

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Polytechnique



Département Génie Chimique

Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme
d'Ingénieur d'Etat en Génie Chimique

Thème

**Extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinallis* L.
par hydrodistillation**

Proposé et dirigé par :

Pr. S. CHARCHARI

Etudié par :

M^{elle} Amina BENHALLA

M^{elle} Nabila BOUDINA

Soutenu le 24 Juin 2009 devant le jury composé de :

Mr.C. E. CHITOUR

Mr.E-H. BENYOUSSEF

Mr T.AHMED ZAID

Mme S. CHARCHARI

Professeur à ENP

Professeur à ENP

Professeur à ENP

Professeur à ENP

Président

Examineur

Examineur

Rapporteur

Promotion : juin 2009

Dédicaces

À mes très chers parents pour leurs amours, leurs soutiens et leurs sacrifices, à qui je dois tout

*À mes frères Mouhamed Amine et Oussama
À mes soeurs Hanane, Hayet, Sabrina, Yasmina et sa
fille Syrine*

*À toute ma famille
À tous mes amis*

À tous ceux qui me sont chers.

Nabila BOUDINA

Dédicaces

*Aux plus chers parents au monde, qui m'ont tant donné :
affection, écoute, sacrifice, présence, j'espère que j'ai réalisé leur
rêve.*

A ma grande mère ; pour son amour et son aide.

A mon mari : Mohamed pour son soutien et ses encouragements.

*A mon frère et mes soeurs : Abdallah, Kahina, Ibtissem et
Rania ; pour l'amour qu'ils m'ont témoigné, et le soutien qu'ils
m'ont apporté.*

A mes beaux parents, et ma belle sœur : Sabrina.

A mes oncles et tantes.

A mes cousins et cousines.

A tous mes amis.

Je dédie ce mémoire

Amina

Remerciements

Cette étude a été réalisée sous la direction de Pr. S. CHARCHARI, au laboratoire de valorisation des énergies fossiles, dirigé par Pr. C.- E. CHITOUR, dans le cadre des travaux de recherche de l'équipe de valorisation des espèces végétales, dirigé par Pr. R. Derriche.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à Madame S.CHARCHARI, professeur à l'ENP pour nous avoir confié ce sujet, ainsi pour ces encouragements, conseils précieux, motivation et suivi régulier sans lesquels ce travail n'aurait pas pu aboutir.

Nous tenons à remercier Monsieur C.- E. CHITOUR, Professeur à l'ENP de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Que Monsieur E.- H. BENYOUSSEF, Professeur à l'ENP et Monsieur T. AHMED-ZAÏD, Professeur à l'ENP, trouvent ici l'expression de nos plus vifs remerciements pour avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie de jury.

Nous tenons à témoigner notre reconnaissance à monsieur A.NEHITI, technicien à l'ENP, pour son aide lors des modifications apportées sur l'installation sur laquelle nous avons mené nos extractions.

Nos remerciements à M^{me} S.CHELLALI du service de bactériologie à l'hôpital de Boufarik , M^{me} F.Z.BENHASSIR de l'INA, M^{elle} BENYAHIA de jardin d'essais d'Alger, ainsi que M^{elle} N.AZROU, Mr O.TEFAHI et Mr N.E.DAOUUD pour leur contribution très appréciée à cette recherche.

استخلاص الزيت الأساسية لنبته المريمية بطريقة التقطير ببخار الماء.

ملخص:

يتضمن هذا العمل استخلاص الزيت الأساسية لنبته المريمية بطريقة التقطير ببخار الماء باستعمال مادة فعالة. تم تحسين المعاملات الرئيسية لهذه العملية باستعمال طريقة التخطيط للتجارب و الطريقة التقليدية. نتائج التجارب المحققة في الشروط المثالية، سمحت لنا بتسجيل زيادة في مردود الزيت الأساسية. الدراسة الحركية لعملية الإستخلاص مكنتنا من وضع فرضيات حول سلوك المادة الفعالة خلال عملية التقطير ببخار الماء مع الأخذ بعين الإعتبار البنية الإفرازية الخارجية و الداخلية للنبته الموضحة بمعاينات تحت المجهر لمقاطع في مختلف أعضاء النبتة. التحليل الكيميائي بـ CG أظهر إختلاف نوعي و كمي في تركيبة الزيوت الأساسية المستخلصة باستعمال و بدون المادة الفعالة. النشاط الميكروبيولوجي لزيت الأساسية المتحصل عليها باستعمال المادة الفعالة ت أظهر أهمية ضد 6 جراثيم.

الكلمات المفتاحية : الزيت الأساسية، نبتة المريمية، استخلاص بطريقة التقطير ببخار الماء، مادة فعالة، تحسين، التخطيط للتجارب ، الطريقة التقليدية، بنية إفرازية، النشاط الميكروبيولوجي.

Extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. par hydrodistillation.

Résumé:

Ce travail porte sur l'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. par hydrodistillation en présence de tensioactif. Les principaux paramètres du procédé ont été optimisés par planification des expériences et par la méthode classique. Les résultats des essais réalisés, dans les conditions optimales, ont permis de constater une augmentation significative du rendement en huile. L'étude cinétique de l'extraction a permis d'émettre des hypothèses sur la manière dont le tensioactif intervient dans l'hydrodistillation de l'huile essentielle, en tenant compte des sites exogènes et endogènes de la plante, mises en évidence par des observations microscopiques des coupes de ses différents organes. L'analyse par CPG a montré une différence de la composition qualitative et quantitative des huiles essentielles extraites en présence et en absence de tensioactif. L'activité antimicrobienne d'huile, obtenue en présence de tensioactif, déterminée in vitro par la méthode d'antibiogramme, s'est révélée très importante à l'encontre de six bactéries.

Mots clés : Huile essentielle, *Salvia officinalis* L., hydrodistillation, tensioactif, optimiser, planification des expériences, méthode classique, structure sécrétrice, activité antimicrobienne.

Salvia officinalis L. essential oil extraction by water distillation

Abstract:

This study concerns the *Salvia officinalis* L. essential oil extraction by water distillation in the presence of surfactant. The main process parameters were optimized by experimental design and by the classical method. The results of the tests carried out, under the optimal conditions, showed a significant increase of oil yield. The kinetic study of the water distillation allowed to make assumptions about the role of surfactant in the oil extraction, taking into account the exogenous and endogenous secretory sites of the plant, as evidenced by microscopic observations of various organ sections of vegetable mater. The GC analysis showed a qualitative and quantitative differences in the essential oils composition extracted with and without surfactant. In vitro antimicrobial activity of oil obtained in the presence of surfactant, was determined by the antibiogram method, and has proved very important against six bacteria.

Key word: essential oil, *Salvia officinalis* L., water distillation, surfactant, optimize, experimental design, classical method, secretory structure, antimicrobial activity.

Sommaire

	Pages
Introduction	01
 Chapitre I : La matière végétale	
I.1. Historique	02
I.2. Description	02
I.3. Culture et récolte	04
I.4. principaux constituants	05
I.5. Usages	05
I.6. Matière végétale utilisée	06
I.6.1. Lieu de végétation et période de récolte	06
I.6.2. Taux d'humidité	06
I.6.3. Echantillonnage	06
I.7. Structure sécrétrice de <i>Salvia officinalis</i> L.	07
I.7.1. Travaux antérieurs	07
 Chapitre II : L'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	
 II.1. Les huiles essentielles	
II.1.1. Historique	11
II.1.2. Définitions	12
II.1.3. Localisation des huiles essentielles dans les plantes	12
II.1.4. Rôle physiologique	13
II.1.5. Composition chimique des huiles essentielles	13
II.1.6. Facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles	15
II.1.7. Procédés d'extraction des huiles essentielles	15
II.1.8. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles	15
II.1.8.1. Propriétés physiques	15
II.1.8.2. Propriétés chimiques	16
II.1.9. Propriétés biologiques des huiles essentielles	16
II.1.10. Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles	17
II.1.11. Conservation et stockage des huiles essentielles	18
II.1.12. Intérêt des huiles essentielles	18
II.2. Travaux antérieurs relatifs à l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	19
II.2.1. Chémotypes de <i>Salvia officinalis</i> L.	19
II.2.2. Propriétés physico-chimiques d'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	22
II.2.3. Propriétés biologiques de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	23
II.2.4. Propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	23

Chapitre III : utilisation de tensioactifs lors de l'extraction des huiles essentielles

III.1. Travaux antérieurs relatifs à l'extraction des huiles essentielles en présence de Tensioactifs	26
III.2. Les tensioactifs	26
III.2.1. Différentes classes de tensioactif	27
III.2.2. Propriétés des agents tensioactifs	29
III.2.2.1. Tension superficielle	29
III.2.2.2. Adsorption aux interfaces	30
III.2.2.3. Autoagrégation ou micellisation	31
III.2.2.4. Concentration micellaire critique	33
III.2.2.5. Balance lipophile-hydrophile	34
III.2.2.6. Solubilité	35
III.2.2.7. Point de Kraft	35
III.2.2.8. Point trouble	36
III.3. Le tensioactif utilisé	37
III.3.1. Propriétés du tensioactif utilisé	37
III.3.2. Estimation de la structure de micelles formées par le tensioactif utilisé	38

Chapitre IV : Extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. par hydrodistillation en présence de tensioactif

IV.1. Hydrodistillation des végétaux	39
IV.1.1. Principe	39
IV.1.2. Théorie	39
IV.1.3. Mécanisme	42
IV.1.4. Cinétique de l'hydrodistillation	42
IV.1.5. Hydrodistillation et composition des huiles essentielles	43
IV.1.6. Paramètres du procédé de l'hydrodistillation	44

IV.1.6.1. La durée d'extraction	44
IV.1.6.2. Rapport volume d'eau/matière végétale	44
IV.1.6.3. Débit de vapeur	44
IV.1.7. Rendement	44
IV.2. Essais d'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de	44
<i>Salvia officinalis</i> L.	
IV.2.1. Dispositif expérimental	44
IV.2.2. Protocole expérimental	46
IV.2.3. Recherche des conditions optimales d'extraction de l'huile essentielle de	46
<i>Salvia officinalis</i> L. par hydrodistillation en présence de tensioactif	
IV.2.3.1. Détermination de la durée d'extraction	46
IV.2.3.2. Optimisation, par planification des expériences, de la masse de la matière	49
végétale à traiter et de la concentration en tensioactif utilisé	
IV.2.3.3. Influence du rapport volume du liquide/ masse de solide sur le rendement	53
en huile essentielle	
IV.2.3.4. Influence du séchage de la matière végétale sur le rendement	53
IV.2.3.5. Influence de la durée de la macération de la matière végétale dans la	54
solution aqueuse du tensioactif avant l'hydrodistillation sur le	
rendement en huile essentielle	
IV.2.3.6. Influence du débit de vapeur sur le rendement en huile essentielle	55
IV.2.4. Etude cinétique de l'hydrodistillation de l'huile essentielle de <i>Salvia</i>	57
<i>officinlis</i> L. en présence de tensioactif	
IV.2.5. Observations microscopiques des coupes de la tige et de la feuille de	59
<i>Salvia officinalis</i> L.	
IV.2.6. Essais supplémentaires	64

Chapitre V : Etude de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

V.1. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	66
V.1.1. Conditions opératoires d'analyse	66
V.1.2. Identification des constituants	66

V.1.3. Résultats	66
V.2. Propriétés physiques	70
V.2.1. L'aspect	71
V.2.2. La densité	71
V.2.2. l'indice de réfraction	71
V.3. Propriétés antibactériennes	72
Conclusion	76

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure I.1 : Vue d'ensemble de <i>Salvia officinalis</i> . L.....	3
Figure I.2 : Feuilles de <i>Salvia officinalis</i> . L.....	3
Figure I.3 : Fleurs de <i>Salvia officinalis</i> . L.....	4
Figure I.4 : Coupe de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx80).....	8
Figure I.5 : Coupe de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx320) : Différents types de trichomes capités.....	8
Figure I.6 : Coupe de la feuille de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx80) : Trichome pelté et poche endogène située dans le parenchyme.....	9
Figure I.7 : Coupe dans la feuille de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx80) : Trichome pelté et trichome capité du type I avec une extension reliant la cellule basale à une cavité endogène.....	10
Figure III.1 : Schéma simplifié d'une molécule de tensioactif.....	27
Figure III.2 : Tension superficielle, en fonction du logarithme de la concentration en tensioactif.....	30
Figure III.3 : Types de micelles.....	31
Figure III.4 : Structure des agrégats.....	32
Figure III.5 : Variation des différentes propriétés en fonction de la concentration en tensioactif autour de la CMC.....	34
Figure III.6 : Le point de Kraft.....	36
Figure III.7 : Schéma du point trouble.....	37
Figure IV.1 : Evolution des températures de distillation de l'eau et l'huile essentielle, et du mélange eau/huile essentielle en fonction de la pression du milieu.....	41
Figure IV.2 : Dispositif expérimental d'extraction de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. par hydrodistillation à l'échelle laboratoire	45
Figure IV.3 : Evolution du rendement, en fonction du temps, lors de l'extraction de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. par hydrodistillation en présence de tensioactif.....	48
Figure IV.4 : Diagramme de Pareto.....	51
Figure IV.5 : Surface de réponse estimée.....	52
Figure IV.6 : Variation du rendement en huile essentielle, en fonction du rapport volume de liquide/masse de solide.....	53

Figure IV.7 : Courbes cinétiques d'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. en absence (TA=0) et en présence de tensioactif avec et sans macération de la matière végétale.....	58
Figure IV.8 : Coupe de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L. Trichomes peltés.....	60
Figure IV.9 : Coupe de la feuille de <i>Salvia officinalis</i> L. Trichomes peltés avec cellules basales distendues.....	61
Figure IV.10 : Coupe de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L. Trichomes capités du type IV.....	62
Figure IV.11 : Coupe de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L. Poches endogènes (Grx320)..	63
Figure IV.12 : Courbe cinétique d'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. en présence de tensioactif avec macération de la matière végétale.....	64
Figure V.1: Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. obtenue par hydrodistillation sans tensioactif.....	67
Figure V.2 : Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. obtenue par hydrodistillation après macération pendant 24h dans une solution aqueuse de tensioactif.....	68

LISTE DES TABELAUX

	Page
Tableau II.1 : Principales classes chimiques constituant les huiles essentielles et leurs effets biologiques.....	14
Tableau II.2 : Composition normalisée de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	20
Tableau II.3 : Teneurs, %, des constituants majoritaires de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. provenant de différents pays.....	21
Tableau II.4 : Caractéristiques physiques des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i> L.....	22
Tableau II.5 : Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i> L.....	22
Tableau II.6 : Effet antibactérien de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	24
Tableau II.7 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite de <i>Salvia officinalis</i> L. en provenance du Jardin d'essais.....	24-25
Tableau III.1 : Les différentes classes de tensioactifs.....	28
Tableau III.2 : Critères stériques d'autoassociation.....	32
Tableau III.3 : Propriétés physico-chimiques du tensioactif utilisé.....	37
Tableau IV.1 : Evolution du rendement au cours du temps lors de l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	47
Tableau IV.2 : Rendements en huile essentielle, en %, obtenus avec et sans tensioactif pour différentes durées d'extraction.....	48
Tableau IV.3 : Niveaux des paramètres à optimiser.....	49
Tableau IV.4 : Conditions opératoires des essais programmés par le plan factoriel des expériences 2^2 et rendements R_{HE} en huile obtenus.....	50
Tableau IV.5 : Analyse de la variance ANOVA.....	51
Tableau IV.6 : Rendements en huile expérimental et prévu par le modèle mathématique.....	52
Tableau IV.7 : Variation du rendement en huile essentielle, en fonction de l'état de la plante.....	54
Tableau IV.8 : Variation du rendement en huile essentielle, en fonction de la durée de macération de la matière végétale dans la solution aqueuse du tensioactif avant l'hydrodistillation.....	55

Tableau IV.9 : Influence du débit de vapeur sur le rendement en huile essentielle.....	55
Tableau IV.10 : Extraction de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. à l'échelle semi-pilote. Influence du débit de vapeur sur le rendement en huile.....	56
Tableau IV.11 : Evolution du rendement en huile, en fonction du temps.....	57
Tableau IV.12 : Rendements en huile obtenus lors de l'hydrodistillation de <i>Salvia officinalis</i> L. sans et avec tensioactif de différentes concentrations.....	65
Tableau V.1 : Teneurs relatives, en %, des composés identifiés dans les deux échantillons d'huile essentielle analysées.....	69
Tableau V.2 : Classes chimiques des composés présents dans les deux échantillons d'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	70
Tableau V.3 : Densité de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. à 20°C.....	71
Tableau V.4 : l'indice de réfraction de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	71
Tableau V.5 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation avec et sans tensioactif de <i>Salvia officinalis</i> L., en provenance du Jardin d'essais.....	72
Tableau V.6 : Concentrations, diamètres critiques des zones d'inhibition de lecture interprétative.....	74

Introduction

La mise en œuvre de l'extraction des huiles essentielles est confrontée, entre autres, au problème de leur faible teneur dans la matière végétale. Par conséquent, des solutions technologiques, permettant la récupération aussi complète que possible d'une huile de bonne qualité, sont à rechercher même lorsqu'il s'agit du plus ancien des procédés d'extraction des huiles essentielles à partir des végétaux, à savoir, l'hydrodistillation.

Dans ce contexte, nous avons entrepris l'étude de l'extraction, par hydrodistillation en présence de tensioactif, de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., provenant de deux lots cultivés, respectivement, à l'ENP et au Jardin d'essais d'Alger.

Dans le premier chapitre de ce travail sont présentés la matière végétale, objet de cette étude, et les travaux antérieurs menés sur sa structure sécrétrice.

Le second chapitre est une revue bibliographique relative aux huiles essentielles et les procédés de leur extraction, en général, et à l'huile de *Salvia officinalis* L., ainsi qu'aux travaux antérieurs la concernant, en particulier.

Le troisième chapitre est consacré aux travaux antérieurs rapportant l'utilisation des tensioactifs, lors de l'extraction des huiles essentielles, à la présentation des tensioactifs et de leurs propriétés physico-chimiques, et de celles du tensioactif utilisé dans cette recherche.

Après une brève description du procédé d'extraction par hydrodistillation, le chapitre IV présente les résultats des essais effectués dans le cadre de la recherche, par planification des expériences et par la méthode classique, des conditions opératoires optimales d'extraction de l'huile essentielle en présence de tensioactif. L'influence sur le rendement en huile des paramètres tels, la concentration du tensioactif, la durée de la macération de la matière végétale dans la solution aqueuse du tensioactif, le débit de vapeur, le rapport volume de liquide/masse de solide, l'état de la matière végétale, est étudiée. Dans ce chapitre sont présentés, également, les résultats de l'étude de la cinétique de l'hydrodistillation en présence de tensioactif et des observations microscopiques, effectuées sur les coupes des différents organes de la plante, avant et après l'hydrodistillation.

Enfin, le dernier chapitre de cette recherche rapporte la comparaison des huiles essentielles extraites sans et en présence de tensioactif sur la base de leur composition chimique, déterminée par chromatographie en phase gazeuse, de leurs propriétés physiques, telles que l'aspect, la densité et l'indice de réfraction, et de leur activité antimicrobienne vis-à-vis de 11 souches bactériennes.

Chapitre I:
La Matière Végétale

La sauge ou *Salvia officinalis* L. appartient à la famille des Lamiacées. Cette famille comprend plus de 900 espèces, annuelles, bisannuelles, vivaces ou arbustives [1]. Cultivé dans les jardins comme plante condimentaire et officinale ou tout simplement pour la beauté de son feuillage et de ses fleurs, on l'appelle aussi herbe sacrée ou thé d'Europe [2].

I.1. Historique

Son nom est déjà une sorte de diplôme d'efficacité puisque *Salvia* vient du latin *salvare* qui signifie «sauver», «guérir». C'est une des plantes sacrées des anciens [2]. Reconnue par les Chinois, ces derniers n'hésitaient pas à échanger leurs feuilles de thé les plus précieuses contre des feuilles de sauge [1]. Les Grecs, les Romains et les Arabes l'employaient communément comme tonique et en compresse contre les morsures de serpent. Au XVI^e siècle, le botaniste Jacob Tabernae-Montanus raconte que les femmes égyptiennes avaient l'habitude de boire du jus de sauge pour accroître leur fertilité [1].

Au XVIII^e siècle, on roule les feuilles de sauge comme des cigarettes. Tous les asthmatiques se mettaient à fumer de la sauge dès l'apparition du premier pollen printanier. La plante était associée à l'immortalité et à la longévité. Certains groupes d'Amérindiens mélangeaient la sauge avec de la graisse d'ours pour guérir les problèmes de peau. On a aussi utilisé la plante pour traiter les verrues [1]. Ses effets dus à son huile essentielle et la présence d'un oestrogène avaient déjà été observés aussi bien par les Romains que par les Égyptiens [2]. Pendant tout le Moyen Âge, elle reste une plante primordiale et entre dans de très nombreuses préparations : Eau d'arquebuse, Eau céleste, Eau impériale, etc. Ce qui est confirmé par le dicton : «qui a de la sauge dans son jardin, n'a pas besoin de médecin» [2].

I.2. Description

La sauge est un sous-arbrisseau de 30-50 cm, très rameux, très aromatique, à racine ligneuse, brunâtre, fibreuse.



Figure I.1: Vue d'ensemble de *Salvia officinalis* L. [2]

Ses feuilles pétiolées, oblongues ou lancéolées, obtuses ou aiguës, épaisses, rugueuses, finement crénelées, pubescentes grisâtres ou vertes, persistent l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protège.



Figure I.2 : Feuilles de *Salvia officinalis* L. [2]

Ses fleurs, d'un bleu violacé, visibles de Mai à Août, assez grandes, pédicellées, 3 à 6 en verticilles un peu lâches forment une grappe simple. Leurs bractées sont ovales acuminées, leur calice est pubescent, à 17 nervures, bilabié, la lèvre supérieure tridentée, à dents toutes lancéolées en alène.



Figure I. 3 : Fleurs de *Salvia officinalis* L. [2]

La corolle, de 2-3 cm, est 2-3 fois plus longue que le calice, à tube muni en dedans d'un anneau de poils, à lèvre supérieure presque droite [3,4].

I.3. Culture et récolte

Probablement originaire de l'Europe méditerranéenne, la sauge s'est très vite répandue dans tout le bassin, puis dans toutes les zones tempérées du globe [1], notamment en Grèce, où elle était utilisée soit fraîche, soit confite dans le vinaigre [5].

La sauge officinale a besoin de soleil, de chaleur et redoute l'humidité. Elle préfère un sol léger, sec, profond et non calcaire, qui évitera aux racines l'eau stagnante en hiver [6].

Malgré ses poils laineux, elle craint les gelées. Sa multiplication s'effectue par semis au début du printemps et repiquage 2 mois plus tard, puis replantation définitive à l'automne.

On peut également en faire des boutures ou diviser les touffes. La récolte des feuilles se fait au printemps et à l'automne. Plusieurs coupes peuvent être réalisées sur des sols bien drainés et les sites doivent être bien ensoleillés. Sur un sol argileux il faut faire un apport de sable [1].

I.4. Principaux constituants [7]

La composition chimique de la sauge est la suivante:

- 1 à 2,5% d'huile essentielle : sa composition varie, en fonction du lieu et de la période de végétation et est à l'origine de la définition de différents chemotypes, selon la teneur de ses constituants majoritaires.
- 2 à 6% de tanins, avec comme constituant majeur l'acide rosmarinique.
- Des diterpènes, tels le carnosol, ou picrosalvine, formé à partir de l'acide carnosolique lors du séchage et du stockage, le rosmanol, l'isorosmanol, le saffcinolide etc...
- 1 à 3% de flavonoïdes: ce sont des dérivés de la lutéoline et de l'apigénine, ainsi que des glycosylflavones comme le caféyl-fructosylglucoside, le caféyl-apiosylglucoside etc... Ils sont considérés comme responsables des propriétés antioxydantes.

I.5. Usages

La feuille de sauge est riche en flavonoïdes et en huile essentielle qui lui donne son goût épicé et son odeur aromatique. C'est un cholérétique, c'est-à-dire, qu'elle augmente la sécrétion de bile. Elle a également une action relaxante et antispasmodique sur les muscles de l'estomac et des intestins. Son huile essentielle est aussi antiseptique ses propriétés lui permettent d'être particulièrement utile pour soigner les troubles digestifs : digestion lente et difficile, ballonnements, fermentations intestinales, renvois d'air. La présence d'œstrogènes végétaux permet de la conseiller chez les femmes présentant des règles irrégulières et douloureuses et au moment de la ménopause, pour diminuer les bouffées de chaleur, car l'huile essentielle agit sur les glandes sudoripares et diminue la formation de sueur souvent excessive en période de ménopause [3].

La sauge est appréciée pour ses nombreuses vertus: tonique, antisudorale, apéritive, bactéricide, calmante, céphalique, coronarienne, énergétique, enrayer la montée de lait, diurétique léger, emménagogue, fébrifuge, fluidifiant sanguin, stimule la mémoire [1].

Une récente étude [8] a rapporté que les extraits de sauge, administrés pendant quatre mois à des personnes âgées atteintes de la maladie d'Alzheimer, améliorent les fonctions

cognitives et diminuent l'agitation, comparativement aux personnes ayant reçu un placebo. La sauge serait efficace pour le traitement des cas légers et modérés de la maladie.

Les feuilles sont employées comme aromates en cuisine, tout particulièrement dans les marinades et dans l'assaisonnement du gibier. Les fleurs sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour la confection de confitures [2].

Son essence, en particulier celle de la sauge sclarée, est un excellent fixateur de parfum [2].

I.6. Matière végétale utilisée

I.6.1. Lieu de végétation et période de récolte

La matière végétale, utilisée dans cette recherche, a été cueillie en Mars et en début d'Avril, avant la période de floraison. Elle provient de deux lots : l'un cultivé au Jardin d'Essais d'El Hamma à Alger, et l'autre à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger.

La plante a été identifiée à l'herbarium de l'Institut National d'Agronomie d'Alger, comme étant *Salvia officinalis* L.

