l'extraction et l'absence de solvant.

**Tableau III.6 :** Rendement de la fraction volatile de *Zygophyllum album* L. par HD et par ESSAM

Techniques d'Extraction	HD		ESSAM	
	Ether	Hexane	Ether	Hexane
Solvant				
Durée moyenne de l'étape de chauffe (min)	45		2,5	
Durée totale de l'extraction (min)	225		32,5	
Aspect de la fraction volatile	Graisse pâteuse		Graisse pâteuse	
Couleur de la fraction volatile	Jaune		Jaune	
<b>Rendement %</b>	0,0015	0,0017	0,0025	0,0023

L'extraction s'effectue en deux étapes de durées inégales. L'étape de chauffage traduit l'augmentation de la température au sein du réacteur jusqu'à la température de distillation sensiblement égale à la température d'ébullition de l'eau. Cette période de chauffage est toujours de l'ordre de 2,5 min pour l'ESSAM et de l'ordre de 45 min pour l'HD. En revanche, l'étape d'extraction proprement dite durant laquelle les différents composés sont effectivement distillés est nettement plus longue (de l'ordre de 30 min pour l'ESSAM et de 3 heures pour l'hydrodistillation). Cette étape se traduit par un isotherme situé au niveau de la température de distillation de l'eau.

Dans un récent travail sur différentes variétés d'agrumes algériens, M.A. Ferhat, [44] a étudié l'effet des micro-ondes sur la morphologie et sur la modélisation de la cinétique d'extraction allié à celui de facteurs intrinsèques à la molécule aromatique prise comme modèle (température d'ébullition, solubilité dans l'eau, moment dipolaire, constante diélectrique...). Deux mécanismes possibles spécifiques à l'Extraction Sans Solvant Assistée par chauffage Micro-ondes avaient été proposés :

Le premier mécanisme serait régi par les phénomènes de solubilité du fait de la courte durée d'extraction de l'ESSAM. Les molécules oxygénées plus solubles que les hydrocarbures terpéniques seront plus facilement entraînées.

Le second mécanisme serait régi par les propriétés diélectriques (moment dipolaire) des molécules aromatiques: Les composés avec des moments dipolaires élevés s'échauffent facilement par micro-ondes et seront extraits plus facilement que ceux à moment dipolaire faible.

#### IV - 2 Analyse qualitative

Pour l'analyse qualitative de la fraction volatile de *Zygophyllum album* L., chacun des quatre extraits obtenus par les deux techniques d'extraction HD et ESSAM a été injecté d'une part sur une colonne capillaire HP5MS en chromatographie en phase gazeuse seule avec un détecteur à ionisation de flamme GC-FID et d'autre

part en chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse sur deux colonnes capillaires de polarité différente HP5MS apolaire, et Carbowax 20M moyennement polaire. Les conditions opératoires sont détaillées dans la partie expérimentale. Les compositions qualitative et semi quantitative des quatre extraits des fractions volatiles obtenus par les deux techniques HD et ESSAM sont regroupés selon leurs familles chimiques dans le Tableau III.7. Ce sont au total 178 composés différents qui ont été identifiés lors de ces analyses. Les résultats des compositions chimiques sont illustrés par l'Histogramme III.1.

#### IV – 2.1 : Composition de la fraction volatile Hydrodistillée

Les chromatogrammes des deux essences de *Zygophyllum album* L. obtenues par la technique HD classique suivie de leur extraction à l'éther diéthylique et à l'hexane, représentés dans la Figure III.1, montrent le même profil. Cent cinquante neuf (159) pics ont été recensés. Ces derniers sont apparents dans les deux chromatogrammes mais avec des teneurs différentes. Après calcul des indices de rétention et dépouillement des spectres de masse, 146 composés ont pu être identifiés. La teneur globale des composés non identifiés (6,35%) est identique pour les deux solvants examinés (Annexe II).

Dans les deux cas, la  $\beta$ -Damascénone est le constituant majeur de la fraction volatile de *Zygophyllum album* L. avec une teneur de 11,29% dans l'extrait à l'éther diéthylique et de 8,77% dans l'extrait à l'hexane. De plus, 23 composés possèdent des teneurs de 1,01% à 11,29% dans l'extrait à l'éther diéthylique et 28 composés ont des teneurs de 1,05% à 8,77% dans l'extrait à l'hexane. Le Tableau III.8 regroupe les constituants obtenus par HD dont les teneurs sont supérieures à 1% dans les deux extraits à l'éther diéthylique et à l'hexane.

Selon les familles chimiques, il ressort du Tableau III.7 que la fraction volatile hydrodistillée de *Zygophyllum album* L. est constituée principalement de composés non terpéniques regroupés dans notre travail sous la dénomination de famille «Autres». Cette dernière domine les autres familles chimiques, avec une teneur de 70,19% dans l'extrait à l'éther diéthylique et de 68,82% dans l'extrait à l'hexane.

Tous les composés au sein de cette famille sont oxygénés à l'exception du para-Xylène, du 2,4-Nonadiène (E,E), de l' $\alpha$ -Ionène, du 1,8-Nonadiène-2,7-diméthyl-5-(méthyl éthényle) et de l'Aristolène dont la somme des teneurs ne représente que 1,38% dans l'extrait à l'éther diéthylique et 3,23% dans l'extrait à l'hexane. Quelques composés relativement prépondérants de la famille «Autres» sont pyraniques tels que la  $\delta$ -Décalactone, la Massoya Lactone, l'Edulan I dihydro et l'Edulan II dihydro. Dans la fraction volatile de *Zygophyllum album* L. la présence du tertio- Butyl Hydroxy Toluène (BHT) avec une teneur de 6,16% dans l'extrait à

l'éther diéthylique et de 1,67% dans l'extrait à l'hexane ainsi que d'autres anti-oxydants, tels que la Thymoquinone et la 2,6-di-(tert-butyl)-para Benzoquinone à des teneurs moins importantes, montrent que cette plante pourrait avoir des propriétés anti-oxydantes intéressantes.

*Tableau III.7 : Composition chimique des fractions volatiles de Zygophyllum album L. obtenues par HD et ESSAM*

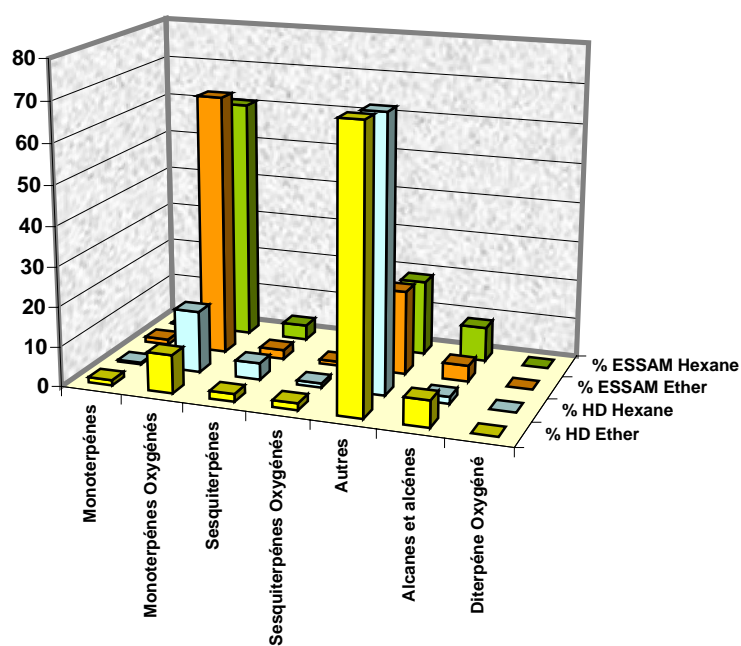
Composés	% HD	% HD	%	%
	Ether	Hexane	Ether	Hexane
<b>Hydrocarbures Monoterpéniques</b>				
1 $\alpha$ -Pinène	0,10	0,10	0,00	0,00
2 $\beta$ -Pinène	0,97	0,08	0,00	0,00
3 $\beta$ -Myrcène	tr	tr	0,00	0,00
4 d.l Limonène	0,15	0,20	1,33	0,14
5 $\gamma$ -Terpinène	0,11	0,03	0,00	0,00
6 $\alpha$ -Terpinolène	tr	tr	0,00	0,00
	<b>1,33</b>	<b>0,39</b>	<b>1,33</b>	<b>0,14</b>
<b>Monoterpènes Oxygénés</b>				
7 Eucalyptol	0,00	0,00	tr	tr
8 cis-Linalol oxyde	1,28	0,24	2,52	1,07
9 trans-Linalol oxyde	0,41	0,37	1,59	0,71
10 Linalol	0,11	0,36	5,51	7,57
11 Verbénol	0,12	0,11	0,35	0,05
12 Camphre	0,00	0,00	1,72	1,68
13 Pinocarvone	0,00	0,00	0,54	0,66
14 Bornéol	0,03	0,29	1,01	0,99
15 4-Terpinéol	0,06	0,53	1,56	1,75
16 $\alpha$ -Terpinéol	tr	tr	9,65	11,32
17 Myrténol	tr	tr	0,00	0,00
18 Safranal	3,23	4,84	0,28	0,54
19 2,2,3-Triméthylcyclopent-3-ène-1-éthanol	0,00	0,00	1,03	1,00
20 Verbénone	0,24	0,14	8,91	6,72
21 $\beta$ -Cyclo citral	0,78	0,10	tr	0,26
22 trans-Carvéol	0,02	0,97	0,86	0,71
23 Dihydro Carvéol <néo,iso>	0,03	0,11	0,00	0,00
24 Nérol	0,02	0,08	5,05	4,64
25 $\beta$ -Citronellol	0,02	0,08	0,31	tr
26 Néral	0,13	0,13	tr	tr
27 Carvone	0,09	0,00	10,63	8,52
28 Thymoquinone	0,34	1,06	0,00	0,00
29 Pipéritone	0,00	0,00	0,16	tr
30 Géraniol	0,10	0,03	9,06	7,95
31 Géraniol	0,00	0,00	4,14	2,51

32	Thymol	0,04	0,12	tr	0,72
33	Périlla alcool	0,00	0,00	0,20	tr
34	Carvacrol	0,00	0,00	tr	0,69
35	Nérylyl Acétate	0,16	0,26	0,25	0,15
36	$\Delta^3$ -Carène-2-acétyl méthyle	1,42	2,41	0,00	0,00
37	3-Oxo- $\beta$ -Ionone	tr	tr	0,00	0,00
38	Ethyl safranate	0,12	2,22	0,00	0,00
39	Géranyl Acétone	0,65	0,65	0,00	0,00
40	Géranyl Acétate	0,00	0,00	0,25	0,14
41	Trans-2-isopropyl-bicyclo-[4,3,0]-non-3-ène-8-one	tr	tr	0,00	0,00
42	Dihydroactinidiolide	0,28	0,39	0,27	0,48
		<b>9,66</b>	<b>15,48</b>	<b>65,84</b>	<b>60,82</b>
<b>Sesquiterpènes</b>					
43	trans-Caryophyllène	1,56	3,19	0,26	0,51
44	trans- $\alpha$ -Bergamotène	0,00	0,00	0,23	0,51
45	$\alpha$ -Humulène	0,00	0,00	0,11	0,17
46	$\beta$ -Farnésène	0,00	0,00	0,12	0,18
47	Allo-Aromadendrène	0,07	0,12	0,00	0,00
48	Germacrène D	0,09	0,39	0,09	0,05
49	Valencène	tr	0,12	0,15	0,22
50	$\beta$ -Bisabolène	0,00	0,00	1,21	1,80
51	trans- $\gamma$ -Bisabolène	0,16	0,18	0,00	0,00
52	cis Calaménène	0,00	0,00	0,09	0,31
53	$\alpha$ -Calacorène	0,04	0,19	0,00	0,00
		<b>1,91</b>	<b>4,19</b>	<b>2,25</b>	<b>3,74</b>
<b>Sesquiterpènes Oxygénés</b>					
54	Sesqui-Sabinène Hydrate cis	0,00	0,00	tr	0,19
55	Nérolidol (E)	0,02	0,05	tr	0,02
56	Germacrène D-4-ol	0,02	0,06	0,00	0,00
57	Spathuléol	0,01	0,07	0,03	tr
58	Caryophyllène Oxyde	0,00	0,00	0,07	0,05
59	Cubénol <1,10-di-épi>	0,33	0,08	0,40	tr
60	10 Epi- $\gamma$ -Eudesmol	0,11	0,15	0,00	0,00
61	Sesqui-Lavandulol (E)	tr	tr	0,00	0,00
62	$\beta$ -Eudesmol	0,11	0,11	0,20	0,56
63	$\alpha$ -Cadinol	0,00	0,00	0,11	0,74
64	Bisabolol oxyde	0,14	0,18	0,00	0,00
65	Iso-Cédranol <5>	0,00	0,00	0,07	0,11
66	Farnésol (Z,Z)	0,23	0,04	0,00	0,00
67	Santalol	0,00	0,00	0,10	0,05
68	Farnésol II (E,Z)	0,01	0,01	0,00	0,00
69	Lancéol (Cis)	0,04	0,03	0,00	0,00
70	Héxahydro Farnésyl acétone	0,36	0,11	0,03	0,08
71	Farnésyl acétone	0,34	0,13	0,00	0,00
		<b>1,71</b>	<b>1,01</b>	<b>1,00</b>	<b>1,80</b>

