

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Polytechnique



Département Génie Chimique

Mémoire Magister

Thème

**Huile essentielle de *Salvia Officinalis* L. :
extraction, composition chimique, propriétés physiques
et antimicrobienne.**

Présenté par :

M^{me} Legder Ibtissem née Chafaa

Ingénieur d'état en Génie Chimique de l'Ecole Nationale Supérieure Polytechnique

Soutenue en Avril 2009 devant la commission d'examen :

M C.E. Chitour	Professeur à l'ENSP	Président
M E.H. Benyoussef	Professeur à l'ENSP	Examineur
M T. Ahmed Zaid	Professeur à l'ENSP	Examineur
M ^{me} Derriche	Professeur à l'ENSP	Examinatrice
M ^{me} S.Charchari	Professeur à l'ENSP	Rapporteur
M A.Keddad	Professeur à l'INA	Invité

Ce travail a été réalisé, sous la direction de Professeur S. CHARCHARI, au laboratoire de Valorisation des énergies fossiles, dirigé par Professeur C.-E. CHITOUR et s'inscrit dans le cadre des activités de recherche de l'équipe de Valorisation des espèces végétales régionales, dirigé par Professeur E.-H. BENYOUSSEF.

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Madame S. CHARCHARI, Professeur à l'ENSP pour m'avoir confié ce sujet, ainsi pour ces encouragements, conseils précieux, motivations et suivi réguliers sans lesquels ce travail n'aurait pas pu aboutir.

Je tiens à remercier M C.E. CHITOUR, Professeur à l'ENSP de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury.

Que Madame DERRICHE, Professeur à l'ENSP.

Monsieur E.H.BENYOUSSEF, Professeur à l'ENSP.

Monsieur T. AHMED ZAID, Professeur à l'ENSP.

Trouvent ici l'expression de mes plus vif remerciements pour avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie du jury.

Je remercie également M KEDDAD, Professeur à l'INA.

Dédicaces

*A la mémoire de mon père,
A ma mère et mon oncle Slimane,
A mon mari Farid,
A mon frère Abdelmoumene,
A ma belle famille,
A ma tante Leila et sa famille,
A mes oncles Mohamed et Amar,
A toute ma famille,
A mes amies Sabrina, Ouafa et Kaissa,
A tous ceux qui me sont chère,*

Je dédie ce modeste travail.

Huile essentielle de *Salvia officinalis* L. : extraction a l'échelle semi-pilote, composition, propriétés physiques et antimicrobiennes.

Résumé :

Ce travail porte sur l'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. provenant de trois lots différents par entraînement à la vapeur d'eau à l'échelle semi-pilote. L'influence sur le rendement et la cinétique de l'extraction de l'huile, du débit spécifique, de durée et mode de séchage de la matière végétale a été mise en évidence. L'influence de la température des eaux de distillation dans le décanteur a été étudiée.

L'observation au microscope photonique des coupes de la tige et de la feuille du végétale a permis de confirmer le caractère exogène de la structure sécrétrice et de soupçonner la présence des poches endogènes. L'analyse par CG-SM, a permis l'identification de la majorité des composés contenant les huiles essentielles.

Quelques propriétés physiques des huiles et leurs activités antimicrobiennes ont été évaluées.

Mots clés : huile essentielle, *salvia officinalis* L., entraînement a la vapeur d'eau, structure sécrétrice, chemotype, activité antimicrobienne.

The essential oil of *salvia officinalis* L., extraction on the scale semi-pilot, composition, physical and antimicrobial properties.

Summary:

This work concerns the extraction of the essential oil of *salvia officinalis* L. from three different locations with steam distillation on the scale semi-pilot. The influence of the specific flow and the mode and the durée of drying of the vegetal matter on the yield and the kinetics of extraction were highlighted. The impact of the temperature of water of distillation in the decanter, on the oil yields: primary and secondary were studied. The observation under the photonic microscope of cuts of stems and leaves of the plant has enabled us to confirm the exogenous character of the secreting structure and to suspect the presence of the endogenous cavities. The analysis by CG-MS, allowed the identification of the majority party of the essential oils compound. Some physical properties of oil ant its antimicrobial activity were evaluated.

Key words: essential oil, *salvia officinalis* L., steam distillation, secretery structure, chemotype, activity antimicrobial.

نبذة المريمية: استخلاص، تركيب كيميائي، خصائص فيزيائية و ميكروبيولوجية.
ملخص:

يتمثل هذا العمل في استخلاص الزيت الأساسية لنبذة المريمية المأخوذة من ثلاث مواقع مختلفة، بواسطة وحدة استخلاص ببخار الماء على المستوى نصف الصناعي. ثم تمت دراسة تأثير كل من حجم الماء المنتج بالنسبة لكتلة المادة النباتية في وحدة زمنية على مردود و حركية الاستخلاص، و تأثير مدة تجفيف النبتة و طريقة تجفيفها. بالإضافة إلى اثر درجة حرارة ماء التقطير في المرسب على مردود الزيت الأساسية و الثانوية. معاينة مقاطع في الساق و الأوراق تحت المجهر الضوئي مكنتنا من تأكيد البنية الإفرازية الخارجية و فرضية وجود بنية افرازية داخلية. التحليل الكيميائي ب مكننا من التعرف على أغلبية المكونات للزيوت المستخلصة، بعض الخصائص الفيزيائية و الميكروبيولوجية تمت دراستها.

الكلمات المفتاحية: الزيت الأساسية، نبتة المريمية، استخلاص ببخار الماء، بنية إفرازية، صنف كيميائي، خصائص ميكروبيولوجية.

Liste des abréviations

d: diamètre de la zone d'inhibition.

k: Le critère de Student.

m_{HE} : Masse de l'huile essentielle (g)

n: Nombre d'essais répétitifs.

t_R : Temps de rétention.

t : Temps d'extraction.

\bar{y} : La moyenne arithmétique des résultats des essais répétitifs.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

A.T.C.C : Américan Typing Culture Collection.

BHA : Butyl hydroxy anisol.

BHT : Butyl hydroxy toluène.

CG : Chromatographie en phase gazeuse.

D : Débit de vapeur d'eau (ml/mn).

D_{sp} : Débit spécifique de vapeur d'eau (g/g.mn).

H : Taux d'humidité (%).

HE : Huile Essentielle .

M : Masse de la matière végétale (g).

P.C : Prélèvement Clinique.

R : Rendement en huile essentielle (%)

S_d : La déviation standard.

SM : Spectroscopie de masse.

T : Température du distillat (°C).

Y_i : Les résultats des essais répétitifs.

η_D^{20} : Indice de réfraction.

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Eléments nutritifs de la sauge.....	4
Tableau 1.2 : Histochimie des trichomes glandulaires de <i>Salvia officinalis</i> L.....	14
Tableau II.1 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. provenant d'Algérie, d'Albanie, de Dalmatie et d'Espagne.....	27
Tableau II.2 : Composition normalisée de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	28
Tableau II.3 : Teneurs, %, des constituants majoritaires de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. provenant de différents pays.....	29
Tableau II.4 : Teneurs, %, des constituants majoritaires de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L., provenant d'Algérie.....	30
Tableau II.5 : Caractéristiques physiques des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i> L.....	31
Tableau II.6 : Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i>	31
Tableau II.7 : Effet antibactérien de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	32
Tableau III.1 : Variation du rendement R en huile essentielle, en fonction du débit spécifique D_{sp}	41
Tableau III.2 : Evaluation statistique de la reproductibilité des résultats	43
Tableau III.3 : Masses d'huile primaire et secondaire obtenus à différentes températures du distillat dans le décanteur	44
Tableau III.4 : Influence du séchage de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle	46
Tableau III.5 : Evolution du rendement en huile, en fonction du temps, lors de l'extraction des échantillons de plante provenant du Jardins d'essais fraîche et séchée à l'ombre et au soleil	48
Tableau IV.1 : Composés identifiés dans l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	61
Tableau IV.2 : Teneurs relatives, Te%, des principaux constituants des huiles essentielles de <i>S. officinalis</i> L.....	62
Tableau IV.3 : Propriétés organoleptiques des huiles essentielles <i>Salvia officinalis</i> L obtenues des échantillons de la plante des trois lots étudiés	63
Tableau IV.4 : Indice de réfraction des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i> L. obtenues des échantillons de la plante des trois lots étudiés	64
Tableau IV.5 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	66

Liste des figures

Figure I.1. Vue d'ensemble de <i>Salvia officinalis</i> L	2
Figure I.2 : Cavité sécrétrice mature de la feuille de <i>Myrtus communis</i> L.....	10
Figure I.3 : Vue de la surface du calice de <i>Salvia officinalis</i> L. Trichomes tecteurs (1), peltés (2) et capités (3).....	10
Figure I.4 : Trichome pelté	11
Figure I.5 : Trichome capité du type I	12
Figure I.6 : Trichome capité du type II	12
Figure I.7 : Trichome capité du type III	13
Figure I.8 : Trichome capité du type IV	13
Figure I.9 : Vue de la surface de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L.(Gx4)	15
Figure 1.10 : Vue de la surface de la feuille de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx4)	15
Figure I.11 : Vue de la surface du pétale de la fleur de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx4).....	15
Figure I.12 : Vue de la surface du calice de la fleur de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx4)	15
Figure I.13 : Coupe de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx80)	16
Figure 1.14 : Coupe de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L. Différents types de trichomes capités(Gx320).....	17
Figure I.15 : Coupe de la feuille de <i>Salvia officinalis</i> L. Trichome pelté et poche endogène située dans le parenchyme (Gx80)	18
Figure I.16 : 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	18
Figure III.1. : Schéma de l'installation d'extraction solide-fluide	39
Figure III.2: Variation du rendement R_s en huile essentielle, en fonction du débit spécifique D_{sp}	41
Figure III.3 : Evolution de la proportion d'huile secondaire par rapport à l'huile totale obtenue à différentes températures du distillat ans le décanteur.....	45
Figure III. 4: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale fraîche provenant du Jardins d'essais	49
Figure III. 5: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale provenant du Jardins d'essais séchée à l'ombre	50

Figure III. 6: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale provenant du Jardins d'essais séchée au soleil	50
Figure III.7: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale fraîche, séchée à l'ombre et au soleil, provenant du Jardin d'essais.....	52
Figure III.8: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction de la matière végétale fraîche provenant des trois lots	53
Figure III. 9: Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction de deux échantillons de la matière végétale fraîche du Jardin d'essais avec différents débits spécifiques	54
Figure IV.1 Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. du Jardin d'essai	58
Figure IV.2 Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. du Lot 1... ..	59
Figure IV.3 Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. du Lot 2.....	60
Figure IV.4. Teneurs, en %, en mono-, sesqui- et di-terpènes dans les huiles essentielles des trois lots étudiés	62
Figure IV.5 : Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîtes de Pétri	65

Sommaire

I. La matière végétale	2
I.1 Description	2
I.2 Historique	3
I.3 Culture et récolte	3
I.4. Principaux constituants	4
I.5. Usages et effets biologiques de la sauge	5
I.5. 1.Usages dans le domaine pharmaceutique, culinaire, et cosmétologique..5	
I.5.2 Effets biologiques	7
I.6. Matière végétale utilisée	8
I.6.1. Lieu de végétation et période de récolte	8
I.6.2. Taux d'humidité	8
I.6.3. Echantillonnage	8
I.7. Structure sécrétrice d'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	9
I.7.1. Travaux antérieurs	9
I.7.2. Observations microscopiques de la plante utilisée	15
II. Huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	20
II.1. Définition	20
II.2. Localisation des huiles essentielles	20
II.3. Modes d'obtention des huiles essentielles	20
II.4. Composition des huiles essentielles	21
II.4.1 Les terpènes ou terpénoïdes	21
II.4.1.1 Classification.....	21
II.4.1.2 Constituants terpéniques des huiles essentielles	22
II.4.1.2.a. Les monoterpènes	22
II.4.1.2.b Les sesquiterpènes	22
II.4.2. Composés aromatiques	22
II.4.3 Composés d'origines variées	23
II.5. Variation de la composition des huiles essentielles	23
II.5.1 Facteurs extrinsèques	23
II.5.1.1 Origine géographique	23
II.5.1.2 Facteur écologiques	24
II.5.1 .2.a Facteurs climatiques	24

