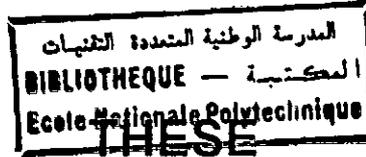


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT DE GENIE CHIMIQUE



Présentée par Melle BENHABILES Nour-El-Hayat
Ingénieur d'Etat E.N.P

Pour l'obtention du diplôme de magister en Génie Chimique

**COMPARAISON DES HUILES ESSENTIELLES
DE DEUX ESPÈCES ALGÉRIENNES DE ROMARIN :
ROSMARINUS ERIOCALYX ET ROSMARINUS OFFICINALIS LINN.
EXTRACTION ET ETUDE ANALYTIQUE.**

Soutenue en Janvier 1995 devant le jury composé de :

M.H. GUERMOUCHE	Professeur USTHB	Président
S. CHARCHARI	Docteur d'Etat E.N.P	Examineur
R. DERRICHE	Chargée de cours E.N.P	Examineur
S.A. TALEB-BENDIAB	Professeur Université de Tlemcen	Examineur
R. BELABBES	Professeur E.N.P	Rapporteur
C. BOUTEKEDJIRET	Maître assistante E.N.P	Rapporteur

REMERCIEMENTS



Ce travail a été réalisé au département de Genie Chimique de l'Ecole Nationale Polytechnique, sous la direction de Monsieur le professeur R.BELABBES, et de Mlle C.BOUTEKEDJIRET, Maître-Assistante au département des Sciences Fondamentales de l'ENP.

Je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance, ainsi que tout mon respect, à Monsieur le professeur R.BELABBES, pour l'aide précieuse, l'intérêt et le suivi réguliers, qu' il a apporté à ce travail.

Je voudrai également exprimer mes plus vifs remerciements et toute ma gratitude à Melle C.BOUTEKEDJIRET, qui a suivi avec un grand soin l'ensemble de ce travail. Qu' elle trouve ici l'expression de mes meilleurs sentiments, pour l'aide et la collaboration régulière qu' elle m' a apporté.

Ma reconnaissance ainsi que mon respect vont également à Monsieur le Professeur M.H.GUERMOUCHE, pour l'honneur qu' il me fait de présider les travaux de mon jury.

Tous mes remerciements s'adressent également à Monsieur le Professeur S.A.TALEB-BENDIAB, Mme S.CHARCHARI ainsi qu' à Mme R.DERRICHE, pour avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je n'oublierai pas, à travers ces quelques lignes, de rendre un hommage respectueux à Monsieur le Professeur J.M.BESSIERE de l' Ecole Nationale Supérieure de Montpellier. Qu' il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude, pour l'accueil chaleureux et l'aide bénéfique et constructive, qu' il m' a apporté lors du stage effectué à l' ENSCM, ainsi que pendant toute la durée de ce travail.

Je remercie aussi sincèrement Mr et Mme BENYOUSSEF pour la collaboration et l' amitié fraternelle, qu'ils m' ont témoigné tout le long de la réalisation de ce travail.

J' exprime également mes sentiments les plus nobles et les plus sincères à Mme S.CHARCHARI pour toute l'aide chaleureuse qu' elle m' a constamment témoigné.

Enfin, ma sympathie va à toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de cette thèse de Magister.



ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE.
DEPARTEMENT DE GENIE CHIMIQUE.
RESUME DE THESE DE MAGISTER.

SUJET: Comparaison des huiles essentielles de deux espèces Algériennes de romarin: Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis.

Extraction et étude analytique.

RESUME: Dans ce travail, une étude comparative des huiles essentielles de Rosmarinus Officinalis et Eriocalyx, obtenues par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation, a été entreprise. Notre attention s'est essentiellement portée sur l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx, obtenue par entraînement à la vapeur d'eau. Aussi, l'étude du stockage de la plante et des variabilités inter-spécifique et saisonnière a été menée.

Enfin, l'influence du mode d'extraction d'une part, et de la nature du solvant sur le rendement en concrète de Rosmarinus Eriocalyx d'autre part, a fait l'objet d'une étude préliminaire.

SUBJECT: Comparative study of essential oils of two species of Algerian rosmary: Rosmarinus Eriocalyx and Officinalis.

Extraction and analytic study.

ABSTRACT: In this work, a comparative study of essential oils of Rosmarinus Officinalis and Eriocalyx, obtained by steam and water-distillation has been achieved, with a special interest for the essential oil of Rosmarinus Eriocalyx obtained by steam-distillation. For this specie, the influence of plant storage and seasonal variations on oil composition has been investigated.

Finally, influence of the extraction method and solvent on concrete yield has been studied.

الموضوع: مقارنة الزيوت الأساسية لنوعين من الإكليل الجزائري، الإكليل العادي وإريوكاليس. استخلاص ودراسة تطيلية.
الملخص: أثناء هذا العمل، تمنا بالمقارنة بين الزيوت الأساسية لنوعين من نبات الإكليل المقطرتين بواسطة بخار الماء والماء، النتائج سمحت لنا باختيار من بين النوعين الجزائريين، إكليل إريوكاليس الذي تم تحطيره بواسطة بخار الماء، ثم درسنا بعد ذلك تغير نوع النبات تبعاً للفصول والاختلاف الشجيرات وتخزين النبات. كما استخلصنا الزيت الكثيف للنبات المدروس بثلاث طرق مختلفة وبمطاليل عضوية متنوعة.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
RAPPELS BOTANIQUES.....	3
TRAVAUX ANTERIEURS.....	10
RAPPELS THEORIQUES.....	14
I- GENERALITE SUR LES HUILES ESSENTIELLES.....	14
II- LES PROCEDES D'EXTRACTION.....	15
II-1- LA DISTILLATION A LA VEPEUR D'EAU.....	16
II-1-1- L'entraînement à la vapeur d'eau et les paramètres l'influençant.....	16
II-1-1-1- Le rendement en huile essentielle.....	18
II-1-1-2- La durée d'extraction.....	18
II-1-1-3- Les courbes d'extraction.....	19
II-1-1-4- La température du distillat.....	19
II-1-1-5- La vitesse de distillation.....	21
II-1-1-6- La quantité de vapeur d'eau.....	21
II-1-2- L'hydrodistillation.....	21
II-1-3- La distillation mixte.....	22
II-2- L'EXTRACTION PAR SOLVANTS.....	22
II-2-1- L'extraction par solvants volatils.....	22
II-2-2- L'épuisement par solvants fixes.....	23
II-2-2-1- La macération ou digestion.....	23
II-2-2-2- L'enfleurage.....	23
II-2-3- L'extraction au CO ₂ liquide ou super-critique.....	23
II-2-4- L'extraction au Forane 113.....	23
II-3- L'EXPRESSION A FROID.....	24
III- METHODES D'IDENTIFICATION ANALYTIQUES DES COMPOSES	
CHIMIQUES.....	24
III-1- LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE.....	24
III-1-1- Principe de la méthode.....	24
III-1-2- Application: Analyse quantitative de l'huile essentielle.....	25
III-2- LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA	
SPECTROMETRIE DE MASSE.....	26

PARTIE EXPERIMENTALE	28
A- EXTRACTION ET ETUDE ANALYTIQUE COMPAREE DES HUILES ESSENTIELLES DE ROSMARINUS ERIOCALYX ET ROSMARINUS OFFICINALIS LINN. OBTENUES PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU ET PAR HYDRODISTILLATION.....	28
I- EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU DES HUILES ESSENTIELLES DE ROSMARINUS ERIOCALYX ET ROSMARINUS OFFICINALIS LINN.	28
I-1- Mode opératoire	28
I-2- Détermination du rendement et de la composition de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.	30
I-2-1- Protocole expérimental.....	30
I-2-2- Résultats et discussion	31
I-3- Evolution du rendement en huile essentielle au cours du temps de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.: Calcul des constantes de vitesse de l'extraction.....	35
I-3-1 Protocole expérimental.....	36
I-3-2 Résultats et discussion	36
I-4- Evolution au cours du temps de la composition des huiles essentielles de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.....	40
II- EXTRACTION PAR HYDRODISTILLATION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROSMARINUS ERIOCALYX ET ROSMARINUS OFFICINALIS LINN	45
II-1- Détermination du rendement et de la composition de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.....	45
II-1-1- Protocole expérimental.....	45
II-1-2- Résultats et discussion.....	47
II-2- Evolution du rendement en huile essentielle au cours du temps de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.: Calcul des constantes de vitesse de l'hydrodistillation	51
II-2-1- Protocole expérimental.....	51
II-2-2- Résultats et discussion.....	51
II-3- Evolution au cours du temps, de la composition des huiles essentielles de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn. au cours de l'hydrodistillation	55
III- COMPARAISON DES HUILES ESSENTIELLES DE ROSMARINUS ERIOCALYX ET ROSMARINUS OFFICINALIS LINN. OBTENUES PAR HYDRODISTILLATION ET PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU.....	58

B- ETUDE DE QUELQUES PARAMETRES INTERVENANT LORS DE L'EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROSMARINUS ERIOCALYX PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU.....	61
I- ETUDE DE LA VARIABILITE INTER-SPECIFIQUE DE ROSMARINUS ERIOCALYX	62
I-1- Protocole expérimental.....	62
I-2- Résultats et discussion	62
II- ETUDE DE LA VARIABILITE SAISONNIERE DE ROSMARINUS ERIOCALYX	64
II-1- Protocole expérimental.....	64
II-2- Résultats et discussion	65
III- INFLUENCE DE LA DUREE ET DU MODE DE STOCKAGE DE LA PLANTE SUR LE RENDEMENT ET LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROSMARINUS ERIOCALYX	67
III-1- Protocole expérimental.....	67
III-2- Résultats et discussion	68
III-2-1- Stockage à l'air libre et à l'abri du soleil	68
III-2-2- Stockage dans des sacs en jute.....	68
III-2-3- Stockage dans des sacs en plastique	70
III-2-4- Stockage dans des bocaux transparents	73
III-2-5- Stockage dans des bocaux teints.....	73
III-3- Conclusion	75
C- ETUDE PRELIMINAIRE DE L'EXTRACTION DE LA CONCRETE DE ROSMARINUS ERIOCALYX PAR SOLVANTS VOLATILS.....	75
I- L'EXTRACTION EN STATIQUE.....	76
I-1- Protocole expérimental.....	76
I-2- Résultats et discussion	77
II- L'EXTRACTION AU SOXHLET.....	77
II-1- Protocole expérimental.....	78
II-2- Résultats et discussion	78
III- L'EXTRACTION EN LIT FIXE AVEC CIRCULATION CONTINUE DE SOLVANT EN BOUCLE FERMEE	79
III-1- Protocole expérimental.....	79
III-2- Résultats et discussion	82
IV- CONCLUSION	84
CONCLUSION GENERALE.....	85
BIBLIOGRAPHIE.	
ANNEXES.	

LISTE DES ABREVIATIONS

- CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
- CPG : Chromatographie en phase gazeuse.
- H : Taux d'humidité de la plante, en pour cent.
- HE : Huile essentielle.
- K : Constante de vitesse de l'extraction, en h^{-1} .
- L : Linn.
- R : Rosmarinus.
- Rd_c : Rendement en concrète, en pour cent.
- Rd_{HE} : Rendement en huile essentielle, en pour cent.
- Rd_{HE.RE} : Rendement en huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx, en pour cent.
- Rd_{HE.RO} : Rendement en huile essentielle de Rosmarinus officinalis linn, en pour cent.
- Rd_∞ : Rendement en huile essentielle au temps infini (2h); en pour cent.
- t : Temps d'extraction.
- T_{eb} : Température d'ébullition, en °C.
- TV : Taux de composés volatils contenus dans l'huile essentielle, en pour cent.

LISTE DES FIGURES

	pages
Figure 1 : Rosmarinus Linn.	5
Figure 2 : Inflorescences de Rosmarinus Officinalis Linn.	6
Figure 3 : Inflorescences de Rosmarinus Eriocalyx	8
Figure 4 : Inflorescences de Rosmarinus Tomentosus	9
Figure 5 : Les courbes de distillation	20
Figure 6 : Dispositif expérimental de l'entraînement à la vapeur d'eau	29
Figure 7 : Chromatogramme de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx obtenue par entraînement à la vapeur d'eau	32
Figure 8 : Chromatogramme de l'huile essentielle de Romarinus Oficinalis Linn. obtenue par entraînement à la vapeur d'eau.	33
Figure 9 : Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps; au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Oficinalis Linn.	37
Figure 10 : Variation de $-\ln (1 - Rd_{HIE} (t) / Rd_{HIE} (\infty))$ en fonction du temps au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Oficinalis Linn.	39
Figure 11 : Evolution de la teneur relative de quelques constituants majoritaires de l'huile essentielle de Rosmarinus Oficinalis Linn. au cours de l'entraîne- ment à la vapeur d'eau	42

Figure 12 : Dispositif expérimental de l'hydrodistillation.....	46
Figure 13 : Chromatogramme de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx, obtenue par hydrodistillation	48
Figure 14 : Chromatogramme de l'huile essentielle de Rosmarinus Officinalis Linn. obtenue par hydrodistillation	49
Figure 15 : Evolution du rendement en huile essentielle en fonction du temps, au cours de l'hydrodistillation de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.	52
Figure 16 : Variation de $-\ln (1 - R_{dHE} (t) / R_{dHE} (\infty))$ en fonction du temps d'hydrodistillation de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis...54	
Figure 17 : Evolution de la teneur relative de quelques constituants majoritaires de l'huile essentielle au cours de l'hydrodistillation de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.	57
Figure 18 : Chromatogramme de la partie volatile de la concrète de Rosmarinus Eriocalyx, obtenue au cours de l'extraction à l'éthanol sur Soxhlet	80
Figure 19 : Dispositif expérimental de l'extraction en lit fixe avec circulation continue de solvant en boucle fermée	81
Figure 20 : Evolution du rendement en concrète en fonction du temps, au cours de l'extraction en continu de Rosmarinus Eriocalyx, par l'éther de pétrole ...	83

LISTE DES TABLEAUX

	pages
Tableau I : Comparaison du rendement et de la composition des huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.	34
Tableau II : Evolution du rendement en huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau, au cours du temps de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.	36
Tableau III : Variations de $-\ln (1 - Rd_{HE} (t) / Rd_{HE} (\infty))$ en fonction du temps pour Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.	38
Tableau IV : Constantes de vitesse de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.....	38
Tableau V : Evolution de la teneur relative de quelques constituants majoritaires de l'huiles essentielle de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn, au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	41
Tableau VI : Evolution de la fraction massique de quelques constituants majoritaires dans l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn, au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	44
Tableau VII : Détermination du rendement et de la composition de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn, obtenues par hydrodistillation.....	50
Tableau VIII : Evolution du rendement en huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx et Romarinus Officinalis Linn, en fonction du temps de l'hydrodistillation.....	51

Tableau IX	: Variations de $-\ln(1-R_{d_{HE}}(t)/R_{d_{HE}}(\infty))$ en fonction du temps de l'hydrodistillation de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis L	53
Tableau X	: Constantes de vitesse de l'hydrodistillation de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn	53
Tableau XI	: Evolution de la teneur relative de quelques constituants majoritaires de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn au cours de l'hydrodistillation	56
Tableau XII	: Evolution de la fraction massique de quelques constituants majoritaires de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn, au cours de l'hydrodistillation.....	59
Tableau XIII	: Variabilité inter-spécifique de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx.....	63
Tableau XIV	: Variabilité saisonnière de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx.....	66
Tableau XV	: Evolution du rendement et de la composition de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx au cours du stockage de la plante à l'air libre à l'abri du soleil	69
Tableau XVI	: Evolution du rendement et de la composition de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx au cours du stockage de la plante dans des sacs en jute	71
Tableau XVII	: Evolution du rendement et de la composition de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx au cours du stockage de la plante dans des sacs en plastique	72

Tableau XVIII	: Evolution du rendement et de la composition de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx au cours du stockage de la plante dans des bocaux transparents	74
Tableau XIX	: Evolution du rendement en concrète de Rosmarinus Eriocalyx, en fonction de la nature du solvant au cours de l'extraction en statique.....	77
Tableau XX	: Evolution du rendement en concrète de Rosmarinus Eriocalyx, en fonction de la nature du solvant au cours de l'extraction au soxhlet.....	78
Tableau XXI	: Evolution du rendement en concrète au cours du temps lors de l'extraction en continu de Rosmarinus Eriocalyx.....	82

INTRODUCTION

Depuis l'aube de l'humanité, l'homme utilisait les plantes pour se nourrir, et y cherchait déjà des vertues curatives contre ses divers maux. Il associait même le monde végétal à sa vie spirituelle et religieuse. En effet, les civilisations anciennes connaissaient l'encens, les baumes, les tisanes, etc...

Aujourd'hui, l'homme moderne tente encore de démontrer les bienfaits des plantes traditionnelles, parfois avec un grand succès et de nouvelles découvertes pour la médecine et la pharmacie.

Parmi les plantes ornementales et condimentaires spontanées, notre attention s'est portée sur le Romarin: *Rosmarinus Linn.* En effet, cette plante s'est avérée d'un grand intérêt à l'heure actuelle dans le domaine de la conservation alimentaire et est largement utilisée par les industriels pour ses bonnes propriétés anti-oxydantes.

Sur le sol algérien se trouvent communément deux espèces de Romarin: *Rosmarinus Eriocalyx* et *Rosmarinus Officinalis Linn.* D'une manière générale, *Rosmarinus Officinalis Linn.* est réparti sur tout le pourtour méditerranéen. Son huile essentielle a fait l'objet de nombreux travaux, et est commercialisée à grande échelle. Par contre, *Rosmarinus Eriocalyx* est moins connu. Il se trouve cependant largement répandu dans les régions arides espagnoles, algériennes et marocaines [1]. Son huile essentielle a été jusqu'à présent très peu étudiée.

Compte tenu de l'abondance relative de ces deux espèces de Romarin sur les hauts plateaux de notre pays, nous en avons entrepris l'étude et ce, dans le but de comparer leurs huiles essentielles. Il reste que notre attention s'est essentiellement portée sur la connaissance de *Rosmarinus Eriocalyx*.

Après une brève présentation de la matière végétale, nous présenterons l'extraction et l'étude analytique de l'huile essentielle de nos deux plantes récupérée par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation.

Cette première partie du travail nous ayant permis de choisir l'entraînement à la vapeur d'eau comme meilleure méthode d'extraction de l'huile essentielle, nous l'avons

mise à profit pour l'étude de la variabilité saisonnière, inter-spécifique, ainsi que celle du stockage de *Rosmarinus Eriocalyx*.

Enfin, nous avons achevé notre travail par une étude préliminaire de l'extraction de la concrète de *Rosmarinus Eriocalyx* par solvants volatils, en utilisant plusieurs méthodes d'extraction par solvants: la méthode statique, l'extraction au soxhlet, et une méthode continue de circulation du solvant en boucle fermée.

RAPPELS BOTANIQUES

Le romarin, plante aromatique, médicinale et condimentaire, est répandue sur tout le pourtour méditerranéen. où elle colonise la plupart des maquis et des guarrigues [2,3]. On le trouve généralement sur les sols incultes, les talus pierreux où la nature du sol est calcaire, argileuse ou argileuse-limoneuse [4,5,6,7]. Il se trouve dans les écotypes groupés dans l'ordre des Rosmarinetales [2].

Le romarin accompagne souvent le pin d'Alep, la sauge, le thym, l'aspic et les myrtes, dans les montagnes peu élevées du littoral (500 à 1000 m d'altitude). Il affectionne les endroits secs et ensoleillés, où la pluviométrie est parfois faible et très aléatoire. Il supporte néanmoins les climats extrêmes et résiste aussi bien au gel qu'à la sécheresse. Il est donc répandu jusqu'au début du Sahara [4,5,8].

Rosmarinus L. tient son nom de *Ros Maris*, qui signifie: Ecume de Mer, à la fois en anglais, en allemand et en français. Dans l'imagination populaire, le nom était associé à celui de la Vierge-Marie, aussi fût-il propice aux légendes et aux traditions [3].

Rosmarinus L. est utilisé comme encens, dans les cérémonies de mariages et de morts. Il a aussi souvent gardé la réputation de l'herbe de l'amitié et de la fidélité. Ceci lui a valu de nombreuses appellations populaires, parmi lesquelles nous citerons: l'encensier, Rosmarine, herbe aux couronnes, *Rosismarinus*, *Anthos*, *Libanotis*, *Rosmarin*, *Common Rosmary*, *Oldman*, *Echter Rosmarin*, *Ikliil*, *Hassalban*, *Ayazir*, *Touzala* [2,3,4,9,10,11,12].

D'un point de vue botanique, le genre *Rosmarinus* Linné appartient à la famille des Labiées, qui est très importante dans la flore de l'Algérie. Elle est caractérisée par la détermination délicate de certains genres, en raison de la variabilité extrême des espèces [7,10].

En effet, la classification botanique complète du genre *Rosmarinus L.* n'a été achevée qu'au début de notre siècle. Il fait partie de la deuxième série de la famille des Labiées qui en compte six. Il est connu comme comptant trois grandes espèces: *Rosmarinus Officinalis L.*, *Rosmarinus Eriocalyx*, et *Rosmarinus Tomentosus* [13,14,15].

- *Rosmarinus Officinalis L.* est l'espèce la plus commune de Romarin. Elle possède une grande variabilité qui a été remarquée dans la révision que Turill a effectué sur ce

genre [16]. Ceci a conduit à la description de nombreuses variétés, qui manquaient souvent d'entité taxonomique.

- La seconde espèce de *Rosmarinus*, *R. Eriocalyx*, a été décrite pour la première fois par Jordan et Fourreau en 1866, à partir d'échantillons récoltés en Algérie par Debeaux en 1856, et qui furent distribués par Billot en "exiccata" sous le nom de: *Rosmarinus Officinalis*, variété *Tournefortii* de Noé, ou Romarin de Tournefort. Cette espèce se trouve au Sud-est de la Péninsule Ibérique, dans la région d'Almería, en Algérie et au Maroc [3,7,14,17,18].

-*Rosmarinus Tomentosus* est une espèce de Romarin endémique du Sud de l'Espagne. Elle a été décrite pour la première fois par Huber-Morathe et Maire. Comme son nom l'indique, elle est caractérisée par son épaisse pilosité et par son écologie bien définie. Elle vit dans les dolomies (parois rocheuses) au bord de la mer, dans la province de Grenade. Elle est inexistante dans les autres pays méditerranéens et particulièrement en Algérie. Elle n'a donc pu faire l'objet de notre étude [7,14].

D'un point de vu morphologique, *Rosmarinus L.* est un arbuste ou un sous-arbrisseau ligneux, très odorant et bien ramifié, pouvant atteindre 2 m de hauteur. Ses feuilles sont nombreuses, dures, étroites, linéaires et mesurent jusqu'à 3 cm de long. Elles sont gaufrées, présentent une marge révolutée, sont verdâtres au dessus, plus ou moins hispides et blanchâtres en dessous. Ses fleurs, longues de 1 à 3 cm, sont disposées en épis courts et serrés partant de l'aisselle des feuilles (Figure 1). Elles présentent un calice en cloche, bilabié à corolle tubuleuse de 2 cm de long, de couleur blanchâtre ou bleu variable. La lèvre supérieure du calice est dressée, entière, ou à peine émarginée, tandis que l'inférieure, légèrement plus longue est trilobée et étalée. Ces fleurs comportent deux étamines et un style, généralement courbés et dépassant largement la corolle [2,4,6,7,10].

Les caractéristiques des fleurs permettent de distinguer les trois espèces de *Rosmarinus L.* entre elles:

- *Rosmarinus Officinalis L.* a des inflorescences et un calice à pilosité pruinuse très courte, constituée par des poils étroitement appliqués. Les inflorescences sont en épis très courts, à bractées squamiformes, rapidement caduques, longues de 1 à 2 mm. (Figure 2).

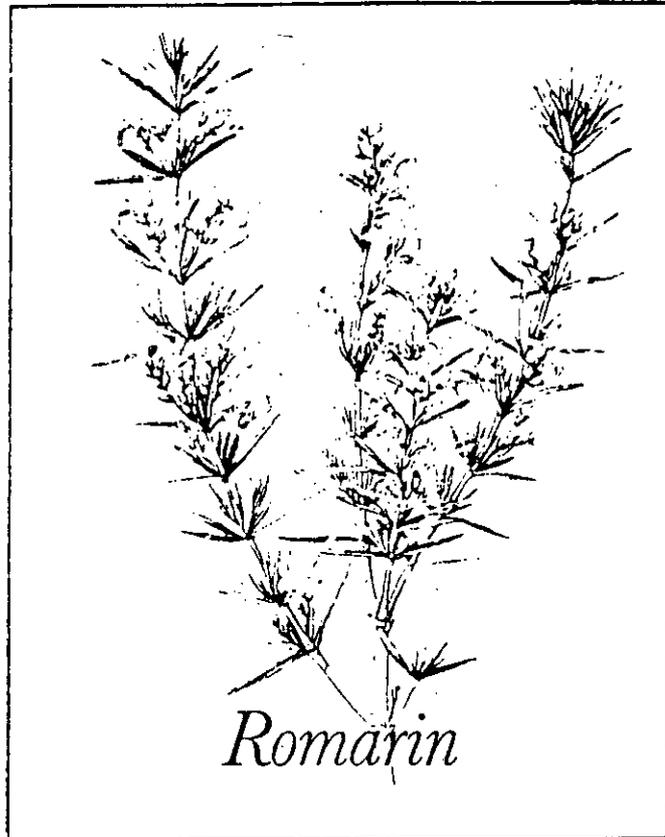
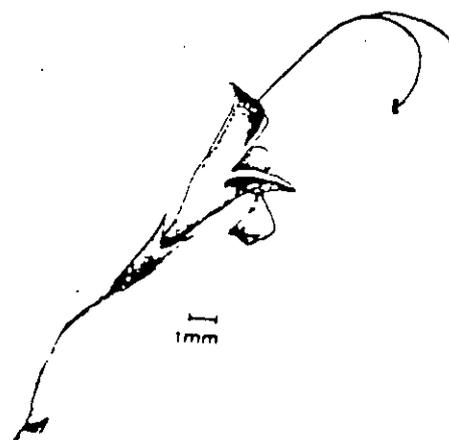
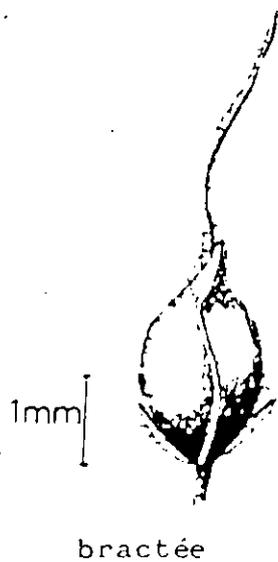
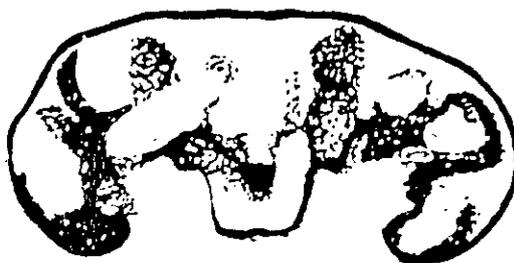


Figure 1 : Rosmarinus Linn.



morphologie de la fleur.



section transversale d'une
glande composite.