Les parties de la plante utilisées dans cette étude sont les sommités aériennes, constituées des feuilles et des tiges.

I.6.2. Taux d'humidité

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

L'appareil de Dean et Stark et le protocole expérimental son présentés en annexe I.

I.6.3. Echantillonnage

L'utilisation des échantillons représentatifs d'un lot mère de matière végétale, constitué des feuilles et des tiges de forme et de poids différents est indispensable, car lors de son conditionnement, ces derniers se répartissent de manière aléatoire. Aussi, nous avons effectué l'échantillonnage, selon la méthode d'usage [9], de chacun des deux lots étudiés, avant de procéder à l'extraction de l'huile essentielle.

I.7. Structure sécrétrice de *Salvia officinalis* L.

I.7.1. Travaux antérieurs

Toutes les parties d'une plante aromatique: feuilles, fleurs, tiges, racines, fruits, contiennent de l'huile essentielle, mais elle est souvent majoritairement présente dans l'une d'elles. La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles s'effectuent dans des structures histologiques spéciales, différenciées et variables suivant la famille. Ces structures sont localisées soit à la surface des différents organes de la plante, sites exogènes, soit dans des canaux ou poches, sites endogènes. On peut citer, par exemple, parmi les structures exogènes, les poils ou trichomes sécréteurs des Lamiacées et les cellules sécrétrices isolées des Lauracées. Les canaux sécréteurs des Apiacées et des Conifères, les cellules sécrétrices modifiées en sacs ou en tubes huileux et les poches sécrétrices des Myrtacées ou de Rutacées, comptent parmi les structures endogènes [10,11].

Des études très récentes [12,13] menées par observation au microscope photonique des coupes de la tige et de la feuille de *Salvia officinalis* L. en provenance du Jardin d'essais d'Alger, a permis de confirmer le caractère exogène de la structure sécrétrice et de soupçonner la présence des poches endogènes. Ces études ont rapporté que la structure sécrétrice exogène est constituée de trichomes peltés et de trichomes capités, situés à la surface des différents organes de la plante, comme montrent les figures I.4 et I.5.

Les trichomes peltés, déjà décrits dans la littérature [14], sont constitués d'une cellule basale, d'un pied monocellulaire et d'une tête contenant quatre à douze ou seize cellules sécrétrices disposées en un ou deux cercles concentriques. Elles produisent des sécrétions contenant des composants lipophiles et hydrophiles, tels que des hydrates de carbone, autres que la cellulose, des huiles essentielles, des résines, des alcaloïdes, des protéines, des lactones sesquiterpéniques, des stéroïdes, des tannins et des flavonoïdes. Ces sécrétions s'accumulent sous la cuticule du trichome et la font gonfler.

Les quatre types de trichomes capités, rapportés par des travaux antérieurs [14], se différenciant par leur morphologie, la composition de leurs sécrétions et par le rôle qu'ils exercent, ont été observés (Figure 1.5).

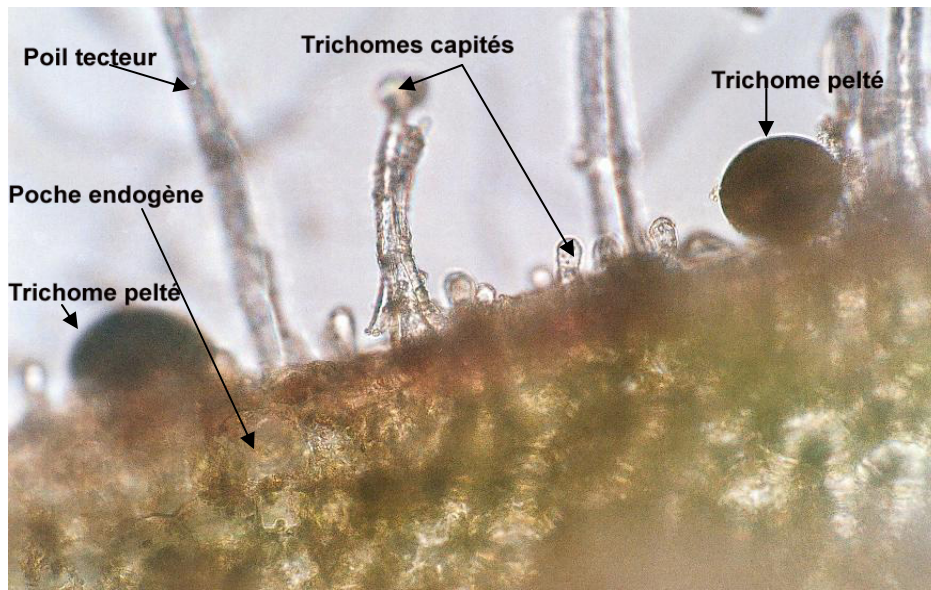


Figure I.4 : Coupe de la tige de *Salvia officinalis* L. (Gx80) [12,13].

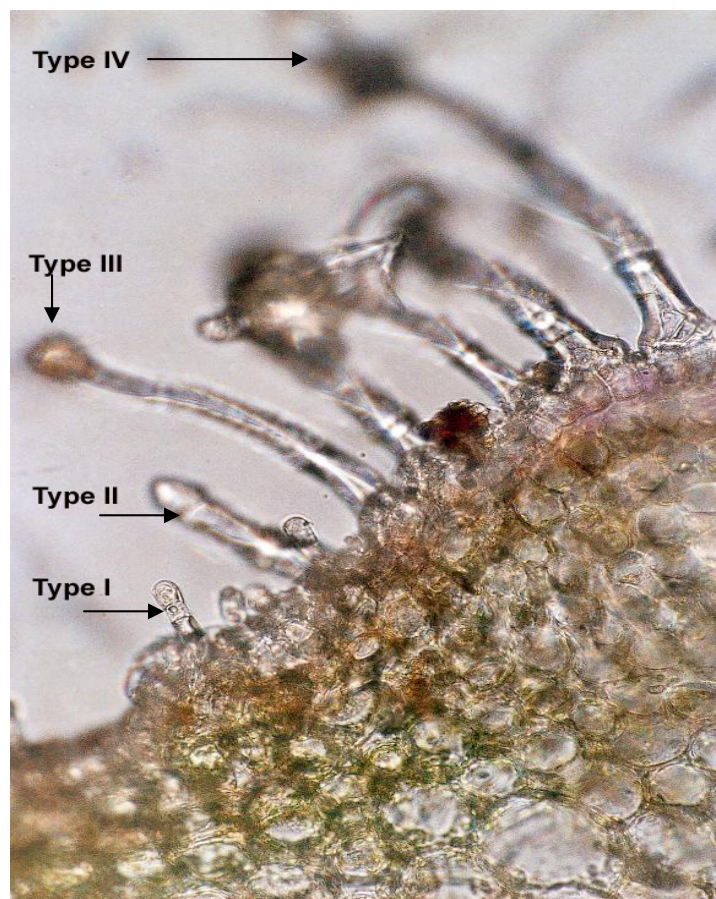
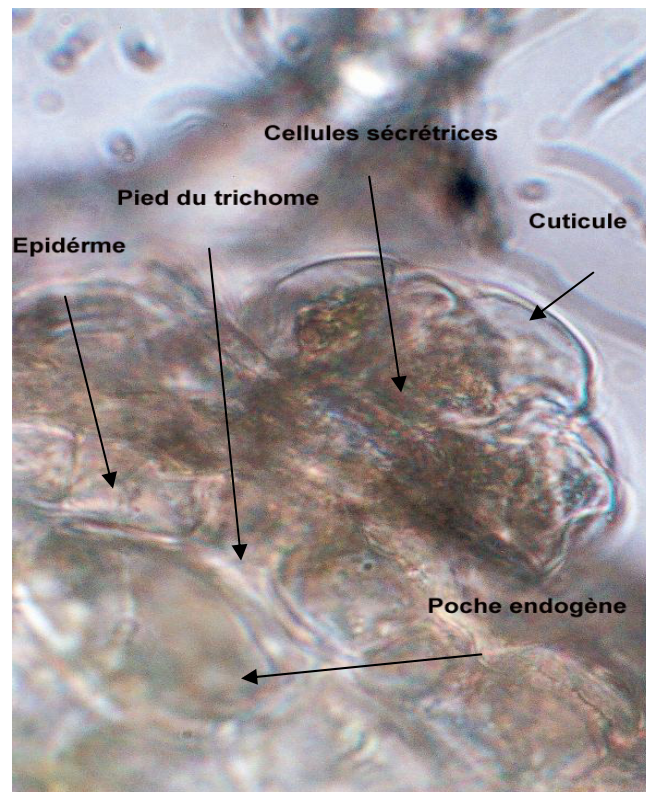


Figure I.5 : Coupe de la tige de *Salvia officinalis* L. (Gx320)
Différents types de trichomes capités [12,13].

- ❖ **Le type I**, se distingue par un court pied uni- ou bicellulaire et une tête sécrétrice uni- ou bicellulaire de cuticule fine. La matière sécrétée est dégagée lentement à travers la cuticule.
- ❖ **Le type II** a un pied unicellulaire et une tête sécrétrice très petite et cuticulisée, pendant l'activité de sécrétion la tête aura une petite chambre subcuticulaire.
- ❖ **Le type III**, dont le pied avec sa large base est long, la tête est unicellulaire. La matière sécrétée se regroupe souvent comme une goutte sur la tête dégonflée.
- ❖ **Le type IV** se caractérise par un pied très long et mince constitué de 4 cellules. La tête sécrétrice a une forme trapézoïdale.

La composition chimique des sécrétions produites par les différents trichomes glandulaires de *Salvia officinalis* L., a été rapportée dans la bibliographie [14]. Il a été montré que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. est produite, majoritairement par les trichomes capités de type III et, en plus faible quantité, par les trichomes peltés et capités de types II et IV. Les trichomes capités de type I ne produisent pas d'huile essentielle.

Par ailleurs, les auteurs [12,13] constatent, pour la première fois, la présence des poches endogènes, montrés sur les figures I.6 et 1.7 suivantes.



**Figure I.6 : Coupe de la feuille de *Salvia officinalis* L. (Gx80)
Trichome pelté et poche endogène située dans le parenchyme [12,13].**

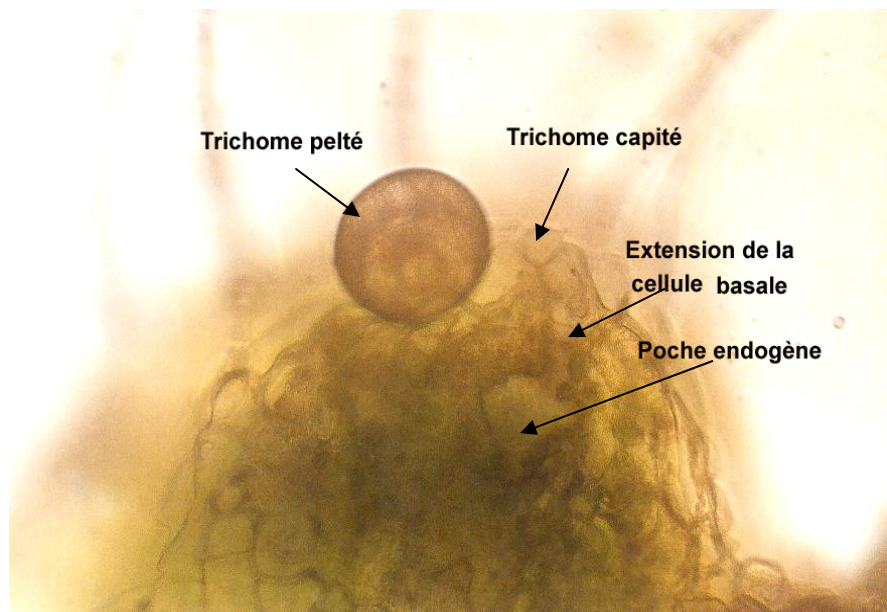


Figure I.7 : Coupe dans la feuille de *Salvia officinalis* L. (Gx80)

Trichome pelté et trichome capité du type I avec une extension reliant la cellule basale à une cavité endogène [12,13].

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

Chapitre II :
L'huile essentielle de
Salvia officinalis L.

II.1. Les huiles essentielles

II.1.1. Historique [15]

L'histoire des aromates et des parfums remonte à la nuit des temps. Les huiles essentielles sont des substances extraites des plantes par des techniques d'extraction diverses. Mais, ces méthodes étant plus ou moins compliquées et améliorées avec le temps, il est très difficile de dater précisément la naissance de ces substances. Cependant, les trois grands berceaux géographiques de l'utilisation des plantes aromatiques sont l'Inde, la Chine et le bassin méditerranéen.

La technique la plus facile étant l'enfleurage, les huiles essentielles ont, à l'origine, probablement dû être extraites de cette manière.

En Inde, les plantes sont soit directement utilisées lors des prières, par simple combustion, soit utilisées sous forme d'huiles dans les médicaments. Cette nouvelle science ou « méthode de guérison » ne sera définie qu'en 1928, par René Gatte Fossé, sous le terme d'aromathérapie [15]. Aujourd'hui cette forme de médecine est toujours employée dans différents pays.

Ainsi, en Chine, les huiles essentielles servent, conjointement à l'acupuncture, aux soins du malade. Cette nouvelle science, qui s'inscrit dans la médecine chinoise, comptabilise environ 8 000 formules de médicaments à base de plantes. La pharmacopée chinoise est la plus vaste.

Puis, en Égypte, au temps des pharaons, les huiles essentielles deviennent des substances d'utilisation courante. Elles font l'objet d'un véritable commerce international. Toutefois, leur utilisation dans ce pays reste particulière: grâce à leurs propriétés antiseptiques et antibactériennes, elles servent à l'embaumement lors des momifications.

Le trafic de ces essences va alors les conduire en Grèce, à Rome, à Babylone, puis en Europe. C'est dans l'empire romain que ces composés trouvent de nouvelles applications comme le parfum ou l'huile de massage, de plus, leurs effets thérapeutiques sont confirmés.

Pourtant, ces huiles ne connaissent pas, au cours du temps, les mêmes enchantements. Vient, en effet, la période des sorcières et de leurs « potions » qui effraieront les populations pour un temps. Très vite, ces substances retrouvent leur acte de noblesse grâce aux chevaliers de retour des Croisades. Une nouvelle technique d'extraction inventée par Avicenne, grand médecin arabe, les accompagne: la distillation. Cette technique s'implanta rapidement dans le sud de la France,

en particulier, à Grasse. De nombreux parfumeurs européens viennent alors s'installer dans la région et les huiles essentielles subissent un essor extraordinaire.

Depuis, de nombreuses autres méthodes d'extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques ont vu le jour.

II.1.2. Définitions

D'après le dictionnaire Larousse, édition 2000 [16], une huile essentielle est «un mélange de substances terpéniques, pour la plupart. Les huiles essentielles résultent du métabolisme secondaire. Elles ont des fonctions diverses: insecticide ou éloignement des herbivores. Responsables de l'odeur des fleurs, elles sont utilisées dans la fabrication des parfums ».

Quant à la norme AFNOR [17], elle définit les huiles essentielles comme étant « des produits obtenus, soit à partir des matières premières végétales par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

Comme leur nom ne l'indique pas, les huiles essentielles sont des substances volatiles non grasses, sécrétées par les plantes aromatiques. Elles sont obtenues par plusieurs procédés, la plus répandue étant la distillation. Elles sont constituées d'un mélange, souvent complexe, de molécules organiques. Les huiles essentielles connaissent aujourd'hui un grand succès: utilisées en aromathérapie, elles ont prouvé leur efficacité et sont désormais considérées comme thérapeutiques. Elles entrent dans la composition de parfums, de cosmétiques, de produits d'entretien [16].

II.1.3. Localisation des huiles essentielles dans les plantes [18]

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles, dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Lauraceae ou Zingiberaceae). Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : les fleurs (ylang-ylang, bergamotier, rose), les sommités fleuries (tagète, lavande), les feuilles

(citronnelle, eucalyptus, laurier), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, curcuma), les fruits (anis, badiane), le bois (bois de rose, santal) ou les graines (ambrette, muscade).

II.1.4. Rôle physiologique

Beaucoup des plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante est inconnu [19].

Il y a beaucoup de spéculations au sujet du « rôle » des huiles essentielles des plantes. Certes, plusieurs effets apparemment « utiles » ont été décrits, tels, la réduction de la compétition des autres espèces de plantes (alélopathie), par inhibition chimique de la germination des graines, ou la protection contre la flore microbienne infectieuse, par les propriétés fongicides et bactéricides [20].

Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques [21].

II.1.5. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées principalement de quatre groupes de composés [9]:

- Terpènes et leurs dérivés oxygénés
- Hydrocarbures aliphatiques et leurs dérivés oxygénés
- Hydrocarbures aromatiques et leurs dérivés oxygénés
- Hydrocarbures contenant des atomes d'azote ou de soufre.

Les terpènes et leurs dérivés oxygénés sont les plus répandus, présents, souvent, plus de 80% dans l'huile, alors que les dérivés d'azote et du soufre sont rares.

Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en classes chimiques distincts, ayant chacune des effets biologiques spécifiques. Le tableau II.1 regroupe les principales classes chimiques des composants des huiles essentielles et leurs effets biologiques [22].

Tableau II.1 : Principales classes chimiques des constituants des huiles essentielles et leurs effets biologiques [22]

Classe chimique	Caractéristiques	Quelques végétaux possédant ces éléments
Acides	Anti-inflammatoires très puissants. Agissent en calmant le système nerveux.	On en trouve surtout dans le clou de girofle et le genévrier.
Aldéhydes	Intermédiaire entre alcools et cétones. Anti-inflammatoires très puissants, calmant du système nerveux, anti-infectieux. Peuvent irriter les muqueuses et la peau.	On en trouve dans le citron, la mélisse, la verveine des Indes, la coriandre douce, la cannelle de Chine.
Cétones	Anti-inflammatoires, anti-infectieux, anti-coagulantes, cicatrisantes, lipolytiques (fonte des graisses), calmantes Stimulent le système immunitaire à faible dose. A forte dose, peuvent être neurotoxiques. Les huiles essentielles riches en cétones ne doivent pas être employées seules.	On en trouve dans l'absinthe, la camomille noble, le fenouil, le romarin officinal, L'eucalyptus mentholé.
Coumarines	Neuro-sédatives, anti-coagulantes. Les furo-coumarines peuvent provoquer des taches brunes sur la peau exposée au soleil. Les pyranno-coumarines peuvent endommager le foie suivant les doses.	On en trouve dans l'angélique, le céleri, l'oranger doux et amer.
Ethers	Ont une action antispasmodique, effets antalgiques. Rééquilibrants nerveux (antidépresseur psychique) Inverser les effets si les doses sont trop fortes.	On en trouve dans l'anis étoilé, l'estragon, le basilic, la rose de Damas.
Esters	Antispasmodiques, rééquilibrants nerveux, anti-arythmiques. On en utilise souvent, car présentent peu de danger.	On en trouve dans le lavandin, la lavande officinale, le ylang-ylang, le géranium rose.
Monoterpènes	Stimulent le système immunitaire, ont des propriétés antiseptiques. Action révulsive sur la peau donc utiles en cas de douleurs localisées. Peuvent occasionner des brûlures importantes sur la peau donc leur action doit être limitée dans le temps.	On en trouve dans le thym, le cyprès la sauge officinale
Monoterpénols	Action contre les microbes, les champignons, les virus et les bactéries. Utiles lorsqu'il faut simuler le système nerveux. Ne brûlent pas la peau et ne sont pas toxiques pour le foie donc usage courant.	On en trouve dans le bois de rose, la camomille noble, l'eucalyptus, le lavandin et la marjolaine.
Phénols	Anti-infectieux, immunostimulants. Action contre les microbes, les champignons, les virus et les bactéries. Irritation pour la peau et muqueuses, peuvent entraîner des brûlures. Peuvent, en grande quantité, endommager le foie en détruisant les cellules hépatiques.	On en trouve dans le clou de girofle, le thym, l'origan d'Espagne, le poivre noir.
Sesquiterpènes	Anti-inflammatoires, immunostimulants, antiallergiques. Emploi important en cosmétologie, car ont une bonne tolérance avec la peau et ont des propriétés thérapeutiques.	On en trouve dans la mélisse, le ylang-ylang et le cèdre d'Atlas.
Sesquiterpénols	Stimulants généraux. Toniques. Microbicides.	On en trouve dans le patchouli, la grande carotte sauvage et le santal blanc.

II.1.6. Facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique et le rendement en huile essentielle varient suivant divers facteurs: l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le mode et la durée du séchage, les parasites et mauvaises herbes [23, 24]. C'est ainsi que l'action des huiles est le résultat de l'effet combiné de leurs composés actifs et inactifs, ces composés inactifs pourraient influencer la disponibilité biologique des composés actifs, et plusieurs composants actifs pourraient avoir un effet synergique [23].

Ajouter à la complexité d'huiles volatiles [23], les proportions des différents composants d'une huile essentielle peuvent varier de façon importante tout au long du développement, aussi les chimiotypes ou races chimiques sont très fréquents chez les plantes aromatiques [25].

Les conditions principales requis pour une production rentable en huile essentielle sont: matériel végétal de bonne qualité, variété de la plante, le sol, le climat, l'équipement de distillation, bonne conduite du procédé d'extraction [24].

II.1.7. Procédés d'extraction des huiles essentielles

Différentes techniques sont mises en oeuvre pour l'extraction des huiles essentielles, tels que l'entraînement à la vapeur d'eau à flux ascendant et à flux descendant de la vapeur, l'hydrodistillation et expression à froid, réservée à l'extraction des huiles essentielles des agrumes. Le choix d'un procédé d'extraction dépend, en tout premier lieu, de la richesse en huile essentielle de la matière végétale à traiter et de la qualité d'huile essentielle recherchée [26].

II.1.8. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles

II.1.8.1. Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont généralement liquides à la température ordinaire, souvent colorées, d'odeurs agréables. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau et varie, de 0,850 à 0,950, à l'exception des essences de cannelle, girofle, saffras, la plus dense étant celle de vétivier: 1,187. Elles ont un indice de réfraction élevé et, le plus souvent, sont douées de pouvoir rotatoire [27].

Les huiles essentielles sont volatiles et entraînaibles par la vapeur d'eau. Selon leur volatilité V à 20°C , exprimée en $\text{g}/\text{m}^2.\text{h}$, elles sont classées en quatre catégories [28]:

- très volatiles : $V > 30 \text{ g}/\text{m}^2.\text{h}$
- moyennement volatiles : $10 \leq V \leq 30 \text{ g}/\text{m}^2.\text{h}$
- peu volatiles : $5 \leq V \leq 10 \text{ g}/\text{m}^2.\text{h}$
- non volatiles : $V < 5 \text{ g}/\text{m}^2.\text{h}$

Les huiles essentielles sont peu solubles dans l'eau, elles lui communiquent leur odeur. Leur solubilité dans l'eau est de type colloïdal et moléculaire et varie, en fonction de la température. La compétition entre ces deux types de solubilité est à l'origine de trois cas, observés dans l'intervalle de températures de 10 à 50°C [29] :

- l'hydrosolubilité ne varie pas, en fonction de la température
- l'hydrosolubilité présente un maximum.
- l'hydrosolubilité présente un minimum [30].

Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool éthylique, dans la plupart des solvants organiques et dans les huiles fixes ou leurs dérivés (graisse).

Elles ont un indéniable pouvoir de pénétration percutané : il a été constaté qu'un individu qu'on frictionne à l'eucalyptol présente quelques instants après une haleine très odorante [27].

II.1.8.2. Propriétés chimiques [27]

- Elles s'oxydent facilement à la lumière et se résinifient, en absorbant l'oxygène, en même temps que leur odeur se modifie, leur point d'ébullition augmente, leur solubilité diminue.
- Elles réagissent avec le chlore, le brome, l'iode, avec dégagement de chaleur.
- Elles peuvent se combiner avec l'eau pour former des hydrates.

II.1.9. Propriétés biologiques des huiles essentielles [31]

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple, contre les bactéries endocanaliaires ou au niveau de la microflore vaginale et d'origine fongique, contre les dermatophytes. Elles possèdent également, des

propriétés cytotoxiques qui les rapprochent, donc, des antiseptiques et désinfectants, en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques. Le thymol est très irritant, astringent et caustique. La dose de thymol applicable sur la peau et les muqueuses est de 0,5%. Ingré à la dose de 2 g ou à plus fortes doses, il est responsable de gastralgies avec nausées.

Dans les domaines phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires. Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des *Labiatae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc...

II.1.10. Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles [32]

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent, aussi bien la croissance des bactéries, que celles des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs. Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines. Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production des pseudomycelium, alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures.

Les huiles essentielles possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches de bactéries, mais d'une manière générale leur action se déroule en trois phases :

- attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité, puis la perte des constituants cellulaires.
- acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

II.1.11. Conservation et stockage des huiles essentielles [17]

- Les huiles essentielles sont des liquides facilement inflammables c'est la raison pour la quelle elles doivent être entreposées dans des emplacements spéciaux.
- Il faut, en outre, vérifier que les récipients contenant les huiles essentielles ne présentent aucune fuite de liquide ou de vapeur. Les récipients couramment utilisés sont: flacons, bidons, estagnons, bonbonnes, citernes et cuves.
- Les récipients doivent être protégés contre risques de causes accidentelles.
- Les récipients doivent être placés dans un endroit protégé de la lumière, de la chaleur et dont la température est maintenue constante.

II.1.12. Intérêt des huiles essentielles [15]

❖ En alimentaire

Leurs utilisations sont multiples. Elles donnent la saveur aux condiments (poivre, gingembre) et aux aromatisants (menthe, anis, oranger, thym, laurier). Chacune de ces espèces doit, en effet, sa saveur à une ou plusieurs molécules aromatiques particulières entrant dans sa composition : apiol de l'essence de persil, anéthol du fenouil ou de l'anis, menthol des menthes. De plus, à faible dose, certaines substances ont un effet favorable sur la digestion, ce qui explique leur utilisation en liquoristerie (essence d'anis ou de badiane). Les huiles essentielles entrent, donc, pour leurs différentes propriétés, dans la composition des arômes employés de manière abondante aujourd'hui dans tous les produits alimentaires comme les plats cuisinés ou prêts à l'emploi.