II.5.1 .2.b Facteurs pédologiques	24
II.5.2. Facteurs intrinsèques	24
II.5.2.1. Origine botanique	24
II.5.2.2. Les chimiotypes	24
II.5.2.3. Organes du végétal producteurs	25
II.5. 2.4. Cycle biologique	25
II.5.2.5. Conservation du matériel végétal.....	25
II.5.3. Facteurs technologiques	25
II.6.Travaux antérieurs relatifs à l'huile essentielle de sauge	26
II.6 .1. Chémotypes de <i>salvia officinalis</i> L.	26
II.6.2. Propriétés physico-chimiques d'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	30
II.6.3. Propriétés biologiques de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	31
II.6.4. propriétés antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	32
III. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau à échelle semi-pilote de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	34
III.1. Le procédé d'entraînement à la vapeur d'eau	34
III.1.1. Principe	34
III.1.2. Théorie	34
III.1.3. Paramètres du procédé d'entraînement à la vapeur d'eau	36
III.1.3.1 La durée d'extraction	36
III.1.3.2. Le débit de vapeur	36
III.1.3.3. Le débit spécifique de vapeur	36
III.1.3.4. La température du distillat	36
III.1.4. Cinétique de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	36
III.1.5. Le rendement en huile essentielle	37
III.1.6. Avantages et inconvénients du procédé	37
III. 2. L'installation d'extraction de l'huile essentielle	38
III.3. Les essais d'extraction de l'huile essentielle	40
III .3.1. Étude de l'influence du débit spécifique sur le rendement en huile essentielle	40
III.3.2. Etude de l'influence de la température du distillat dans le décanteur sur les rendements en huile primaire et secondaire.....	42
III.3.2.1. Evaluation statistique de la reproductibilité des résultats	42
III.3.2.2. Interprétation des résultats	44

III.3.3. Etude de l'influence du séchage de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle	45
III.4. étude de la cinétique d'extraction	47
III.4.1. Influence de séchage sur la cinétique d'extraction	47
III.4.2. Cinétique d'extraction et composition chimique de l'huile essentielle.	51
III.4. 3. Influence de débit spécifique sur la cinétique d'extraction	54
IV. étude de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	56
IV.1. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	56
IV.1.1 Le couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse	56
IV.1.2. Conditions opératoires d'analyse	56
IV.1.3. Identification des constituants	57
IV.1.4. Résultats	57
IV.2. Propriétés organoleptiques et physico-chimiques	63
IV.2.1. Propriétés organoleptiques	63
IV.2.2. Densité	63
IV.2.3. Indice de réfraction	64
IV.3. Propriétés antimicrobiennes	64
IV.3.1. La méthode de l'antibiogramme	64
IV.3.2. Résultats et discussion	65

Introduction

Utilisées depuis l'antiquité pour leurs vertus médicinales et pour leur parfum, les huiles essentielles trouvent, de nos jours des applications diverses dans les industries pharmaceutique, agroalimentaire, des cosmétiques et des parfums.

Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. provenant de trois lots différents par entraînement à la vapeur d'eau à l'échelle semi-pilote, à l'étude de leurs composition chimique, à la détermination de leurs propriétés physiques et à l'évaluation de leurs activités antimicrobiennes.

Dans le premier chapitre de ce travail est présentée la matière végétale, objet de cette étude et les résultats des observations microscopiques, effectuées sur les différents organes de la plante et de leurs coupes, afin d'élucider sa structure sécrétrice.

Le second chapitre est une revue bibliographique relative aux huiles essentielles, à l'huile de *Salvia officinalis* L. et aux travaux antérieurs, la concernant.

Après une brève description du procédé d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau, dans le chapitre III, sont présentés l'installation semi-pilote et les résultats des essais effectués, afin de déterminer l'influence sur le rendement en huile des paramètres liés aussi bien au procédé, en l'occurrence, le débit spécifique, la température du distillat dans le décanteur, qu'à l'état de la matière végétale, fraîche, séchée à l'ombre et au soleil. L'impact de certains de ces paramètres sur la cinétique d'extraction est étudié et une tentative d'interprétation des étapes cinétiques observées, en relation avec la structure sécrétrice de la plante, est proposée.

Enfin, le dernier chapitre de cette recherche est consacré à l'élucidation de la composition chimique des huiles essentielles par CG-SM., à la détermination de leurs propriétés organoleptiques et physiques, telles que la densité, l'indice de réfraction, et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile vis-à-vis de 16 souches bactériennes.

Chapitre I :

La matière végétale

I.1 Description

La sauge est une plante aromatique de la famille Lamiacées, qui comprend plus de 700 espèces, réparties dans le bassin méditerranéen, le Sud de l'Europe, l'Asie Mineure, l'Amérique centrale et du Sud [1]. Parmi les différentes espèces de sauge on peut citer :

Salvia aegyptiaca L, *Salvia aethiopsis* L., la sauge d'Éthiopie, *Salvia Africana* L. *Salvia albocaerulea* Linden , *Salvia algeriensis* Desf. *Salvia amarissima* Ortega, *Salvia amplexicaulis* Lam. *Salvia apiana* Jeps. *Salvia argentea* L. *Salvia aurea* L. *Salvia austriaca* Jacq. *Salvia axillaris* Moc. & Sessé ex Benth. *Salvia azurea* Lam. *Salvia bertolonii* Vis. *Salvia biflora* Ruiz & Pav. *Salvia bowleyana* Dunn. *Salvia broussonetii* Benth. *Salvia buchananii* Hedge. *Salvia bulleyana* Diels. *Salvia campanulata* Wall ex Benth. *Salvia canariensis* L. *Salvia officinalis* L. [2].

La figure 1 présente une vue d'ensemble de *Salvia officinalis* L., objet de cette étude.



Figure I .1. Vue d'ensemble de *Salvia officinalis* L. [3].

Salvia officinalis L., est un sous-arbrisseau atteignant 70 cm d'hauteur, vivace, très ramifié, devenant ligneux à sa partie basale, dont les tiges forment des rameaux quadrangulaires dressés et velus [4].

Les feuilles, épaisses, oblongues, de couleur gris-vert, en raison d'une pubescence cotonneuse sur la face inférieure, ont une odeur caractéristique. Chaque année, les rameaux se dessèchent, laissant les inférieurs persistants. Le limbe est souvent auriculé à la base [4].

Les fleurs d'envions 2 cm de long, de couleur bleu rose lilas, visibles de mai à août, sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieures et l'ensemble forme de grandes épis. La corolle est tubuleuse, garnie à la base d'un anneau de poils, et la lèvre supérieure est presque droite [4].

La racine de la sauge est brunâtre et fibreuse. Son odeur est fortement balsamique, de saveur aromatique chaude, amère et astringente [4].

I.2 Historique

Pendant tout le Moyen Age, elle entre obligatoirement dans la composition des préparations aux noms évocateurs qui tiennent la vedette en pharmacopée : eau d'arquebuse, eau céleste; eau impériale, etc. et un axiome proclame : «Pourquoi mourrait-on lorsqu'on cultive la Saugé, si ce n'est qu'aucune plante des jardins n'est assez forte contre la mort » [5]. Plus tard encore, les traités médicaux lui accordent une place considérable. On y lit des phrases comme celles-ci : «Le désir de la saugé est de rendre l'homme immortel», «Elle a tant de vertus qu'elle passe dans l'esprit de plusieurs pour une plante universelle et propre à tous maux»; et certains d'entre eux publient cette recette de la dernière chance : «Lorsqu'un bébé, abandonné du médecin, est perdu et que personne ne comprend la maladie qui va l'emporter, préparer une décoction de saugé et la lui faire prendre par petites cuillerées toutes les 5 minutes ; on assistera à la résurrection de l'enfant.». Enfin, plus près de nous, l'abbé Kneipp fait cette recommandation : «Aucun propriétaire de jardins n'oubliera, en le cultivant, d'y planter un pied de saugé...» [5].

I.3 Culture et récolte

Commune en Europe, plus spécialement dans les régions méridionales, la saugé aime les terres chaudes, légères, rocailleuses. Malgré ses poils laineux, elle craint les gelées. Sa multiplication s'effectue par semis au début du printemps et repiquage deux 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 [5].

La sauge demande un sol sablonneux ou graveleux, qui s'égoutte bien, neutre ou légèrement alcalin et une exposition ensoleillée ou semi ombragée. La première année, on pince les pointes à quelques reprises, afin de favoriser la croissance de rameaux secondaires. Les années subséquentes, il faut les rabattre de moitié, tard au printemps ou au début de l'été. La récolte des feuilles se fait du printemps à l'automne, aussi fréquemment qu'on le désire, toujours par temps sec pour effectuer un séchage à l'ombre rapide. Dans les régions très froides, les plantes doivent être protégées à l'aide d'un paillis. La plante fleurira à compter de la seconde année. Il faut renouveler la plantation tous les quatre ou cinq ans [1].

I.4. Principaux constituants

La cellule végétale est le siège de la biosynthèse des composés fondamentaux de la matière vivante que sont les protéines, les lipides, les sucres... Elle est capable de coordonner les multiples réactions enzymatiques, conduisant à la production d'huiles essentielles. Certaines cellules prennent en charge ces biosynthèses et également le stockage des métabolites formés. Il s'agit là de tout un ensemble de réactions biochimiques participant à la vie des plantes : respiration, photosynthèse, etc...[6].

La composition d'une portion de sauge, correspondant à 20 g de sauge moulue dans 15 ml d'eau, publiée dans le fichier canadien sur les éléments nutritifs [1], est donnée dans le tableau I.1 suivant :

Tableau I.1 : Eléments nutritifs de la sauge.

Protéines	0.2 g
Glucides	1.2 g
Lipides	0.3 g
Fibres alimentaires	0.8 g

Par ailleurs, la sauge contient aussi :

- 1 à 2,5 % d'huile essentielle, généralement située dans les feuilles de la sauge. Sa composition varie en fonction de différents chemotypes, selon la teneur des 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 safficinolide etc
- 1 à 3% de flavonoïdes, ce sont des dérivés de la lutéoline et de l'apigénine, ainsi que des glycosylflavones comme le caféyl-apiosylglucoside etc... ils sont considérés comme responsables des propriétés antioxydantes des feuilles de sauge [4].

I.5. Usages et effets biologiques de la sauge

I.5. 1. Usages dans le domaine pharmaceutique, culinaire, et cosmétologique

Connue depuis l'antiquité égyptienne, la sauge est restée célèbre à travers les siècles : c'est l'herba sacra des latins. Elle fut appréciée par Dioscoride, puis par Galien, pour ses vertus emménagogues et toniques. Véritable panacée au Moyen âge, la sauge fut protégée par les Capitulaires de Charlemagne et jouissait de ses multiples propriétés : stimulante, digestive, antispasmodique, tonique, emménagogue, antihémorragique, antidiarrhéique, antisudorale... la drogue est employée de nos jours comme antiphlogistique, dans les inflammations buccales et pharyngées, dans les gingivites, les stomatites, sous forme de gargarisme, mais aussi comme tisane dans les troubles digestifs, les ballonnements, les colites, et les diarrhées [4].

