

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Ecole Nationale Polytechnique
Département Génie Chimique
Laboratoire de Valorisation des Energies Fossiles

Mémoire de magister en génie chimique

Présenté par :

ROUGOU Nabila

Ingénieur d'Etat en Génie Chimique de l'ENP

Hydrodistillation de *Salvia officinalis* L. : influence de quelques paramètres sur le rendement et la composition de l'huile essentielle

Soutenue publiquement devant le jury composé de :

Président:	M Toudert Ahmed Zaid	Professeur	E.N.P
Rapporteur:	Mme CHARCHARI Stoyka	Professeur	E.N.P
Examineurs:	Mme DERRICHE Ratiba	Professeur	E.N.P
	M BENYOUSSEF El Hadi	Professeur	E.N.P

ENP 2012

« Remerciements »

Mes remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué à l'aboutissement de mon mémoire de magister.

En premier lieu, Je remercie vivement et particulièrement Madame **S. CHARCHARI**, professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique. La disposition, la patience et la gentillesse de tous les instants dont elle a fait preuve à mon égard durant la réalisation et la rédaction de ce mémoire ont été pour moi un immense soutien.

Je suis très honorée par la présence de Mr **A.Z.Toudert**, professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique, qui a bien voulu accepter de présider le jury de ce modeste travail.

Je remercie très respectueusement les professeurs:

Madame **R.Derriche**, professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique,

Monsieur **E.H.Benyousef**, professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique,

de m'avoir fait l'honneur d'être examinateurs et de participer au jury.

J'adresse également mes remerciements sincères à Mr HAOUÏ, Magister en Génie Chimique.



A ma merveilleuse famille : ma mère, mes sœurs et mon petit frère.

A tous(tes) mes amis(es) en particulier :

Soni, Mamou, Amel et Bina

A mes petits chouchous : Youyou, Serine, Anis, Aya et Racim.

A tous ceux qui me sont chers.

A toi Rachid

Je dédie ce travail...



الموضوع: تقطير ببخار الماء لنبته المريمية : تأثير بعض العوامل على مرد ودية الإنتاج و التركيبية الكيميائية للزيوت الأساسية المستخلصة.

ملخص

يتمحور هذا العمل حول استخلاص زيوت الأساسية لنبته المريمية بطريقة التقطير ببخار الماء و هو عبارة عن دراسة تأثير بعض العوامل على مرد ودية إنتاج هذه النبتة و التركيبية الكيميائية لزيوتها الأساسية. و للتذكير فإن العوامل التي وضعت حيز الدراسة هي: مرحلة القطف ، مدة و درجة حرارة تخزين النبتة و أخيرا المعالجة المسبقة بالمادة الفعالة و قد أثبتت مختلف النتائج تأثير هذه العوامل، مما يدفعنا إلى النظر في الأنواع الكيميائية المذكورة سابقا.

الكلمات المفتاحية: المريمية ، الزيوت الأساسية, التركيبية الكيميائية, مدة و درجة تخزين النبتة ، مرحلة القطف, المادة الفعالة

Hydrodistillation of *Salvia officinalis* L.: influence of quelques paramètres sur le rendement et la composition de l'huile essentielle

Résumé

Ce travail porte sur l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. L'influence, sur le rendement et la composition chimique de l'huile de la période de la récolte, de la durée et la température de stockage de la plante, ainsi que de son prétraitement avec tensioactif, a été étudiée. Les variations importantes constatées, en fonction de ces paramètres, aussi bien du rendement que de la composition de l'huile essentielle, pourraient remettre en cause la définition des nombreux chémotypes de *Salvia officinalis* L. rapportés dans la littérature.

Mots clés : *Salvia officinalis* L., huile essentielle, composition chimique, durée et température de stockage, période de récolte, tensioactif.

Steam-distillation of *Salvia officinalis* L.: influence of some parameters on the yield and composition of essential oil

Abstract

This work focuses on the extraction by steam-distillation of the essential oil of *Salvia officinalis* L. The influence on the yield and the chemical composition of the oil from the harvest time, the duration and temperature of storage of the plant, as well as its pre-treatment with surfactant was investigated. The important variations in these parameters, as well as the performance of the composition of the essential oil, could call into question the definition of many chémotypes of *Salvia officinalis* L. reported in the literature.

Key words: *Salvia officinalis* L., essential oil, chemical composition, storage duration and storage temperature, harvest time, surfactant.

Liste des tableaux

Tableau I.1: Composition de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. d'après la norme TNO 190-1-190-4.....	11
Tableau I.2: Constituants majoritaires de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. provenant de différents pays.....	12
Tableau I.3 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. en provenance du Jardin d'essais d'Alger.....	13
Tableau II.1: Propriétés physico-chimiques du tensioactif utilisé.....	26
Tableau III.1 : Composés identifiés dans l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	29
Tableau III. 2: Rendements en huile essentielle, en %, obtenus par hydrodistillation des échantillons de <i>Salvia officinalis</i> L. fraîche, récoltés à différentes périodes de végétation.....	30
Tableau III.3: Teneurs relatives, en %, des composés majoritaires des huiles essentielles obtenus par hydrodistillation des échantillons de <i>Salvia officinalis</i> L. fraîche, récoltés à différentes périodes de végétation.....	33
Tableau III.4: Teneurs relatives, en %, des composés majoritaires des huiles essentielles obtenus par hydrodistillation des échantillons de <i>Salvia officinalis</i> L., récoltée en période de croissance, stockée pendant une, deux et quatre semaines à une température moyenne de 15°C.....	40
Tableau III.5 : Augmentation de la masse des constituants des huiles essentielles, obtenues par hydrodistillation des échantillons de <i>Salvia officinalis</i> L. récoltée en période de croissance, stockée pendant une et deux semaines à une température moyenne de 15°C.....	42
Tableau III.6 : Diminution de la masse des constituants des huiles essentielles, obtenues par hydrodistillation des échantillons de <i>Salvia officinalis</i> L. récoltée en période de croissance, stockée pendant deux et quatre semaines à une température moyenne de 15°C.....	43
Tableau III. 7 : Rendements en huile essentielle, en %, obtenus par hydrodistillation de <i>Salvia officinalis</i> L. avec et sans prétraitement au tensioactif.....	45
Tableau III. 8: Augmentation de la masse, en %, des constituants des huiles essentielles, obtenues par hydrodistillation de <i>Salvia officinalis</i> L. avec et sans prétraitement avec tensioactif	48

Liste des figures

Figure I.1 : Vue d'ensemble de <i>Salvia officinalis</i> L.....	3
Figure I.2 : Coupe de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx80)	5
Figure I.3 : Coupe de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx320), différents types de trichomes capités.....	5
Figure I.4 : Coupe de la feuille de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx80), trichome pelté et poche endogène située dans le parenchyme	6
Figure I.5 : Coupe de la feuille de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx80), trichome pelté et trichome capité du type I avec une extension reliant la cellule basale à une cavité endogène	6
Figure I.6: Schéma simplifié d'un tensioactif.....	17
Figure I. 7 : Interactions tensioactif – bicouche lipidique de la membrane cellulaire et formation des micelles.....	19
Figure I.8 : Localisation des solubilisât dans la micelle.....	20
Figure II.1: Site du Jardin d'Essai d'Alger	21
Figure II.2: Procédure d'échantillonnage.....	22
Figure II.3: Echantillons représentatifs de <i>Salvia officinalis</i> L.....	22
Figure II. 4 : Appareil de Dean et Stark	23
Figure II.5 : Dispositif expérimental d'hydrodistillation	24
Figure III.1 : Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	28
Figure III.2 : Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. récoltée en période de croissance (fin Novembre).....	31
Figure III.3 : Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. récoltée en période de boutonisation (fin Janvier).....	32
Figure III.4 : Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. récoltée en période de floraison (fin Mars).....	32
Figure III.5: Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. récoltée en période de post-fructification (fin Mai).....	33
Figure III.6 : Teneurs relatives des principales classes des composés chimiques présents dans les huiles essentielles extraites des échantillons <i>Salvia officinalis</i> L. fraîche, récoltée à différentes périodes de son cycle végétatif.....	34
Figure III. 7 : Hydrodistillation de <i>Salvia officinalis</i> L., récoltée en période de croissance. Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction de la durée de stockage (Température ambiante moyenne 15°C).....	36

Figure III. 8: Hydrodistillation de <i>Salvia officinalis</i> L., récoltée en période de boutonisation. Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction de la durée de stockage (Température ambiante moyenne 13°C).....	36
Figure III. 9: Hydrodistillation de <i>Salvia officinalis</i> L., récoltée en période de floraison. Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction de la durée de stockage (Température ambiante moyenne 19,5°C).....	37
Figure III. 10: Hydrodistillation de <i>Salvia officinalis</i> L., récoltée en période de post-fructification. Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction de la durée de stockage. (Température ambiante moyenne 23°C).....	37
Figure III.11 : Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. récoltée en période de croissance (fin Novembre), stockée pendant une semaine à 15°C.....	39
Figure III.12 : Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. récoltée en période de croissance (fin Novembre), stockée pendant deux semaines à 15°C.....	39
Figure III.12 : Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. récoltée en période de croissance (fin Novembre), stockée pendant quatre semaines à 15°C.....	40
Figure III.13: Evolution de la masse des principales classes chimiques des constituants des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des échantillons de <i>Salvia officinalis</i> L. récoltée en période de croissance, stockée pendant une, deux et quatre semaines à une température moyenne de 15°C.....	41
Figure III.14: Evolution de la masse des principales classes chimiques des constituants des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des échantillons de <i>Salvia officinalis</i> L., récoltée en période de boutonisation (fin Janvier), stockée pendant une et quatre semaines à une température moyenne de 13°C.....	44
Figure III.15: Evolution de la masse des principales classes chimiques des constituants des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des échantillons de <i>Salvia officinalis</i> L. récoltée en période de floraison (fin Mars), stockée pendant une et deux semaines à une température moyenne de 19,5°C.....	44
Figure III.16: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue de <i>Salvia officinalis</i> L. sans prétraitement avec tensioacti.....	46
Figure III.17: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue de <i>Salvia officinalis</i> L. ayant subi un prétraitement avec tensioactif.....	47

Figure III.18: Teneurs relatives des principales classes de composés terpéniques des huiles essentielles, extraites par hydrodistillation de <i>Salvia officinalis</i> L., sans (HD) et avec (HD+TA) prétraitement avec tensioactif.....	47
Figure III.19: Masse, en mg/g de plante sèche, des principaux monoterpènes des huiles essentielles obtenues sans (HD) et avec (HD+TA) prétraitement avec tensioactif.....	49
Figure III.20: Structures moléculaires des principaux hydrocarbures monoterpéniques de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	49
Figure III.21: Masse, en mg/g de plante sèche, des principaux sesquiterpènes et leurs dérivés oxygénés des huiles essentielles obtenues sans (HD) et avec (HD+TA) prétraitement avec tensioactif.....	50
Figure III.22: Structures moléculaires des principaux sesquiterpènes et leurs dérivés oxygénés de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	51
Figure III.23: Masse, en mg/g de plante sèche, des principaux dérivés oxygénés des monoterpènes des huiles essentielles obtenues sans (HD) et avec (HD+TA) prétraitement avec tensioactif.....	52
Figure III.24: Structures moléculaires des principaux dérivés oxygénés des monoterpènes de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	52

SOMMAIRE

Introduction	1
---------------------------	---

Chapitre I : Etude bibliographique

I.1. La matière végétale: <i>Salvia officinalis</i> L.	2
I.1.1. Description et classification botanique	3
I.1.2. Composition chimique	4
I.1.3. Structure sécrétrice de <i>Salvia officinalis</i> L.	4
I.2. Les huiles essentielles	7
I.2.1. Propriétés physiques	7
I.2. 2.Composition chimique	7
I.2.2.1. Les composés terpéniques	8
I.2.2.2. Les composés aromatiques	8
I.2.2.3. Facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles.	9
I.3. L'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	10
I.3.1. Composition de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	10
I.3.2. Chémotypes de <i>Salvia officinalis</i> L.	10
I.4. Le procédé d'hydrodistillation	15
I.4.1. Principe de l'hydrodistillation	16
I.4.2. Mécanisme d'hydrodistillation	16
I.5. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation en présence de tensioactifs ...	17
I.5.1. Les tensioactifs	17
I.5.2. Action des tensioactifs sur les membranes cellulaires	18

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matière végétale utilisée	21
II.1.1. Cueillette	21
II.1.2. Echantillonnage	21
II.1.3. Détermination du taux d'humidité	21
II.2. Appareillage et protocole expérimental d'extraction de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	24
II.3. Tensioactif utilisé	26
II.4. Analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	26

Chapitre III : Résultats expérimentaux et discussion

III.1. Analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	28
---	----

III.2. Influence de la période de la récolte sur le rendement et la composition de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	30
III.3. Influence du prétraitement de <i>Salvia officinalis</i> L. avec tensioactif sur le rendement et la composition de l'huile essentielle	35
III.4. Influence de la durée et de la température de stockage de la matière végétale sur le rendement et la composition de l'huile essentielle	45
Conclusion	54
Bibliographie	

INTRODUCTION

Depuis très longtemps, les plantes aromatiques sont utilisées dans plusieurs domaines d'intérêt économique et dans les soins de santé, grâce aux propriétés de leurs huiles essentielles.

La sauge, *Salvia officinalis*, L., a été connue des anciens, aussi bien comme aliment que comme médicament et son nom semble le prouver, car il provient du latin *salvare*, qui signifie «sauver».

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'étude de l'influence de la période de récolte, de la durée et de la température de stockage, ainsi que du prétraitement, avec un tensioactif, de la matière végétale sur le rendement et la composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Le premier chapitre de ce mémoire est une revue bibliographique, relative à la matière végétale, objet de cette étude, aux huiles essentielles et les procédés de leur extraction

La préparation de la matière végétale, préalable à l'extraction de son huile essentielle, les dispositifs et les protocoles expérimentaux d'extraction, les réactifs et les différentes méthodes d'analyse utilisées, font l'objet du second chapitre.

Le troisième et dernier chapitre regroupe les résultats expérimentaux, relatifs aux rendements et à la composition chimique des huiles essentielles obtenues des différents essais d'extraction, visant à déterminer l'influence des paramètres étudiés sur le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Enfin, dans la conclusion sont résumés les résultats essentiels obtenus au cours de ce travail et les perspectives des futures recherches dans ce domaine, en vue de la valorisation de *Salvia officinalis* L.

CHAPITRE I :

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. La matière végétale: *Salvia officinalis* L.

Déjà connue à l'époque des pharaons, la sauge a traversé les siècles et les continents, aussi bien comme aliment que comme médicament. Certaines espèces de sauge, principalement la sauge officinale, possèdent en effet de nombreuses vertus médicinales. La petite sauge, *Salvia officinalis*, Linné, a été connue des anciens, et ils en faisaient, à ce qu'il paraît, très grand cas : son nom semble le prouver, car son nom vient du [latin](#) *salvare*, « sauver » (Dweck A. C, 2000). Elle est appelée :

En kabyle: Agourim imeksawen.

En arabe : Souak'Enabi

En allemand : die officinelle oder gemeine salbey

En anglais : the sage

En Italien et en espagnol : salvia

En hollandais : Salie

En portugais : sálvia

Elevée au rang de plante sacrée dans la Grèce et la Rome antique, son prestige est resté immense depuis des siècles : c'est l'herba sacra des latins.

Salvia officinalis L. était considérée comme un remède de base aux propriétés multiples. (Larousse encyclopédie des plantes médicinales, 2001):

- antiseptique, grâce à la combinaison de ses propriétés antiseptiques et calmantes.
- stimulant hormonal
- remède contre l'asthme
- astringent
- ocytocique
- effets bénéfiques sur la maladie d'Alzheimer (Akhondzadeh et al., 2003).

Salvia officinalis L. est originaire de la partie septentrionale de l'Europe et se plaît dans les lieux rocaillieux, secs, élevés. La sauge qui croit dans ces terrains, est bien plus énergétique que celle qui vient dans un sol humide et gras. En général, la sauge pousse principalement dans des pays relativement chauds (Karamanos, 2000).

I.1.1. Description et classification botanique

Les sauges sont de plantes annuelles, bisannuelles, vivaces ou arbustives. *Salvia officinalis* L. est une plante semi arbustive à port dressé. Elle peut atteindre 0,8 à 1 m de hauteur. (Figure I.1)



Figure I.1 : Vue d'ensemble de *Salvia officinalis* L.

Ses feuilles sont lancéolées, ovalaires, entières, crénelées, d'un vert tirant sur le gris. Les fleurs sont violacées ou mauves, elles sont disposées en épi sortant de l'aisselle d'une feuille ou d'une bractée. La floraison est située entre mai et juillet et la période de récolte conseillée, de mai à la fin d'été. (Karamanos, 2000)

La sauge a une odeur aromatique, forte et agréable. Sa saveur est amarescente, chaude, légèrement astringente et camphérée.

Selon la classification botanique la sauge officinale appartient à :

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Salvia*

Espèce : *Salvia officinalis*

I.1.2. Composition chimique

La composition chimique des plantes aromatiques est complexe et est constituée de deux fractions.

- La première fraction dite volatile est présente dans différents organes de la plante selon la famille ; cette fraction est composée de métabolites secondaires qui constituent l'huile essentielle.
- La deuxième fraction, dite non volatile, est représentée par les composés organiques non volatils et est composée essentiellement de coumarines, flavonoïdes, composés acétyléniques, ainsi que de lactones sesquiterpéniques, phénols ou polyphénols, jouant un rôle fondamental dans l'activité biologique de la plante (El Kalamouni, 2010).

Les principaux constituants de *Salvia officinalis* L. sont:

- Huile essentielle (1 à 2%)
- Diterpènes
- Composés phénoliques dont les acides carnosique et rosmarinique
- 1 à 3% de flavonoïdes, ce sont des dérivés de la lutéoline et de l'apigénine, ainsi que des glycosylflavones comme le caféyl-apiosylglucoside etc... Ils sont considérés comme responsables des propriétés antioxydantes des feuilles de sauge (Larousse encyclopédie des plantes médicinales, 2001)

I.1.3. Structure sécrétrice de *Salvia officinalis* L.

La synthèse et l'accumulation de l'huile essentielle s'effectuent dans des structures histologiques spéciales, localisées à la surface des différents organes de la plante, sites exogènes, et dans des poches, sites endogènes. En effet, des études très récentes (Charchari et al., 2010), menées par observation au microscope photonique des coupes de la tige et de la feuille de *Salvia officinalis* L., a permis de confirmer le caractère exogène de la structure sécrétrice et de soupçonner la présence des poches endogènes. Ces études ont rapporté que la structure sécrétrice exogène est constituée de trichomes peltés et de trichomes capités, situés à la surface des différents organes de la plante, comme montrent les figures I.2 et I.3.