❖ En parfumerie

Les essences fines sont généralement utilisées en quantités très faibles. L'enfleurage se révèle alors être la méthode d'extraction la plus appropriée. L'industrie de la parfumerie traite d'importants tonnages d'essences telles celles de rose, de jasmin, de violette, de verveine, de citron, ou de santal.

❖ En cosmétologie

Les utilisations sont nombreuses. A titre d'exemple :

- Le β -carotène de l'huile de racine de carottes séchées est le principe actif à la base de nombreuses crèmes solaires.
- L'huile de blé, utilisée notamment dans la fabrication des crèmes anti-âge, des rouges à lèvres, des crèmes de jour, des laits de toilette, des gels, de l'huile solaire.
- ❖ En thérapeutique

Les huiles essentielles ont depuis longtemps été employées pour leurs effets thérapeutiques (aromathérapie). Elles sont utilisées, soit pour leurs propriétés aromatisantes (essence d'anis, d'orange amère), soit en raison de vertus curatives propres: action antiseptique des voies respiratoires des essences d'eucalyptus ou de niaouli, par exemple. Leur usage est réalisé, alors, par massages, par inhalations, par vaporisation ou dans le bain.

II.2. Travaux antérieurs relatifs à l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

En raison de ses multiples applications dans les domaines les plus variés, cosmétique, pharmaceutique et alimentaire, l'huile essentielle issue des parties aériennes de *Salvia officinalis* L. a donné lieu à de nombreuses études sur sa composition chimique, ses propriétés physico-chimiques et biologiques.

II.2.1. Chémotypes de *Salvia officinalis* L.

Plusieurs études ont montré que pour une même variété botanique il existe plusieurs chémotypes, c'est-à-dire, des plantes appartenant à la même espèce fournissent des huiles essentielles de compositions différentes. La variabilité chimique de l'huile essentielle est d'origine génétique, mais elle dépend aussi d'autres facteurs [33]:

- Biotope, variabilité due à l'environnement dans lequel évolue la plante, tel que la composition du sol et les conditions climatiques: l'ensoleillement, la température, la pluviométrie etc...
- Organe de la plante : feuille, tige, fleur, racine, écorce.
- Période de végétation.

➤ Mode et durée de stockage.

La composition chimique des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. provenant de différents pays a été étudiée et publiée dans des monographies [34, 35]. En 1990, sur la base de l'ensemble des travaux publiés, relatifs à la composition de l'huile essentielle de *S. officinalis* L., cinq types chimiques, ou chémotypes ont été définis, en fonction de la teneur de ses constituants majoritaires [36] :

- 1) Camphre > α -thuyone > 1-8 cinéol > β -thuyone.
- 2) Camphre > α -thuyone > β -thuyone > 1-8 cinéol.
- 3) β -thuyone > camphre > 1-8 cinéol > α -thuyone.
- 4) 1-8 cinéol > camphre > α -thuyone > β -thuyone.
- 5) α -thuyone > camphre > β -thuyone > 1-8 cinéol.

Dans ces chémotypes, quatre composés se partagent les teneurs les plus élevées. Cependant, le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. varie selon les organes composant la plante: feuilles, tiges ou fleurs, les périodes de végétation et les sites de culture [37, 38].

Plus tard, en 1999, la composition de l'huile commerciale de *Salvia officinalis* L. a été réglementée par norme ISO 9909, [39] comme suit:

Tableau II.2: Composition normalisée de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Composé	Teneur, %	Composé	Teneur, %
β-thuyone	3,0-8,5	α-thuyène	1,0-6,5
Camphre	4,5-24,5	Camphène	1,5-7,0
1,8-Cinéol	5,5-13,0	Limonène	0,5-3,0
Acétate de bornyle	< 2,5		

Cette norme couvre la presque totalité des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. étudiées jusqu'alors.

Depuis 1999, de nombreuses études rapportent des compositions différentes et, par conséquent, des nouveaux chémotypes de *Salvia officinalis* L. ont été définis, comme montré dans le tableau II.3.

Tableau II.3 : Teneurs, %, des constituants majoritaires de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. provenant de différents pays [40- 44]

Islande		Italie		Cuba		Serbie		Géorgie		Roumanie		Portugal		France	
α -thuyone	45,5	Camphre	26,8	α -humulène	14,7	α -thuyone	22,1	α -thuyone	31,5	α -thuyone	21,8	α -thuyone	22,8	Camphre	22,0
Camphre	15,9	α -thuyone	20,3	Viridiflorol	13,4	1,8- cineole	16,2	β -thuyone	17,5	Viridiflorol	11,7	1,8-cinéol	15,7	α -thuyone	20,9
β -thuyone	8,4	p-cymène	11,8	α -thuyone	12,9	α -humulène	11,0	1,8-cinéol	17,5	Camphre	11,2	Viridiflorol	10,9	1,8-cinéol	13,4
1,8-cineole	8,3	Pinocarvéol	6,6	β -thuyone	10,8	β -caryophyllène	6,0			Manool	9,1				
Hongrie		Rép. Tchèque		Brésil		Herzégovine		Bulgarie		Turquie		Espagne		Iran	
Camphre	30,7	α -thuyone	25,1	α -thuyone	24,8	Viridiflorol	18,5-24,0	α -thuyone	21,5	α -thuyone	29,4	Camphre	22,9	1,8-cinéol	15,3-22,3
β -thuyone	17,6	Camphre	24,1	1,8-cinéol	14,8	α -thuyone	9,3-15,6	1,8-cinéol	16,2	β -thuyone	17,4	α -thuyone	20,6	α -thuyone	9,1-25,2
1,8-cinéol	17,0	1,8-cinéol	11,9	Borneol	11,1	α -humulène	10,2-13,6	α -humulène	11,2	1,8-cinéol	12,5	β -thuyone	15,1	β -pinène	7,1-16,4
Camphene	4,4	α -humulène	6,9	Camphre	10,9	Manool	10,0-13,3	β -pinène	7,6	Camphre	11,7	Bornéol	7,9	p-cymène	3,5-11,0
						1,8-cinéol	9,2-10,9								
Lituanie [36, 41]															
Lituanie-Vilinius		Lot A		Lot B		Lot C		Lot D		Lot E		Lot G		Lot H	
α -thuyone	14,8-18,0	1,8-cinéol	17,6	1,8-cinéol	12,4	Manool	14,4	Manool	20,9	Manool	15,5	α -thuyone	12,6	α -thuyone	12,6
α -humulène	7,6-8,7	Viridiflorol	13,8	β -caryophyllène	9,0	α -thuyone	11,5	Viridiflorol	16,5	Viridiflorol	11,2	Manool	11,5	Manool	10,3
Manool	10,0-13,3	α -humulène	11,2	Manool	8,9	Viridiflorol	10,5	α -humulène	7,2	α -thuyone	9,6	Viridiflorol	10,5	Camphor	9,9
Viridiflorol	7,7-8,2	β -caryophyllène	10,2	α -thuyone	8,3	α -humulène	8,7	Epoxyde de		α -humulène	8,7	α -humulène	9,8	α -humulène	9,2
1,8-cinéol	6,6-8,2	Manool	7,9	Borneol	7,5	Borneol	5,9	humulèneII	3,7	Borneol	8,1	Borneol	7,1	Viridiflorol	9,0
								Borneol	3,5						
Algérie															
[42]		[40]		[43, 44]		[43, 44]		[12, 13]		[12, 13]		[13, 43, 44]		[13, 43, 44]	
α -thuyone	19,9	Camphre	20,4	α -thuyone	21,7	α -thuyone	21,7	Viridiflorol	17,8	Viridiflorol	17,8	Manool	13,4	Manool	13,4
Camphre	16,8	α - thuyone	19,6	1,8- cinéol	19,3	1,8- cinéol	19,3	α -thuyone	11,9	α -thuyone	11,9	Viridiflorol	13,2	Viridiflorol	13,2
1,8- cinéol	15,5	1,8- cinéol	12,3	β -caryophyllène	12,2	β -caryophyllène	12,2	α -humulène	11,6	α -humulène	11,6	α -thuyone	12,3	α -thuyone	12,3
β -thuyone	9,0	β -thuyone	8,0	Camphre	10,1	Camphre	10,1	β -caryophyllène	10,5	β -caryophyllène	10,5	Camphre	10,2	Camphre	10,2
				α -humulène	9,9	α -humulène	9,9	Manool	9,2	Manool	9,2	β -caryophyllène	9,9	β -caryophyllène	9,9

II.2.2. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de *S. officinalis* L.

Les huiles essentielles sont des substances liquides à température ambiante, de consistance huileuse, mais non grasse, volatiles, rarement colorées. Elles sont solubles dans les huiles végétales et dans l'alcool jusqu'à un certain pourcentage, mais très peu solubles dans l'eau [45]. Généralement, leurs densités sont, pour la plupart, inférieures à l'unité [46].

Les propriétés physiques d'une espèce chimique constituent, en quelque sorte, sa carte d'identité. Pour le contrôle, la purification et l'identification des substances organiques surtout liquides, on utilise souvent l'indice de réfraction. Le pouvoir rotatoire est une propriété qui renseigne sur l'activité optique d'une substance [47]

Une étude bibliographique nous a permis de présenter, dans les tableaux II.4 et II.5 quelques caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis* .L.

Tableau II. 4 : Caractéristiques physiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis*. L.

Caractéristiques physiques	Algérie		Georgie [48]	Amérique [37]	Dalmatie [37]	Norme [49]
	[12]	[42]				
Densité	0,920	0,926	0,921	0,922-0,926	0,915-0,927	0,910-0,930
Indice de réfraction	1,4712	1,4676	1,4630	1,4699-1,4650	1,4647-1,4680	1,4580-1,4740
Pouvoir rotatoire	-	+3°	24,91°	+4°28'-+4°56'	+4°-+11°42'	+2°-+30°

Tableau II.5:Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de *S. officinalis* L.

Caractéristique physico-chimique	Algérie [42]	Selon Gildmeister et Hoffman [50]	Selon Guenther [37]	Norme [49]
Indice d'ester	7,97	6-17	4,57-17	-
Indice d'acide	4,60	2	-	-
Indice carbonyle	157,08	-	-	103-228
Miscibilité à l'éthanol à 70 %	8,00	-	3,50-10	8,50
Miscibilité à l'éthanol à 80 %	1,20	-	1	2

On constate que les valeurs mesurées, rapportées dans les tableaux II.4 et II.5, sont conformes à la norme [49].

II.2.3. Propriétés biologiques de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Une équipe scientifique du King's collège de Londres a testé les effets de l'huile essentielle de sauge sur le cerveau humain. Ainsi, les chercheurs ont découvert qu'elle inhibe une enzyme cérébrale, la choline estérase, qui a pour fonction de dégrader l'acétylcholine, une hormone cérébrale qui contribue à véhiculer la chimie de la mémoire [51]. L'huile essentielle de sauge paraît avoir un pouvoir antioxydant élevé, du moins comparable à celui du BHT (Butyl hydroxy toluène) et du BHA (Butyl hydroxy anisol). Il serait intéressant de l'utiliser, d'autant plus, que ces molécules ont des effets néfastes sur la santé humaine [52].

Les huiles essentielles de sauge ont des effets secondaires, ils ne sont à craindre qu'en cas de surdosage, ou lors d'un usage prolongé. Le constituant toxique de l'huile essentielle, le β -thuyone, engendre des symptômes, tels que de la tachycardie, des bouffées de chaleur, des convulsions et des vertiges. Deux fois plus toxique que l'huile essentielle d'absinthe, 0,3 g suffit à tuer un chien.

L'huile essentielle de sauge est convulsivante et provoque des crises épileptiformes violentes. Certains cas d'intoxications ont été décrits en France, notamment chez des enfants dont la mère avait de façon inconsidérée administré de l'huile essentielle [53].

II.2.4. Propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Dans la médecine ancienne, la sauge était utilisée pour soulager divers maux, notamment, les inflammations de la bouche et de la gorge. Cette utilisation traditionnelle a été justifiée, ultérieurement, grâce à des études scientifiques [54, 55].

Des études menées par la méthode de l'antibiogramme, pour déterminer l'inhibition de la croissance des bactéries par l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., rapportent une certaine efficacité contre des souches de bactéries, comme *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. feacalis* et des variantes d' *E. coli* [56]. Le protocole expérimental de la méthode d'antibiogramme est présenté en annexe II.

A titre d'exemple, nous rapportons dans le tableau II.6, les résultats d'une étude [56] portant sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. et d'une de ses fractions, obtenue par distillation sous vide de l'huile essentielle, de teneur totale, en camphre, thuyones et 1,8-cinéol, respectivement, 71,26 et 28,86 %. La concentration en huile utilisée est de 2 µL/disque. L'activité antimicrobienne est évaluée par le diamètre de la zone d'inhibition.

Tableau II.6 : Effet antibactérien de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Souche bactérienne	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)				
	<i>Statures</i>	<i>B.subtili</i>	<i>S.feacali</i>	<i>E.coli</i> Y252	<i>E.coli</i> IB112
Huile essentielle	13	20	14	6	19
Fraction	20	13	6	6	12

Ces résultats montrent que les bactéries testées, à l'exception d'*E.coli* Y252, sont sensibles à l'action de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. Globalement, l'effet antibactérien de l'huile est supérieur à celui de la fraction.

Le tableau II.7 regroupe les résultats d'une étude [12] portant sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *S. officinalis* L. fraîche et séchée, provenant du Jardin d'essais d'Alger vis-à-vis de seize souches bactériennes.

Tableau II.7 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite de *Salvia officinalis* L. en provenance du Jardin d'essais [12]

Microorganisme	Origine	Diamètre de la zone d'inhibition,		
		Plante fraîche	Plante sèche	
Cocci				
<i>Staphylococcus aureus</i>	P.C. 802	Pus de fistule	<6	<6
<i>Staphylococcus aureus</i>	P.C. 830	Pus de fistule	<6	<6
<i>Staphylococcus aureus</i>		ATTC 25923	<6	15
<i>Staphylococcus aureus</i>	P.C.	ECBU*	<6	<6
<i>Enterococcus faecalis</i>	P.C. 215	ECBU	20	18
<i>Enterococcus faecalis</i>	P.C. 270	ECBU	<6	16
Entérobactéries				
<i>Echerichia coli</i>		ATTC 25922	<6	<6
<i>Echerichia coli</i>	P.C.	ECBU	<6	<6
<i>Echerichia coli</i>	P.C.	ECBU	<6	<6
<i>Echerichia coli</i>	P.C.	ECBU	<6	<6
<i>Echerichia coli</i>	P.C.	P.V. **	<6	<6
<i>Serratia marcescens</i>	P.C.	ECBU	<6	<6

<i>Citrobacter freundii</i>	P.C.	ECBU	<6	<6
<i>Citrobacter dyversus</i>	P.C. 486	Coproculture	<6	<6
<i>Proteus vulgaris</i>	P.C. 818	Pus de fistule	<6	<6
BGN oxydatif				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	P.C.	Pus de fistule	<6	<6

ECBU : examen cytot bactériologique des urines ; **P.V. : prélèvement vaginal ;
PC : prélèvement clinique ; ATCC : American typing culture collection

L'examen de ces résultats permet aux auteurs de conclure que :

- Seules les cocci sont sensibles à l'action de l'huile essentielle. L'activité de l'huile vis-à-vis de ces microorganismes est très élevée, car le diamètre des zones d'inhibition est supérieur à 13 mm.
- Les cocci sont plus sensibles à l'huile essentielle extraite de la plante sèche: l'huile extraite de la plante fraîche n'a d'effet que sur *Enterococcus faecalis* P.C. 215.
- Pour la concentration de 2,5µl/disque utilisée, les autres souches bactériennes se sont révélées résistantes à l'huile essentielle.
- Les résultats de ces premiers essais sont encourageants et la recherche dans ce domaine mérite d'être approfondie et orientée, notamment, vers la détermination de la concentration minimale inhibitrice d'huile pour chaque souche bactérienne.

Chapitre III :
Utilisation de tensioactifs lors de
l'extraction des huiles essentielles

Les tensioactifs font partie de notre vie de tous les jours, soit sous la forme de produits consommables, dans le domaine alimentaire, de la santé, l'hygiène, les cosmétiques, l'utilitaire, etc., soit comme un intermédiaire pour l'obtention d'autres produits, tels que les polymères pour le transport d'hydrocarbures lourds pour la production d'énergie, les fluides d'usinage pour l'industrie métallurgique, pour l'extraction des principes actifs de plantes, entre autres [57].

III.1. Travaux antérieurs relatifs à l'extraction des huiles essentielles en présence de tensioactifs

Les premiers travaux d'hydrodistillation de plantes aromatiques en présence de tensioactifs ont été entrepris dans les années 1960 [58-61]. Les essais menés sur l'extraction des huiles essentielles de menthe, de lavande et de rose ont tous permis de constater une augmentation du rendement en huile de 30 à 40 %. Les auteurs n'observent pas des changements significatifs dans la composition des huiles obtenues. Toutefois, les résultats de ces recherches n'ont pas été mis en œuvre dans la pratique.

Les travaux dans ce domaine ont été repris dans les années 1970 et 2000 et appliquées à l'extraction de l'huile essentielle des pétales de rose, respectivement de *Rosa damascena* Mill. [62,63] et de *Rosa alba* L. [64]. Les auteurs constatent une augmentation du rendement en huile de 50 % pour *Rosa damascena* Mill. et de 130 à 316 % pour *Rosa alba* L. Ils attribuent cette augmentation du rendement au fait que les agents tensioactifs réduisent la tension, d'une part, entre la phase aqueuse et la surface hydrophobe de tissus végétaux et d'autre part, entre l'eau et la phase huileuse. Ils facilitent, en outre, le mouillage de la matière végétale et de ce fait préviennent le dépôt de l'huile sur la surface de celle-ci [64]. En outre, ils préconisent la macération du matériel végétal nécessaire à un meilleur mouillage de la surface de pétale. Enfin, la forte augmentation du rendement en huile de *Rosa alba* L. serait due à l'hydrolyse des glycosides, renfermant des constituants de l'huile essentielle, dont la présence dans cette espèce de rose a été prouvée [65].

III.2. Les tensioactifs

Les agents de surfaces, encore appelés tensioactifs ou surfactants, de l'anglais surface active agents, sont des molécules d'origine naturelle ou, le plus souvent, synthétiques. Un tensioactif est un corps améliorant les propriétés de mouillage d'un liquide et lui permettant

de mieux s'étaler sur une surface ou de mieux se disperser, en abaissant la tension superficielle du liquide [66].

Ce sont des composées amphiphiles, c'est-à-dire, qu'elles présentent deux parties de polarité différente: d'une part, une chaîne à caractère lipophile, ou queue hydrophobe présentant une affinité pour les huiles (soluble dans l'huile), et d'autre part, un groupement à caractère hydrophile, appelé aussi tête polaire, présentant une affinité pour l'eau (soluble dans l'eau), comme illustré sur la figure III.1 [67].

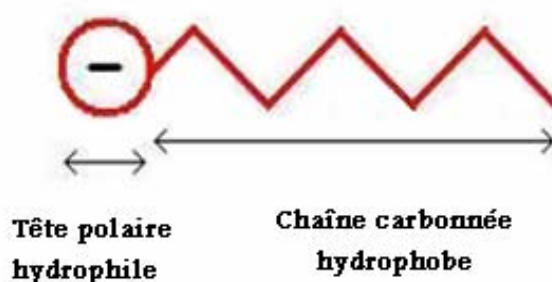


Figure III.1 : Schéma simplifié d'une molécule de tensioactif [66].


La partie lipophile est constituée par une ou plusieurs chaînes hydrocarbonées aliphatiques, linéaires ou ramifiées, ou aromatiques ou encore alkylaromatiques. Le caractère hydrophobe de la partie hydrocarbonée varie avec le nombre d'atomes de carbone, le nombre d'insaturations et des ramifications. En règle générale, le caractère hydrophobe croît avec le nombre d'atomes de carbone et diminue avec le nombre d'insaturations.

La partie hydrophile, ou tête polaire, est constituée par un ou plusieurs groupements polaires, ioniques ou non ioniques [68].

III.2.1. Différentes classes de tensioactifs [68]

Les agents tensioactifs sont classés, dans le tableau III.1, en fonction de la nature de la partie hydrophile, puisque celle-ci gouverne leurs propriétés.

Tableau III.1: Les différentes classes de tensioactifs

Classes de tensioactifs	
	
Partie lipophile	Tête hydrophile
apolaire chaîne hydrocarbonée C ₄ -C ₃₀	polaire ionique ou non ionique
Aliphatique : - linéaire - ramifiée - insaturée Aromatique Alkylaromatique Origine : - pétrochimie - huiles végétales - graisses animales	Anionique - CO ₂ ⁻ M ⁺ - OSO ₃ ⁻ M ⁺ - SO ₃ ⁻ M ⁺ - (RO) _n PO ₄ ⁽³⁻ⁿ⁾⁻ (3-n) M ⁺
	Cationique - (R) _n NH _(4-n) ⁺ , X ⁻ - R ₄ N ⁺ , X ⁻
	Zwitterionique - $\overset{+}{N} \sim \text{CO}_2^-$ - $\overset{+}{N} \sim \text{SO}_3^-$
	Non ionique - OR, -OH, -CO ₂ R, -CONHR - (CH ₂ -CH ₂ -O) _n ⁻ polyol

On distingue des tensioactifs ioniques: anioniques, cationiques, zwitterioniques ou amphotères et des tensioactifs non ioniques.

- **Les tensioactifs anioniques** comportent un groupement ionique chargé négativement en solution aqueuse : carboxyle, sulfate, sulfonate ou phosphate. Ce sont les agents tensioactifs les plus utilisés industriellement.
- **Les tensioactifs cationiques** comportent un groupement ionique chargé positivement en solution aqueuse. Ce sont, généralement, des sels d'ammonium quaternaire.
- **Les tensioactifs zwitterioniques** comportent deux groupements ioniques, l'un cationique et l'autre anionique, qui se neutralisent au pH isoélectrique. Ils sont, par

conséquent, parfois classifiés comme non ioniques. Les composés tensioactifs zwitterioniques les plus répandus sont les bétaines et les sulfobétaines.

- **Dans le cas des tensioactifs non ioniques**, l'hydrophile est apporté par des groupements fonctionnels non chargés: alcool, éther, ester, amide, contenant des hétéroatomes, tels que l'azote ou l'oxygène. En raison de la faible contribution hydrophile de ces fonctions, les composés tensioactifs non ioniques sont les plus souvent polyfonctionnels : polyéthers, ou tensioactifs polyéthoxylés, et polyols, ou tensioactifs dérivés de sucres.

III.2.2. Propriétés des agents tensioactifs

Les deux propriétés essentielles des composés tensioactifs qui permettent de comprendre les phénomènes observés et qui déterminent leurs domaines d'application sont :

- **L'adsorption aux interfaces** qui provoque une diminution des tensions interfaciales. Cette propriété est responsable des phénomènes de mouillage, de détergence et d'émulsification.
- **L'autoagrégation en solution**, ou micellisation, qui gouverne les propriétés de solubilisation et de microémulsification [68].

III.2.2.1. Tension superficielle [69]

La tension superficielle, qui est une énergie par unité de surface, a pour origine la différence d'énergie d'une molécule suivant qu'elle est au sein de la phase liquide ou à la surface. En effet, une molécule en surface n'a pas l'environnement symétrique dont elle bénéficie au sein de la phase liquide: son énergie est plus grande à cause de la modification des forces de cohésion dans la région superficielle. Il en résulte qu'il faut fournir de l'énergie pour augmenter la surface d'un liquide. L'introduction dans la phase aqueuse d'un produit amphiphile, qui diminue l'énergie superficielle, se traduit par la concentration de ce produit à la surface, par minimisation de l'énergie. Cette concentration à la surface provoque une diminution de la tension superficielle dès les très faibles concentrations.

Lorsque l'adsorption superficielle devient notable et jusqu'à la saturation de la surface, la tension superficielle est une fonction linéaire décroissante du logarithme de la concentration.

Lorsque la surface est saturée, la tension superficielle ne varie plus avec l'augmentation de concentration.

III.2.2.2. Adsorption aux interfaces

Les molécules tensioactifs ont tendance à s'orienter, à se concentrer, aux interfaces de façon à accroître les interactions attractives partie hydrophile / eau et partie lipophile / phase lipophile. Ce phénomène d'adsorption, se traduisant par une concentration plus importante à la surface qu'à l'intérieur de la phase liquide, apparaît aussi bien aux interfaces liquide-liquide : eau-hydrocarbure ou l'huile, liquide-solide : eau-surface apolaire ou huile-surface polaire, qu'aux interfaces liquide-gaz : eau-air.

L'adsorption du tensioactif provoque une diminution de la tension interfaciale entre les deux phases considérées, jusqu'à ce que l'interface soit saturée [68], comme le montre la figure III.2.

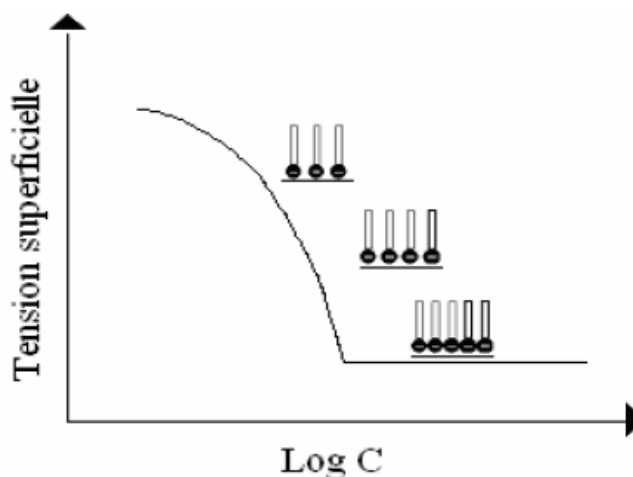


Figure III.2 : Tension superficielle, en fonction du logarithme de la concentration en tensioactif [70]

L'adsorption des tensioactifs aux interfaces et la diminution consécutive de la tension interfaciale sont responsables des deux phénomènes qui suivent :

- **La dispersion** est favorisée puisque l'énergie nécessaire à l'augmentation de l'aire de l'interface est d'autant plus faible que la tension interfaciale est faible. Ce concept s'applique aussi bien aux dispersions liquide-liquide (émulsions), aux dispersions solide-liquide (suspension) qu'aux dispersions air-liquide (mousses).
- **Le mouillage** est favorisé par la diminution de la tension interfaciale solide-liquide. Ce concept s'applique au mouillage d'une surface hydrophile par une huile [68].