En médecine traditionnelle, la sauge, grâce à ses propriétés oestrogéniques et en raison de ses propriétés antigalactogènes, est utilisée pour arrêter la lactation. Une activité hypoglycémisante est décrite, ainsi que des propriétés emménagogues, probablement en liaison avec la présence dans l'huile essentielle de la thuyone, une cétone monoterpénique que l'on rencontre aussi chez le thuya, l'absinthe et la tanaïsie, plantes qui ont une réputation analogue et dont les huiles essentielles sont même abortives et considérées comme toxiques [4].

La tisane de la sauge est efficace pour faciliter la digestion, relever les forces de l'estomac et de l'intestin, calmer les vomissements spasmodiques, activer les fonctions circulatoires et cutanées. On l'emploie aussi contre la diarrhée, les ballonnements et la transpiration nocturne [7].

La sauge se montre également fortifiante, réparatrice des troubles circulatoires. Son essence, riche en thuyone, est toxique et convulsivante. L'eau saturée d'huile essentielle de sauge se montre un spasmolytique neurotrope, inhibant le spasme acétylcholinique du duodénum de rat. A cette action, la sauge jouerait des vertus oestrogènes et une activité antigonadotrophique. Elle a aussi des vertus bactéricides liées à la présence d'un acide diterpénique, la salvine et de son ester monométhyle [8].

Aux USA elle est toujours utilisée pour ces vertus médicinales, notamment en infusion comme bain de bouche et en gargarisme est utilisée aussi contre l'inflammation douloureuse de la gorge. Le gargarisme est utilisé aussi contre le saignement des gencives et pour prévenir la salivation excessive. L'infusion est une excellente lotion pour les ulcères et pour noircir les cheveux [9].

Les feuilles servent en cuisine à parfumer les viandes surtout le gibier, quelques feuilles glissées dans les aliments gras tels que les farces et les ragoûts leur donnent une saveur piquante, très appréciée, on en rajoute aussi dans les bouillons et dans les vinaigres aux fines herbes [10].

La sauge est une épice très utilisée, surtout pour la charcuterie. Elle possède des propriétés antioxydantes, vérifiées par Hermann en 1962 [10], qui les attribue à l'acide rosmarinique, mais la picrosalvine qui possède deux hydroxyles phénoliques en ortho, pourrait également intervenir.

Par ailleurs, la sauge est utilisée pour ses propriétés antioxydants, retardant ou inhibant le rancissement des corps gras, et pour ses propriétés antiseptiques, d'où son emploi bien connu en charcuterie. Son huile essentielle est effectivement bactéricide vis-à-vis de germes gram positif et gram négatif (*Bacillus subtilis*), mais aussi antifongique vis-à-vis de *Condida sp.* et d'*Aspergillus flavus*. De même, l'activité antivirale des feuilles de sauge et de certains extraits est attribuée à l'huile essentielle. Les effets antimutagènes de quelques terpénoïdes de la sauge ont été mis en évidence [4]. L'extrait aqueux inhibe l'enzyme responsable d'une activité collagénolytiques de *Porphyromonas gingivalis*, tandis que la fraction diterpénique est antivirale vis-à-vis des agents de la stomatite vésiculaire. L'acide rosmarinique est également un inhibiteur de la formation de la plaque dentaire [4].

La sauge est une excellente source de vitamine K. Cette vitamine nécessaire, entre autres, à la coagulation du sang, peut être fabriquée par l'organisme et se trouve dans certains aliments. Les malades, prenant des médicaments anticoagulants, par exemple, doivent adopter une alimentation dans laquelle le contenu en vitamine K est relativement stable d'un jour à l'autre [1].

La sauge est une source de fer pour l'homme. Ce minéral est essentiel au transport de l'oxygène et à la formation des globules rouges dans le sang. Il joue aussi un rôle dans la fabrication de nouvelles cellules, hormones et neurotransmetteurs [1].

I.5.2 Effets biologiques

Lima et coll. [11] ont démontré que la consommation d'infusions de sauge séchée pendant deux semaines par les rongeurs augmentait, de façon significative, l'activité d'une enzyme antioxydante produite par le foie. L'effet potentiellement bénéfique sur le foie, que confère aux animaux l'infusion de sauge, mérite d'être d'avantage exploré dans de futures études.

Ninomiya et coll. [12], ont étudié les effets d'un extrait aqueux de feuilles de sauge sur les lipides sanguins et montré que sa consommation diminue les triglycérides chez l'animal. Rappelons que les triglycérides sont des lipides en circulation dans le sang et qu'ils peuvent devenir un facteur prédisposant à la maladie cardiovasculaire, lorsqu'ils sont présents en grande quantité. Les auteurs de cette étude ont identifié plusieurs composés actifs dans la sauge, mais seul l'acide carnosique a montré un effet hypotriglycéridémiant. Ces résultats devront être validés chez l'humain.

Une récente étude menée par Akhondzadeh et coll. [13] a rapporté que les extraits de sauge, administrés pendant quatre mois à des personnes âgées atteintes de la maladie d'Alzheimer, améliorant 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 mécanismes proposés pour expliquer ces effets comprennent l'amélioration de la transmission de l'influx nerveux dans le cerveau, ainsi que la diminution du stress oxydatif et des réactions inflammatoires [14].

Dans le cadre d'une étude exploratoire, effectuée par Alarcon-Aguilar et coll. [15] chez l'animal, les auteurs ont constaté que l'administration d'un extrait aqueux de sauge a diminué jusqu'à 30% la glycémie (taux de glucose dans le sang) de souris modérément diabétiques et non diabétiques. Chez les souris, ayant un diabète grave, la sauge n'a pas eu d'effet hypoglycémiant significatif, démontrant ainsi que l'extrait de sauge requiert la présence d'insuline pour exercer une régulation à la baisse du glucose sanguin. Il n'a pas été possible, dans les limites de cette étude, d'identifier les composés actifs responsables des effets observés et encore moins de transposer les résultats chez l'humain.

Enfin, Companella et coll. [16] ont montré que la capacité antioxydante de la sauge a été plus élevée parmi six fines herbes étudiées. L'acide carnosique et l'acide rosmarinique seraient les principaux composés antioxydants retrouvés dans la sauge.

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 Février et Mars, avant la période de fleuraison. Elle provient de trois lots, le premier cultivé au Jardins d'essais d'El Hamma à Alger, les deux autres sont cultivés à l'Ecole Nationale Supérieure Polytechniques à 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 (H) 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, obtenus par les différents essais, sur la même base.

I.6.3. Echantillonnage

L'échantillonnage est une opération préalable à l'extraction de l'huile essentielle, visant la préparation des échantillons représentatifs d'un lot de matière végétale, ayant les mêmes propriétés moyennes.

L'échantillonnage est la sélection d'une partie dans un tout. Il s'agit d'une notion importante en métrologie : lorsqu'on ne peut pas saisir un événement dans son ensemble, il faut effectuer des mesures en nombre fini, afin de représenter l'événement. Par exemple, en analyse chimique, lorsqu'on analyse un produit, une des questions qui se pose est celle de l'homogénéité. Les méthodes d'analyse ne permettent d'avoir la composition que d'une quantité finie de produit, en général, de quelques microgrammes à quelques centaines de grammes. Lorsque la quantité du produit est importante, sa composition peut varier d'un endroit à un autre, à cause de son hétérogénéité, sa stratification, sa décantation... Dans le cas où il n'est pas possible d'homogénéiser, on doit effectuer des prélèvements en plusieurs endroits, selon un protocole précis [3].

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. Pour avoir une masse ou un échantillon qui regroupe les différents poids et formes, on doit tout d'abord homogénéiser la masse globale, puis procéder à un échantillonnage comme suit :

- tracer sur un papier de grandes dimensions un carré;
- bien mélanger cette masse, puis l'étaler sur toute la surface du carré;
- diviser cette masse en deux parties identiques, représentant chacune la somme des deux triangles opposés formés par les deux diagonales du carré ;
- prendre chacune des masses, ainsi obtenues et répéter la procédure jusqu'à l'obtention de la masse voulue [17].

I.7. Structure sécrétrice d'huile essentielle 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 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 [18, 19].

Des études sur les cavités sécrétrices d'huile essentielle chez *Myrtus communis* L. [20] et *Leucophyllum frutescens* [21] ont montré que ces cavités se forment au cours du développement des feuilles, mais avec un ralentissement du rythme pour les feuilles matures. Leur ontogenèse commence par des divisions des cellules situées sous l'épiderme. Chaque cavité sécrétrice est développée à partir d'une seule cellule qui subit une division periclinale, suivie de plusieurs divisions cellulaires anticlinales et obliques. Le lumen de la cavité, formé par schizogenie, est entouré par une couche épaisse de cellules, l'isolant des autres cellules environnantes. Les cellules sécrétrices sont situées sur les bords de la cavité. Cette dernière est couverte par des cellules modifiées de l'épiderme, qui ne semblent pas avoir d'ouvertures. L'huile essentielle ne peut être libérée qu'après un traitement mécanique de la feuille.

La figure I.2 montre un examen au microscope électronique à balayage d'une cavité mature sécrétrice d'huile essentielle.

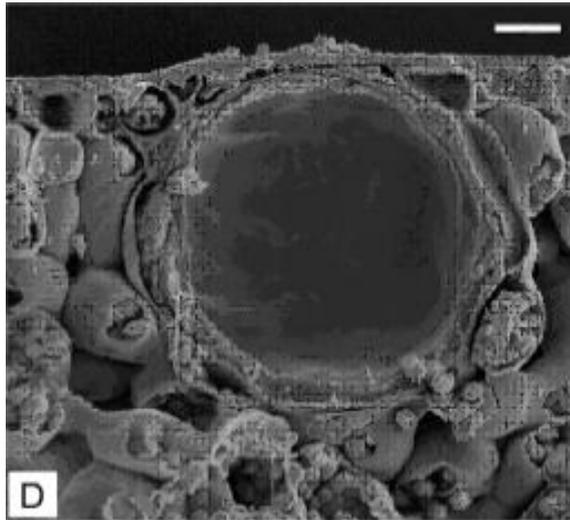


Figure I.2 : Cavité sécrétrice mature de la feuille de *Myrtus communis* L. [20]

Chez la famille des Lamiacées, ce sont les trichomes glandulaires qui forment les structures de sécrétion et de concentration de l'huile essentielle [22].

Selon G. CORSI et S. BOTTEGA [23] la structure sécrétrice de *Salvia officinalis* L. est exogène et constituée de trichomes peltés et de trichomes capités, situés à la surface des différents organes de la plante. A la figure I.3 suivante, est présentée la surface du calice de *Salvia officinalis* L. observée à l'aide du microscope électronique à balayage.