<b>Autres</b>				
72 Furfural	0,16	0,05	0,75	0,04
73 2-Hexéanal	0,12	0,07	0,00	0,00
74 para-xylène	0,05	0,05	0,06	tr
75 2-Hexen-1-ol (E)	3,59	0,66	0,00	0,00
76 Benzaldéhyde	0,01	0,02	0,00	tr
77 1-Octène-3-ol	0,01	0,01	0,00	0,00
78 Heptène-2-one <6-Méthyl-5>	0,06	tr	0,00	0,00
79 2,4-Nonadiène (E,E)	0,36	0,03	0,00	0,00
80 Benzène acétaldéhyde	0,60	0,10	0,22	tr
81 1,2-Heptanediol	0,16	0,60	0,00	0,00
82 1-Nonène-3-ol	1,35	0,62	0,00	0,00
83 1-Octanol	0,67	2,25	0,00	0,00
84 o-Gaïacol	0,00	0,00	0,18	tr
85 3,5 Diméthylbenzène Fluorure	0,00	0,00	1,43	2,97
86 Nonanal	1,58	1,33	0,00	0,00
87 Benzyl, méthyl, cétone	0,21	0,28	0,07	0,02
88 3-Nonen-2-one	4,41	6,14	0,00	0,00
89 Vératrole	0,15	0,30	0,60	tr
90 Adamantanol	0,33	0,35	0,00	0,00
91 2-Nonéanal	0,13	0,20	0,00	0,00
92 Cryptone	0,04	0,11	0,40	0,32
93 1-Oxaspiro [2,5] octane-4,4-diméthyl-8-méthylidène	0,00	0,00	0,54	1,11
94 Décanal	0,17	0,16	0,00	0,00
95 2,4 Cyclohexadiène-1-one-2,5,6,6 Tétraméthyle	0,06	0,07	0,45	0,70
96 β-Cyclo-homocitral	0,13	0,20	0,00	0,00
97 Vitispirane	1,01	1,12	0,00	0,00
98 2-Oxabicyclo [4,4,0] dec-9-ène-1,3,7,7-tétraméthyl	3,10	2,47	0,00	0,00
99 Edulan I dihydro	0,35	0,46	0,00	0,00
100 δ-Octalactone	0,00	0,00	0,86	0,73
101 Théaspirane A	0,20	0,32	0,00	0,00
102 Théaspirane B	0,23	2,80	0,00	0,00
103 o-Acétyle p-crésol	0,00	0,00	0,00	0,03
104 2,4-Décadiéanal <E,E>	0,54	1,59	0,00	0,00
105 Edulan II dihydro	0,82	1,43	0,00	0,00
106 1,1,10-Triméthyl-trans-décalone	0,18	0,39	0,00	0,00
107 1-Oxaspiro [2,5] oct-5-ène-8,8-diméthyl-4-diméthylène	0,13	0,34	0,05	0,13
108 Naphtalène-1,2-dihydro-1,1,6-triméthyl	0,13	0,41	0,00	0,00
109 α-Ionène	0,06	0,18	0,00	0,00
110 γ-Ionone	0,15	1,05	0,00	0,00
111 (Z,β)-Damascénone	0,25	0,39	0,00	0,00
112 2,6 Bis 1,1-diméthyléthyl-4,4-diméthylcyclohexa-2,5-diène-1-one	0,00	0,00	0,76	0,05
113 2H pyran-2-one,4-méthyl-6-(2-méthyl-1-propényl)	1,20	0,52	0,00	0,00
114 2-n-octyl-furanne	tr	tr	0,00	0,00
115 6-tert-Butyl-2,4-xylénol (Topanol A)	0,00	0,00	0,50	0,20
116 (E,β)-Damascénone	11,29	8,77	0,16	0,23
117 6,8-Nonadiène-2-one-2,7-diméthyl-5-(1-méthylidène)	3,71	1,52	0,00	0,00

118	1,8-Nonadiène-2,7-diméthyl-5-(méthyl éthényl)	0,74	2,96	0,00	0,00
119	$\alpha$ -Ionone	6,78	4,80	0,00	0,00
120	4-(2,6,6-triméthyl cyclohexa-1,3-diényl) butane-2-one	0,38	0,42	0,00	0,00
121	$\beta$ -Ionone époxyde	0,30	1,68	0,00	0,00
122	Mégastigma-3,5-diène-9-ol	2,56	2,53	0,05	0,28
123	Furane-2-méthyl-5-(1,1,5-triméthyl-5-héxényl)	0,93	1,34	0,00	0,00
124	1-H-Indène-1-one-2,4,5,6,7,7a hexasahydro-4,4,7a triméthyl	0,27	0,37	0,00	0,00
125	7.8-Epoxy- $\alpha$ -Ionone	tr	tr	0,00	0,00
126	2,6-di-(tert-butyl)-para benzoquinone	0,26	tr	1,09	0,47
127	2-Hydroxy- $\beta$ -Ionone	tr	0,57	0,00	0,00
128	4-Hydroxy-4-méthyl-2,5-cyclohexadiène-1-one	0,00	0,00	1,09	0,17
129	Dodécanol	tr	0,20	0,00	0,00
130	$\beta$ -Ionone	0,67	0,19	0,00	0,00
131	Massoya Lactone	2,16	3,57	0,92	1,87
132	Epoxy B H T	0,00	0,00	0,15	tr
133	$\delta$ -Décactone	7,46	4,02	2,87	5,93
134	Ionol B-H-T	6,16	1,67	5,55	0,58
135	cis Mégastigma-5,8-diène-4-one	2,35	3,49	0,47	1,14
136	Acide Laurique	0,64	2,26	0,00	0,00
137	3-Hydroxy- $\beta$ -Damascénone	0,00	0,00	0,14	0,26
138	Aristolène	0,18	0,01	tr	0,46
139	Benzène 1-(1-formyl éthyl)-4-(1-buten-3-yl)	0,10	0,10	0,00	0,00
140	14-Norcadine-5-ene-4-one	0,00	0,00	0,34	0,46
141	Acide Myristique méthyl ester	0,00	0,01	0,00	0,00
142	Acide Myristique	0,12	0,19	0,00	0,00
143	E-15-Heptadécénal	0,02	0,04	0,00	0,00
144	Nootkatone	0,00	0,00	1,04	0,61
145	Hexadécanol	0,10	0,10	tr	0,10
146	Acide hexadécanoïque méthyl ester	0,08	0,03	0,19	0,04
147	Acide palmitique	0,06	0,37	0,00	0,00
148	Acide hexadécanoïque isopropyl ester	0,06	0,55	0,04	0,03
149	Octadécanol	tr	0,01	0,00	0,00
150	Méthyl linoléate	tr	tr	0,00	0,00
151	Acide linoléique	0,10	tr	0,00	0,00
152	Eicosanol	tr	tr	0,00	0,00
153	Squalène	0,00	0,00	0,08	tr
		<b>70,19</b>	<b>68,82</b>	<b>21,05</b>	<b>18,91</b>
<b>Alcanes et alcènes</b>					
154	Pentadécane	tr	0,16	0,00	0,00
155	Hexadécane	0,24	0,12	0,03	tr
156	Heptadécène	0,13	0,10	0,00	0,00
157	Heptadécane	0,15	0,10	0,00	0,00
158	Octadécène	0,06	0,07	tr	0,05
159	Octadécane	0,10	0,09	0,02	0,01
160	Nonadécène	0,15	0,07	0,00	0,00
161	Nonadécane	0,17	0,09	0,03	0,27

162	Eicosène	0,05	0,03	0,02	0,05
163	Eicosane	0,20	0,09	0,14	0,22
164	Héneicosène	0,09	0,03	0,03	0,04
165	Héneicosane	1,14	0,33	0,74	2,49
166	Docosène	0,03	tr	0,07	0,04
167	Docosane	0,37	0,09	0,34	0,66
168	Tricosane	1,72	0,27	1,35	2,79
169	Tétracosène	0,05	tr	0,00	0,00
170	Tétracosane	0,22	0,02	0,20	0,31
171	Pentacosène	0,04	tr	0,00	0,00
172	Pentacosane	0,83	0,06	0,73	1,36
173	Hexacosène	0,02	tr	0,00	0,00
174	Hexacosane	0,13	tr	0,03	0,01
175	Heptacosane	0,46	0,01	0,31	0,32
176	Octacosane	0,25	0,01	tr	tr
177	Nonacosane	0,06	tr	0,01	tr
		<b>6,65</b>	<b>1,74</b>	<b>4,05</b>	<b>8,61</b>
<b>Diterpène Oxygéné</b>					
178	Phytol isomère	0,05	tr	0,00	0,00
		<b>0,05</b>	<b>tr</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>



■ % HD Ether   
■ % HD Hexane   
■ % ESSAM Ether   
■ % ESSAM Hexane

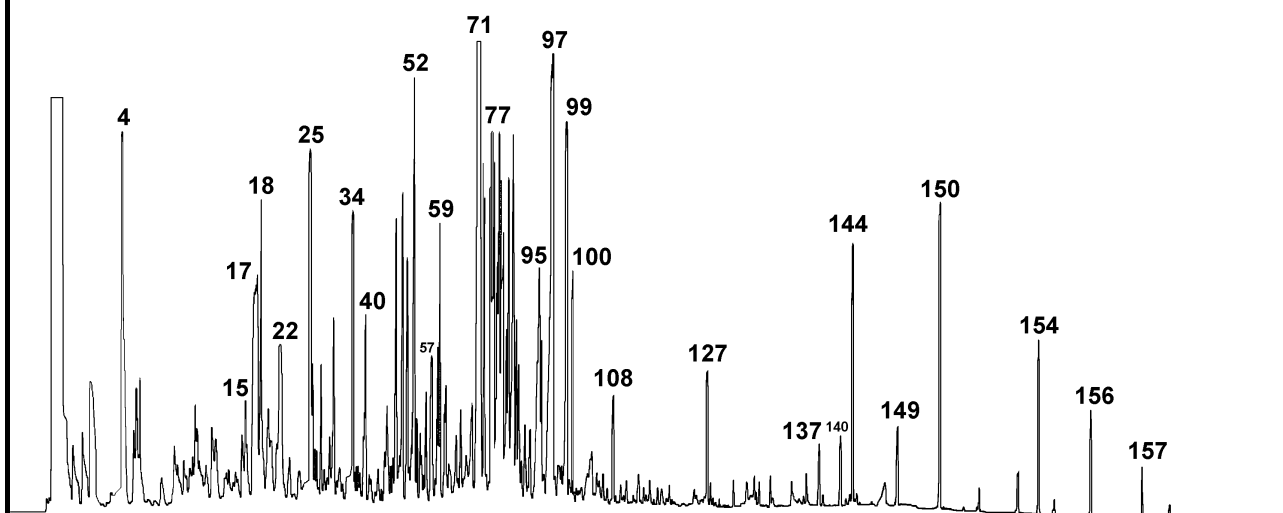
*Histogramme III.1 : Comparaison des compositions chimiques de quatre extraits de la fraction volatile de Zygophyllum album L. obtenus par HD et ESSAM*