Figure 2: Inflorescences de Rosmarinus Officinalis Linn.

- *Rosmarinus Eriocalyx* se reconnaît à ses inflorescences longues et plus violacées, qui sont recouvertes ainsi que son calice d'une pilosité double, l'une courte et semblable à celle de *R. Officinalis* L., et l'autre constituée par de longs poils dressés glanduleux au sommet. Leurs bractées sont amples et cordiformes, longues de 3 à 4 mm. (Figure 3).

- *Rosmarinus Tomentosus*, comme son nom l'indique présente un tomentum (poils) très fourni, encore plus accentué que celui de *R. Eriocalyx* à qui il ressemble beaucoup, mais son inflorescence est généralement plus courte. (Figure 4).

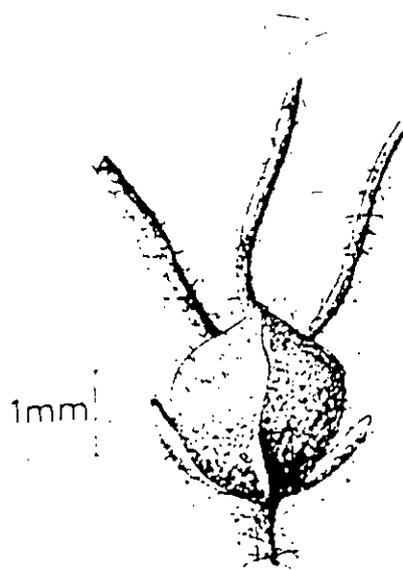
L'HE de Romarin était déjà connue des savants orientaux du moyen-âge, mais c'est Raymond Lulle qui en 1330, l'isola pour la première fois [3].

Le Romarin est cultivé comme plante condimentaire et ornementale. Ses feuilles à la saveur un peu amère, dégagent une odeur qui rappelle l'encens et le camphre. Il fleurit de Septembre à Mai, selon les climats, période pendant laquelle les fabricants de miels exploitent ses fleurs. Tandis que les parfumeurs préfèrent le cueillir entre les mois de Mai à Juillet [2,3,9].

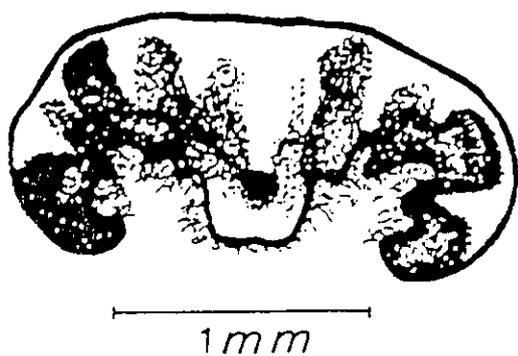
L'HE de *Rosmarinus Officinalis* L. rentre dans la composition de nombreux produits pharmaceutiques, capillaires, vins, baumes aromatiques, et cosmétiques. Elle est utilisée comme dénaturant de l'alcool destinée à la parfumerie [6,8,12]. *Rosmarinus Officinalis* L. est également employé dans de nombreuses préparations médicinales. On lui reconnaît des propriétés aromatiques, stimulantes, anti-spasmodiques et antiseptiques. Il augmente l'action du cœur et provoque la transpiration et la sueur; excite l'appétit et ranime les fonctions de l'estomac. Il est utilisé dans la dyspésie, la jaunisse, les scrofules et les affections nerveuses hystériques, les affections de la tête, du cerveau, et de la mémoire. En usage externe, il peut limiter les gangrènes. En revanche, il est proscrit dans les maladies inflammatoires et son abus entraîne l'hypertension artérielle. Sa conservation comme plante séchée a une durée limite d'une année [6,8,11,12,19,20].



morphologie de la fleur.



bractée.



section transversale d'une
glande composite.

Figure 3: Inflorescences de *Rosmarinus Eriocalyx*.

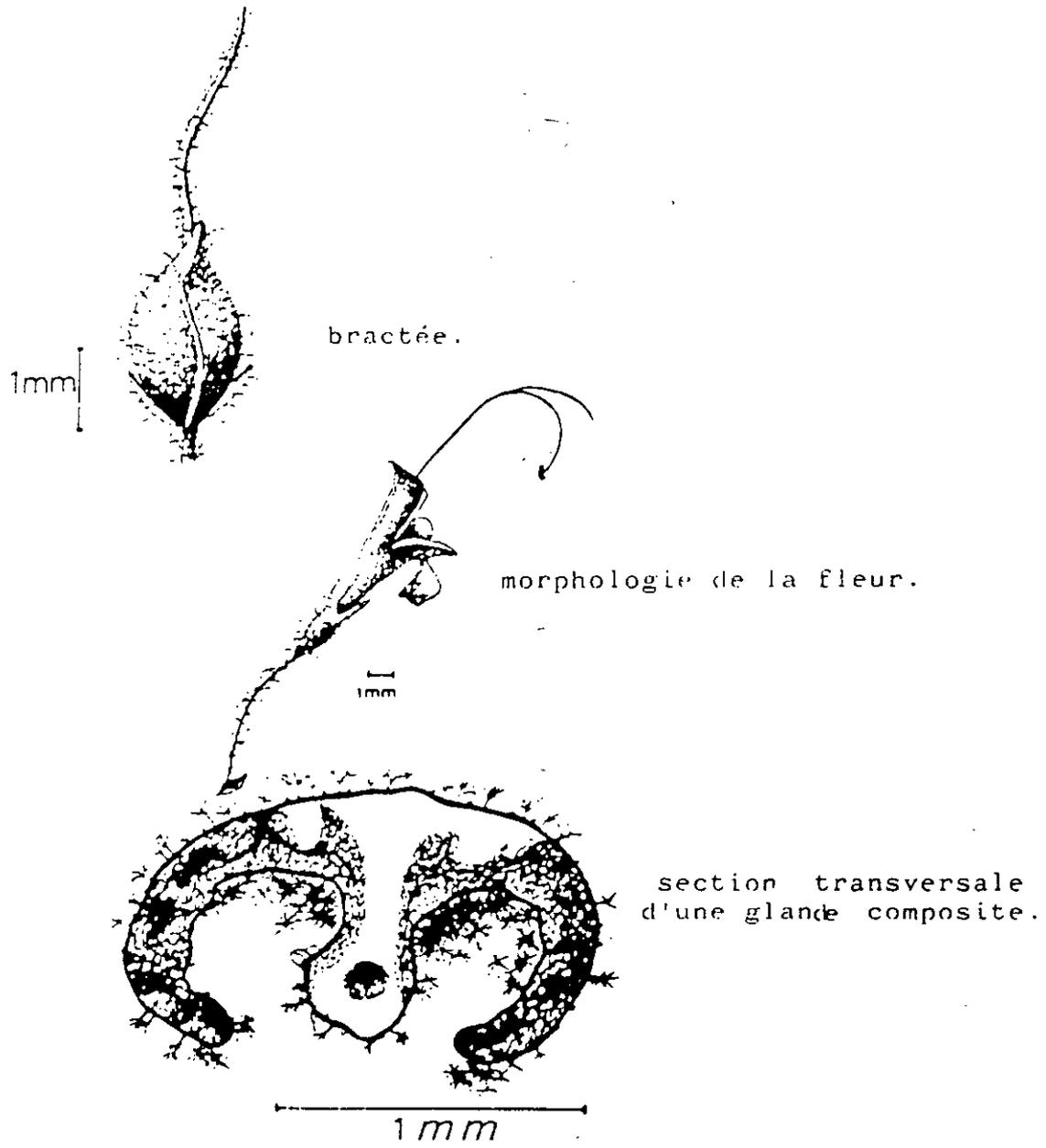


Figure 4: Inflorescences de Rosmarinus Tomentosus

TRAVAUX ANTERIEURS

Le Romarin, plante aromatique et médicinale méditerranéenne, est connu et utilisé depuis l'antiquité. Il a été cité par des savants arabes du moyen-âge, qui l'utilisaient en médecine classique et qui en connaissaient déjà l'HE [21]. Cependant, il y a à peine un demi-siècle que sa classification botanique fût achevée [14]. Dès lors, l'extraction et l'identification des extraits de Romarin a commencé.

En 1953, POURRAT [22] et BRIESKORN [23] isolent l'acide ursolique, un triterpène contenu dans les feuilles séchées de *R. Officinalis* L., tandis que BALANSARD [24] met en évidence plusieurs mucilages, tanins, et acides organiques dont l'acide glycolique, citrique et glycérique, et surtout des hydrocarbures de l'HE comme le squalène, le caryophyllène et l'humulène.

Cinq années plus tard, SCARPATI et ORIENTE [25], en étudiant un extrait de Romarin, isolent l'acide rosmarinique, tandis que SEMRAU et Coll. [26] identifient la diosmétrine et la lutéoline, deux flavonoïdes de *R. Officinalis* L.

Peu de temps après, BRIESKORN et Coll. [27,28], isolent à partir des sommités de *R. Officinalis* L., des lactones diterpéniques dont l'acide carnosolique et le carnosol, ainsi que des flavonoïdes comme la 5-hydroxy-4'-7-diméthylflavone [29,30], et des acides gras hydroxylés contenus dans la membrane cuticulaire de *R. Officinalis* L. [31].

En 1969, SENDRA et Coll. [32] en utilisant une technique d'identification par chromatographie sur colonne, isolent l'apigénine et la lutéoline. Leurs résultats furent confirmés par LALLEMENT et Coll. [33].

Une année plus tard, GRANGER et Coll. [34] identifient l' α -pinène et la verbénone de l'HE de *R. Officinalis* L. D'autres auteurs publièrent des listes plus exhaustives de constituants de l'HE isolés et identifiés [35,36].

En 1972, SKRUBIS et Coll. [37] étudient l'HE de Romarin de Grèce. Leurs résultats montrent que cette HE contient 51 % de 1,8-cinéole, 10 % d' α -pinène et 5 % de camphre et de bornéol.

RASMUSSEN et Coll. [38] isolent le camphre, l'acétate de bornyle, l' α -terpinéol, le β -terpinéol, le terpinène-4-ol, le bornéol et la verbénone, ainsi que des hydrocarbures monoterpéniques, à partir des feuilles fraîches de *R. Officinalis* L. Tandis que CABOTORRES et Coll. [39] identifient l' α et le β -pinène, le camphène, le limonène, le linalol et le 1,8-cinéole.

En 1977, DEVETAK et Coll. [40] publient les compositions d'échantillons d'HE extraite à partir de Romarin de Yougoslavie et de Bulgarie. Les constituants majoritaires de ces échantillons sont le 1,8-cinéole, l' α -pinène, le camphène, le camphre, le γ -terpinène et le terpinolène, avec une concentration importante en 1,8-cinéole dans le Romarin yougoslave (35 %).

Trois années plus tard, CARDOSO DO VALE [41] signale la présence de myrcène (30 %) et d' α -pinène (25 %); dans le Romarin portugais. Tandis que HARTMANN [42] identifie le géraniol, le benzène et le myrcène dans l'HE de *R. Officinalis* L.

En 1984, VERPTAL et Coll. [43] isolent et identifient des acides-phénols de *R. Officinalis* L. par chromatographie en phase liquide (HPLC).

Deux années plus tard, PROVENCA DA CUNHA [44] étudie la variabilité de l'HE de Romarin portugais en fonction de la période de floraison. Il constate une variation de la composition en constituant majoritaire de l'HE, le myrcène qui voit sa concentration passer de 40 à 52 % du début à la fin de la floraison.

De leur côté, FARAG et Coll. [45] constatent l'abondance de l' α -pinène (36 %), du camphène (11 %) et du p-cymène (11 %), dans l'HE du Romarin égyptien. Tandis qu'aux Etats-unis, TUCKER et MACIARELLO [46] distinguent sept sous-espèces de *Rosmarinus* L., en étudiant 24 peuplements de Romarin américain parmi lesquels deux peuvent être assimilés à *R. Eriocalyx* (De Noé). Il publie à ce fait, une composition très détaillée de leurs différentes HE, qui s'avèrent à haute qualité commerciale.

En 1987, HETHELYI et Coll. [47] étudient les HE de Romarin de Hongrie et de Yougoslavie. Ils constatent alors la prédominance de 1,8-cinéole, de camphre et

d' α -pinène dans les divers échantillons. STEINMETZ et Coll. [48], quant à eux, constatent l'influence de certains constituants de l'HE de *R. Officinalis* L. (camphre et 1,8-cinéole) sur le cortex cérébral des rats *in vitro*.

ROSUA et GARCIA-GRANADOS [1] font une étude comparative des HE de *R. Eriocalyx*, *R. Officinalis* et *R. Tomentosus*, cueillis en Espagne. Ils trouvent que les constituants majoritaires de ces HE sont l' α -pinène, le camphre, le Δ^3 -carène, le 1,8-cinéole, et l' α -terpinéol. La différence essentielle entre les HE de ces trois espèces étant la concentration en α -pinène qui est beaucoup plus élevée pour *R. Officinalis* (70 %) que pour *R. Eriocalyx* et *R. Tomentosus* (environ 50 %).

En 1989, FOURNIER et HABIB [49] montrent que le Romarin de Tunisie contient plus de 50 % de 1,8-cinéole.

Peu de temps après, FLAMINI et CIONI [50] étudièrent la variabilité de l'HE de *R. Officinalis* L. en fonction de la période de cueillette et de la coloration des fleurs. Ils constatent que le Romarin à fleurs blanches contient plus d'hydrocarbures et de 1,8-cinéole comparé au Romarin à fleurs bleues, et ce au détriment des alcools monoterpéniques et de leurs esters, tandis que les rendements en HE semblent plus élevés au mois de Septembre qu'au mois de Mars.

Quant à SVOBODA et DEANS [51], ils étudièrent les propriétés anti-oxydantes de l'HE de Romarin commercial anglais, et concluent à de bonnes propriétés anti-oxydantes.

D'autres auteurs s'intéressèrent ces quatre dernières années, aux propriétés anti-oxydantes naturelles de la concrète de *R. Officinalis* L. [52,53,54,55], ainsi qu'aux extraits au CO₂ super-critique [56,57]. Les résultats à ce fait sont très encourageants.

Les recherches en cours actuellement, visent la mise en œuvre d'un procédé adéquat permettant la sélection de substances naturelles anti-oxydantes capables de remplacer de manière efficace les anti-oxydants artificiels utilisés actuellement dans l'industrie alimentaire.

L'étude que nous avons entreprise vise la connaissance des HE des deux espèces de Romarin répandues en Algérie: *R. Officinalis* L. et *R. Eriocalyx*. Ce dernier, à notre connaissance, n'ayant pas été étudié jusqu'alors, dans notre pays.

RAPPELS THEORIQUES

I- GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES

Le monde végétal qui nous entoure renferme un très grand nombre de senteurs. Pour conserver avec lui les parfums qu'il jugeait agréables, l'homme a toujours récolté les végétaux odorants; mais la parfumerie proprement dite n'est née que lorsqu'un esprit inventif chercha des sources permanentes et constantes de matières premières. C'est ainsi que les premiers parfums, d'origine végétale, furent obtenus par combustion de gommés, de résines, de lichens et d'écorces [58].

Le mot "Parfùm" venant du latin "Per Fumum", signifiant "à travers la fumée" témoigne de cette vieille pratique.

L'art de la parfumerie proprement dit semble avoir été connu des Chinois, des Hindous, des Egyptiens, des Hébreux, des Assyriens; puis des Arabes, des Grecs et des Romains.

Les premières techniques d'extraction des végétaux connues étaient les infusions dans l'eau chaude, l'épuisement au moyen des huiles et des graisses, puis l'entraînement à la vapeur d'eau, la distillation dans l'eau, et enfin beaucoup plus tard l'extraction par solvants volatils, et les autres méthodes modernes d'extraction.

C'est alors qu'est née la terminologie se rapportant aux extraits végétaux, notamment les normes internationales utilisées actuellement (AFNOR, ISO, etc...).

Aujourd'hui, on appelle huile essentielle vraie, le produit d'extraction des végétaux par hydrodistillation. On regroupe également sous le terme d'huile essentielle le produit d'extraction des plantes par entraînement à la vapeur d'eau et par distillation mixte.

Les HE sont communément appelées essences. Ce sont des substances odorantes, huileuses, volatiles, incolores ou légèrement teintées, inflammables, s'altérant facilement à l'air en s'oxydant et en se résinifiant. Contrairement aux huiles courantes, leurs taches sur le papier ne sont pas persistantes et s'évaporent facilement.

Elles sont généralement liquides à la température ambiante. Leur densité est généralement inférieure à l'unité; et leur intervalle de congélation varie beaucoup plus que celui de fusion. Elles possèdent des indices de réfraction très élevés, compris pour la plupart entre 1,45 et 1,56. La plupart font dévier le plan de polarisation de la lumière, mais quelques unes sont optiquement inactives.

La composition chimiques des HE est complexe. On y trouve généralement des composés terpéniques, des acides gras, des esters, des cétones, des aldéhydes, des coumarines volatiles, etc [59].

Selon les constituants prédominants, on peut diviser les HE en trois catégories [60]:

- Les HE hydrocarbonées, riches en terpènes (pin, citron,...)
- Les HE oxygénées, riches en alcools, esters, etc (rose, menthe,...).
- Les HE sulfurées, (conifères, liliacées, ...).

L'odeur des HE est un mélange d'odeurs caractéristiques de leurs constituants avec généralement un constituant qui donne la note olfactive prédominante.

II- LES PROCÉDES D'EXTRACTION

L'essence végétale peut être extraite soit de la plante entière, des pétales de fleurs, des fleurs, des feuilles, des racines, du bois, du fruit, ou des sucs résineux (térébenthine de la gemme de pin.) [61].

Suivant la partie de la plante extraite, le procédé d'extraction mis en œuvre est différent, et par conséquent la composition de l'extrait en est affectée [62,63].

Parmi les différents procédés d'extraction, nous citerons principalement, la distillation à la vapeur d'eau, l'extraction par solvant, au forane et au CO₂ liquide ou super-critique.

II-1- LA DISTILLATION A LA VAPEUR D'EAU

La distillation à la vapeur d'eau conduit à la majorité des HE. Elle est définie comme la séparation d'un mélange de composés liquides, basée sur la volatilité relative des différents constituants du mélange [64].

La mise en œuvre de la distillation à la vapeur d'eau se fait soit en immergeant la plante dans l'eau bouillante, le procédé est alors appelé hydrodistillation, soit en faisant passer un courant de vapeur d'eau à travers la matière végétale, le procédé est alors appelé entraînement à la vapeur d'eau, soit en combinant les deux méthodes précédentes. on réalise alors une distillation mixte.

L'HE emprisonnée dans les glandes de la plante diffuse à travers les tissus végétaux vers la surface de celle-ci, puis est entraînée sous l'action de l'eau bouillante et de la température élevée.

II-1-1- L'entraînement à la vapeur d'eau:

L'entraînement à la vapeur d'eau consiste à récupérer l'HE des végétaux, en faisant passer à travers ces derniers un courant de vapeur d'eau, qui entraîne l'HE. Les extraits obtenus sont refroidis, décantés et distillés, et l'HE est récupérée.

La théorie la plus connue décrivant le processus d'entraînement à la vapeur d'eau est celle de Guenther [64] et de Von-Rochenberg [65].

Selon ces deux auteurs, les phénomènes intervenant lors de l'entraînement à la vapeur d'eau seraient essentiellement des phénomènes d'osmose et de diffusion libre.

La vapeur d'eau sous l'action de la température élevée, pénètre à l'intérieur des tissus végétaux, où elle constitue avec l'HE de la plante une émulsion de très grande miscibilité. Le mélange obtenu diffuse à l'intérieur des cellules et à travers leurs parois internes par phénomène d'osmose, puis arrive à la surface de la plante où il rencontre une résistance à son passage.

Cette résistance au cours de l'extraction est souvent atténuée par l'effet de la pression du flux de vapeur d'eau et de la température, et le mélange HE-vapeur d'eau est entraîné vers l'extérieur de la plante sous forme d'azéotropes par de la vapeur d'eau fraîche.

A l'extérieur de la plante, l'HE diffuse loin de celle-ci, puis est entraînée par le courant de vapeur d'eau.

La vitesse d'extraction de l'HE est régie par l'étape limitante du processus d'entraînement à la vapeur d'eau.

Si la matière végétale est intacte ou trop humide, la vitesse d'extraction, essentiellement régie par un phénomène d'osmose à l'intérieur de la plante, sera lente, et les constituants distilleront dans l'ordre de leurs solubilités relatives dans l'eau bouillante, auquel cas les composés polaires ou oxygénés distilleront avant les hydrocarbures peu polaires.

Si la matière végétale est broyée, c'est la diffusion libre de l'HE qui régit l'extraction, le broyage détruisant les barrières cellulaires entre l'HE et la vapeur d'eau [66]. Les constituants de l'HE distilleront dans l'ordre de leurs volatilités relatives, et la durée d'extraction s'en trouvera considérablement réduite.

De plus, chaque constituant de l'HE ayant sa propre tension de vapeur à la température du milieu et sa propre solubilité dans la vapeur d'eau condensée dans les glandes végétales, il aura sa propre vitesse d'extraction, qui sera elle aussi affectée par l'état de la matière végétale (sèche, humide, découpée ou entière).

Il apparaît de ce qui précède que si l'HE de la plante est contenue dans les glandes exogènes, les parois cellulaires superficielles seront facilement détruites sous l'action de la température et de la pression de vapeur d'eau, et l'HE sera récupérée rapidement, ses différents constituants sortant dans l'ordre de leurs volatilités relatives et de leurs points d'ébullition croissants. Par contre, si l'HE de la plante est contenue dans les glandes endogènes de celle-ci, les parois cellulaires constitueront un obstacle au passage de l'HE et l'extraction, très lente, sera régie par un phénomène d'osmose, les constituants

de l'HE sortant alors dans l'ordre de leur solubilité croissante. Ainsi les composés oxygénés (alcools, aldéhydes, ...) et polaires sortiront avant les hydrocarbures monoterpéniques [63]. Un tel phénomène prouverait la miscibilité de l'HE à la vapeur d'eau, à la température d'ébullition de l'eau.

Le processus d'entraînement à la vapeur d'eau est affecté par de nombreux paramètres, qui sont essentiellement:

II-1-1-1- Le rendement en huile essentielle:

On définit le rendement en HE comme étant le rapport entre la masse d'HE (m_{HE}) obtenue et la masse de matière végétale sèche (M_s) ou humide (M_h), exprimées dans la même unité de masse.

Le rendement en HE, exprimé en pourcentage, est donné respectivement par les relations suivantes:

$$Rd_{HE} (\%) = \frac{m_{HE}}{M_s} \times 100 \quad (1).$$

$$Rd'_{HE} (\%) = \frac{m_{HE}}{M_h} \times 100 \quad (2).$$

La relation (1) est la plus couramment utilisée, car elle fait fi d'un paramètre important lié à la matière végétale, qui est le taux d'humidité de la plante. Ce dernier paramètre pouvant être calculé par la méthode de distillation azéotropique au xylène (voir Annexe I).

II-1-1-2- La durée d'extraction:

C'est un paramètre important de l'entraînement à la vapeur d'eau. Il fournit des informations sur la localisation de l'HE à l'intérieur de la plante.

Ainsi les plantes dans lesquelles l'HE est située dans des glandes exogènes auront un temps d'extraction relativement court, tandis que les plantes dans lesquelles l'HE est située dans des glandes endogènes auront un temps d'extraction plus long.

II-1-1-3- Les courbes de distillation:

Les courbes de distillation fournissent des informations concernant la cinétique d'extraction. On distingue:

- Les courbes de distillation totales (Figure 5-a):

Ce sont généralement les courbes donnant la variation de la masse d'HE (m_{HE}) ou de son rendement (Rd_{HE}) en fonction du temps (t). Elles possèdent deux parties essentielles, la première partie concernant la distillation de l'HE située à la surface de la matière végétale, où la vitesse d'extraction est élevée et constante, jusqu'à l'épuisement de l'HE superficielle; la seconde partie est caractérisée par un pallier où la vitesse de distillation, relativement lente, est régie par des phénomènes de diffusion à travers les tissus endogènes de la plante.

- Les histogrammes (Figure 5-b):

Ce sont des courbes périodiques, donnant la variation de la quantité d'HE recueillie pendant des intervalles réguliers de temps. Elles fournissent des informations concernant la cinétique du processus et la composition de l'HE. Suivant que l'HE est riche en monoterpènes, dérivés oxygénés ou sesquiterpènes, le maximum de l'histogramme sera situé au début, au milieu ou à la fin de celui-ci.

II-1-1-4- La température du distillat:

La température du distillat est liée à la solubilité et à l'évaporation de l'HE, dont il faut tenir compte pour le choix d'une température convenable. La récupération complète de l'HE des eaux de condensation dépend donc de la température du distillat recueilli à la sortie du condenseur. En augmentant celle-ci la densité de l'HE diminue plus rapidement que celle de l'eau, et par conséquent, la séparation est améliorée, mais les risques d'évaporation et de solubilité sont alors importants.

Il faudra donc en tenir compte et choisir un compromis entre ces deux paramètres, en tenant compte d'autres facteurs comme la nature de l'HE à extraire [67,68,69].

De plus, si l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau est effectuée à une assez grande échelle (semi-pilote), il faudra tenir compte de deux autres paramètres importants qui sont: la vitesse de distillation et la quantité de vapeur d'eau.