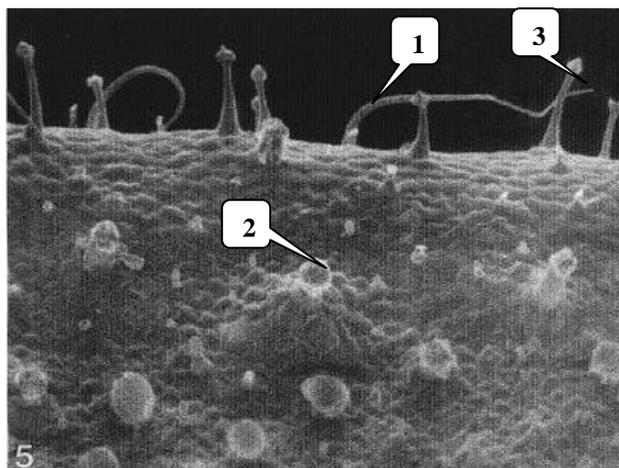


Figure I.3 : Vue de la surface du calice de *Salvia officinalis* L. Trichomes tecteurs (1), peltés (2) et capités (3)

- **Les trichomes tecteurs**

Ces trichomes, appelés poils tecteurs, sont des trichomes non glandulaires, abondants sur tous les organes végétatifs de *Salvia officinalis* L. Ils sont plus longs sur les organes jeunes et collaborent, vraisemblablement, avec les poils glandulaires, à la défense contre les agressions mécaniques, créant une couche duveteuse épaisse. Les poils tecteurs sont également impliqués dans la protection des trichomes peltés contre la transpiration et l'insolation excessives [23].

- **Les trichomes peltés**

Les trichomes peltés 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, comme montre la figure I.4 suivante.



Figure I.4 : Trichome pelté

Les trichomes peltés 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 [23].

- **Les trichomes capités [23]**

Quatre types de trichomes capités ont été observés chez *Salvia officinalis* L. Ils se différencient par leur morphologie, la composition de leurs sécrétions et par le rôle qu'ils exercent.

- Le type I (figure I.5), 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.



Figure I.5 : Trichome capité du type I

Ces trichomes produisent des sécrétions hydrophiles qui peuvent contenir des protéines, des alcaloïdes, des tannins, des lactones et ils participent à la défense mécanique des organes de la plante.

- Le type II (figure I.6) a un pied unicellulaire et une tête sécrétrice très petite en forme de cuticule, pendant l'activité de sécrétion la tête aura une petite chambre subcirculaire.

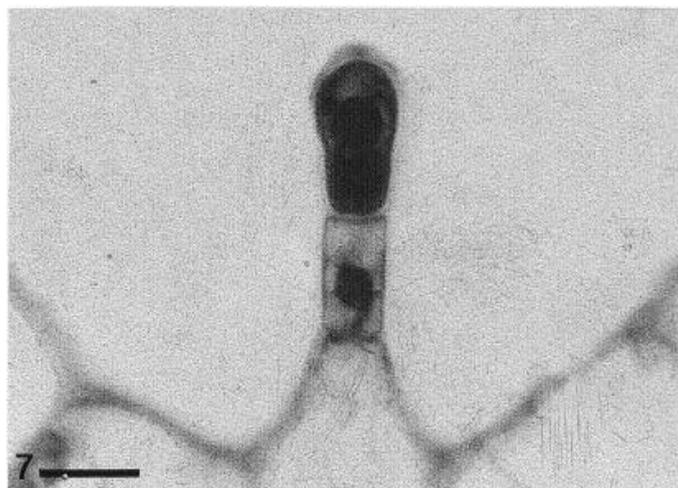


Figure I.6 : Trichome capité du type II

Les sécrétions de ce type de trichomes sont semblables à celles des trichomes peltés, mais ne contiennent pas de lactones sesquiterpéniques. Comme les trichomes peltés, ils participent à la défense de la plante contre les agents chimiques et contre les prédateurs, cependant leur petite taille et l'absence des lactones les rend moins efficaces.

- Le type III (figure I.7), 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.

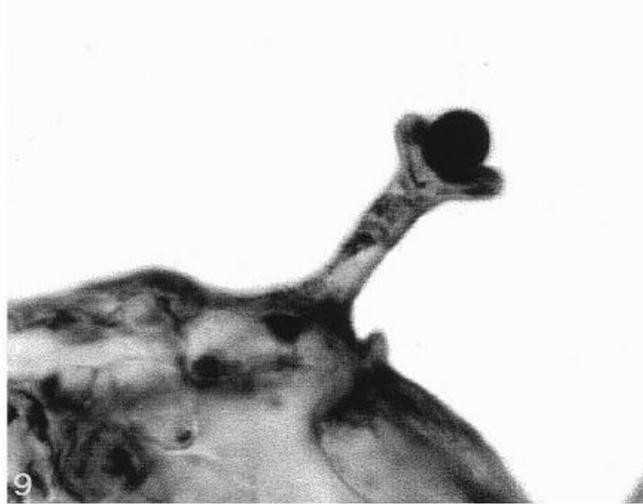


Figure I.7 : Trichome capité du type III

Les sécrétions des trichomes capités du type III contiennent de l'huile essentielle et des petites quantités d'hydrates de carbone, autres que la cellulose, des flavonoïdes et des alcaloïdes. Situées uniquement sur les feuilles et les tiges, ils pourraient être impliqués dans la défense contre les prédateurs, mais sont particulièrement efficaces contre la transpiration excessive du végétal.

- Le type IV (figure I.8) se caractérise par un pied très long et mince constitué de 4 cellules. La tête sécrétrice a une forme trapézoïdale

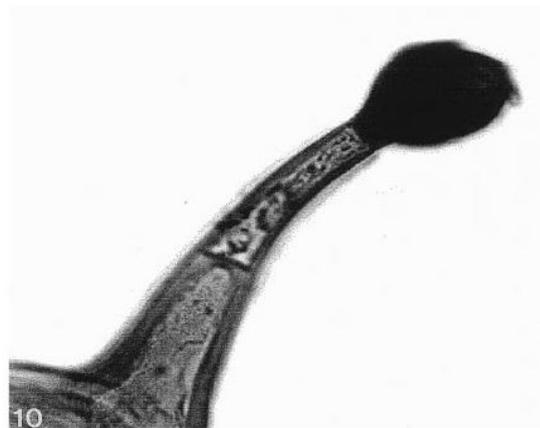


Figure I.8 : Trichome capité du type IV

Les sécrétions des trichomes capités du type IV ressemblent à celles des poils peltés, mais ils sont exempts des composants hydrophiles visqueux. On y trouve, par contre, une résine contenant de l'huile essentielle qui provient de la tête sécrétrice et est répartie entre la tige et l'épiderme sous adjacent.

Les trichomes capités du type VI fournissent, de la même manière que les trichomes peltés, des attractants olfactifs pour des pollinisateurs. Ils participent, en outre, à la défense des fruits et des graines contre les prédateurs.

La composition chimique des sécrétions produites par les différents trichomes glandulaires de *Salvia officinalis* L. est résumée dans le tableau I.2.

Tableau 1.2 : Histochimie des trichomes glandulaires de *Salvia officinalis* L. [23]

Composés chimiques	Trichome pelté	Trichome capité			
		Type I	Type II	Type III	Type IV
Lipides	+	–	+	++	++
Carbohydrates	++	++	++	+ –	+ –
Huile essentielle	+	–	+	++	+
Terpenoïdes	+	–	+	+ –	+
Résines	+	–	+	–	++
Alcaloïdes	+	+	+	+	+
Protéines	+	+	+	–	+
Lactones sesquiterpéniques	+	+	–	–	+
Stéroïdes	+	+	+	–	+
Tannins	+	+	+	–	+
Flavonoïdes	+	–	+	+	+

–: négative ; + – : légèrement positive ; +:positive ++ ; fortement positive.

L'examen du tableau I.2 montre 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.

I.7.2. Observations microscopiques de la plante utilisée

Nous avons mené, à l'aide d'une loupe binoculaire Zeiss Iena, une série d'observations de la surface des feuilles, des tiges et des fleurs de *Salvia officinalis* L., objet de cette recherche.

La présence de trichomes tecteurs et glandulaires sur la surface de tous les organes de la plante a été constatée, comme le montrent les figures suivantes.



Figure I.9 : Vue de la surface de la tige de *Salvia officinalis* L. (Gx4)



Figure 1.10 : Vue de la surface de la feuille de *Salvia officinalis* L. (Gx4)



Figure I.11 : Vue de la surface du pétale de la fleur de *Salvia officinalis* L. (Gx4)



Figure I.12 : Vue de la surface du calice de la fleur de *Salvia officinalis* L. (Gx4)

On remarque que la densité des trichomes n'est pas la même: elle est, apparemment, plus élevée sur la surface de la feuille que sur celle de la tige. La surface du calice semble être plus fournie en trichomes glandulaires que celle du pétale.

Ces résultats laissent espérer des meilleurs rendements en huile essentielle lors de l'entraînement à la vapeur d'eau des feuilles et des fleurs. En effet, certains auteurs [24] rapportent que les rendements en huile obtenus à partir des fleurs de *Salvia officinalis* L. sont les plus élevés.

Par ailleurs, nous avons procédé à des observations, à l'aide d'un microscope photonique Jenalumar, des coupes de la tige et de la feuille de *Salvia officinalis* L. Les coupes ont été effectuées par la technique: à main levée.

Sur la figure I.13 suivante est présentée la coupe de la tige de *Salvia officinalis* L.

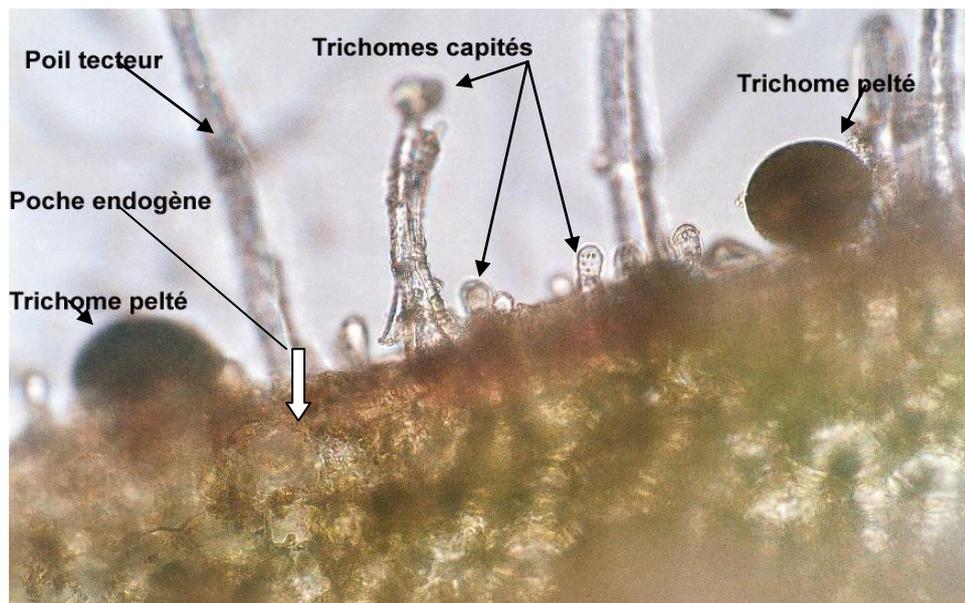


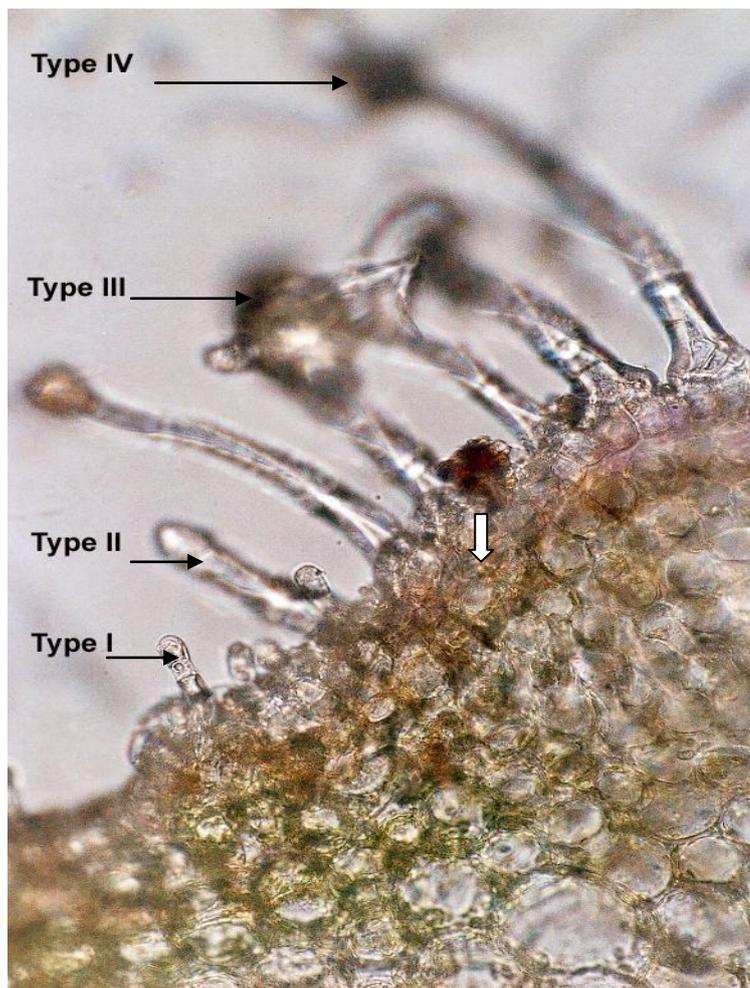
Figure I.13 : Coupe de la tige de *Salvia officinalis* L. (Gx80)

A la surface de la tige nous remarquons des trichomes peltés, des trichomes capités du type I et IV, ainsi que des poils tecteurs. La cuticule des trichomes peltés est gonflée par les sécrétions accumulées.