<i>Extrait à l'éther diéthylique HD</i>		
N°	Composés	%
1	(E,β)-Damascénone	11,29
2	δ-Décalactone	7,46
3	α-Ionone	6,78
4	tert-Butyl Hydroxy Toluène (BHT)	6,16
5	3-Nonen-2-one	4,41
6	6,8-Nonadiène-2-one-2,7-diméthyl-5-(1-méthylidène)	3,71
7	2-Héxén-1-ol (E)	3,59
8	Safranal	3,23
9	2-Oxabicyclo [4,4,0] dec-9-ène-1,3,7,7-tétraméthyl	3,10
10	Mégastigma-3,5-diène-9-ol	2,56
11	cis Mégastigma-5,8-diène-4-one	2,35
12	Massoya Lactone	2,16
13	Non identifié	1,81
14	Tricosane	1,72
15	Nonanal	1,58
16	trans-Caryophyllène	1,56
17	Non identifié	1,51
18	Δ <sup>3</sup> -Carène-2-acétyle méthyl	1,42
19	1-Nonène-3-ol	1,35
20	cis-Linalol oxyde	1,28
21	2H pyran-2-one,4-méthyl-6-(2-méthyl-1-propényl)	1,20
22	Héneicosane	1,14
23	Vitispirane	1,01
<b>Teneur Totale (%)</b>		<b>72,39</b>

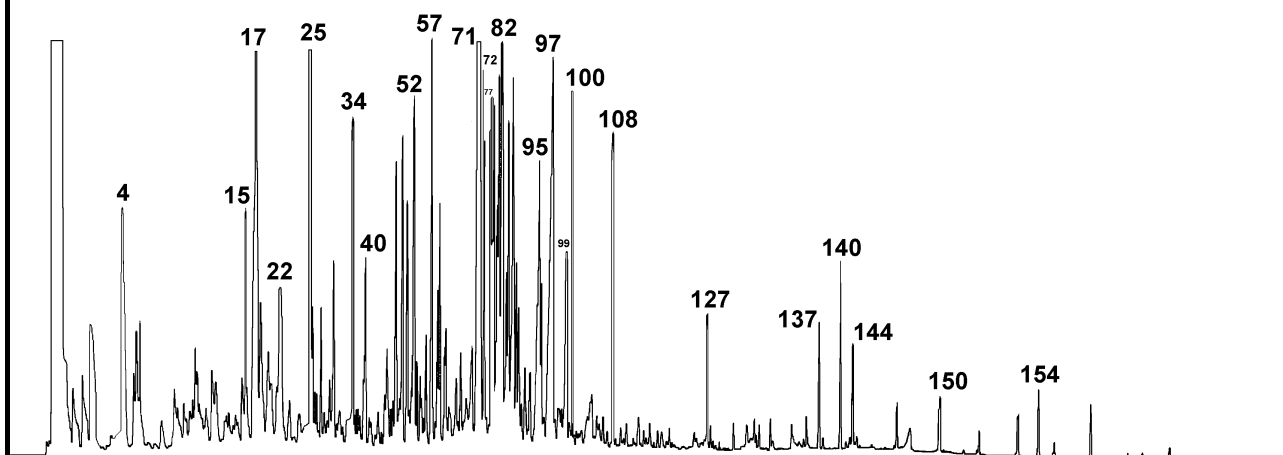
<i>Extrait à l'hexane HD</i>		
N°	Composés	%
1	(E,β)-Damascénone	8,77
2	3-Nonen-2-one	6,14
3	Safranal	4,84
4	α-Ionone	4,80
5	δ-Décalactone	4,02
6	Massoya Lactone	3,57
7	cis Mégastigma-5,8-diène-4-one	3,49
8	trans-Caryophyllène	3,19
9	1,8-Nonadiène-2,7-diméthyl-5-(méthyl éthényl)	2,96
10	Théaspirane B	2,80
11	Mégastigma-3,5-diène-9-ol	2,53
12	2-Oxabicyclo [4,4,0] dec-9-ène-1,3,7,7-tétraméthyl	2,47
13	Δ <sup>3</sup> -Carène-2-acétyle méthyl	2,41
14	Acide Laurique	2,26
15	1-Octanol	2,25
16	Ethyle safranate	2,22
17	Non identifié	1,70
18	β-Ionone époxyde	1,68
19	tert-Butyl Hydroxy Toluène (BHT)	1,67
20	2,4-Décadiénal <E,E>	1,59
21	6,8-Nonadiène-2-one-2,7-diméthyl-5-(1-méthylidène)	1,52
22	Edulan II dihydro	1,43
23	Furane-2-méthyl-5-(1,1,5-triméthyl-5-héxényl)	1,34
24	Nonanal	1,33
25	Non identifié	1,27
26	Vitispirane	1,12
27	Thymoquinone	1,06
28	γ-Ionone	1,05
<b>Teneur Totale (%)</b>		<b>75,47</b>

*Tableau III.8 : Constituants (teneurs supérieures à 1%) des deux extraits à l'éther diéthylique et à l'hexane de l'essence de Zygophyllum. album L. obtenus par HD*

*Chromatogramme de la fraction volatile de Zygophyllum. album L. par HD  
Ether diéthylique*



*Chromatogramme de la fraction volatile de Zygophyllum. album L. par HD -  
Hexane*



*Figure III.1 : Comparaison des chromatogrammes de la fraction volatile de Zygophyllum album L. extraite par HD à l'éther diéthylique et à l'hexane*

#### IV – 2.2 : Composition de la fraction volatile obtenue par ESSAM

Les chromatogrammes des deux extraits de *Zygophyllum album* L. à l'éther diéthylique et à l'hexane obtenus par la technique ESSAM sont présentés, avec le même profil, dans la Figure III.2. Les cent quatre (104) pics recensés sont présents dans les deux chromatogrammes avec des pourcentages différents. L'allure de ces chromatogrammes est différente de celle des chromatogrammes des extraits hydrodistillés. Par conséquent, la composition chimique des extraits obtenus par ESSAM sera différente de celle des extraits hydrodistillés. Le calcul des indices de rétention et le dépouillement des spectres de masse ont permis l'identification de 97 composés. Les composés non identifiés ont une teneur globale de 4,00% dans l'extrait à l'éther diéthylique et de 5,79% dans l'extrait à l'hexane (Annexe III).

La technique ESSAM conduit à une fraction volatile de *Zygophyllum album* L. composée principalement de monoterpènes oxygénés avec une teneur de 65,84% dans l'extrait à l'éther diéthylique et de 60,82% dans l'extrait à l'hexane. Elle est suivie de la famille des composés non terpéniques désignée sous le pseudonyme « Autres ».

Dans le cas de l'éther diéthylique, la carvone constitue le composé majoritaire avec une teneur de 10,63% sans prédominance particulière par rapport aux autres constituants. Elle est suivie de l' $\alpha$ -terpinéol avec une teneur de 9,64%. Vingt trois (23) composés ont des teneurs allant de 1,01% à 10,63%.

Dans le cas de l'hexane, l' $\alpha$ -terpinéol est le composé majoritaire avec une teneur de 11,32% suivi de la carvone (8,52) %. Dans ce cas, 21 composés possèdent des teneurs comprises entre 1,07% et 11,32%.

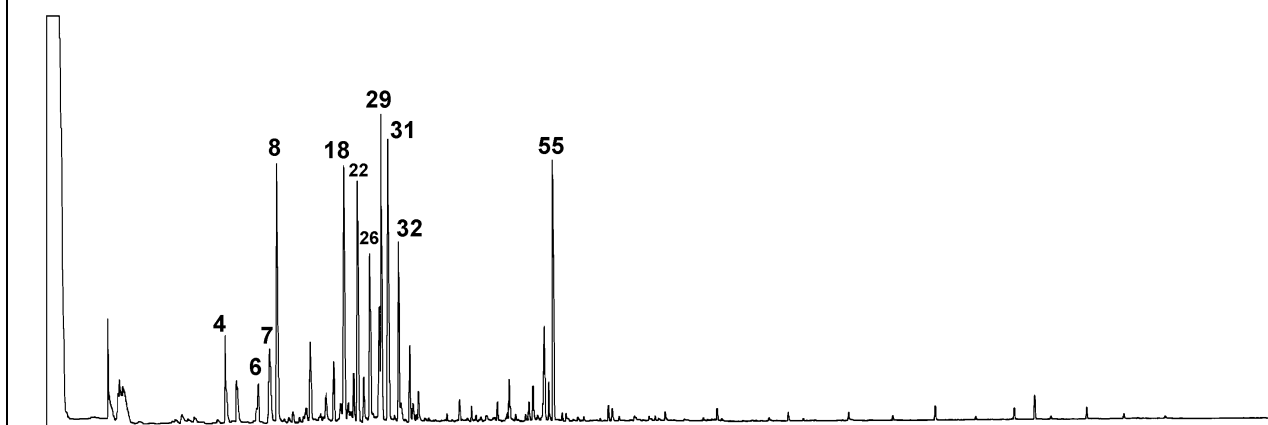
Le Tableau III.9 regroupe les constituants dont les teneurs sont supérieures à 1% des deux extraits à l'éther diéthylique et à l'hexane de l'essence de *Zygophyllum album* L. obtenus par ESSAM.