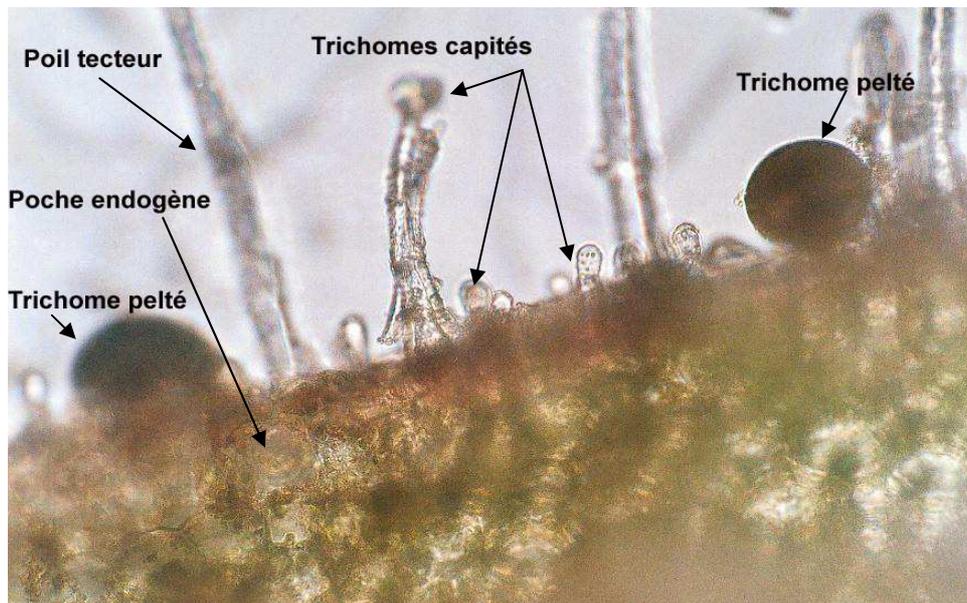


Figure I.2 : Coupe de la tige de *Salvia officinalis* L. (Gx80) [Charchari et al. (2010)]

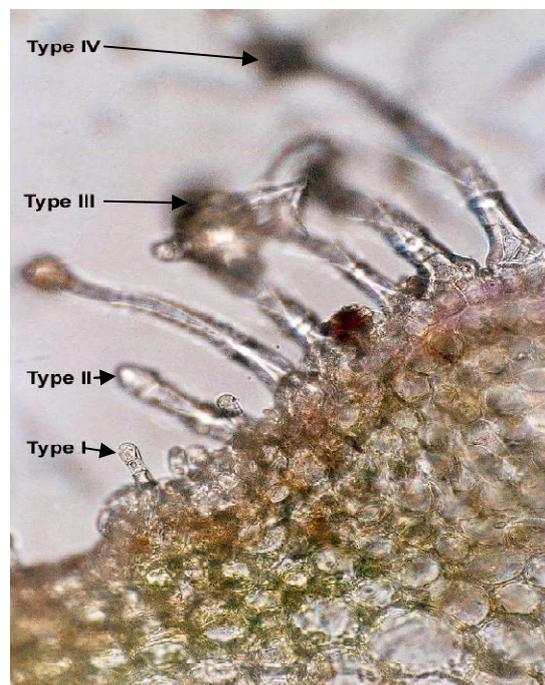
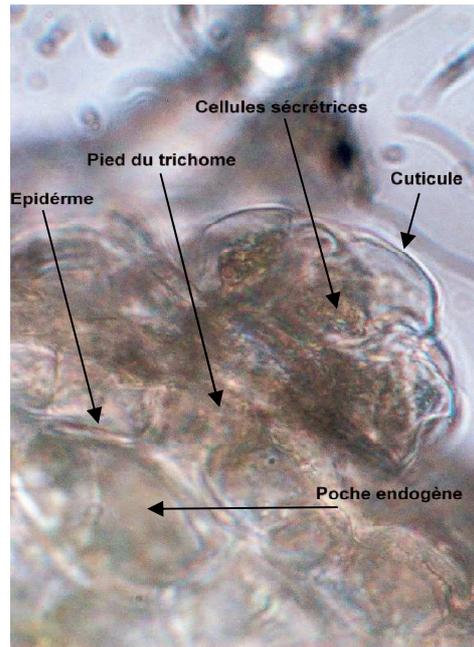


Figure I.3 : Coupe de la tige de *Salvia officinalis* L. (Gx320)
Différents types de trichomes capités [Charchari et al. (2010)]

Il a été montré que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. est produite, majoritairement par les trichomes capités de type III et, en plus faible quantité, par les trichomes peltés et capités de types II et IV. Les trichomes capités de type I ne produisent pas d'huile essentielle.

Par ailleurs, Charchari et al. (2010) signalent, pour la première fois, la présence des poches endogènes, montrés sur les figures I.4 et I.5 suivantes.



**Figure I.4 : Coupe de la feuille de *Salvia officinalis* L. (Gx80)
Trichome pelté et poche endogène située dans le parenchyme [Charchari et al. (2010)]**

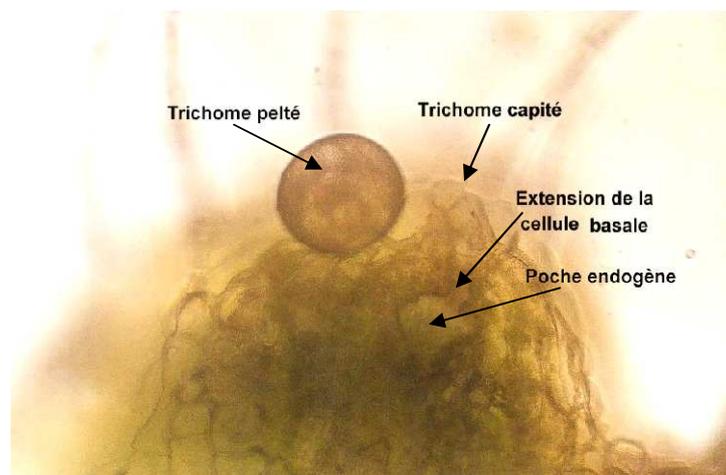


Figure I.5 : Coupe de la feuille de *Salvia officinalis* L. (Gx80) Trichome pelté et trichome capité du type I avec une extension reliant la cellule basale à une cavité endogène [Charchari et al. (2010)]

Le mécanisme de la formation de ces cavités, par lysogénie ou schisogénie, la mise en évidence des cellules sécrétrices endogènes et la nature de leurs sécrétions restent à élucider

II. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues et utilisées depuis plus de 7000 ans, issues de la nature et créées par elle. Ce sont des principes volatils et réactifs, secrétées puis excrétés par les plantes aromatiques qui peuvent provoquer des réactions sur les organismes vivants (Duraffourd, Laparaz, 2009).

Quant à la norme AFNOR NF T 75-006, elle définit l'huile essentielle comme étant « un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydro-distillation, puis elle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

De nos jours, la médecine moderne utilise leurs vertus thérapeutiques et de leurs constituants du fait de leur métabolisme propre, en effet, de nombreux composés volatils sont des ingrédients courants des préparations pharmaceutiques.

I.1. Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont largement réparties dans les règnes végétaux et certaines familles en sont particulièrement riches. Elles se distinguent facilement des autres produits organiques et elles se différencient beaucoup les unes des autres par leurs propriétés physiques.

- Elles sont le plus souvent liquides à la température ordinaire.
- Chauffées à l'air, elles se volatilisent sans altération, chauffées avec de l'eau, elles se volatilisent avec ce liquide sans éprouver de décomposition, et c'est sur ce principe qu'est fondée leur extraction (Laisaigne, 1840).
- Exposées à l'air, ces huiles changent de couleur et d'odeur, surtout sous l'influence de la lumière, elles deviennent plus foncées, et s'épaississent en absorbant de l'oxygène.
- Ce sont des substances de nature hydrophobe, totalement solubles dans les alcools, l'éther et dans les huiles végétales et minérales. Lorsqu'elles sont pures et naturelles, elles ne contiennent aucun corps gras: elles sont constituées uniquement de molécules aromatiques volatiles.

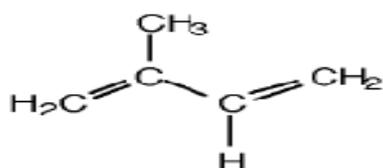
I.2. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges extrêmement complexes possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses. Elles se forment dans un grand nombre des plantes comme sous produits du métabolisme secondaire.

Du point de vue de leur constitution élémentaire, on trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles : les composés terpéniques et aromatiques (Handa et al., 2008).

I.2.1. Les composés terpéniques

Les composés terpéniques (C_5)_n ou les terpénoïdes, sont constitués d'unités du méthyl-2-buta-1,3 diène où isoprène :



Ils sont classés selon le nombre de chaînons isopréniques qui les composent.

- Pour $n=2$ (C_{10}): les monoterpènes
- Pour $n=3$ (C_{15}) : les sesquiterpènes

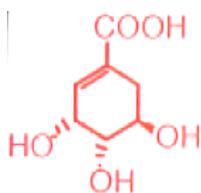
Les sesquiterpènes et les monoterpènes sont des composés insaturés ayant tendance à s'oxyder en présence de l'air et de la lumière, donnant naissance à des composés fonctionnalisés plus stables, tels que : des alcools, des cétones, des aldéhydes, des esters, des phénols, des éthers et des acides carboxyliques.

- Pour $n=4$: les diterpènes (C_{20}).
- Pour $n=5$: les sesterpènes (C_{25}).
- Pour $n=6$: les triterpènes (C_{30}).
- Pour $n=7$: les tétraterpènes (C_{35}) ;

L'ensemble de ces produits sont accumulés dans des cellules sécrétrices offrant à la plante une odeur aromatique caractéristique.

I.2.2. Les composés aromatiques

Ce sont des dérivés du phényl-propane, ayant une biogenèse différente de celle des terpènes, et sont issus par la voie synthétique de l'acide shikimique :



Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae. Cette classe comporte des composés odorants bien connus (Bruneton, 1999).

- l'acide et l'aldéhyde cinnamique (huile essentielle de cannelle),
- l'eugénol (huile essentielle de girofle),
- le carvacrol (huile essentielle d'origan),
- l'anéthol et l'aldéhyde anisique (huile essentielle de badiane, d'anis et de fenouil) (Chami, 2005).

I.2.3. Facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles

Nombreux travaux de recherche, consacrés à l'étude des différentes huiles essentielles, ont démontré qu'il existe des facteurs extrinsèques et d'autres relatifs à l'espèce végétale, pouvant non seulement influencer leur composition chimique, mais aussi sur leur abondance dans le végétal. Les changements de la composition chimique des huiles essentielles les plus importants peuvent intervenir avant ou pendant leur extraction (Piochon, 2008, Lagunez Rivera, 2006) :

- Avant l'extraction :
 - La composition du sol,
 - Au sein d'une même plante : selon la saison de récolte, l'âge de la plante : chacune a son temps pour donner ses huiles en plus grande abondance les organes exploités (feuilles, fleurs, fruits ; racines)
 - Le mode de récolte
 - Les conditions de transport, de séchage et de stockage peuvent aussi générer des dégradations chimiques et enzymatiques.
- Pendant les procédés d'obtention
 - Le procédé d'extraction mis en oeuvre.
 - Le pH de milieu, la pression et l'agitation.
 - La durée d'extraction : elle doit être optimale pour laquelle on peut extraire les différents composés volatils de végétal situés soit dans des sites oxygènes ou endogènes.
 - La température : à titre d'exemple il a été démontré que chez la *Mentha piperita* L., par exemple, les nuits froides favorisent la formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celle du mentho-furanne.

I.3. L'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.**I.3.1. Composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.**

Plusieurs travaux récents portant sur la composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. de différents pays, ont montré que cette huile est caractérisée par la prédominance des composés terpéniques.

- Hydrocarbures monoterpéniques: camphène, α -pinène, β -pinène
- Cétones monoterpéniques: α -thuyone, β -thuyone, camphre
- Ether monoterpénique: 1,8 cinéole
- Alcools monoterpéniques : bornéol, linalol
- Ester terpénique : acétate de bornyle
- Hydrocarbures sesquiterpènes: β -caryophyllène, α -humulène
- Alcools sesquiterpéniques: viridiflorol
- Alcools diterpéniques : manool

I.3.2. Chémotypes de *Salvia officinalis* L.

Le chémotype caractérise en quelque sorte la « race » chimique, encore appelé « spécifique biochimique », de l'huile essentielle. En effet, il peut exister des chémotypes différents pour une même espèce botanique. Ainsi, le chémotype se distingue par le ou les constituants principaux de l'huile essentielle (Roux, 2008).

La bonne connaissance des chémotypes d'une huile essentielle peut apporter des indications utiles et précises sur la base desquelles on peut prévoir ses effets curatifs ou toxiques.

Il a été montré que l'huile essentielle *Salvia officinalis* L. présente une large variété de chémotypes, caractérisés par la prédominance des mono- et des sesquiterpènes oxygénés, accompagnés de leurs hydrocarbures à des teneurs relativement faibles. (Gilly, 2005)

Le tableau I.1 regroupe les teneurs relatives des principaux constituants de l'huile essentielle *Salvia officinalis* L. selon la norme TNO 190-1-190-4.

Tableau I.1: Composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. d'après la norme TNO 190-1-190-4 (Gilly, 2005)

Hydrocarbures terpéniques		Terpènes oxygénés	
Myrcène	0,3% à 3%	Camphre	4,1% à 27,7%
Limonène	trace à 7,6%	α-thuyone	1,5% à 44,2%
Humulène	trace à 18,9%	β-thuyone	1% à 36,7%
α-pinène	1,7 % à 13,1%	Acétate de bornyle	0,1% à 3,5%
β-pinène	0,5 % à 17,9%	1,8 cinéol	0,7% à 20,8%
Camphène	1,1% à 10,3%	Linalol	trace à 1,8%
β-Caryophyllène	trace à 9,4%	Bornéol	0,7% à 6,2%
p-cymène	trace à 1,1%	Viridiflorol	0 à 9,9%

Pour un marché exigeant et pour une production de qualité, l'étude chimique de l'huile essentielle de sauge a été progressivement élucidée. Les nombreux travaux entrepris sur cette espèce de diverses origines, ont permis de mettre en évidence de nouvelles variétés chimiques.

Le tableau I.2 suivant récapitule les résultats de travaux publiés relatifs à la teneur des composés majoritairement présents dans l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. provenant de différents pays.

Tableau I.2: Constituants majoritaires de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. provenant de différents pays

Maroc	Tunisie [a]		Syrie [b]	Bosnie-Herzégovine [c]
α -thuyone 26,78% Camphre 23,17 % 1,8cinéole 9,15% β -thuyone 6,36%	Marsa	Djebel-ouest	α -thuyone 21.48 % Camphre 18.08 % 1,8 cinéole 9.69 % β -thuyone 8.78 % , camphène 7.09 %	Camphre 25,11% α -thuyone 22,19% β -thuyone 17,70% 1,8-cineole 7,45%
	α -thuyone 25,02% β -thuyone 13,09% 1,8cinéole 8,56%	α -thuyone 26,49% β -thuyone 11,55% 1,8cinéole 16,96% β -caryophyllène 9,04%		
Chine[d]				Egypte [c]
Août	Octobre	Janvier	Avril	α -thuyone 29,4% β -thuyone 17,4% 1,8-cineole 12,5% Camphre 11,7%
α -thuyone 25,15% Camphre 20,45 % 1,8cinéole 10,45% α –pinène 6,86% β -thuyone 6,93%	α -thuyone 24,05% Camphre 22,5% β -thuyone 9,81% 1,8cinéole 9,74% β -caryophyllène 5,6%	α -thuyone 42,91% Camphre 12,47% β -selinène 7,39% β -thuyone 6,79% Viridiflorol 4,42%	β -thuyone 25,31% Camphre 13,65% 1,8cinéole 12,08% α -thuyone 9,74% β -selinène 7,13%	
[e], [f]				
Roumanie	Hongrie	Turquie	Islande	Cuba
α -thuyone 21,8% Viridiflorol 11,7% Camphre 11,2% Manool 9,1%	Camphre 30,7% β -thuyone 17,6% 1,8-cinéol 17% Camphène 4,4%	α -thuyone 29,4% β -thuyone 17,4% 1,8-cinéol 12,5% Camphre 11,7%	α -thuyone 45,5% Camphre 15,9% β -thuyone 8,4% 1,8- cineole 8,3%	α -humulène 14,7% Viridiflorol 13,4% α -thuyone 12,9% β -thuyone 10,8%
Géorgie	France	Bulgarie	Serbie	Italie
α –thuyone 31,5% β -thuyone 17,5% 1,8-cinéol 17,5%	Camphre 22% α -thuyone 20,9% 1,8-cinéol 13,4%	α -thuyone 21,5% 1,8-cinéol 16,2% α -humulène 11,2% β -pinène 7,6%	α -thuyone 22,1% 1,8- cinéole 16,2% α -humulène 11% β -Caryophyllène 6%	Camphre 26,8% α -thuyone 23% p-cymène 11,8% Pinocarviol 6,6%

[a] Fellah et al. (2006); [b] Rami, Zheng-Guo L. (2011); [c] Jirovetz L. et al. (2006) ;

[d] Qiu hui-xia et al. (2005) ; [e] Dob T. et al.(2007) ; [f] Bernotienne et al.(2007)

L'examen du tableau I.1 montre que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. présente une composition, caractérisée par la dominance de mono- et sesquiterpènes oxygénés, avec une variabilité de la proportion de quatre de ses constituants majoritaires : l' α -thuyone, le β -thuyone, le camphre et le 1,8-cinéol. En revanche, les travaux (Charchari et al., 2010) , menés sur la composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. en provenance du Jardin d'essais d'Alger, rapportent la présence d'une quantité appréciable du viridiflorol, du humulène et du manool. (Tableau I.3)

Tableau I.3 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. en provenance du Jardin d'essais d'Alger (Charchari et al., 2010)

N°	Composé	Ir littérature	Ir calculé	Teneur, %
1	salvène	823	823	0,05
2	tricyclène	919	919	tr
3	α -thuyène	924	926	0,37
4	α -pinène	930	933	0,94
5	camphène	946	948	0,97
6	sabinène	976	976	0,06
7	β -pinène	981	980	4,41
8	octen-3-ol	991	991	tr
9	myrcène	992	993	2,12
10	α -phellandrène	1004	1005	0,04
11	α -terpinène	1016	1016	0,36
12	p-cymène	1026	1026	tr
13	limonène	1031	1031	tr
14	1,8-cinéol	1033	1032	6,73
15	cis-ocimène	1040	1037	0,37
16	trans-ocimène	1043	1047	0,06
17	γ -terpinène	1059	1058	0,88
18	cis-hydrate de sabinène	1070	1071	0,13
19	α -terpinolène	1088	1088	0,25
20	α -thuyone	1111	1111	11,99
21	β -thuyone	1124	1124	5,28
22	camphre	1143	1149	5,15
23	cis-pinocamphone	1161	1161	0,54
24	bornéol	1165	1167	0,62
25	trans-pinocamphone	1174	1174	0,23
26	terpinen-4-ol	1176	1178	0,29
27	α -terpinéol	1189	1192	0,11
28	myrténal	1195	1196	0,04
29	myrténol	1196	1197	0,12
30	acétate de bornyle	1283	1279	0,08
31	acétate de terpényle	1287	1287	tr
32	thymol	1290	1290	tr
33	α -cubébène	1345	1343	0,08
34	α -ylangène	1365	1365	tr
35	α -copaène	1376	1370	0,11
36	β -bourbonène	1380	1379	0,04
37	γ -caryophyllène	1389	1385	0,09
38	β -caryophyllène	1404	1402	10,47
39	β -gurjunène	1432	1426	0,15
41	α -humulène	1450	1459	11,59
42	alloaromadendrène	1461	1461	0,55
43	γ -muurolène	1477	1474	0,4

Tableau I.3 (suite)

44	germacrène-D	1480	1478	0,12
45	β -sélinène	1485	1483	0,06
46	viridiflorène	1493	1492	0,58
47	α -muurolène	1499	1497	0,1
48	γ -cadinène	1512	1510	0,24
49	calaménène	1520	1518	0,2
50	δ -cadinène	1524	1522	0,59
51	α -cadinène	1533	1534	0,04
52	α -calacorène	1538	1548	0,03
54	oxyde de caryophyllène	1577	1575	1,24
55	viridiflorol	1596	1595	17,79
56	1,2-époxy-humulène	1608	1607	1,13
57	α -cubénol	1642	1638	tr
58	α -muurolol	1646	1645	tr
59	α -cadinol	1651	1652	0,05
60	kongol	1656	1654	0,12
61	phytone	1843	1845	0,08
62	néophytadiène	1861	1861	0,03
63	néophytadiène isomère	1879	1879	0,06
64	atisirene	1902	1902	0,36
65	épimanool	1961	1961	tr
66	acide palmitique	1969	1969	0,05
67	manool	2044	2044	9,21
68	phytol	2089	2089	0,05
Total identifiés, %				97,9

Par ailleurs, plusieurs travaux récents font état de l'influence sur la composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. des paramètres liés aussi bien au procédé d'extraction qu'à la matière végétale, notamment à la période de sa récolte.