Il est intéressant de noter que les cellules de l'épiderme sous adjacent des trichomes capités ont la même couleur que celle des trichomes peltés, producteurs d'huile essentielle.

Une structure particulière, désignée par la flèche blanche, a attiré notre attention. Elle a une forme différente de celle des cellules du parenchyme environnant. Cette structure, à parois cellulaires épaisses, rappelle les cavités endogènes décrites précédemment [20,21] et pourrait éventuellement être une poche endogène.

Par ailleurs, cette structure est visible sur une autre coupe de la tige, présentée à la figure suivante :

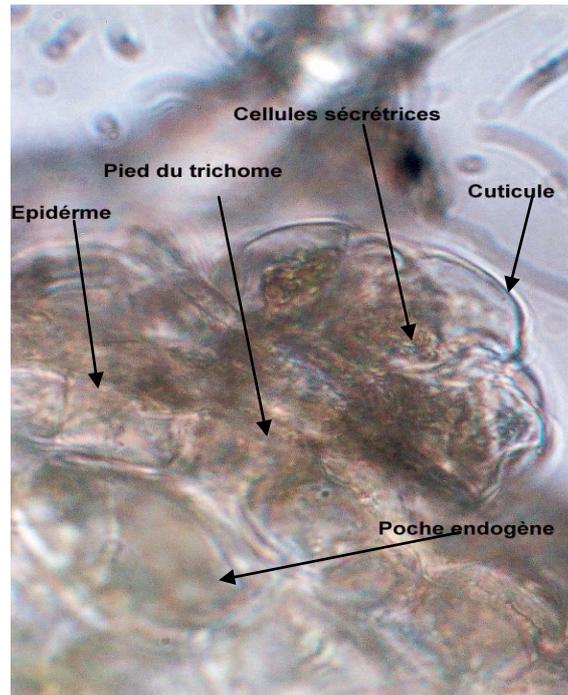


**Figure 1.14: Coupe de la tige de *Salvia officinalis* L. (Gx320)
Différents types de trichomes capités**

On note la présence, des quatre types de trichomes, décrits dans la littérature [23], à la surface de la tige.

Les observations des coupes de la feuille de *Salvia officinalis* L. nous ont permis de constater la présence de trichomes tecteurs, peltés et capités sur ses deux surfaces, abaxiale et adaxiale, avec des densités plus élevées sur la surface abaxiale.

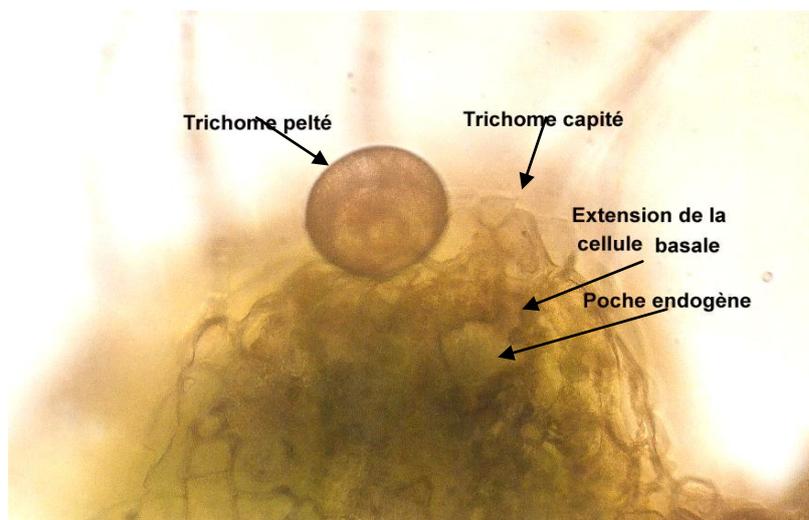
La figure I.15 suivante présente un trichome pelté situé à la surface de la feuille. Il est constitué d'une cellule basale, insérée entre les cellules d'épiderme, d'un pied monocellulaire et d'une grande tête qui contient les cellules sécrétrices. L'espace entre la cuticule et les cellules sécrétrices est rempli de sécrétions, contenant probablement l'huile essentielle.



**Figure I.15 : Coupe de la feuille de *Salvia officinalis* L. (Gx80)
Trichome pelté et poche endogène située dans le parenchyme**

Nous observons une structure, rappelant une poche endogène, insérée entre les cellules du parenchyme qui semble être reliée à la cellule basale du trichome.

Sur une autre coupe de la feuille (Figure I.16), nous observons un trichome pelté situé au sommet d'une protubérance et, à proximité, un trichome capité de type I.



**Figure I.16 : 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**

On remarque une extension, reliant la cellule basale du trichome capité à une cavité endogène.

Les observations microscopiques des coupes de la tige et de la feuille nous ont permis de confirmer le caractère exogène de la structure sécrétrice de *Salvia officinalis* L.

Par ailleurs, nous avons décelé la présence, dans l'épiderme sous adjacent des trichomes peltés et capités et dans le parenchyme des tissus de la tige et de la feuille, des cavités, qui pourraient être assimilées à des poches endogènes, reliées aux cellules basales des trichomes glandulaires et renfermant éventuellement de l'huile essentielle. Le mécanisme de la formation de ces cavités, par lysogénie ou schizogénie, et la mise en évidence des cellules sécrétrices endogènes, restent du domaine des botanistes et méritent d'être élucidés.

Chapitre II
Huile essentielle de
Salvia officinalis L.

II.1. Définition

Les huiles essentielles existent dans plusieurs espèces du règne végétal. On les appelle couramment : essences, essences végétales, huiles ou essences aromatiques, parfums, huiles volatiles.

D'après Naves [25], aucune des définitions des huiles essentielles n'a le mérite de la clarté, ni celui de la précision. Cet auteur définit les huiles essentielles comme des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale. Ces mélanges passant avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau. Cette définition est restrictive car elle ne tient pas compte des produits obtenus par expression à froid (à la température ordinaire) du péricarpe ou zeste de fruit de citrus.

Quand à la norme AFNOR [26], elle définit les huiles essentielles comme étant «des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles 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 ».

L'huile essentielle est l'extrait obtenu par distillation. Dans les plantes aromatiques l'essence assure un rôle de réserves énergétiques et de système de défense. Ce sont les plantes sauvages qui poussent dans des conditions arides et sous un fort ensoleillement qui en auront le plus besoin et qui donneront donc les huiles essentielles de meilleure qualité [27].

II.2. Localisation des huiles essentielles

En principe, toutes les parties d'une plante aromatique contiennent de l'huile essentielle, mais elle est souvent présente majoritairement dans l'une d'elles : dans les brindilles, les fleurs, les feuilles, les racines, les graines. Les cellules sécrétrices peuvent être localisées à la surface des différents organes de la plante, ce qu'on appelle localisation exogène, ou à l'intérieur de l'organe, localisation endogène. Dans certaines espèces végétales les deux types de structure sécrétrice ont été observés.[28-30]

II.3. Modes d'obtention des huiles essentielles

Depuis la nuit des temps les hommes cherchent à capturer les odeurs des plantes, écorces, racines, graines, tiges, fleurs, fruits et feuilles. La méthode la plus ancienne consistait tout simplement à recueillir des plantes fraîches et séchées que l'on faisait brûler pour les offrir aux dieux. L'extraction s'est ensuite améliorée par la mise au point de nouveaux procédés d'extraction [31].

L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate, et la plus importante du processus d'élaboration. Elle a pour but de capter la quintessence de la plante aromatique. Les techniques modernes sont, en gros, les mêmes qu'il y a 100 ou 200 ans.

Les huiles essentielles sont extraites de la matière végétale par différents procédés. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'essence dans le végétal et de son utilisation dans les diverses industries [18].

Plusieurs procédés sont utilisés pour l'extraction des huiles essentielles soit à l'échelle laboratoire, soit à l'échelle pilote ou semi pilote ; parmi ces procédés on peut citer :

- Entraînement à la vapeur d'eau.
- Hydrodistillation.
- Hydrodiffusion.
- L'expression.

II.4. Composition des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles est généralement très complexe d'un double point de vue, à la fois par le nombre élevé de constituants présents et surtout par la diversité considérable de leurs structures.

Elles comprennent deux classes de composés caractérisés par des origines biogénétiques bien distinctes : le groupe des terpénoïdes, d'une part, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, d'autre part, et de leurs dérivés [27].

II.4.1 Les terpènes ou terpénoïdes

Les terpènes constituent une classe de composés d'origine naturelle présente surtout dans le règne végétal. Ce sont des hydrocarbures de structure très diverses : acycliques, monocycliques, bi cycliques..., portant parfois différentes fonctions [32].

II.4.1.1 Classification

Les molécules de la famille des terpènes sont considérées comme formées de l'assemblage de deux ou plusieurs unités d'isoprène ou 2-méthyl-buta-1,3-diène [33] :



Ils répondent à la formule brute : $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$.

Une classification de ces composés a pu être établie, selon la valeur du nombre n d'unités isopréniques) [34].

n=1 Les hémiterpéniques en C5.

n=2 Les monoterpènes en C10.

n=3 Les sesquiterpènes en C15.

n=4 Les diterpènes en C20.

n=5 Les sesterpènes en C25.

n= 6 Les triterpènes en C30.

n=8 Les tetraterpènes en C40.

n>40 Les polyterpènes.

Les unités isopréniques s'associent entre elles pour conduire à une chaîne hydrocarbonée insaturée qui sera modifiée secondairement par oxydation par réduction ou par élimination de carbone, ce qui explique la multiplicité des isoprénoïdes.

II.4.1.2 Constituants terpéniques des huiles essentielles

Les huiles essentielles contiennent principalement des terpènes. Elles renferment surtout des monoterpènes (C10), quelques sesquiterpènes (C15), et rarement des diterpènes (C20) [27].

II.4.1.2.a. Les monoterpènes

Les monoterpènes présentent des variations fonctionnelles les plus diverses : hydrocarbures, alcools, cétones, etc....