<i>Extrait à l'éther diéthylique ESSAM</i>		
N°	Composés	%
1	Carvone	10,63
2	$\alpha$ -Terpinéol	9,65
3	Géranol	9,06
4	Verbénone	8,91
5	tert-Butyl Hydroxy Toluène (BHT)	5,55
6	Linalol	5,51
7	Nérol	5,05
8	Géranial	4,14
9	$\delta$ -Décylactone	2,87
10	cis-Linalol oxyde	2,52
11	Camphre	1,72
12	trans-Linalol oxyde	1,59
13	4-Terpinéol	1,56
14	3,5 Diméthylbenzène Fluorure	1,43
15	Non identifié	1,39
16	Tricosane	1,35
17	d.l Limonène	1,33
18	$\beta$ Bisabolène	1,21
19	4-Hydroxy-4-méthyl-2,5-cyclohexadiène-1-one	1,09
20	2,6-di-(tert-butyl)-para Benzoquinone	1,09
21	Nootkatone	1,04
22	2,2,3-Triméthylcyclopent-3-ene-1-éthanol	1,03
23	Bornéol	1,01
<b>Teneur Totale</b>		<b>80,70</b>

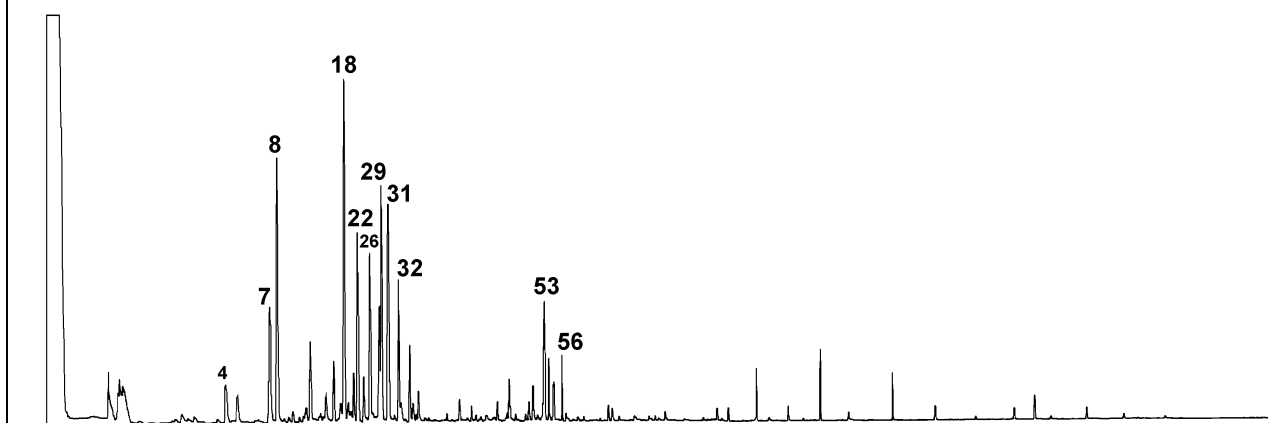
<i>Extrait à l'hexane ESSAM</i>		
N°	Composés	%
1	$\alpha$ -Terpinéol	11,32
2	Carvone	8,52
3	Géranol	7,95
4	Linalol	7,57
5	Verbénone	6,72
6	$\delta$ -Décylactone	5,93
7	Nérol	4,64
8	3,5 Diméthylbenzène Fluorure	2,97
9	Tricosane	2,79
10	Géranial	2,51
11	Héneicosane	2,49
12	Non identifié	2,26
13	Massoya Lactone	1,87
14	$\beta$ Bisabolène	1,80
15	4-Terpinéol	1,75
16	Camphre	1,68
17	Pentacosane	1,36
18	Non identifié	1,34
19	cis Mégastigma-5,8-diène-4-one	1,14
20	1-Oxaspiro [2,5] octane-4,4-diméthyl-8-méthylidène	1,11
21	cis-Linalol oxyde	1,07
<b>Teneur Totale</b>		<b>78,78</b>

*Tableau III.9 : Constituants (teneurs supérieures à 1%) des deux extraits à l'éther diéthylique et à l'hexane de l'essence de Zygophyllum album L. obtenus par ESSAM*

*Chromatogramme de la fraction volatile de Zygophyllum album L. obtenue par ESSAM - Ether diéthylique*



*Chromatogramme de la fraction volatile de Zygophyllum album L. obtenue par ESSAM - Hexane*



**Figure III.2 :** *Comparaison des chromatogrammes des extraits de Zygophyllum album L. obtenus par ESSAM à l'éther diéthylique et à l'hexane.*

# EXPLORATION D'UNE NOUVELLE TECHNIQUE DE DISTILLATION EXTRACTION SIMULTANÉES ASSISTÉES PAR MICRO-ONDES

---

## I - INTRODUCTION

Le pouvoir moussant élevé des saponines contenues dans la plante *Zygophyllum album* L. confère à son huile essentielle une hydrosolubilité importante. Cette caractéristique a fait que les deux premières techniques HD et ESSAM ne sont pas parvenues à extraire la fraction volatile de *Zygophyllum album* L. en une seule phase bien nette. Une extraction ultérieure liquide-liquide à l'aide d'un solvant organique s'est avérée indispensable pour la séparation de cette fraction du milieu aqueux. Variant entre 0,0015% et 0,0025%, les rendements d'extraction de la fraction volatile de *Zygophyllum album* L. obtenus à partir des deux techniques HD et ESSAM sont faibles. D'où pratiquement, la récupération de l'extrait aromatique même après deux extractions successives se fait toujours avec des pertes de ce dernier.

Pour résoudre ce problème, nous nous sommes proposés d'appliquer la nouvelle technique de Distillation et d'Extraction Simultanées Assistées par Micro-Ondes (DES-MO) dans l'étude de l'huile essentielle de *Zygophyllum album* L. Cette nouvelle technique a été développée pour la première fois au Centre de Recherche, scientifique et technique, en Analyse Physico-Chimique (CRAPC-Alger) [45] en collaboration avec le professeur F. Chemat (Université d'Avignon, France). Elle est basée sur le même principe que celui de la Distillation Extraction Classique conçue par Lickens & Nickerson « Simultaneous Distillation Extraction : SDE » [46]. Elle utilise un montage, en verre simple, élaboré par F. Chemat en 2004 [47]. Dans cette technique les composés volatils, libérés de la plante par l'augmentation soudaine de la température, sont entraînés par les vapeurs d'eau. Ils sont ensuite solubilisés dans un solvant organique qui se trouve au sein de l'appareillage. Ainsi, la codistillation des composés volatils emportés par les vapeurs d'eau et leur extraction du milieu aqueux se font en une étape synchrone.

Pour valoriser les résultats de cette nouvelle technique nous nous sommes proposés également d'étudier d'abord l'extraction de la fraction volatile de

*Zygophyllum album* L. par la technique classique de Distillation Extraction Simultanées SDE et de faire par la suite une étude comparative entre les deux techniques en mettant en relief les avantages de chacune à partir des compositions chimiques de la fraction volatile obtenue et des paramètres expérimentaux mis en œuvre tels que le temps d'extraction, l'intensité du chauffage, la quantité et la nature du solvant.

## II - CONDUITE DE LA DISTILLATION EXTRACTION SIMULTANÉES -SDE-

Le principe de la technique est la mise en œuvre de deux fluides à contre courant, l'eau d'une part et un solvant organique apolaire comme l'hexane d'autre part. Nous avons utilisé l'appareillage schématisé dans la Figure I.5. b (page11). Ce dernier élaboré par Lickens & Nickerson en 1964 porte le nom des deux chercheurs. Dans ce cas, par codistillation, les composés volatils sont d'abord extraits puis entraînés par la vapeur d'eau. Ils sont ensuite solubilisés dans l'hexane. La géométrie de l'appareil est telle que la vapeur d'eau aromatisée et la vapeur de solvant se rencontrent dans un réfrigérant où a lieu une extraction vapeur-vapeur. Le principe de ce procédé a été cité, auparavant, dans la partie bibliographique (page 10).

Après l'avoir lavée et coupée préalablement, la partie aérienne de la plante fraîche (composée de tiges, de feuilles et de fleurs) d'une masse de 450 g est introduite dans le premier ballon de capacité de 2 litres. Nous lui ajoutons 1 litre d'eau distillée. Dans le deuxième ballon d'une capacité de 1 litre, nous mettons 200 ml d'hexane. Après le montage de l'appareil et la mise en route de la réfrigération, les deux ballons sont portés à ébullition. Durant 3 heures d'extraction, les solvants, eau et hexane, s'écoulent dans une cohobe et se séparent en deux phases chacun vers son ballon générateur permettant ainsi un cycle continu d'extraction-séparation. Le distillat formé des deux phases est récupéré de la partie de l'appareil en forme de U. Après séparation des deux phases, on chasse l'hexane par un courant d'azote. Les paramètres expérimentaux de la technique « SDE » sont reportés dans le Tableau III.10.

**Tableau III.10** : Paramètres de la Distillation Extraction Simultanées Classique SDE

Paramètres	<i>Zygophyllum album</i> L.
Masse végétale fraîche	450 g
Type de chauffage	Chauffe ballon électrique 1000 W
Temps de chauffage de la matrice végétale	30 min
Durée de l'extraction	3 heures
Solvant	Hexane
Quantité de solvant	200 ml

### III - CONDUITE DE LA DISTILLATION EXTRACTION SIMULTANÉES ASSISTÉES PAR MICRO-ONDES DES-MO.

Nous avons utilisé le montage de l'ESSAM schématisé par la Figure II.1 (page 51) qui semble bien s'adapter à cette nouvelle technique. Son intérêt réside dans la facilité de la mise en œuvre de son montage. Contrairement à la SDE Classique qui utilise deux ballons et deux sources de chauffage, notre nouveau montage est simple car il n'utilise qu'un seul ballon et une seule source de chauffage. La petite quantité de solvant organique qui extrait les composés volatils de la phase aqueuse est introduite préalablement par l'orifice de l'essencier. Les paramètres de la DES-MO sont reportés dans le Tableau III.11.

Dans un ballon de capacité de deux litres, nous mettons 450 g de la partie aérienne de la plante fraîche, lavée et coupée, à laquelle nous ajoutons 100 ml d'eau distillée. Nous plaçons le ballon dans le four à micro-ondes. A la sortie du four, le système d'extraction composé d'un piège de vapeur, situé entre le réacteur à micro-ondes et le réfrigérant, permet au mélange « vapeur d'eau - composés volatils » de se diriger vers le réfrigérant afin d'y d'être condensé. Le mélange est ensuite dirigé vers l'essencier, qui équipé d'un système de cohobation, contient le solvant organique. La cohobe permet le retour de l'excès d'eau de façon continue à l'intérieur du ballon. Elle maintient aussi un taux d'humidité constant au sein du matériel végétal durant l'extraction tout en gardant le solvant à la surface de la phase aqueuse. La partie volatile condensée subit alors une extraction liquide-liquide au sein de l'essencier. A la fin de l'extraction, qui ne dure que 30 minutes, nous récupérons le distillat formé d'une phase aqueuse et d'une phase organique.

Sous les mêmes conditions expérimentales citées ci-dessus, la DES-MO de la partie volatile de *Zygophyllum album* L. a été réalisée en utilisant les solvants d'extraction les plus usuels de polarité différente tel que l'éther diéthylique moyennement polaire et l'hexane apolaire. Après récupération de la phase organique par décantation simple, le solvant est chassé par un courant d'azote afin de calculer le rendement par rapport à la masse du matériel végétal frais.

**Tableau III.11** : Paramètres de la Distillation Extraction Simultanées DES-MO

<i>Paramètres</i>	<i>Zygophyllum album</i> L.
<b>Solvant</b>	<b>Ether ou Hexane</b>
Masse végétale fraîche	450 g
Temps de chauffage de la matrice végétale	2,5 min
Durée de l'extraction	30 min
Quantité de solvant	10 ml

## IV - RESULTATS ET DISCUSSION

### IV - 1 Analyse Quantitative

Le Tableau III.12 présente les résultats des rendements des deux types d'extraction distillation simultanée : conventionnelle «SDE» et innovante «DES-MO».

*Tableau III.12 : Résultats des rendements des techniques SDE et DES-MO*

<i>Paramètres</i>	<i>SDE</i>	<i>DES-MO</i>	
<b>Solvant</b>	<b>Hexane</b>	<b>Ether</b>	<b>Hexane</b>
Durée moyenne de la phase de chauffage	30 min	2,5	
Durée totale de l'extraction	210 min	32,5	
Rendement (%)	0,002	0,0025	0,0027

De façon générale, il apparaît que pour la plante de *Zygophyllum album* L., les rendements en fractions volatiles issues de la nouvelle technique DES-MO sont légèrement supérieurs à ceux de la fraction volatile obtenue par la technique classique SDE. Ce résultat est d'autant plus intéressant que la quantité de solvant utilisée dans la technique DES-MO ne représente que le 1/20<sup>ième</sup> de la quantité utilisée en SDE. La durée d'extraction de cette nouvelle technique est inférieure à 1/6<sup>ième</sup> de celle de la SDE.

### IV - 2 Analyse Qualitative

Après calcul des rendements, l'extrait de la fraction volatile à l'hexane obtenu par SDE classique à l'aide de l'appareil de Lickens & Nickerson ainsi que les deux extraits, à l'éther diéthylique et à l'hexane, obtenus par la nouvelle technique Distillation Extraction Simultanées Assistée par Micro-Ondes ont été resolubilisés chacun dans son solvant d'extraction. Ils ont été ensuite analysés par chromatographie en phase gazeuse seule et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les conditions opératoires des analyses sont citées dans la partie expérimentale.