Aussi, Fellah et al. (2006) se sont intéressés à l'étude de la composition de l'huile essentielle des feuilles de sauge de Tunisie, extraite par hydrodistillation et par le CO₂ super critique. L'extraction avec fluide supercritique, sous une pression variable de (100-160bar) et à une température constante de 50°C, a fourni une concrète riche en manool (28,35 - 68,59%). Par contre, les composés majeurs de l'huile essentielle, obtenue par hydrodistillation, sont les terpènes oxygénés tels que : l' α -thuyone (20,21%), le viridiflorol (17,11%), le manool (12,17%), le camphre (9,57%) et le 1,8-cinéole (8,73%).

En étudiant le profil chromatographique des différents échantillons représentatifs de l'huile essentielle récupérées de deux variétés de *Salvia officinalis* L., et pour les deux récoltes, Carron et al.(2005) ont observé que la période de récolte à une influence considérable aussi bien sur le plan quantitatif que qualitatif : la plante récoltée en mois de Mai est pauvre en

camphre (1,9%-3,8%), contrairement à celle extraite en Juillet qui est plus riche en cétones monoterpéniques : camphre (20%-23%) et thuyone (17%-30%).

Par contre, une étude chinoise a montré que les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. récoltée à différentes périodes de végétation possèdent des profils chromatographiques semblables, avec la prédominance des monoterpènes oxygénés (Qiu hui-xia et al., 2005).

Sur le même plan, cette recherche estime que la sauge officinale est l'une des espèces qui s'acclimata très rapidement aux différentes conditions climatiques, et elle est fournie les meilleurs rendements en huile essentielle durant la période chaude.

I.4. Le procédé d'hydrodistillation

L'origine de l'extraction des principes actifs des végétaux se perd dans la nuit des temps. L'Homme a, en effet, découvert très tôt les bienfaits des végétaux et les premières techniques pour en retirer ce que on appelle aujourd'hui un "extrait" (Leybros, Fremaules, 1973).

Très vite, ces extraits végétaux ont intéressé l'industrie de la parfumerie et la médecine naturelle dite douce. C'est pourquoi différentes techniques d'extraction ont été mises au point rapidement par les industriels. (Coulson and Richardson's Chemical Engineering, 2001).

Ces techniques sont basées, d'une part, sur la propriété que possèdent les vapeurs de se condenser sur les parois plus froides d'un récipient en relation avec celui dans lequel les vapeurs sont produites, et d'autre part, sur la propriété qu'ont certaines substances de former des azéotropes, c'est-à-dire, des mélanges de vapeurs se formant à température inférieure à la température de vaporisation de chacun d'eux.

Les huiles essentielles sont principalement obtenues par deux méthodes: l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau. A ce niveau une remarque s'impose, ces deux procédés d'extraction ne permettent pas d'extraire la totalité des principes actifs d'un végétal mais seulement les fractions volatiles entraînaables par les vapeurs d'eau.

Par contre, certaines huiles essentielles, dont celles de citron et d'orange, ne peuvent pas être distillées sans décomposition. C'est pour cette raison que leur extraction s'effectue par expression (Handa et al. 2008)

I.4.1. Principe de l'hydrodistillation

L'hydrodistillation, procédé très ancien, fut découvert par les Chinois vers l'an 2000 avant Jésus-Christ. Elle s'est ensuite répandue dans tout le monde antique (Guenther, 1972).

Elle consiste à immerger la matière première dans une quantité d'eau suffisante. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. Les vapeurs hétérogènes saturées en composés volatils sont condensées, puis décantées et l'huile essentielle est séparée de l'hydrolat par simple différence de densité (El Kalamouni, 2010). Par conséquent, il est impératif dans un procédé d'extraction des huiles essentielles de traiter les eaux aromatiques pour minimiser les pertes en composés oxygénés.

Pour ce faire, nous avons procédé à des hydrodistillations avec un système de cohobage qui consiste en recyclage de la phase aqueuse décantée. Toutefois, ce système a comme inconvénient majeur d'augmenter la durée d'exposition des composés non décantés et recyclés vers l'extracteur, ce qui conduit à leurs transformations chimiques.

A titre exemple, l'exposition des composés phénoliques à des températures supérieures à 100°C favorise leurs dégradations thermiques et hydrolytiques (Handa et al. 2008).

I.4.2. Mécanisme d'hydrodistillation

Dans le cas général, les échanges des vapeurs entre le substrat végétal et la phase aqueuse d'immersion sont basés sur la perméabilité des tissus végétaux. Cependant, il faut signaler que les membranes des cellules végétales sont souvent imperméables pour les fractions volatiles. On sait bien que à la température d'ébullition de l'eau, une partie des fractions volatiles se dissout dans l'eau ayant diffusée à l'intérieur des glandes, et par conséquent, le mélange eau / huile pénètre par osmose les membranes végétales. Arrivée à la surface, l'huile essentielle sera vaporisée et entraînée par la vapeur d'eau. La diffusion des composés d'huile essentielle dissouts dans l'eau chaude à travers les membranes cellulaires du végétal est connue sous le nom d'hydrodiffusion (Von Röchenberg C., 1910).

Une conséquence de l'hydrodiffusion est le fait que la vitesse de vaporisation des constituants de l'huile essentielle dépend davantage de leurs solubilités dans l'eau que de leurs points d'ébullition (Leguet G. 1993).

L'hydrodistillation est accompagnée, des réactions chimiques résultantes entre l'eau et quelques constituants de l'huile essentielle (hydrolyse). Celle d'esters est la plus souvent

évoquée. Elle conduit à la formation d'acides organiques qui, à leur tour, catalysent les réactions de cyclisation et de déshydratation (Lagunez Rivera, 2006).

Il est à noter que, plus la quantité de l'eau est importante, plus les réactions sont accélérées et plus la formation d'alcools et d'acides serait favorisée. Autrement dit, le processus d'hydrolyse provoque une diminution du rendement en huile essentielle et est à l'origine de formation des artefacts (Handa et al. 2008).

Rappelons que pour des températures relativement élevées, la majorité des constituants de l'huile essentielle sont instables et réactifs, de plus elles favorisent la diffusion, le phénomène d'hydrolyse et peuvent même modifier le degré de solubilité des ces constituants dans l'eau bouillante.

Dans certains cas, à des températures relativement basses et pour une distribution parfaite de l'espèce végétale, les rendements en huile essentielle sont augmentés et les qualités ont été meilleures.

I.5. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation en présence de tensioactifs

I.5.1. Les tensioactifs

Les composés tensioactifs ou agents de surface, appelés en anglais surfactants (abréviation de surface active agents), sont des substances ayant la particularité d'être des composés amphiphiles, Ils comportent deux parties de polarités différentes : une partie apolaire, et l'autre polaire. La première a caractère lipophile, est constituée par une ou plusieurs chaînes hydrocarbonées aliphatiques, linéaires ou ramifiées, ou aromatiques ou encore alkyl-aromatiques, son caractère hydrophobe varie avec le nombre d'atomes de carbone, le nombre d'insaturations et les ramifications. En général, le caractère hydrophobe croît avec le nombre d'atomes de carbone et diminue avec le nombre d'insaturations. L'autre partie est hydrophile et présente une grande affinité pour l'eau. (Onesippe, 2005)

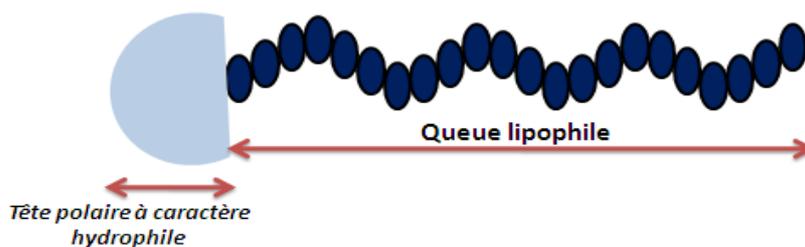
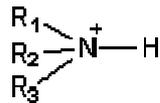


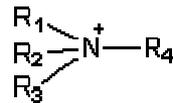
Figure I.6: Schéma simplifié d'un tensioactif

En règle générale, la classe chimique d'un tensioactif est donnée principalement par le type d'ionisation de sa tête polaire et par la longueur de sa queue lipophile.

- Les tensioactifs anioniques : le groupement fonctionnel est chargé négativement (-COO⁻, -SO₃⁻, -SO₄⁻, etc.)
- Les tensioactifs cationiques : le groupement fonctionnel est chargé positivement c'est le cas c'est le cas des amines protonées, ou des ammoniums quaternaires.



amine protonée



ammonium quaternaire

- Les tensioactifs zwitterioniques (ampholytes) : dans cette catégorie les molécules tensioactives se comportent comme des anions dans un milieu basique et comme des cations en milieu acide
- Les tensioactifs non ioniques : ils ne donnent pas lieu à des ions en solution aqueuse, La formation de liaisons hydrogène entre les molécules d'eau et certains groupements fonctionnels les rend solubles.

Selon Kenoche (1994) les agents tensioactifs non ioniques sont les plus intéressants et les plus utilisés car ils ne possèdent pas de charge, et sont donc généralement compatibles avec toutes les matières actives.

I.5.2. Action des tensioactifs sur les membranes cellulaires

Il a été montré que la pénétration des membranes cellulaires par une solution aqueuse de tensioactif est d'autant plus importante que la tension superficielle de la solution est petite. Il est permis, alors, d'admettre que le tensioactif solubilise les constituants des cires épicuticulaires, rend la membrane cellulaire perméable aux échanges de matière.

Bien que le principe de la solubilisation sélective par les tensioactifs des cires épicuticulaires ne soit pas bien élucidé, un mécanisme a été avancé (Tamura et al., 2002):

- étape d'adsorption: à l'interface entre la feuille et la solution aqueuse du tensioactif, ce dernier « reconnaît » la portion soluble de la cire épicuticulaire et interagit par sa partie hydrophobe avec les constituants hydrophobes;
- étape de réorganisation: certaines propriétés physiques des cires sont altérées et conduisent à un affaiblissement de la barrière diffusionnelle;

- phase de pénétration: la solution pénètre les tissus végétaux, suite à la miscellisation de la cire épicuticulaire

Ces étapes sont schématisées sur la figure I.7 suivante.

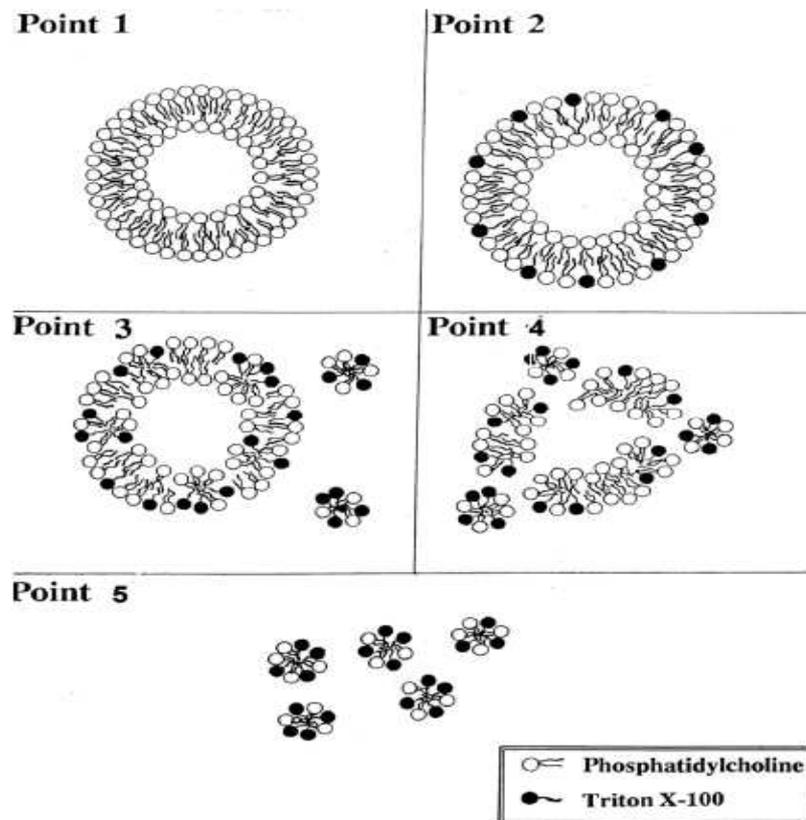


Figure I. 7 : Interactions tensioactif – bicouche lipidique de la membrane cellulaire et formation des micelles [Tamura et al. (2002)]

Point 1: Bicouche lipidique ; Point 2: étape d’adsorption du tensioactif ; Points 3: étape de réorganisation; Points 4 et 5 : solubilisation de la bicouche lipidique (formation miscelles)

Lorsque les molécules du tensioactif sont mises en contact avec la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, ils pénètrent dans celle-ci (point 2). Des micelles mixtes commencent à se former et après le détachement de certains d’entre elles, des perforations apparaissent dans la bicouche lipidique (point 3). Enfin, le nombre des micelles détachés augmente de plus en plus (Point 4) jusqu’à la dissolution complète de la bicouche lipidique par le tensioactif (Point 5).

L'une des plus importantes propriétés des agrégats micellaires est leur capacité à solubiliser des substances de natures différentes (Mackay R. A., 1987)

A l'échelle moléculaire, la solubilisation consiste en une dissolution spontanée d'une substance (solubilisé) grâce à des interactions réversibles (électrostatiques, hydrophobes et/ou liaisons hydrogène) avec les micelles d'un tensioactif présent dans un solvant donné, afin de former une solution isotrope, thermodynamiquement stable, dans laquelle l'activité thermodynamique du solubilisé est réduite (Rosen M. J., 1989.; Rosen M. J., Dahanayake M., (2000) ; Li J.L., Chen B.H., 2002).

Les solutions micellaires permettent donc d'agir sur la distribution des solubilisés dans un système liquide, car elles permettent, de plus, la concentration, la compartimentation et la localisation de ces substances. Des études (Bognolo G., 1997, Maniasso N., 2001) ont été réalisées pour essayer de relier les sites de solubilisation dans la micelle à la nature et à la polarité de différents solubilisés

Par la suite, Li et Chen (2002) ont mentionné que la cinétique de solubilisation est gouvernée soit par la diffusion, soit par des propriétés interfaciales.

La Figure III.3 illustre les différents sites de solubilisation :

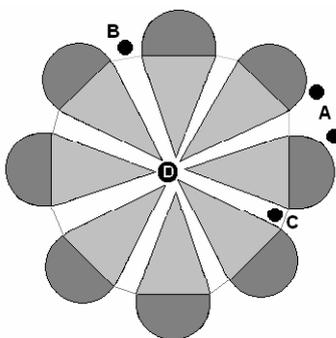


Figure I.8 : Localisation des solubilisés dans la micelle [Mackay R. A.(1987) ; Rosen M. J., Dahanayake M.(2000) ; Bognolo G.(1997) ; Maniasso N. (2001)]

(A) l'adsorption à la surface des micelles peut se produire avec des solubilisés (métalliques ou organiques) dans les micelles ioniques ou mixtes ; (B) les solubilisés, comme le phénol et l'o-nitroaniline, sont incorporés (généralement par des liaisons hydrogène) entre les chaînes d'oxyde d'éthylène des tensioactifs polyéthoxylés ; (C) certains solubilisés, comme le benzène et le naphthalène, sont incorporés dans la "palissade", entre les parties hydrophile et hydrophobe; (D) enfin, les solubilisés non polaires (hydrocarbures aliphatiques, par exemple) sont incorporés dans le cœur des micelles.

CHAPITRE II :

MATÉRIELS ET MÉTHODES

II.1. Matière végétale utilisée**II.1.1. Cueillette**

La plante utilisée dans cette étude provient du Jardin d'Essai, situé dans le quartier d'El Hamma à Alger (Figure II.2). Ce jardin, riche en différents espèces végétaux, est considéré comme étant un centre de formation botanique et un grand fournisseur de plantes.

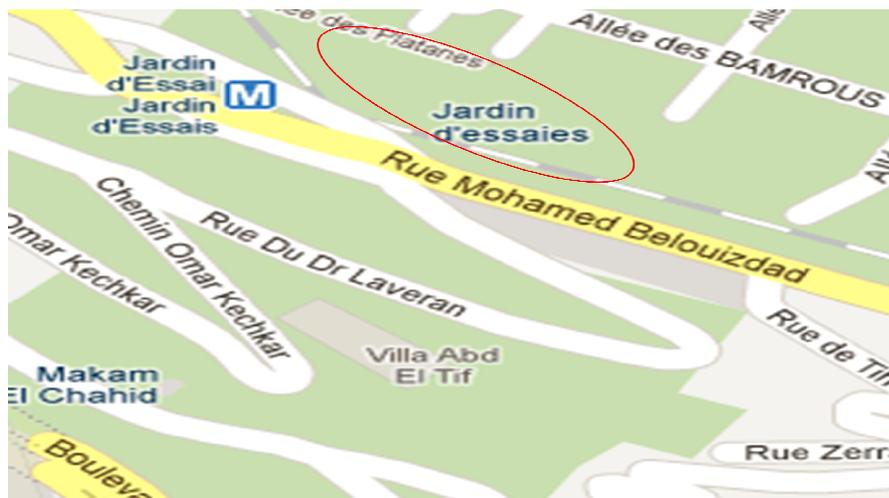


Figure II.1: Site du Jardin d'Essais d'Alger

Le climat de la région d'El Hamma est caractérisé par une atmosphère fraîche et très humide. L'identification botanique a été effectuée au Jardin d'Essai d'Alger.

La matière végétale, constituée des feuilles et tiges, a été récoltée à différents stades de son cycle végétatif, notamment:

Période de croissance: le 29 Novembre 2010 (Lot 1)

Période de boutonisation : le 27 Janvier 2011 (Lot 2)

Période de floraison : le 30 mars 2011 (Lot 3)

Période de post fructification : le 26 mai 2011 (Lot 4)

II.1.2. Echantillonnage

L'échantillonnage est une démarche méthodologique qui permet de recueillir des informations essentielles représentatives du lot mère dont l'échantillon végétal est retiré et comprend les étapes suivantes :

- Commencer par tracer sur un papier de grandes dimensions un carré; bien mélanger cette masse, puis étaler dedans tout le lot de la population;
- Diviser le carré par ses deux diagonales ;
- Diviser cette masse en deux parties identiques, représentant chacune la somme des deux triangles opposés par le sommet : 2 et 4 ou 1 et 3 (Figure II.2)



Figure II.2: Procédure d'échantillonnage

- Prendre chacune des masses, ainsi obtenues et répéter la procédure jusqu'à l'obtention de la masse voulue

Les échantillons représentatifs, ainsi obtenus, sont étalés, exposés à l'air libre et à la température ambiante du laboratoire (Figure II.3).