En général, l'adsorption augmente avec la longueur de la chaîne hydrophobe. Pour les non-ioniques, l'adsorption diminue quand le nombre d'oxydes d'éthylène (partie hydrophile)

augmente. En outre, l'addition des électrolytes provoque l'effet de sel et diminue la solubilité des agents tensioactifs. Ceci a pour effet d'augmenter l'adsorption aux interfaces.

L'isotherme d'adsorption et la valeur minimale de la tension interfaciale constituent des critères de choix fondamentaux du tensioactif à utiliser pour deux phases données [68].

III.2.2.3. Autoagrégation ou micellisation

Un composé tensioactif en solution aqueuse diluée s'adsorbe préférentiellement à l'interface eau /air et à partir d'une certaine concentration, l'interface est saturée. Pour des concentrations supérieures, les molécules de tensioactif en excès s'autoassocient en solution sous forme d'agrégats appelés **micelles** : les chaînes hydrophobes constituent le cœur de la micelle et les têtes polaires sont au contact de l'eau [68].

Il existe deux types de micelles, présentées à la figure III.3 : les micelles directes et les micelles inverses. Les premières sont arrangées de telle sorte que les groupes polaires sont au contact de l'eau et que les chaînes hydrocarbonées restent isolées dans l'agrégat pour s'échapper d'une ambiance polaire défavorable. Dans le cas de micelles inverses leur partie hydrocarbonée est dirigée vers l'huile et les groupes polaires sont en contact avec l'eau. Cela explique la capacité des solutions micellaires à solubiliser diverses substances par ailleurs insolubles dans l'eau.

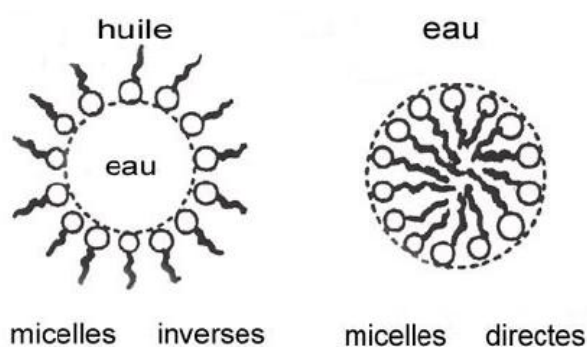


Figure III.3 : Types de micelles.

Selon la géométrie des molécules amphiphiles, notamment, la structure de la chaîne hydrophobe, la taille de la tête hydrophile par rapport à celle de la chaîne hydrophobe et les propriétés physico-chimiques de la solution, tels, la concentration en sels, le pH, la température, etc., les micelles peuvent adopter différentes formes [71], montrées à la Figure III.4 suivante.

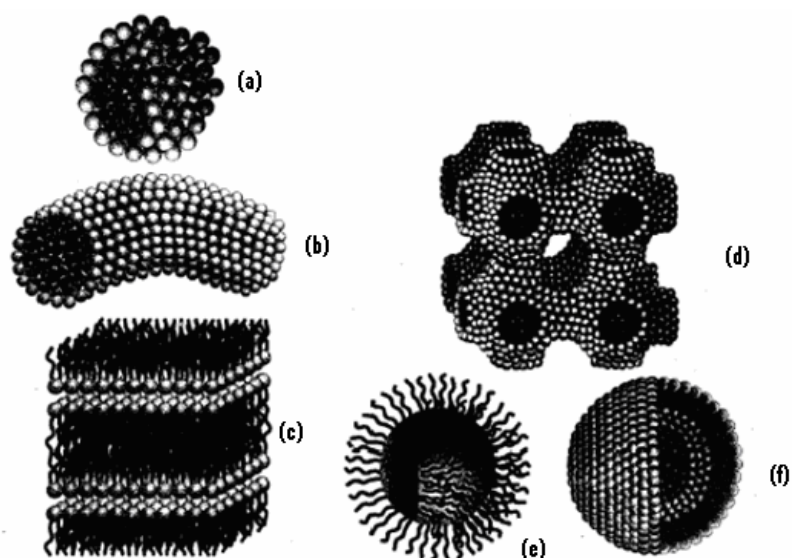


Figure III.4: Structure des agrégats.

(a) micelles sphériques ; (b) micelles cylindriques ; (c) bicouche plane ; (d) structure cubique ; (e) micelles inverses ; (f) vésicule sphérique. [72].

Des considérations de géométrie moléculaire très simples permettent d'expliquer et de prévoir les structures d'autoassociation de chaque type. Ces considérations reposent sur le rapport entre la surface σ des têtes et le volume v occupé par les chaînes hydrocarbonées. [73] Le tableau III.2 regroupe les critères stériques d'autoassociation.

Tableau III.2: Critères stériques d'autoassociation [73]

$v/ \sigma \cdot l_c$	Structure	Exemple
$<1/3$	Micelle sphérique	Lipides à chaîne simple (savon et détergents ioniques)
$1/2$ à $1/3$	Micelles cylindriques	Lipides à chaîne simple et petite tête (savons et détergents dans les solutions d'électrolytes concentrées)
$1/2$ à 1 1 à 2	Bicouches (vésicules) Bicouches (membranes)	Lipides à double chaîne (phospholipides et glycolipides)
2 à 3	Micelles cylindriques Inverses	Lipides à double chaîne et petite tête (phospholipides insaturés, cholestérol)
>3	Micelles sphériques inverses	

Avec :

v : volume de la chaîne du tensioactif

l_c : longueur de la chaîne étirée du tensioactif

σ : la surface effective de tête

Une estimation approchée de l_c et de volume, en fonction du nombre n de carbones pour une chaîne hydrocarbonée saturée, est donnée par les relations III.1 [73] :

$$v (\text{Å}^3) \sim 2,7+2,7n \quad l_c (\text{Å}) \sim 1,5+1,265n \quad (\text{III.1})$$

Cette propriété de micellisation des tensioactifs est responsable du phénomène de solubilisation : un composé hydrophobe (huile) peut être solubilisé à l'intérieur du cœur hydrophobe des micelles : on parle alors de micelles gonflées.

La capacité de solubilisation est fonction de la taille des micelles. Les tensioactifs non ioniques conduisent à des micelles de grandes tailles par rapport aux tensioactifs ioniques. Par conséquent, les tensioactifs non ioniques sont largement utilisés pour la solubilisation d'huiles hydrocarbonées [68].

III.2.2.4. Concentration micellaire critique

La concentration à partir laquelle un composé tensioactif s'auto-associe sous forme de micelles en solution aqueuse est appelée concentration micellaire critique ou CMC. La valeur de la concentration micellaire critique est une caractéristique du tensioactif : elle dépend de la nature chimique du tensioactif (longueur de la chaîne lipophile, nature de la tête polaire) mais également de facteurs externes tels que la concentration en électrolytes ou la température.

- La CMC des non ioniques est beaucoup plus faible que celle des anioniques (1/100). D'autre part, le nombre de micelles ou le nombre d'agrégations est plus important que celui des anioniques. Par ailleurs, pour les anioniques, la CMC augmente avec la chaîne carbonée, mais varie peu avec la nature du groupement polaire. En revanche, pour les non ioniques, la CMC diminue quand la chaîne hydrophobe augmente et augmente avec le nombre d'oxyde d'éthylène, mais l'effet est moins important que celui de la longueur de la chaîne hydrophobe.
- La CMC des tensioactifs ioniques diminue en présence de sels.

- La CMC des tensioactifs non ioniques est peu affectée par la présence d'électrolytes [68]. Pour les non-ioniques, l'addition d'électrolytes produit l'effet de sel, donc diminue la CMC. Il faut noter, cependant, que l'effet des électrolytes sur la formation de micelles n'est réel que pour des non-ioniques ayant un nombre d'oxydes d'éthylène inférieur à 15.
- Avec les non ioniques, l'augmentation de la température diminue la CMC. Il y a lieu de noter que le nombre de micelles, ainsi que leur taille augmentent avec la température, surtout aux alentours du point de trouble.

La figure III.5 met en relief graphiquement les diverses propriétés d'un agent tensioactif.

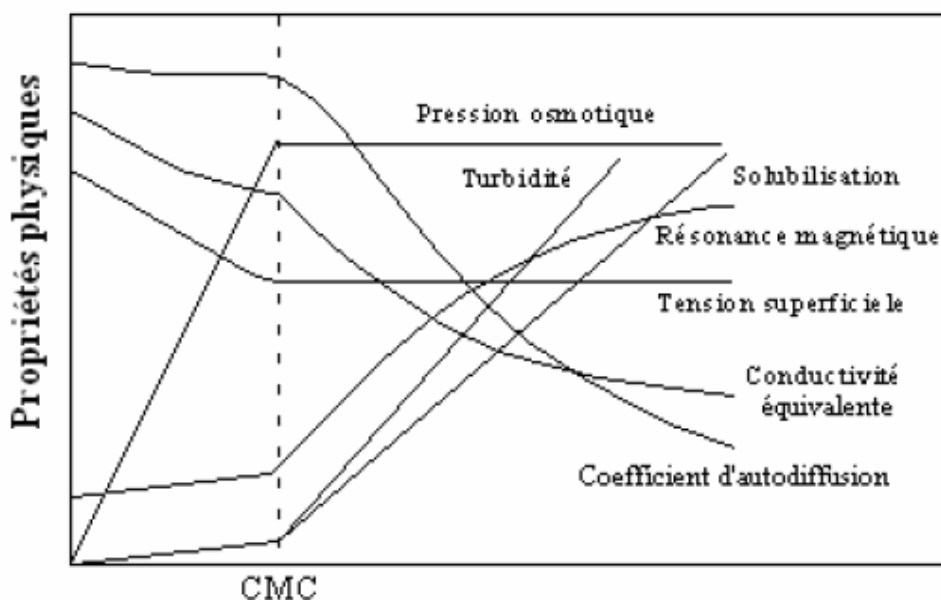


Figure III.5 : Variation des différentes propriétés en fonction de la concentration en tensioactif autour de la CMC [70].

La variation brusque des différentes propriétés se fait quand la concentration micellaire critique est atteinte [69].

III.2.2.5. Balance lipophile-hydrophile

La balance hydrophile - lipophile (H.L.B.) est une caractéristique des tensioactifs. Elle est étroitement liée à la structure de la molécule et représente l'équilibre entre les groupements hydrophiles et lipophiles. Sa valeur est d'autant plus élevée que le tensioactif est plus hydrophile. Cette notion a été proposée par GRIFFIN en 1949 [74].

Aux environs de la valeur 10 il y a équilibre entre les caractères lipophile et hydrophile, les valeurs inférieures à 10 donnent des tensioactifs à prédominance lipophile.

L'intérêt de cette classification, fondée sur la H.L.B., est, qu'il est aisé de connaître, d'emblée, les principales propriétés des agents de surface [69].

Dans le cas d'émulsions de type eau dans huile, on utilise des tensioactifs de faible H.L.B. ($H.L.B. < 7$). Pour des émulsions de type huile dans l'eau, on choisit des tensioactifs de plus forte H.L.B. ($H.L.B. \geq 8$). La valeur optimale de H.L.B. du tensioactif doit être affinée en tenant compte de H.L.B. de l'huile [68].

III.2.2.6. Solubilité

La solubilisation est décrite comme l'aptitude des solutions aqueuses amphiphiles à agir comme solvant de composés chimiques divers, tels que les hydrocarbures, les acides gras, les alcools supérieurs et les colorants qui sont très peu solubles dans l'eau pure.

Dans les solutions aqueuses de tensioactifs, à partir d'une concentration donnée, les chaînes hydrophobes de ces derniers sont orientées vers l'intérieur, et les groupements hydrophiles s'arrangent pour être en contact avec l'eau. Une micelle se forme quand la CMC est atteinte et la solubilisation n'a en fait lieu qu'au dessus de la CMC. Le composé solubilisé est dissous par les micelles. Si on ajoute à un colorant cationique un détergent anionique, un changement de couleur se produit quand on atteint la CMC. Ceci est dû à la solubilisation qui ne peut apparaître avant la formation de micelles [69].

La solubilisation par les micelles peut se faire de différentes façons: pour les hydrocarbures elle serait profonde, pour les alcools et les acides, moins profonde, pour d'autres, elle se ferait à la surface. Dans le cas de tensioactifs polyéthoxylés, elle se ferait uniquement dans les chaînes d'oxyde d'éthylène. [75]

L'addition des électrolytes diminue la solubilité des agents tensioactifs (effets de sel). Ceci a pour effet d'augmenter l'adsorption aux interfaces.

III.2.2.7. Point de Kraft [70]

En ce qui concerne les tensioactifs ioniques, à partir d'une certaine valeur de la température, la courbe de solubilité augmente de manière quasi-exponentielle et seulement à partir de cette valeur, dénommée point de Kraft, le procédé de micellisation est alors initié.

Le point de Kraft correspond à l'intersection de la courbe de solubilité et de la courbe de CMC, comme le montre la figure III.6.

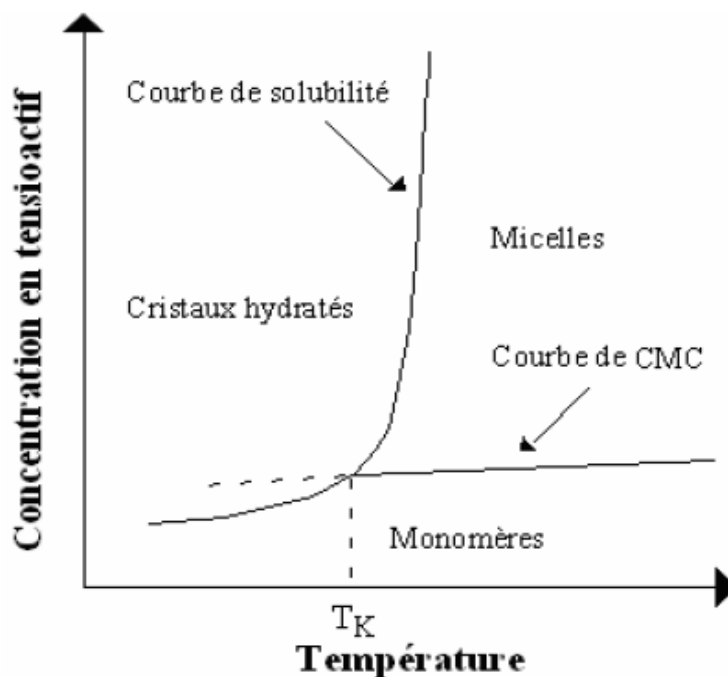


Figure III.6 : Le point de Kraft [70].

En dessous du point de Kraft et à faible concentration en tensioactif, on peut trouver des solutions de monomères. Aux concentrations plus élevées, le tensioactif précipite sous forme de cristaux hydratés et dès lors, il n'y a pas de formation de micelles. Au dessus du point de Kraft et à faible concentration en tensioactif, on peut trouver des solutions de monomères, mais à une concentration plus élevée, il y aura formation de micelles.

III.2.2.8. Point trouble

En ce qui concerne les non ioniques, la solubilité est due aux liaisons hydrogène de la chaîne polyoxyéthylénée. Cependant, l'énergie du pont hydrogène est telle qu'en chauffant il y a déshydratation, ce qui a pour effet de diminuer la solubilité.

Ce comportement est à l'opposé de celui des anioniques dont la solubilité augmente avec la température. On appelle point de trouble la température à laquelle le non ionique en question devient insoluble [76].

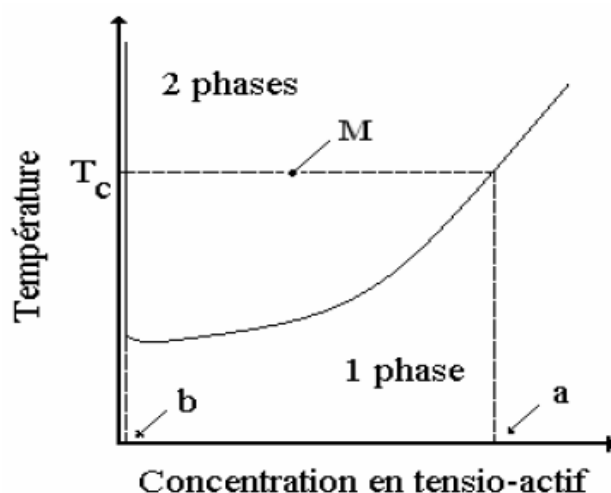


Figure III.7: Schéma du point trouble[70].
(a) coacervat, (b) phase diluée,

La solution micellaire se sépare en deux phases : les molécules de tensioactif s'associent pour former une phase concentrée en tensioactif, appelée « coacervat » (du latin coacervo s'entasser les uns sur les autres), qui est en équilibre avec une autre phase aqueuse à faible concentration en tensioactif, appelée phase diluée, ou la concentration est de l'ordre de la CMC [70].

III.3. Le tensioactif utilisé

III.3.1. Propriétés du tensioactif utilisé [77]

Lors de l'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., nous avons utilisé un tensioactif non ionique, dont ces propriétés physico-chimiques sont résumées dans le tableau III.3 suivant :

Tableau III.3 : Propriétés physico-chimiques du tensioactif utilisé

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

Le choix du tensioactif utilisé a été justifiée par le fait qu'il ne présente ni toxicité, ni caractère irritant. Il est peu coûteux, sans goût et sans odeur, parfaitement soluble dans l'eau et complètement biodégradable en aérobiose et en anaérobiose. Grâce à ces qualités il est utilisé en microbiologie et en industrie alimentaire.

III.3.2. Estimation de la structure de micelles formées par le tensioactif utilisé

Les expressions III.2, nous ont permis de calculer le volume v de la chaîne du tensioactif et la longueur l_c de la chaîne étirée de celui-ci:

$$v = 159,3 \text{ \AA}^3$$

$$l_c = 74,87 \text{ \AA}$$

En assimilant les micelles à des sphères, de volume $v = 4 \cdot \pi \cdot l^3/3$, où l est longueur de la chaîne du tensioactif, cette dernière a été estimée à :

$$l = 3,36 \text{ \AA}$$

On peut, alors, calculer la surface de la sphère par: $\sigma = 4 \cdot \pi \cdot l^2$, d'où :

$$\sigma = 141,80 \text{ \AA}^2$$

Le fait que le rapport $v/\sigma \cdot l_c$, égal à **0,015**, est inférieur à $1/3$, nous amène à conclure, en se référant aux données du tableau III.2., que les micelles formées par le tensioactif utilisé sont sphériques.

Chapitre IV :
Extraction de l'huile essentielle de
Salvia officinalis L. par hydrodistillation en
présence de tensioactif

L'extraction solide/fluide est une opération de séparation d'un ou plusieurs constituants solides ou liquides, contenus dans un corps solide, par solubilisation dans un fluide. Ce fluide, appelé généralement solvant, peut être un liquide ou un gaz, vapeur d'eau ou fluides supercritiques [78].

C'est une opération très utilisée, entre autres, pour retirer des plantes et de certains organes animaux des produits alimentaires, pharmaceutiques, colorants ou odoriférants, en vue de la production de breuvages, drogues, teintures ou parfums.

IV.1. Hydrodistillation des végétaux

IV.1.1. Principe

Au cours de l'hydrodistillation, la matière végétale est immergée dans l'eau et l'ensemble est porté à l'ébullition. L'opération est généralement conduite à pression atmosphérique et la température est limitée par la température d'ébullition de l'eau: 100°C. Les vapeurs d'eau et d'huile essentielle sont condensées et l'huile est séparée des eaux de condensation par décantation. L'hydrodistillation peut être réalisée avec ou sans recyclage de ces dernières, communément appelé cohobage.

IV.1.2. Théorie

Bien que les huiles essentielles soient des mélanges fort complexes de plusieurs constituants, il n'est souvent pas nécessaire de les traiter comme des systèmes multicomposés, la théorie des mélanges binaires semble convenir pour en expliquer le phénomène [79].

Ainsi, l'entraînement des molécules organiques, correspondant à une distillation hétérogène et dépendant de l'équilibre des phases liquide et vapeur, est régi par deux lois physiques [80]: la loi de Dalton et la loi de Raoult.

- **La loi de Dalton**, selon laquelle la pression du mélange de vapeur est égale à la somme des tensions de vapeur de divers constituants du mélange [81].

$$P_T = P_H + P_E \quad (IV.1)$$

En assimilant le système eau - huile essentielle à un mélange binaire de liquides non miscibles et en supposant que chaque constituant peut se vaporiser sans contrainte, la pression de vapeur du système sera égale à la somme des pressions de vapeurs des constituants purs. Donc la relation IV.1 devient :

$$P_T = P^{\circ}_H + P^{\circ}_E \quad (IV.2)$$

Où :

P_T : Pression totale

P°_i : Tension de vapeur de constituant i pur

H et E désignent respectivement l'huile essentielle et l'eau [79].

- **La loi de Raoult**, selon laquelle, la pression partielle de chaque constituant de la solution est proportionnelle à sa fraction molaire en phase liquide [81].

$$P_i = P^{\circ}_i X_i \quad (IV.3)$$

Où:

P_i : Pression partielle du constituant i.

P°_i : Tension de vapeur du constituant i pur.

X_i : fraction molaire du constituant i en phase liquide.

La combinaison de ces deux lois nous donne respectivement la pression totale et la composition des vapeurs en fonction des pressions partielles, d'où le calcul du taux de corps entraîné appelé également rapport d'entraînement :

$$R = m_H / m_E \quad (IV.4)$$

Où :

m: masse.

R: rapport d'entraînement [82].

H et E désignent respectivement l'huile essentielle et l'eau.

La masse m_i de chaque constituant dans le distillat dépend de sa masse moléculaire M_i et de sa tension de vapeur P°_i . Si on considère que l'eau et l'huile ne sont pas miscibles, le nombre n_i de moles, selon la loi des gaz parfaits, de chaque constituant en phase vapeur est proportionnel à sa tension de vapeur.

Par ailleurs, la somme ($P^{\circ}_E + P^{\circ}_H$) est égale à la pression extérieure, ainsi il sera possible, lors de la distillation de modifier partiellement le rapport eau/huile dans le condensât en changeant la pression de travail, la température de l'appareil s'ajuste automatiquement à celle d'ébullition du mélange [79].

La température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeurs de chacun des constituants purs est égale à la pression d'évaporation. Elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures.

Ainsi le mélange eau/huile essentielle distillée possède une température inférieure à 100°C à pression atmosphérique, généralement proche de 100°C en raison de la faible tension des constituants odorants, alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées [80, 82].

La figure IV.1 montre l'évolution de la température de co-distillation d'un mélange hétérogène d'eau et d'huile essentielle.

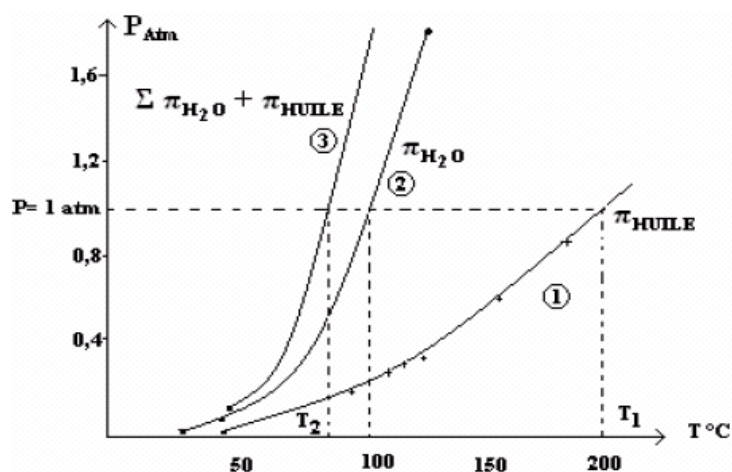


Figure IV.1 : Evolution des températures de distillation de l'eau et l'huile essentielle, et du mélange eau/huile essentielle en fonction de la pression du milieu [83].

Pour une huile essentielle donnée, les écarts entre la tension de vapeur d'une part, et le poids moléculaire des constituants d'autre part, montrent qu'il peut s'établir une sélectivité d'entraînement probablement selon le gradient de température d'ébullition, elle-même liée à ces deux facteurs. Le fractionnement d'une huile essentielle au cours de la co-distillation est dû principalement à la différence de volatilité entre les divers constituants.

Ainsi, Teler [84] a constaté, lors de l'hydrodistillation des grains de carvi que les fractions oxygénées distillaient avant les hydrocarbures. Koedam [85] observa le même phénomène pour l'huile essentielle d'aneth, où le limonène distille après son homologue oxygéné la carvone, alors que leurs températures d'ébullition sont respectivement de 177 °C et 230 °C.

IV.1.3. Mécanisme

L'hydrodistillation des huiles essentielles est un processus de transfert de matière complexe, du fait que les dépôts d'huile dans la matière végétale sont de nature et de localisations différentes : exogènes et endogènes.

En effet, pour que l'huile puisse être entraînée, il faut qu'elle soit en contact direct avec la vapeur. Un tel contact suppose la destruction de la structure cellulaire du végétal qui ne peut pas avoir lieu dans les conditions de l'hydrodistillation. Aussi, selon le mécanisme proposé [9], au contact avec la surface de la matière végétale, l'eau pénètre par osmose dans les sites sécréteurs. L'eau étant devenue abondante dans le site, la pression exercée de l'intérieur du site vers le milieu aqueux extérieur opère, alors, sur la paroi primaire. Dans le cas d'un trichome sécréteur, la paroi primaire est la cuticule. Ce phénomène est appelé pression de turgescence. [86]. Par ailleurs, la turgescence provoque le gonflement du trichome et l'élargissement des pores de la cuticule. Dans ces conditions, on assiste à la thermodiffusion ou exsudation thermique de l'huile [87], jusqu'à l'établissement d'un équilibre des températures à l'extérieur et à l'intérieur du trichome. La température à l'intérieur du trichome augmente et provoque la coagulation du protoplasme et, par conséquent, ce dernier, mais aussi la cuticule perd leur perméabilité. Arrivée à l'extérieur du trichome, l'huile essentielle rencontre une couche d'eau qui enveloppe le matériel végétal. Il s'ensuit une hydrodiffusion à travers cette couche, jusqu'à une interface huile-vapeur. Le contact direct huile-vapeur étant assuré, l'huile s'évapore et est entraînée par le flux de vapeur.