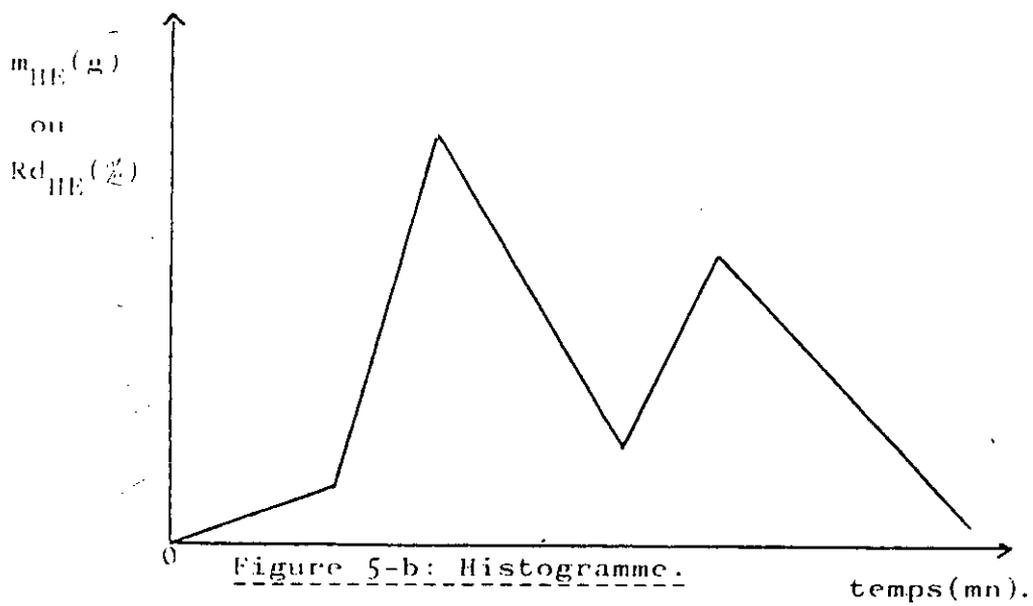
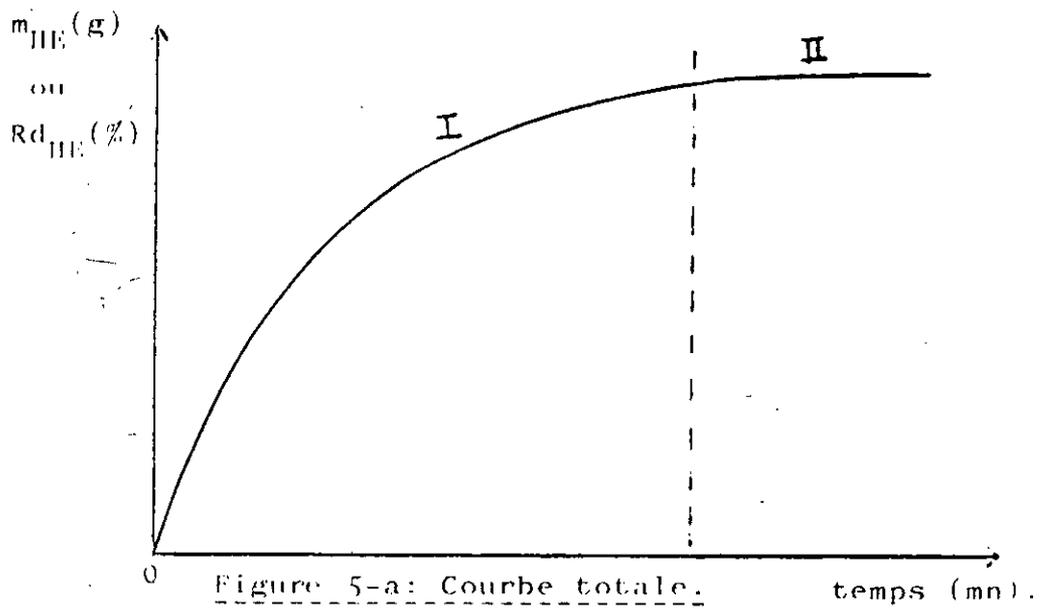


Figure 5 : Les courbes de distillation.

II-1-1-5- La vitesse de distillation:

Elle est définie comme étant le volume de distillat recueilli pendant une heure à partir d'un appareillage de distillation ayant une capacité de 100 litres. Elle est exprimée en pourcentage ou en litre/heure ou parfois en milli-litre/minute.

La vitesse de distillation ainsi définie est dite absolue.

II-1-1-6- La quantité de vapeur d'eau:

On définit la quantité de vapeur d'eau utile, la vapeur utilisée pour l'entraînement de l'HE. Elle est évaluée par la quantité des eaux de distillation et s'exprime en kg de vapeur/kg d'HE (Q_{HE}) ou en kg de vapeur/kg de matière végétale (Q_{MV}). Elle dépend fortement de l'état de la matière végétale utilisée, de la quantité et de la composition de l'HE, ainsi que de la vitesse de distillation.

II-1-2- L'hydrodistillation:

Au cours de l'hydrodistillation, la matière végétale est en contact direct avec de l'eau bouillante. L'extraction de l'HE se fait donc dans des conditions agressives vis-à-vis de l'HE, qui peut subir l'influence de réactions secondaires (hydrolyse, élimination, cyclisation, réarrangement) favorisées par la température (100 °C), le pH acide du milieu aqueux (situé entre 4 et 7), et la durée de l'hydrodistillation qui par le contact prolongé de l'eau et de la plante augmente les risques d'artefacts de distillation.

Dans une eau acide, les esters peuvent réagir avec l'eau et former les alcools et acides correspondants, tandis que les terpènes sont exposés à un risque de dégradation favorisé par une longue durée d'extraction [70,71]. Certains auteurs observent, à cet effet, la dégradation de l'acétate de linalyle en limonène, myrcène, terpinolène, alcools et esters [62,72].

Les paramètres influençant l'hydrodistillation sont les mêmes que ceux influençant l'entraînement à la vapeur d'eau. Cependant, il est nécessaire de tenir compte d'autres facteurs comme le pH et la température du milieu aqueux, qui influencent fortement la composition de l'HE [73,74].

II-1-3- La distillation mixte:

La distillation mixte est un processus couplant l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation. Au cours de l'extraction la matière végétale baignant dans l'eau bouillante est traversée par un courant de vapeur d'eau. Les divers phénomènes d'extraction se trouvent combinés. Il semble que ce procédé a pour principal avantage de diminuer les réactions secondaires subies par l'HE sous l'action de l'eau acide.

II-2- L'EXTRACTION PAR SOLVANTS:

II-2-1- L'extraction par solvants volatils:

L'extraction par solvants volatils consiste en la mise en contact de la matière végétale, avec un solvant qui dissout et extrait les constituants solubles contenus dans la plante. Le solvant évacué, l'opération peut-être renouvelée plusieurs fois sur la même charge de matière végétale.

Le solvant chargé (miscella) est ensuite évaporé et récupéré. Le produit d'extraction est alors récupéré, et peut subir des traitements ultérieurs comme des lavages à l'alcool à 95°C, pour obtenir une absolue dont les caractéristiques olfactives proches de celles du végétal, sont très recherchées.

Parmi les solvants utilisés, beaucoup étaient connus au siècle dernier [75]. Certains comme les dérivés aromatiques, ont été abandonnés en raison de leur toxicité. Actuellement, les solvants les plus utilisés dans l'industrie sont: l'hexane, l'alcool éthylique et l'eau.

L'extraction par solvant présente l'avantage de donner une concrète dont les qualités olfactives sont meilleures que celles de l'HE correspondante, elle est de plus stable à l'air libre. Mais selon l'utilité à laquelle est destinée la concrète, l'on peut séparer l'HE des composés lourds de celle-ci. On obtient ainsi une HE de qualité supérieure.

II-2-2- L'épuisement par solvants fixes:

II-2-2-1- La macération ou digestion:

Le principe de cette méthode est fondé sur l'affinité importante que présentent généralement les molécules odorantes pour les huiles et les graisses fixes. L'épuisement des substances odorantes par les huiles grasses se fait généralement à chaud (50 à 70°C) car la vitesse d'extraction est alors plus importante [76].

II-2-2-2- L'enfleurage:

Cette méthode d'extraction est utilisée pour extraire les essences de fleurs particulièrement délicates, comme le jasmin, la rose, etc.... Les pétales de fleurs sont déposés, à la température ambiante, sur des plaques enduites de graisses solides sur lesquelles, elles séjournent de 24 à 78 heures. Les essences de fleurs sont récupérées sous forme de pommades, qui sont ensuite chauffées, décantées, et filtrées. Si l'extraction se fait à température moyenne (50 à 70°C) on parlera alors de digestion.

II-2-3- L'extraction au CO₂ liquide ou super-critique:

L'extraction au CO₂ liquide ou super-critique est une méthode d'extraction moderne. Elle fournit un composé dont les qualités naturelles sont reproduites très fidèlement, et complètement dépourvu de résidus de solvants même à l'état de traces infimes. Elle est donc très utilisée dans l'industrie alimentaire notamment pour l'extraction des produits anti-oxydants des condiments comme la Sauge et le Romarin [57].

II-2-4- L'extraction au Forane 113:

L'extraction au Forane 113 ou 1,1,2-trichloro-1,2,2-trifluoroéthane, se fait en trois étapes:

- L'extraction classique qui permet de récupérer un mélange de concrète et d'eau, et un résidu végétal, sec et stable, et valorisable par ailleurs.
- Le recyclage du solvant qui donne une concrète.
- La séparation de l'HE de la concrète.

Ce procédé d'extraction permet une exploitation optimale de la matière végétale, la diminution des différents rejets ainsi que la réduction de la consommation énergétique [77].

II-3- L'EXPRESSION A FROID:

C'est une méthode d'extraction physique, spécifique des agrumes, des arachides et de certains fruits à huiles (olives, tournesol, etc...). Elle consiste à appliquer une forte pression à la matière végétale afin d'en extraire l'huile recherchée. Elle est suivie par différentes opérations de purification et de séparation de l'HE (décantation, filtration, centrifugation).

Elle présente l'avantage de donner un produit naturel non-altéré par des produits chimiques résiduels [78].

III- METHODES D'IDENTIFICATION ANALYTIQUES DES COMPOSES CHIMIQUES:

Parmi les nombreuses méthodes analytiques connues à ce jour, nous nous sommes intéressés particulièrement à deux d'entre elles, qui sont:

- La chromatographie en phase gazeuse (CPG).
- La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).

III-1- LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE [79,80,81]:

III-1-1- Principe de la méthode:

La chromatographie en phase gazeuse est une technique d'analyse relativement récente. Elle fit son apparition avec les travaux de James et Martin en 1952.

Dérivée de la chromatographie en phase liquide, introduite par Martin et Synge, qui s'est inspiré d'autres travaux plus anciens (Tswett, etc); la CPG emploie toujours une phase stationnaire contenue dans une colonne, partie essentielle du chromatographe à travers laquelle circule la phase gazeuse.

Dans la colonne se trouvent donc deux phases: une phase mobile et une phase stationnaire. Cette dernière est constituée soit:

- Par un adsorbant solide, c'est le cas de la chromatographie d'adsorption gaz/solide.
- Par un support solide recouvert d'un mince film liquide très peu volatil appelé solvant, c'est le cas de la chromatographie de partage gaz/liquide.

La phase mobile est constituée par un gaz qui traverse la colonne. Le soluté, après avoir été volatilisé à l'entrée de la colonne, est entraîné à travers celle-ci par un gaz chimiquement inerte, appelé gaz vecteur ou gaz porteur.

A la sortie de la colonne est placé un détecteur qui permet d'enregistrer en continu la variation de la concentration en fonction du temps, sous forme de chromatogramme; ce dernier est constitué d'un ensemble de pics caractéristiques des constituants du mélange analysé.

Les différentes données de rétention permettent alors l'analyse qualitative et quantitative de l'échantillon analysé.

III-1-2- Application: Analyse quantitative de l'huile essentielle:

Une fois l'identification des pics effectuée, un chromatogramme permet l'analyse quantitative de l'HE, notamment par la méthode de proportionnalité des aires des pics.

D'autres données permettent également une meilleure connaissance de l'échantillon étudié. Pour les HE et d'une manière générale pour un produit contenant des fragrances volatiles, la détermination du taux en volatils de l'HE par la méthode de la solution étalon au biphenyle, est une donnée essentielle à la connaissance du produit étudié.

- Principe de la méthode:

La méthode de détermination du taux en volatils, par la méthode de la solution étalon au biphenyle est basée sur l'hypothèse de l'égalité des coefficients de réponse des composés volatils et du biphenyle.

Aussi, une quantité connue d'HE est dissoute dans une solution étalon de biphényle, et le mélange obtenu est analysé par CPG. Le taux de composés volatils de l'HE est ensuite calculé par la formule suivante:

$$TV (\%) = \frac{m_{cv}}{m_0} \times 100 \quad (3).$$

$$\text{avec } m_{cv} = \frac{S_{cv}}{S_{\phi\phi}} \times m_{\phi\phi} \quad (4).$$

où m_{cv} est la masse réelle de composés volatils contenus dans l'HE injectée; m_0 , la masse de l'HE, et $m_{\phi\phi}$, la masse de biphényle injectée, exprimées en grammes. S_{cv} et $S_{\phi\phi}$, sont les aires des pics des composés volatils et du pic de biphényle respectivement. Le taux en composés volatils est exprimé en pourcentage.

Si TV est une valeur élevée, l'HE étudiée est légère et de bonne qualité. Par contre si TV a une valeur faible, l'HE étudiée sera lourde, et donc riche en composés qui ne font pas partie de la fraction volatile odorante recherchée.

III-2- LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE [82,83]:

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse: CG/SM est la technique de choix la plus performante de nos jours pour l'analyse isotropique des mélanges complexes. Elle présente l'avantage de fournir une identification quasi-complète des échantillons les plus complexes, même en infimes quantités (de l'ordre du nanogramme.).

En effet, l'utilisation de la CPG à haute résolution (colonne capillaire) couplée à la spectrométrie à basse échelle de masse (400 uma), le tout allié à l'outil informatique (micro-processeur ou ordinateur), permet le développement de méthodes d'identification fiables et rapides.

L'échantillon à analyser est introduit dans le chromatographe puis séparé et analysé. Les différents constituants gazeux arrivent dans le spectromètre de masse où ils sont fragmentés et séparés en fonction de leur masse, et plus précisément de leur rapport (m/e), puis leur répartition est donnée sous la forme d'un spectre de masse.

L'appareillage de spectrométrie de masse comprend donc trois parties principales:

- Une chambre d'ionisation.
- Un système analyseur pour la séparation des ions.
- Un ensemble de détection / amplification / enregistrement.

Un appareillage de CG/SM permet donc de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectres de masse, correspondant à l'identification précise de chaque constituant séparé par CPG. C'est donc une technique de pointe permettant la connaissance d'échantillons parfois complexes, en un temps très court.

PARTIE EXPERIMENTALE
ET
RESULTATS

**A- EXTRACTION EST ETUDE ANALYTIQUE COMPAREE
DES HUILES ESSENTIELLES DE ROSMARINUS
ERIOCALYX ET ROSMARINUS OFFICINALIS LINN.
OBTENUES PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU
ET PAR HYDRODISTILLATION.**

**I- EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR
D'EAU DES HUILES ESSENTIELLES DE ROSMARINUS
ERIOCALYX ET ROSMARTINUS OFFICINALIS LINN.**

L'entraînement à la vapeur d'eau est un procédé d'extraction connu depuis le moyen âge. Il a été mis en œuvre pour la première fois par Avicennes, mais c'est à Grasse en France, au début de notre siècle, qu'il a été utilisé à des fins industrielles et commerciales.

De nos jours, beaucoup d'essences sont extraites par ce procédé, et les HE produites sont soumises à des normes internationales rigoureuses.

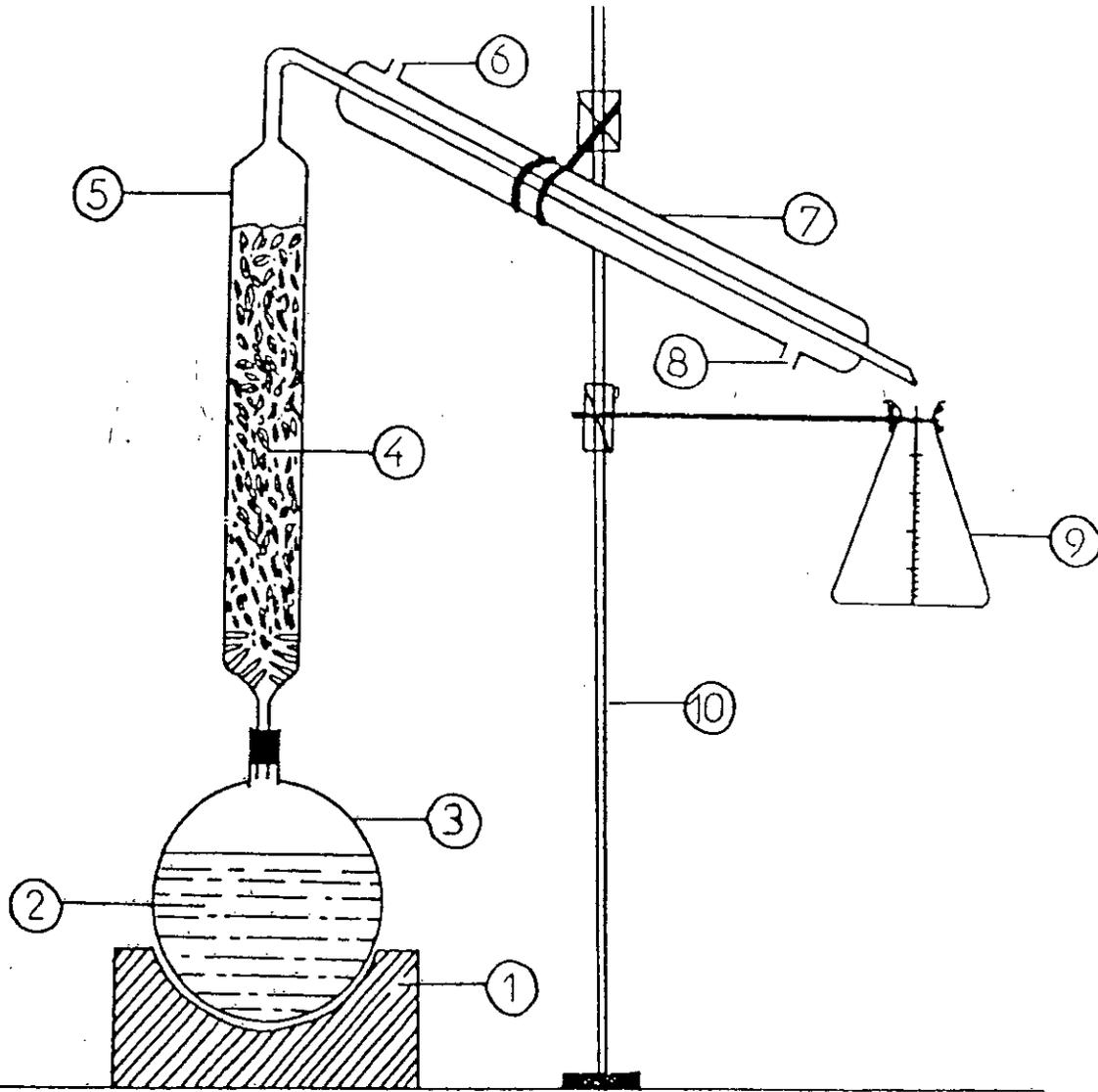
Nous avons choisie de mettre en œuvre l'entraînement à la vapeur d'eau à l'échelle laboratoire, afin d'extraire l'HE de deux espèces de Romarin: *Romarinus Eriocalyx* et *Romarinus officinalis* L.

Les huiles ainsi extraites ont été analysées par CPG at par CG/SM, afin de déterminer leur composition.

De plus, l'étude de la cinétique du processus d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau à été entreprise.

I-1- Mode opération:

Nous avons procédé à l'extraction de l'HE par entraînement à la vapeur d'eau, à l'aide de l'appareillage de la Figure 6.



- ① - Chauffe-ballon.
- ② - Solvant. (eau).
- ③ - Ballon.
- ④ - Matière végétale .
- ⑤ - Colonne .
- ⑥ - Sortie d'eau.
- ⑦ - Réfrigérant .
- ⑧ - Entrée d'eau.
- ⑨ - Erlenmeyer .
- ⑩ - Statif.

Figure 6 : Dispositif expérimental de l'entraînement à la vapeur d'eau.

Le montage comprend un ballon de capacité 3 litres, rempli d'eau bouillante, et surmonté d'une colonne en verre contenant la matière végétale (sommités fleuries ou aériennes, coupées en petits morceaux). La vapeur d'eau se dégageant du ballon traverse ainsi la matière végétale et va se condenser, à travers un réfrigérant placé en amont de la colonne. Le distillat est récupéré dans une éprouvette graduée, puis est soumis à extraction à l'ether diéthylique. L'HE est récupérée après évaporation de l'éther.

La durée d'extraction a été évaluée expérimentalement et fixée à 2h pour tous les essais. Le débit de vapeur et la masse de matière végétale traitée ont été fixés respectivement à 4,5 ml/mn et 50g de plante, pour des raisons pratiques.

I-2- Détermination du rendement et de la composition de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.:

I-2-1- Protocole expérimental:

Des échantillons de matière végétale cueillis au mois d'Avril 1993, ont été identifiés à l'Institut National d'Agronomie, et ont subi un échantillonnage avant utilisation. L'ensemble des expériences ont porté sur la moyenne de deux essais consécutifs.

Le rendement en HE Rd_{HE} a été calculé par la relation (1) des rappels théoriques. Il est exprimé en pourcentage.

D'autre part, l'identification et l'analyse des HE obtenues, ont été effectuées par CPG et par CG/SM.

L'appareil utilisé pour la CG/SM est un instrument Hewlett-Packard composé d'un chromatographe 5890 A, muni d'un détecteur de masse 5970 A, qui est un système quadripolaire utilisant une énergie d'ionisation EI de 70 eV, le tout piloté par un ordinateur Hewlett-Packard 300 série 9153 C.

Les conditions opératoires d'analyse sont établis comme suit:

- Gaz vecteur: Azote; débit: 1ml/mn.
- Colonne capillaire en silice fondue, de longueur $L = 25m$ et de diamètre $d = 0,23$ mm, greffée d'une couche de polydiméthylsiloxane (DBP1) d'épaisseur 1,5 μ m.

- Températures:
 - Colonne: 60°C à 200°C, à raison de 3°C/mn.
 - Injecteur avec diviseur d'entrée (1/100): 200°C.
 - Détecteur: 250°C.
- Quantité injectée: 0,1 µl.

Quant-à la CPG, le chromatographe utilisé est un instrument DELSI série 330, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme; les conditions d'analyse étant les mêmes que celles utilisées pour la CG/SM.

I-2-2- Résultats et discussion: Nous avons procédé à l'extraction des HE de *Rosmarinus Eriocalyx* et *Rosmarinus Officinalis* L. par entraînement à la vapeur d'eau.

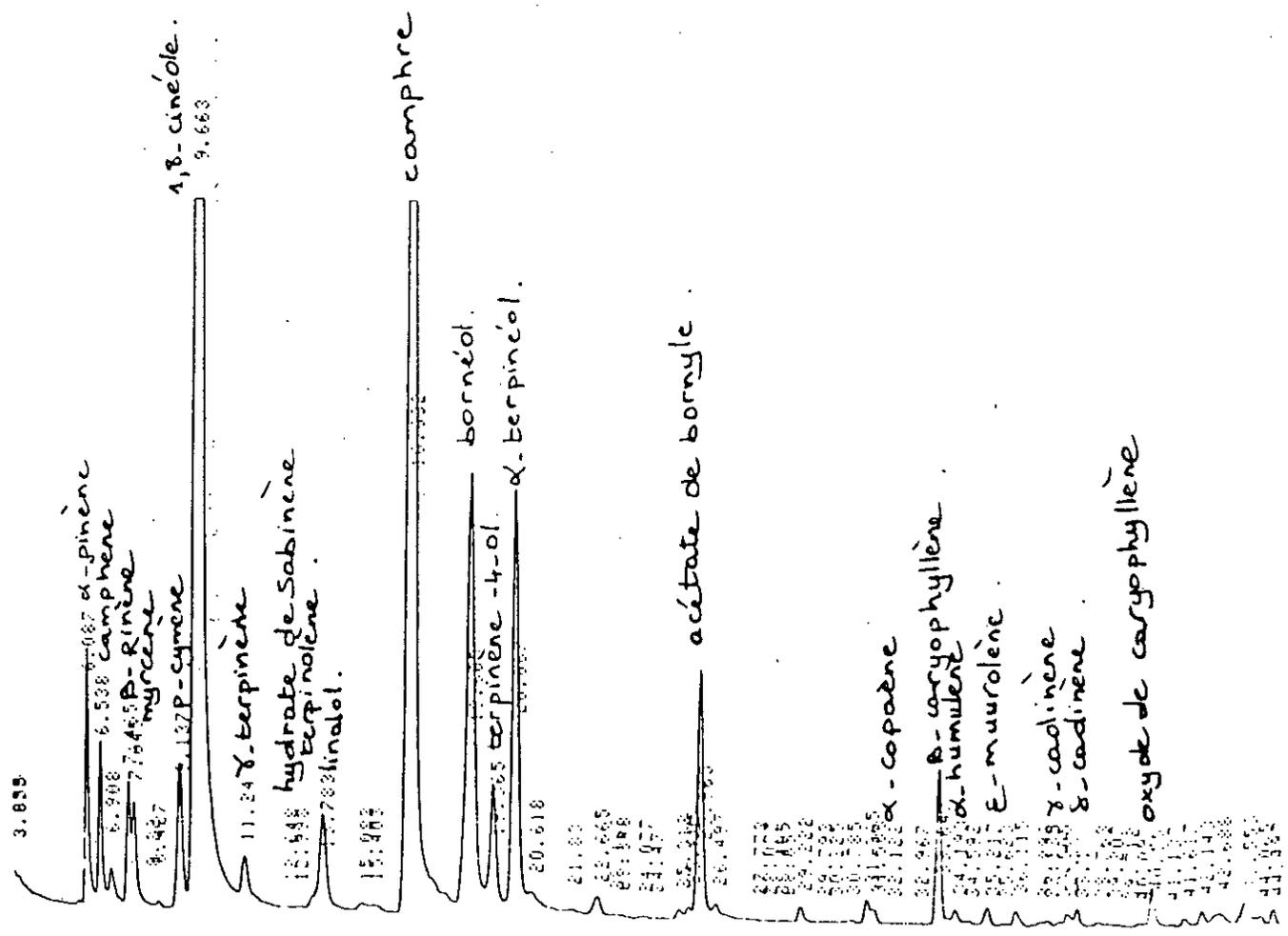
Les rendements et les compositions des échantillons obtenus ont été déterminés en suivant le protocole expérimental ci-avant.

Les chromatogrammes des deux HE sont donnés aux figures 7 et 8. L'ensemble des résultats sont regroupés dans le tableau I.

Ces résultats montrent que les rendements en HE obtenus sont satisfaisants. Ces valeurs sont comparables à celles obtenues par Fournier et Coll. [49] qui trouvent un rendement en HE compris entre 1,5 et 2,0% pour *R. Officinalis* L. de Tunisie.

D'un point de vue composition, nous constatons que ces HE ne contiennent que des hydrocarbures terpéniques, et plus particulièrement des monoterpènes oxygénés et des sesquiterpènes.

En effet, l'HE de *R. Eriocalyx* se caractérise par un taux relativement élevé en 1,8-cinéole (42%), suivi par le camphre (13%), le bornéol (7,6%) et l' α -terpinéol (5,4%). Parmi les sesquiterpènes que contient cette huile, les principaux sont le β -caryophyllène (2,6%), son oxyde (2,4%), le δ -cadinène (2,1%) et l' α -humulène (1,9%).