Figure II.3: Echantillons représentatifs de *Salvia officinalis* L.

Cette procédure est appliquée à chacun des quatre lots de matière végétale récoltés.

II.1.3. Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité de la matière végétale a été déterminé avant chaque manipulation, par distillation azéotrope au xylène, dans un appareil de Dean et Stark (Figure II.4), afin d'exprimer le rendement en huile essentielle par rapport à la masse de la matière végétale sèche. Ceci permettra la comparaison des rendements en huile essentielle, obtenus par différents essais, sur la même base.

La détermination du taux d'humidité a été réalisée suivant le protocole expérimental suivant. Une masse de matière végétale, pesée avec précision 10^{-4} g, est introduite dans le ballon et immergée dans du xylène. Le mélange est porté à ébullition et les vapeurs contenant l'eau et le solvant montent jusqu'au réfrigérant et, une fois liquéfiées, sont recueillies dans le tube gradué. A l'intérieur de celui-ci ces liquides non miscibles se séparent en deux phases.

Lorsque la phase supérieure, dans notre cas le xylène, atteint le niveau du bras, elle s'écoule dans celui-ci et retourne dans le ballon, alors que la phase inférieure, l'eau, reste dans le tube. L'opération est arrêtée lorsque le volume d'eau n'augmente plus. Le volume d'eau et la température ambiante sont mesurés avec précision, après une séparation complète des deux phases.

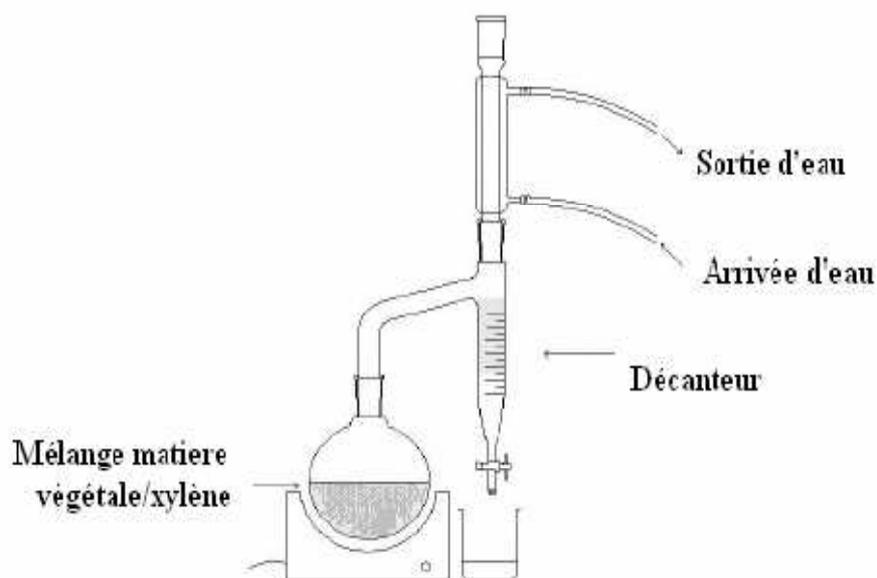


Figure II. 4 : Appareil de Dean et Stark [Stoyanova et al, (2006)]

La teneur en eau de la matière végétale, exprimée en %, est calculée par la formule suivante :

$$H = (V_{\text{eau}} * \rho_{\text{eau}}) * 100 / M \quad (\text{II.1})$$

où H est le taux d'humidité, %, par V_{eau} est désigné le volume d'eau recueilli dans le tube récepteur, mL, ρ_{eau} est la masse volumique de l'eau à la température ambiante, g/mL, et M, la masse de la matière végétale, g.

II.2. Appareillage et protocole expérimental d'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Le dispositif expérimental d'hydrodistillation est présenté à la figure II.5 suivante:

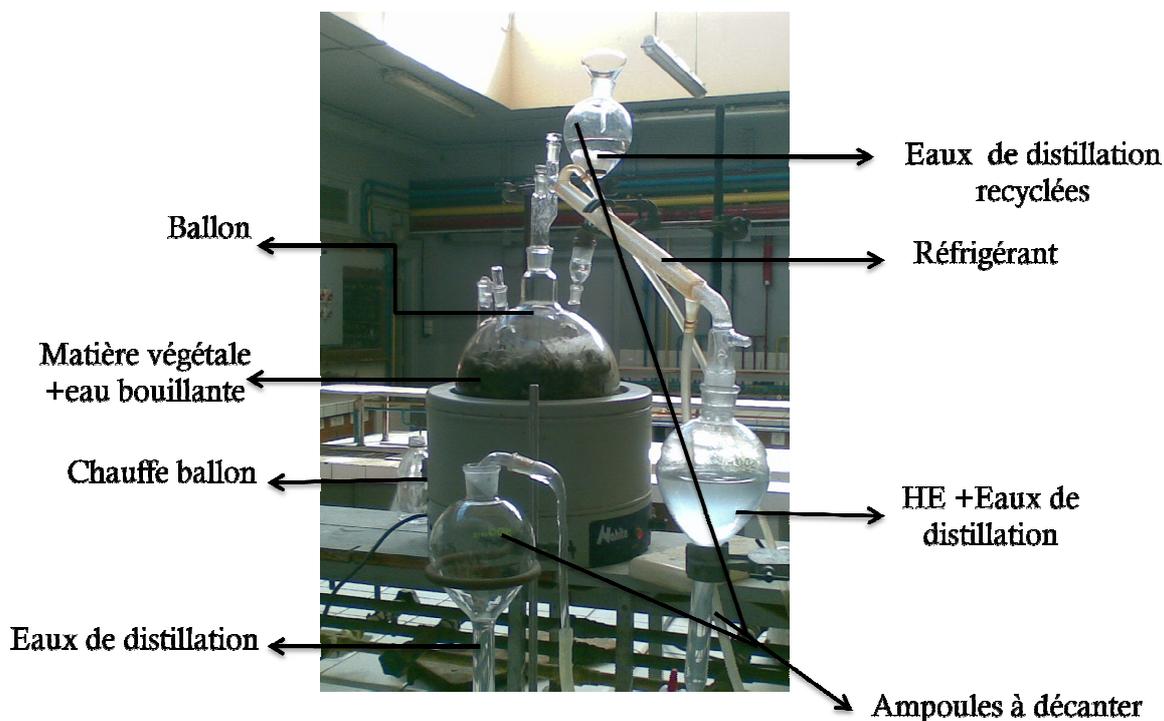


Figure II.5 : Dispositif expérimental d'hydrodistillation

Il est constitué d'un ballon de 6 litres, dans lequel la matière végétale baigne dans l'eau. La source de chaleur est un chauffe-ballon à puissance de chauffe variable. Le ballon est surmonté d'un réfrigérant où les vapeurs d'eau et d'huile essentielle sont refroidies et condensées. Les eaux de distillation, récupérées dans l'ampoule à décanter sont envoyées dans le ballon, à l'aide de l'ampoule à couler (cohobage).

La matière végétale, constituée des feuilles et des tiges pour *Salvia officinalis* L., préalablement pesée, est mise en contact avec l'eau ou avec la solution aqueuse du tensioactif. En se basant sur les résultats des travaux antérieurs (Charchari et al., 2011), nous avons fixé :

- la durée de l'hydrodistillation à 4 heures ;
- le rapport volume d'eau/masse de matière végétale à 16,8, correspondant au rapport minimal permettant d'immerger la matière végétale dans le liquide.
- la concentration des solutions aqueuses de tensioactifs utilisées à 5g/L;
- la durée de macération de la matière végétale dans la solution de tensioactif, préalable à l'hydrodistillation, à 24 heures;

L'ensemble est porté à l'ébullition à pression atmosphérique. Le débit de vapeur de $14,4 \pm 0,2$ mL/mn, correspondant à la puissance maximale de chauffe, est maintenu constant pendant toute la durée d'extraction.

Les vapeurs sont condensées dans le réfrigérant et les eaux de distillation sont ensuite réintroduites dans le ballon, afin de récupérer l'huile essentielle dissoute et de maintenir le rapport volume d'eau /masse de matière végétale à son niveau initial.

A la fin de l'opération le mélange eau-huile est récupéré dans le récipient de recette. L'huile est séparée des eaux de distillation par décantation, suivie d'extraction à l'éther diéthylique de ces dernières. La masse d'huile récupérée est déterminée par pesée, après l'évaporation de l'éther.

Le rendement en huile est exprimé, en pourcents, par rapport à la masse de matière sèche (II.2):

$$R_{HE} = 100. m_{HE} / M_S \quad (II.2)$$

Où par R_{HE} est désigné le rendement en huile essentielle, exprimé en pourcents ; m_{HE} et M_S sont les masses, en grammes, de l'huile essentielle et de la matière végétale sèche.

II.3. Tensioactif utilisé

Lors de l'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., nous avons utilisé un tensioactif non ionique, dont ces propriétés physico-chimiques sont résumées dans le tableau II.1 suivant :

Tableau II.1: Propriétés physico-chimiques du tensioactif utilisé

Aspect	Liquide visqueux clair de couleur jaune à jaune vert
Masse volumique	1,1 g/ml
Température d'ébullition	>100° C
H.L.B.	>16
CMC	8,04.10 ⁻⁵ M

Le choix de ce tensioactif est basé sur les résultats des études antérieures (Charchari et al., 2011) et est justifiée par le fait qu'il ne présente ni toxicité, ni caractère irritant. Il est peu coûteux, sans goût et sans odeur, parfaitement soluble dans l'eau et complètement biodégradable en aérobiose et en anaérobiose. Grâce à ces qualités il est utilisé en microbiologie et en industrie alimentaire.

II.4. Analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Les échantillons d'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. ont été analysés, à l'aide d'un appareil Agilent 6890N, dans les conditions opératoires suivantes :

- Colonne capillaire: en silice fondu, de longueur 30m et diamètre intérieur 0,32mm ;
- Phase stationnaire : HP5, épaisseur du film 0,25µm ;
- Gaz vecteur : hélium ;
- Détecteur : FID ;
- Débit de gaz vecteur : 1 mL/mn ;
- Température de colonne : 60 à 220°C à raison de 3°C/mn ;
- Température de l'injecteur : 250°C ;
- Température du détecteur : 250°C ;
- Volume injecté : 1µl ;
- Mode d'injection : split 1/80.

Un mélange, constitué de n-alcane, contenant 9 à 22 atomes de carbone, a été analysé dans les mêmes conditions opératoires.

L'identification des constituants des huiles essentielles a été réalisée par comparaison de leurs indices de rétention, calculés suivant la formule (II.1) de Van Den Dool et Kratz (1963), à ceux publiés dans la littérature (site web : www.pherobase.com) et à ceux, obtenus dans les mêmes conditions opératoires, rapportés par un travail antérieur (Charchari et al. 2010), relatif à l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau et l'analyse par CG-SM de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L, du même lot, cultivé au Jardin d'essais.

L'indice de Van Den Dool est calculé par la formule suivante :

$$I = 100 n + 100 \frac{T_i - T_n}{T_{n+1} - T_n} \quad (\text{II.3})$$

avec $T_r = T_0 + r t_r$ (II.4)

d'où $I = 100 n + 100 \frac{t_i - t_n}{t_{n+1} - t_n}$ (II.5)

Avec: i : constituant à identifier; n: alcane élué avant le constituant i; n + 1: alcane élué après le constituant i; T_i , T_n , T_{n+1} : températures de rétention des constituants i, n et n+1 respectivement; T_r , t_r : température et temps de rétention d'un constituant r; t_i , t_n , t_{n+1} : temps de rétention des constituants i, n et n+1 respectivement; T_0 : température initiale de la colonne; r: gradient de la température.

CHAPITRE III :

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX ET DISCUSSIONS

III.1. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Pour l'ensemble des échantillons analysés par CPG, nous avons enregistré les profils chromatographiques. Un chromatogramme type est présenté à la figure III.1 suivante.

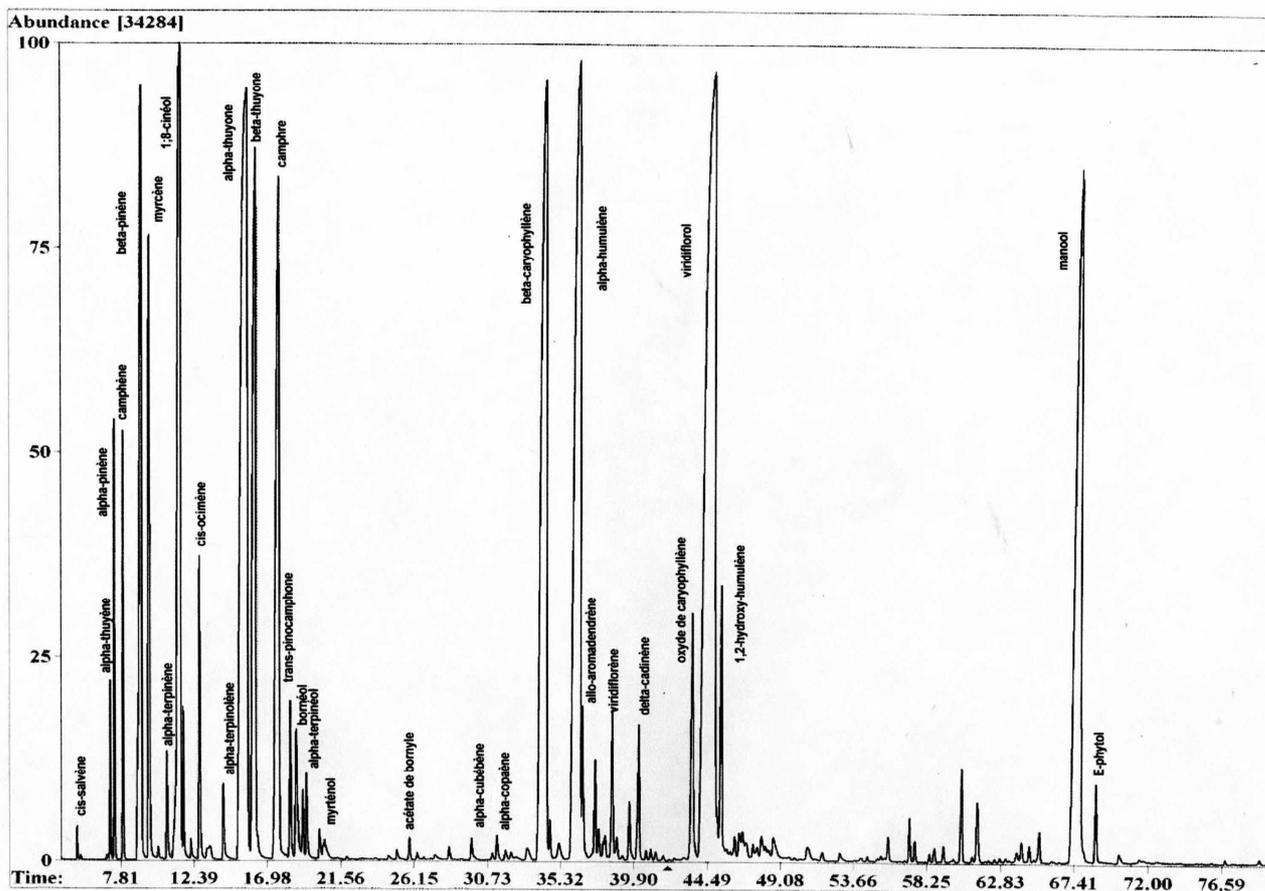


Figure III.1 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Nous avons, ensuite, procédé au calcul des indices de rétention, afin d'identifier les principaux constituants et d'estimer la teneur relative de chacune des classes chimiques des composés présents dans l'huile. Le tableau III.1 réunit les composés identifiés.

Tableau III.1 : Composés identifiés dans l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

N°	Composé	Indice de rétention
1	cis-salvène	823
2	α -thuyène	924
3	α -pinène	930
4	camphène	946
5	sabinène	973
6	β -pinène	981
7	myrcène	992
8	α -phélandrène	1004
9	α -terpinène	1016
10	p-cymène	1027
11	1,8-cinéol	1033
12	cis-ocimène	1037
13	trans-ocimène	1043
14	γ -terpinène	1059
15	trans-hydrate de sabinène	1068
16	α -terpinolène	1088
17	α -thuyone	1111
18	β -thuyone	1124
19	camphre	1149
20	cis-pinocamphone	1161
21	bornéol	1167
22	trans-pinocamphone	1174
23	4-terpinéol	1176
24	α -terpinéol	1189
25	myrténal	1195
26	myrténol	1196
27	acétate de bornyle	1283
28	α -cubébène	1345
29	α -ylangène	1365
30	α -copaène	1376
31	β -bourbonène	1380
32	β -cubébène	1389
33	γ -caryophyllène	1404
34	β -caryophyllène	1423
35	β -gurjunène	1432
36	aromadendrène	1439
37	α -humulène	1450
38	alloaromadendrène	1461
39	γ -muurolène	1477
40	germacrène D	1480
41	β -sélinène	1485
42	viridiflorène	1493
43	α -muurolène	1499
44	γ -cadinène	1512
45	δ -cadinène	1519
46	1,4-cadinadiène	1527
47	α -cadinène	1534
48	α -calacorène	1548

49	acide laurique (C ₁₂)	1580
50	oxyde de caryophyllène	1584
51	viridiflorol	1595
52	1,2-époxy-humulène	1607
53	α -muurolol	1645
54	β -eudesmol	1649
55	α -cadinol	1652
56	kongol	1654
57	phytone	1845
58	acide palmitique	1969
59	manool	2044
60	phytol	2089

Les soixante composés identifiés représentent 98,79% de l'huile essentielle.

III.2. Influence de la période de la récolte sur le rendement et la composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Pour déterminer l'influence de la période de la récolte sur le rendement en huile essentielle, nous avons procédé à des extractions par hydrodistillation de quatre échantillons de la plante fraîche, ayant des taux d'humidité entre 64,64 et 82,92%, cueillis à différentes périodes de végétation, en l'occurrence, pendant les périodes de croissance (fin Novembre), de boutonisation (fin Janvier), de floraison (fin Mars), de post-fructification (fin Mai).

Le tableau III.2 suivant regroupe les résultats obtenus.

Tableau III. 2: Rendements en huile essentielle, en %, obtenus par hydrodistillation des échantillons de *Salvia officinalis* L. fraîche, récoltés à différentes périodes de végétation

Période de récolte	H,%	R,%
Croissance	70,05	0,28
Boutonisation	79,77	0,74
Floraison	82,92	0,92
Post-fructification	64,64	2,15

Les résultats obtenus montrent que le rendement en huile augmente au cours du cycle végétatif de la plante, allant de 0,28%, en période de croissance à 2,15%, pour la plante récoltée pendant la période de post-fructification.

Sur la base de ces résultats, nous pouvons conclure que la période de végétation de la plante influe sur le rendement en huile essentielle et ceci pourrait être attribué, d'une part, à

l'influence des conditions climatiques sur la production de l'huile essentielle par la matière végétale, telles, la température, l'ensoleillement ou le photopériodisme, l'humidité, et d'autre part, au fait que pendant le cycle végétatif la biosynthèse des principes odorants évolue et, apparemment, elle prédominerait en période de post-fructification.