IV.1.4. Cinétique de l'hydrodistillation

La vitesse d'hydrodistillation dépend de deux facteurs cinétiques : l'hydrodiffusion et l'évaporation. [88]. Le mécanisme présenté montre que le processus d'hydrodiffusion implique une pluralité de propriétés physico-chimiques de niveaux variables. En conséquence, sa cinétique dépendra de l'intervention relative des caractéristiques des molécules odorantes et de la localisation de la structure sécrétrice des substrats végétaux.

Dans le cas des végétaux ayant des dépôts exogènes, l'hydrodistillation est de courte durée, la plus grande quantité d'huile est récupérée au début du processus [89]. Lorsque la matière végétale à dépôts exogènes est traitée avec des organes du végétal dépourvus ou contenant peu d'huile (tiges, racines), une partie de l'huile peut être adsorbée à leur surface. La désorption ayant lieu ensuite est très lente. Ces phénomènes d'adsorption et

de désorption sont souvent la cause de prolongation de la durée du processus [89]. L'hydrodistillation des végétaux ayant une structure sécrétrice endogène est lente.

La cinétique d'extraction est décrite par des courbes de distillation, donnant la variation de la masse de l'huile essentielle, ou de son rendement, en fonction du temps, depuis le début de l'extraction et comportent deux parties :

- une première partie, où la vitesse de l'extraction est relativement élevée, jusqu'à l'épuisement de l'huile essentielle superficielle, elle concernera donc, la distillation de l'huile essentielle exogène de la matière végétale.
- une seconde partie, tendant vers un pallier où la vitesse de distillation est relativement lente. Cette phase du processus correspond à la désorption de l'huile adsorbée à la surface du végétal au cours de la première période, ou est régie par les phénomènes de diffusion de l'huile endogène à travers les tissus de la plante.

IV.1.5. Hydrodistillation et composition des huiles essentielles

La matière végétale est mise, dans ce cas, en contact direct avec l'eau bouillante. Ce procédé est particulièrement brutal, puisque la plante est immergée, pendant toute la durée d'extraction, dans l'eau maintenue à 100°C. Les conditions expérimentales sévères engendrent des réactions de transformations de certains composés terpéniques par hydrolyse, élimination, cyclisation, réarrangement. Ces réactions dépendent de l'acidité de l'eau dans laquelle la plante est immergée, or, en milieu aqueux, le matériel végétal développe un pH entre 4 et 7 [90]. En présence d'eau et à température élevée, les esters réagissent avec l'eau et forment les alcools et les acides correspondants. Ainsi donc, le pH des eaux de distillation est un paramètre important à maîtriser [91, 92].

Dans les huiles riches en acétates de linalyle, tels la lavande, le bigaradier, la sauge scarlée, Crabalona et Naves [93] ont observé l'apparition de composés terpéniques, comme le limonène, le mycène, le terpinolène, des alcools et des esters qui ne doivent leur origine qu'à la transformation chimique de l'acétate de linalyle, au cours de l'hydrodistillation. Plusieurs autres travaux ont prouvé l'altération de certains composés terpéniques, en milieu acide [94, 95].

L'étude de ces deux paramètres, que sont le pH et le temps d'hydrodistillation, ne doit donc pas être menée de façon indépendante, car le rôle néfaste de l'acidité sera d'autant plus important que les composés sont entraînés lentement.

IV.1.6. Paramètres du procédé de l'hydrodistillation

IV.1.6.1. La durée d'extraction

La durée de l'hydrodistillation diffère d'une plante à l'autre. Cette différence a pour origine la localisation des structures d'élaboration et de stockage des huiles essentielles: exogènes ou endogènes.

IV.1.6.2. Rapport volume d'eau/masse de matière végétale

Le rapport entre le volume d'eau et la masse de matière végétale est un paramètre dont il faut tenir compte lors de la mise en œuvre de l'hydrodistillation. Lorsque ce rapport insuffisant, la matière végétale peut cramer au contact des parois de l'alambic. Un rapport élevé, par contre, est économiquement injustifié, car nécessite une importante quantité de chaleur pour mettre en ébullition un grand volume d'eau [9].

IV.1.6.3. Débit de vapeur

Le débit de vapeur est l'un des paramètres les plus importants du procédé. Mise à part l'entraînement de l'huile essentielle, un débit de vapeur élevé assure, au cours de l'hydrodistillation, l'agitation du matériel végétal et un meilleur contact entre les phases [9].

IV.1.7. Rendement

Le rendement R_{HE} en huile essentielle, en %, est défini par le rapport entre la masse m_{HE} de l'huile essentielle obtenue et la masse M_s de matière végétale sèche:

$$R_{HE} = 100 \times m_{HE} / M_s \quad (IV.5)$$

M_s et m_{HE} sont exprimées dans les mêmes unités de masse.

IV.2. Essais d'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

IV.2.1. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental utilisé à l'échelle laboratoire est schématisé à la figure IV.2. Il est constitué d'un ballon de 6 litres, dans lequel la matière végétale baigne dans l'eau. Le niveau d'eau dans le ballon est maintenu constant par ajout à l'aide d'une ampoule à couler. La source de chaleur est un chauffe-ballon à puissance de chauffe variable. Le ballon

est surmonte d'un réfrigérant où les vapeurs d'eau et d'huile essentielle sont refroidies et condensées. Le distillat est récupéré dans une recette.

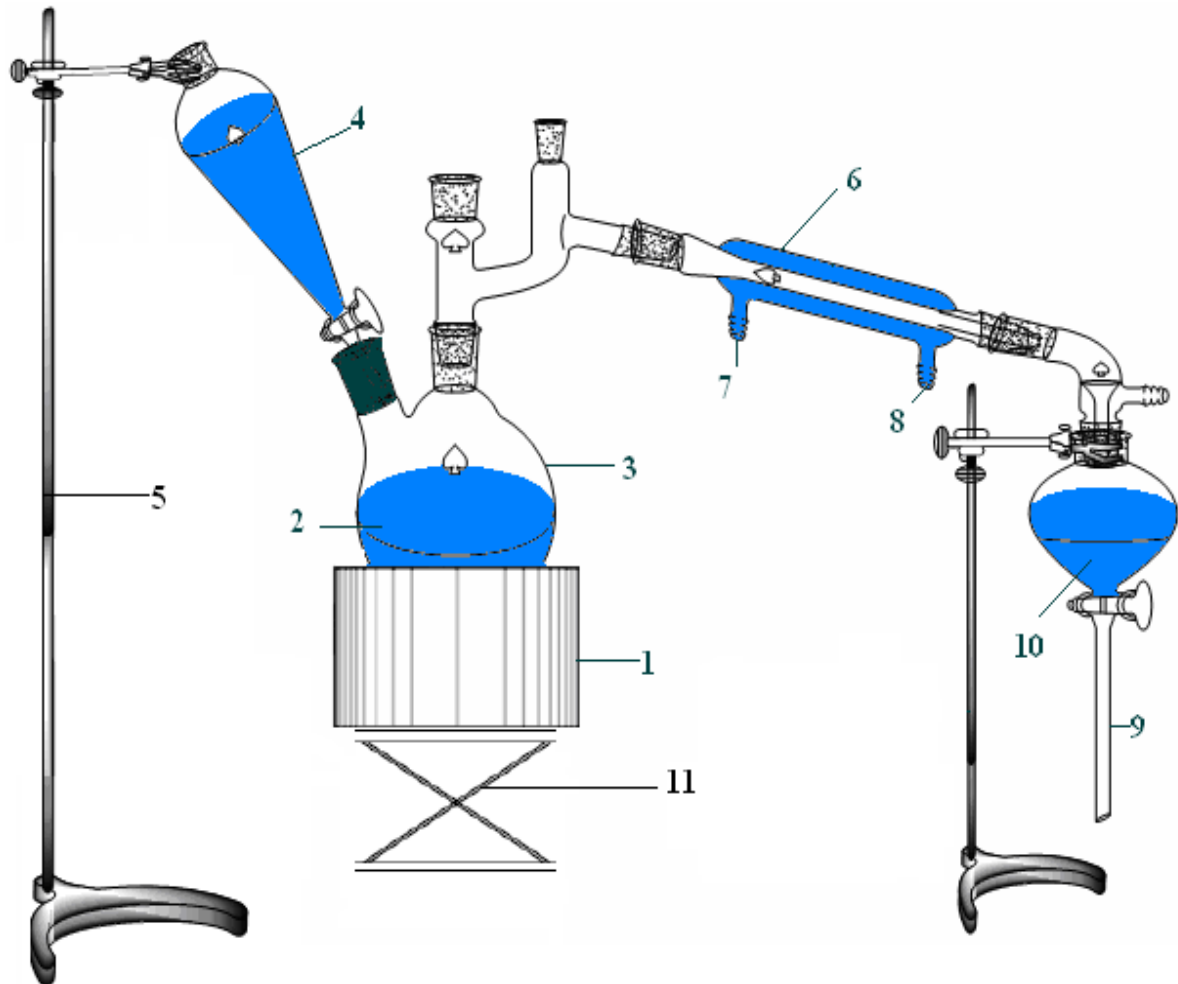


Figure IV.2 : Dispositif expérimental d'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. par hydrodistillation à l'échelle laboratoire.

Légende

- | | |
|-----------------------------------|---|
| 1 : Chauffe ballon. | 7 : Sortie de l'eau de refroidissement. |
| 2 : Mélange eau/matière végétale. | 8 : Entrée de l'eau de refroidissement. |
| 3 : Ballon. | 9 : Ampoule à décanter, récipient de recette. |
| 4 : Ampoule à couler. | 10 : Distillat. |
| 5 : Support. | 11 : Support élévateur. |
| 6 : Réfrigérant. | |

Les essais à l'échelle semi-pilote ont été effectués dans une installation réalisée, selon le même schéma, excepté l'ampoule à couler, à partir d'éléments de récupération en verres spécieux (EIVS) disponibles dans le hall du département de Génie chimique. La taille des équipements a été imposée par leur disponibilité : un chauffe ballon, un ballon de 20 L et un réfrigérant tubulaire à serpentin, où s'écoule l'eau de refroidissement. Le distillat a été récupéré dans des ampoules à décanter.

IV.2.2. Protocole expérimental

La matière végétale, constituée de feuilles et de tiges de *Salvia officinalis* L., préalablement pesée, est mise en contact avec la solution aqueuse de tensioactif utilisé de concentration bien déterminée. L'ensemble est porté à l'ébullition à pression atmosphérique. Le débit de vapeur est maintenu constant pendant toute la durée d'extraction et correspond à la puissance maximale de chauffe. Les vapeurs sont condensées dans le réfrigérant et le mélange eau-huile est récupéré dans le récipient de recette. L'huile est séparée des eaux de distillation par décantation, suivie d'extraction à l'éther diéthylique de ces dernières. La masse d'huile récupérée est déterminée par pesée, après l'évaporation de l'éther. Le rendement en huile est exprimé par rapport à la masse de matière sèche. A cet effet, le taux d'humidité de la matière végétale est déterminé avant chaque essai d'extraction.

IV.2.3. Recherche des conditions optimales d'extraction de l'huile essentielle de *S. officinalis* L. par hydrodistillation en présence de tensioactif

Les essais d'hydrodistillation de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., visant la recherche des conditions optimales d'extraction, ont été menés à l'échelle laboratoire. A cet effet, des échantillons représentatifs du lot de la plante, cultivé à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, de même taux d'humidité, ont été utilisés pour chaque série d'essais.

IV.2.3.1. Détermination de la durée d'extraction

L'évolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps, a été déterminée expérimentalement, lors de l'extraction par hydrodistillation d'un échantillon de *Salvia officinalis* L. de taux d'humidité 75,9%. En se basant sur des travaux antérieurs [62] et sur quelques essais préliminaires, nous avons réalisé l'essai dans les conditions opératoires suivantes :

- Masse de matière végétale: 300 g.
- Volume de la solution aqueuse de tensioactif, de concentration 0,0045 mol/L: 2,5 L.
- Durée d'extraction: 3 heures.

Au cours de l'hydrodistillation, des fractions du distillat ont été recueillies à des intervalles précis de temps. Le débit moyen de vapeur a été déterminé par le volume du distillat récupéré en unité de temps et estimé à 13,64 mL/mn. La masse de l'huile essentielle de chaque fraction, récupérée par extractions successives à l'éther diéthylique, a été déterminée par pesée, après l'évaporation de ce dernier. Le rendement en huile a été exprimé, en %, par rapport à la matière sèche. Le tableau IV.1 regroupe les résultats obtenus.

Tableau IV.1 : Evolution du rendement au cours du temps lors de l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Temps, mn	R_{HE}, %
0	0
5	0,32
10	0,42
20	0,48
30	0,51
45	0,53
60	0,54
90	0,57
120	0,58
150	0,58
180	0,58

Sur la base de ces résultats, nous avons tracé, sur la figure IV.3, la courbe cinétique, donnant l'évolution du rendement, en fonction du temps.

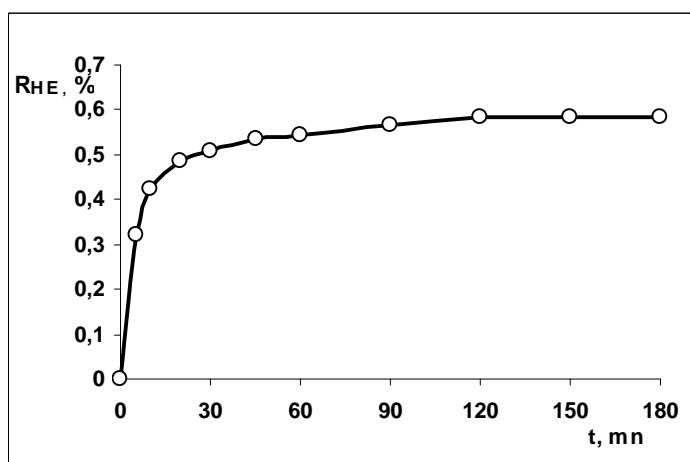


Figure IV.3: Evolution du rendement, en fonction du temps, lors de l'extraction de l'huile essentielle de *S. officinalis* L. par hydrodistillation en présence de tensioactif.

L'allure de la courbe cinétique reflète plusieurs étapes : la première rapide, ayant lieu durant les 20 premières minutes, suivie d'une étape lente, entre 20 et 60 mn, tendant vers un palier. Après une heure d'extraction, une faible augmentation du rendement, qui se poursuivra jusqu'à la 120^{ème} minute, est observée. Au-delà de deux heures d'extraction, nous constatons l'apparition d'un palier. Ceci laisse penser que la totalité de l'huile essentielle est récupérée au terme de deux heures. Ce résultat, nous a permis de fixer la durée d'extraction à deux heures pour les essais de la suite de ce travail.

Par ailleurs, nous avons procédé à l'extraction par hydrodistillation pendant 3 heures de deux échantillons représentatifs du lot cultivé à l'ENP de taux d'humidité 28,9%, de même masse, 200g, avec un débit de vapeur moyen de 14,1 mL/mn. L'un des échantillons a été soumis à l'hydrodistillation en présence de tensioactif, essai 1, l'hydrodistillation du second, essai 2, a été réalisée sans addition de tensioactif.

Les rendements obtenus sont présentés dans le tableau IV.2 suivant.

Tableau IV.2: Rendements en huile essentielle, en %, obtenus avec et sans tensioactif pour différentes durées d'extraction

	Durée d'extraction, h	2	3
Essai			
	1	0,65	0,65
	2	0,61	0,65

Nous remarquons que le rendement en huile récupéré lors de l'extraction en absence de tensioactif au bout de 3 heures est le même que celui obtenu au terme de 2 heures, en présence de tensioactif. Ce résultat montre que l'utilisation du tensioactif réduit la durée d'extraction. A notre avis, la micellisation, qui gouverne les propriétés de solubilisation et de microémulsification, d'une part, et d'autre part, l'adsorption aux interfaces qui provoque une diminution des tensions interfaciales et favorise le mouillage, sont à l'origine de l'accélération de l'hydrodiffusion de l'huile et, par conséquent, de l'hydrodistillation.

IV.2.3.2. Optimisation, par planification des expériences, de la masse de la matière végétale à traiter et de la concentration en tensioactif utilisé

L'optimisation de la masse de matière végétale à traiter et de la concentration en tensioactif de la phase aqueuse a été réalisée, en faisant appel au plan factoriel complet à deux niveaux des deux paramètres. Le plan des expériences prévoit la variation simultanée des deux paramètres étudiés dans le domaine expérimental choisi, de manière à recueillir le maximum d'informations sur le comportement du système et d'établir un modèle mathématique [96].

En tenant compte de la capacité de l'installation et en s'inspirant des travaux antérieurs [62], nous avons fixé et réuni, dans le tableau IV.3, les niveaux inférieurs, de base et supérieurs des paramètres à optimiser.

Tableau IV.3: Niveaux des paramètres à optimiser

Paramètre	Niveau inférieur	Niveau de base	Niveau supérieur
Masse de matière végétale, g	100	200	300
Concentration en tensioactif, mol/L	0,0010	0,0027	0,0045

Ces deux paramètres indépendants, de nature et d'unités de mesure différentes, ont été remplacés par des variables réduites adimensionnelles, respectivement x_1 , variable réduite de la masse de matière végétale à traiter et x_2 , variable réduite de la concentration en tensioactif. Les valeurs des variables réduites x_1 , et x_2 évoluent dans un même intervalle, allant de -1 à $+1$. Le domaine expérimental est alors représenté, dans un repère orthonormé, par un carré, dont les coordonnées des sommets définissent les conditions opératoires des essais à programmer. Aussi, le plan factoriel complet à deux niveaux des deux paramètres, appelé plan

2², prévoit, dans ce cas précis, quatre essais. Deux essais répétitifs ont été programmés et réalisés dans les conditions opératoires du niveau de base, au centre du domaine expérimental, afin d'apprécier la reproductibilité des résultats et d'effectuer une validation statistique du modèle mathématique.

Les conditions opératoires des six essais programmés et réalisés, par la suite, ainsi que les rendements R_{HE} en huile obtenus, sont regroupés dans le tableau IV.4 suivant.

Tableau IV.4: Conditions opératoires des essais programmés par le plan factoriel des expériences 2² et rendements R_{HE} en huile obtenus

x_1	x_2	$R_{HE}, \%$
-1	+1	0,29
+1	+1	0,87
-1	-1	0,65
+1	-1	0,72
0	0	0,65
0	0	0,64

Il est à noter que les six essais ont été effectués en espace de quatre jours, pour éviter une variation importante du taux d'humidité de la matière végétale. Ce dernier, mesuré chaque jour, a varié peu autour de la moyenne, estimée à 35,5%. L'ensemble des essais a été réalisé avec un débit moyen de vapeur de 14,22 mL/mn. En outre, pour quelques uns des essais, lors de la décantation, nous avons observé la formation d'une émulsion relativement stable de l'eau dans l'huile et avons eu le recours au relargage par addition d'une solution saturée en NaCl.

Les résultats du tableau IV.4 ont été analysés à l'aide du logiciel Statgraphics plus [97].

La variation du rendement R_{HE} en huile a été exprimée par la fonction polynomiale du premier ordre en x_1 et x_2 :

$$R_{HE} = a_0 + a_1 x_1 - a_2 x_2 + a_{1,2} x_1 x_2 \quad (IV.6)$$

Les coefficients de l'équation IV.5 ont été déterminés en substituant les valeurs des variables réduites x_1 , x_2 et du rendement R_{HE} par leurs valeurs expérimentales. L'équation du modèle mathématique obtenu s'écrit :

$$R_{HE} = 0,6333 + 0,1625 x_1 - 0,0525 x_2 + 0,1275 x_1 x_2 \quad (IV.7)$$

Les valeurs des coefficients de cette équation permettent d'évaluer l'influence sur le rendement en huile, des effets individuels de chacun des paramètres étudiés et de leur interaction. Le diagramme de Pareto, présenté à la figure IV.4 illustre ces effets.

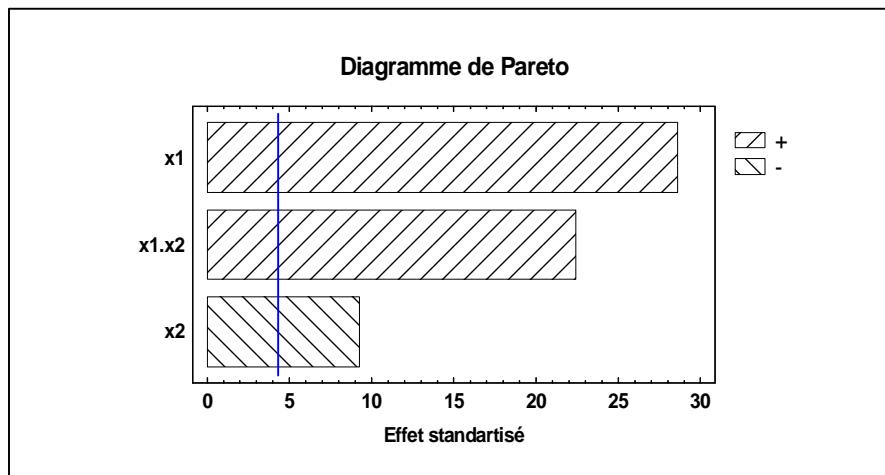


Figure IV.4: Diagramme de Pareto.

▨ +: effet positif ▩ -: effet négatif

On relève qu'au seuil de confiance spécifié, $\alpha = 5\%$, les deux paramètres et leur interaction ont des effets significatifs. L'effet simple de la masse de matière végétale à traiter et l'effet conjugué des deux paramètres sont de même ordre de grandeur et positifs. L'effet simple de la concentration en tensioactif est le plus faible et négatif.

La qualité d'approximation et la validité du modèle mathématique établi sont mises en évidence par analyse statistique de la variance, ANOVA, présentée dans le tableau IV.5 suivant.

Tableau IV.5: Analyse de la variance ANOVA

Paramètre	Somme de carrés	Df	Carrée moyen	Rapport F	Probabilité
x₁	0,105625	1	0,105625	3621,43	0,0003
x₂	0,011025	1	0,011025	378,00	0,0026
x₁.x₂	0,065025	1	0,065025	2229,43	0,0004
Erreur totale	0,0000583333	2	0,0000291667		
Total (corr.)	0,181733	5			
R² = 99,9679 %					
Estimation de l'écart-type du résidu=0,00540062					
Erreur absolue moyenne = 0,00222222					

Les résultats de l'évaluation statistique du modèle montrent qu'il décrit correctement le comportement du système étudié. Le fait que la valeur de la probabilité dans le tableau de

l'ANOVA est inférieure 0,05, permet de conclure qu'il y a une relation statistiquement significative entre les variables au niveau de confiance de 95%. La statistique du R-carré indique que le modèle explique 99,9679 % de la variabilité du rendement en huile essentielle. Par ailleurs, l'erreur moyenne absolue et l'estimation de l'écart-type du résidu sont très faibles, inférieures respectivement à 0,22 et 0,54%.

L'analyse mathématique de l'équation IV.6 du modèle a montré que :

- Cette fonction possède une solution réelle qui, située dans l'espace des variables réduites en dehors du domaine expérimental, a pour coordonnées [$x_1=0,412$; $x_2=-1,275$], correspondant, en variables réelles, à [241 g; 0,0004 mol/L].
- Ce point stationnaire est un point d'inflexion.

Un essai d'extraction a été réalisé dans les conditions opératoires définies par le point stationnaire et le rendement en huile obtenu expérimentalement a été comparé au rendement calculé à partir de l'équation du modèle. Le tableau IV.6 regroupe ces résultats.

Tableau IV.6: Rendements en huile expérimental et prévu par le modèle mathématique

Rendement en huile, %		Erreur, %
Expérimental	Calculé à partir de l'équation du modèle	
0,68	0,70	2,86

Le faible écart entre les valeurs expérimentale et calculée étant de l'ordre de l'erreur expérimentale, laisse penser que le modèle peut être extrapolé, notamment, vers des concentrations plus faibles en tensioactif.

La surface de réponse estimée par le logiciel est présentée à la figure IV.5.

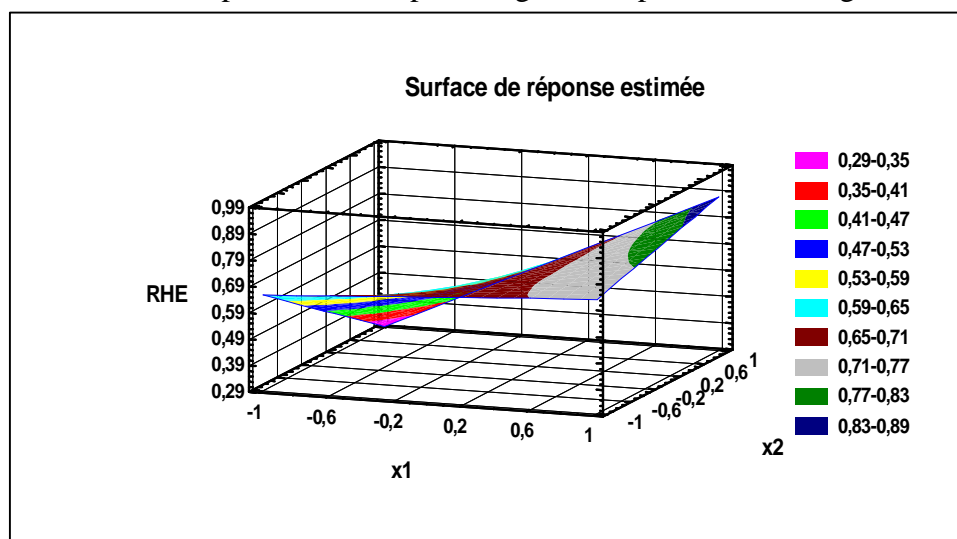


Figure IV.5: Surface de réponse estimée.