Les compositions qualitative et semi-quantitative des trois extraits des fractions volatiles obtenues par les deux techniques DES-MO et SDE sont citées selon les familles chimiques dans le Tableau III.13. Ce sont au total 200 molécules aromatiques différentes qui ont été identifiées lors des analyses des extraits obtenus par les deux techniques. Les compositions selon les familles chimiques sont illustrées par l'Histogramme III.2.

*Tableau III.13 : Compositions chimiques des fractions volatiles de Zygophyllum album L. obtenues par DES-MO et SDE*

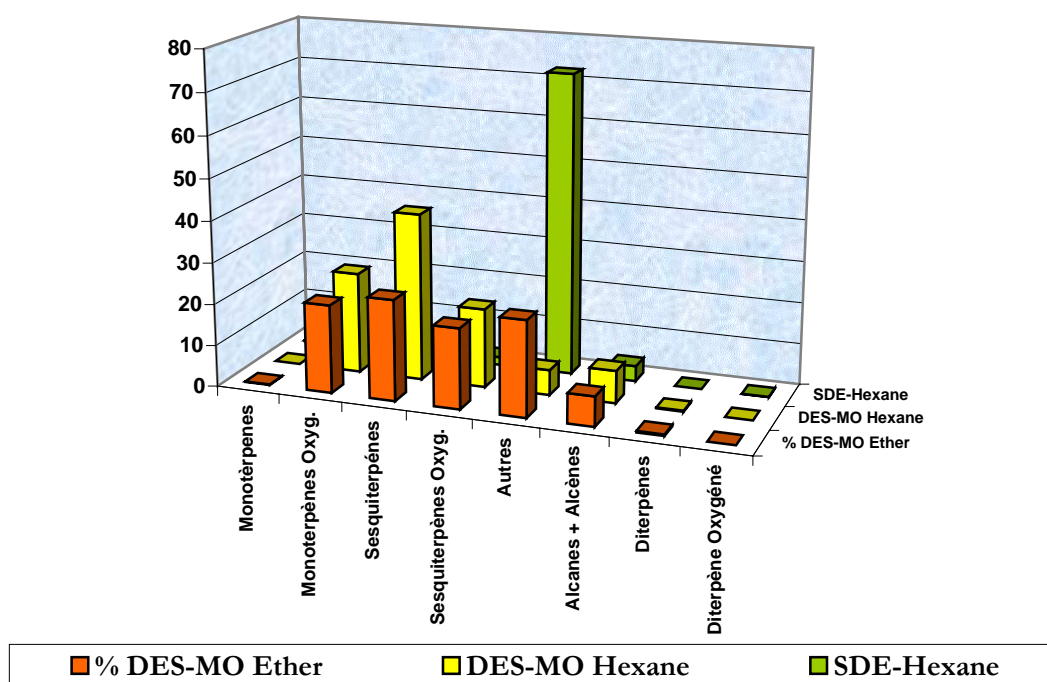
N°	Composés	%	%	%
		SDE	DES-MO Ether	DES-MO Hexane
<b>Hydrocarbures Monoterpéniques</b>				
1	$\alpha$ -Pinène	tr	0,00	0,00
2	$\beta$ -Pinène	0,06	0,00	0,00
3	$\beta$ -Myrcène	tr	tr	tr
4	p-Cymène	0,00	tr	tr
5	d.l Limonène	0,06	0,06	tr
6	$\gamma$ -Terpinène	0,09	0,00	tr
7	$\alpha$ -Terpinolène	0,00	0,06	tr
		<b>0,21</b>	<b>0,12</b>	<b>0,00</b>
<b>Monoterpènes Oxygénés</b>				
8	cis-Linalol oxyde	0,07	0,00	0,00
9	trans-Linalol oxyde	0,12	0,00	0,00
10	Linalol	0,17	0,03	0,03
11	$\alpha$ -Cyclocitral	0,31	0,00	0,00
12	Verbénol	0,13	0,00	0,00
13	Bornéol	0,07	0,36	0,09
14	4-Terpinéol	0,15	0,21	0,06
15	$\alpha$ -Terpinéol	tr	1,25	0,71
16	Myrténol	tr	0,20	tr
17	Safranal	2,38	tr	tr
18	2,2,3-Triméthyl cyclopent-3-ène -1- éthanol	0,00	0,88	0,46
19	Verbénone	0,24	0,82	tr
20	$\beta$ -Cyclo citral	0,62	tr	tr
21	trans-Carvéol	0,35	0,16	0,03
22	Dihydro carvéol <neo,iso>	0,11	0,00	0,00
23	Nérol	0,10	1,98	2,37
24	$\beta$ -Citronellol	0,08	0,00	0,00
25	Néral	0,18	1,65	0,77
26	Carvone	tr	1,29	0,51
27	Thymoquinone	0,46	0,07	tr
28	Géraniol	0,20	3,07	4,15
29	Géranial	0,00	1,96	2,19
30	Bornyl Acétate	0,00	0,10	0,03
31	Thymol	0,19	0,01	tr
32	Carvacrol	0,00	0,14	0,05
33	Citronellyl acétate	0,00	0,20	0,28
34	Néryl Acétate	0,25	3,65	6,62
35	$\Delta^3$ -Carène-2-acétyl méthyl	2,54	0,00	0,00
36	Géranyl Acétate	0,00	2,89	5,96

37	3-Oxo- $\beta$ -Ionone	tr	0,00	0,00
38	Méthyl Eugénol	0,00	0,38	0,03
39	Ethyl safranate	0,73	0,00	0,00
40	Géranyl Acétone	0,98	0,00	0,00
41	Dihydroactinidiolide	0,66	0,00	0,00
		<b>11,06</b>	<b>21,27</b>	<b>24,33</b>
<b>Sesquiterpènes</b>				
42	Bicyclo élémène	0,00	0,27	0,57
43	$\beta$ -Elémène	0,00	0,11	0,17
44	Longifolène	0,00	0,00	0,12
45	trans-Caryophyllène	1,69	2,55	4,59
46	Trans- $\alpha$ -Bergomotène	0,00	2,31	5,31
47	Aromadendrène	0,00	0,00	0,13
48	$\alpha$ -Humulène	0,00	0,81	1,59
49	$\beta$ -Farnésène (E)	0,00	0,83	1,52
50	Alloaromadendrène	0,17	0,00	0,13
51	Germacrène D	0,20	0,95	0,50
52	$\alpha$ -Curcumène	0,00	tr	1,78
53	Valencène	0,10	0,93	2,14
54	Bicyclogermacrène	0,00	0,81	0,96
55	cis- $\alpha$ -Bisabolène	0,00	0,78	0,03
56	$\beta$ -Bisabolène	0,00	11,99	17,41
57	$\gamma$ -Cadinène	0,00	0,00	0,25
58	cis-Calamenène	0,00	0,95	1,51
59	$\delta$ -Cadinène	0,00	0,11	0,15
60	trans- $\gamma$ -Bisabolène	0,27	0,86	0,12
61	$\alpha$ -Calacorène	0,23	0,04	1,24
62	Germacrène B	0,00	0,00	0,09
63	Cadalène	0,00	tr	tr
		<b>2,65</b>	<b>24,30</b>	<b>40,31</b>
<b>Sesquiterpènes Oxygénés</b>				
64	Sesquisabinène hydrate (cis)	0,00	0,17	0,07
65	Nérolidol (E)	0,07	0,25	0,21
66	Germacrène D-4-ol	0,12	0,16	0,24
67	Spathulénol	0,07	0,14	0,08
68	Caryophyllène Oxyde	0,00	1,12	1,15
69	Humulène 1,2 Epoxyde	0,00	0,34	0,32
70	Cubénol <1,10-di-épi>	tr	0,75	0,00
71	10 Epi- $\gamma$ -Eudesmol	0,21	0,94	1,42
72	Sesquilavandulol (E)	0,10	0,89	0,70
73	Caryophylla-4(12),8(13) diène 5 $\beta$ -ol	0,00	0,22	0,11
74	Cadinol épi-a	0,00	0,55	0,38
75	$\beta$ -Eudesmol	0,17	1,74	0,87

76	Bisabolol Oxyde	0,16	0,00	0,00
77	$\alpha$ -Cadinol	0,00	3,30	4,01
78	Isoaromadendrène Epoxyde	0,29	0,00	0,00
79	Isocédranol <5>	0,00	2,53	3,03
80	□□ Bisabolol	0,00	2,35	4,56
81	Aromadendrène Oxyde II	0,00	0,19	0,08
82	Farnésol (Z,Z)	tr	0,34	0,32
83	Farnésal (E,E)	0,00	0,21	0,19
84	Santalol <E,Béta>	0,00	2,10	0,58
85	Farnésol II (E,Z)	0,08	0,26	0,14
86	Lancéol (Cis)	0,08	0,27	0,23
87	Héxahydro Farnésyl acétone	0,29	0,25	0,15
88	Farnésyl acétone	0,29	0,29	0,19
		<b>1,94</b>	<b>19,35</b>	<b>19,02</b>
<i>Diterpènes</i>				
89	Primara-8(9),15-diène	0,00	0,21	0,18
90	Déhydro Abiétane	0,00	0,14	0,06
		<b>0,00</b>	<b>0,35</b>	<b>0,25</b>
<i>Autres</i>				
91	Para-Xylène	0,00	0,00	0,00
92	Furfural	0,02	0,00	0,00
93	2-Héxénal	0,01	0,00	0,00
94	2-Héxén-1-ol (E)	0,33	0,00	0,00
95	Benzaldéhyde	0,02	0,00	0,00
96	1-Octène-3-ol	0,06	0,00	0,00
97	Heptène-2-one <6-Méthyl-5>	tr	0,00	0,00
98	2,4-Nonadiène (E,E)	0,14	0,00	0,00
99	Benzène acétaldéhyde	0,42	0,00	0,00
100	1,2-Heptanédiol	1,13	0,00	0,00
101	1-Nonène-3-ol	0,50	0,00	0,00
102	1-Octanol	0,16	tr	0,00
103	Nonanal	1,68	tr	tr
104	Benzyl, méthyl, cétone	0,24	0,00	0,00
105	3-Nonen-2-one	3,29	tr	tr
106	Vératrole	0,08	0,00	0,00
107	Adamantanol	0,26	0,00	0,00
108	2-Nonénal	0,38	0,00	0,00
109	Nonanol	0,16	0,00	0,00
110	Cryptone	0,07	0,06	tr
111	Décanal	0,36	0,00	0,00
112	2,4 Cyclohexadiène-1-one-2,5,6,6 Tétraméthyl	tr	0,00	0,00
113	$\beta$ -Cyclo-homocitral	0,20	0,00	0,00
114	Vitispirane	2,63	tr	tr
115	2-Undécaneone	1,05	0,30	tr
116	2-Oxabicyclo [4,4,0] dec-9-ène-1,3,7,7-tétraméthyl	7,93	0,00	0,00