L'analyse, par CPG des quatre échantillons d'huile, a permis d'enregistrer les chromatogrammes présentés sur les figures III.2, III.3, III.4 et III.5 suivantes.

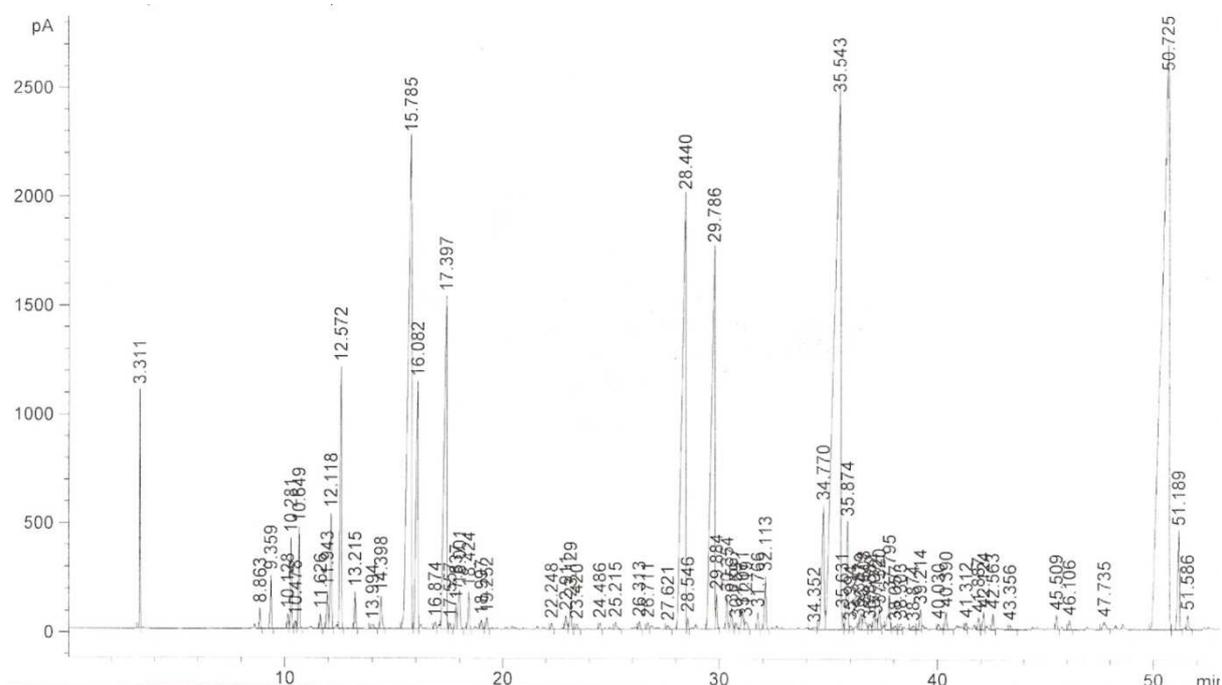


Figure III.2 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. récoltée en période de croissance (fin Novembre)

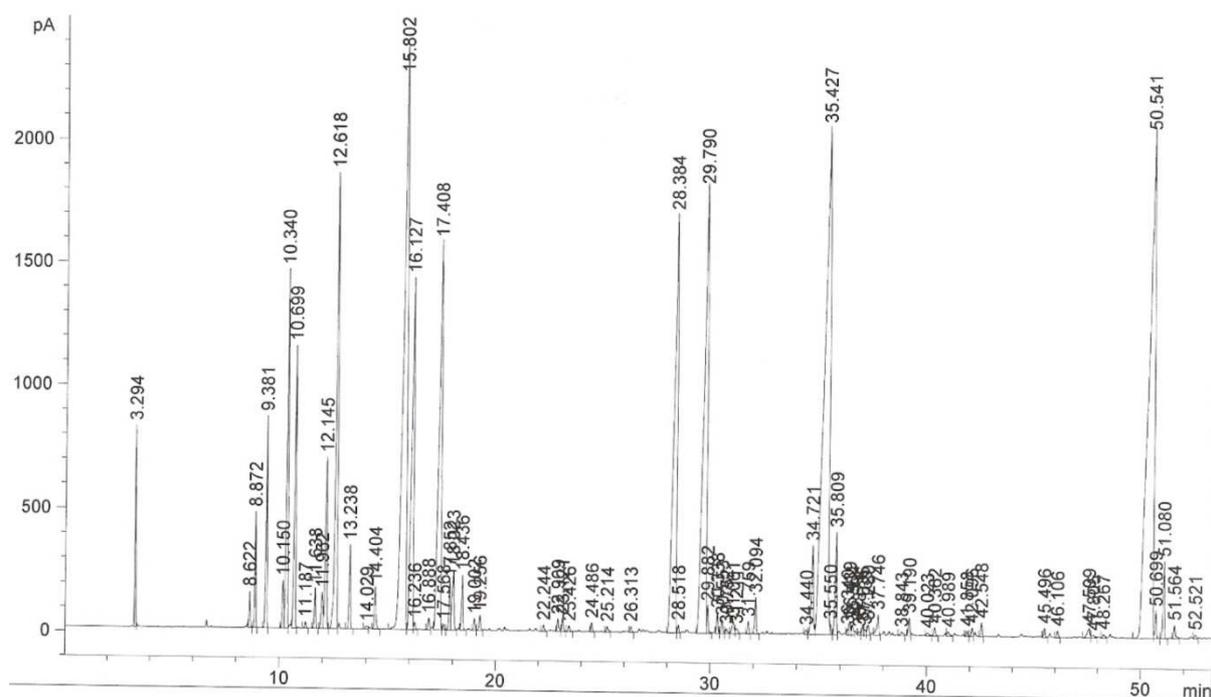


Figure III.3 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. récoltée en période de boutonisation (fin Janvier)

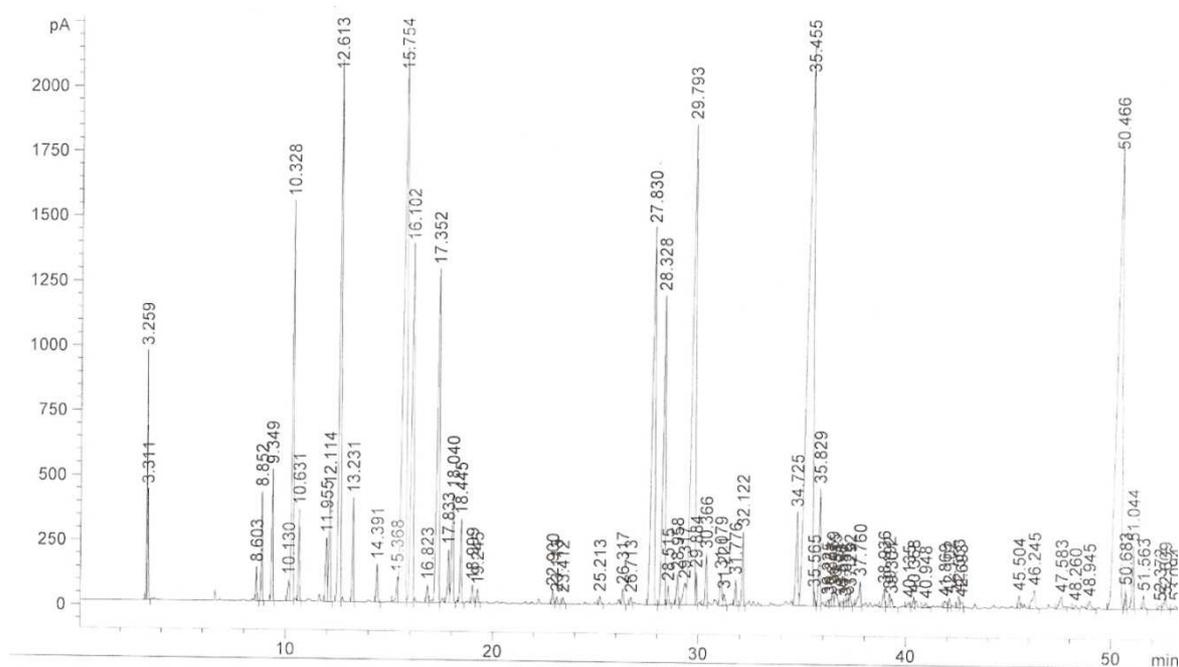


Figure III.4 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. récoltée en période de floraison (fin Mars)

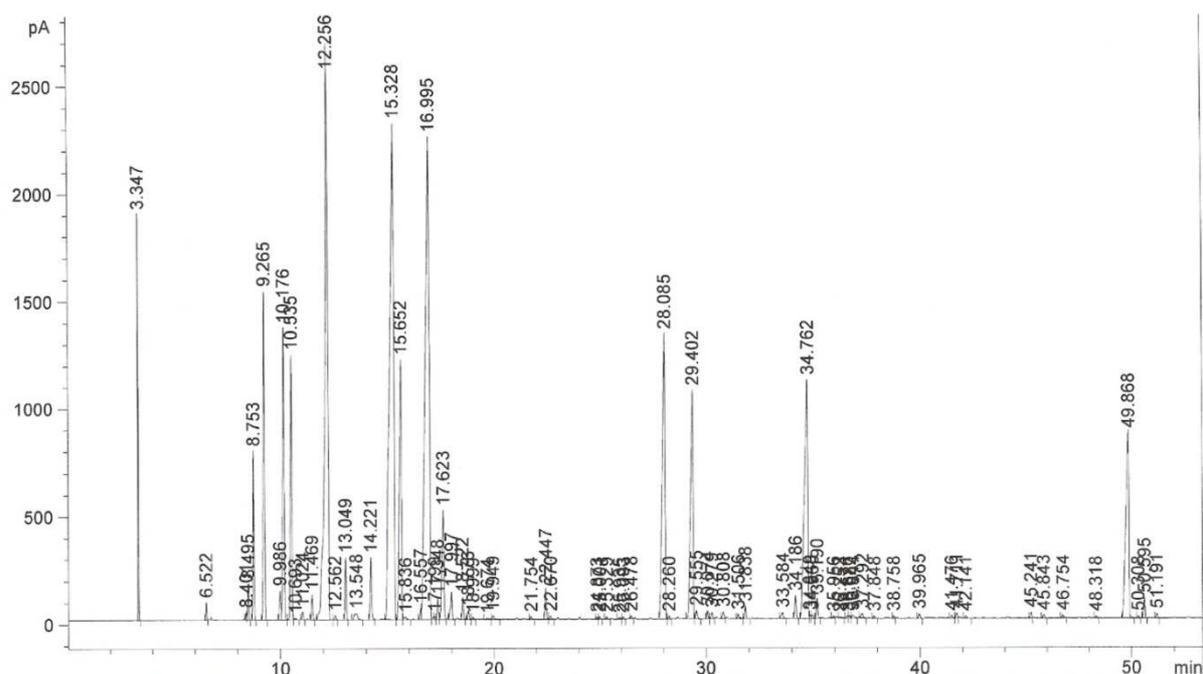


Figure III.5: Chromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. récoltée en période de post-fruitification (fin Mai)

L'examen des profils chromatographiques des quatre échantillons permet de constater leur allure similaire, du point de vue qualitatif. Par contre, des différences importantes sont à relever concernant leur composition quantitative. Aussi, nous avons réuni, dans le tableau III.3, les teneurs relatives des composés majoritaires de chaque échantillon d'huile essentielle.

Tableau III.3: Teneurs relatives, en %, des composés majoritaires des huiles essentielles obtenus par hydrodistillation des échantillons de *Salvia officinalis* L. fraîche, récoltés à différentes périodes de végétation

Période de végétation	Croissance		Boutonisation		Floraison		Post-fruitification	
Composés majoritaires	Manool	25,5	Manool	16,8	Viridiflorol	17,8	α -thuyone	17,3
	Viridiflorol	20,1	Viridiflorol	16,0	Manool	13,0	Camphre	16,5
	α -thuyone	10,8	α -thuyone	10,9	α -thuyone	13,2	1,8-cinéol	14,2
	β -caryophyllène	9,6	α -humulène	9,2	β -caryophyllène	6,4	Viridiflorol	6,8
	α -humulène	7,9	β -caryophyllène	7,9	1,8-cinéol	5,9	Manool	4,9

Nous observons que le manool, le viridiflorol et l' α -thuyone sont les constituants majeurs dans l'huile essentielle des échantillons de la plante récoltée pendant les périodes de croissance, de boutonisation et de floraison. Par contre, l' α -thuyone, le camphre et le 1,8-cinéol prédominent dans l'huile de la plante cueillie en période de post-fruitification. Au cours de ces quatre périodes du cycle végétatif de la plante, les teneurs en manool et en ces

quatre périodes du cycle végétatif de la plante, les teneurs en manool et en viridiflorol diminuent de façon spectaculaire, passant de 25,5 à 4,9 %, pour le manool et de 20,1 à 6,8%, pour le viridiflorol, alors que celles d' α -thuyone, du camphre et du 1,8-cinéol augmentent pour atteindre leurs valeurs maximales en période de post-fructification.

Si l'on doit tenir compte du fait que la notion de chémotype s'applique exclusivement dans le cadre d'une même espèce botaniquement bien identifiée et pour laquelle on découvre l'existence de variations notables et relativement constantes dans la composition chimique (Raskin, 2003), on doit définir, sur la base de ces résultats, au moins trois différents chémotypes de *Salvia officinalis* L. or, seule la période de végétation de la plante est, apparemment, à l'origine de ces variations de la composition chimique des huiles extraites.

Par ailleurs, nous avons résumé la composition chimique des huiles extraites des échantillons de la plante fraîche, récoltée à différentes périodes de son cycle végétatif, à l'aide des histogrammes de la figure III.6, donnant les teneurs relatives de principales classes des composés chimiques présents.

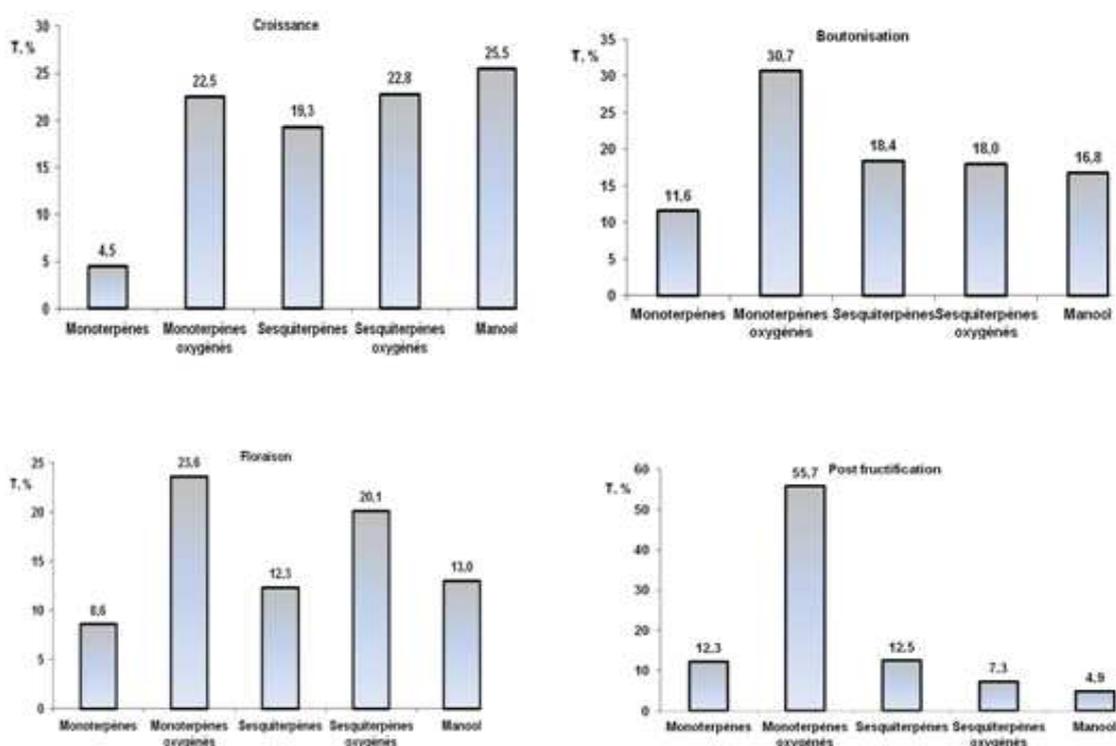


Figure III.6 : Teneurs relatives des principales classes des composés chimiques présents dans les huiles essentielles extraites des échantillons *Salvia officinalis* L. fraîche, récoltée à différentes périodes de son cycle végétatif.

On observe une variation remarquable de la composition des huiles analysées, en fonction de la période de végétation. Toutefois, mise à part l'huile de la plante en période de croissance, les monoterpènes oxygénés sont la classe chimique prépondérante dans l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., objet de cette étude, atteignant jusqu'à 55,7%, dans l'huile de la plante récoltée en période de post-fructification.

Puisque les différentes cueillettes proviennent du même centre de production végétale, nos résultats confirment l'impact du cycle biologique sur le rendement en huile, comme cela a été rapporté dans la littérature (Qiu hui-xia et al., 2005, Mirjalili et al., 2006). En outre, ils nous laissent supposer que la température saisonnière pourrait être un des facteurs importants, favorisant la formation de métabolites secondaires chez la sauge.

Quant à la variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle, les résultats des travaux antérieurs sont contradictoires, mais à notre connaissance, une évolution de la composition, telle que nous avons constatée lors de cette étude, n'a pas été observée jusqu'à présent à notre connaissance. Ceci pourrait remettre en cause, à notre avis, l'existence même des chémotypes de *Salvia officinalis* L.

III.3. Influence de la durée et de la température de stockage de la matière végétale sur le rendement et la composition de l'huile essentielle

Afin d'étudier l'influence de la durée et de la température du stockage, nous avons procédé à l'extraction par hydrodistillation des échantillons représentatifs des quatre lots de *Salvia officinalis* L., récoltés, respectivement, en périodes de croissance, de boutonisation, de floraison et de post-fructification, stockés à l'air libre et à la température ambiante du laboratoire. Cette dernière, mesurée régulièrement, a été, en moyenne, de 15°C, pour la plante, cueillie en période de croissance, de 13°C, pour le lot récolté en période de boutonisation, de 19,5°C, pour celui cueilli pendant la floraison et de 23°C, pour la plante récoltée en période de post-fructification. L'évolution des rendements en huile essentielle est illustrée par les figures III.7, III.8, III.9 et III.10 suivantes.