II.4.1.2.b Les sesquiterpènes

De même que les monoterpènes les dérivés des sesquiterpènes ont de fonctions très diverses : les hydrocarbures, les alcools et les cétones sont les plus fréquents.

II.4.2. Composés aromatiques

Les composés de la classe de phényl-propanoïdes sont moins fréquents que les terpénoïdes. Ce sont très souvent des allyles et propénylphénols [32].

On trouve parfois des aldéhydes aromatiques caractéristiques de certaines huiles essentielles de la famille des Apiaceae (anis, fenouil, persil, etc.).

Certaines huiles essentielles contiennent des composés en C6-C3 comme le

cinnamaldéhyde ou comme l'estragol (essence de basilic).

Dans d'autres essences, les acides benzoïque et cinnamique sont présents. On rencontre également des aldéhydes phénols comme l'aldéhyde protocatéchétique ou l'aldéhyde salicylique de la Reine des prés.

Les aldéhydes aromatiques et les phénols sont à l'origine des arômes caractéristiques des condiments, tels que les clous de girofle (eugénol) et la cannelle (cinnamaldéhyde).

II.4.3 Composés d'origines variées

A l'intérieur de ce groupe on distingue divers hydrocarbures aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés à la vapeur d'eau, de chaîne linéaire ou ramifiée, saturés ou non et portant différentes fonctions [33]. On peut citer entre autres :

- L'heptane est la paraffine dans l'essence de camomille [34].
- Des acides en C3 à C10.
- Des alcools comme le oct-1ène-3-ol de l'essence de lavande,...
- Des aldéhydes comme l'octanal et le décanal des citrus ou le trans-2-hexanal,...
- Des esters acycliques présents principalement dans les fruits.
- Des lactones comme la déca lactone.
- Des composés azotés ou soufrés comme l'isosulfocyanate.

II.5. Variation de la composition des huiles essentielles

La teneur et la composition d'une huile essentielle varient en fonction d'un grand nombre de paramètres d'origine extrinsèque et intrinsèque et d'ordre technologique. On se contentera d'un bref aperçu sur les facteurs susceptibles d'influer sur la quantité et la qualité d'une essence.

II.5.1 Facteurs extrinsèques

Ce sont des paramètres qui touchent particulièrement les conditions écologiques (climatiques, pédologiques,...).

II.5.1.1 Origine géographique

Les rendements des huiles essentielles ainsi que leur composition diffèrent suivant l'origine géographique de la plante.

Ainsi, les feuilles d'un même espèce de Romarin poussant dans divers pays

fournissent une essence dont le rendement d'extraction est de 0.43 à 0.73% pour l'Espagne, 0.38 à 0.80% pour la France, 1.00 à 5.00% pour la Turquie, 1.5 à 2.10% pour la Yougoslavie, etc. [35].

II.5.1.2 Facteurs écologiques

Les caractéristiques écologiques exercent une influence directe sur la qualité et la quantité d'une huile essentielle [36].

II.5.1.2.a. Facteurs climatiques

La durée d'exposition au soleil, les températures nocturnes et diurnes, l'humidité, le régime des vents, la pluviométrie, etc... sont des paramètres responsables des modifications de la proportion de l'essence et de sa composition chimique.

On observe chez les espèces à structures histologiques superficielles comme les poils sécréteurs des Lamiaceae un effet accentué de ces divers facteurs.

Un exemple qui illustre bien le phénomène de température est celui de la menthe poivrée où la formation du menthol est favorisé par les nuits froides. Les jours longs et les nuits tempérées au contraire conduisent à une quantité plus grande d'huile essentielle riche en menthofuranne [37].

II.5.1.2.b. Facteurs pédologiques

La nature du sol (calcaire, siliceux,..), les aspects cultureux comme la densité de culture, l'apport d'engrais, le nombre de récolte par an et l'alimentation en eau affectant d'une manière déterminante la qualité des huiles essentielles et leur rendement.

II.5.2. Facteurs intrinsèques

Ce sont des variables qui dépendent de la plante elle-même (génétique, localisation, maturité,..).

II.5.2.1. Origine botanique

Le rendement et la composition d'une huile essentielle sont fonction respectivement de la famille et de l'espèce productrice.

II.5.2.2. Les chémotypes

Les chémotypes ou les races chimiques existent chez de nombreuses plantes

aromatiques et fournissent des essences différentes par leur composition. L'un des exemples le plus démonstratif qu'on peut citer est celui du thym (*Thymus vulgaris* L.). Cette espèce a sept chémotypes différents : thym à thymol, carvacrol, géraniol, linalol, α -terpinéol, mycérol, thyanol [36].

II.5.2.3. Organes du végétal producteurs

Le rendement des huiles essentielles, ainsi que leurs contenus dépendent du nombre de glandes sécrétrices existant et de leur localisation au niveau des différents organes de la plante. La teneur en huile essentielle est plus importante dans les fleurs que dans les feuilles [38].

Les fleurs, les rameaux et l'écorce des hespéridés fournissent trois huiles essentielles différentes en quantité et en qualité [39].

La racine, les feuilles et l'écorce du cannelier de Ceylan produisent des essences diverses. On pourrait citer ainsi de très nombreux exemples.

II.5. 2.4. Cycle biologique

La composition en huile essentielle d'une plante donnée varie avec son âge et les différents stades de son développement au fil des saisons.

Par exemple, au début de la période de floraison, la menthe poivrée (*Mentha piperita* L.) comporte une forte proportion de menthone et de néo menthol qui diminue par la suite du fait de leurs conversions en menthol et en un composé non volatil le glucoside de néo menthyle. On observe des variations très significatives chez la coriandre où la teneur en linalol est 50% plus élevée dans le fruit mûr que dans le fruit vert, etc... [27].

II.5.2.5. Conservation du matériel végétal

La période de récolte, le séchage ainsi que le stockage du matériel végétal peuvent entraîner de profondes modifications sur l'essence [36].

A titre d'exemple, on peut citer les mousses de chêne qui après stockage durant au moins quatre mois, développent différents principes actifs. En effet, elles contiennent des molécules sans odeur contenant deux cycles benzéniques diversement substitués et reliés entre eux par le groupement ester appelées despides. Elles se dégradent en produits odorants par hydrolyse, alcoololyse, fermentation bactérienne au cours de temps [40].

II.5.3. Facteurs technologiques

Le mode d'extraction d'une huile essentielle marque de son empreinte le rendement et

la composition chimique de celle-ci. En effet, l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau ne conduisent pas à la même quantité et qualité d'essence.

La durée et la vitesse de la distillation, ainsi que la masse du végétal à traiter ont une grande influence.

Lors de l'hydrodistillation d'une plante aromatique, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire des réactions chimiques d'altération (hydrolyse, élimination, cyclisation, réarrangement et autres...) sur les composés terpéniques thermosensibles de l'essence [41]. Ces réactions engendrent la présence d'artefacts dans les huiles essentielles (exemple de l'azulène dans la camomille).

En plus des facteurs suscités, il en existe encore d'autres comme les hybridations, les mutations, les affections causées par les parasites, etc.

Ces multiples et divers paramètres sont liés entre eux et constituent un ensemble qui interfère au niveau du produit obtenu [31].

II.6. Travaux antérieurs relatifs à l'huile essentielle de sauge

En raison de ses multiples applications dans les domaines les plus variés, cosmétiques, pharmaceutiques et alimentaires, 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.6 .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 variation chimique de l'huile essentielle est d'origine génétique, mais elle dépend aussi d'autres facteurs [41] :

- 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 publiée dans les monographies [42, 43]. En 1990, sur la base de l'ensemble des travaux publiés, relatifs à la composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., cinq types chimiques, ou chémotypes, ont été définis, en fonction de la teneur de ses constituants majoritaires [44] :

- 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 et fleurs), les périodes de végétation et les sites de culture [45, 46].

A titre d'exemple, dans le tableau II.1 sont présentés les teneurs des constituants majoritaires des huiles essentielles en provenance d'Algérie, d'Albanie, de Dalmatie et d'Espagne.

Tableau II.1 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. provenant d'Algérie, d'Albanie, de Dalmatie et d'Espagne

Composé	Algérie [47]	Albanie [48]	Dalmatie [48]	Espagne [48]
1,8 cinéol	15,46	8,20	12,00	9,65
α-thuyone	19,91	23,40	37,15	30,15
β- thuyone	9,03	3,45	14,20	4,10
Camphre	16,83	22,45	12,30	13,80

On constate que ces huiles essentielles appartiennent au chémotypes à α -thuyone. Plus tard, en 1990, la composition de l'huile commerciale de *Salvia officinalis* L. a été réglementée par norme ISO 9909, 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 [49] 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 [50-51]

Islande	Italie	Cuba	Serbie	Géorgie	Roumanie	Portugal	France
α -thuyone 45,5 Camphre 15,9 β -thuyone 8,4 1,8- cineole 8,3	Camphre 26,8 α -thuyone 23 p-cymène 11,8 Pinocarviol 6,6	α -humulène 14,7 Viridiflorol 13,4 α -thuyone 12,9 β -thuyone 10,8	α -thuyone 22,1 1,8- cineole 16,2 α -humulène 11 β -Caryophyllene 6	α -thuyone 31,5 β -thuyone 17,5 1,8-cinéol 17,5	α -thuyone 21,8 Viridiflorol 11,7 Camphre 11,2 Manool 9,1	α -thuyone 22,8 1,8-cinéol 15,7 Viridiflorol 10,9	Camphre 22 α -thuyone 20,9 1,8-cinéol 13,4
Hongrie	République Tchèque	Brésil	Herzégovine	Bulgarie	Turquie	Espagne	Iran
Camphre 30,7 β -thuyone 17,6 1,8-cinéol 17 Camphene 4,4	α -thuyone 25,1 Camphre 24,1 1,8-cinéol 11,9 α -humulène 6,9	α -thuyone 24,8 1,8-cinéol 14,8 Borneol 11,1 Camphre 10,9	Viridiflorol 18,5-24 α -thuyone 9,3-15,6 α -humulène 10,2-13,6 Manool 10-13,3 1,8-cinéol 9,2-10,9	α -thuyone 21,5 1,8-cinéol 16,2 α -humulène 11,2 β -pinène 7,6	α -thuyone 29,4 β -thuyone 17,4 1,8-cinéol 12,5 Camphre 11,7	Camphre 22,9 α -thuyone 20,6 β -thuyone 15,1 Borneol 7,9	1,8-cinéol 15,3-22 α -thuyone 9,1-25, β -pinène 7,1-16,4 p-cymene 3,5-11
Lituanie [46,50-51]							
Lituanie-Vilinius	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D	Lot E	Lot G	Lot H
α -thuyone 14,8-18 α -humulène 7,6-8,7 Manool 10-13,3 Viridiflorol 7,7-8,2 1,8-cinéol 6,6-8,2	1,8-cinéol 17,6 Viridiflorol 13,8 α -humulène 11,2 β -caryophyllene 10,2 Manool 7,9	1,8-cinéol 12,4 β -caryophyllene 9 Manool 8,9 α -thuyone 8,3 Borneol 7,5	Manool 14,4 α -thuyone 11,5 Viridiflorol 10,5 α -humulène 8,7 Borneol 5,9	Manool 20,9 Viridiflorol 16,5 α -humulène 7,2 Epoxide de humulène II 3,7 Borneol 3,5	Manool 15,5 Viridiflorol 11,2 α -thuyone 9,6 α -humulène 8,7 Borneol 8,1	α -thuyone 12,6 Manool 11,5 Viridiflorol 10,5 α -humulène 9,8 Borneol 7,1	α -thuyone 12,6 Manool 10,3 Camphor 9,9 α -humulène 9,2 Viridiflorol 9,0

Concernant la composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. d'Algérie, les résultats de recherches récents publiés ou en cours, sont regroupés dans le tableau II.4 suivant.