L'examen de la surface de réponse montre que les meilleurs rendements sont obtenus pour des valeurs des variables réduites tendant toutes les deux vers +1. Aussi, les conditions opératoires de l'essai [+1, +1], soit, en coordonnées réelles, [300g; 0,0045mol/L] sont indiquées par le logiciel et retenues comme optimales dans le domaine expérimental.

IV.2.3.3. Influence du rapport volume de liquide/ masse de solide sur le rendement en huile essentielle

Parmi les essais précédents, nous avons relevé trois, réalisés avec la même concentration en tensioactif, de 0,0045mol/L, mais avec un rapport volume de liquide/masse de solide différent. L'histogramme, présenté à la figure IV.6, montre une augmentation du rendement en huile pour les faibles valeurs de ce rapport.

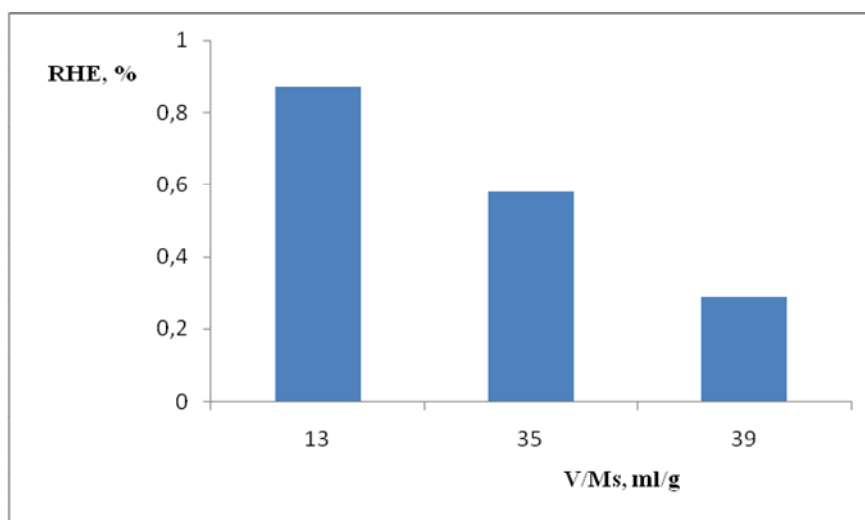


Figure IV.6: Variation du rendement en huile essentielle, en fonction du rapport volume de liquide/masse de solide.

Cette augmentation du rendement en huile illustre bien l'influence de la masse de la matière végétale, déjà mise en évidence.

IV.2.3.4. Influence du séchage de la matière végétale sur le rendement

A cet effet, nous avons effectué des essais d'extraction par hydrodistillation, en présence de tensioactif, dans les mêmes conditions opératoires, de deux échantillons de taux d'humidité, respectivement 75,9 et 35,6%. Les rendements, exprimés par rapport à la matière sèche, sont présentés dans le tableau IV.7 suivant.

Tableau IV.7: Variation du rendement en huile essentielle, en fonction de l'état de la plante

Etat de la plante	Fraiche	Sèche
Taux d'humidité, %	75,9	35,6
R _{HE} , %	0,58	0,87

Nous constatons que, le séchage provoque une augmentation du rendement en huile essentielle. Ce fait a été observé pour cette espèce végétale [12,13] et serait dû au métabolisme secondaire, ayant lieu en absence d'oxygène dans les tissus végétaux, conduisant à la formation des terpènes. Le phénomène est connu [9] sous le nom de respiration terpénique.

Le meilleur rendement en huile, 0,87 %, obtenu pour l'échantillon de la plante sèche, nous amènent à déconseiller l'extraction de la plante fraîche, si toutefois, la qualité de l'huile essentielle n'est pas affectée.

IV.2.3.5. Influence de la durée de la macération de la matière végétale dans la solution aqueuse du tensioactif avant l'hydrodistillation sur le rendement en huile essentielle

La recommandation, par les études antérieures [62-64], de macérer le matériel végétal dans la solution aqueuse de tensioactif avant l'hydrodistillation, nous a amené à s'intéresser à ce paramètre. Une série d'essais d'hydrodistillation des échantillons de *S. officinalis* L., représentatifs du lot cultivé à ENP, de taux d'humidité moyen de 13,7%, a été réalisée, dans les conditions optimales, déterminées précédemment, à savoir, une concentration en tensioactif de 0,0045 mol/L, un rapport volume du liquide/masse de matière végétale égal à 13. La durée de macération de la matière végétale a été fixée, respectivement à 0,5h, 1h, 3h et 24h. Un essai sans macération préalable a été effectué. L'hydrodistillation pour l'ensemble des essais a été menée pendant 2 heures avec un débit de vapeur moyen de 11,2 mL/mn. Les rendements en huile obtenus sont réunis dans le tableau IV.8 suivant.

Tableau IV.8: Variation du rendement en huile essentielle, en fonction de la durée de macération de la matière végétale dans la solution aqueuse du tensioactif avant l'hydrodistillation

Durée de macération, h	Rendement en huile essentielle, %
0	0,40
0,5	0,41
1	0,41
3	0,39
24	0,50

Nous constatons que la macération de la matière végétale dans la solution aqueuse du tensioactif avant l'hydrodistillation n'a aucun impact sur le rendement en huile essentielle lorsqu'elle dure entre 0,5 et 3 heures. Sa prolongation jusqu'à 24h provoque, par contre, une augmentation du rendement en huile de 25%. Cette durée de 24 heures serait nécessaire à un meilleur mouillage de la surface de la plante, prévenant le dépôt de l'huile sur la surface de celle-ci, et éventuellement à la libération, par hydrolyse, des constituants de l'huile essentielle chimiquement liés sous forme de glycosides [64].

IV.2.3.6. Influence du débit de vapeur sur le rendement en huile essentielle

Les résultats des essais d'extraction, de l'huile essentielle par hydrodistillation en présence de tensioactif à 0,0045 mol/L, sans et avec macération de la matière végétale dans la solution aqueuse du tensioactif pendant 24 heures, effectués avec un même rapport volume du liquide/masse de matière végétale égal à 13 et différents débits de vapeur, nous ont permis d'apprécier l'influence de ce paramètre du procédé, sur le rendement en huile essentielle. Le tableau IV.9 suivant regroupe ces résultats.

Tableau IV.9: Influence du débit de vapeur sur le rendement en huile essentielle

Débit de vapeur moyen, mL/mn	11	15
Rendement en huile sans macération, %	0,40	0,29
Rendement en huile avec macération, %	0,50	0,56
Augmentation du rendement en huile, %	25	93

Nous observons que l'influence du débit de vapeur sur le rendement en huile est accentuée, lors de l'extraction par hydrodistillation en présence de tensioactif avec macération préalable de la matière végétale.

Cependant, le débit de vapeur reste le paramètre prédominant du procédé. Ce fait a été confirmé par les résultats de deux essais, menés à l'échelle semi-pilote, dans l'installation que nous avons réalisé. Ces essais ont été effectués avec des échantillons représentatifs de *Salvia officinalis* L. du lot récolté au Jardin d'essais, de 900g chacun, avec un même rapport volume du liquide/masse de matière végétale égal à 13. L'hydrodistillation de l'un des échantillons a été réalisée sans addition du tensioactif, avec un débit de vapeur de 15,1 mL/mn. Le second échantillon a été macéré pendant 24 h dans une solution aqueuse de tensioactif à 0,0045 mol/L, avant d'être soumis à l'hydrodistillation avec un débit de vapeur de 11,9 mL/mn. Nous rapportons, dans le tableau IV.10, les rendements en huile obtenus.

Tableau IV.10: Extraction de l'huile essentielle de *S. officinalis* L. à l'échelle semi-pilote. Influence du débit de vapeur sur le rendement en huile

Débit de vapeur moyen, mL/mn	11,9	15,1
R_{HE} sans tensioactif %	-	1,27
R_{HE} avec tensioactif et macération préalable, %	0,83	-

On constate que, dans ce cas, le rendement en huile obtenu sans utilisation de tensioactif et avec un débit de vapeur élevé est supérieur à celui, obtenu en présence de tensioactif, mais avec un débit de vapeur plus faible. En effet, comme nous l'avons évoqué précédemment, dans le paragraphe IV.1.6.3., un débit de vapeur élevé assure l'agitation du matériel végétal et, par conséquent, un meilleur contact entre les phases.

Cette étude, visant l'optimisation des différents paramètres du procédé d'extraction de l'huile essentielle de *S. officinalis* L. par hydrodistillation en présence de tensioactif, nous a permis de fixer les conditions optimales comme suit :

- Concentration en tensioactif : 0,0045 mol/L.
- Rapport volume d'eau/masse de matière végétale : voisin de 13.
- Macération de la matière végétale dans la solution aqueuse du tensioactif avant l'hydrodistillation pendant 24h.
- Débit de vapeur élevé.

IV.2.4. Etude cinétique de l'hydrodistillation de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. en présence de tensioactif

L'évolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps, a été déterminée expérimentalement, lors de l'extraction, par hydrodistillation à l'échelle laboratoire, de trois échantillons représentatifs de *S. officinalis* L. du lot récolté au Jardin d'essais, de taux d'humidité moyen de 15,0 %. Les essais ont été réalisés avec un rapport volume de liquide/masse de solide égal à 14 et un débit de vapeur moyen de 13,5 mL/mn. En se basant sur les résultats des travaux antérieurs [12, 13], relatifs à l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de l'huile essentielle de cette plante, nous avons fixé la durée d'extraction à 3 heures pour les trois essais.

L'hydrodistillation de l'un des échantillons a été réalisée sans addition du tensioactif, essai 1, celle du second, a été effectuée en présence d'une solution aqueuse de tensioactif à 0,0045 mol/L, essai 2. Le troisième échantillon a été macéré pendant 24 h dans une solution aqueuse de tensioactif à 0,0045 mol/L, avant d'être soumis à l'hydrodistillation, essai 3.

Au cours de l'hydrodistillation, des fractions du distillat ont été recueillies à des intervalles précis de temps. La masse de l'huile essentielle de chaque fraction, récupérée par extractions successives à l'éther diéthylique, a été déterminée par pesée, après l'évaporation de ce dernier. Le rendement en huile a été exprimé, en %, par rapport à la matière sèche.

L'évolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps, obtenue pour les trois essais présentée dans le tableau IV.11.

Tableau IV.11 : Evolution du rendement en huile, en fonction du temps

Temps, mn	R _{HE} , %		
	Essai 1	Essai 2	Essai 3
0	0	0	0
5	0,62	0,52	0,45
10	0,91	0,86	0,81
20	1,13	1,11	1,12
30	1,21	1,25	1,26
45	1,25	1,35	1,39
60	1,29	1,43	1,49
90	1,34	1,51	1,60
120	1,38	1,55	1,71
150	1,42	1,61	1,83
180	1,44	1,67	1,90

Nous constatons que le plus faible rendement en huile, 1,44%, est obtenu lors de l'hydrodistillation de l'échantillon sans addition de tensioactif. En présence de tensioactif sans macération préalable, le rendement a été amélioré de 16% et vaut le double, soit 32%, après macération de la matière végétale pendant 24h dans une solution aqueuse de tensioactif à 0,0045 mol/L.

La figure IV.7 suivante, regroupe les courbes cinétiques correspondant aux trois essais.

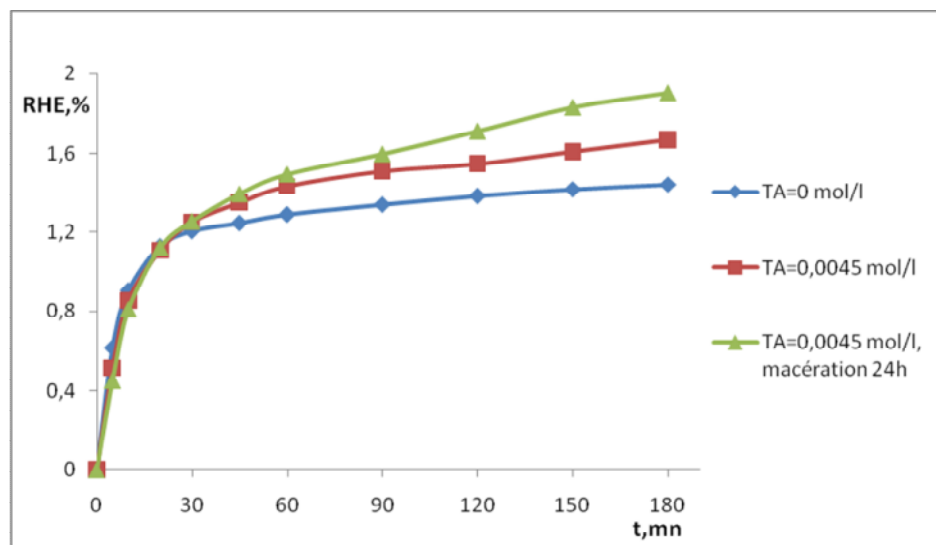


Figure IV.7: Courbes cinétiques d'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de *S. officinalis* L. en absence (TA=0) et en présence de tensioactif avec et sans macération de la matière végétale.

L'examen des allures de ces courbes cinétiques et les rendements en huile respectifs obtenus, suscitent les remarques suivantes:

- La cinétique de l'hydrodistillation n'est pas affectée par la présence de tensioactif pendant les 30 premières minutes. Cette étape peut être attribuée à l'extraction de l'huile essentielle élaborée et stockée dans les trichomes peltés et capités. Etant situés à la surface des feuilles et des tiges de la plante, l'huile qui migre par osmose à travers la cuticule des trichomes, entre rapidement en contact avec la vapeur et est entraînée.
- Au-delà de 30 minutes, une évolution ascendante du rendement en huile est observée, nettement supérieure pour les échantillons, dont l'hydrodistillation a été menée en présence de tensioactif.
- La macération préalable de la plante dans la solution de tensioactif provoque une évolution du rendement plus rapide, à partir, respectivement, de 45 et de 90 minutes d'extraction.

- La matière végétale n'est pas épuisée de son huile essentielle au terme de trois heures d'extraction.

Ces informations nous permettent d'émettre des hypothèses sur la manière dont le tensioactif intervient dans l'hydrodistillation de l'huile essentielle, en tenant compte de la structure sécrétrice de cette plante, étudié auparavant.

Les travaux antérieurs [12,13] rapportent, en effet, la présence des structures endogènes, accumulant l'huile essentielle dans des poches situés à différents profondeurs des tissus végétaux: au contact de l'épiderme (figure I.6) et dans le parenchyme (figure I.7). Aussi, il serait permis de penser qu'au contact avec la matière végétale, la solution aqueuse de tensioactif pénètre, par osmose à travers l'épiderme, dans les couches internes des tissus de la plante, pour atteindre les poches endogènes qui renferment l'huile essentielle. Son pouvoir solubilisant élevé, en particulier son affinité vis-à-vis des protéines constituant la cuticule et l'épiderme, lui permet «de creuser» des ouvertures par lesquelles la solution de tensioactif, chargée en constituants de l'huile essentielle, ferait le chemin inverse vers la surface de la plante, grâce au gradient de concentration ainsi créé. Arrivée à la surface, l'huile essentielle est entraînée par la vapeur. Evidemment, la macération prolongée de la matière végétale favoriserait ce processus.

IV.2.5. Observations microscopiques des coupes de la tige et de la feuille de *Salvia officinalis* L.

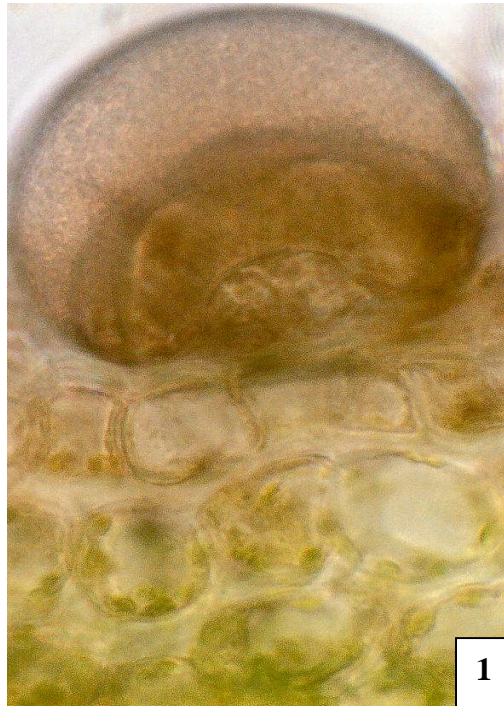
Pour appuyer les hypothèses émises plus haut, nous avons procédé aux observations des coupes de la tige et de la feuille de *S. officinalis* L., cultivée au Jardin d'essais, à l'aide d'un microscope photonique Jenalumar:

- avant traitement de la matière végétale ;
- ayant séjourné au contact avec la solution de tensioactif pendant 24 h;
- après avoir subi l'hydrodistillation.

Les coupes, effectuées par la technique «à main levée», sont présentées sur les figures IV.8 à IV.11.

Les figures IV.8 et IV.9 montrent l'état des trichomes peltés avant et après l'hydrodistillation. L'espace, entre les cellules sécrétrices et la cuticule de la tête du trichome, coloré en marron clair, renferme l'huile essentielle (figures IV.8.1 et IV.9.1). Après l'extraction de l'huile, le trichome se vide et devient transparent (figures IV.8.3, IV.8.4 et

IV.9.2). On remarque, par ailleurs, que les cuticules de ces trichomes sont déformées après l'hydrodistillaton, comme montrent les figures IV.8.4 et IV.9.2, mais ne sont pas déchirées.



1

(Grx320)



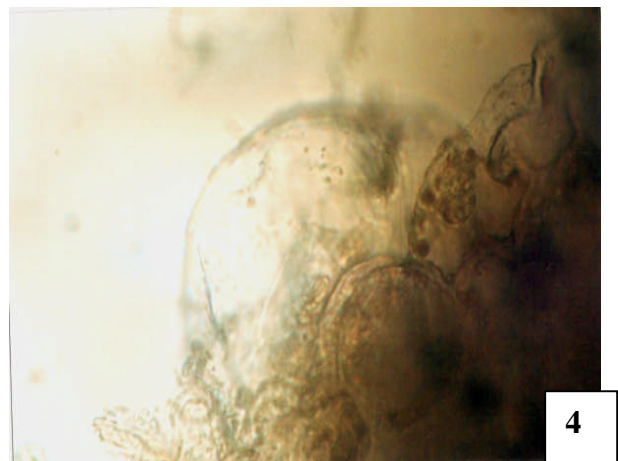
2

(Grx80)



3

(Grx320)



4

(Grx320)

Figure IV.8: Coupe de la tige de *S. officinalis* L. Trichomes peltés.

1: avant traitement de la matière végétale.

2: après macération de la matière végétale dans une solution aqueuse à 0,0045 mol/l de tensioactif pendant 24 heures.

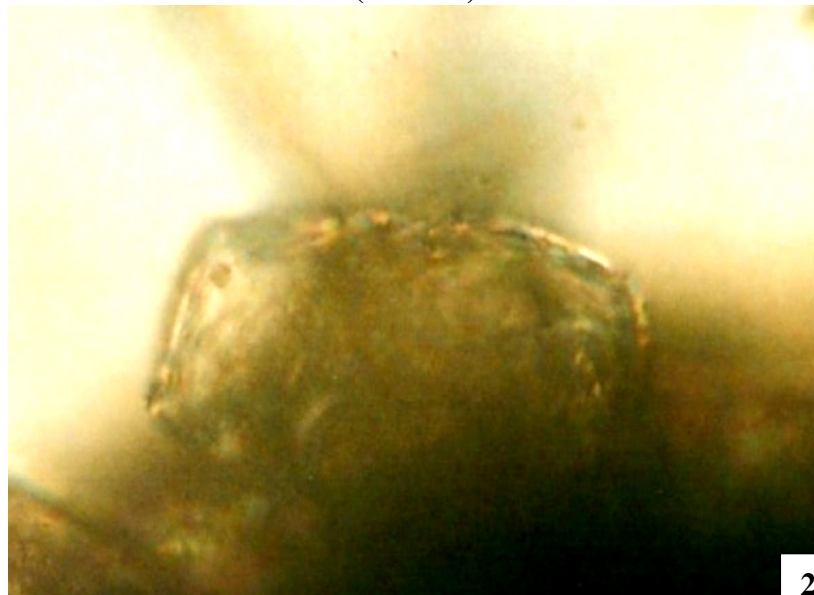
3 et 4: après macération de la matière végétale dans une solution aqueuse à 0,0045 mol/l de tensioactif pendant 24 heures, suivie d'hydrodistillation pendant 3 heures.

Sur la figure IV.9.2 on aperçoit des gouttelettes d'huile essentielle à la surface de la tête du trichome pelté. Leur présence conforte l'information fournie par les allures des courbes cinétiques, relative au fait que la matière végétale n'est pas épuisée de son huile essentielle au terme de trois heures d'extraction.



1

(Grx320)



2

(Grx320)

Figure IV.9: Coupe de la feuille de *S. officinalis* L. Trichomes peltés avec cellules basales distendues.

1: avant traitement de la matière végétale ;

2: après macération de la matière végétale dans une solution aqueuse à 0,0045 mol/l de tensioactif pendant 24 heures, suivie d'hydrodistillation pendant 3 heures.

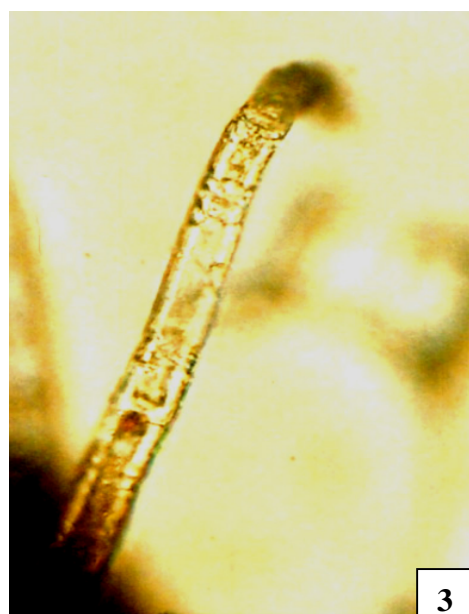
La figure IV.10 présente les trichomes capités, sécréteurs d'huile essentielle, du type IV. Nous observons que la tête du trichome gonfle après macération dans la solution du tensioactif (figure IV.10.2), puis se vide et déforme après l'hydrodistillation (figure IV.10.3).



Grx80



Grx320



Grx320

Figure IV.10: Coupe de la tige de *S. officinalis* L. Trichomes capités du type IV.

1: avant traitement de la matière végétale.

2: après macération de la matière végétale dans une solution aqueuse à 0,0045 mol/l de tensioactif pendant 24 heures.

3: après macération de la matière végétale dans une solution aqueuse à 0,0045 mol/l de tensioactif pendant 24 heures, suivie d'hydrodistillation pendant 3 heures.

Enfin, à la figure IV.11 sont visibles les poches d'huile essentielle situées dans le parenchyme de la tige.

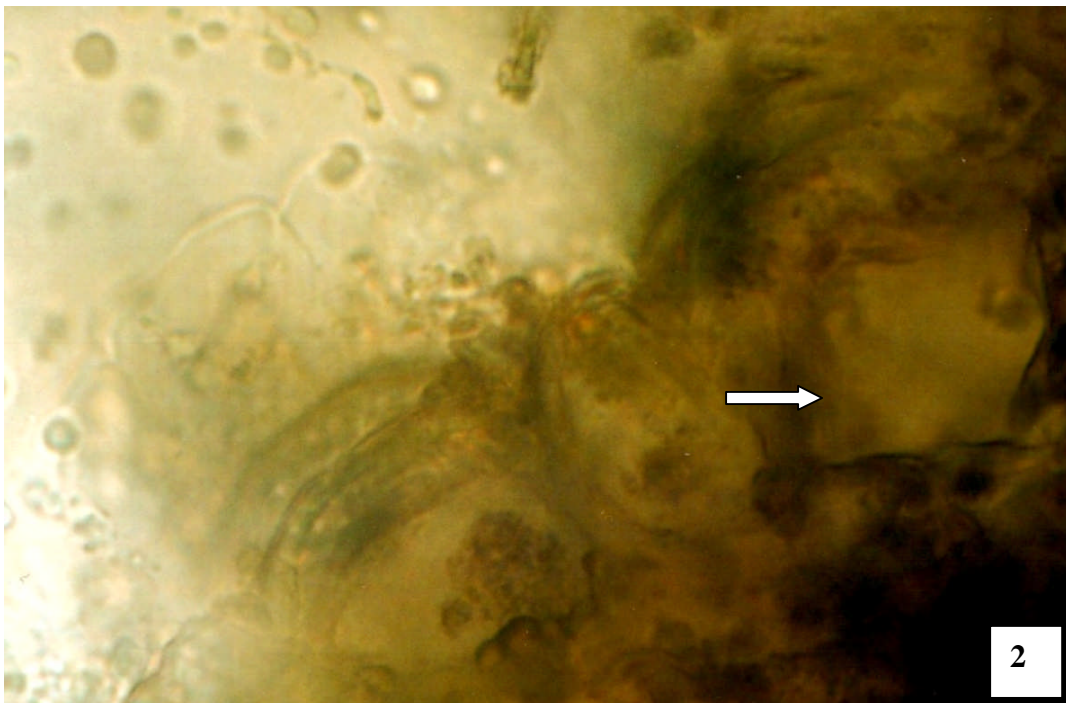


Figure IV.11: Coupe de la tige de *S. officinalis* L. Poches endogènes (Grx320).

- 1: avant traitement de la matière végétale ;
- 2: après macération de la matière végétale dans une solution aqueuse à 0,0045 mol/l de tensioactif pendant 24 heures, suivie d'hydrodistillation pendant 3 heures.