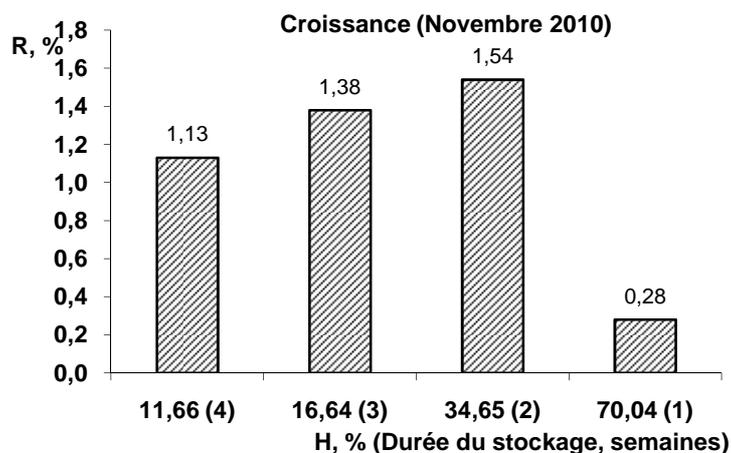


Figure III. 7 : Hydrodistillation de *Salvia officinalis* L., récoltée en période de croissance. Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction de la durée de stockage. (Température ambiante moyenne 15°C)

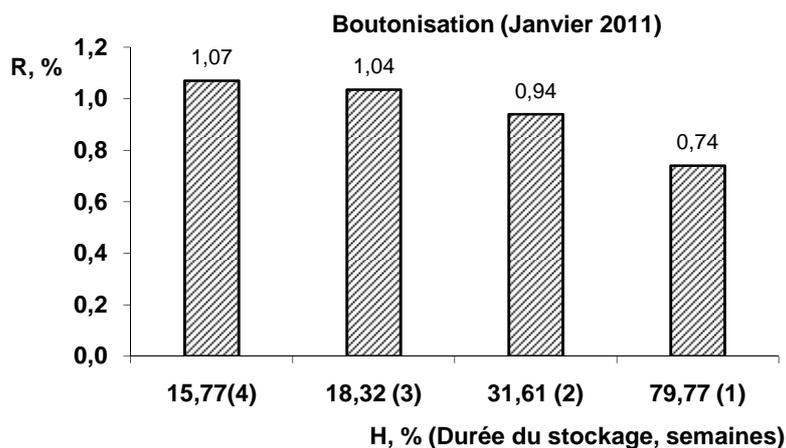


Figure III. 8: Hydrodistillation de *Salvia officinalis* L., récoltée en période de boutonisation. Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction de la durée de stockage. (Température ambiante moyenne 13°C)

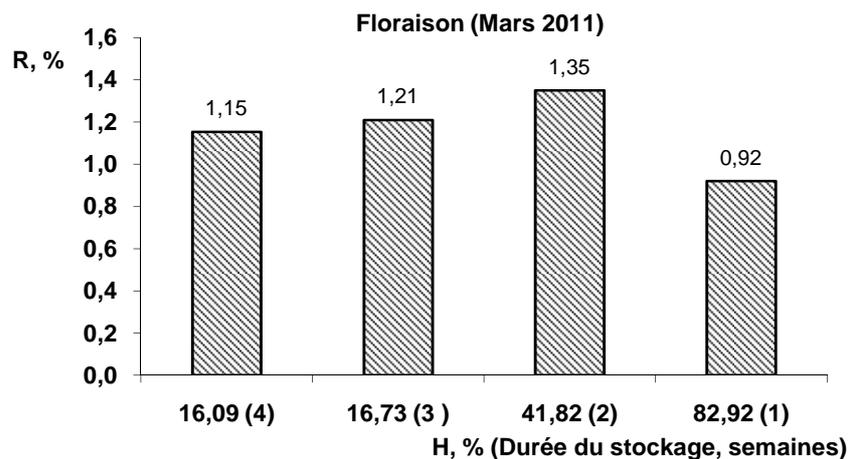


Figure III. 9: Hydrodistillation de *Salvia officinalis* L., récoltée en période de floraison. Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction de la durée de stockage. (Température ambiante moyenne 19,5°C)

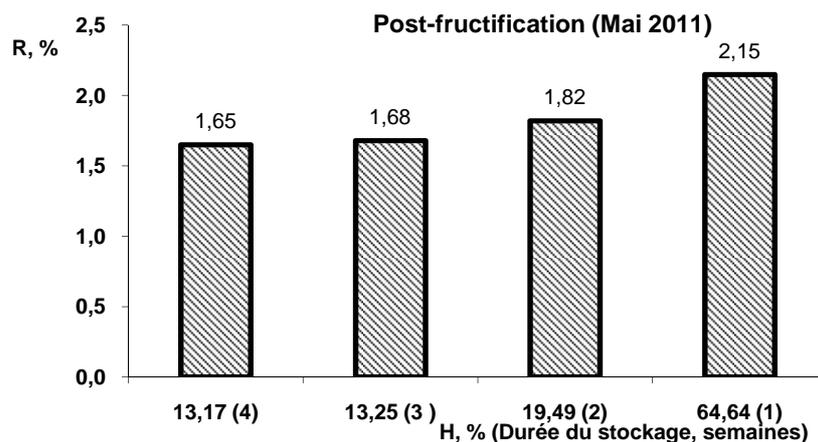


Figure III. 10: Hydrodistillation de *Salvia officinalis* L., récoltée en période de post-fructification. Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction de la durée de stockage. (Température ambiante moyenne 23°C)

Nous observons trois cas d'évolution du rendement en huile essentielle, en fonction de la durée et de la température du stockage :

- un maximum du rendement en huile essentielle est enregistré au terme de la deuxième semaine du stockage à des températures moyennes de 15 et 19,5°C (figures III.7 et III.9.), puis le rendement diminue pour atteindre, après un mois de stockage, une valeur supérieure à celle obtenue de la plante fraîche ;

- le rendement en huile essentielle augmente lentement au cours du stockage à 13°C (figure III.8) ;
- le rendement en huile essentielle diminue au cours du stockage à 23°C (figure III.10) ;

Cette évolution du rendement en huile pourrait être attribuée au fait qu'il est affecté par deux processus compétitifs et contradictoires :

- la formation, pendant le stockage, de métabolites secondaires, comme, entre autres, des composés terpéniques, issus du métabolisme glucidique. Ce dernier dépend de la température et de la teneur en eau dans les tissus végétaux. Cette fonction particulière des cellules sécrétrices, appelée respiration terpénique, a été observée pour d'autres plantes et rapportée dans la littérature (Gueorguiev, 1995; Silou et al., 2002).

- l'évaporation, accélérée avec l'élévation de la température ;

De toute évidence la vitesse des réactions, conduisant à la formation des métabolites secondaires, tels, les constituants de l'huile essentielle, dépend de la température du stockage de la plante. Lors du stockage à 23°C (Figure III.10), il semble que la formation des métabolites secondaires a été le processus prédominant pendant la première semaine, alors que lors du stockage à des températures de 15 et 19,5°C, il est prépondérant pendant la deuxième semaine. Par contre, le métabolisme secondaire reste le processus prédominant au cours du stockage à 13°C, mais l'évaporation de l'huile à cette température n'étant pas importante, le rendement en huile augmente faiblement.

L'analyse, par CPG, des échantillons de l'huile essentielle extraite de la plante en période de croissance (fin Novembre), après une, deux et quatre semaines de stockage à une température moyenne de 15°C, a permis de conforter les interprétations, ci-dessus, relatives à l'évolution du rendement en huile pendant le stockage et de mettre en évidence une importante variation de sa composition chimique. Les chromatogrammes enregistrés sont présentés par les figures III.11, III.12 et III.13, respectivement.

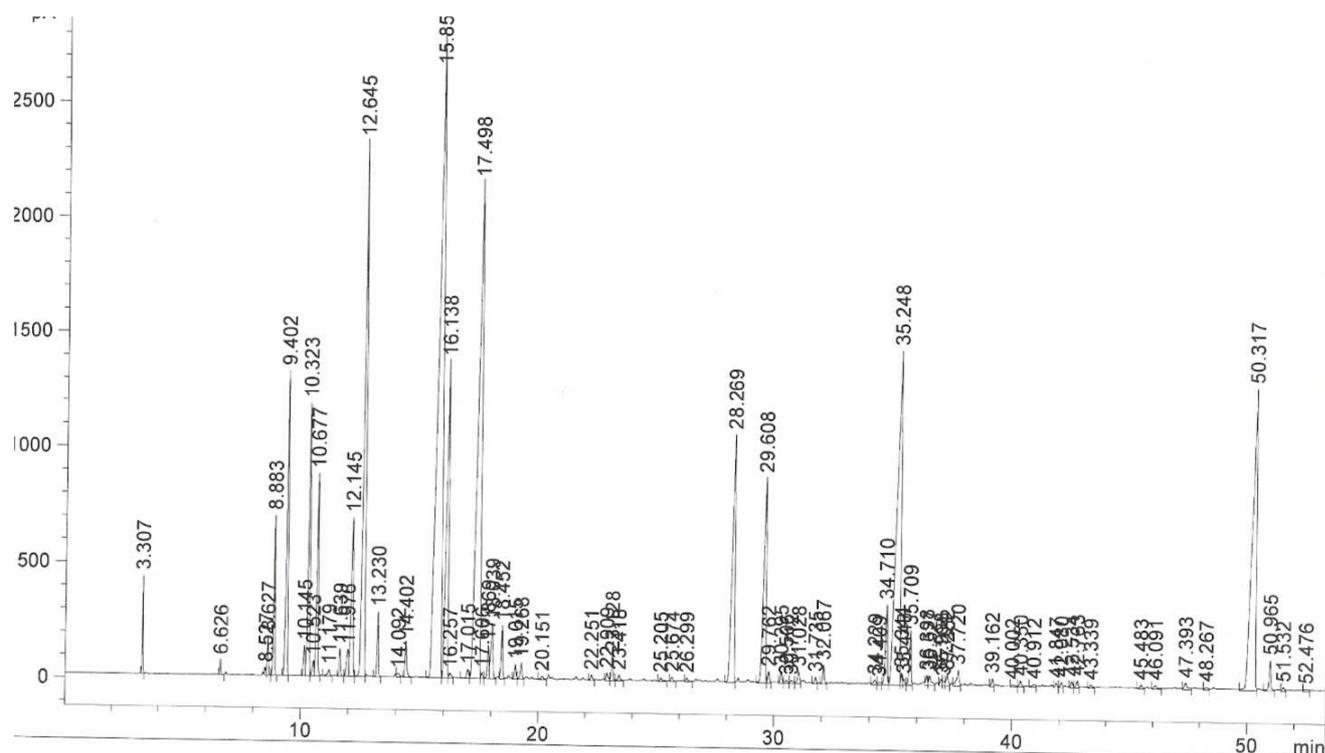


Figure III.12 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. récoltée en période de croissance (fin Novembre), stockée pendant quatre semaines à 15°C

Aussi, nous avons relevé et regroupé, dans le tableau III.4 suivant, les teneurs relatives des constituants majoritaires de ces trois échantillons d'huile essentielle.

Tableau III.4: Teneurs relatives, en %, des composés majoritaires des huiles essentielles obtenus par hydrodistillation des échantillons de *Salvia officinalis* L., récoltée en période de croissance, stockée pendant une, deux et quatre semaines à une température moyenne de 15°C

Durée de stockage, semaines	1		2		4	
Composés majoritaires	Manool	25,5	α -thuyone	22,0	α -thuyone	21,6
	Viridiflorol	20,1	Camphre	14,5	Camphre	13,4
	α -thuyone	10,8	1,8-cinéol	10,6	Viridiflorol	9,9
	β -caryophyllène	9,6	Viridiflorol	8,6	Manool	8,7
	α -humulène	7,9	Manool	6,1	1,8-cinéole	8,5

Sur la base des teneurs relatives des constituants majeurs, comme il est admis par la communauté scientifique, l'on peut définir trois chémotypes de *Salvia officinalis* L. Or, cette variabilité de composition n'est due qu'à la durée du stockage de la plante. Ces résultats expliqueraient les nombreux chémotypes de *Salvia officinalis* L., rapportés dans la littérature, présentés dans le tableau I.2 du chapitre I.

En tenant compte des rendements en huile obtenus et des teneurs relatives des composés appartenant aux différentes classes chimiques de chaque échantillon d'huile essentielle, en l'occurrence, monoterpènes, sesquiterpènes, cétones, alcools et oxydes, nous avons déterminé leur masse, en milligrammes, par gramme de matière sèche et représenté par l'histogramme de la figure III.13, son évolution, en fonction de la durée du stockage.

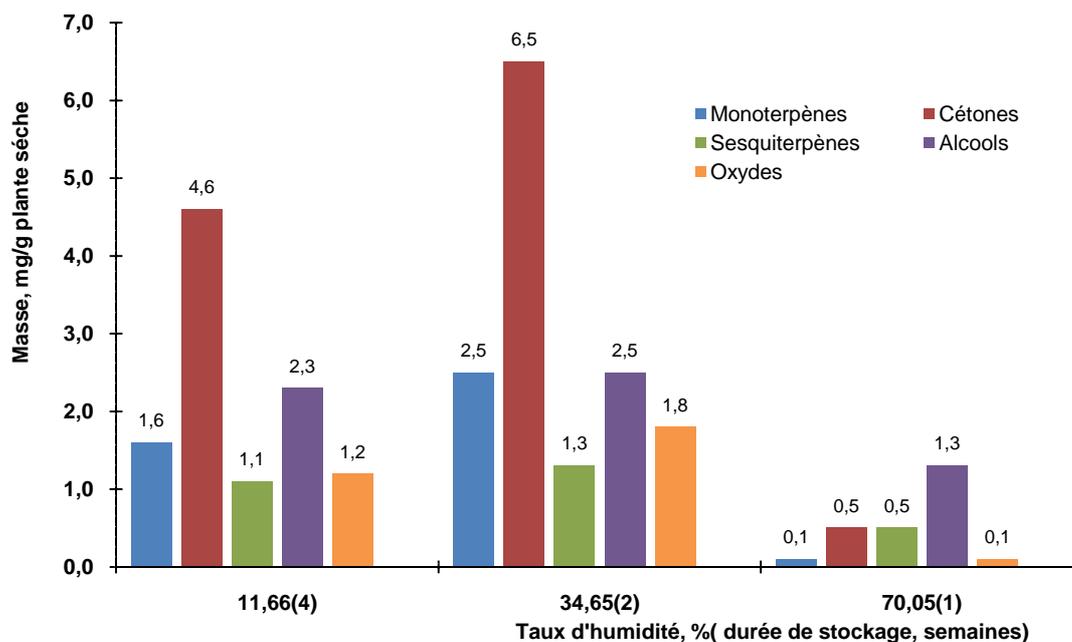


Figure III.13: Evolution de la masse des principales classes chimiques des constituants des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des échantillons de *Salvia officinalis* L. récoltée en période de croissance, stockée pendant une, deux et quatre semaines à une température moyenne de 15°C

L'examen de la figure III.13 permet d'observer une forte augmentation de la masse des constituants de l'huile essentielle entre la première et la deuxième semaine de stockage à une température ambiante moyenne de 15°C. Nous avons résumé, dans le tableau III.5, cette augmentation pour les principales classes chimiques des constituants de l'huile essentielle.

Tableau III.5: Augmentation de la masse des constituants des huiles essentielles, obtenues par hydrodistillation des échantillons de *Salvia officinalis* L. récoltée en période de croissance, stockée pendant une et deux semaines à une température moyenne de 15°C

Classe chimique	Taux d'humidité, % (durée de stockage, semaines)		Augmentation de la masse, nombre de fois
	70,05(1)	34,65(2)	
Monoterpènes	0,1	2,5	25
Cétones	0,5	6,5	13
Sesquiterpènes	0,5	1,3	2,6
Alcools	1,3	2,5	1,9
Oxydes	0,1	1,8	18

Entre la première et la deuxième semaine de stockage la masse des monoterpènes, en l'occurrence, l' α - et β -pinène, le camphène, le myrcène, le sabinène, le limonène, l' α - et γ -terpinène, augmente 25 fois, alors que le salvène et l' α -thuyène, absents dans l'huile obtenue de la plante après une semaine de stockage, se forment au cours de la deuxième semaine de stockage. Ce résultat confirme bien le phénomène de respiration terpénique. L'augmentation de la masse des sesquiterpènes n'est que de 2,6 fois.

La masse des oxydes, comme le 1,8- cinéol (majoritaire), l'oxyde de carryophyllène et le 1,2-epoxy-humulène, augmente 18 fois et témoignerait des réactions d'oxydation des mono- et sesqui- terpènes et/ou de formation des éthers à partir des alcools, au cours du stockage de la plante.

L'augmentation de 13 fois de la masse des cétones monoterpéniques, présentes dans l'huile, telles, l' α - et β -thuyones, le camphre et le pinocamphone, pourrait être attribuée aux réactions d'oxydation des hydrocarbures terpéniques, mais aussi des alcools, dont la masse n'augmente que 1,9 fois.

Entre la deuxième et la quatrième semaine de stockage, on observe une diminution de la masse des constituants de l'huile essentielle par gramme de matière sèche, comme montré dans le tableau III.6 suivant.

Tableau III.6: Diminution de la masse des constituants des huiles essentielles, obtenues par hydrodistillation des échantillons de *Salvia officinalis* L. récoltée en période de croissance, stockée pendant deux et quatre semaines à une température moyenne de 15°C

Classe chimique	Taux d'humidité, % (durée de stockage, semaines)		Diminution de la masse, nombre de fois
	2	4	
Monoterpènes	34,65(2)	11,66(4)	1,6
Cétones	2,5	1,6	1,4
Sesquiterpènes	6,5	4,6	1,2
Alcools	1,3	1,1	1,1
Oxydes	2,5	2,3	1,5

Il est à noter que cette diminution est d'autant plus importante que la température d'ébullition des composés concernés est faible et suit l'ordre décroissant suivant : monoterpènes (Teb.=150-185°C), oxydes (en particulier le 1,8-cinéole, Teb.=176°C), cétones monoterpéniques (Teb.=201-210°C), sesquiterpènes (Teb.=250-280°C) et alcools (principalement le viridiflorol (Teb.=293°C) et le manool (Teb.=367°C) (Georguiev, Stoyanova, 2000).

Ces observations apporteraient la preuve de la prédominance du processus de l'évaporation au-delà de deux semaines de stockage de la plante.

Par ailleurs, l'augmentation de la masse des terpènes et de leurs dérivés au cours du stockage de *Salvia officinalis* L. a été constatée, aussi, pour les huiles essentielles extraites des échantillons récoltés pendant les périodes de boutonisation (fin Janvier) et floraison (fin Mars) et stockés, respectivement, à 13 et 19,5°C, comme l'on peut constater, en examinant les histogrammes des figures III.14 et III.15 suivantes.