Tableau II.4: Teneurs, %, des constituants majoritaires de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., provenant d'Algérie

T. DOB et coll. [50]		I. CHAFAA [52]		O. ENSELMA, N. LAZLI [53]	
Camphre	20,4	Manool	17,8	α -thuyone	21,7
α - thuyone	19,6	Viridiflorol	11,2	1,8- cinéol	19,3
1,8- cinéol	12,3	β -Caryophyllène	9,7	Camphre	10,1

Si les compositions des huiles essentielles étudiées dans les travaux [50] et [53] permettent de les rattacher aux chémotypes décrits par la norme ISO 9909, celle présentée dans le travail [40] est différente des compositions rapportées dans la bibliographie [49].

Il est à noter, cependant, que la composition chimique des huiles essentielles est affectée par plusieurs paramètres, liés aux conditions opératoires d'extraction et aux propriétés de la matière végétale. A titre d'exemple, concernant l'effet du séchage de la matière végétale sur la composition de l'huile essentielle de sauge, Venskutonis [55] rapporte que cette dernière ne change pas après une congélation ou un séchage au four à 30°C. Cependant les teneurs des constituants changent après un séchage au four à 60°C. Ceci est dû à leur volatilité et à leur instabilité thermique.

II.6.2. Propriétés physico-chimiques d'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Les huiles essentielles sont des substances liquides à température ambiante, de consistance huileuse mais non grasse, volatiles, rarement colorées. Elle sont solubles dans les huiles végétales et dans l'alcool jusqu'à un certain pourcentage, mais très peu solubles dans l'eau [56]. Généralement, leurs densités sont, pour la plupart, inférieures à l'unité [57].

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 nous renseigne sur l'activité optique d'une substance.

Sur la base d'une étude bibliographique, nous rapportons, dans les tableaux II.5 et II.6, quelques caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L.

Tableau II.5 : Caractéristiques physiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L.

Caractéristiques physiques	Algérie [47]	Amérique [45]	Dalmatie [45]	Norme [26]
Densité	0,926	0,922-0,926	0,915-0,927	0,910- 0,930
Indice de réfraction (η_D^{20})	1,4676	1,4699- 1,4650	1,4647- 1,4680	1,4580- 1,4740
Pouvoir rotatoire	+3°	+4°28'-+4°56'	+4°-+11°42'	+2°-+30°

Tableau II.6 : Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L.

Caractéristiques physico-chimiques	Algérie [57]	Gildmeister et Hoffman [58]	Guenter [45]	Norme [26]
Indice d'ester	7,97	6-17	4,57-17	—
Indice d'acide	4,6	2	—	—
Indice de carbonyle	157,08	—	—	103-288
Miscibilité à l'éthanol à 70%	8	—	3,5-10	8,5
Miscibilité à l'éthanol à 80%	1,2	—	1	2

On note que les propriétés physico-chimiques des huiles étudiées sont conformes à la norme AFNOR.

II.6.3. Propriétés biologiques de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Une équipe scientifique du King's collège «Le collège du roi » de Londres a testé les effets de l'huile essentielle de sauge sur notre cerveau. 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 [59].

L'huile essentielle de sauge posséderait 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 [60].

Les huiles essentielles de la 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, la 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 [4].

II.6.4. 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 [61,63].

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 de *E.coli* [64].

Le protocole expérimental et l'interprétation des résultats obtenus par la méthode d'antibiogramme sont présentés plus loin.

A titre d'exemple, nous rapportons dans le tableau II.7, les résultats d'une étude [64] 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 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 μ l/disque. L'activité antimicrobienne est évaluée par le diamètre de la zone d'inhibition.

Tableau II.7 : Effet antibactérien de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

	Diamètre de la zone d'inhibition				
Souche bactérienne	<i>S.aureus</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S.feacalis</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.

Chapitre III
Extraction par entraînement à la
vapeur d'eau à échelle semi-
pilote de l'huile essentielle de
Salvia officinalis L.

La distillation à la vapeur d'eau est le plus ancien des procédés d'extraction des huiles essentielles à partir des végétaux. Il est basé sur le fait que la plupart des composés odorants volatils sont susceptibles d'être entraînés par des aérosols de vapeur d'eau du fait de leurs points d'ébullition relativement bas et leur caractère hydrophobe [65].

III.1. Le procédé d'entraînement à la vapeur d'eau

III.1.1. Principe

Le principe de la distillation à la vapeur d'eau appelé aussi entraînement à la vapeur d'eau, consiste à déposer la matière végétale sur une grille perforée placée à une certaine distance du fond de l'alambic, afin qu'elle soit à l'abri de l'eau de condensation.

La vapeur produite par un générateur de vapeur, surchauffée ayant une pression supérieure à la pression atmosphérique est introduite au dessous de la grille. En traversant la matière végétale, elle entraîne l'huile essentielle.

Les eaux condensées accumulées au fond de l'alambic sont périodiquement évacuées afin d'éviter leur contact avec la matière végétale à traiter.

Le mélange des vapeurs d'huile et d'eau est refroidi et condensé. L'huile récupérée par décantation est dite huile primaire [66].

III.1.2. Théorie

Les phénomènes régissant l'entraînement à la vapeur d'eau sont complexes et peu connus à ce jour. Tous les travaux semblent se référer à la théorie de Von Rothenberg [67] reprise par Guenther [68], dans son ouvrage sur les huiles essentielles.

Selon Von Rothenberg et Guenther, le mode de récupération des huiles essentielles à partir des cellules végétales, au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau, suit deux processus : l'osmose ou la diffusion libre.

Le terme diffusion désigne un déplacement des différentes substances jusqu'à l'équilibre du système, déplacement qui serait du au mouvement des molécules à l'intérieur des tissus de la plante, sous l'effet de la chaleur.

Les échanges de vapeurs (eau ou huile essentielle) à travers les tissus de la plante dépendent de la perméabilité de ces derniers. Des études microscopiques semblent prouver que les parois cellulaires sont imperméables et emprisonnent les huiles essentielles, aux températures ordinaires. Seule une faible quantité de composés volatils arrive à s'échapper. Au cours de l'entraînement à la vapeur, les conditions de température et de pression augmentent considérablement le mouvement des molécules dans la plante.

Toujours d'après Von Rochenberg, à la température d'ébullition de l'eau, une partie des composés polaires de l'huile sont solubilisés dans l'eau qui aurait pénétrée dans les tissus de la plante. La solution aqueuse ainsi obtenue diffuse jusqu'à la surface de la plante.

Une étude plus récente [69] faite sur des graines confirme l'existence de deux étapes : osmose dans le cas d'un matériel végétal intact, les parois cellulaires ralentissent la cinétique d'extraction, et diffusion libre dans le cas d'un matériel broyé, le broyage détruisant toute barrière entre l'huile essentielle et la vapeur d'eau.

Les composés de l'essence contenue dans les glandes : terpènes, produits oxygénés, sesquiterpènes,... ont leurs tensions de vapeur propres, à la température du milieu, et leurs solubilités propres dans la vapeur d'eau condensée dans les glandes. La vitesse d'entraînement de ces composés dépendra de l'état du végétal.

Si les cellules sont intactes (matériel végétal non découpé), le mouvement des molécules est ralenti par la présence des parois cellulaires ; aussi les constituants distilleront dans l'ordre de leurs solubilités dans l'eau chaude. Dans ce cas, le phénomène prédominant est l'osmose, la plus grande partie de l'huile n'arrive à la surface qu'après une étape lente de diffusion à travers les parois cellulaires, étape qui régirait donc la vitesse d'extraction.

Lorsque le matériel végétal est finement découpé, les parois cellulaires sont détruites et l'entraînement de l'huile se fait exclusivement par diffusion libre. Dans ce cas, les constituants de l'huile distillent dans l'ordre de leurs volatilités. Le processus de distillation est accéléré et la durée totale d'extraction peut ainsi être considérablement réduite. Le recours au découpage est donc conseillé, car il diminue le chemin de l'essence, à travers le tissu de la plante, jusqu'à la surface et évite les phénomènes de diffusion à cinétique lente.

D'autre part, d'après Garnero [38], il semblerait que, pour un matériel végétal intact, les composés polaires soient entraînés plus vite que les composés apolaires. Ainsi, les hydrocarbures monoterpéniques sortiraient après les alcools monoterpéniques. Or, la considération des températures d'ébullition n'explique pas cet ordre de sortie. Seule la théorie de Guenther trouverait une interprétation de ce phénomène. En effet, pour les composés oxygénés plus solubles dans l'eau, la vitesse de diffusion est plus grande. En revanche, la cinétique d'extraction des composés volatils moins solubles dans l'eau est ralentie. Ces résultats prouveraient que les composés de l'huile se solubilisent dans la vapeur d'eau à l'intérieur de la plante.

III.1.3. Paramètres du procédé d'entraînement à la vapeur d'eau

III.1.3.1 La durée d'extraction

C'est un paramètre important de l'entraînement à la vapeur d'eau. Il dépend de la localisation de l'huile essentielle dans la matière végétale. Ainsi, les plantes à structure sécrétrice exogène auront un temps d'extraction relativement court, tandis que les plantes ayant des sites endogènes, nécessitent une durée d'extraction plus longue.

III.1.3.2. Le débit de vapeur

Le débit de vapeur (D) est l'un des paramètres les plus importants du procédé, influençant le rendement en huile. Sa maîtrise permet, en outre, d'éviter des dysfonctionnements de type hydraulique, comme l'étranglement qui provoquerait une accumulation du liquide dans l'extracteur.

III.1.3.3. Le débit spécifique de vapeur

Le débit spécifique (D_{sp}), exprimé en g/g.mn, représente la masse de vapeurs d'eau par unité de masse de matière végétale et par unité de temps :

$$D_{sp} = \frac{D}{M}$$

III.1.3.4. La température du distillat

La température (T) du distillat est liée à la solubilité de l'huile essentielle dans l'eau, dont il faut tenir compte. La récupération complète, par décantation, de l'huile essentielle des eaux de distillation, appelée huile primaire, dépend donc de la température du distillat recueilli à la sortie du condenseur. Le choix d'une température convenable permet de minimiser la quantité d'huile solubilisée dans l'eau, appelée huile secondaire, et, dans certains cas, d'éviter un traitement supplémentaire des eaux de distillation [70].

III.1.4. Cinétique de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau

La cinétique d'extraction est décrite par des courbes totales de distillation ou par des histogrammes, donnant la variation de la masse de l'huile essentielle, ou de son rendement, en fonction du temps.

Les courbes totales de distillation représentent l'évolution du rendement en huile pour une durée du temps, depuis le début de l'extraction et comportent deux parties :

- une première partie, où la vitesse de d'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, relativement lente, est régie par des phénomènes de diffusion de l'huile endogène à travers le tissu de la plante. Dans cette phase du processus a lieu la désorption de l'huile adsorbée à la surface du végétal au cours de la première période.

- Les histogrammes représentent les valeurs du rendement en huile obtenu dans un intervalle du temps. Ils fournissent des informations concernant la cinétique du processus et la composition de l'huile essentielle. [70]

III.1.5. Le rendement en huile essentielle

Le rendement R en huile essentielle, exprimé en pourcentage, est le rapport entre la masse de l'huile essentielle (m_{HE}) obtenue et la masse de matière végétale M, exprimées dans la même unité de masse.

$$R(\%) = \frac{m_{HE} \times 100}{M}$$

Il est d'usage d'exprimer les rendements en huile par rapport à la masse de matière végétale séchée, afin de les comparer sur la même base.