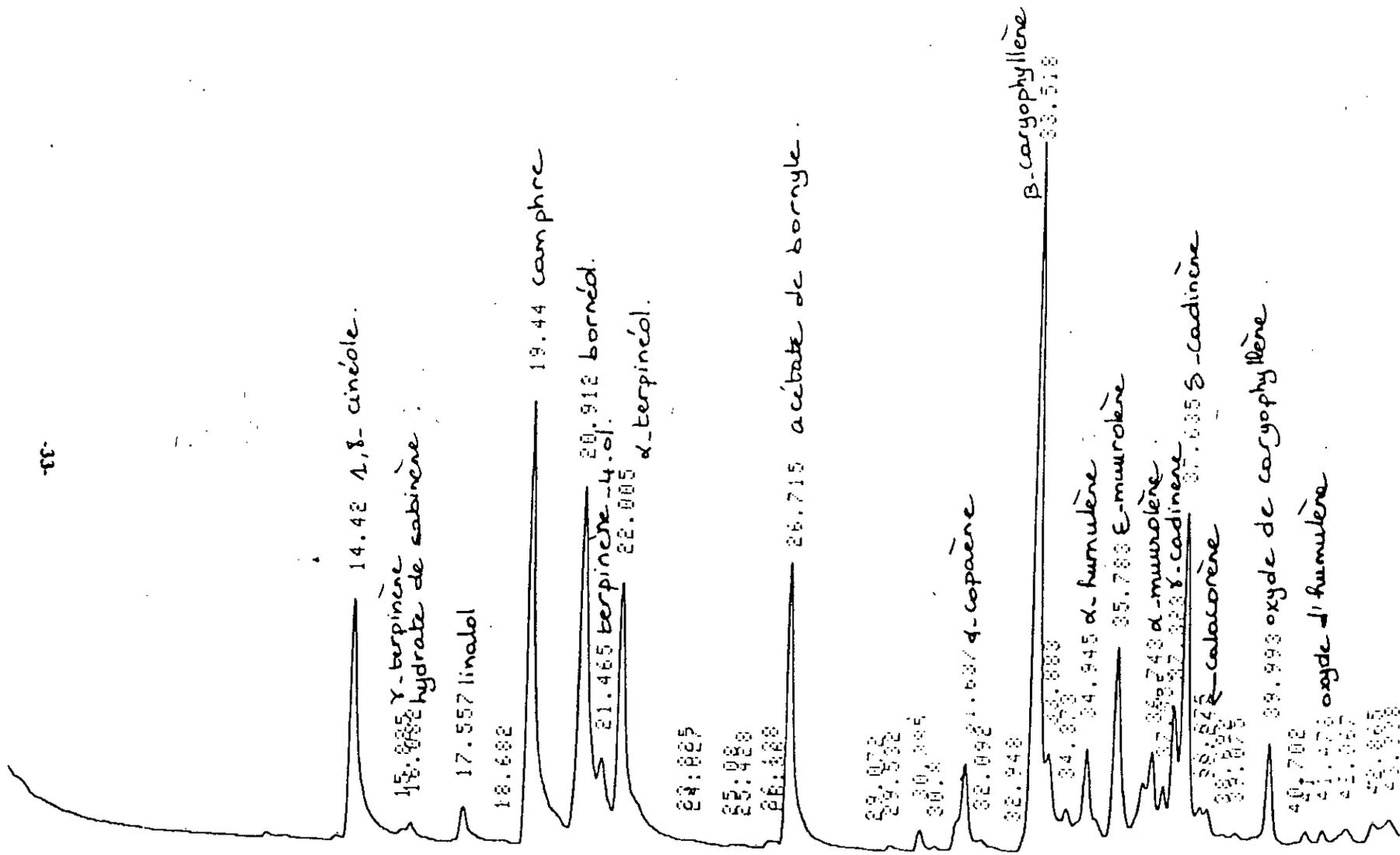


Figure 8: Chromatogramme de l'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* Linn, obtenue par entraînement à la vapeur d'eau.

Tableau I: Comparaison du rendement et de la composition des huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.

Espèce de Rosmarinus	R. Eriocalyx	R. Officinalis L.
Rd _{HE} (%)	1,20	1,36
Constituants	Teneur relative. (%)	
α -pinène	1,9	traces
camphène	1,3	traces
β -pinène	1,9	traces
myrcène	1,0	traces
p-cymène	1,5	traces
<u>1,8-cinéole</u>	<u>42,8</u>	<u>7,5</u>
γ -terpinène	0,5	traces
hydrate de sabinène	0,3	traces
terpinolène	0,2	traces
linalol	1,6	1,1
<u>camphre</u>	<u>13,0</u>	<u>12,1</u>
<u>bornéol</u>	<u>7,6</u>	<u>10,1</u>
terpinène-4-ol	1,9	2,6
<u>α-terpinéol</u>	<u>5,4</u>	<u>9,5</u>
<u>acétate de bornyle</u>	<u>2,9</u>	<u>7,2</u>
α -copaène	1,2	2,3
<u>β-caryophyllène</u>	<u>2,6</u>	<u>13,9</u>
<u>α-humulène</u>	<u>1,9</u>	<u>3,3</u>
<u>ϵ-muurolène</u>	<u>1,0</u>	<u>4,8</u>
<u>α-muurolène</u>	<u>0,5</u>	<u>3,8</u>
α -farnésène	0,4	1,1
γ -cadinène	0,6	2,6
<u>δ-cadinène</u>	<u>2,1</u>	<u>7,0</u>
calacorène	0,3	0,9
<u>oxyde de caryophyllène</u>	<u>2,4</u>	<u>2,4</u>
oxyde d'humulène	0,5	0,3
produits lourds non identifiés.	2,7	7,5
total	100 %	100 %

traces < 0,05 %.

Il en est de même pour l'HE de *R. Officinalis* L., qui voit cependant sa teneur en dérivés sesquiterpéniques augmenter au détriment du 1,8-cinéole (7,5 %). Ses principaux constituants restent le camphre (12,1 %), le bornéol (10,1 %), l' α -terpinéol (9,5 %) et l'acétate de bornyle (7,2 %) comme dérivés monoterpéniques oxygénés, et le β -caryophyllène (13,9%), et δ -cadinène (7 %), le ϵ -muurolène (4,8 %), l' α -muurolène (3,8 %) et l' α -humulène (3,3 %) comme sesquiterpènes.

Il est à noter également que *R. Eriocalyx* présentement étudié, diffère de celui étudié par Rosua et Garcia-Granados [1], puisque ce dernier a pour constituant majoritaire l' α -pinène avec une concentration variant entre 50 et 70 %. Il en est de même pour *R. Officinalis* L. du Portugal, d'Egypte, et de Hongrie [41,45,47]. Toutefois, il présente des similitudes dans la composition avec le Romarin Officinal du Maroc, de Tunisie, de Yougoslavie et de Grèce [37,46,49,84].

Aussi, en Algérie, serions-nous tentés de dire que nous sommes en présence de deux types chemotaxonomiques du genre *Rosmarinus*, ce qui devra être corroboré, notamment par des études de variabilité inter-spécifique et saisonnière des deux romarins.

I-3- Evolution du rendement en huile essentielle au cours du temps de *Rosmarinus Eriocalyx* et *Rosmarinus Officinalis* Linn : calcul des constantes de vitesse de l'extraction.

La connaissance du procédé d'extraction pour une matière végétale donnée passe par la détermination des lois de vitesse régissant l'extraction. Ces dernières lois sont importantes car elles donnent des informations sur la structure du végétal et plus particulièrement sur l'emplacement des glandes sécrétrices de l'HE, qui est déterminant pour le choix du procédé d'extraction à mettre en œuvre.

Dans le but de déterminer les lois de vitesse de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de *R. Eriocalyx* et *R. Officinalis* Linn. nous avons suivi l'évolution du rendement et de la composition des HE des deux romarins étudiés, en fonction du temps d'extraction, et nous avons calculé les constantes de vitesse du processus.

I-3-1- **Protocole expérimental:** En utilisant le même protocole expérimental que précédemment (§ A-I-1), et en procédant sur les mêmes échantillons de matière végétale, nous avons recueilli l'HE par fractions successives, à des intervalles de temps réguliers.

I-3-2- **Résultats et discussion:** Les variations du rendement en HE en fonction du temps, de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis L. sont données dans le tableau II:

Tableau II: Evolution du rendement en huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau, au cours du temps, de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.

t (mn)	5	10	15	20	25	30	45	60	90	120
Rd _{HE.RE} (%)	0,78	1,04	1,10	1,13	1,14	1,15	1,17	1,18	1,19	1,20
Rd _{HE.RO} (%)	1,15	1,28	1,30	1,32	1,33	1,34	1,34	1,35	1,35	1,36

La représentation graphique de ces résultats conduit aux courbes données à la figure 9.

L'examen de ces courbes montre qu'elles peuvent être divisées en trois parties: Une première partie allant de 0 à 10 mn, durant laquelle la majorité de l'huile est extraite: 83% pour R. Eriocalyx et 94 % pour R. Officinalis L. entraînant une augmentation rapide du rendement. La seconde partie est une branche curviligne de 10 mn à environ 60 mn pour R. Eriocalyx, et 30 mn pour R. Officinalis L., où les variations de rendement sont faibles, et enfin une troisième caractérisée par un pallier allant jusqu'à la fin du processus (2h).

Ces résultats suggèrent que la majorité de l'huile se trouve dans des glandes exogènes et est donc extraite rapidement.

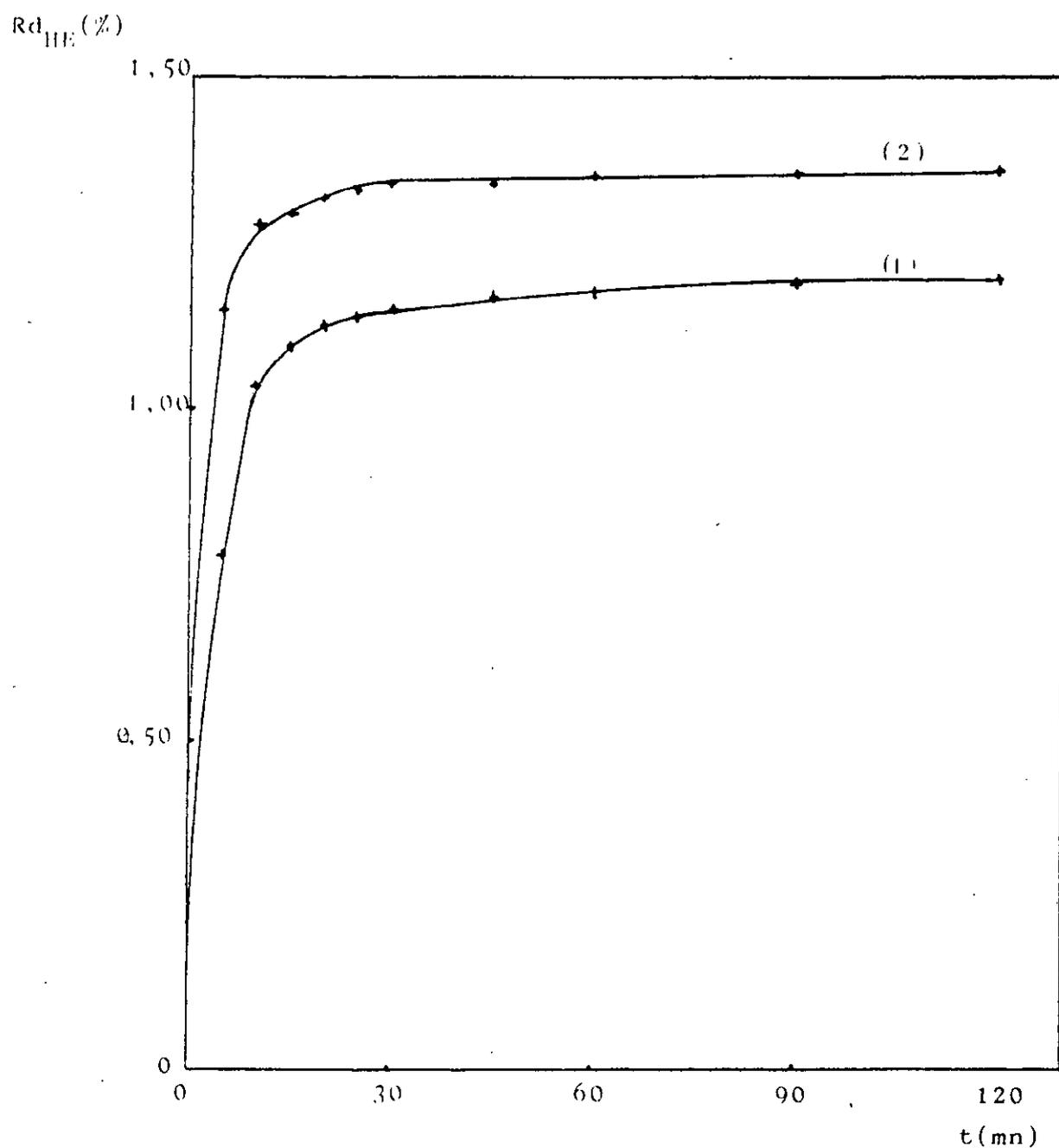


Figure 9: Evolution du rendement en l'huile essentielle Rd_{11E} en fonction du temps, au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau de *Rosmarinus Eriocalyx* (1) et *Rosmarinus Officinalis* Linn (2).

Afin de confirmer la présence des trois étapes, nous avons représenté sur la figure 10 les variations de: $-\ln(1-R_{dHE}(t)/R_{dHE}(\infty))$ en fonction du temps d'extraction, où $R_{dHE}(t)$ est le rendement en HE à l'instant t, et $R_{dHE}(\infty)$ représente le rendement à la fin du processus. Les résultats obtenus sont donnés au tableau III.

Tableau III: Variation de $-\ln(1-R_{dHE}(t)/R_{dHE}(\infty))$ en fonction du temps pour Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis.

temps t (mn).	5	10	15	20	25	30	45	60	90
R. Eriocalyx.	1,00	2,00	2,46	2,81	2,98	3,17	3,83	4,31	4,89
R. Officinalis.	1,88	2,83	3,19	3,45	3,68	3,99	4,27	4,57	5,26

Les courbes obtenues confirment bien l'existence de trois étapes dont les constantes de vitesse K, sont données dans le tableau IV.

Tableau IV: Constantes de vitesse de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de Rosmarinus Eriocalyx et de Rosmarinus Officinalis Linn.

K (h ⁻¹).	1 ^{ère} étape	2 ^{ème} étape	3 ^{ème} étape
R. Eriocalyx.	12,0	2,7	1,2
R. Officinalis.	17,0	3,5	1,2

Nous constatons que les constantes de vitesse obtenues pour la première étape sont importantes comparées à celles obtenues pour les deux autres étapes.

La première étape d'extraction est donc plus rapide comparée aux deux autres étapes. Une telle constatation confirme bien le résultat précédemment énoncé, à savoir la probabilité de présence de l'HE dans des glandes exogènes de la plante et par conséquent un processus d'extraction simple, ne faisant intervenir que des phénomènes d'évaporation et de diffusion libre de l'HE, qui sont rapides au cours de cette première étape d'extraction.

En outre, au-delà de cette étape, la vitesse d'extraction chute brusquement, et diminue progressivement de la 2^{ème} à la 3^{ème} étape.

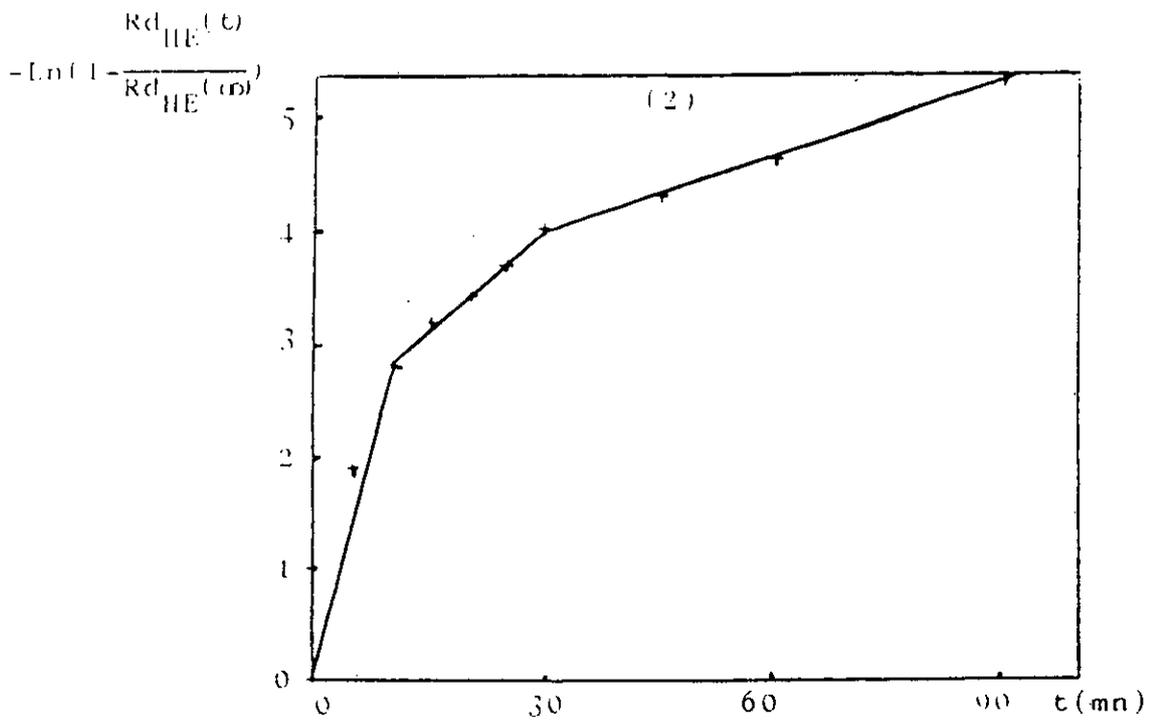
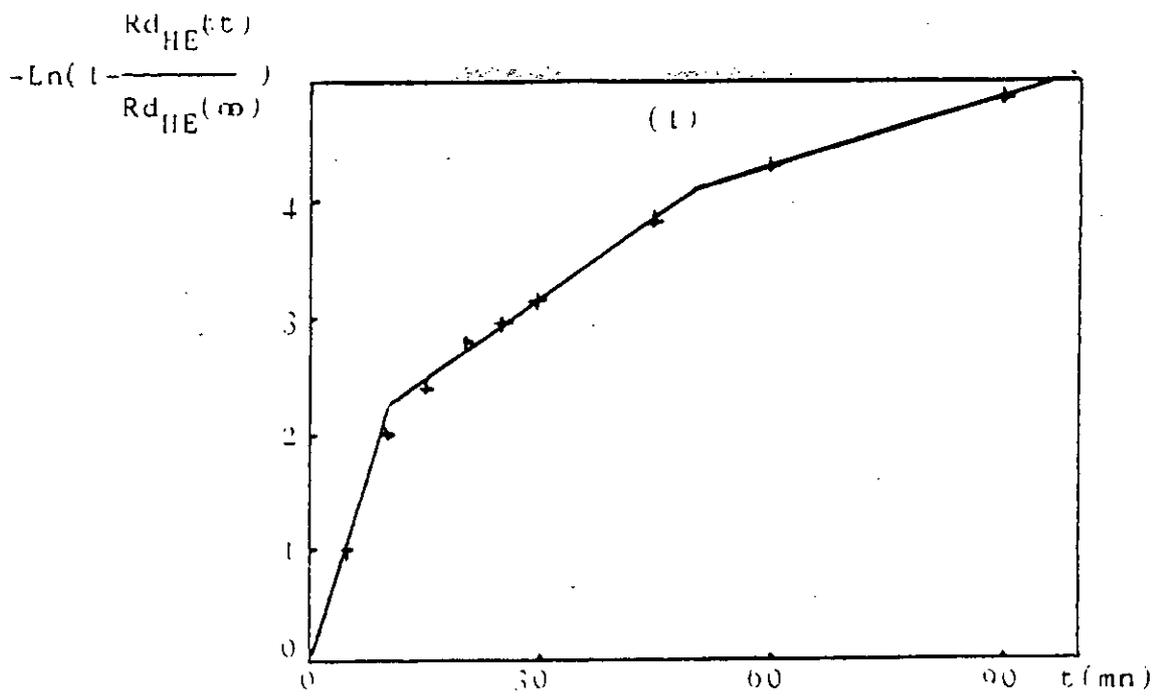


Figure 10: Variation de $-\ln\left(1 - \frac{Rd_{HE}(t)}{Rd_{HE}(\infty)}\right)$ en fonction du temps au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau de Rosmarinus Eriocalyx (1) et Rosmarinus Officinalis (2).

Au cours de ces deux dernières étapes, la vitesse d'extraction lente, pourrait être due à la présence de glandes endogènes, et par conséquent l'HE serait extraite de la plante par des phénomènes d'osmose et de diffusion lente (capillarité) de l'HE vers la surface de la plante.

Mais la quantité d'HE extraite au cours des deux dernières étapes (17% et 6% pour R. Eriocalyx et R. Officinalis Linn, respectivement) étant faible comparée à celle extraite au cours de la première étape (83% et 94% respectivement pour R. Eriocalyx et R. Officinalis L.), nous pouvons conclure que la majorité de l'HE est extraite selon un processus de diffusion libre pendant la première étape d'extraction, qui de ce fait caractérise l'entraînement à la vapeur d'eau de R. Eriocalyx et R. Officinalis L.

L'entraînement à la vapeur d'eau de R. Eriocalyx et R. Officinalis Linn. est donc un processus simple et rapide régi par des lois de diffusion libre de l'HE, contenue dans les glandes exogènes de la plante.

I-4- Evolution au cours du temps de la composition des huiles essentielles de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.

Afin d'étayer les conclusions auxquelles nous sommes arrivés, nous avons suivi l'évolution au cours du temps, de la teneur relative de quelques constituants majoritaires de nos deux HE, à savoir: le 1,8-cinéole, le camphre, le β -caryophyllène, le δ -cadinène pour R. Eriocalyx; le camphre, le β -caryophyllène, le δ -cadinène, l' α -terpinéol et le bornéol pour R. Officinalis Linn.

Pour cela, nous avons procédé à l'analyse chromatographique des fractions d'HE prélevées au cours de l'expérience précédente.

La variation de la teneur relative des constituants majoritaires de l'HE dans chaque fraction est donnée dans le tableau V, et représentée à la figure 11 sous forme d'histogrammes.

Les différents résultats montrent que pour R. Eriocalyx, l'ordre de sortie des constituants majoritaires de l'HE suit celui de leurs températures d'ébullition croissantes.

Tableau V: Evolution de la teneur relative (%) de quelques constituants majoritaires de l'huile essentielle de R. Eriocalyx et R. Officinalis L., au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau.

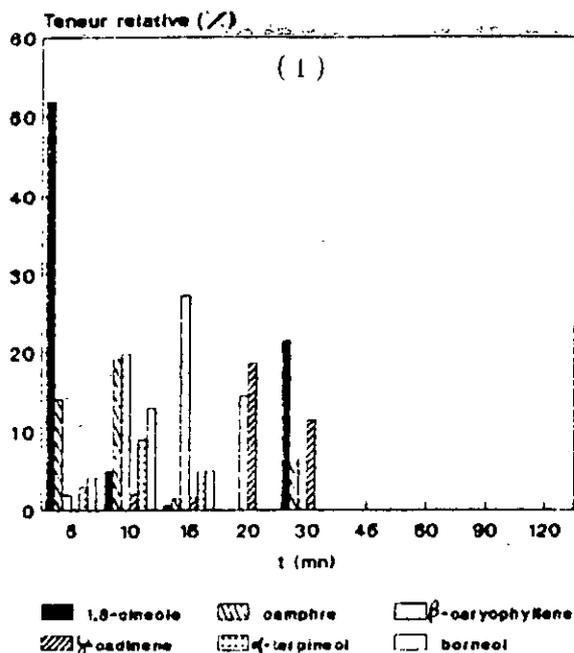
temps t (mn)	5	10	15	20	30
1,8-cinéole	51,9	4,9	0,6	traces*	21,5
camphre	14,2	19,2	1,5	traces	6,0
β -caryophyllène	1,8	19,8	27,3	14,6	6,8
δ -cadinène	0,1	2,0	1,6	18,7	11,5
α -terpinéol	2,9	8,9	4,9	traces	traces
bornéol	4,2	12,9	5,0	traces	traces

Rosmarinus Eriocalyx

temps t (mn)	10	15	20	30
1,8-cinéole	8,3	traces	traces	7,2
camphre	13,4	traces	1,7	3,6
β -caryophyllène	14,1	17,1	17,1	5,6
δ -cadinène	5,8	19,5	15,9	16,8
α -terpinéol	9,5	4,0	4,8	3,5
bornéol	10,8	4,5	4,1	3,8

Rosmarinus Officinalis.

* traces < 0,05 %.



	Teb (°C).
1,8-cinéole	176
camphre	209
β -caryophyllène	260,5
δ -cadinène	275
α -terpinéol	217,5
bornéol	212

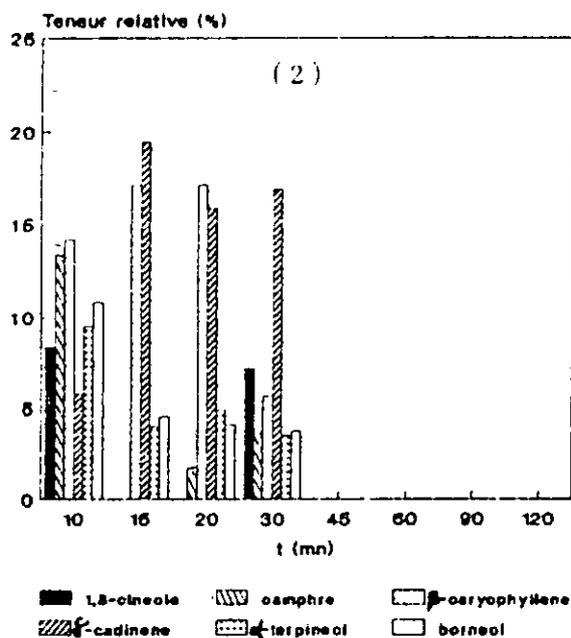


Figure 11: Evolution de la teneur relative (%) de quelques constituants majoritaires de l'huile essentielle de *Rosmarinus Eriocalyx* (1) et *Rosmarinus Officinalis* (2) au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau.

L'entraînement à la vapeur d'eau est donc bien régi par des lois de cinétique simples de diffusion libre à travers les glandes exogènes de la plante.

Ce résultat semble similaire pour *R. Officinalis* L., pour lequel le camphre, le bornéol, et l' α -terpinéol sortent en même temps, suivis par le β -caryophyllène et le δ -cadinène.

Ajouté à cela, si l'on exprime le pourcentage d'HE extraite en fraction massique d'HE au cours du temps (tableau VI), exprimée en mg/g de matière sèche, on constate que les quantités de constituants majoritaires extraites deviennent insignifiantes au-delà de 15 mn d'extraction.

De plus, les histogrammes montrent des teneurs relatives très faibles, voir nulles après 30 mn d'extraction.

Ces deux dernières constatations viennent confirmer les résultats pondéraux, ce qui montre bien que le processus d'extraction est très rapide jusqu'à 30 mn, puis devient pratiquement insignifiant.

En conclusion, l'étude cinétique nous a permis de constater un processus d'extraction simple, et montre bien la présence de glandes exogènes, pour *R. Eriocalyx* et *R. Officinalis* L.

Il est à noter que cette étude devra être complétée dans des travaux ultérieurs, par l'examen morphologique des glandes sécrétrices de *R. Eriocalyx* et *R. Officinalis* L., et ce afin de contribuer à une meilleure connaissance du genre *Rosmarinus* L.