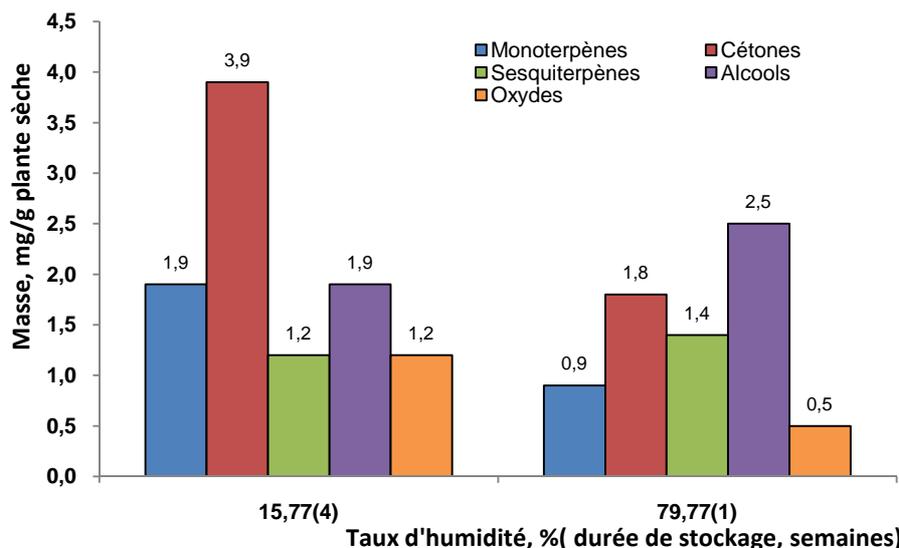


Figure III.14: Evolution de la masse des principales classes chimiques des constituants des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des échantillons de *Salvia officinalis* L., récoltée en période de boutonisation (fin Janvier), stockée pendant une et quatre semaines à une température moyenne de 13°C

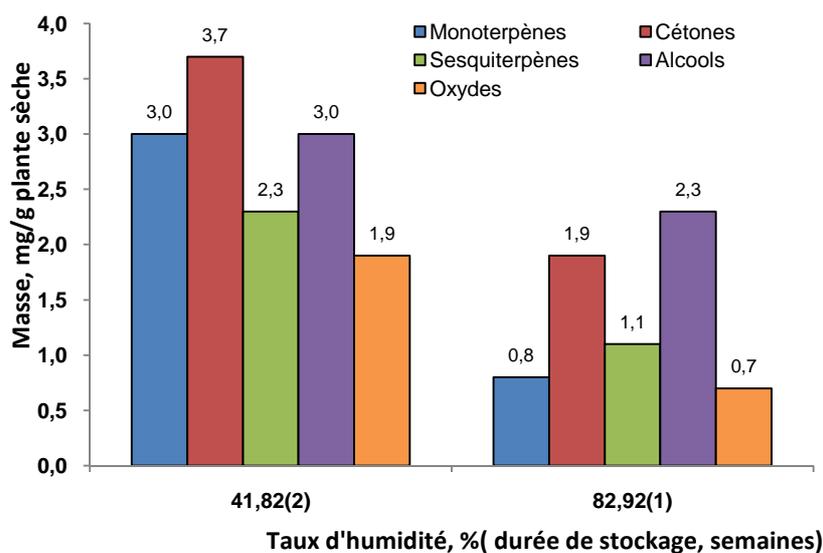


Figure III.15: Evolution de la masse des principales classes chimiques des constituants des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des échantillons de *Salvia officinalis* L. récoltée en période de floraison (fin Mars), stockée pendant une et deux semaines à une température moyenne de 19,5°C

Cependant, elle semble beaucoup moins importante que celle observée dans le cas de la plante récoltée en période de croissance et, de toute évidence, est influencée par la température du stockage et par le taux d'humidité de la matière végétale. En effet, l'élévation de la température favorise aussi bien les réactions de transformations chimiques dans l'organisme

du végétal que l'évaporation des constituants de l'huile essentielle, alors que la diminution du taux d'humidité de la plante ralentit la formation des alcools.

III.4. Influence du prétraitement de *Salvia officinalis* L. avec tensioactif sur le rendement et la composition de l'huile essentielle

Les rendements en huile ont été déterminés lors de l'extraction par hydrodistillation des échantillons de la plante de même taux d'humidité, récoltée pendant différentes périodes de son cycle végétatif, avec et sans macération dans une solution aqueuse de tensioactif. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau III.7 suivant.

Tableau III. 7: Rendements en huile essentielle, en %, obtenus par hydrodistillation de *Salvia officinalis* L. avec et sans prétraitement au tensioactif

Période de végétation	Taux d'humidité, %	Rendement en huile, %		Augmentation du rendement, %
		Sans tensioactif	Avec tensioactif	
Croissance	16,65	1,32	1,72	30,3
Floraison	16,09	1,15	1,49	27,8
Post-fructification	64,64	2,15	3,45	60,9
	19,49	1,82	2,28	25,2
	13,17	1,65	1,79	8,5

On note que quelque soit la période de végétation, les rendements en huile essentielle obtenus en présence de tensioactif, pour un même taux d'humidité de la matière végétale, sont supérieurs à ceux obtenus sans tensioactif.

Deux raisons pourraient être à l'origine de ce fait:

- la solubilisation sélective par le tensioactif des cires épicuticulaires et des membranes cellulaires y créant des ouvertures. Ceci a pour conséquence l'amélioration des échanges de matière, en l'occurrence, la pénétration de l'eau dans les cellules sécrétrices et la diffusion de l'huile essentielle vers la surface du végétal
- la miscellisation des constituants de l'huile par le tensioactif, favorisant leur hydrodiffusion.

Nous constatons, par ailleurs, que l'augmentation du rendement en huile, provoquée par la présence du tensioactif, dépend du taux d'humidité de la plante qui est lié à la durée et à la température du stockage. A titre d'exemple, pour la plante récoltée en période de post-fructification et stockée à une température moyenne de 23°C, l'augmentation du rendement en huile de 60,9%, estimée pour un taux d'humidité de 64,64%, n'est que de 8,5%, pour un taux d'humidité de 13,17%, la plante ayant perdu une partie de son huile essentielle par évaporation, pendant le stockage.

L'analyse par CPG des huiles, extraites sans et avec prétraitement par tensioactif de la plante récoltée en période de post-fructification, ayant un taux d'humidité de 64,64%, a permis d'enregistrer leurs chromatogrammes, présentés par les figures III.16 et III.17 suivantes.

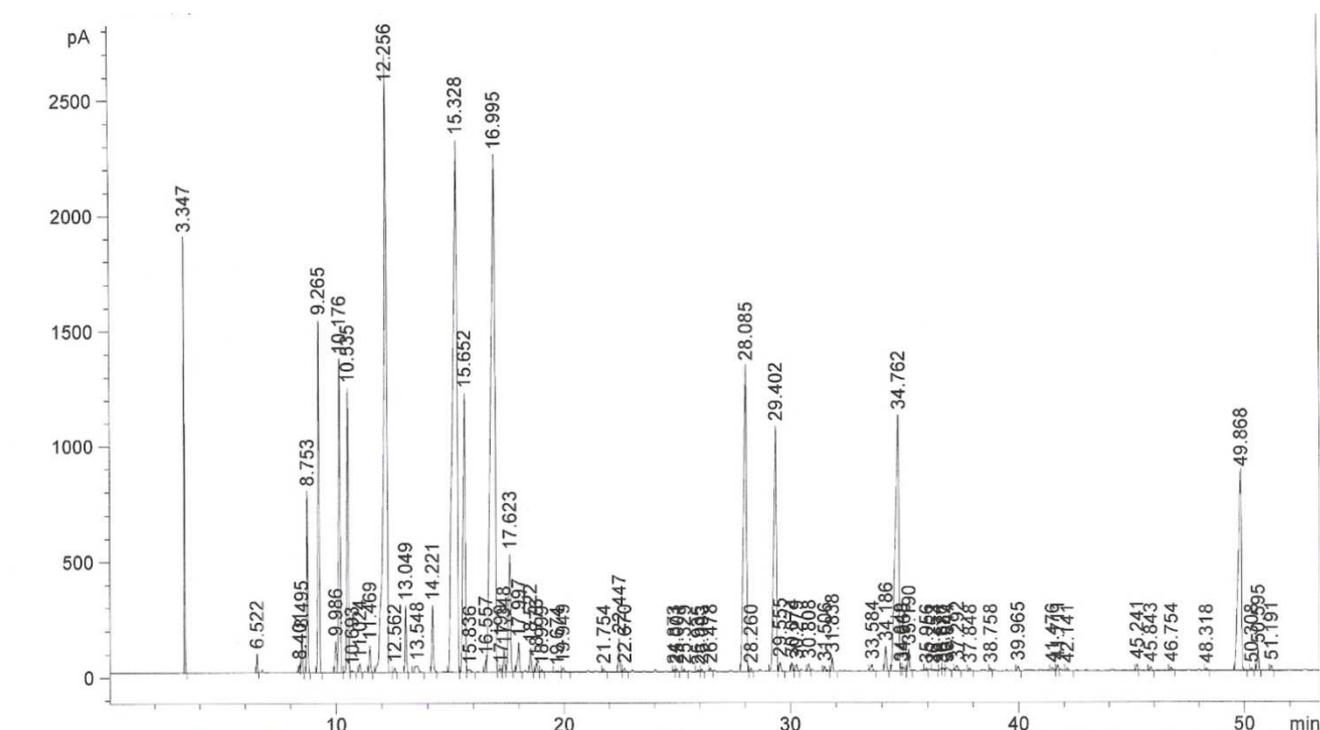


Figure III.16: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue de *Salvia officinalis* L. sans prétraitement avec tensioactif

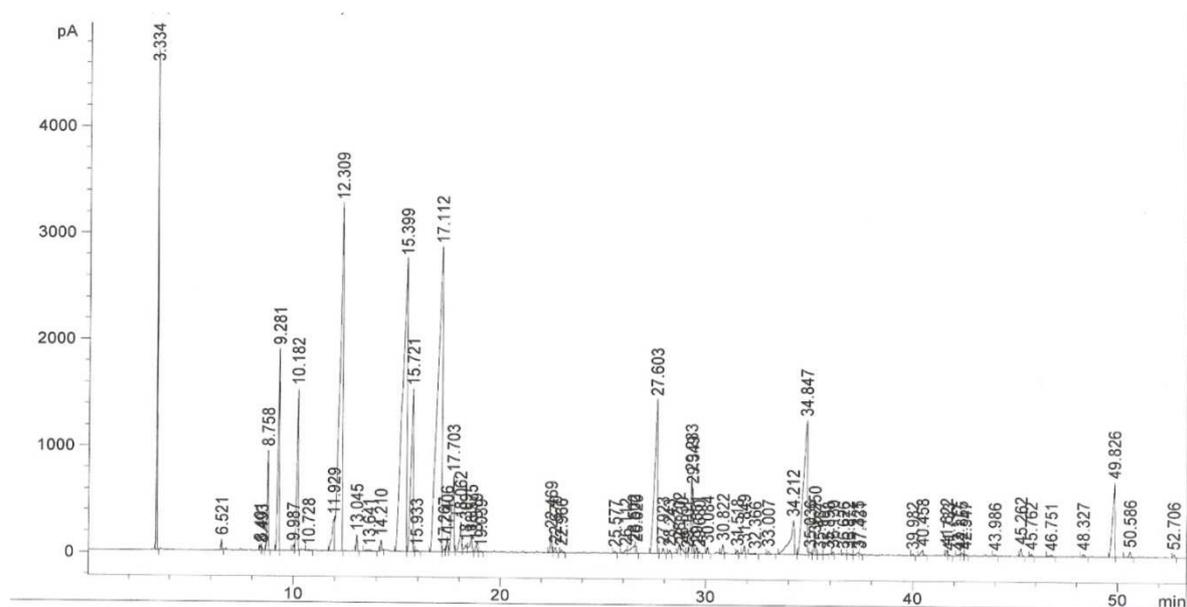


Figure III.17: Chromatogramme de l'huile essentielle obtenue de *Salvia officinalis* L. ayant subi un prétraitement avec tensioactif

Mis à part des différences, du point de vue quantitatif, nous décelons l'apparition de nouveau pic dans le chromatogramme de l'huile essentielle de la plante après son prétraitement avec tensioactif. Il s'agit du pic de temps de rétention de 34,2 mn, correspondant à l'acide laurique.

Nous avons estimé les teneurs relatives des principales classes de composés terpéniques et tracé l'histogramme de la figure III.18.

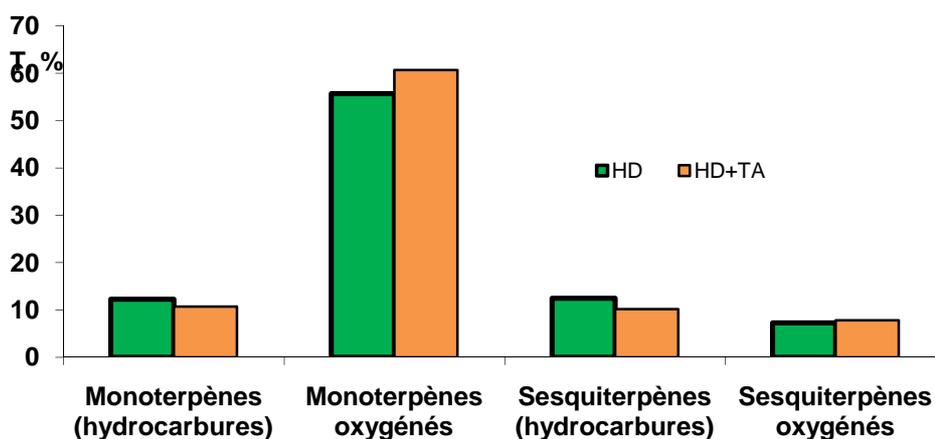


Figure III.18: Teneurs relatives des principales classes de composés terpéniques des huiles essentielles, extraites par hydrodistillation de *Salvia officinalis* L., sans (HD) et avec (HD+TA) prétraitement avec tensioactif

L'examen de la figure III.18, montre que l'huile essentielle, obtenue après macération de la plante dans une solution aqueuse de tensioactif, est plus riche en dérivés oxygènes des mono- et sesqui-terpènes. Il serait permis, alors, de conclure qu'en présence du tensioactif, suite à la miscellisation, l'hydrodiffusion des composés polaires, tels les dérivés oxygènes, est favorisée et leur transfert vers l'interface liquide-vapeur, amélioré.

Comme précédemment, en tenant compte des rendements en huile, obtenus sans et avec prétraitement par tensioactif, et des teneurs relatives des composés appartenant aux différentes classes chimiques de chaque échantillon d'huile essentielle, nous avons déterminé leur masse, en milligrammes, par gramme de matière sèche et le taux d'augmentation de cette dernière, obtenu en présence du tensioactif. Les résultats obtenus sont réunis dans le tableau III.8 suivant.

Tableau III. 8: Augmentation de la masse, en %, des constituants des huiles essentielles, obtenues par hydrodistillation de *Salvia officinalis* L. avec et sans prétraitement avec tensioactif

Classe chimique	Masse, mg/g plante sèche		Augmentation de la masse, %
	Sans tensioactif	Avec tensioactif	
Monoterpènes	2,6	3,6	38,5
Cétones monoterpéniques	8,3	14,7	77,1
Sesquiterpènes	2,7	2,8	3,7
Alcools	3,1	4,5	45,2
Oxydes	3,2	5,0	56,3
Acides carboxyliques	-	0,7	-

Ces résultats montrent, en effet, que la plus forte augmentation concerne la masse des composés polaires, en l'occurrence, les cétones monoterpéniques: 77,1%; les oxydes: 56,3%; les alcools: 45,2%. Le taux le plus faible est observé pour les sesquiterpènes, composés peu polaires.

Nous remarquons, en outre, l'apparition des acides carboxyliques, en particulier, l'acide laurique, dans l'huile obtenue après un prétraitement de la plante par tensioactif. La présence de cet acide traduit la solubilisation des cires épicuticulaires et des membranes cellulaires par le tensioactif, car il entre dans la composition des membranes cuticulaires, comme cela a été rapporté, par des travaux antérieurs, pour d'autres espèces végétales (Baker, Holloway, 1970, Abdelli, 2011).

Par ailleurs, nous avons comparé les masses, en grammes par gramme de plante sèche, des composés majeurs, représentatifs des hydrocarbures terpéniques et de leurs dérivés oxygénés des huiles obtenues sans et avec prétraitement de la plante par tensioactif.

L'histogramme de la figure III.19 présente les masses composés majeurs, représentatifs des hydrocarbures monoterpéniques.

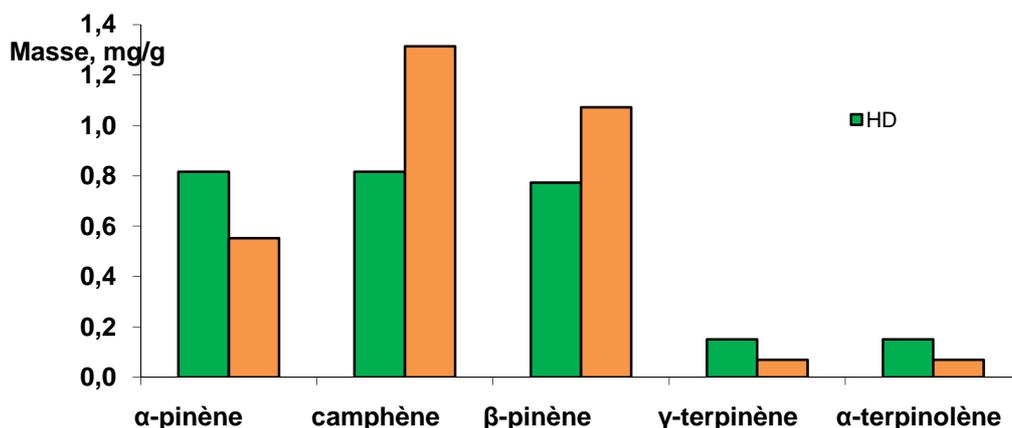


Figure III.19: Masse, en mg/g de plante sèche, des principaux monoterpènes des huiles essentielles obtenues sans (HD) et avec (HD+TA) prétraitement avec tensioactif

On observe, dans l'huile obtenue en présence de tensioactif, une diminution des masses de l' α -pinène, du γ -terpinène et de l' α -terpinolène et une augmentation des masses du camphène et du β -pinène. Les structures de ces molécules sont présentées à la figure III.20 suivante.

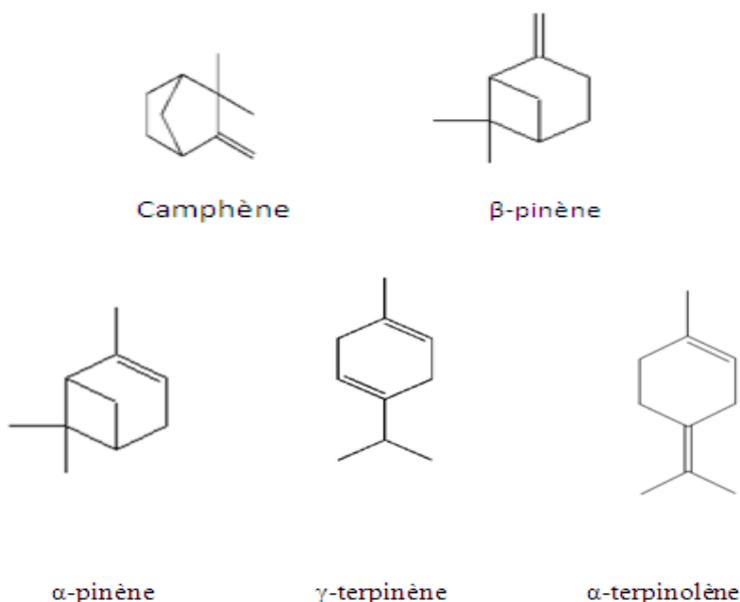


Figure III.20: Structures moléculaires des principaux hydrocarbures monoterpéniques de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Le camphène et le β -pinène se distinguent des autres hydrocarbures monoterpéniques par la présence, dans leurs molécules, des doubles liaisons exo-cycliques, conférant à ces molécules un moment dipolaire. Cette relative polarité pourrait être à l'origine à l'inclusion de ces composés dans la partie hydrophile du tensioactif et, par conséquent, leur hydrodiffusion se trouverait améliorée.

Cette hypothèse semble être confirmée par la comparaison des masses des hydrocarbures sesquiterpéniques, évaluées dans les échantillons des huiles essentielles, obtenues sans et avec le prétraitement avec tensioactif de la plante, comme montre l'histogramme de la figure III.21 suivante.