117	Edulan I dihydro	0,58	0,00	0,00
118	Théaspirane A	1,31	0,00	0,00
119	Undécanal	0,00	tr	0,10
120	Théaspirane B	1,38	tr	tr
121	6-Ethyl-3,4-Xylénol	0,00	tr	0,01
122	2,4-Décadiénal <E,E>	1,42	tr	0,01
123	Edulan II dihydro	0,87	0,00	0,00
124	1,1,10-Triméthyl-trans-décalone	0,23	0,00	0,00
125	1-Oxaspiro [2,5] oct-5-ène-8,8-diméthyl-4-diméthylène	0,96	0,00	0,00
126	Naphtalène-1,2-dihydro-1,1,6-triméthyl	0,24	0,00	0,00
127	$\alpha$ -Ionène	0,09	0,00	0,00
128	$\gamma$ -Ionone	0,37	0,00	0,00
129	(Z, $\beta$ )-Damascénone	1,80	0,00	0,00
130	6-tert-Butyl-2,4-Xylénol	0,00	0,16	tr
131	2H Pyran-2-one,4-méthyl-6-(2-méthyl-1-propényl)	0,69	0,00	0,00
132	2-n-octyl-Furanne	tr	0,00	0,00
133	(E, $\beta$ )-Damascénone	6,56	0,26	0,06
134	6-tert-Butyl-3,4-Xylénol	0,00	0,45	tr
135	6,8-Nonadiène-2-one-2,7-diméthyl-5-(1-méthylidène)	0,32	0,00	0,00
136	Dodécanal	0,00	tr	0,05
137	1,8-Nonadiène-2,7-diméthyl-5-(méthyléthényl)	2,47	0,00	0,00
138	$\alpha$ -Ionone	5,20	0,02	tr
139	4-(2,6,6-triméthyl cyclohexa-1,3-diényl) butane-2-one	0,48	0,00	0,00
140	$\beta$ -Ionone époxyde	0,47	0,00	0,00
141	Mégastigma-3,5-diène-9-ol	1,30	tr	tr
142	Furane-2-méthyl-5-(1,1,5-triméthyl-5-héxényl)	0,95	0,00	0,00
143	1-H-Indène-1-one-2,4,5,6,7,7a hexahydro-4,4,7a triméthyl	0,19	0,00	0,00
144	7.8-Epoxy $\alpha$ -Ionone	tr	0,00	0,00
145	2,6-di-(tert-butyl)-para Benzoquinone	0,13	1,43	tr
146	2-Hydroxy- $\beta$ -Ionone	0,17	0,00	0,00
147	Dodécanol	0,33	0,00	0,00
148	2,6-di-(tert-butyl)-4-hydroxyl-4-méthyl-2,5-cycloexadiène-1-one	0,00	1,45	tr
149	$\beta$ -Ionone	0,07	0,14	0,07
150	Massoya Lactone	4,18	0,00	0,00
151	$\delta$ -Décalactone	11,46	0,70	0,59
152	Ionol B-H-T	1,37	6,07	tr
153	cis Mégastigma-5,8-diène-4-one	2,77	0,00	0,00
154	Acide Laurique	1,42	0,99	0,73
155	Aristolène	0,18	0,09	0,10
156	Benzène-1-(1-formyléthyl)-4-(1-buten-3-yl)	0,04	0,00	0,00
157	14-Norcadin-5-ène-4-one	0,00	2,18	tr
158	Pentadécanal	0,25	0,46	0,44
159	Acide Myristique méthyl ester	0,07	0,28	0,12
160	trans-2-isopropyl-bicyclo-[4,3,0]-non-3-ène-8-one	0,11	0,34	0,26

161	Acide Myristique	0,32	0,33	0,29
162	Nootkatone	0,00	0,27	0,17
163	Phytane	0,00	tr	0,14
164	E-15-Heptadécénal	0,04	0,00	0,00
165	Héxadécanal	0,00	0,32	0,28
166	Héxadécanol	0,01	0,18	0,10
167	Acide héxadécanoïque méthyl ester	0,10	0,28	0,22
168	Acide palmitique	0,60	2,91	1,32
169	Acide héxadécanoïque isopropyl ester	0,01	0,00	0,00
170	Octadécanol	tr	0,14	0,05
171	Méthyl linoléate	tr	0,33	0,33
172	Acide linoléique	tr	0,48	0,52
173	Eicosanol	tr	0,00	0,00
174	Squalène	0,00	2,46	0,12
		<b>72,61</b>	<b>23,08</b>	<b>6,07</b>
<i>Alcanes + Alcènes</i>				
175	Tétradécane	0,00	0,10	0,09
176	Pentadécane	0,32	0,00	0,00
177	Héxadécane	0,28	0,41	0,37
178	Heptadécène	tr	tr	tr
179	Heptadécane	0,23	0,31	0,35
180	Octadécène	0,14	0,26	0,19
181	Octadécane	0,14	0,27	0,29
182	Nonadécène	0,14	0,25	0,24
183	Nonadécane	0,15	0,24	0,21
184	Eicosène	tr	0,00	0,00
185	Eicosane	0,22	0,60	1,18
186	Héneicosène	0,08	0,00	0,00
187	Héneicosane	0,74	1,16	1,40
188	Docosène	tr	0,02	tr
189	Docosane	0,28	0,38	0,36
190	Tricosane	0,63	1,17	1,68
191	Tétracosène	tr	0,00	0,00
192	Tétracosane	0,06	0,24	0,19
193	Pentacosène	tr	0,00	0,00
194	Pentacosane	0,18	0,91	0,71
195	Hexacosène	tr	0,00	0,00
196	Hexacosane	0,02	0,18	0,09
197	Heptacosane	0,07	0,41	0,36
198	Octacosane	0,03	0,11	0,03
199	Nonacosane	0,03	0,16	0,10
		<b>3,72</b>	<b>7,18</b>	<b>7,82</b>
<i>Diterpène Oxygéné</i>				
200	Phytol isomère	<b>0,05</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>

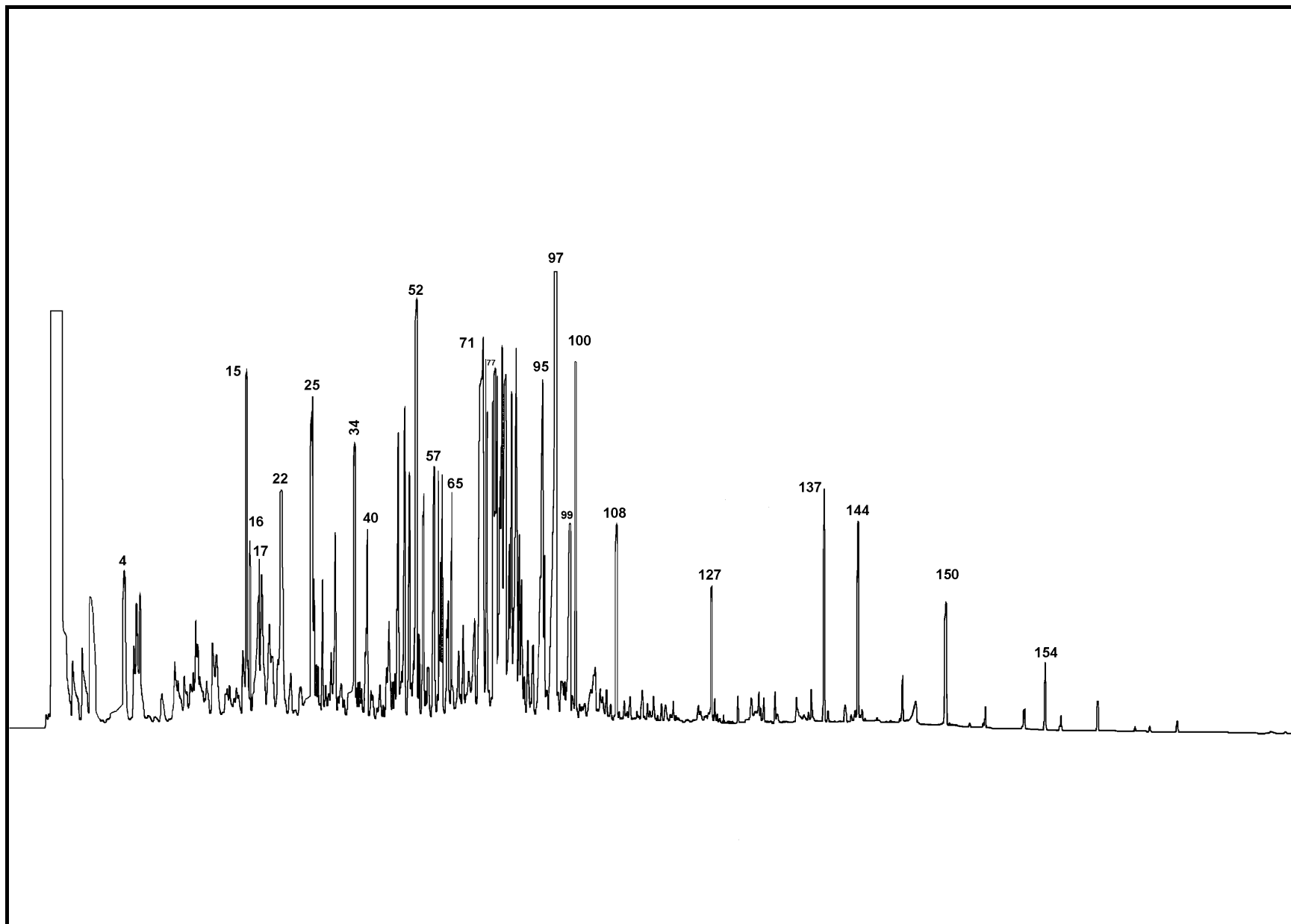


**Histogramme III.2 :** Comparaison des compositions chimiques de trois extraits de la fraction volatile de *Zygophyllum album* L. obtenus par DES-MO et SDE

#### IV - 2.1 Composition de la fraction volatile obtenue par SDE

Le chromatogramme de l'extrait à l'hexane de *Zygophyllum album* L. obtenu par SDE est présenté dans la Figure III.4. Il comporte 164 pics et son profil est semblable à celui des chromatogrammes des extraits obtenus par hydrodistillation. Le calcul des indices de rétention selon l'équation de Van Den Dool et Kratz par rapport à la série des n-alcanes et le dépouillement des spectres de masse nous ont permis d'identifier 151 composés (Annexe IV). La teneur globale des composés non identifiés est de 7,09%.

Le constituant majeur de cette fraction est la  $\delta$ -Décalactone. Elle a une teneur de 11,46% sans toutefois dominer les autres constituants puisque nous comptons 24 composés ayant des teneurs de 1,05% à 11,46%. Le Tableau III.14 regroupe dans cette fraction volatile les constituants dont les teneurs sont supérieures à 1%. Il apparaît de l'Histogramme III.2 que la fraction volatile de *Zygophyllum album* L. obtenue par SDE est constituée en majeure partie de composés non terpéniques regroupés dans la famille « Autres ». Celle-ci domine les familles chimiques présentes avec une teneur de 72,61% ; elle est suivie de la famille des monoterpènes oxygénés avec une teneur 11,06%.



*Figure III.4 : Chromatogramme de la fraction volatile de Zygophyllum album L. par SDE simple*

*Tableau III.14 : Constituants dont les teneurs sont supérieures à 1% dans l'extrait à l'hexane par SDE*

N°	Composés	% SDE
1	δ-Décalactone	11,46
2	2-Oxabicyclo [4,4,0] dec-9-ene-1,3,7,7-tétraméthyl	7,93
3	(E,β)-Damascénone	6,56
4	α-Ionone	5,20
5	Massoya Lactone	4,18
6	3-Nonen-2-one	3,29
7	cis Mégastigma-5,8-diène-4-one	2,77
8	Non identifié	2,71
9	Vitispirane	2,63
10	Δ3-Carène-2-acétyl méthyl	2,54
11	1,8-Nonadiène-2,7-diméthyl-5-(méthyl éthényle)	2,47
12	Safranal	2,38
13	Non identifié	1,91
14	(Z,β)-Damascénone	1,80
15	trans-Caryophyllène	1,70
16	Nonanal	1,68
17	Acide Laurique	1,42
18	2,4-Décadiénal <E,E>	1,42
19	Théaspirane B	1,38
20	Ionol B-H-T	1,37
21	Théaspirane A	1,31
22	Mégastigma-3,5-diène-9-ol	1,30
23	1,2-Heptanédiol	1,13
24	2-Undécanone	1,05
<b>Teneur Totale (%)</b>		<b>71,59</b>

Dans la technique SDE la nature et la durée du chauffage ainsi que la matière végétale immergée dans l'eau sont des paramètres communs à la technique hydrodistillation. Il en résulte une grande ressemblance des compositions chimiques des extraits issus de ces deux techniques comme le montre le Tableau III.15. Nous remarquons que la famille « Autres » formée de composés qui ne sont pas terpéniques constitue à près de 70% les compositions chimiques des fractions volatiles obtenues par les deux techniques SDE et HD, suivie de la famille des monoterpènes oxygénés.