Tableau VI: Evolution de la fraction massique (mg/g) de quelques constituants majoritaires dans l'huile essentielle de R. Eriocalyx et R. Officinalis L. au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau.

temps t (mn)	5	10	15	20	30
1,8-cinéole	4,050	0,127	0,003	traces*	0,047
camphre	1,104	0,495	0,007	traces	0,013
β -caryophyllène	0,142	0,510	0,137	0,058	0,015
δ -cadinène	0,010	0,051	0,008	0,075	0,025
α -terpinéol	0,225	0,230	0,025	traces	traces
bornéol	0,327	0,333	0,025	traces	traces

Rosmarinus Eriocalyx.

temps t (mn)	10	15	20	30
1,8-cinéole	0,105	traces	traces	0,013
camphre	0,168	traces	0,002	0,006
β -caryophyllène	0,178	0,041	0,022	0,010
δ -cadinène	0,072	0,047	0,021	0,030
α -terpinéol	0,120	0,010	0,006	0,006
bornéol	0,136	0,011	0,005	0,007

Rosmarinus Officinalis.

* traces < 0,0005 mg/g.

II- EXTRACTION PAR HYDRODISTILLATION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROSMARINUS ERIOCALYX ET ROSMARINUS OFFICINALIS LINN.

L'extraction par hydrodistillation consiste à extraire l'HE de la matière végétale, cette dernière étant en contact permanent avec l'eau bouillante.

L'hydrodistillation est très utilisée dans l'industrie des HE. Elle conduit à l'obtention de l'HE vraie, définie par la pharmacopée française.

Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, nous avons extrait l'HE de R. Eriocalyx et R. Officinalis L. par hydrodistillation. Après avoir procédé à l'identification des deux HE, nous avons déterminé les rendements correspondants et la composition des différentes fractions, ainsi que les lois de vitesse de l'extraction.

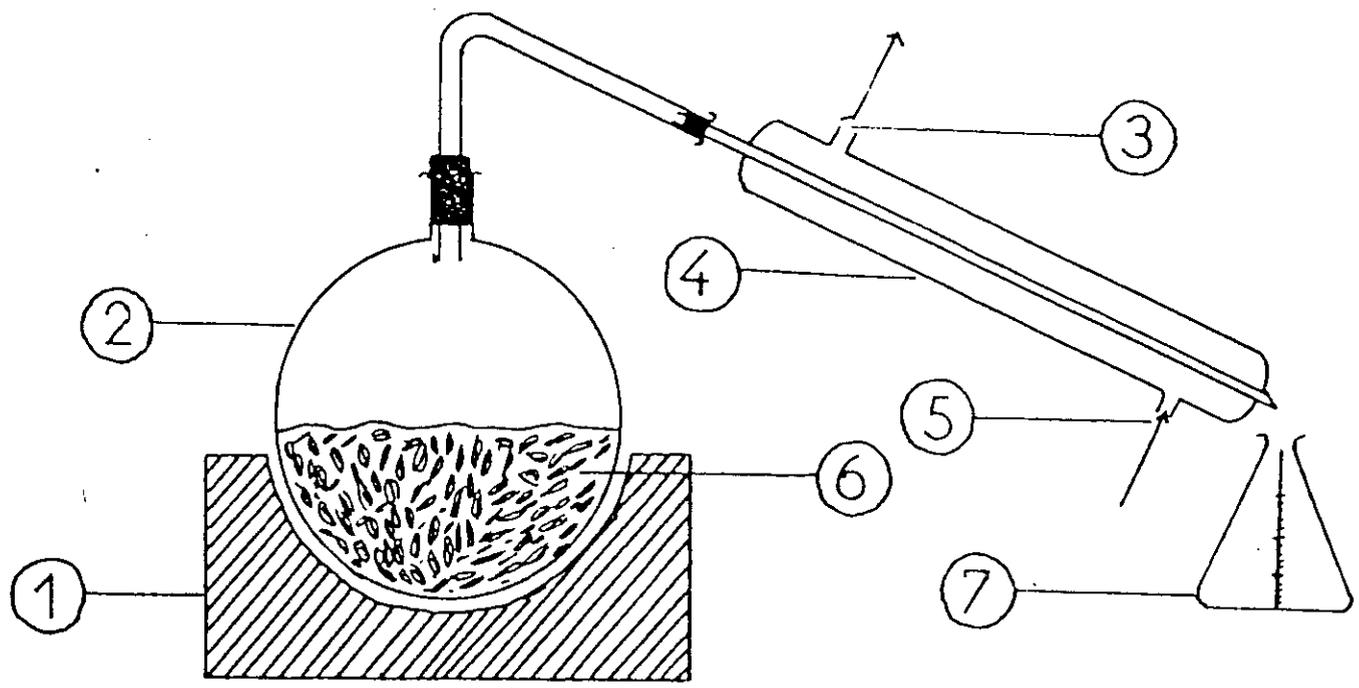
II-1- Détermination du rendement et de la composition de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis Linn.

II-1-1- **Protocole expérimental**: Nous avons utilisé au cours de nos différents essais l'appareillage de la Figure 12. Le montage comprend un ballon de capacité 3 litres, contenant la matière végétale baignant dans l'eau bouillante, et surmonté d'un réfrigérant où les vapeurs de distillat sont recueillies et condensées. L'HE est ensuite récupérée par une extraction à l'éther diéthylique.

Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, la durée de l'extraction a été fixée à 2 h, pour un débit de vapeur d'eau de 4,5 ml / mn, et une masse de matière végétale de 50g.

Nous avons utilisé des échantillons de matière végétale issus du lot du mois d'Avril 1993, ayant servi pour l'entraînement à la vapeur d'eau.

Le rendement en HE, ainsi que la composition et l'identification des HE, ont été déterminés selon le mode opératoire décrit pour l'entraînement à la vapeur d'eau (§ A-I-2-1.) et dans des conditions rigoureusement identiques.



- ① Chauffe-ballon.
- ② Ballon.
- ③ Sortie d'eau.
- ④ Réfrigérant.
- ⑤ Entrée d'eau.
- ⑥ Matière végétale.
- ⑦ Erlenmeyer.

Figure 12 : Dispositif expérimental de l'hydrodistillation.

II-1-2- Résultats et discussion: Nous avons extrait les HE de R. Eriocalyx et R. Officinalis L. par hydrodistillation, en suivant le mode opératoire décrit ci-dessus.

Les chromatogramme types des deux HE obtenues sont donnés aux figures 13 et 14, respectivement pour R. Eriocalyx et R. Officinalis L.

Le tableau VII donne une identification complète de l'HE de R. Eriocalyx et R. officinalis L.

Nous constatons que les rendements en HE sont relativement faibles, le rendement en HE de R. Officinalis L. étant supérieur à celui de R. Eriocalyx.

D'un point de vu composition, les HE obtenues sont très différentes des HE obtenues par entraînement à la vapeur d'eau.

L'HE de R. Eriocalyx contient du 1,8-cinéole, du camphre et du bornéol en égale quantité (7 %), ainsi que de l' α -terpinéol (4,9 %), du γ -cadinène (3,9 %) et surtout une proportion importante de dérivés sesquiterpéniques, dont le δ -cadinène (21 %) et les oxydes d'humulène (16 %) et de caryophyllène (8 %).

En revanche, l'HE de R. Officinalis L. contient bien plus de monoterpènes oxygénés tels que camphre (13 %), bornéol (32 %), α -terpinéol (18 %) et acétate de bornyle (11 %), et peu de sesquiterpènes.

Nous constatons que la teneur en bornéol obtenue est très importante comparée à celle dictée par les normes caractérisant les HE (teneur en alcools n'excédant pas 18 %). Ceci peut être dû à des réactions d'hydrolyse intervenant au cours de l'hydrodistillation.

Les HE de R. Officinalis L. et R. Eriocalyx obtenues sont donc particulières dans leur composition. Ce résultat vient s'ajouter à ceux obtenus pour d'autres romarins de différentes provenances et pour divers modes d'extraction [84].

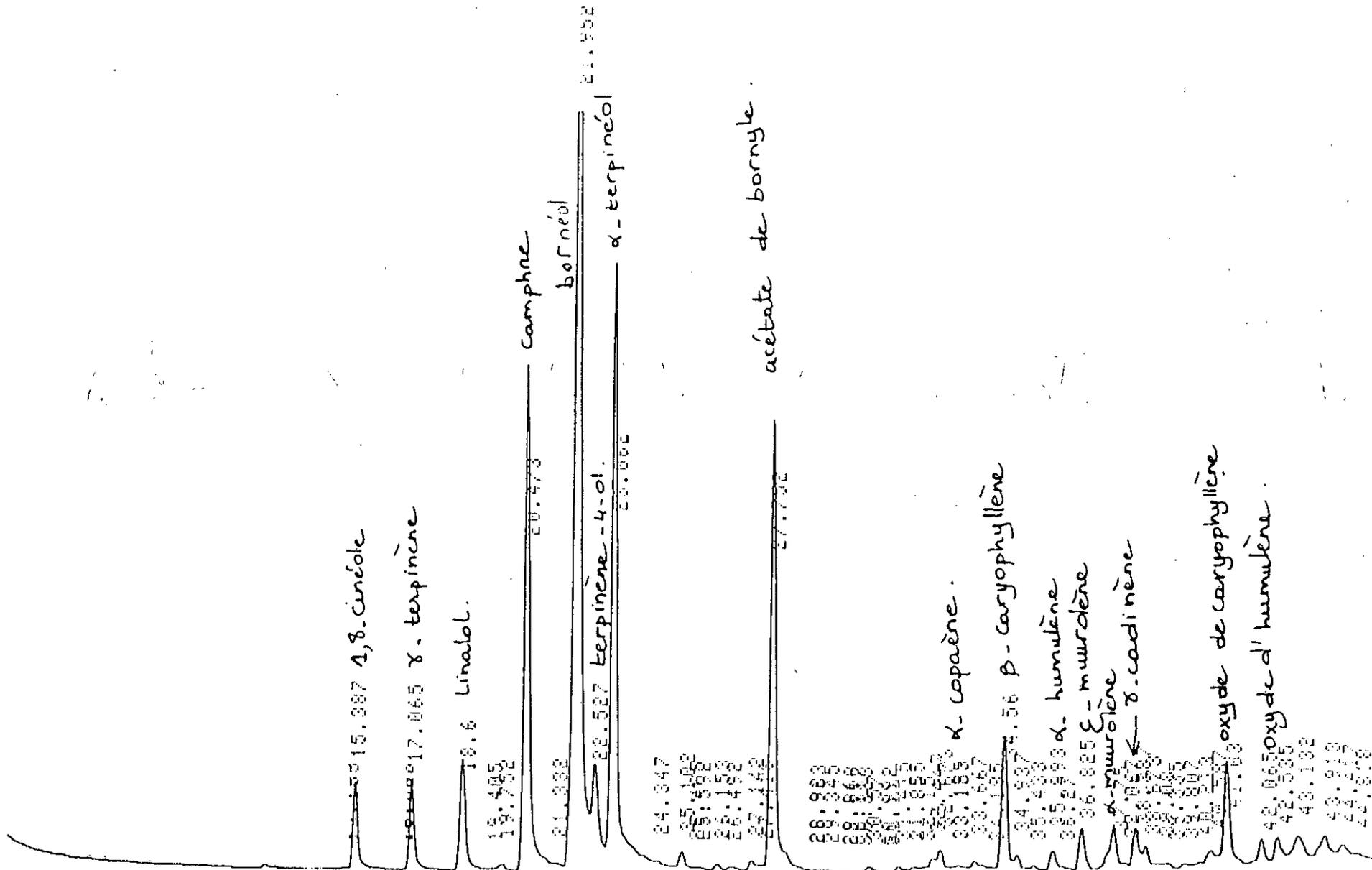


Figure 14: Chromatogramme de l'huile essentielle de Rosmarinus Officinalis L. obtenue par hydrodistillation

Tableau VII: Détermination du rendement et de la composition de l'huile essentielles de R. Eriocalyx et de R. Officinalis, obtenues par hydrodistillation.

Espèce de Rosmarinus	R. Eriocalyx	R. Officinalis
Rd _{HJE} (%)	0,58	0,85
Constituants	Teneur relative. (%)	
α -pinène	traces	traces
camphène	traces	traces
β -pinène	traces	traces
myrcène	traces	traces
p-cymène	traces	traces
<u>1,8-cinéole</u>	<u>7,7</u>	2,0
γ -terpinène	traces	2,1
linalol	1,4	3,0
<u>camphre</u>	<u>6,9</u>	<u>13,0</u>
<u>bornéol</u>	<u>6,0</u>	<u>31,6</u>
terpinène-4-ol	1,3	3,5
<u>α-terpineol</u>	<u>4,9</u>	<u>17,6</u>
<u>acétate de bornyle</u>	2,3	<u>10,9</u>
α -copaène	0,6	traces
β -caryophyllène	2,6	4,4
α -humulène	2,8	1,1
ϵ -muurolène	1,2	1,1
germacrène-D	1,2	traces
α -muurolène	2,1	1,5
α -farnésène	1,1	traces
<u>γ-cadinène</u>	<u>3,9</u>	1,2
calaménène	2,5	traces
<u>δ-cadinène</u>	<u>20,6</u>	0,8
calacorène	2,8	1,8
<u>oxyde de caryophyllène</u>	<u>8,0</u>	3,1
<u>oxyde d'humulène</u>	<u>15,7</u>	1,3
produits lourds non-identifiés.	4,4	traces
total	100 %	100 %.

traces < 0,05 %.

D'autre part, il apparait clairement que l'HE de *R. Eriocalyx* est plus riche en composés lourds que celle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau, tandis que nous observons le contraire pour l'HE de *R. Officinalis* L.

II-2- Evolution du rendement en huile essentielle au cours du temps de *Rosmarinus Eriocalyx* et de *Rosmarinus Officinalis* L. : calcul des constantes de vitesse de l'hydrodistillation.

De la même manière que précédemment, nous avons suivi l'évolution du rendement en HE de *R. Eriocalyx* et *R. Officinalis* Linn. au cours du temps et déterminé les constantes de vitesse de l'extraction.

II-2-1- Protocole expérimental: Nous avons effectué l'ensemble de nos expériences selon le protocole expérimental de § A-II-1-1, en utilisant les mêmes échantillons de matière végétale. Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, nous avons recueilli des fractions temporelles d'HE, à des intervalles connus de temps. Nous avons ensuite calculé le rendement en HE, et déterminé la composition de chaque fraction selon la méthode décrite au § A-I-2-1.

II-2-2- Résultats et discussion L'ensemble de nos expériences nous ont conduit aux résultats donnés dans le tableau VIII.

Tableau VIII: Evolution du rendement en huile essentielle de *Rosmarinus Eriocalyx* et *Rosmarinus Officinalis* Linn en fonction du temps d'hydrodistillation.

t (mn)	5	10	15	20	25	30	45	60	90	120
Rd _{HE.RE} (%)	0,12	0,21	0,29	0,33	0,35	0,39	0,41	0,51	0,53	0,58
Rd _{HE.RO} (%)	0,14	0,32	0,40	0,46	0,52	0,61	0,67	0,76	0,78	0,85

La représentation graphique de ces résultats conduit aux courbes de la figure 15.

Rd_{HE} 10 (%)

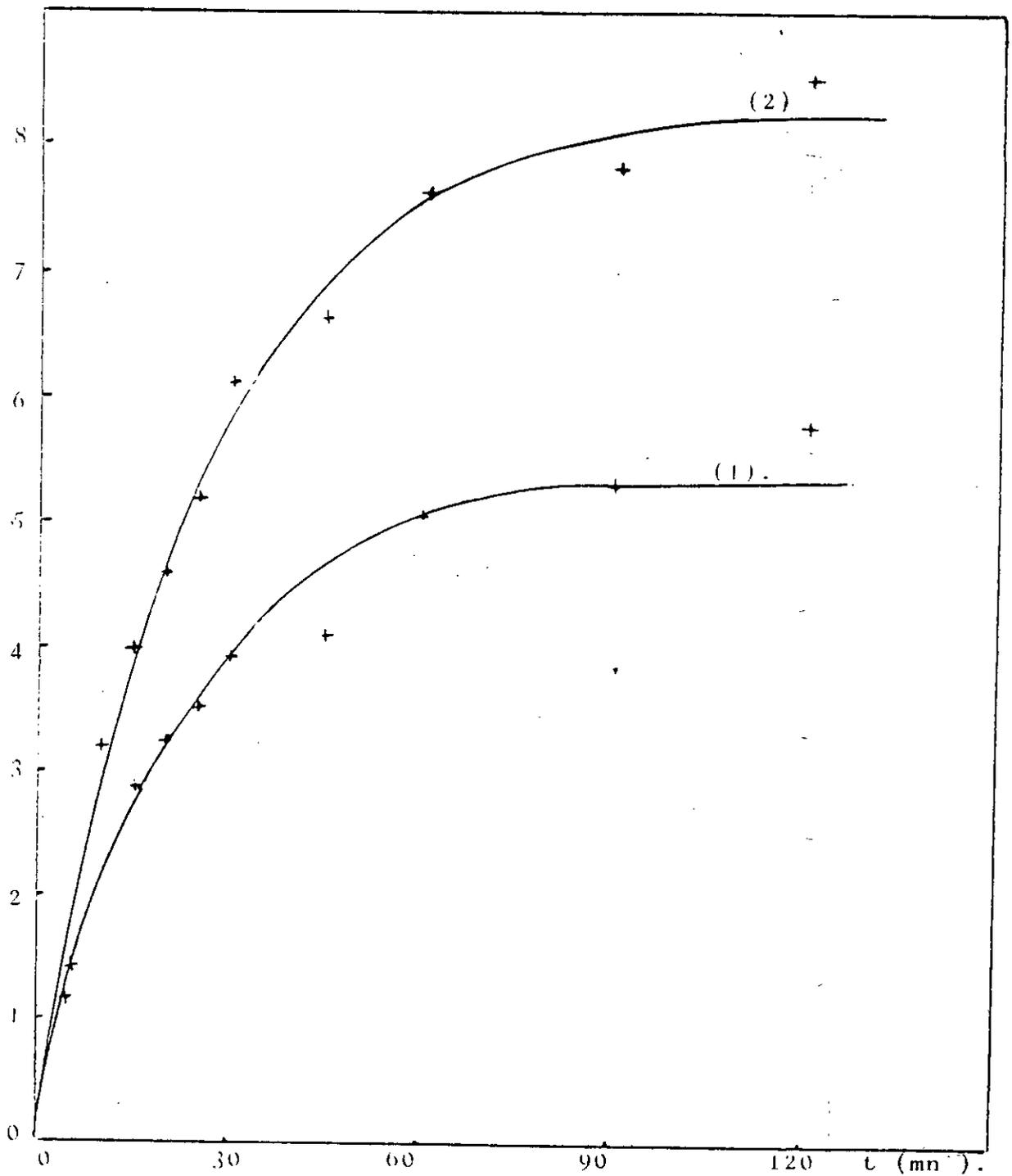


Figure 15: Evolution du rendement en huile essentielle Rd_{HE} en fonction du temps, au cours de l'hydrodistillation de Rosmarinus Eriocalyx (1) et Rosmarinus Officinalis (2).

L'examen de ces courbes montre qu'elles peuvent être divisées en deux parties distinctes:

- Une première partie allant de 0 à 45 mn environ pour Rosmarinus Eriocalyx, et de 0 à 55 mn pour Rosmarinus Officinalis L., où nous constatons une augmentation progressive mais assez rapide du rendement en HE, celui-ci atteint 71 % pour R. Eriocalyx et 87 % pour R. officinalis L. à la fin de cette partie.

- Une seconde partie, qui est beaucoup plus lente et qui va jusqu'à la fin du processus.

De plus, nous constatons que le palier des courbes n'est atteint qu'au bout d'un temps suffisamment long (environ 1.5 h). Il apparaît donc que la cinétique de l'hydrodistillation suit un processus plus lent que celui de l'entraînement à la vapeur d'eau.

Afin de confirmer nos résultats, nous avons calculé les constantes de vitesse de l'extraction. Comme précédemment nous avons déterminé les valeurs de $-\ln(1 - Rd_{HE}(t) / Rd_{HE}(\infty))$ en fonction du temps d'extraction.

Les différents résultats portés dans le tableau IX, et représentés à la figure 16 confirment bien l'existence de deux étapes.

Tableau IX: Variation de $-\ln(1 - Rd_{HE}(t) / Rd_{HE}(\infty))$ en fonction du temps d'hydrodistillation de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis

temps t (mn).	5	10	15	20	25	30	45	60	90
R. Eriocalyx.	0,23	0,46	0,68	0,84	0,95	1,14	1,23	2,09	2,55
R. Officinalis.	0,18	0,47	0,63	0,77	0,94	1,28	1,53	2,26	2,46

Les constantes de vitesse correspondantes sont données comme suit.

Tableau X: Constantes de vitesse $K (h^{-1})$ de l'hydrodistillation de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis L.

$K (h^{-1})$.	1ère étape	2ème étape
R. Eriocalyx.	2,5	0,9
R. Officinalis.	2.5	0.4

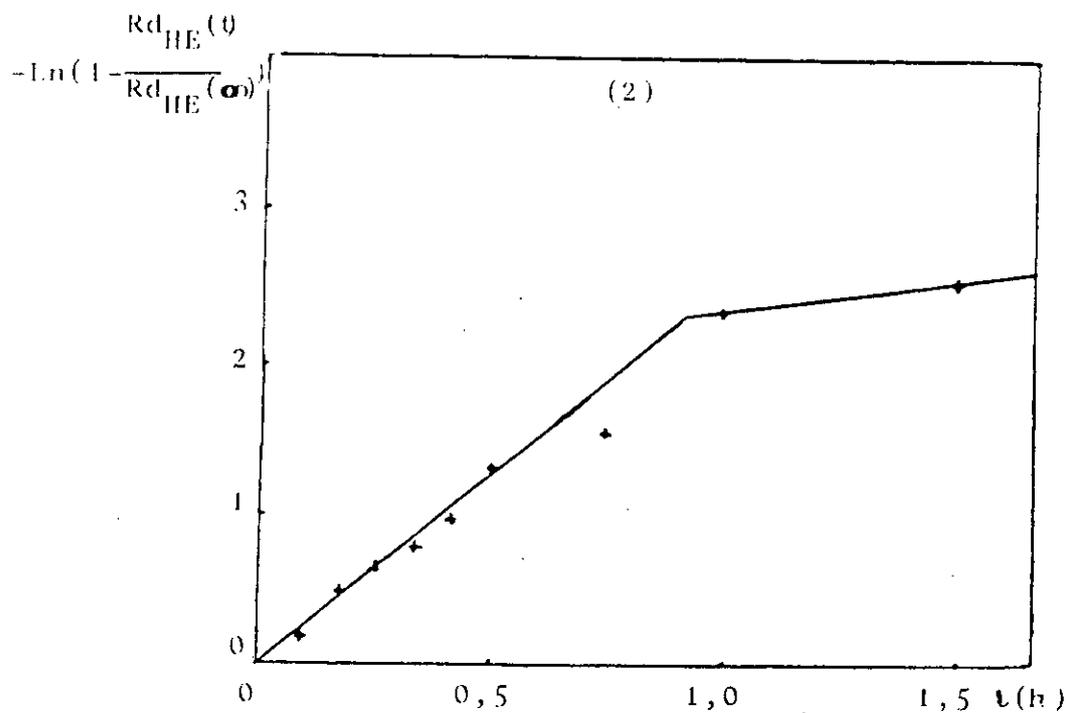
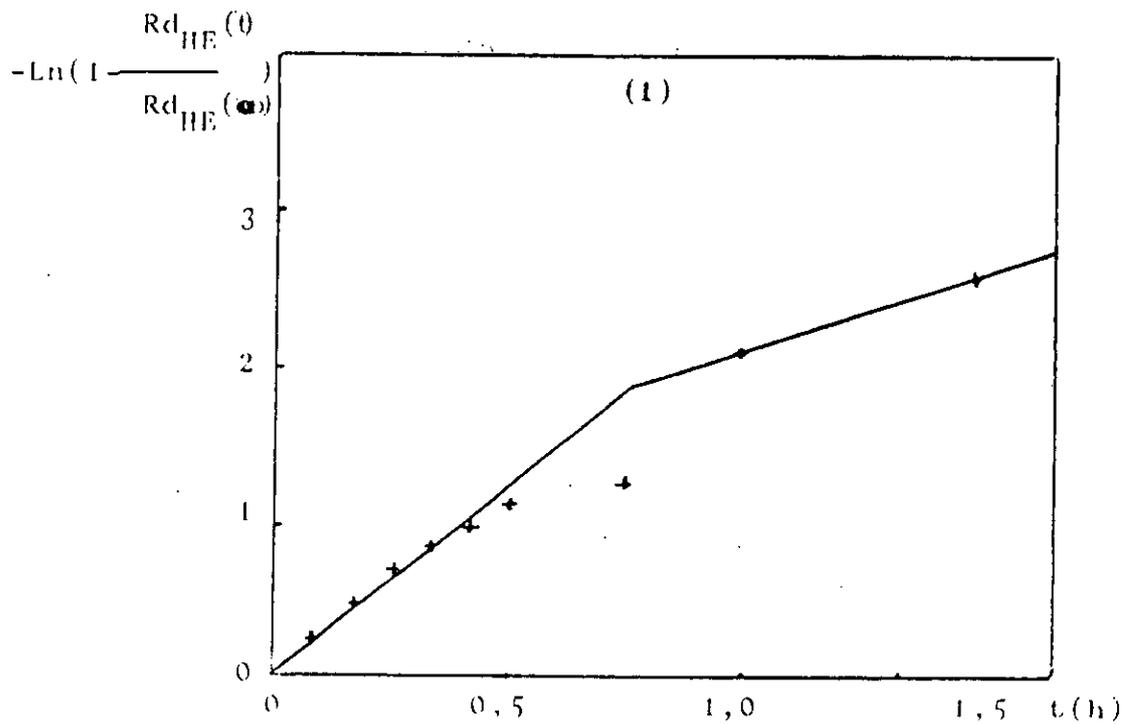


Figure 16: Variation de $-\ln\left(1 - \frac{Rd_{HE}(t)}{Rd_{HE}(\infty)}\right)$ en fonction du temps d'hydrodistillation de Rosmarinus Eriocalyx (1) et Rosmarinus Officinalis (2).

Nous constatons que les constantes de vitesse obtenues à la première étape sont plus élevées que celles obtenues à la seconde étape.

Le processus d'extraction est donc plus rapide pour la première étape que pour la seconde. Cependant, dans son ensemble, il est plus lent que celui de l'entraînement à la vapeur d'eau, car les constantes de vitesse sont plus faibles.

Il est donc probable que la cinétique d'hydrodistillation fasse intervenir des phénomènes de diffusion et de polarité complexes, dus à l'action de l'eau bouillante qui est en contact direct avec la matière végétale [70,71].

II-3- Evolution au cours du temps, de la composition des huiles essentielles de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis L. au cours de l'hydrodistillation.

Les différences constatées lors de l'étude de l'évolution du rendement au cours du temps pendant l'hydrodistillation, laissent supposer des différences dans la composition des HE obtenues par hydrodistillation.