Après l'hydrodistillation la poche est déformée. On remarque l'apparition des gouttelettes d'huile essentielle sur la paroi supérieure de la poche et dans l'épiderme, s'acheminant vers la surface de la tige.

IV.2.6. Essais supplémentaires

Pour compléter cette étude, nous avons réalisé deux essais supplémentaires.

- Le premier essai nous a été suggéré par les observations microscopiques des coupes des organes de la plante après l'hydrodistillation qui ont montré que la matière végétale n'est pas épuisée de son huile essentielle au terme de trois heures d'extraction. Aussi, nous avons suivi la cinétique de l'hydrodistillation d'un échantillon représentatif du lot de *Salvia officinalis* L. du Jardin d'essais, de taux d'humidité 15,0%, en prolongeant l'extraction jusqu'à 4h30. L'échantillon a été préalablement macéré pendant 24 h dans une solution aqueuse de tensioactif à 0,0045 mol/L. La courbe cinétique est présentée à la figure IV.12 suivante.

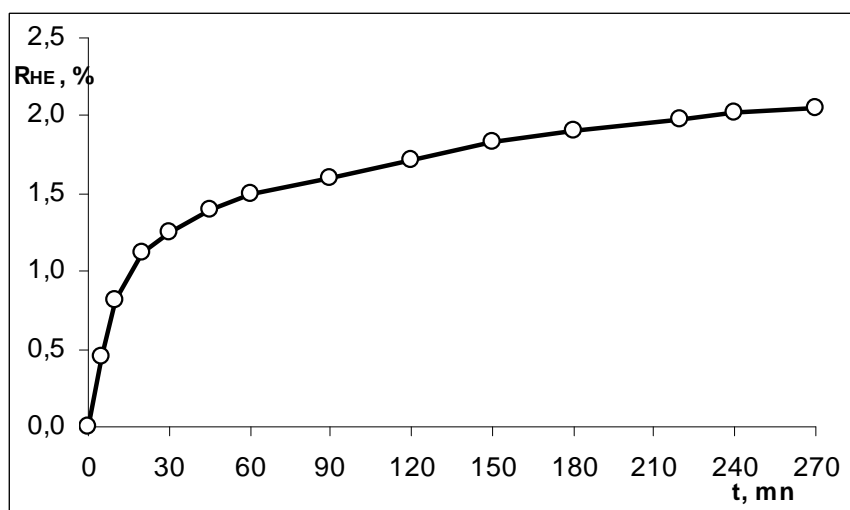


Figure IV.12: Courbe cinétique d'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de *S. officinalis* L. en présence de tensioactif avec macération de la matière végétale

On constate, en effet, une progression monotone du rendement en huile entre 180 et 240 mn d'extraction et tendance vers un palier dans les 30 dernières minutes. Le rendement en huile récupéré au terme de 4h30 d'extraction est de 2,05%, correspondant à une augmentation de 7,89 % par rapport à celui obtenu en 3h.

Sur le plan scientifique, ce résultat est intéressant, car il apporte une preuve supplémentaire de la présence de sites endogènes dans la structure sécrétrice de *Salvia officinalis* L. cultivé au Jardin d'essais, jusqu'à présent non signalés pour cette espèce.

Quant à la question faut-il, en pratique, prolonger l'hydrodistillation au-delà de 3 heures, des études analytiques et technico-économiques sont nécessaires pour y répondre.

- Le second essai supplémentaire a été réalisé avec une solution aqueuse de tensioactif de concentration égale à sa concentration micellaire critique. Le rendement en huile essentielle a été comparé aux rendements, obtenus [98] par hydrodistillation sans utilisation de tensioactif, essai de référence, et celui, réalisé avec la concentration optimale de 0,0045mol/L, tous les autres paramètres du procédé étant identiques. Le tableau IV.12 regroupe les résultats obtenus.

Tableau IV.12 : Rendements en huile obtenus lors de l'hydrodistillation de *S. officinalis* L. sans et avec tensioactif de différentes concentrations

Concentration en tensioactif, mol/L	0	$8,04.10^{-5}$*	0,0045
Rendement en huile, %	100	116,0	156,5

* Concentration micellaire critique du tensioactif (CMC)

Nous constatons une augmentation du rendement en huile, par rapport au rendement obtenu par hydrodistillation sans utilisation de tensioactif, de 16,0 % pour la concentration micellaire critique du tensioactif et de 56,5%, pour la concentration optimale, nettement supérieure à la CMC.

En tenant compte du fait que les solutions aqueuses amphiphiles n'agissent comme solvants de composés chimiques très peu solubles dans l'eau, qu'au dessus de la CMC, comme mentionné au paragraphe III.2.2.6., l'augmentation du rendement en huile constaté pour la concentration optimale serait due au pouvoir solubilisant du tensioactif. Il serait permis, si l'on se réfère à la figure III.5, représentant la variation des différentes propriétés en fonction de la concentration en tensioactif autour de la CMC, d'attribuer l'augmentation du rendement en huile observé pour la CMC, en majeure partie, à la propriété du tensioactif de diminuer la tension superficielle.

Chapitre V :
Etude de l'huile essentielle de
Salvia officinalis L.

V.1. Composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Nous avons procédé à l'analyse par chromatographie en phase gazeuse de deux échantillons d'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. cultivée au Jardin d'essais, obtenus par hydrodistillation pendant 4 heures, avec et sans tensioactif, afin d'élucider leur composition chimique.

V.1.1. Conditions opératoires d'analyse

Les huiles essentielles ont été analysées, à l'aide d'un appareil GC Agilent 6890N, dans les conditions opératoires suivantes :

- Colonne capillaire: en silice fondu, de longueur 30m et diamètre inférieur 0,32mm
- Phase stationnaire : HP5, épaisseur du film 0,25 μ m
- Gaz vecteur : hélium
- Détecteur : FID
- Débit de gaz vecteur : 0,5mL/mn
- Température de colonne : 60 à 220°C à raison de 3°C/mn et à 220° pendant 10mn
- Température de l'injecteur : 250°C
- Température du détecteur : 250°C
- Volume injecté : 1 μ l
- Mode d'injection : split 1/80

V.1.2. Identification des constituants

L'identification des principaux constituants des huiles essentielles analysées a été effectuée par comparaison de leurs indices de rétention à ceux obtenus dans les mêmes conditions opératoires, rapportés par un travail antérieur [12], relatif à l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau et l'analyse par CG-SM de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L, du même lot, cultivé au Jardin d'essais.

V.1.3. Résultats

Le chromatogramme de l'huile essentielle, notée par HD, obtenue par hydrodistillation sans addition de tensioactif est présenté à la figure V.1. La figure V.2 présente le chromatogramme de l'huile essentielle, désignée par HD+TA, obtenue par hydrodistillation avec macération préalable de la matière végétale dans une solution aqueuse de tensioactif à 0,0045mol/L.

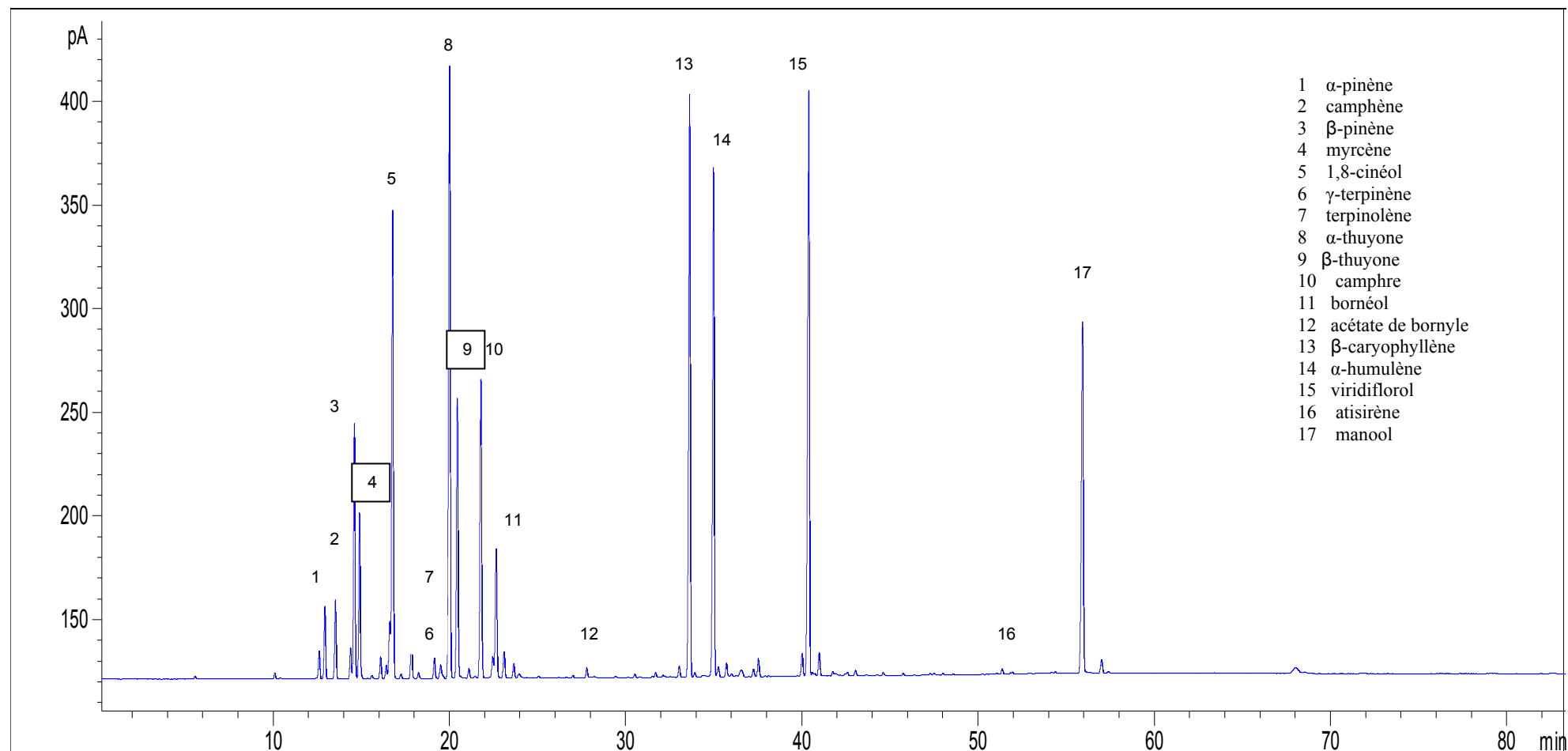


Figure V.1: Chromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. obtenue par hydrodistillation sans tensioactif.

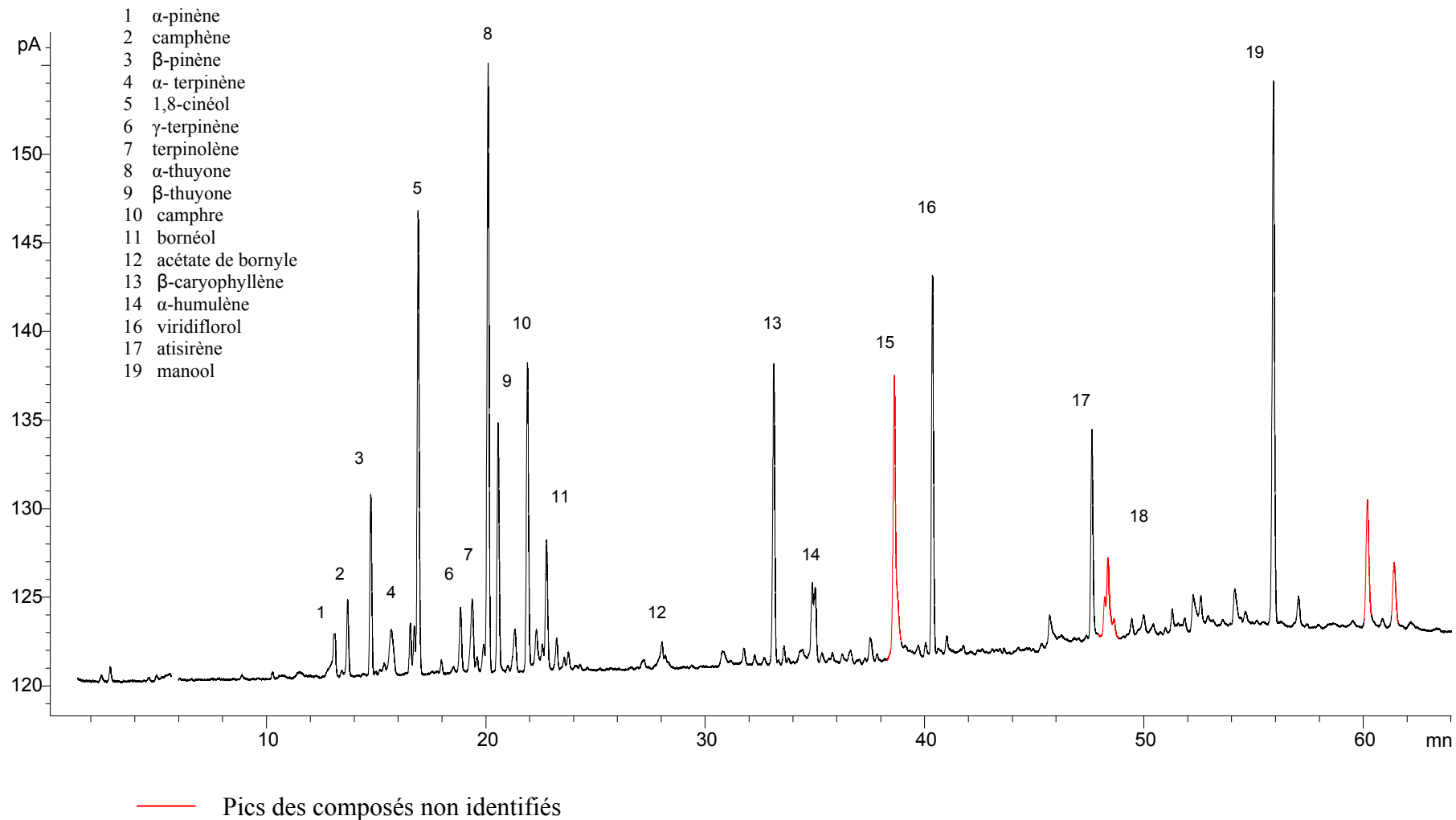


Figure V.1: Chromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. obtenue par hydrodistillation après macération pendant 24h dans une solution aqueuse de tensioactif.

Les profils chromatographiques des deux échantillons d'huile analysés montrent une similitude jusqu'à 30 minutes d'élution. Au-delà, l'allure des chromatogrammes présente des différences qualitatives et quantitatives: des nouveaux pics, en rouge, apparaissent dans le chromatogramme de l'échantillon extrait en présence de tensioactif, pour d'autres, la teneur dans l'huile change.

Les composés identifiés dans les deux échantillons d'huile sont réunis dans le tableau V.1 et énumérés par ordre décroissant de leur teneur.

Tableau V.1 : Teneurs relatives, en %, des composés identifiés dans les deux échantillons d'huile essentielle analysés

Echantillon HD		Echantillon HD+TA	
Composé	Teneur relative, %	Composé	Teneur relative, %
α -thuyone	12,60	manool	9,99
viridiflorol	12,49	α -thuyone	9,83
β -caryophyllène	11,68	1,8-cinéol	7,36
α -humulène	10,25	viridiflorol	6,35
1,8-cinéol	8,88	camphre	5,40
manool	8,18	β -caryophyllène	4,92
camphre	6,05	β -thuyone	4,04
β -thuyone	5,37	atisirène	3,52
β -pinène	4,68	β -pinène	2,84
myrcène	2,88	bornéol	2,35
bornéol	2,68	cis-hydrate de sabinène	1,65
camphène	1,43	α -terpinène	1,59
α -pinène	1,27	α -humulène	1,54
limonène	1,00	α -pinène	1,50
α -terpinène	0,39	allo-aromadendrène	1,41
α -terpinolène	0,35	camphène	1,26
allo-aromadendrène	0,23	γ -terpinène	1,16
acétate de bornyle	0,19	trans-pinocamphone	1,03
cis-hydrate de sabinène	0,11	acétate de bornyle	0,55
atisirène	0,10	α -terpinolène	0,49
Total	91,29	Total	80,22

Les composés identifiés se repartissent entre différentes classes chimiques, regroupées dans le tableau V.2 suivant.

Tableau V.2: Classes chimiques des composés présents dans les deux échantillons d'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Classe chimique	Teneur relative*, %	
	Echantillon HD	Echantillon HD+TA
Hydrocarbures monoterpéniques	13,14	11,02
Dérivés oxygénés des monoterpènes	39,83	40,15
Hydrocarbures sesquiterpéniques	24,27	9,81
Dérivés oxygénés des sesquiterpènes	13,68	16 ,06
Diterpènes et dérivés oxygénés	9,07	22,96

* y compris les composés non identifiés dans l'échantillon HD+TA

L'examen des valeurs du tableau V.2 montre que la teneur des monoterpènes et leurs dérivés oxygénés, ainsi que celle des dérivés oxygénés des sesquiterpènes, sont de même ordre de grandeur dans les deux échantillons. En revanche, la teneur des diterpènes et de leurs dérivés double dans l'huile extraite en présence de tensioactif, aux dépens de la teneur en hydrocarbures sesquiterpéniques.

A notre avis, les différences de composition qualitative et quantitative observées pourraient être attribuées à l'extraction, en présence de tensioactif, de l'huile essentielle localisée dans les poches endogènes qui serait plus riche en diterpènes et leurs dérivés.

Par ailleurs, si l'on se réfère aux courbes cinétiques de la figure IV.6 et aux chromatogrammes, on pourrait avancer l'hypothèse que dans l'huile essentielle, produite par les sites exogènes : les trichomes peltés et capités, prédominent les monoterpènes et leurs dérivés oxygénés.

V.2. Propriétés physiques de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Les propriétés physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle. Aussi, nous avons déterminé les densités et les indices de réfraction de l'huile essentielle de deux échantillons de *Salvia officinalis* L. cultivée au Jardin d'essais.

- **Echantillon 1** : obtenu par hydrodistillation sans addition de tensioactif.
- **Echantillon 2** : obtenu par hydrodistillation, avec macération pendant 24 heures dans une solution de tensioactif à 0,0045 mol/L.

V.2.1. L'aspect

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. est un liquide mobile, d'odeur caractéristique, de couleur jaune clair, pour l'échantillon 1 et rouge brique pour l'échantillon 2.

V.2.2. La densité

La densité de l'huile essentielle a été mesurée à l'aide d'un pycnomètre de 5mL, à la température de 20°C. Les valeurs sont réunies dans le tableau V.3 suivant.

Tableau V.3: Densité de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. à 20°C

Echantillon	1	2
Densité	0,859	0,885

Nous constatons que les valeurs de la densité mesurées ne sont pas conformes à la norme AFNOR (Tableau II.4), établies pour le chémotype de *Salvia officinalis* L. de qualité commerciale, en l'occurrence, le chémotype à α -thuyone. En effet, l'analyse par chromatographie en phase gazeuse a montré que la plante en provenance du Jardin d'essais n'appartient pas à ce chémotype. On remarque, aussi que la densité de l'huile obtenue par hydrodistillation, avec macération dans une solution de tensioactif est supérieure à celle de l'huile extraite sans addition de tensioactif. Ceci est dû, de toute évidence, à la différence des compositions qualitative et quantitative de deux échantillons.

V.2.3. L'indice de réfraction

L'indice de réfraction de l'huile essentielle a été mesuré à la température de 20°C, en utilisant la raie D de sodium. Les valeurs sont regroupées dans le tableau V.4.

Tableau V.4 : l'indice de réfraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Echantillon	1	2
Indice de réfraction	1,4668	1,4566

Nous observons que la valeur de l'indice de réfraction de l'échantillon 1 est conforme à la norme AFNOR (Tableau II.4), ce qui n'est pas le cas pour celle de l'échantillon 2. Cette

variation de l'indice de réfraction est à attribuer à la composition chimique différente de l'huile obtenue par hydrodistillation en présence de tensioactif.

V.3. Propriétés antibactériennes

Nous avons évalué, par la méthode d'antibiogramme, l'activité antimicrobienne in vitro de deux échantillons d'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. cultivée au Jardin d'essais:

- Echantillon HD, obtenu par hydrodistillation pendant 4h, sans addition de tensioactif
- Echantillon HD+TA, obtenu par hydrodistillation pendant 4h, avec macération préalable dans une solution de tensioactif à 0,0045 mol/L.

La concentration utilisée d'huile a été de 5µl/disque, soit inférieure à 5µg/disque.

Les tests ont été effectués sur onze souches bactériennes, appartenant à trois familles, cocci, entérobactéries et BGN oxydatif. Certaines proviennent des prélèvements cliniques, d'autres, sont des souches de référence ATCC (American typing culture collection).

Le tableau V.5 suivant, réunit les microorganismes testés, leur origine et les diamètres, en mm, des zones d'inhibition.

Tableau V.5 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation avec et sans tensioactif de *Salvia officinalis* L., en provenance du Jardin d'essais

Microorganisme	Origine	Diamètre de la zone d'inhibition, mm	
		HD	HD+TA
Cocci			
<i>Streptococcus B</i>	P.A.	<6	18
<i>Streptococcus D</i>	P.A.	15	<6
<i>Streptococcus nongroupable</i>	P.A.	<6	25
<i>Streptococcus B</i>	ECBU	30	40
Entérobactéries			
<i>Echerichia coli</i>	ATTC 25922	<6	16
<i>Echerichia coli</i>	ECBU	<6	15
<i>Morganella morganii</i>	ECBU	<6	20
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ECBU	<6	<6
<i>Salmonella typhi</i>	H.C.	<6	<6
<i>Salmonella typhi</i>	C.P.C.	<6	<6
BGN oxydatif			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATTC 27853	<6	<6

ECBU: examen cytbactériologique des urines; H.C.: hémoculture; C.P.C.: coproculture; P.A.: pus d'abcès; ATCC: American typing culture collection

L'examen de ces résultats montre que l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation sans addition de tensioactif présente une activité vis-à-vis de deux souches de cocci, alors que six microorganismes, trois cocci et trois entérobactéries, sont sensibles à l'action de l'huile obtenue par hydrodistillation en présence de tensioactif. Il serait permis de penser que la composition chimique différente de ces deux échantillons d'huile est à l'origine de leur comportement à l'encontre des microorganismes.

Toutes les souches testées font partie du groupe 2 de la classification des bactéries, en fonction de l'importance du risque d'infection qu'elles présentent pour une personne en bonne santé. Un agent biologique du groupe 2 peut provoquer une maladie chez l'homme et peut constituer un danger pour les travailleurs de la santé. Sa propagation dans la collectivité est improbable et il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace. [99]

Parmi les microorganismes présentant une sensibilité à l'action de l'huile, certains sont, donc, pathogènes :

- ***Streptococcus B*** est une bactérie communément trouvée dans le tractus digestif ou génital des adultes. Elle est aussi responsable d'infections néonatales sévères: 2 à 3 cas pour 1000 naissances. C'est une des premières causes de septicémie, de méningite et de pneumonie chez les nouveau-nés. Elle est, de plus, à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité non négligeable chez les personnes âgées et les individus souffrant de pathologies sous-jacentes : personnes immunodéprimées, diabétiques, cirrhotiques... Par ailleurs, le streptocoque B est également un problème vétérinaire: il est considéré comme une des principales causes d'infections mammaires chez les bovins [100].

- ***Streptococcus non groupable*** est à l'origine, entre autres, des arthrites septiques et affecte surtout les femmes. L'infection est plus torpide avec, notamment, les non groupables, les D et les G. Quelque soit le germe, la moitié des patients a des séquelles [101]

- ***Morganella morganii*** est isolée de l'intestin des mammifères, notamment de l'homme et du chien, mais aussi des oiseaux et des reptiles. Elle est responsable d'infections opportunistes : infections urinaires, infections des plaies, abcès, bile, infections de l'appareil respiratoire, septicémies et, plus rarement, arthrites, myosites, méningites. Les souches de *Morganella morganii* sont résistantes à l'érythromycine et à la pénicilline G [99].

• *Escherichia coli*, est une bactérie commune de la flore intestinale des mammifères, en particulier chez l'être humain. Les *E. coli* sont pathogènes dans des localisations extra-intestinales et provoquent abcès, péritonites, septicémies et surtout infections urinaires [102].

En microbiologie, l'appréciation de la sensibilité d'un microorganisme vis-à-vis d'une substance antibiotique est réglementée [103], de sorte que trois catégories cliniques sont retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité *in vitro* : Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I)

- Les souches catégorisées S sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte;
- Les souches catégorisées R sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée;
- Les souches catégorisées I sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible. Ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus *in vitro* ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique.

Le tableau V.6 réunit les concentrations et les diamètres critiques des zones d'inhibition pour quelques uns des antibiotiques indiqués contre les souches testées et pour nos huiles.

Tableau V.6: Concentrations, diamètres critiques des zones d'inhibition de lecture interprétative [103]

Microorganisme	Antibiotique	µg/ disque	Diamètres critiques, mm	
			S	R
<i>Streptococcus</i> spp.	Chloramphénicol	30	≥ 23	< 19
	Tigécycline*	15	≥ 22	≥ 22
	Spiramycine	100	≥ 24	< 19
	HD+TA	<5	18 à 40	
<i>Morganella morganii</i>	Ampicilline	10	≥ 19	< 16
	Amoxicilline	25	≥ 21	< 16
	HD+TA	<5	20	
<i>Echerichia coli</i>	Céfalotine	30	≥ 18	< 12
	HD+TA	<5	15 à 16	

* Interprétation valable pour les *Streptococcus* A, B, C, G

En comparant les diamètres des zones d'inhibition mesurées pour une masse d'huile par disque inférieure à 5 µg, nettement plus faible que les masses d'antibiotique par disque, mentionnée dans le tableau V. , on constate que leurs valeurs sont de l'ordre de grandeur des diamètres critiques correspondant aux souches catégorisées sensibles. Par conséquent, on peut conclure que la probabilité de succès thérapeutique vis-à-vis de ces souches, en utilisant l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. cultivée au Jardin d'essais, en particulier, celle obtenue par hydrodistillation en présence de tensioactif, est forte.