**Tableau III.15 :** Teneurs des familles chimiques des extraits obtenus par HD classique et SDE

<i>Famille</i>	<i>HD Classique Ether diéthylique</i>	<i>HDClassique Hexane</i>	<i>SDE Hexane</i>
Monoterpènes	1,33	0,39	0,21
Monoterpènes Oxygénés	9,66	15,48	11,06
Sesquiterpènes	1,91	4,19	2,65
Sesquiterpènes Oxygénés	1,71	1,01	1,94
Autres	70,19	68,82	72,61
Alcanes + Alcènes	6,65	1,74	3,72
Non identifiés	6,35	6,35	7,09

Comparativement à l'hydrodistillation classique, la SDE a amélioré l'extraction du fait que le rendement d'extraction a été augmenté et que certains composés qui ne figuraient pas dans les extraits obtenus par HD tels que le nonanol, l' $\alpha$ -Cyclocitral, l'iso Aromadendrène époxyde, le 2-undécanone et le pentadécanal sont présents dans celui recueilli par SDE.

#### ***IV - 2.2 Composition de la fraction volatile obtenue par DES-MO***

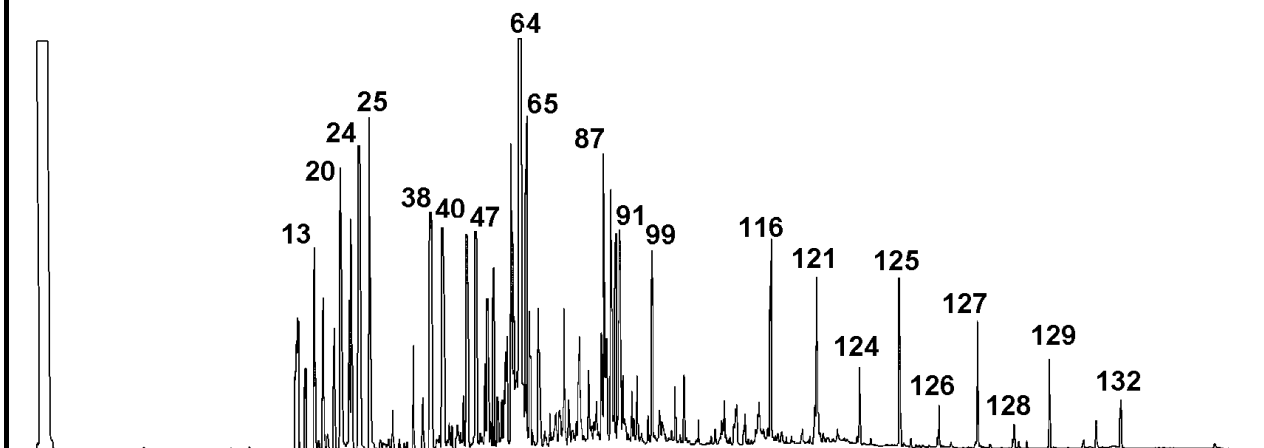
Les chromatogrammes des deux extraits de *Zygophyllum album* L. à l'éther diéthylique et à l'hexane obtenus par la nouvelle technique « DES-MO » sont présentés dans la Figure III.5. Ils ont le même profil avec une allure différente de celle du chromatogramme de l'extrait obtenu par SDE. Par conséquent, les compositions chimiques des fractions volatiles obtenues par les deux techniques seront différentes. Les 132 pics recensés sont présents dans les deux chromatogrammes mais avec des teneurs différentes. Dans les deux extraits de la technique DES-MO, tous les pics ont été identifiés après calcul de leurs indices de rétention en programmation de température et le dépouillement de leurs spectres de masse (Annexe V).

Il ressort du Tableau III.13 que le  $\beta$ -Bisabolène est le constituant majeur dans les deux extraits de la fraction volatile de *Zygophyllum album* L. obtenus par la technique « DES-MO ». Il a une teneur de 11,99% dans l'extrait à l'éther diéthylique et qui devient 17,41% dans l'extrait à l'hexane.

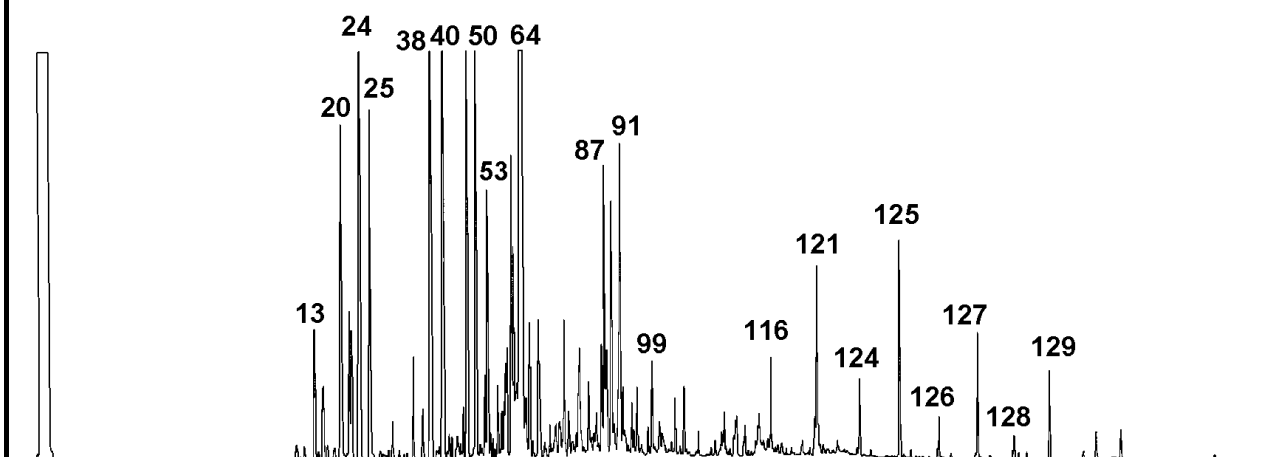
Nous comptons respectivement 25 et 23 composés dans les extraits à l'éther diéthylique et à l'hexane ayant des teneurs supérieures à 1% (Tableau III.16).

La nouvelle technique DES-MO offre une fraction volatile riche en composés sesquiterpéniques. Cette famille a une teneur de 40,31% dans l'extrait à l'hexane et de 24,90% dans l'extrait à l'éther diéthylique. Elle est suivie respectivement des familles oxygénées des monoterpènes et des sesquiterpènes.

*Chromatogramme de la fraction volatile de Zygophyllum album L. obtenue par DES-MO - Ether diéthylique*



*Chromatogramme de la fraction volatile de Zygophyllum album L. obtenue par DES-MO - Hexane*



**Figure III.5 :** *Comparaison des chromatogrammes des extraits de Zygophyllum album L. obtenus par DES-MO dans l'éther diéthylique et dans l'hexane*

<i>Extrait à l'éther diéthylique DES-MO</i>			<i>Extrait à l'hexane DES-MO</i>		
N°	Composés	%	N°	Composés	%
1	β-Bisabolène	11,99	1	β-Bisabolène	17,41
2	Ionol B-H-T	6,07	2	Néryyl Acétate	6,62
3	Néryyl Acétate	3,65	3	Géranyl Acétate	5,96
4	α-Cadinol	3,30	4	trans-α-Bergamotène	5,31
5	Géranol	3,07	5	trans-Caryophyllène	4,59
6	Acide palmitique	2,91	6	α-Bisabolol	4,56
7	Géranyl Acétate	2,89	7	Géranol	4,15
8	trans-Caryophyllène	2,55	8	α-Cadinol	4,01
9	Isocédranol <5>	2,53	9	Isocédranol <5>	3,03
10	Squalène	2,46	10	Nérol	2,37
11	α-Bisabolol	2,35	11	Géranial	2,19
12	trans-α-Bergamotène	2,31	12	Valencène	2,14
13	14-Norcadin-5-ène-4-one	2,18	13	α-Curcumène	1,78
14	Santalol <E, Béta>	2,10	14	Tricosane	1,68
15	Nérol	1,98	15	α-Humulène	1,59
16	Géranial	1,96	16	β-Farnésène (E)	1,52
17	β-Eudesmol	1,74	17	cis-Calaménène	1,51
18	Néral	1,65	18	10 Epi-γ-Eudesmol	1,42
19	2,6-di-(tert-butyl)-4-hydroxyl-4-méthyl-2,5-cyclohexadiène-1-one	1,45	19	Héneicosane	1,40
20	2,6-di-(tert-butyl)-para Benzoquinone	1,43	20	Acide palmitique	1,32
21	Carvone	1,29	21	α-Calacorène	1,24
22	α-Terpinéol	1,25	22	Eicosane	1,18
23	Tricosane	1,17	23	Caryophyllène oxyde	1,15
24	Héneicosane	1,16		<b>Teneur Totale</b>	<b>78,13</b>
25	Caryophyllène oxyde	1,12			
	<b>Teneur Totale</b>	<b>66,56</b>			

*Tableau III.16 : Constituants (teneurs supérieures à 1%) de deux extraits à l'éther diéthylique et à l'hexane de Zygophyllum album L. obtenus par DES-MO*

L'intensité du chauffage généré par des radiations micro-ondes ainsi que la forte puissance du four fixée à 1000 W ont fait que la technique DES-MO soit sélective dans l'extraction des composés volatils relativement lourds tels que les sesquiterpènes. Deux diterpènes, le Primara-8(9),15-diène et le Déhydro abiétane, dans les deux extraits à l'éther diéthylique et à l'hexane sont obtenus avec des teneurs globales respectives de 0,35% et 0,26%. Avec les autres techniques d'extraction HD, ESSAM et SDE nous n'avons détecté aucun diterpène à l'exception du diterpène oxygéné phytol isomère (0,05%) dans les extraits obtenus par SDE et HD.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- [1] – F. Grim, Thèse de Magister. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediène (USTHB), Faculté de Biologie, 1991.
- [2] – P. Ozenda, P. Quezel, *Inst. Rech. Sah.* XIV, 225, 1956.
- [3] – M. Chadefaud, L. Emberger, *Traité de botanique systématique.* Fasc. 2, 1539, 1960.
- [4] – P. Quezel, *Ann. Missouri Bot. Garden*, 65,2, 479-534, 1978.
- [5] – P. Ozenda, *Flore du Sahara* Ed. CNRS, 625, 1977.
- [6] – S.V. Murbeck, *Contribution à la connaissance de la flore du Nord de l'Afrique et plus spécialement de la Tunisie*, 1900.
- [7] – R. Maire, *Mem. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, 277, 1933.
- [8] – H. N. Le Houerou, *Inst. Rech. Sahar. Univ. Alger*, 510, 1969.
- [9] – P. Quezel, S. Santa, *Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques T. 2*, CNRS, 1170, 1963.
- [10] – R. Maire. *Etude sur la flore du Sahara Central. 3ème partie Mission Scientifique du Hoggar*, 433, 1940.
- [11] – P. GUINET, *Carte de la végétation de l'Algérie. Beni-Abbes* CRS, 1954
- [12] – M.M Abdel El Ghani, *J. Arid Environ.* 55, 607-628, 2003.
- [13] – H. N. Le Houerou, *Ann. Inst. Nat. Rech. Agr. Tunisie*, Vol 42, Fasc.5, 1969.
- [14] – S. Djebaili, *Bio. Bull. Ecol.* 1, CRBT, 1982.
- [15] – M. Bidault, *Variation et spéciation chez les végétaux supérieurs*, Doin. Ed. 145, 1971.
- [16] – L. Trabut, *Répertoires des noms indigènes des plantes spontanées cultivées et utilisées dans le Nord de l'Afrique*, 355, 1935.
- [17] – P. Perez, *R. Paris. Ann. pharm. Franç.* 5, 2, 86-90, 1958.
- [18] – B. Le Floch. « *Contribution à une étude ethnobotanique de la flore Tunisienne* », 402, 1983.
- [19] – P. Binet, *Rev. Gen. Bot.*, 63, 537-545, 1956.
- [20] – A. Coudret, *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 118, 471-480, 1971.
- [21] – A. Coudret, *Bull. Soc. Linn. Normandie*, Vol 103, 88-92, 1972.
- [22] – A. Coudret, *Bull. Ecol.* IV, 2, 87-94, 1973.
- [23] – M. N. El Hadidi, *Zygophyllaceae in Africa*, Boissiers, 24, 317-323, 1975.
- [24] – N. M. Saleh, M. N. El Hadidi, *Bioch. Syst. Ecol.*, 5, 121-128, 1977.