Afin de vérifier les résultats auxquels nous sommes arrivés, nous avons suivi l'évolution au cours du temps de la concentration de quelques constituants majoritaires des HE, qui sont: le camphre, le bornéol, l' α -terpinéol, le β -caryophyllène, le 1,8-cinéole, le terpinène-4-ol et l'acétate de bornyle.

Pour cela, nous avons procédé à l'analyse chromatographique des fractions d'HE prélevées au cours de l'expérience précédente. La variation de la teneur relative des constituants majoritaires de l'HE dans chaque fraction est donnée dans le tableau XI. et représentée par les histogrammes de la figure 17.

Pour R. Eriocalyx, nous constatons l'extraction du 1,8-cinéole et du camphre, qui est suivie par l'extraction simultanée du bornéol, de l' α -terpinéol, du β -caryophyllène et de l'acétate de bornyle; qui ont des points d'ébullition différents.

Tableau XI: Evolution de la teneur relative (%) de quelques constituants majoritaires de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis au cours de l'hydrodistillation.

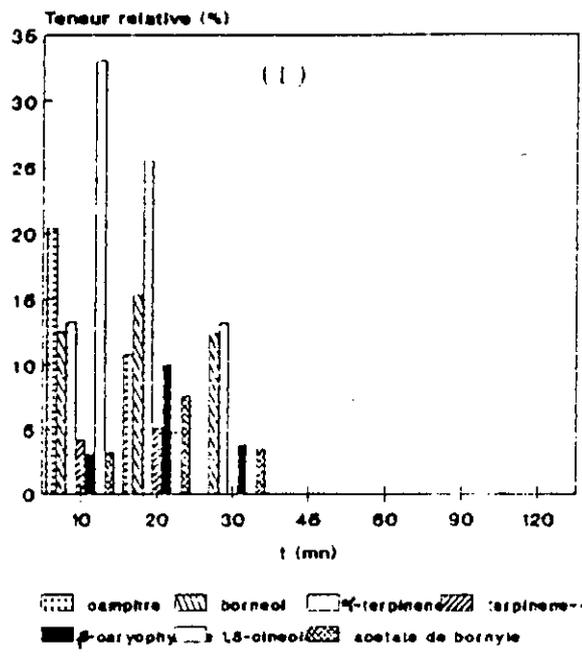
temps t (mn)	10	20	30
camphre	<u>20,4</u>	10,9	traces*
bornéol	12,5	<u>15,3</u>	12,4
α -terpinéol	13,3	<u>25,5</u>	13,2
terpinène-4-ol	4,2	<u>5,1</u>	traces
β -caryophyllène	3,1	<u>10,0</u>	3,8
1,8-cinéole	<u>33,1</u>	4,8	traces
acétate de bornyle	3,2	<u>7,6</u>	3,6

Rosmarinus Eriocalyx.

temps t (mn)	5	10	20	30
camphre	<u>20,5</u>	12,7	traces	traces
bornéol	19,3	36,5	<u>38,9</u>	traces
α -terpinéol	10,7	20,6	<u>24,9</u>	traces
terpinène-4-ol	2,8	4,9	<u>6,1</u>	traces
β -caryophyllène	2,0	10,3	<u>20,6</u>	traces
1,8-cinéole	<u>22,8</u>	traces	traces	traces
acétate de bornyle	<u>8,9</u>	traces	2,4	traces

Rosmarinus Officinalis L.

traces < 0,05 %.



	Teb (°C)
Camphre	209
bornéol	212
α-terpinéol	217,5
terpinène-4-ol	213
β-caryophyllène	260,5
1,8-cinéole	176
acétate de bornyle	223,5

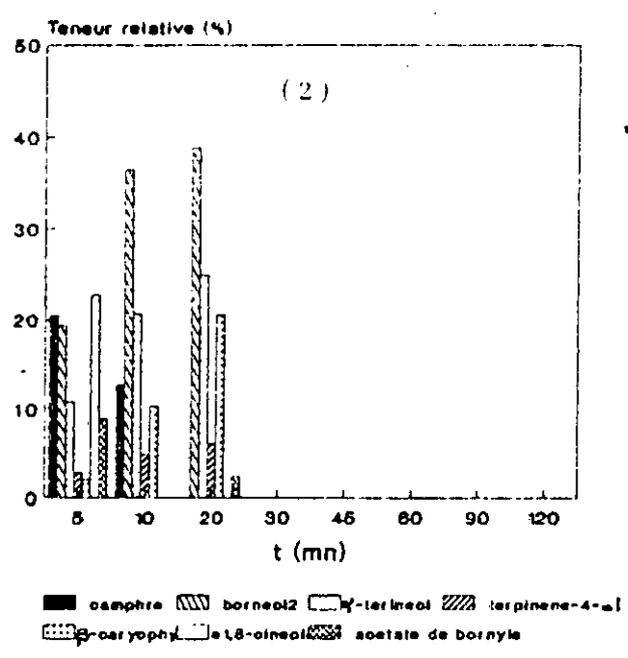


Figure 17: Evolution de la teneur relative (%) de quelques constituants majoritaires de l'huile essentielle au cours de l'hydrodistillation de *Rosmarinus Eriocalyx* (1) et *Rosmarinus Officinalis* L. (2).

Nous constatons le même phénomène pour *R. Officinalis* pour l' α -terpinéol, le terpinène-4-ol et le β -caryophyllène.

Ces constatations montrent une certaine compétitivité entre diffusion et polarité de ces constituants dans l'eau de l'hydrodistillation.

De plus, si l'on observe nos résultats, d'un point de vue fraction massique d'HE extraite au cours du temps (tableau XII), exprimée en mg/g de matière sèche, on constate contrairement à l'entraînement à la vapeur d'eau l'extraction progressive des constituants majoritaires de HE, pendant les 30 premières minutes de l'extraction. Au delà de ce temps, les teneurs relatives de ces constituants tendent à s'annuler tout comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau.

Nous pouvons donc dire que les principaux phénomènes régissant l'hydrodistillation sont l'osmose et la compétitivité dans l'hydrodiffusion des constituants majoritaires [63], qui toutefois semblent bien être contenus dans les glandes exogènes de la plante, puisque l'extraction de ceux-ci est achevée au bout de 30 minutes.

L'hydrodistillation est en outre un phénomène plus lent que celui de l'entraînement à la vapeur d'eau.

III- COMPARISON DES HUILES ESSENTIELLES DE ROSMARINUS ERIOCALYX ET ROSMARINUS OFFICINALIS LINN. OBTENUES PAR HYDRODISTILLATION ET PAR ENTRAÎNEMENT A LA VAPEUR D'EAU.

Les différences fondamentales constatées lors de l'extraction et l'HE de *R. Eriocalyx* et *R. Officinalis* L. par entraînement à la vapeur d'eau, et par hydrodistillation se situent aussi bien au niveau de rendement que de la composition des huiles obtenues.

Nous avons constaté que les rendements en HE des deux romarins étudiés sont plus élevés pour l'entraînement à la vapeur d'eau, comparés à ceux observés pour

Tableau XII: Evolution de la fraction massique (mg/g) de quelques constituants majoritaires dans l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx et Rosmarinus Officinalis au cours de l'hydrodistillation.

temps t (mn)	10	20	30
camphre	0,198	0,124	traces*
bornéol	0,121	0,175	0,078
α -terpinéol	0,128	0,291	0,083
terpinène-4-ol	0,041	0,058	traces
β -caryophyllène	0,030	0,114	0,024
1,8-cinéole	0,321	0,054	traces
acétate de bornyle	0,031	0,087	0,022

Rosmarinus Eriocalyx.

temps t (mn)	5	10	20	30
camphre	0,287	0,226	traces	traces
bornéol	0,269	0,650	0,544	traces
α -terpinéol	0,150	0,367	0,349	traces
terpinène-4-ol	0,039	0,087	0,087	traces
β -caryophyllène	0,028	0,184	0,288	traces
1,8-cinéole	0,319	traces	traces	traces
acétate de bornyle	0,125	traces	0,033	traces

Rosmarinus Officinalis L.

traces < 0,0005 mg/g.

l'hydrodistillation, tandis que la composition de ces HE change d'un procédé d'extraction à l'autre. Elle est en outre plus légère pour l'entraînement à la vapeur d'eau.

Afin d'expliquer les différences observées lors des deux procédés, nous nous sommes intéressés aux paramètres suivants:

- a- La solubilité de l'HE dans les eaux de distillation lors de l'hydrodistillation.
- b- Le pH des eaux de distillation lors des extractions.
- c- La proportion des constituants volatils présents dans l'HE.

En examinant l'influence de ces trois paramètres, nous avons constaté les faits suivants.

a- Les rendements en HE étant faibles lors de l'hydrodistillation, nous avons extrait les eaux de distillation à l'éther diéthylique dans le but de déceler de l'HE qui serait éventuellement dissoute dans l'eau de distillation. Nous avons constaté que ces eaux ne contenaient pas de composés solubles appartenant à l'HE.

La solubilité de l'HE dans l'eau ne peut donc être prise en compte pour expliquer les valeurs faibles des rendements de l'hydrodistillation.

b- D'autre part, nous avons mesuré le pH des eaux de distillation, au cours de l'ensemble de nos essais. Nous avons constaté que celui-ci conservait une valeur constante de $\text{pH} = 7$, aussi bien pour l'hydrodistillation que pour l'entraînement à la vapeur d'eau; nos expériences ayant donné le même résultat avec l'eau distillée.

Nous avons donc exclu l'hypothèse des variations dans la composition des HE, dues à des réactions chimiques de décomposition de molécules en milieu acide [70,71], intervenant lors de l'hydrodistillation et qui auraient pu modifier la nature des composés de l'HE.

c- Nous avons également mesuré la teneur de nos HE obtenues par entraînement à la vapeur d'eau, en constituants volatils, et ce en utilisant la méthode de la solution étalon au biphenyle (décrite au § III-1-2, de la partie théorique). Nous avons alors constaté que nos HE avaient un taux de composés volatils supérieur à 90 %. Elles ne contiennent donc pas de constituants lourds n'appartenant pas à l'HE.

Les différences entre les rendements constatées sont peut-être dûes à des phénomènes d'évaporation et probablement à des phénomènes de résistance au transfert de

matière intervenant à l'intérieur de la matière végétale qui est immergée dans l'eau bouillante.

En conclusion, nous pouvons dire que pour *R. Eriocalyx* et *R. Officinalis* L. l'entraînement à la vapeur d'eau est un procédé plus avantageux que l'hydrodistillation. Il conduit à des HE plus légères, de meilleur rendement, et de composition intéressante, car elle donne plus de 40 % de 1,8-cinéole pour *R. Eriocalyx*.

L'hydrodistillation est un procédé "agressif" vis-à-vis de l'HE obtenue. Par conséquent, nous choisirons dans la suite de notre étude sur *R. Eriocalyx* l'entraînement à la vapeur d'eau comme procédé d'extraction de l'HE, notamment dans l'étude des variabilités inter-spécifique, saisonnière, ainsi que celle du stockage de la matière végétale.

B- ETUDE DE QUELQUES PARAMETRES INTERVENANT LORS DE L'EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROSMARINUS ERIOCALYX PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU.

Rosmarinus Eriocalyx, qui est une plante nouvellement étudiée, s'est avérée fort intéressante d'un point de vue de la composition de son HE obtenue par entraînement à la vapeur d'eau.

Nous avons donc entrepris l'étude de sa variabilité inter-spécifique et saisonnière, ainsi que l'étude de son stockage. Pour cela, nous avons suivi les variations de son HE sous l'influence de ces trois paramètres affectant directement la matière végétale dans son état physiologique.

I- ETUDE DE LA VARIABILITE INTER-SPECIFIQUE DE ROSMARINUS ERIOCALYX.

L'étude de la variabilité inter-spécifique d'une espèce végétale donnée consiste à comparer l'HE extraite de différents plants de matière végétale cueillis en même endroit et à la même période de végétation.

Elle permet de mieux connaître une espèce végétale, en fonction de son âge, de ses conditions de culture, etc. Elle fournit également des renseignements sur la stabilité de son HE.

L'étude inter-spécifique est indispensable pour toutes les cultures destinées à la commercialisation d'une HE, car elle permet d'optimiser l'intervalle d'âge où la matière végétale doit être cueillie pour obtenir l'HE la plus économiquement rentable.

L'étude de la variabilité inter-spécifique est toujours complétée par celle de la variabilité extra-spécifique et saisonnière, qui permettent de conclure sur l'espèce végétale étudiée. (La variabilité extra-spécifique consiste en une étude de la variabilité inter-spécifique effectuée sur plusieurs années de vie de la plante).

I-1- Protocole expérimental:

Pour nos expériences, nous avons utilisé trois plants de matière végétale différents, cueillis au mois d'Avril 1993, dans la région des Bibans, et nous avons procédé à leur extraction par entraînement à la vapeur d'eau, et à leur analyse, en suivant le mode opératoire décrit au § A-I-2-1, et ceci dans des conditions rigoureusement identiques.

Les résultats obtenus sont la moyenne de deux essais consécutifs.

I-2- Résultats et discussion:

Les résultats obtenus après extraction des trois plantes ont donné les rendements et compositions regroupés dans le tableau XIII. Les trois chromatogrammes correspondants sont donnés en Annexe II.

Tableau XIII: Variabilité inter-spécifique de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx.

Plant n°	1	2	3
Humidité	19,96 %		
RdHE (%)	1,51	0,99	0,96
Principaux constituants	Teneur relative (%)		
<u>α-pinène</u>	<u>3,3</u>	<u>1,8</u>	<u>1,1</u>
camphène	2,6	1,0	0,7
<u>β-pinène</u>	<u>4,1</u>	<u>2,0</u>	<u>1,5</u>
myrcène	0,8	0,9	0,7
p-cymène	1,0	1,0	0,9
<u>1,8-cinéole</u>	<u>45,3</u>	<u>40,6</u>	<u>34,1</u>
linalol	1,0	5,8	1,6
<u>camphre</u>	<u>9,8</u>	<u>4,0</u>	<u>7,9</u>
bornéol	3,7	4,2	4,6
terpinène-4-ol	1,1	1,3	1,2
α -terpinéol	3,6	5,8	3,7
acétate de bornyle	1,9	1,2	7,2
<u>β-caryophyllène</u>	<u>13,8</u>	<u>10,9</u>	<u>9,8</u>
α -humulène	3,4	4,1	0,9
δ -cadinène.	0,5	1,9	5,4

Nous constatons que le rendement en HE varie peu d'une plante à une autre et il en est de même pour la composition de l'HE.

Il semble que le rendement en HE varie dans le même sens que les concentrations, respectivement en 1,8-cinéole, β -caryophyllène, α -pinène, et camphène; et par contre en sens inverse lorsqu'il s'agit des teneurs en δ -cadinène, en bornéol et en acétate de bornyle.

Cette première expérience montre qu'il existe une variabilité inter-spécifique de *R. Eriocalyx*. Toutefois, il est difficile de conclure.

Pour obtenir un résultat plus concluant, cette étude doit être répétée sur plusieurs années (étude extra-spécifique), en tenant compte de plusieurs paramètres importants comme: la nature du sol, le climat et surtout l'âge des plantes [3].

II- ETUDE DE LA VARIABILITE SAISONNIERE.

Au cours de son cycle végétatif, une plante modifie fréquemment les processus biologique de synthèse au sein de ses cellules, particulièrement en période de floraison [85.86]. Ces modifications ont une répercussion directe sur la composition de l'HE qui en est extraite.

De nombreuses études ont été menées dans ce sens. Ainsi, certains auteurs ont constaté une variabilité saisonnière de *R. Officinalis* L. de différentes régions méditerranéennes [44]. A. Grasse, le Romarin destiné à la parfumerie est cueilli au mois de Mai [3].

Dans notre étude nous avons tenté d'observer les variabilités saisonnières de *R. Eriocalyx* au cours de l'année 1993.

II-1- Protocole expérimental:

Nous avons choisi des échantillons de plante cueillis dans la région des Bibans entre le mois de Décembre 1992 et celui d'Octobre 1993. Nous avons ainsi extrait et analysé l'HE de *R. Eriocalyx* en suivant le protocole expérimental décrit au § A-1-2-1.

II-2- Résultats et discussion:

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau XIV et les chromatogrammes correspondants sont en Annexe III.

Nous constatons que le rendement en HE est maximum pour les mois d'Avril et de Mai, ce qui correspond à la période de floraison de la plante. Les valeurs du rendement obtenues pour les mois de Décembre 1992 et d'Octobre 1993 ne peuvent pas être prises en compte d'un point de vue pondéral, la masse de matière végétale utilisée n'étant pas la même.

En ce qui concerne la composition de l'HE, il semble que celle-ci contienne le maximum de 1,8-cinéole (51-52 %), d' α -pinène (5-8 %) et de β -pinène (5 %) en période de floraison.

Par contre, du mois de Juillet à celui d'Octobre, elle renferme un maximum de camphre (10-20 %), de bornéol (7 %), d' α -terpinéol (5 %) et de β -caryophyllène (3-6%), et un minimum de 1,8-cinéole (42 %), d' α -pinène (3-5 %) et de β -pinène (1-5%).

Nous pouvons attribuer ces variations dans la composition de l'HE, à la variation du cycle végétatif de la plante au cours de l'année.

Des travaux portant sur *R. Officinalis* L. [50] ont montré également une variabilité saisonnière de l'HE entre les mois de Septembre et d'Avril, l'HE contenant un maximum de camphre et de 1,8-cinéole au mois de Septembre.

Nos résultats sont en accord avec ceux des industriels qui cueillent le Romarin au mois de Mai, où le rendement qu'ils obtiennent est aussi maximum [2,3,9].

Tableau XIV: Variabilité saisonnière de l'huile essentielle de Rosmarinus
Eriocalyx.

Mois de	Dec. 92	Avr. 93	Mai. 93	Jui. 93	Aou. 93	Oct. 93
Humidité H (%)	25,75	39,96	46,35	9,78	6,99	---
Rd _{HE} (%)	1,30	<u>1,50</u>	<u>1,56</u>	0,93	1,02	---
Principaux constituants	Teneur relative (%)					
α -pinène	1,8	5,2	5,2	5,9	3,5	4,9
camphène	3,9	3,0	3,2	3,6	2,5	1,3
<u>β-pinène</u>	5,0	<u>5,7</u>	<u>6,5</u>	4,8	1,6	0,9
myrcène	1,7	1,7	1,5	1,5	1,2	1,0
p-cymène	1,8	2,2	1,5	1,1	1,5	1,5
<u>1.8-cinéole</u>	50,8	<u>52,4</u>	41,1	40,5	42,7	44,8
linalol	0,7	1,1	traces*	2,6	3,4	1,7
<u>camphre</u>	7,8	12,6	13,3	10,4	11,1	<u>20,0</u>
<u>bornéol</u>	3,9	3,4	5,6	6,4	<u>7,4</u>	<u>7,6</u>
terpinène-4-ol	0,9	0,7	1,2	1,1	1,7	2,0
<u>α-terpinéol</u>	3,2	2,1	3,2	5,2	<u>6,0</u>	<u>5,5</u>
acétate de bornyle	0,4	1,1	traces	1,5	1,6	3,0
<u>β-carvophyllène</u>	4,6	4,2	4,7	3,7	<u>6,1</u>	<u>1,6</u>
α -humulène	traces	0,5	1,6	1,2	1,1	traces
ε -muurolène	1,0	0,3	traces	1,3	1,2	traces
δ -cadinène	0,4	0,3	1,6	2,9	1,0	traces
oxyde de caryophyllène	traces	traces	0,7	traces	0,2	0,4
oxyde d'humulène	0,3	traces	2,0	traces	0,1	traces

* traces < 0,05 %.

Aussi, nous constatons que pour obtenir un bon rendement il est préférable de cueillir la plante entre les mois d'Avril et Mai, tout en tenant compte de la composition recherchée.

III- INFLUENCE DE LA DUREE ET DU MODE DE STOCKAGE DE LA PLANTE SUR LE RENDEMENT ET LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROSMARINUS ERIOCALYX.

La matière végétale lorsqu'elle est cueillie en un lieu éloigné de son lieu de distillation, doit être obligatoirement stockée avant son utilisation. Pour cela, il est nécessaire de connaître les moyens de conservation adéquats au stockage de chaque espèce végétale.

Actuellement, les techniques modernes utilisées emploient la congélation et le vide [87], notamment pour les plantes destinées à l'industrie agro-alimentaire.

Dans un premier temps, nous avons expérimenté cinq techniques de stockage simples et pratiques à l'échelle de laboratoire, et qui sont:

- Le stockage à l'air libre, et à l'abri du soleil.
- Le stockage dans des sacs en plastique.
- Le stockage dans des sacs en jute.
- Le stockage dans des bocaux transparents.
- Le stockage dans des bocaux teintés.

Nous avons ainsi pu comparer la qualité de l'HE extraite au cours de la période de stockage, qui était variable, selon le mode de stockage, de 2 jours à plusieurs mois.

III-1- Protocole expérimental:

Nous avons stocké un lot de plante cueilli au mois d'Avril 1993 dans les Bibans, de cinq manières différentes. Des échantillons de plante prélevés des cinq lots stockés, ont été

extraits et analysés chaque semaine pendant plusieurs mois. Pour cela, nous avons suivi le mode opératoire du § A-I-2-1.

III-2- Résultats et discussion:

III-2-1- Stockage à l'air libre et à l'abri du soleil:

C'est le mode de stockage le plus simple. La matière végétale est conservée dans un local frais et aéré, à l'abri du soleil, étalée sur un journal.

Nous avons constaté qu'ainsi stockée, elle restait longtemps sans perdre de ses qualités. ainsi, nous avons pu extraire l'HE de cette plante cinq mois durant.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau XV. Ces résultats montrent que le rendement en HE croît durant les deux premières semaines de stockage, puis diminue régulièrement jusqu'à une valeur assez faible à la vingtième semaine où il atteint 0,56 %.

Parallèlement à cela, il apparaît d'une façon générale, une diminution régulière des concentrations dans l'HE des constituants monoterpéniques, et en particulier du 1,8-cinéole, constituant majoritaire de l'HE, tandis que nous observons une croissance de la concentration des constituants sesquiterpéniques plus lourds de cette HE, tels que le β -caryophyllène, le γ et le δ -cadinène, ainsi que l' α -humulène.

Nous pouvons attribuer ces variations relatives des concentrations à une évaporation partielle des constituants volatils de l'HE, tel que le 1,8-cinéole, au cours de stockage, conduisant à une augmentation apparente des produits plus lourds de l'HE. En outre, la diminution par évaporation de la concentration en 1,8-cinéole peut expliquer la diminution du rendement en HE, au cours du stockage.

III-2-2- Stockage dans des sacs en jute:

La matière végétale stockée dans des sacs en jute se dessèche beaucoup plus rapidement que celle stockée à l'air libre, comme le montrent les valeurs du taux

Tableau XV: Evolution du rendement et de la composition de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx au cours du stockage de la plante à l'air libre à l'abri du soleil.

Stockage durant n semaines. (n =)	0	1	2	4	6	8	12
Humidité H (%)	19,96	13,95	13,18	12,88	12,50	11,78	10,98
Rd _{HE} (%)	1,09	1,17	<u>1,50</u>	1,39	1,26	1,24	1,12
Principaux constituants	Teneur relative (%)						
α -pinène	5,2	9,6	8,1	9,4	8,1	8,1	4,8
β -pinène	5,7	8,1	6,8	6,6	3,1	4,6	3,2
myrcène	1,7	1,9	2,4	1,8	1,5	1,4	1,4
p-cymène	2,2	1,9	1,9	1,7	2,2	1,6	1,6
<u>1,8-cinéole</u>	<u>52,4</u>	<u>49,1</u>	<u>48,1</u>	<u>47,1</u>	<u>43,0</u>	<u>36,2</u>	<u>34,3</u>
camphre	12,6	5,6	8,0	6,7	8,6	11,0	6,1
bornéol	3,4	2,3	2,7	2,4	3,7	4,0	3,8
α -terpinéol	2,1	1,8	2,0	2,6	2,8	2,7	3,3
acétate de bornyle	1,1	0,9	1,2	1,0	21,9	2,7	2,8
<u>β-caryophyllène</u>	<u>4,2</u>	<u>4,7</u>	<u>5,6</u>	<u>6,6</u>	<u>7,4</u>	<u>7,8</u>	<u>13,4</u>
α -humulène	<u>0,5</u>	<u>1,2</u>	<u>1,2</u>	<u>1,4</u>	<u>1,3</u>	<u>1,3</u>	<u>3,2</u>
<u>γ-cadinène</u>	<u>0,2</u>	<u>0,3</u>	<u>0,5</u>	<u>0,5</u>	<u>1,8</u>	<u>1,0</u>	<u>2,3</u>
<u>δ-cadinène</u>	<u>0,3</u>	<u>0,8</u>	<u>0,9</u>	<u>1,0</u>	<u>2,4</u>	<u>2,0</u>	<u>4,6</u>

d'humidité (H) du tableau XVI donnant les variations du rendement et de la composition au cours du stockage.

Les résultats obtenus montrent que la variation du rendement en HE suit le même sens que celle observée lors du stockage à l'air libre. Toutefois, les valeurs obtenues sont plus faibles (0,98 % et 0,63 % à la 8^{ème} et 12^{ème} semaine respectivement) du fait que la plante perd de son humidité et se dessèche ainsi plus rapidement.

Concernant la composition, le même phénomène est également observé. Nous constatons qu'au cours du stockage, la concentration des constituants monoterpéniques les plus volatils diminue, tandis que la teneur relative en produits sesquiterpéniques les plus lourds comme le β -caryophyllène augmente.

Il est donc probable que l'HE répartie à la surface des feuilles de la plante se soit évaporée au cours du stockage, provoquant ainsi une diminution du rendement en HE, et par là même celle des constituants les plus volatils de l'HE.

III-2-3- stockage dans des sacs en plastique:

La matière végétale stockée dans des sacs en plastique présente la particularité de se dessécher très lentement.

Le rendement de la composition ainsi que les valeurs des taux d'humidité correspondants de l'HE extraite, sont données dans le tableau XVII.

L'examen du tableau XVII montre que le rendement en HE présente la même allure de variation que celle observée pour les deux modes de stockage précédents. Cependant, ce dernier est plus élevé, car la matière végétale est moins desséchée; comme le montrent les valeurs du taux d'humidité.

Quant-à la composition de l'HE, nous constatons la prédominance des constituants monoterpéniques de l'HE, avec un maximum observé lors de la 2^{ème} semaine de stockage, notamment pour l' α et le β -pinène; et une nette diminution de la teneur relative

Tableau XVI: Evolution du rendement et de la composition de l'huile essentielle de *Rosmarinus Eriocalyx* au cours du stockage dans des sacs en jute.