Il est à noter que l'antibiogramme ne renseigne que sur l'activité bactériostatique. L'étude du pouvoir bactéricide d'une substance sur la souche isolée nécessite des tests in vivo qui relèvent des compétences des microbiologistes.

Conclusion

Ce travail porte sur l'extraction, par hydrodistillation en présence de tensioactif, de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., provenant de deux lots cultivés, respectivement, à l'ENP et au Jardin d'essais d'Alger, sur l'élucidation de sa composition chimique, la détermination de ses propriétés physiques et l'évaluation de son activité antimicrobienne.

L'optimisation des paramètres du procédé a été menée à l'échelle laboratoire, en faisant appel à la planification des expériences, pour la masse de matière végétale à traiter et la concentration de la solution aqueuse du tensioactif, et à la méthode classique, pour le rapport volume de liquide/ masse de solide et la durée de macération de la matière végétale dans la solution aqueuse du tensioactif avant l'hydrodistillation. Les résultats obtenus ont permis de fixer les conditions optimales de l'hydrodistillation de *Salvia officinalis* L. en présence de tensioactif comme suit :

- Concentration en tensioactif : 0,0045 mol/L.
- Rapport volume d'eau/masse de matière végétale : voisin de 13.
- Macération de la matière végétale dans la solution aqueuse du tensioactif avant l'hydrodistillation pendant 24h.

Quant au débit de vapeur, il a été montré qu'il reste le paramètre prédominant du procédé, car des essais d'extraction par hydrodistillation, menés à l'échelle semi-pilote, sans addition de tensioactif, avec un débit de vapeur élevé et dans les conditions optimales suscitées, mais avec un faible débit de vapeur, ont fourni des rendements différents: le rendement le plus élevé a été obtenu par l'essai réalisé avec un débit de vapeur élevé, sans addition de tensioactif. Toutefois il a été constaté, au vu des résultats d'une série d'essais, que l'impact de ce paramètre sur le rendement en huile est accentué lorsque l'hydrodistillation est effectuée en présence de tensioactif.

Enfin, il a été constaté que quelque soient la provenance de la plante et la manière de mener l'hydrodistillation, avec ou sans tensioactif, les rendements en huile essentielle les plus élevés sont obtenus lors de l'hydrodistillation de la plante sèche.

L'étude de la cinétique de l'hydrodistillation, avec et sans addition de tensioactif, avec et sans macération de la matière végétale, a montre que celle-ci n'est affectée par la présence de tensioactif qu'au-delà des 30 premières minutes. Ce résultat, conjointement avec les observations microscopiques effectuées sur les coupes des différents organes de la plante avant et après l'hydrodistillation, a permis d'émettre des hypothèses sur la manière, dont le tensioactif intervient dans l'hydrodistillation de l'huile essentielle, en tenant compte de la structure sécrétrice de cette plante.

Il est à noter, en outre, que le plus faible rendement en huile, 1,44%, a été obtenu lors de l'hydrodistillation de l'échantillon sans addition de tensioactif. En présence de tensioactif sans macération préalable, le rendement a été amélioré de 16% et vaut le double, soit 32%, après macération de la matière végétale dans une solution aqueuse de tensioactif.

Par ailleurs, les observations microscopiques des coupes des organes de la plante après l'hydrodistillation ayant montré que la matière végétale n'est pas épuisée de son huile essentielle au terme de trois heures d'extraction, l'hydrodistillation a été prolongée jusqu'à 4h30. Pour cette durée d'extraction de 4h30, l'augmentation du rendement en huile comparé à celui obtenu sans tensioactif, n'est que de 16,0%, lorsque l'hydrodistillation est réalisée, après macération préalable de la matière végétale dans une solution aqueuse, de concentration, égale à la concentration micellaire critique du tensioactif et de 56,5%, à la concentration optimale.

L'analyse par CPG, de deux échantillons d'huile essentielle de *S. officinalis* L., en provenance du Jardin d'essais, obtenus par hydrodistillation avec et sans tensioactif, a montré des différences qualitatives et quantitatives de leur composition chimique, concernant, notamment, la teneur des diterpènes et de leurs dérivés, qui double dans l'huile extraite en présence de tensioactif, aux dépens de la teneur en hydrocarbures sesquiterpéniques.

Les propriétés physiques des huiles essentielles obtenues avec et sans tensioactif, notamment, leurs aspects, densités et indices de réfraction, ne sont pas conformes aux normes AFNOR, car ces dernières ont été établies pour l'huile commercialisée de *Salvia officinalis* L., appartenant à un autre chémotype.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle, évaluée *in vitro* par la méthode de l'antibiogramme, vis-à-vis de 11 souches de bactéries, a montré que l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation sans addition de tensioactif présente une activité à l'encontre de deux souches de cocci, alors que six microorganismes, trois cocci et trois entérobactéries, sont sensibles à l'action de l'huile obtenue par hydrodistillation en présence de tensioactif. Les diamètres des zones d'inhibition mesurés, montrent que la probabilité de succès thérapeutique vis-à-vis de ces souches, en utilisant l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. étudiée, notamment, celle obtenue par hydrodistillation en présence de tensioactif, est très élevée.

Cette étude, loin d'être achevée, ouvre la voie de futures recherches, aussi bien dans le domaine des sciences appliquées que fondamentales, en vue de la valorisation de *Salvia officinalis* L.

Bibliographie

- [1] **Site web** <http://fr.wikipedia.org/wiki/Sauge>, article de « Wikipédia, l'encyclopédie libre » 2009.
- [2] **Site web** <http://fr.wikipedia.org/wiki/saugeofficinale>, article de « Wikipédia, l'encyclopédie libre » 2009.
- [3] **V. RODZKO**,
Abécédaire de Phytothérapie, 1999-2000.
- [4] **Z. AFZAL-RAFII**,
Etude cytotoxinomique et phylogénétique de quelques *Salvia* de la région méditerranéenne ; groupe du *Salvia officinalis*. Tome 123, Fascicule 9, 1976.
- [5] **Site web** http://effeuillage.cahors.free.fr/fichiers/dossiers_2006/SAUGE.pdf.
- [6] **Site web** <http://www.gerbeaud.fr/plantes/salviaofficinal.htm>.
- [7] **M. WICHTL, R. ANTON**,
Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC et DOC, 2003.
- [8] **S. AKHONDZADEH, M. NOROOZIAN, M. MOHAMMADI & coll**,
Salvia officinalis L., extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebo-controlled trial. J Clin Pharm Ther, 2003.
- [9] **E. GEORGIEV**,
Technologie des produits aromatiques naturels et synthétiques, Ed. Zemizdat, Sofia, 1995.
- [10] **E. WERKER, E. PUTIEVSKY, U. RAVID, N. DUDAI, I. KATZIR**,
Glandular Hairs, Secretory Cavities and the Essential Oil in the Leaves of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, Volume 2, Issue 3, 1994.
- [11] **J. CARR**,
Oil glands and ducts in *Eucalyptus* l'Herit. II. Development and structure of oil glands in the Embryo Aust., J. Bot., 18: 191-212, 1970.
- [12] **K. KASSOUSSI, M. M. ZEKRI**,
L'huile essentielle de *Salvia officinalis*. L: extraction, composition chimique, propriétés physiques et antimicrobiennes. Projet de fin d'études, ENP, Département Génie Chimique, Alger, 2008.
- [13] **I. CHAFAA**,
Mémoire de Magister, ENP, Département de Génie chimique, en cours.

[14] **G. CORSI, S. BOTTEGA,**

Glandular Hairs of *Salvia officinalis*: New Data on Morphology, Localization and Histochemistry in Relation to Function. *Annals of Botany*, 84: 657-664, 1999.

[15] **Site web** [http://www.petitpanda.info/les huiles essentielles](http://www.petitpanda.info/les_huiles_essentielles).

[16] **Dictionnaire Larousse**, édition 2000.

[17] **AFNOR**, « Huiles essentielles »

Recueil des normes françaises, 5^oédition, AFNOR, Paris, T2, p. 4, 1996.

[18] **J. BRUNETON,**

Phytochimie. Plantes médicinales. Tec et Doc Lavoisier, Paris, p.915, 1993.

[19] **M. K. RAI, D. ACHARYA, P. WADEGAONKAR,**

Plant derived antimicrobics potential of asteraceous plants, In: *Plant derived antimicrobics: current trends and future prospects*, Haworth press, N-York, London, Oxford, 165-185, 2003.

[20] **N. PORTER,**

Essential oils and their production, *Crop, Food Research*, N° 39, 2001.

[21] **P. BELAICHE,**

Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome1 L'aromathérapie, Ed.Maloni. S.A. Paris, 1979.

[22] **J. P. WILLEM,**

Les huiles essentielles, médecine d'avenir, p. 318, 2004.

[23] **K. P. SVOBODA, J. B. HAMPSON,**

Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory, and other related pharmacological activities, *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK, KA6 5HW*, 1999.

[24] **B. SMALLFIELD,**

Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop, Food Research*, N° 45, p 4, 2001.

[25] **J. BRUNETON,**

Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3^{ème} éd., Editions médicales internationales. Editions Tec et Doc Lavoisier, Paris, p. 1120,1999.

[26] **H. TATU,**

"Industrie moderne des parfums", Ed. J.B BAILLIERE. & fils, 1932.

[27] **Site web** [http:// www.penntybio.com/huiles/propriete-huile-essentielle.htm](http://www.penntybio.com/huiles/propriete-huile-essentielle.htm).

[28] **A. P. SHLYAPNIKOVA, V. A. S HLYAPNIKOV,**

Masleno-jyrovaia promishlenost, N°7, 27-29, 1980.

[29] **E.V. GEORGIEV, S. T. STILIANOV, N. S. GENOV,**

Evaporativity and water solubility of Fennel oil, Essential Oil Technical Paper, Book I, pp 80-83, IXth International congress of Essential Oils, Singapore, 1983.

[30] **S. CHARCHARI, S. BENZAGHOU, H. MAIZA,**

Water solubility and volatility of Algerian *Mentha piperita* L. essential oil and its major components, Conférence Internationale "Food Science, engineering and technologies 2006", 27-28 Octobre, Plovdiv, Bulgarie, 2006.

[31] **L. R. HERNANDEZ OCHOA,**

Substitution des solvants et matières actives de synthèse par « solvant/actif » d'origine végétale, Thèse de doctrat, Institut national polytechnique, Toulouse, France, 2005.

[32] **M. OUSSALAH, S. CAILLET, L. SAUCIER, M. LACROIX,**

Inhibitory effects of selected plant essential oils on four pathogen bacteria growth: E. coli O157:H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes, Food Control, 2007.

[33] **H. VIAUD,**

Distillateur - Thérapeutiques naturelles, Ed GNOMA, 1993.

[34] **B. M. LAWRENCE,**

Perfumer& Flavor, 6(4), 49, 1981.

[35] **A. O. TUCKER, M. J. MACIARELLO,**

Journal of Essential Oil Research 3: 195-196. 1991.

[36] **D. MOCKUTÉ, O. NIVINSKIENÉ, G. BEMOTIENÉ, R. BUTKIENÉ ,**

The cis-thujone chemotype of *Salvia officinalis* L. essential oils, Chemija, Vol 14, N°4, pp. 216-220, Vilnius, 2003.

[37] **E. GUENTHER,**

Oil of sage, in The Essential Oils. Ed Krieger: Malabar, 1949.

[38] K. M.HAY R, P. G.WATERMAN,

In Volatile Oil Crops: Their Biology, Biochemistry and Production. Eds.; Longman: Harlow, U.K., 1993.

[39] NORME ISO 9909, 1999.

[40] T. DOB, T. BERRAMDANE, D. DAHMANE, T. ABDELKADER, C. CHELGHOUM,
Chemical composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from Algeria,
Chemistry of Natural Compounds, Vol. 43, N°4, 2007.

[41] G. BERNOTIENE, O. NIVISKIENE, R. BUTKIENE, D. MOCKUTE,
Essential oil composition variability in sage (*Salvia officinalis* L.)
Chemija, Vol. 18, N°4, pp. 38-43, 2007.

[42] M. AMELLAL, S. ACHOURI,

Contribution à l'étude de l'huile essentielle de la sauge. Projet de fin d'études, INA, Alger, 1998.

[43] N. LAZLI, O. BENSELMA,

Extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. Projet de fin d'études, ENP, Département Génie Chimique, Alger, 2007.

[44] I. CHAFAA,

Extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. par différents procédés. Projet de fin d'études, ENP, Département Génie Chimique, Alger, 2006.

[45] T. BERNARD, F. PERRINEAU, R. BRAVO, A. GASSET,

Extraction des huiles essentielles (chimie et technique). Information chimie, n° 298, pp : 178-784, 1988.

[46] N. BRUNETON,

Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} édition, Ed. Lavoisier, 1993.

[47] J. H. RICHARDS, D.J. CRAM, G. S. HAMMOND,

Eléments de chimie organique, Ed. McGraw-Hill, 1984

[48] T. G. SAGAREISHVILI, B. L. GRIGOLAVA, N. E. GELASHVILI, E. P. KEMERTELIDZE,

Composition of Eessential oil from *Salvia officinalis* cultivated in Georgia, Chemistry of Natural Compounds, Vol. 36, No. 4, 2000.

[49] AFNOR,

Les huiles essentielles. Recueil de normalisation française, 1992.

[50] E. GELDMEISTER, F. HOFFMAN,

Les huiles essentielles, T III. Ed. la maison Schimmel, 1919.

[51] M. EDEAS,

Guide du Gourmet, Ed la société française des antioxydants. 3^{ème} Conférence Ingrédients Minceur, 2007.

[52] M. CUVELIER, C. BERSET et H. RICHARD,

Antioxydant constituents in sage (*Salvia officinalis* L.) J.Agric, Food chem, 1994.

[53] M. WICHTL, R. ANTON,

Plantes thérapeutiques, tradition pratique officinale science et thérapeutique, 2^{ème} édition, Ed TEC et DOC, 2003.

[54]: D. BARICEVIC, T. BARTOL,

The biological/pharmacological activity of the genus *Salvia*, Chapter V: Pharmacology in:

S. E. KINTZIOS, Sage: The Genus *Salvia*, Ed Harewood Academic Publishers, Amsterdam, p.143-184. 2000.

[55] Y. REN, J. P .HOUGHTON, C. R. HIDER, R. J. M. HOWES,

Novel diterpenoid acetylcholinesterase inhibitors from *Salvia miltiorhiza*.

Planta Med. 70 201-204, 2004.

[56] L. L. ZAIKA

Spices and Herbs - Their Antimicrobial Activity and Its Determination, *Journal of Food Safety* 9-2: (97-118),1988.

[57] M. P. R. RODRIGUEZ,

Emulsification en Cuve Agitée : Rôle du Protocole Opérateur sur l'Inversion de Phase Catastrophique, Thèse doctorat, 2007.

[58] T. TRANDAFILOV, E. MINKOV,

Die Pharmazie, vol.24, pp. 327-328, 1969.

[59] D. MIHAILOVA , E. MINKOV, T. TRANDAFILOV,

Die Pharmazie, vol.21, pp 483-485, 1966.

[60] E. MINKOV, D. MIHAILOVA, T. TRANDAFILOV,

Die Pharmazie, vol. 21, pp 611-613, 1966.

[61] E. MINKOV, D. MIHAILOVA, T. TRANDAFILOV,

Die Pharmazie, vol. 22, pp 213-215, 1967.

[62] G. GANTCHEV, L. PETKOV, L. KOUPENOV,

Travaux scientifiques de l'Université des Technologies Alimentaires, vol. 25, N3, pp. 193-196, Polvdiv, Bulgarie, 1978.

[63] H. BAYDAR, N. BAYDAR,

Industrial Crops and Products, vol. 21, pp 251- 255, 2005

[64] A. DOBREVA, N. KOVATCHEVA,

Travaux scientifiques de l'Université des Technologies Alimentaires, vol. L V, N1, pp 303 -307 Polvdiv, Bulgarie, 2007.

[65] V. STAIKOV, G. ZOTOVITCH,

Risvista Italiana, N° 12, pp 547-549, 1963.

[66] P. BUTIN, A. DOS SANTOS, C. GIRARD, F. JAKOB,

Savons et détergents synthétiques, Prépa Capes 2007/2008.

[67] L. MARCOU,

Agents de surface, Techniques de l'ingénieur, A7610.

[68] C. LARPENT,

Tensioactifs, Techniques de l'ingénieur, K342.

[69] C.E.CHITOUR,

Physico-chimie des surfaces, vol 1, OPU, Alger 1992.

[70] K. TEIXEIRA DA SILVA DE LA SALLES et références citées,

Approche thermodynamique et cinétique de l'extraction à deux phases aqueuses à l'aide de tensioactifs non ioniques, Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 2004.

[71] J. R. STOKES, D. F. EVANS,

Fundamentals of interfacial engineering, Ed. New York, Wiley-Vch., 1997.

[72] D. F. EVANS, H. WENNERSTROM,

The colloidal domain, New York: Wiley, pp 14-45, 1994.

[73] A. GERSCHEL,

Liaisons intermoléculaires. Les forces en jeu dans la matière condensée, EDP Sciences Editions, 1995.

[74] PUISIEUX, M. SEILER,

Agents de surface et émulsions, Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier, 1983.

[75] A. LE HIR, Y. COHEN,

Pharmacie galénique: bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 8^{ème} édition, Ed. Elsevier Masson, p.172, 2001.

[76] L. HO TAN TAI,

Détergents et produits de soins corporels, Ed. Dunod, 1999.

[77] Site web <http://fr.wikipedia.org>.

[78] C. JEANNON, Y. POURCELOT, A. VERNEY,

"Génie chimique, Génie pharmaceutique", PROB. PHARM., vol. 28 N°8, 1973.

[79] E. GUENTHER,

"The essential oils, Vol. I, History-origin in plants production analysis", Ed E.krieger, Florida, pp. 87-201, 1972.

[80] E. BOCCHIO,

"Natural essentials oils", Parfums Cosmét. Arômes, pp61 – 63, 1985.

[81] J. VIDAL,

"Thermodynamique méthodes appliquées au raffinage et au génie chimique", Société des éditions Technip & IFP, Paris, pp386, 228, 1973.

[82] D. L. PAVIDA, G.M. LAMPMAN, G. S. KRIZ,

"Introduction to organic laboratory techniques", Ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia, USA, pp. 567-573, 1976.

[83] S. MARTINEZ, A. MARCO,

"Application de la coalescence sur lit fibreux à la séparation des huiles essentielles en parfumerie", Thèse de l'Institut National des Sciences Appliquées, Toulouse, France, 1981.

[84] J. CARNERO, R. JOBBACHI,

Contribution à l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de cyprès Algérien, Rivista Italiana. E. P. P. O.S, 1975.

[85] M. P. OTTO,

L'industrie des parfums, Ed DUNOD, 1961.

[86] Site web : <http://fr.wikipedia.org/wiki/turgescence>, article de « Wikipédia, l'encyclopédie libre » 2009.

[87] M. G. CEPRA, R. B. MATO, M. J. COCERO,

Modeling steam distillation of essential oils: application to Lavandin super oil, AICHE Journal, Vol. 54, N° 4, pp. 909-917, 2008.

[88] E. GUEORGUIEV, N. GUENOV, R. D. LASAROVA, G. P. GANTCHEV,

Rivista Italiana. E. P. P. O.S., Maggio, 1978.

[89] C. V. RECHENBERG,

Theorie der gewinnung und trennung der Atherischen öle durch distillation, Miltitz Bei Leipzig, Selbsverlag Von Schimmel et Co, p.261-317, 1910.

[90] N. N GOKHALE, Y.MASADA,

VII International congres essential oils, 242,1977.

[91] A. KOEDAM, J. J. C. SHEFFER, A. B. SVENDSEN,

Chem. Mikrobiol. Echnol.Lenensm., 6, 1, 1979.

[92] P. MORIN, H. RICHARD,

Progress in flavor reseach, 563,1984.

[93] L. CRABALONA,

France et ses pafums, 12, 27, 1956.

[94] A. KOEDAM, A. LOOMAN,

Planta Médica, 22, 1980.

[95] A. KOEDAM,

Aromatic plants, 229,1982.

[96] J. GOUPY, L. CREIGHTON, Introduction aux plans d'expériences, 3^{ème} édition, Ed. Dunod, 2006.

[97] Logiciel Statgraphics Plus, version 5.1, Manugistic Inc., 2002.

[98] S. CHARCHARI, Extraction de l'huile essentielle de *S. officinalis* L., ENP, Département de Génie chimique, Travaux en cours

[99] J.P. EUZÉBY,

Dictionnaire de bactériologie vétérinaire, <http://www.bacdico.net/>

[100] Ph. GLASER et coll ,

Genome sequence of *Streptococcus agalactiae*, a pathogen causing invasive neonatal disease, Molecular Microbiology, 16 septembre, 2002.

[101] J.-J. DUBOST et coll ,

Revue du Rhumatisme, Vol. 71, Issue 7, pp. 588-596, 2004.

[102] Site Web : http://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli

[103] RECOMMANDATIONS 2009 ,

Comité de l'antibiogramme, Société française de microbiologie, Edition de Janvier 2009.

[104] Site web: http://fr.wikipedia.org/wiki/Appareil_de_Dean_Stark.

[105] Site web : <http://www.faidherbe.org/site/cours/dupuis/alcools.htm> (image).

[106] V.-G. De BILLERBECK ,

Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques, *Phytothérapie* 5: 249–253, 2007

[107] J.-L. et J.-L FAUCHER,

"Bactériologie générale et médicale" Ellipses Editions Paris, p.365, Avril, 2002.

Annexes

Le taux d'humidité de la matière végétale a été déterminé dans l'appareil de Dean Stark, présenté à la figure suivante.

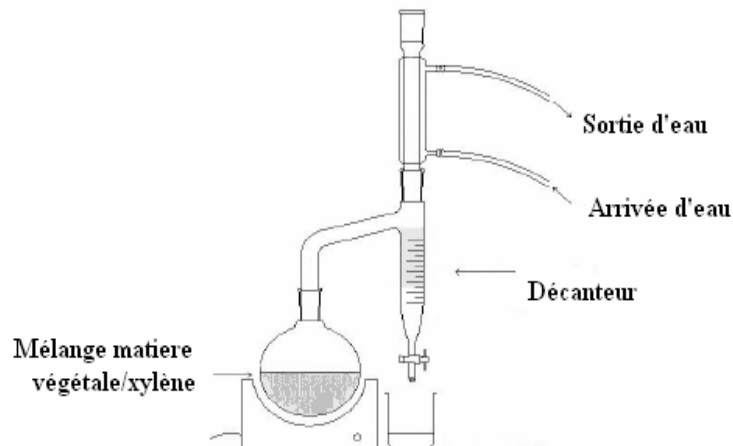


Figure annexe I : Montage de Dean et Stark [104]

Une masse de matière végétale, pesée avec précision 10^{-4} g, est introduite dans le ballon et immergée dans du xylène. Le mélange est porté à ébullition et les vapeurs contenant l'eau et le solvant montent jusqu'au réfrigérant et, une fois liquéfiées, sont recueillies dans le tube gradué. À l'intérieur de celui-ci ces liquides non miscibles se séparent en deux phases. Lorsque la phase supérieure, dans notre cas le xylène, atteint le niveau du bras, elle coule dans celui-ci et retourne dans le ballon, alors que la phase inférieure, l'eau, reste dans le tube. L'opération est arrêtée lorsque le volume d'eau n'augmente plus. Le volume d'eau et la température ambiante sont mesurés avec précision, après une séparation complète des deux phases.

La teneur en eau de la matière végétale, exprimée en % de masse de la matière végétale, est calculée par la formule suivante [105] :

$$H = (V_{\text{eau}} \cdot \rho_{\text{eau}}) \cdot 100/M$$

H : taux d'humidité, %

V_{eau} : volume d'eau recueilli dans le tube récepteur, mL.

ρ_{eau} : masse volumique de l'eau à la température ambiante, g/mL.

M : masse de la matière végétale, g

La méthode de l'antibiogramme est appelée méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette technique courante, utilisée en bactériologie médicale [106], est schématisée à la figure ci-dessous.

La technique consiste à déposer des disques de papier Wattman de diamètre de 6 mm, imprégnés d'une quantité donnée d'huile essentielle à tester, à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec suspension de chaque souche à étudier. Cette suspension est préparée dans l'eau distillée stérile et ajustée à 10^8 bactéries/mL. Dès l'application des disques, l'huile essentielle diffuse de manière uniforme au sein de la gélose. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires indemnes de colonies. Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe [107].

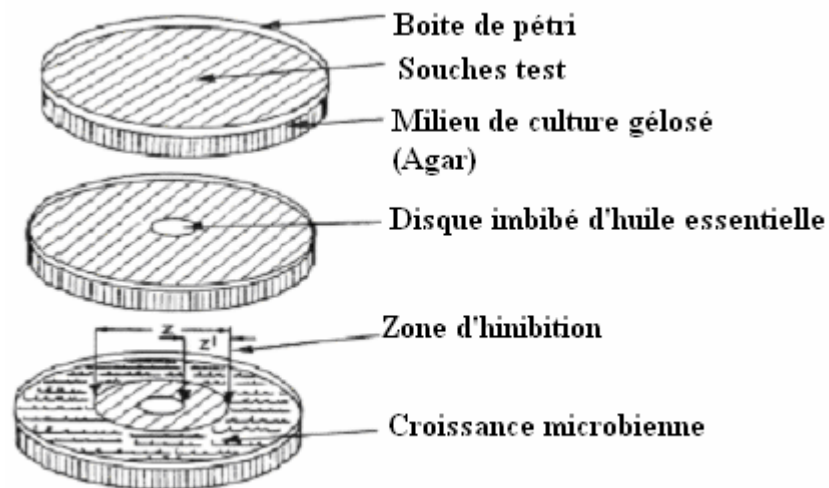


Figure annexe II : Illustration de la méthode d'antibiogramme sur boîtes de Pétri [56]