- [25] – A. H. Saber, A. M. El Moghazi Shoaib, J. Pharm. Sc. U.A.R.,7, 117-123, 1966.
- [26] – H. Gerlack, Pharmaceutische Zeutrale Fur Deutschland, 106 (9), 573, 1967.
- [27] – R. Tschesche, H. Striegher, H. W. Fehlhaber, Ann. Chem., 691, 165, 1968.
- [28] – M. Amoros, B. Farcorrier, L. Girre. Planta Medica Phytother, 13, 122, 1979.
- [29] – H. J. Jacker, G. Vioget, K. Hiller, Pharmazie, 37 (5), 380, 1982.
- [30] – F; Sugishita, S. Amagaya, Y. J. Ogihara, Pharmacobia Dynamics, 5, 397, 1982.
- [31] – R. I. Geran, J. Cancer Chemother., 3, 1, 1972.
- [32] – K. S. Reddy, A. J. Amonkar. Phytochem., 27, 3781, 1988.
- [33] – H. A. Hasanean. Bull. Pharm. Sci. Assiut University, Vol 12, Part 1, 117-124, 1989.
- [34] – M. H. Al Gamal, K. H. Shaker, K. Pöllman, Phytochem., Vol 40, N°4, 1233-1236, 1995.
- [35] – K. Pöllman, S. Gagel, Phytochem., Vol 44, N°3, 485-489, 1997.
- [36] – A. H. Atta, J. Ethnopharm., 92, 303-309, 2004.
- [37] – A. H. Saber. J. Pharm. Sc. U.A.R.,1,1, 1960.
- [38] – A. H. Saber. J. Pharm. Sc. U.A.R.,3,1, 1961.
- [39] – A. H. Saber. J. Pharm. Sc. U.A.R.,7, 1966.
- [40] – S. F. Saad, A. H. Saber, P. M. Scott. Bull. Fac. Farm., Cairo Univ., 6, 245, 1967.
- [41] – J. Poey. J. Elsaid. J. Physiol., 73, 1, 53A, 1977.
- [42] – P. Aclinou, K. Abdessemed, Plant. Medic. Phytother, XXII, 4, 212-218, 1988.
- [43] – N. Tigrine-Kordjani, B. Y. Meklati, F. Chemat, Int. J. Aromather., 2006, (Accépté).
- [44] – M.A. Ferhat, Thèse de Doctorat Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumédiène (USTHB), Faculté de Chimie, 2006
- [45] – M.A. Ferhat, N. Tigrine-Kordjani, S. Chemat, B. Y. Meklati, F. Chemat, Chromatographia, 2006, (Accépté).
- [46] – G. B. Nickerson, S. T. Lickens, Journal of Chromatography, 21, 1-3, 1966.
- [47] – F. Chemat, J. Smadja, M. E. Lucchesi, Losungsmittelfreie Mikrowellen-Extraction von fluchtigen Naturstoffen, Brevet Européen, EP 1 439 218 A1, 2004.



***PARTIE EXPERIMENTALE***



## ***CONCLUSION GENERALE***

## CONCLUSION

Dans ce travail, l'objectif visé est d'étudier l'apport de nouvelles techniques assistées par chauffage à micro-ondes dans l'extraction des huiles essentielles algériennes *Rosmarinus officinalis* L. et *Zygophyllum album* L.

Nous avons montré que l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes présente de nombreux avantages pour l'obtention d'huiles essentielles de qualité comparée aux méthodes traditionnelles souvent longues et fastidieuses. Nous avons aussi réussi à mettre au point en collaboration avec d'autres chercheurs du laboratoire, une nouvelle méthode d'extraction. Cette méthode, plus rapide, permet l'obtention de la fraction aromatique et réduit considérablement l'utilisation de matière première, de solvant et d'énergie.

Le Romarin officinal (*Rosmarinus officinalis* L.) est une plante importante dans le marché mondial de l'alimentaire et de l'aromathérapie. Les anti-oxydants naturels, tels que ceux présents dans l'huile essentielle de romarin, peuvent être une source alternative de composés capables de protéger les lipides dans les aliments. L'huile essentielle de Romarin est également utilisée comme agent anti-bactérien et anti-fongique.

Dans ce travail, la Distillation Accélérée par chauffage Micro-Ondes (DAM) dénommée également Distillation « sèche » sous Micro-Ondes ou encore ESSAM, mise au point par le Professeur F. Chemat (Université d'Avignon, France), a été développée au CRAPC sur l'exemple de l'extraction du Romarin. Le procédé DAM a requis seulement 2,5 minutes de chauffage et 30 minutes pour l'évaporation de l'eau in-situ de la plante et l'extraction de l'huile essentielle. Par contre, l'hydrodistillation nécessitait un temps de 45 minutes pour chauffer 200 g de romarin dans 2 l d'eau jusqu'à la température d'extraction, suivi d'un temps de 180 minutes pour l'évaporation de l'eau et l'extraction de l'huile essentielle.

Nous voyons ainsi que la réduction du prix de l'extraction est clairement à l'avantage du procédé DAM en termes de temps et d'énergie. De plus, ce procédé est une méthode très propre qui élimine la génération de résidu, l'utilisation de grandes quantités d'eau et des récipients volumineux d'extraction. Cette méthode génère des plantes aromatiques fraîches « sans huile essentielle » qui pourraient être utilisées comme aliment de bétail. Enfin, elle élimine le traitement des eaux usées puisque l'eau n'est pas nécessaire pour la distillation.

Ce travail a contribué à une meilleure connaissance des constituants volatils de *Zygophyllum album* L. où pour la première fois l'huile essentielle très hydrosoluble fut obtenue et étudiée à partir des parties aériennes de la plante. L'huile essentielle de *Zygophyllum album* L. de la région saharienne de Ouargla a une forte odeur de musk et peut être utilisée comme fixatif au lieu des phtalates de synthèse connus pour leurs caractères cancérigènes et allergènes. Cette huile essentielle pourrait être produite par la population locale pour une application en médecine traditionnelle et en aromathérapie, avec une exploitation commerciale possible dans le cadre du développement durable.

La Distillation-Extraction Simultanée assistée par chauffage Micro-Ondes (DES-MO) permet l'extraction rapide (30 minutes) de composés hautement volatils tels que les monoterpènes et les sesquiterpènes sans hydrolyse apparente ou formation d'artéfacts. D'autre part, la Distillation-Extraction Simultanée classique (SDE) permet l'analyse de composés de faible volatilité et à haut poids moléculaire. La combinaison des résultats de ces deux techniques a permis l'identification de deux cent (200) composés. La présence du BHT (tert-Butyl Hydroxy Toluène) dans *Zygophyllum album* L. indique que l'huile essentielle pourrait avoir des propriétés anti-oxydantes intéressantes. D'autres composés anti-oxydants pourraient être présents dans la partie non volatile de la plante.

La nouvelle technique DES-MO serait appropriée à l'analyse de routine en vue du contrôle de qualité tandis que la SDE, en raison de sa grande durée de distillation (3 heures), peut conduire à la formation de composés de dégradation. Elle serait, donc, plus favorable dans l'étude fine des constituants volatils issus de plantes aromatiques ou de produits alimentaires.

L'efficacité de la méthode DES-MO est considérablement accrue par rapport à la méthode SDE conventionnelle si nous prenons en compte la brièveté des temps d'extraction requis, la réduction en solvant et en énergie ainsi que la propreté au sens environnemental du procédé.

Bien que ce travail ait apporté des réponses pour l'analyse des huiles essentielles et contribué, aussi, à la compréhension des phénomènes d'extraction par micro-ondes et sa validation avec un grand nombre d'échantillons, il ouvre diverses perspectives de recherches. Nos travaux ultérieurs seront orientés vers les domaines de l'extraction de la fraction lourde de *Zygophyllum album* L. afin de tester les propriétés anti-oxydantes, anti-radicalaires et anti-microbiennes des fractions volatile et non volatile.

## **TRAVAUX ENTREPRIS**

### **PUBLICATIONS**

- 1 - « *Analysis by gas chromatography–mass spectrometry of the essential oil of *Zygophyllum album* L., an aromatic and medicinal plant growing in Algeria* ».  
N. Tigrine-Kordjani, B.Y. Meklati\*, F. Chemat\*  
The International Journal of Aromatherapy (2006) 16, 187–191
- 2 - « *Microwave ‘dry’ distillation as an useful tool for extraction of edible essential oils* ».  
N. Tigrine-Kordjani, B.Y. Meklati\*, F. Chemat\*  
The International Journal of Aromatherapy (2006) 16, 141–147
- 3 - « *Rapid Extraction of Volatile Compounds Using a New Simultaneous Microwave Distillation: Solvent Extraction Device* ».  
M. A. Ferhat, N. Tigrine-Kordjani, S. Chemat, B. Y. Meklati, F. Chemat\*.  
Chromatographia, (2007), 65, 217–222

### **COMMUNICATIONS**

- 1 - Communication au 1<sup>er</sup> Colloque International Franco-Algérien sur la chromatographie : « *Extraction et étude chimiotaxonomique de *Zygophyllum album* poussant en Algérie* », (Alger - Décembre 2004).
- 2 - Communication au séminaire international sur la valorisation des plantes médicinales en zones arides : « *Composition chimique de la concrète de *Zygophyllum album* originaire de Ouargla* », (Ouargla 1,2,3, Février 2005).
- 3 - Communication au 1<sup>er</sup> Colloque Euro-méditerranéen de Biologie Végétale et Environnement : « *Comparaison de la composition chimique de l'essence du romarin poussant a Alger obtenue par deux méthodes différentes : micro-ondes et Clevenger modifié* », (Annaba 28-29 Novembre 2005).



# ***ANNEXES***

## **ANNEXE I**

*Composition de deux huiles essentielles de Rosmarinus officinalis L.  
obtenues par ESSAM et HD par ordre d'élution sur colonne HP5MS*

## **ANNEXE II**

*Composition de deux extraits de la fraction volatile de Zygodhylum album L. à l'éther diéthylique et l'hexane obtenus par HD par ordre d'élution sur colonne HP5MS*

## **ANNEXE III**

*Composition de deux extraits de la fraction volatile de Zygodhylum album L. à l'éther diéthylique et l'hexane obtenus par ESSAM par ordre d'élution sur colonne HP5MS*

## **ANNEXE IV**

*Composition de l'extrait de la fraction volatile de Zygodhllum album L.  
à l'hexane obtenu par S DE*

## **ANNEXE V**

*Composition de deux extraits de la fraction volatile de Zygodphyllum album  
L. à l'éther diéthylique et l'hexane obtenus par DES-MO par ordre d'élution  
sur colonne HP5MS*