Stockage durant n semaines. (n =)	0	1	2	3	4
Humidité H (%)	19,96	13,30	13,13	11,65	10,98
Rd _{HE} (%).	1,09	1,00	<u>1,37</u>	1,20	1,00
Principaux constituants	Teneur relative (%).				
α -pinène	5,2	2,9	5,9	2,5	traces*
camphère	3,0	2,6	3,9	2,2	traces
β -pinène	5,7	3,1	3,1	2,9	traces
<u>1,8-cinéole</u>	<u>52,4</u>	<u>47,5</u>	<u>38,8</u>	<u>27,5</u>	<u>24,3</u>
camphre	12,6	4,8	11,7	4,7	7,9
bornéol	3,4	4,1	4,4	4,2	5,7
α -terpinéol	2,1	5,0	2,9	4,8	6,4
<u>acétate de bornyle</u>	<u>1,1</u>	<u>2,1</u>	<u>2,4</u>	<u>3,6</u>	<u>4,0</u>
<u>β-caryophyllène</u>	<u>4,2</u>	<u>10,8</u>	<u>12,5</u>	<u>18,3</u>	<u>14,3</u>
<u>α-humulène</u>	<u>0,5</u>	<u>1,7</u>	<u>2,2</u>	<u>3,7</u>	<u>4,3</u>
<u>ϵ-muurolène</u>	<u>0,3</u>	<u>1,2</u>	<u>2,3</u>	<u>2,4</u>	<u>3,2</u>
<u>δ-cadinène</u>	<u>0,3</u>	1,6	<u>3,4</u>	<u>3,1</u>	<u>3,9</u>

* traces < 0,05 %.

Tableau XVII: Evolution du rendement et de la composition de l'huile essentielle de Rosmarinus Eriocalyx au cours du stockage de la plante dans des sacs en plastique.

Stockage durant n semaines. (n =)	0	1	2	4
Humidité H (%)	19,96	16,63	14,96	12,98
Rd _{HE} (%).	1,09	1,13	1,60	1,36
Principaux constituants	Teneur relative (%).			
<u>α-pinène</u>	5,2	6,7	15,7	6,7
<u>β-pinène</u>	5,7	3,4	11,0	6,7
<u>1,8-cinéole</u>	52,4	41,0	45,7	46,9
<u>camphre</u>	12,6	1,6	1,5	12,1
<u>bornéol</u>	3,4	33,4	0,8	traces*
<u>α-terpinéol</u>	2,1	2,7	0,6	traces
<u>acétate de bornyle</u>	1,1	2,0	0,4	traces
<u>β-caryophyllène</u>	4,2	7,0	3,2	22,3
<u>α-humulène</u>	0,5	1,4	0,9	5,3

* traces < 0,05 %.

en camphre, bornéol, et autres constituants sesquiterpéniques qui voient leur concentration augmenter à la 3^{ème} semaine.

Par ailleurs, nous constatons très peu de constituants dont les points d'ébullition sont supérieurs à celui du β -caryophyllène.

Nous pouvons donc dire que la plante conservée dans des sacs en plastique subit l'influence d'une atmosphère environnante, limitant l'évaporation de l'eau d'humidité et des constituants volatils de l'huile répartie à la surface des feuilles. Cette HE diffère donc d'un point de vue teneur relative en constituants majoritaires de celle obtenue avec la plante stockée à l'air libre et dans des sacs en jute.

III-2-4- Stockage dans des bocaux transparents:

La plante stockée dans des bocaux transparents hermétiques, se conserve uniquement durant 10 jours car au-delà, il est constaté un pourrissement de la plante et l'apparition de moisissures.

Le rendement et la composition de l'HE extraite sont donnés au tableau XVIII.

L'analyse de l'HE extraite après une semaine de stockage montre une diminution de la teneur en 1,8-cinéole et une nette augmentation de celle du β -caryophyllène, acétate de bornyle et autres produits lourds inconnus.

Ceci pourrait être dû à d'éventuelles transformations photo-chimiques au sein de la plante, se trouvant dans un milieu fermé sans renouvellement d'air mais au contact de la lumière.

III-2-5- Stockage dans des bocaux teintés:

La plante n'a pu être conservée que deux jours dans des bocaux teintés.

Le stockage dans des bocaux teintés n'est pas un procédé adéquat pour R. Eriocalyx.

Tableau XVIII: Evolution du rendement et de la composition de l'huile essentielle de R. Eriocalyx au cours du stockage de la plante dans des bocaux transparents.

Stockage durant n semaines. (n =)	0	1
Humidité H (%)	19,96	15,18
Rd _{HE} (%).	1,09	1,52
Principaux constituants	Teneur relative (%).	
<u>α-pinène</u>	5,2	5,1
β -pinène	5,7	5,2
<u>1,8-cinéole</u>	52,4	<u>42,5</u>
camphre	12,6	11,4
bornéol	3,4	4,3
α -terpinéol	2,1	3,2
<u>acétate de bornyle</u>	1,1	13,7
<u>β-caryophyllène</u>	4,2	9,2
α -humulène	0,5	traces*
Produits lourds non-identifiés.	traces	6,2

* traces < 0,05 %.

Il apparaît donc que la lumière joue un rôle important dans le métabolisme des végétaux, en maintenant une certaine activité cellulaire qui permet à la plante de rester en vie pendant un certain temps.

III-3- Conclusion:

L'étude du stockage montre que pour être conservée correctement, la plante doit rester en contact continu avec de l'air et de la lumière. L'absence de telles conditions favorables entraîne des transformations chimiques au sein de la plante, et conduit au pourrissement de celle-ci.

Ainsi, nous recommandons de stocker R. Eriocalyx à l'air libre, ou dans un milieu où il y a renouvellement continu de l'aération, et où la plante n'est pas tassée; le tassement et l'humidité étant préjudiciables à la plante.

L'air libre, les sacs en plastique et en jute paraissent de bons moyens de conservation.

Enfin, cette étude nous a permis de montrer que dans de bonnes conditions de conservation, la plante peut-être stockée jusqu'à cinq mois sans l'altérer.

C- ETUDE PRELIMINAIRE DE L'EXTRACTION DE LA CONCRETE DE ROSMARINUS ERIOCALYX PAR SOLVANTS VOLATILS.

L'extraction par solvants volatils est une méthode très utilisée pour l'extraction des principes odorants des végétaux.

Les extraits aux solvants sont d'une grande stabilité à l'air libre de par la présence d'anti-oxydants dans leur composition [55]. De plus, ils présentent de grandes qualités olfactives plus recherchées que celles des HE. Ils sont de ce fait très utilisés dans l'industrie alimentaire [55,57].

Dans cette partie du travail, nous nous sommes intéressés à la concrète de R. Eriocalyx, qui à notre connaissance n'a pas encore été extraite à ce jour. Nous avons donc entrepris son étude au moyen de trois procédés d'extraction connus qui sont: l'extraction en statique, sur soxhlet et en lit fixe avec circulation continue de solvant, en boucle fermée.

Nous avons choisi comme solvant l'ether de pétrole, en raison de sa disponibilité à partir des coupes essences du pétrole, et l'avons comparé à d'autres solvants organiques volatils usuels.

Cette étude étant la première effectuée sur la concrète de R. Eriocalyx, elle se veut donc essentiellement pondérale et a pour but la comparaison des rendements en concrète obtenus par ces différentes méthodes d'extraction et au moyen de divers solvants.

I- L'EXTRACTION EN STATIQUE.

L'extraction en statique est basée sur le principe élémentaire de la macération de la matière végétale dans le solvant, à température ambiante et sans agitation. Le solvant chargé (miscella) est ensuite évaporé et la concrète récupérée.

I-1- Protocole expérimental:

La matière végétale (20g) immergée dans le solvant (200 ml), macère durant 24 h dans un ballon fermé, sans agitation, et à la température ambiante. La miscella est alors récupérée et filtrée. Après évaporation du solvant, la concrète est pesée et son rendement Rd_c déduit à l'aide de la relation suivante:

$$Rd_c (\%) = \frac{m_c}{M} \times 100 \quad (5)$$

où m_c désigne la masse de concrète en grammes et M , la masse de matière végétale séchée en grammes.

Afin d'étudier l'influence de la nature du solvant sur le rendement Rd_c en concrète, nous avons utilisé des échantillons de R. Eriocalyx cueillis au mois d'Octobre 1993 dans la région des Bibans.

Les solvants organiques utilisés sont: l'acétone, l'éther de pétrole, l'éthanol, l'éther-diéthylique et le pentane; avec un rapport volume de solvant / matière végétale (hydromodule) de $h = 0,01 \text{ m}^3 / \text{kg}$. Le taux d'humidité de R. Eriocalyx a été évalué à $H = 9 \%$.

I-2- Résultats et discussion:

Les différents essais effectués en statique ont conduit aux résultats du tableau XIX.

Tableau XIX: Evolution du rendement en concrète de Rosmarinus Eriocalyx, en fonction de la nature du solvant au cours de l'extraction en statique.

Nature du solvant	Ether de pétrole	Pentane	Acétone	Ether diéthylique	Ethanol
Rd_c (%)	1,57	2,62	2,91	3,10	3,54

Nous constatons que le rendement Rdc varie de 1,57 % pour l'éther de pétrole (40-60 °C) à 3,54 % pour l'éthanol. Ce dernier présente une grande affinité pour les produits lourds tels que les cires, les pigments et les anti-oxydants contenus dans la plante.

Cependant, il reste que le choix du solvant repose en premier lieu sur l'usage auquel est destinée la concrète. Aussi, il serait intéressant de déterminer les qualités de chaque concrète afin de pouvoir effectuer le choix d'un solvant approprié. Ceci pourrait faire l'objet de travaux ultérieurs visant à valoriser la concrète de R. Eriocalyx.

II- L'EXTRACTION AU SOXHLET.

Le soxhlet est un appareillage permettant d'effectuer des extractions successives de la matière végétale jusqu'à épuisement total. La plante est " rincée " périodiquement par du solvant frais régulièrement évacué et renouvelé de manière discontinue.

II-1- Protocole expérimental:

Nous avons utilisé pour nos essais un montage qui comprend un ballon contenant du solvant porté à ébullition qui en s'évaporant se condense à l'intérieur du soxhlet contenant la plante.

La matière végétale est ainsi extraite plusieurs fois jusqu'à épuisement total. L'expérience est arrêtée lorsque l'indice de réfraction du solvant dans le soxhlet devient égal à celui du solvant pur.

Nous avons utilisé des échantillons de R. Eriocalyx cueillis au mois de Mai 1993 dans les Bibans, et dont le taux d'humidité déterminé par la méthode azéotrope, a été estimé à 9,78 %. La masse de plante mise en œuvre pour nos essais était de 50 g. Les solvants organiques utilisés étaient l'éthanol absolu, et l'éther de pétrole de la fraction 40-60 °C de fabrication Merck.

II-2- Résultats et discussion:

De la même manière que pour l'extraction en statique, nous avons étudié l'influence de la nature du solvant sur le rendement Rd_c en concrète, lors de l'épuisement complet de la matière végétale au soxhlet. Le rendement Rd_c , calculé par la formule (5) du § C-I-1, est donné dans le tableau XX.

Tableau XX: Evolution du rendement en concrète de R. Eriocalyx en fonction de la nature du solvant, au cours de l'extraction au soxhlet.

Nature du solvant.	Ethanol	Ether de pétrole.
Rd_c (%)	31,29	9,93

La concrète à l'éthanol est de couleur vert-foncé et est très dense, tandis que celle extraite à l'éther de pétrole est jaunâtre et moins consistante.

Par ailleurs, la concrète extraite à l'éthanol présente un rendement trois fois supérieur à celui obtenu avec l'éther de pétrole, et son analyse chromatographique

(Figure 18) montre qu'elle contient bien tous les constituants de l'HE précédemment observés.

D'autre part, l'entraînement à la vapeur d'eau de la plante résiduelle, a donné des traces de produits très mal odorants, qui ne sont pas dans l'HE, avec un rendement de 0,020 % pour l'éther de pétrole et des traces pour l'éthanol.

Nous pouvons déduire que l'éthanol n'est pas un solvant sélectif vis-à-vis des constituants de la concrète de *R. Eriocalyx*, qui de ce fait est très riche en composés lourds.

Ce résultat rejoint celui obtenu pour l'extraction en statique, et montre bien l'affinité de la concrète pour l'éthanol. Il est à noter que nos résultats sont en accord avec ceux de la bibliographie qui utilisent l'éthanol pour l'extraction de la concrète de *R. Officinalis L.* [55].

III- L'EXTRACTION EN LIT FIXE AVEC CIRCULATION CONTINUE DE SOLVANT EN BOUCLE FERMÉE.

L'extraction en lit fixe avec circulation continue de solvant en boucle fermée est basée sur les principes de transfert de matière entre deux phases l'une fixe, la matière végétale, et l'autre mobile, le solvant.

Pour l'extraction des végétaux, cette méthode présente l'avantage d'être continue et la matière végétale est en contact permanent avec le solvant; ce dernier étant renouvelé sans perturbation du système d'extraction [88].

III-1- Protocole expérimental:

Nous avons utilisé pour nos essais le dispositif expérimental de la figure 19, qui comprend une colonne contenant la matière végétale immergée dans le solvant. Ce dernier est continuellement renouvelé au cours de l'extraction grâce à un circuit fermé qui comprend: un ballon chauffé à 60 °C, une colonne vigreux et un réfrigérant permettant de condenser le solvant frais au-dessus de la colonne principale.

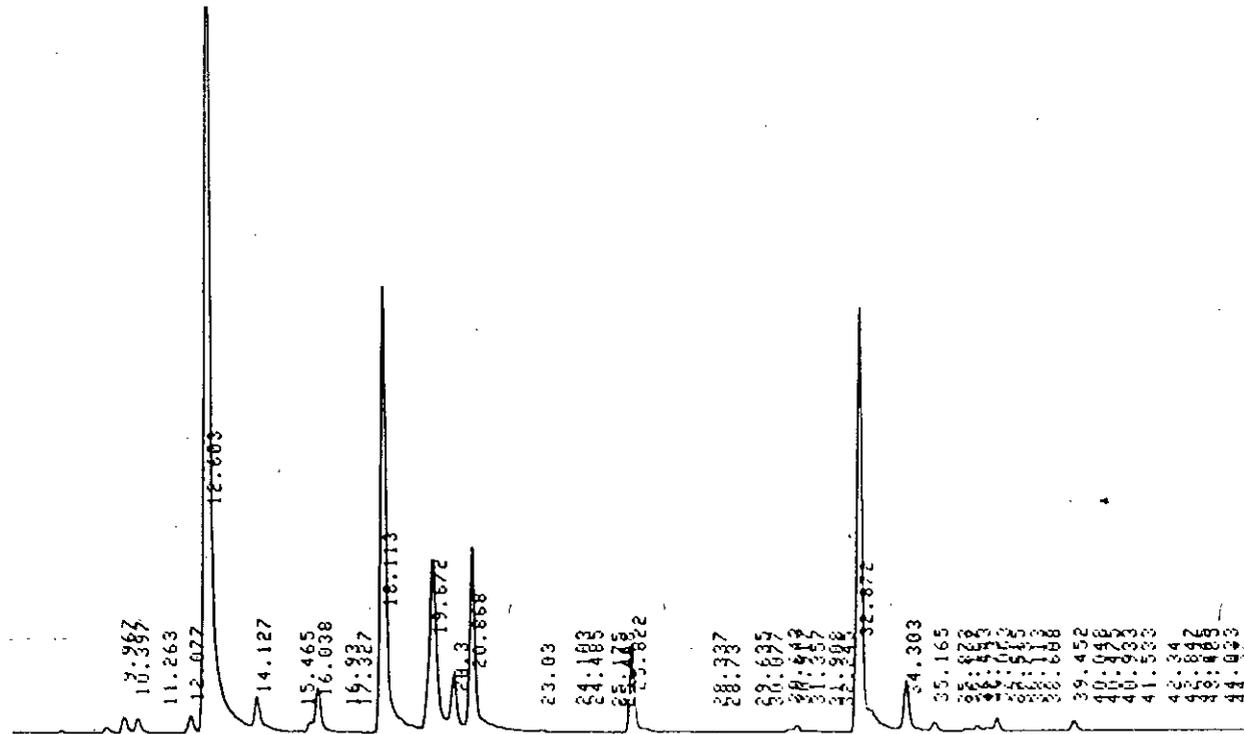
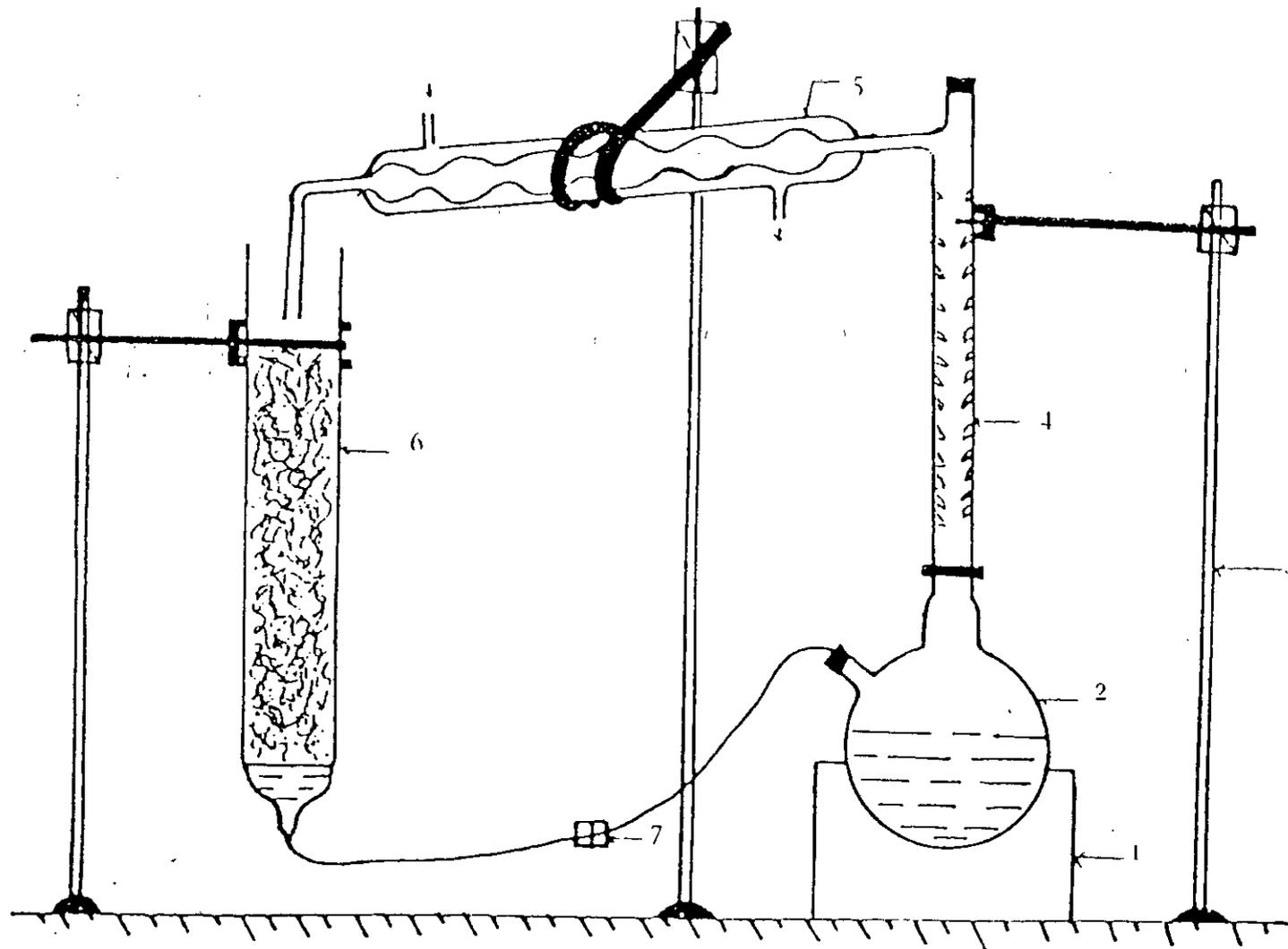


Figure 18: Chromatogramme de la partie volatile de la concrète de Rosmarinus Eriocalyx, obtenue au cours de l'extraction à l'éthanol, sur Soxhlet.



- 1-Chauffe-ballon
- 2-Ballon contenant le solvant chargé.
- 3-Statif
- 4-Colonne vigreux
- 5-Réfrigérant
- 6-Colonne contenant la matière végétale dans le solvant.
- 7-Robinet de réglage du débit.

Figure 19: Dispositif expérimental de l'extraction en lit fixe avec circulation continue de solvant en boucle fermée.

Le solvant chargé s'écoulant au bas de la colonne est récupéré à intervalles de temps réguliers. Le solvant est ensuite évaporé et le rendement en concrète est calculé par la relation (5) du § C-I-1.

Cette expérience a porté sur des échantillons de plante (50 g) cueillis au mois de Mai 1993 dans les Bibans, dont le taux d'humidité a été évalué à 10,98 %.

Le solvant choisi, en raison de sa disponibilité, était l'éther de pétrole (40-60 °C).

III-2- Résultats et discussion:

Nous avons suivi l'évolution du rendement en concrète Rd_c au cours du temps, au moyen du protocole expérimental décrit ci-dessus. Les résultats obtenus, qui sont la moyenne de deux essais consécutifs, sont donnés dans le tableau XXI.

Tableau XXI: Evolution du rendement en concrète au cours du temps lors de l'extraction en continu de R. Eriocalyx.

temps t (h)	1	2	3	4	5	6	7
Rd_c (%)	1,84	2,87	3,23	3,56	4,34	4,59	5,07

La représentation graphique du rendement en fonction du temps (Figure 20) comporte deux parties distinctes où l'accroissement du rendement Rd_c en fonction du temps est différent.

La première allant de 0 à 2 h montre une augmentation relativement rapide du rendement Rd_c comparée à celle allant de 2 h à 7 h.

De plus, au bout de 7 h d'extraction, le rendement en concrète n'est que de 5,07 %, alors que l'épuisement au soxhlet conduit à un rendement double de 9,93 %. Ceci suggère que l'on n'a pas encore atteint l'épuisement total au bout de 7 h d'extraction pour le débit de solvant utilisé.

Par ailleurs, la plante récupérée après 7 h d'extraction ayant subi un entraînement à la vapeur d'eau, n'a permis d'obtenir qu'un rendement Rd_{HE} de 0,32 % en HE.

Il est donc clair, que la plante extraite par ce procédé, n'est pas épuisée au bout de 7 h d'extraction, et contient encore de l'HE et des substances de la concrète.

Cette étude devra donc être complétée ultérieurement, notamment par l'analyse des différents extraits pour leur éventuelle mise en valeur, et leur classement par familles de constituants, qui pourrait orienter vers l'utilité de ces produits dans un domaine d'application donné.

IV- CONCLUSION.

L'étude préliminaire de l'extraction de la concrète montre que les solvants oxygénés (éthanol- acétone- éther diéthylique) donnent des rendements en concrète plus élevés que les autres solvants, aussi bien lors de l'extraction en statique que de l'épuisement total au soxhlet.

Quant-à l'extraction en lit fixe avec circulation continue de solvant en boucle fermée, elle nous a permis d'observer l'évolution du rendement en concrète extraite à l'éther de pétrole, en fonction du temps, mais devra être poursuivie au-delà de 7 h, si nous voulons atteindre l'épuisement total de la plante.

Il est à signaler que cette étude préliminaire devra être complétée ultérieurement par une étude analytique permettant d'obtenir les caractéristiques chimiques des différentes concrètes obtenues.

CONCLUSION GENERALE

Au cours de ce travail, nous avons extrait et analysé les HE de *R. Eriocalyx* et *R. Officinalis* L. de la région de Bordj-Bou-Argeridj.

Nous nous sommes intéressé pour cela aux deux procédés d'extraction qui sont: l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation.

Nous avons effectué l'étude comparative des HE obtenues, ainsi que celle de la cinétique des deux procédés d'extraction utilisés.

L'entraînement à la vapeur d'eau des deux romarins étudiés a donné de meilleurs rendements en HE, et des compositions plus intéressantes, que celles obtenues pour l'hydrodistillation. Tandis que l'étude cinétique a montré que l'entraînement à la vapeur d'eau suivait un processus plus rapide que celui de l'hydrodistillation.

Notre attention s'est essentiellement portée sur *Rosmarinus Eriocalyx*, espèce nouvellement étudiée, et plus particulièrement sur son HE, issue de l'entraînement à la vapeur d'eau.

L'étude de l'évolution de l'HE de *R. Eriocalyx* au cours de son cycle végétatif nous a permis de constater que la meilleure période de cueillette de la plante se situe entre les mois d'Avril et Mai. Tandis que l'étude de l'influence du mode de stockage de la plante a permis de suggérer l'utilisation d'une conservation dans un milieu aéré et éclairé de cette plante.

Par ailleurs, nous avons constaté une variabilité inter-spécifique de l'HE de *Rosmarinus Eriocalyx*.

L'étude préliminaire de l'extraction par solvant de *R. Eriocalyx*, nous a permis de constater l'affinité des solvants oxygénés pour la concrète, au cours de l'extraction au Soxhlet et en statique.

Enfin, l'évolution du rendement en concrète lors de l'extraction en lit fixe avec circulation continue de solvant, au moyen de l'éther de pétrole, a été abordée.

En conclusion, nous dirions que cette étude sur le Romarin: *Rosmarinus Eriocalyx* mériterait d'être poursuivie en vue d'une meilleure connaissance de cette nouvelle espèce spontanée, et ce aussi bien d'un point de vu botanique que chimique. Il serait intéressant de poursuivre les recherches dans le but d'une valorisation industrielle éventuelle de son HE et de sa concrète.

BIBLIOGRAPHIE

- [1]- ROSUA J. L, GARCIA-GRANADOS. A.
Analyse des huiles essentielles d'espèces du genre *Rosmarinus L.*, et leur intérêt en tant que caractère taxonomique; *Plantes médicinales et Phytothérapie*; 21; N° 2; 138-143; 1987.
- [2]- ROL. R., JACAMON. M.
Flore des arbres, arbustes et arbrisseaux, T3: Régions méditerranéennes; Ed. La maison rustique; Paris; 1968.
- [3]- ROLET. A.
Les plantes à parfum et les plantes aromatiques; 317-326; Ed. J. B. Baillière & Fils; 1930.
- [4]- BENISTON. NT. W. S.
Fleurs d'Algérie; Ed. N° 1822 / 84; Ent. Nat. Liv., Alger; 1984.
- [5]- GALLAIS. A.; BANNEROT. H.
Amélioration des espèces végétales cultivées; Ed. INRA; Paris; 1992.
- [6]- GUBB. A. S.
La flore algérienne naturelle et acquise; 127; Ed. A. Jourdan; Alger; 1913.
- [7]- QUEZEL. P, SANTA. S.
Nouvelle flore de l'Algérie, et des régions désertiques méridionales; Ed. CNRS; Paris; 1963.
- [8]- PERROT. E.
La culture des plantes médicinales; 318-319; Ed. Ballière & Fils; Paris; 1947.
- [9]- PERROT. E.
Plantes médicinales de France; T1; Ed. Saint-Aubin d'Ecrosville; Paris; 1928.
- [10]- BATTANDIER. J. A, TRABUT.
Flore de l'Algérie: Les dicotylédones; 45-46; Ed. Adolphe & Jourdan; Alger, 1888-90.
- [11]- COLIN.C.
Dictionnaire de herbes et des épices; 214-216; Ed. Denoël; Paris; 1963.