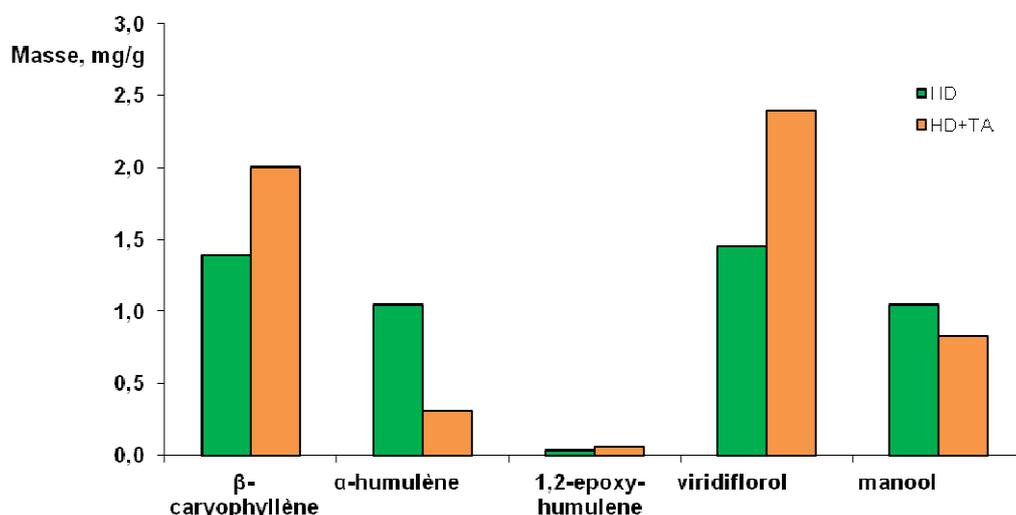


Figure III.21: Masse, en mg/g de plante sèche, des principaux sesquiterpènes, de leurs dérivés oxygénés et du manool des huiles essentielles obtenues sans (HD) et avec (HD+TA) prétraitement avec tensioactif

Nous constatons, en effet, dans l'huile obtenue en présence de tensioactif, une augmentation des masses du β -caryophyllène, du viridiflorol et du 1,2-epoxy-humulene. La polarité de ces molécules est due à la double liaison exocyclique, pour le β -caryophyllène, au groupement hydroxyle, pour le viridiflorol et au groupement éther cyclique, pour le 1,2-epoxy-humulene. Par contre, les masses de l'humulène et du manool sont plus élevées dans l'huile obtenue sans prétraitement de la matière végétale avec tensioactif. Comme l'on peut remarquer, en examinant les structures moléculaires de ces composés (Figure III.22), ces deux molécules sont peu polaires, à cause de la distribution uniforme des doublets π , dans la molécule de

l'humulène, et du fait de la prédominance de la partie hydrocarbonnée, par rapport à la double liaison exo-cyclique et le groupement hydroxyle, dans la molécule du manool.

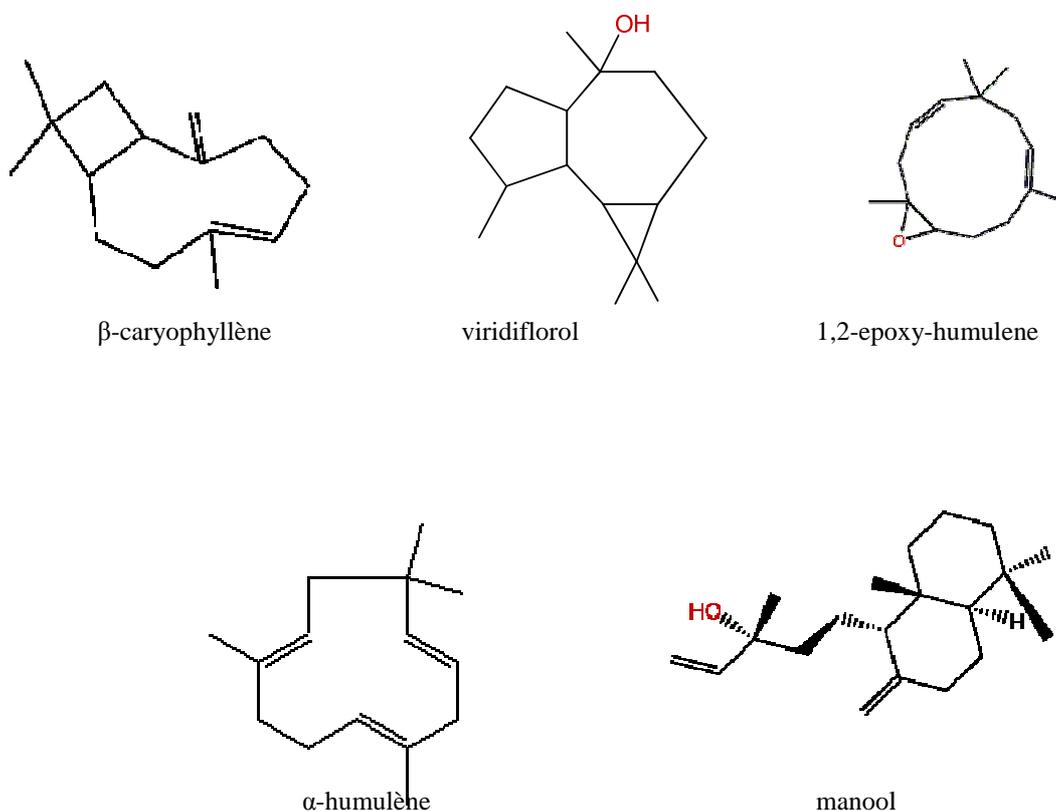


Figure III.22: Structures moléculaires des principaux sesquiterpènes, de leurs dérivés oxygénés et du manool, présents dans l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Enfin, concernant les dérivés oxygénés des monoterpènes, on note que leurs masses sont plus élevées, dans l'huile extraite en présence du tensioactif, comme montré sur la figure III.23 suivante.

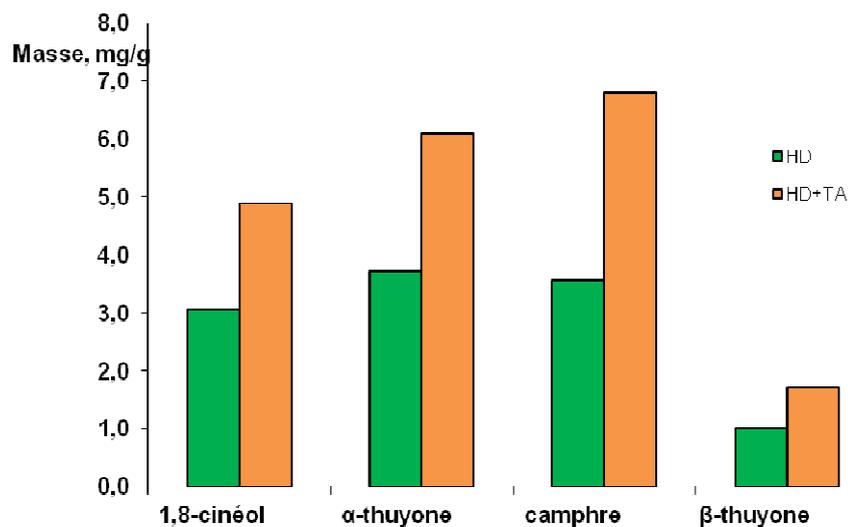


Figure III.23: Masse, en mg/g de plante sèche, des principaux dérivés oxygénés des monoterpènes des huiles essentielles obtenues sans (HD) et avec (HD+TA) prétraitement avec tensioactif

Les structures moléculaires de ces composés, présentées à la figure III.24, reflètent leur polarité.

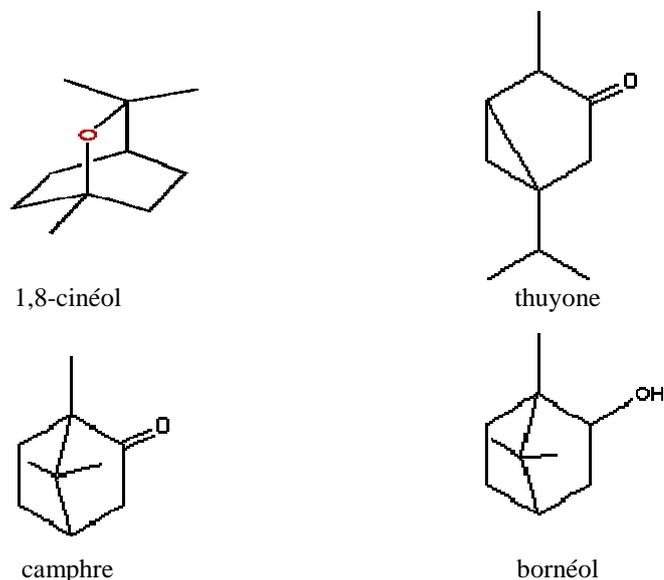


Figure III.24: Structures moléculaires des principaux dérivés oxygénés des monoterpènes de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

A titre d'exemple, le moment dipolaire du 1,8-cinéole est de 1,58 D et 3,08 D, pour le camphre (Kisiel et al., 2003).

Tous ces résultats viennent appuyer l'hypothèse que nous avons émise précédemment, relative à la miscellisation de l'huile essentielle par le tensioactif, favorisant l'hydrodiffusion des composés polaires, tels les dérivés oxygénés, et leur transfert vers l'interface liquide-vapeur.

CONCLUSION

Cette recherche est une contribution à l'étude de l'influence de la période de récolte, de la durée et la température de stockage, ainsi que du prétraitement, avec un tensioactif, de la matière végétale sur le rendement et la composition de l'huile essentielle de sauge (*Salvia officinalis* L.)

En termes de rendement en huile essentielle, l'ensemble des résultats d'extraction par hydrodistillation, ont révélé que :

- la période de végétation de la plante influe sur le rendement en huile essentielle: il augmente au cours du son cycle végétatif, allant de 0,28%, en période de croissance à 2,15%, pour la plante récoltée pendant la période de post-fructification.
- le rendement en huile essentielle dépend de la durée et de la température du stockage.
- le prétraitement de la plante avec tensioactif provoque une augmentation appréciable du rendement en huile essentielle. Cette augmentation dépend du taux d'humidité de la matière végétale.

La variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., rapportée dans la littérature par les travaux antérieurs, menés dans différents pays, a été à l'origine de la définition de plusieurs chémotypes. Cependant, l'analyse, par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle, extraite des échantillons représentatifs de la plante, provenant du même centre de production végétale, en l'occurrence, le Jardin d'essai d'Alger, récoltés à différentes périodes du cycle végétatif, ou stockés à différentes températures, pendant différentes durées, a permis d'observer une très forte variation de la composition de l'huile essentielle, du point de vue quantitatif, en fonction de ces paramètres. Ceci pourrait donner lieu à la définition de nouveaux chémotypes *Salvia officinalis* L., sur la base de la teneur relative des constituants majoritaires de l'huile. Or, nous avons mis en évidence que la variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle est tributaire des phénomènes suivants :

- la respiration terpénique, engendrant une augmentation de la teneur des hydrocarbures monoterpéniques ;
- l'évaporation, conduisant à la diminution des constituants les plus volatiles ;
- les réactions d'oxydo-réduction, intervenant pendant le stockage de la plante;

- le prétraitement de la plante par un tensioactif, favorisant l'hydrodiffusion des composés polaires.

N'étant pas d'origine génétique, ces phénomènes pourraient remettre en cause, à notre avis, l'existence des nombreux chémotypes de *Salvia officinalis* L., rapportés dans la littérature.

Dans la perspective d'une valorisation de *Salvia officinalis* L. à grande échelle, les résultats de cette étude permettraient la mise au point d'un protocole d'extraction de l'huile essentielle susceptible d'améliorer le rendement en huile de composition bien déterminée.

Par ailleurs, l'évaluation des propriétés biologiques des huiles de différentes compositions quantitatives pourrait contribuer au choix, aussi bien de la période de la récolte de la plante que des conditions de son stockage ou encore de son prétraitement avec tensioactif, afin de produire de l'huile essentielle de composition souhaitée, destinée à une utilisation particulière.

BIBLIOGRAPHIE

Abdelli Meriem (2010) Extraction des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L., de *Rosmarinus officinalis* L. et de *Coriandrum sativum* L. par hydrodistillation en présence de tensioactifs, Mémoire de Magister, ENP, Département Génie chimique, Alger.

Akhondzadeh S., Noroozian M., Mohammadi M., (2003), *Salvia officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebo-controlled trial/Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics 28, p 53-59.

Baker E. A., Holloway P. J., (1970) The constituent acids of angiosperm cutins, *Phytochemistry*, vol. 9, pp.1557-1562.

Bernotienne G., Niviskiène O., Butkiene R., Mockute D. (2007) Essential oil composition variability in sage (*Salvia officinalis* L.) *Chemija*, Vol. 18, N°4, pp. 38-43.

Bognolo G., 1997, Nonionic Surfactants. in *Lipid Technologies and Applications*, éd. Gunstone, F.D. et Padley, F.B., Marcel Dekker, New York, 633-694;

Bruneton J. (1999) *Pharmacognosie Phytochimie des plantes médicinales*, 2eme édition, Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris, p. 915.

Carron C.-A., Previdoli S., Cottagnoud A., Rey C., Carlen C. (2005) AgroscopeRAC Changins Saugue officinale: productivité et qualité de la nouvelle variété Regula , *Vitic. Arboric. Hortic.* Vol. 37 (4), Suisse, 235-239.

Chami F. (2005) Evaluation in vitro de l'Action Antifongique des Huiles Essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires in vivo, Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences Dhar El Mehrez Fès, p. 28.

Charchari S., Boudina N., Benhalla A. (2011) Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de sauge (*Salvia officinalis* L.) par hydrodistillation en présence de tensioactif, 4ème Symposium International sur les plantes Aromatiques et Médicinales, SIPAM4, 12-13, FST-Mohamedia, Maroc.

Charchari S., Chafaa I., Kassoussi K., Zekri M. M., Benhalla A., Boudina N., (2010) Glandular Trichomes, Secretary Cavities and Essential Oil of Sage (*Salvia officinalis* L.) *JEOBP*, 13(3), 267-274.

Coulson and Richardson's *Chemical engineering* (2001), vol. 2, 5th Edition, Particle Technology and Separation Processes p. 542.

Dob T., Berramdane T., Dahmane D., Abdelkader T., Chelghoum C. (2007) Chemical composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from Algeria *Chemistry of Natural Compounds*, Vol.43, N°4.

Duraffourd Ch., Laparaz J-C. (2009) *Traité de phytothérapie clinique: endobiogénie et médecine*, p.112.

Dweck A. C.,(2000) In *Sage The Genus Salvia*, edited by Kintzios S. E., Harwood Academic Publishers, p10-11.

El Kalamouni Ch., (2010) Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, France, p. 47.

Fellah S., Romdhane M., Abderraba M.(2006) Extraction et étude des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie, Journal de la Société Algérienne de Chimie, p.193-202.

Georguiev E. (1995) Technologie des produits aromatiques naturels et synthétiques, Ed. Zemizdat, Sofia.

Georgiev E., Stoyanova A., (2000) Handbook du spécialiste de l'industrie des produits aromatiques, UFT Academic Publishing House, Plovdiv, Bulgaria.

Gilly G. (2005) Les plantes aromatiques et les huiles essentielles à Grasse : Botanique-culture-chimie- production et marché, p. 265.

Guenther E.(1972) The Essential Oils, vol I, R.E. KRIEGER Publishing Co, Inc, New York.

Handa S. S., Suman P., Singh K., Gennaro L., Dutt R.(2008) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants, ICS, Trieste, p37.

Jaune Saint Hilaire, (1808), Les plantes de la France : décrites et peintes d'après nature, volume 4.

Jirovetz L., Buchbauer G., Denkova Z., Slavchev A., Stoyanova A., Schmidt E.(2006) Chemical composition, antimicrobial activities and odor descriptions of various *Salvia* sp. and *Thuja* sp. essential oils, Nutrition, Vol. 30(4).

Karamanos A. J. (2000), The cultivation of sage, In Sage, edited by Kintzios S. E., Harwood Academic Publishers, p. 93

Kenoche M. (1994), Organosilicone surfactant performance in agricultural spray applications, Weed Research, 34 (3), p. 221-239.

Kisiel Z., Desyatnyk O., Białkowska-Jaworska E. and Pszczółkowski L. (2003) The structure and electric dipole moment of camphor determined by rotational spectroscopy, Phys. Chem. 5, p.820-826.

Lagunez Rivera L.(2006) Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, p. 29.

Laussaigne J-L. (1840) Dictionnaire des réactifs chimiques employés dans toutes les expériences, Bruxelles, p. 291.

Larousse encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins, (2001) 2ème édition, p.131.

- Leguet G. (1993) Contribution à l'étude de mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielles, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France, p. 16.
- Leybros J., Fremeaules P. (1976) Cahiers de l'ingénieur, vol. J2.12, Génie chimique, Génie pharmaceutique, PROB, PHAR., vol 28, n°8.
- Li J.L., Chen B.H., (2002), Solubilization of model polycyclic aromatic hydrocarbons by nonionic surfactants. Chem. Eng. Sci., 57, 2825-2835
- Mackay R. A. (1987) Solubilization, in Nonionic Surfactants: Physical Chemistry; Shick, M.J.; ed. par Surfactant Science Series 23; Marcel Dekker: New York, chap. 6.
- Maniasso N. (2001), Ambientes Micelares em Química Analítica. Quím. Nova, 24(1), 87-93
- Mirjalili M. H., Salehi P., Sonboli A. and Vala M. M.(2006) Essential oil variation of *Salvia officinalis* aerial parts during its phenological cycle, Chemistry of Natural Compounds, Volume 42, Number 1, 19-23.
- Onesippe C. (2005) Étude des systèmes polyélectrolyte /tensioactif en phase aqueuse et a l'interface liquide / gaz application a l'élaboration de micro – capsules, Thèse de doctorat, Université Montpellier II, p.19.
- Piochon M.(2008) Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: Composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse; Québec, p.15.
- Qiu hui-xia (2005) Seasonal analyses of the essential oil of *Salvia officinalis* L. cultivated in Shanghai of China, Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science), vol. 23 No.3.
- Rami K., Zheng-Guo L. (2011) Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria, Journal Africain de Biotechnologie, Vol. 10(42), pp. 8397-8402.
- Raskin A. (2003) Chémotype ou race chimique, Edition du Laboratoire Orau Honnelles, Belgique.
- Rosen M. J. (1989), Surfactants and Interfacial Phenomena. 2th ed., John Wiley & Sons.
- Rosen M. J., Dahanayake M., (2000), Industrial Utilization of Surfactants: Principles and Practice, AOCS Press. Champaign.
- Roux D. (2008) Conseils en aromathérapie, 2ème édition, p.154.

Silou T., Taty-Loumbou F., Chalchat J.C. (2002) Etude de l'effet du séchage solaire sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles d'*Eucalyptus citriodora*. Ann. Fals. Exp. Chim. Toxi., Vol. 95 n° 960, pp. 287-301.

Site web: www.pherobase.com

Stoyanova A., Perifanova-Nemska M., Georgiev E. (2006) Ressources végétales des huiles oléagineuses et essentielles, Ed. Agentsia7D, Plovdiv, Bulgarie, pp. 250-252

Van den Dool H., Kratz P. D. (1963) J. of Chromatography, vol.11, p. 453.

Von Röchenberg C. (1910) Theorie der gewinning and trennung der ätherischen öl durch destillation, Selbot-Verlag Von Shimmel, p. 432.