- |12|- MAHMOUDI. Y.
Connaissance des plantes naturelles les plus utilisées en Algérie; 10-11; Ed. Maison du livre ANES; Blida; 1994.
- |13|- ROSUA. J. L.
El-Complejo Rosmarinus Eriocalyx-Tomentosus, en la península Ibérica; Anales Jardin Botánico De Madrid; 37 (2); 587-595; 1981.
- |14|- MAIRE. R, HUBER-MORATH. A.
Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord; 31; 79; 1940.
- |15|- AMARAL. J., ROCHA. M. L.
Rosmarinus L. In; Flora Europaea; 3; 187; Ed. T. G. Tutin s al., Cambridge: 1972.
- |16|- TURILL. W.
The genus Rosmarinus; Kew Bull.; 105-108; 1920.
- |17|- JORDAN. A, FOURREAU. J.
Breviarum Plantarum Novarum; Vol 1; N° 44; Paris; 1886.
- |18|- SAGREDO. R.
Contribucion al conocimiento de la flora de Almería; Anales. Inst. Bot. Cananilles; 32 (2); 309-321; 1975.
- |19|- CLEMENT. J.
La santé par les plantes (comment se soigner, comment se guérir); 169-170; Ed. Baudouin; Paris; 1979.
- |20|- MAIRE. R.
Contribution à l'étude de la flore de l'Afrique du Nord; Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord.; N° 23; 163-222; 1932.
- |21|- LECLERC. L.
Traité des simples de Ibn-El-Beïthar; 478; Ed. Imprimerie Nationale; Paris; 1877-1883.
- |22|- POURRAT. H. LE MEN. J.
Répartition de l'acide ursolique chez les Labiées; Ann. Pharm. Franç.; 2; 190-192; 1953.

- [23]- BRIESKORN. C. H., BRINER. M., SCHLUMPRECHT. L., EBERHARDT. K. H.
Vergleichende quantitative Bestimmungen der Ursolsäure und des ätherischen Ols in
pharmazeutisch und lebensmittelchemisch wichtigen Labiaten; Arch. Pharm.; 285;
290-296; 1953.
- [24]- BALANSARD. S.
Contribution à l'étude du Romarin (R. off. L., Labiées); Thèse Pharm.: Univ.
Marseille; France; 1953.
- [25]- SCARPATI. M. L., ORIENTE. O.
Isolamento e costituzione dell'acido rosmarinico (dal R. Officinalis.); Ricerca. Sci.;
28; 2329-2333; 1958.
- [26]- SEMRAU. R.
Über die Flavone in der Familie der Labiaten; Inaug. Dissert.: 71; Münsche; 1958.
- [27]- BRIESKORN. C. H., FUCHS. A.
Die Struktur des Pikrosalvins, eines diterpeno-diphenollactons aus dem Salbeiblatt;
Chem. Ber.; 95; 3034-3041; 1962.
- [28]- BRIESKORN. C. H., FUCHS. A., BREDEBERG. J. B-Son, Mc CHESNEY. J.
D., WENKERT. E.
The structure of carnosol; J. Org. Chem.; 29; 2293-2298; 1964.
- [29]- BRIESKORN. C. H., DOMLING. H. J.
Occurrence of 5-hydroxy-4', 7-dimethoxyflavone in R. Off. leaves; Arch. Pharm.;
300; 1042-1044; 1967.
- [30]- BRIESKORN. C. H., DOMLING. H. J.
Natürliche und synthetische Derivate der Carnolsäure; Arch. Pharm.; 302; 641-649;
1969.
- [31]- BRIESKORN. C. H., KABELITZ. L.
Hydroxy fatty acids from leaf cutin of R. Off.; Phytochemistry; Vol. 10; N° 12;
3194-3204; 1971.
- [32]- SENDRA. J., SEIDL. O., MIEDZOBRODZKA. J., ZIEBA. J.
Chromatographic analysis of flavonoids and terpenes in folium Rosmarini;
Dissert. Pharm. Pharmacol.; Vol. 21; N° 2; 185-191; 1969.

- [33]- LALLEMENT-GUILBERT. N., BEZANGER-BEAUQUESNE. L.
Recherche sur les flavonoïdes de quelques Labiées médicinales; Pl. Med. Phyt.;
Vol. 4; N° 2; 92-107; 1970.
- [34]- GRANGER. R., PASSET. J., ARBOUSSET. G., GIRARD. J. P.
Relations biogénétiques entre la verbénone et l' α -pinène dans R. Off. L.; C. R. Acad.
Sc. Paris; N° 270; 209-212; 1970.
- [35]- BAERHEIN. A, KARLSEN. J.
Use of gas chromatography in chemical pharmacognosy; Praep. Phar.; 6 (7-8);
121-129; 1970.
- [36]- GRANGER. R., PASSET. J., ARBOUSSET. M.
Biogenesis of bicyclic monoterpenes in R. Off. and Lavandule Stoechas; Bull. Tech.
Gattefosse SFPA.: 66: 25-26; 1971.
- [37]- SKRUBIS. B. G.
Seven wild aromatic plants growing in Greece and their essential oils; Flav. Indust.;
Vol. 571; N° 3; 566-568; 1972.
- [38]- RASMUSSEN. K. E., RASMUSSEN. S., BAERHEIM SVENDSEN. A.
Quantitative determination of the various compounds of the volatile oil in small
amounts of plant material by means of gas-liquid chromatography. Terpenes and
related compounds XVIII; Pharm. Weekblad; 107; 277-284; 1972.
- [39]- CABO-TORRES. J., MALDONADO. R., JIMENEZ. J, VILLAR DEL FRESNO.
A., BRAVO. L.
Estudio cromatografic de las esencias de romero espanol; Bol. Chim. Farm.; 111;
573-578; 1972.
- [40]- DEVETAK. Z.
Production of the essential oil of rosmary on the island of Hvar; Zbornik Simpozija
Hvar u Prirodnim Znanostima; 109-123; Zagreb; 1977.
- [41]- CARDOSO DO VALE. J., PROENCA DA CUNHA. A., ROQUE. O. R.
Contribuicao para o estudio analitico do Oleo Essencial de Alecrim Nacional 1.
Caracteristicas fisico-quimicas e determinacao dos principais constituintes; Bol. Fac.
Farm. Coimbra.; 4 (3-4); 35-45; 1980.

- [42]- HARTMANN. V. E., RACINE. P., GARNERO. J., TOLLARD d' AUDIFFRET. Y.
Les extraits de Romarin (R. Off. Linnaeus) antioxygènes naturels utilisables dans la
protection des huiles essentielles: *Parf. Cosm. Arôm.*; 36; 33-40; 1980.
- [43]- VEROTTA. L.
Isolation and HPLC determination of the active principales of R. Off. and Gentiana
Luéa; *Fitoterapia*; Vol. 56; n° 1; 25-29; 1984.
- [44]- PROENCA DA CUNHA. A., ROQUE. O. R.
Contribuicao para o estudio do Oleo essencial de Alcrim. Nacional 2. Variacoes
quantitativas dos principais constituintes durante a floracao da primavera; *Bol. Fac.
Farm. Coimbra*; Vol: 10; Nº 1; p: 5-13; 1986.
- [45]- FARAG. R. S., SALEM. H., BADEI. A. Z. M. A., HASSANEIN. D. E.
Biochemical studies on the essential oils of some medicinal plants: *Fette Seifen
Anstrich*; Vol. 60; 69-72; 1986.
- [46]- TUCKER. A. O., MACIARELLO. M. J.
The essential oils of some rosemary cultivars; *Flav. Frag. J.*, 1; 137-142; 1986.
- [47]- HETHELYI. E., KAPOSI. P., KERNOCZI. Z. S., DOMONKOS. J.
GC / MS investigation of the essential oils Rosmarinus Off. L.; *Acta. Pharm. Hung.*;
57; 159-169; 1987.
- [48]- STEINMETZ. M. D., VIAL. M., MILLET. Y.
Actions de l'huile essentielle de Romarin et de certains de ses constituants (camphre,
1,8-cinéole) sur le cortex cérébral de rat in vitro; *J. Toxicol. Cliniq. Experimentale*;
7; 259-271; 1987.
- [49]- FOURNIER. G., HABIB. J., REGUIGUI. A., SAFTA. F., GUETARI. S.,
CHEMLI. R.
Etude de divers échantillons d'huile essentielle de Romarin de Tunisie; *P1. Med.
Phyto.*; T: 23; 180-185; 1989.
- [50]- FLAMINI. G., CIONI. P. L., CATALANO. S., MORELLI. I.
Variabilità chimica delle essenze di piante di R. Off. L. a differente colorazione;
Rivista Italiana. EPPOS. OTTAVO; 11; 21-24; 1992.

- [51]- SVOBODA. K. P., DEANS. S. G.
A study of the variability of Rosemary and Sage and their volatile oils on the British Market: their antioxidative properties; *Flav. Frag. J.*; Vol. 7; 81-87; 1992.
- [52]- HOULIHAN. C. M., HO. C. T., CHANG. S. S.
The structure of Rosmariquinone. A new antioxidant isolated from R. Off. L.; *JAOCS*; Vol. 62; N° 1; Jan. 1985.
- [53]- HOULIHAN. C. M., HO. C. T., CHANG. S. S.
Elucidation of the chemical structure of a novel antioxidant, Rosmaridiphénol, isolated from Rosemary; *JAOCS*; Vol. 61; N° 6; June 1984.
- [54]- NAKATANI. N., INATANI. R.
Two antioxydative diterpenes from Rosemary (R. Off. L.) and a revised structure for Rosmanol; *Agric. Biol. Chem.*; Vol. 48; N° 8; 2081-2085; 1984.
- [55]- BASSANI. V., CASADEBAIG. J., JACOB. M., MENUT. C., LECHAT. I., LAMATY. G.
Preparation of a low-alcohol extract of R. Off. using a reverse osmosis membrane; *Int. J. Pharm.*; 63; 57-63; 1990.
- [56]- REVERCHON. E., SENATORE. F.
Isolation of Rosemary oil: Comparison between hydrodistillation and supercritical CO₂ extraction; *Flav. Frag. J.*; 7; 227-230; 1992.
- [57]- MAYER. B. G.
Produits PFI-CO₂, une nouvelle génération de produits pour l'alimentation extraits au CO₂; *IAA*; 847-853; Oct-1989.
- [58]- SEU-SALERNO. M., BLAKEWAY. J.
La mousse de chêne une base de la parfumerie; *Pour la science*; 82-92; Mai 1987.
- [59]- RIJKINS. F.
parf. Sav. Rech.; 12; 272; 1969.
- [60]- TATU. H.
L'industrie moderne des parfums; Ed. Ballière & Fils; 1932.
- [61]- BAUD. P.
Traité de chimie industrielle; T. 3; Ed. Masson; 1951.

- [62]- NAVES. Y. R.
Technologie des parfums naturels; Ed. Masson; 1974.
- [63]- GARNERO. J.
Rivista Italiana. EPPOS; 58: 105; 1976.
- [64]- GUENTHER. E.
The essential oils; Robert. E. Krieger Publishing Co.; 744-763; Vol. 3; Huntington:
N.Y.; 1972.
- [65]- VON-ROCHENBERG. C.
Theorie der gewinnung und trennung der ätherischen ishm öle durch destillation;
Selbot-verlag Von Shimmel: 418-441; 1910.
- [66]- GOKHALE. N. N., MASADA. S. Y.
Int. Cong. Ess. Oils.; 7; 242; 1977.
- [67]- GUEORGIEV. E.
Technologie de l'industrie des huiles essentielles; Ed. de l'institut Supérieur de
Technologie Alimentaire; Plovdiv; Bulgarie; 1980.
- [68]- BOUKHENOUBA. A.
Projet de fin d'études; ENP; 1991.
- [69]- HAMADI. S.
Projet de fin d'études; ENP; 1990.
- [70]- KOEDAM. A., LOOMAN. A.
Effect of pH during distillation on the composition of the volatile oil from Juniperus
Sabina; Planta medica, suppl.; 22-28; 1980.
- [71]- KOEDAM. A.
The influence of some distillation conditions on essential oil composition; World
crops; Prod. Util. dex. (Aromat. Plants); 7; 229-236; 1982.
- [72]- CRABALONA. L.
La France et ses parfums; 12; 27; 1959.

- [73]- KOEDAM. A., SHEFFER. J. J. C., SVENDSEN. A. B.
Comparison of isolation procedures for essential oils. I. Dill. (*Anethum graveolens* L.); Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm; 6: 1-7; 1979.
- [74]- MORIN. Ph., RICHARD. H.
Thermal degradation of linalyl acetate during steam distillation; Progress in Flavour Research; 563-576; 9-11 Mai; 1984.
- [75]- BANTHORPE. D. V., CHARWOOD. B. V.
Chemistry of terpenes and terpenoïdes: 337-374; Ed. A. A. Newman: Academic Press, London and N. York; 1972.
- [76]- DELANGES. Y.
Les végétaux des milieux arides: Sciences et découvertes: Ed. Le Rocher; Monaco: 1988.
- [77]- BERNARD. T., PRIMEAU. F., BRAVO. R., GASET. A.
Informations Chimie; Vol: 298; N° 10; 1988.
- [78]- CARREE. P.
Précis de technologie et de chimie industrielle; T 3; Ed. J. Baillièrre & Fils; 1953.
- [79]- ABDEDDAIM. K.
Thèse de doctorat 3^{ème} cycle; Univ. Alger: 1975.
- [80]- MARTIN. J. P., SYNGE. R. L. M.
Biochem. J.; 35; London; 1952.
- [81]- TRANCHANT. J.
Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse; 3^{ème} Ed. Masson; Paris; 1982.
- [82]- CESARIO. J., MASSOT. R.
Spectrométrie de masse; Techniques de l'ingénieur; P 2615; 7-1986.
- [83]- BROWNING. D. R.
Méthodes spectroscopiques; Ed. Masson; Paris; 1974.
- [84]- LAWRENCE. B. M., REYNOLDS. R. J.
Progress in essential oils; Perfumer & Flavorist; 14; 45-54; March / April; 1989.

- |85|- BOUTEKEDJIRET. C.
Thèse de Magister; ENP; Alger; 1990.
- |86|- GAUTHIER. R., GOURAI. M.
A propos de l'huile essentielle de *Myrtus Communis* L.: Rendements et compositions
durant un cycle végétatif annuel; Al-Biruniya; 4 (2); 97-116; 1993.
- |87|- DJERRARI. A.
Thèse Doctorat Sciences Alimentaires; Univ. Languedoc; France; Oct. 1986.
- |88|- BENYOUSSEF. N. E. H.
Thèse de Magister; ENP; Alger; 1990.

ANNEXE I
MESURE DU TAUX D'HUMIDITE
DE LA PLANTE

DETERMINATION DU TAUX D'HUMIDITE DE LA MATIERE VEGETALE

Pour ce faire, il faut se munir de l'appareil de DEAN et STARK (voir figure ci-après); le réactif utilisé est le xylène.

Nous procédons de la manière suivante:

Dans un ballon de 500 ml, nous intriduisons 5g de matière végétale, et 200 ml de xylène, que nous surmontons d'un réfrigérant muni d'un récipient gradué.

Nous portons ensuite l'ensemble à reflux (2 à 4 gouttes par secondes) jusqu'au moment où le niveau d'eau reste constant et le solvant surnageant l'eau dans le récipient devient limpide.

A la fin du dosage, nous augmentons le chauffage dans le but de récupérer toutes les gouttes déposées sur les parois du réfrigérant.

Enfin, nous laissons le système refroidir, puis nous notons le volume d'eau dans le récipient.

La teneur en eau dans la matière végétale est calculée par la formule suivante:

$$H = \frac{V \times 0,998}{G} \times 100.$$

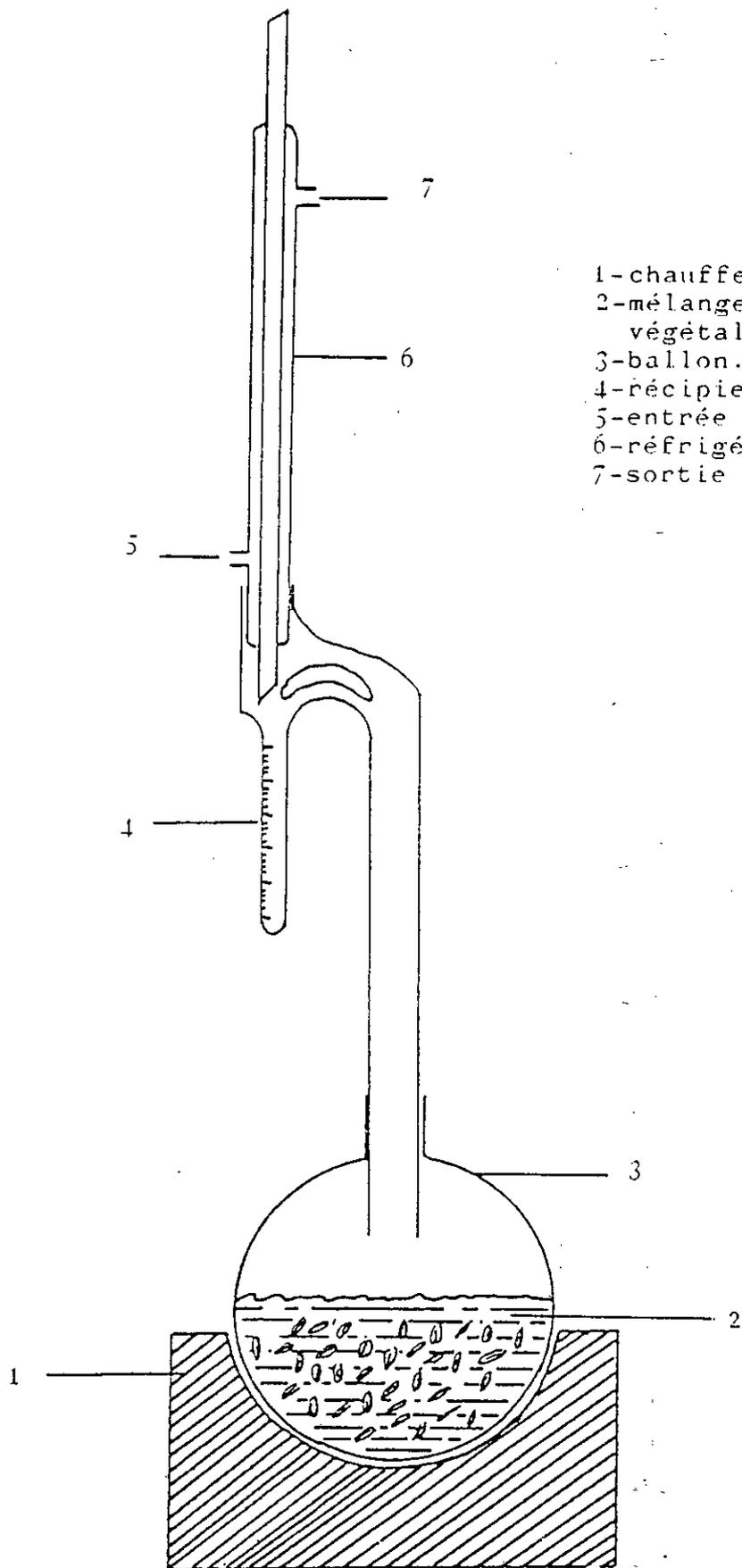
où: H: Teneur en eau (%).

V: Volume d'eau (ml).

G: Masse de la matière végétale (g).

La précision de la mesure est comme suit:

- de 0 à 1 ml; les graduations sont de 0,1 ml et l'erreur de 0,05 ml.
- de 1 à 10 ml; les graduations sont de 0,2 ml et l'erreur de 0,1 ml.



- 1-chauffe-ballon.
- 2-mélange xylène-matière végétale.
- 3-ballon.
- 4-réceptif gradué.
- 5-entrée d'eau
- 6-réfrigérant.
- 7-sortie d'eau.

Appareillage de DEAN et STARK.

ANNEXE II
CHROMATOGRAMMES DE
LA VARIABILITE INTER-SPECIFIQUE
DE ROSMARINUS ERIOCALYX

4.4
 4.1
 4.0
 3.9
 3.8
 3.7
 3.6
 3.5
 3.4
 3.3
 3.2
 3.1
 3.0
 2.9
 2.8
 2.7
 2.6
 2.5
 2.4
 2.3
 2.2
 2.1
 2.0
 1.9
 1.8
 1.7
 1.6
 1.5
 1.4
 1.3
 1.2
 1.1
 1.0
 0.9
 0.8
 0.7
 0.6
 0.5
 0.4
 0.3
 0.2
 0.1
 0.0

41.007
 40.00
 39.00
 38.00
 37.00
 36.00
 35.00
 34.00
 33.00
 32.00
 31.00
 30.00
 29.00
 28.00
 27.00
 26.00
 25.00
 24.00
 23.00
 22.00
 21.00
 20.00
 19.00
 18.00
 17.00
 16.00
 15.00
 14.00
 13.00
 12.00
 11.00
 10.00
 9.00
 8.00
 7.00
 6.00
 5.00
 4.00
 3.00
 2.00
 1.00
 0.00

35.95

34.542

33.00
 32.00
 31.00
 30.00
 29.00
 28.00
 27.00
 26.00
 25.00
 24.00
 23.00
 22.00
 21.00
 20.00
 19.00
 18.00
 17.00
 16.00
 15.00
 14.00
 13.00
 12.00
 11.00
 10.00
 9.00
 8.00
 7.00
 6.00
 5.00
 4.00
 3.00
 2.00
 1.00
 0.00

28.00

27.723

27.127
 26.00
 25.00
 24.00
 23.00
 22.00
 21.00
 20.00
 19.00
 18.00
 17.00
 16.00
 15.00
 14.00
 13.00
 12.00
 11.00
 10.00
 9.00
 8.00
 7.00
 6.00
 5.00
 4.00
 3.00
 2.00
 1.00
 0.00

21.902
 22.465
 23.022

20.435

19.362
 18.562
 18.022
 17.022

15.382

14.94

13.472
 12.93

11.675
 11.067

P a u t P

18.08 11.232

11.842

13.14

13.688

14.357

15.123

17.858

18.285

10.873

19.632

20.722

21.595

22.215

22.78

23.33

24.65

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

25.00

37.147

36.308

35.748

34.897

32.997

31.742

30.492

29.908

29.227

28.472

28.057

15.625

44.1883
 44.0047
 44.0000
 41.0000
 40.827
 39.845
 39.100
 38.45
 37.547
 36.58
 35.727
 35.167
 34.86
 33.0000
 33.0000
 31.88
 30.227
 29.892
 27.298
 26.173
 25.0000
 24.0000
 23.0000
 22.0000
 21.825
 21.215
 20.0000
 19.637
 18.0000
 17.0000
 16.0000
 15.0000
 14.0000
 13.0000
 12.0000
 11.0000
 10.0000
 9.0000
 8.0000
 7.0000
 6.0000
 5.0000
 4.0000
 3.0000
 2.0000
 1.0000
 0.0000

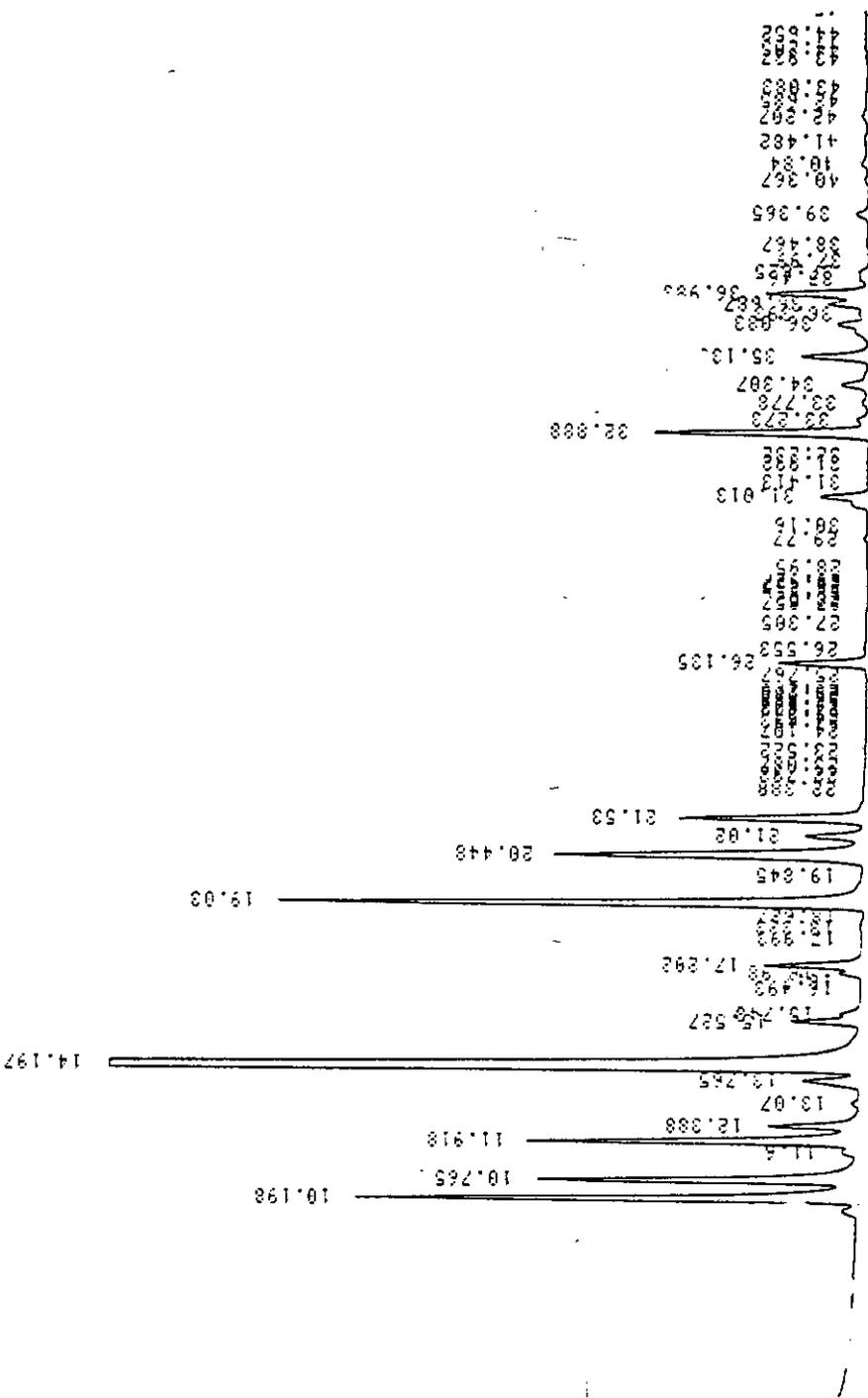
P a n e l 3.

14.107

12.0000
 11.0000
 10.0000
 9.0000
 8.0000
 7.0000
 6.0000
 5.0000
 4.0000
 3.0000
 2.0000
 1.0000
 0.0000

ANNEXE III
CHROMATOGRAMMÉS DE
LA VIABILITE SAISONNIERE
DE ROSMARINUS ERIOCALYX

3 6 6 1 9 3 .



NOIS D'AVOÛT 1993.