III.1.6. Avantages et inconvénients du procédé

Le procédé d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau a l'avantage de fournir d'excellents rendements en huile très pure et de ne demander qu'une main d'oeuvre minimale.

Parmi les inconvénients de ce procédé, le plus souvent sont évoqués les faits que :

- Certaines substances odorantes sont altérées à la température d'ébullition de l'eau.
- Certains constituants des essences qui sont solubles dans l'eau [32], ne se retrouveront pas dans l'essence, ou tout au moins n'y seront que partiellement représentés. Il en résultera que l'essence obtenue par distillation à la vapeur d'eau n'aura pas toujours exactement l'odeur de la matière première.

III. 2. L'installation d'extraction de l'huile essentielle

Nous avons mené nos expériences sur une installation d'extraction solide/fluide à échelle semi-pilote, conçue et réalisée au Département de Génie chimique de l'Ecole Nationale Polytechnique [71]. L'installation est schématisée sur la figure III.1. Elle a été réalisée avec des éléments de récupération en verre spécial (EIVS) et la taille des différents équipements a été imposée par leur disponibilité.

La chaudière génératrice de vapeur est constituée d'un ballon de capacité 14 l, placé dans un chauffe ballon. Le chauffage est assuré par trois résistances, de 500 W chacune, enrobées dans la laine de verre. L'hémisphère supérieur du ballon chaudière est recouvert d'une calotte sphérique chauffante amovible, dans le but de diminuer les pertes thermiques et d'augmenter la puissance de chauffe. Ces résistances sont commandées par des disjoncteurs.

Les essais d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. ont été réalisés en utilisant le « petit extracteur ». Sa capacité est de 6 litres et le rapport hauteur/diamètre est de 7,7. Le grand extracteur (R04) a été isolé par un jeu de vannes, de manière à envoyer du flux de vapeur dans le petit extracteur uniquement. Ce dernier passe dans l'extracteur à travers un distributeur de vapeur en téflon, dont le taux de vide est de 46 % et qui joue le rôle de support de la matière végétale.

Le condenseur est tubulaire à serpentin, constitué de trois tubes enroulés. La surface d'échange offerte par le système ainsi obtenu est de 0,73m². L'eau de refroidissement circule entre le serpentin et les parois du condenseur, alors que les vapeurs venant de l'extracteur sont envoyées dans le serpentin.

Le décanteur est décanteur à flux inverse, constitué de deux cloches superposées, la cloche inférieure a une seule ouverture verticale, la cloche supérieure en a deux, une verticale et une horizontale. La sortie de la cloche inférieure est reliée à un siphon pour fixer le niveau de soutirage de la phase lourde et maintenir une interface assurant l'évacuation en continu de la phase légère. Le distillat issu du condenseur s'écoule le long d'un tube fin dont la longueur permet de fixer le niveau d'introduction du mélange eau-huile dans le décanteur. L'huile essentielle est évacuée par une sortie transversale et le niveau d'eau dans le décanteur est contrôlé à l'aide d'une vanne.

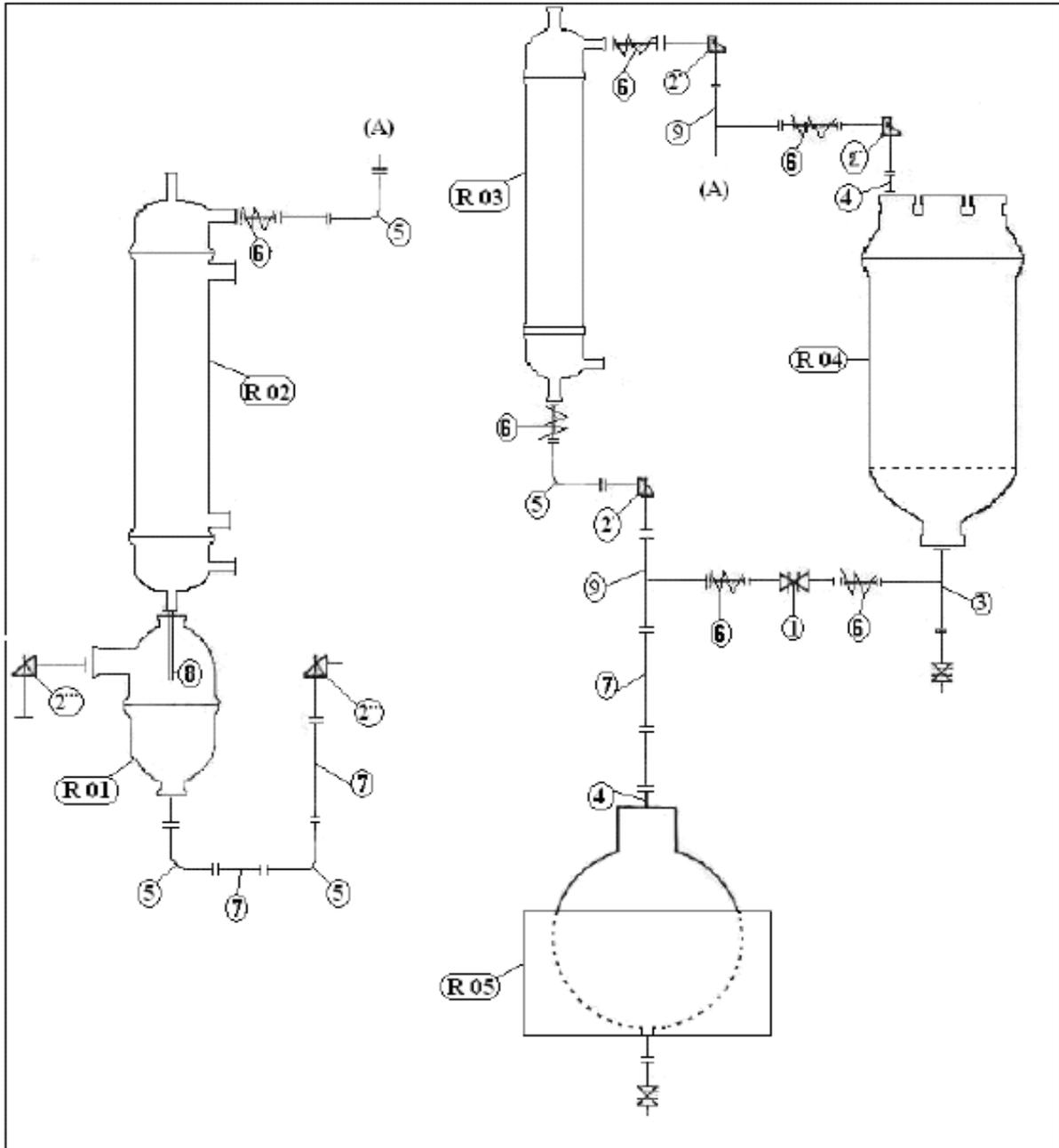


Figure III.1. : Schéma de l'installation d'extraction solide-fluide [71]

Principaux équipements

- R01** : Décanteur
- R02** : Condenseur
- R03** : Petit extracteur
- R04** : Grand extracteur
- R05** : Chaudière

Les jonctions

- 1.** Robinet de passage direct
- 2.** Robinet de passage d'équerre
- 3.** Réduction avec sortie latérale
- 4.** Réduction
- 5.** Coude à 90°
- 6.** Flexible
- 7.** Conduite
- 8.** Conduite de diamètre inférieur à celui de 7
- 9.** Tube en T

Nous avons effectué quelques modifications de l'installation, afin de l'adapter au protocole expérimental de nos essais et d'améliorer son fonctionnement.

- Le décanteur a été enlevé et remplacé par un simple récipient de récupération du distillat ou pour, certains essais, un autre décanteur à flux inversé a été utilisé.
- Le flux de vapeurs sortant de l'extracteur a été envoyé dans le serpentin, alors que l'eau de refroidissement circulait à contre-courant, enveloppant le serpentin.

III.3. Les essais d'extraction de l'huile essentielle

Nous avons réalisé des essais d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., en étudiant l'influence sur le rendement en huile des paramètres, liés aussi bien au procédé, tels le débit spécifique et la température du distillat dans le décanteur, qu'à la matière végétale, en l'occurrence, l'état de la plante : fraîche, séchée à l'ombre et au soleil.

III .3.1. Étude de l'influence du débit spécifique sur le rendement en huile essentielle

Afin d'évaluer l'influence du débit spécifique sur le rendement en huile essentielle, nous avons procédé à l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau des échantillons représentatifs de matière végétale de Jardins d'essais de masse respectivement 600, 700, 750, 800 et 1000g. Avant l'extraction, le taux d'humidité (H) de chaque échantillon a été déterminé.

Sur la base des résultats des essais préliminaires, la durée d'extraction a été fixée à 3 heures pour l'ensemble des essais.

Le distillat sortant du condenseur a été récupéré dans une recette et maintenu à la température ambiante de $15 \pm 1^\circ$. L'huile essentielle a été récupérée des eaux de distillation par des extractions successives à l'éther diéthylique.

Le débit de vapeur pour chaque essai a été déterminé par le volume du distillat récupéré en unité de temps. Il est à noter la difficulté de faire varier le débit de vapeur généré par la chaudière ou de le maintenir rigoureusement constant pour l'ensemble des essais.

Le débit spécifique et le rendement en huile ont été rapportés à la masse de la matière végétale sèche.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau III.1 suivant.

Tableau III.1: Variation du rendement R en huile essentielle, en fonction du débit spécifique D_{sp}

Masse de matière végétale M(g)	Taux d'humidité H(%)	Débit de vapeur D(ml/mn)	Débit Spécifique D_{sp} (g/g.ml)	Rendement en huile Essentielle R(%)
600	76,4	8,5	0,060	0,86
700	65,8	7,8	0,034	0,44
750	65,8	8,7	0,037	0,37
800	73,9	8,6	0,041	0,71
1000	73,9	4,4	0,017	0,08

La variation du rendement en huile essentielle, en fonction du débit spécifique est présentée à la figure III.2 suivante.

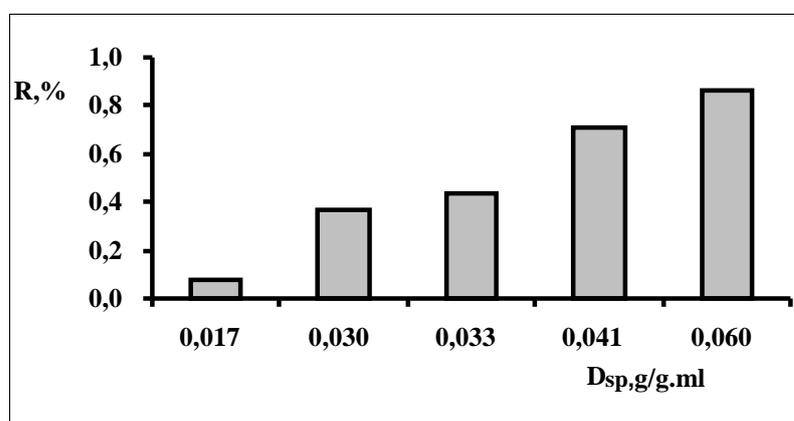


Figure III.2: Variation du rendement R en huile essentielle, en fonction du débit spécifique D_{sp}

Nous remarquons que le meilleur rendement en huile essentielle est obtenu avec un débit spécifique de 0,06 g/g.mn.

Le faible rendement, 0,08 %, obtenu pour une masse de matière végétale de 1000g et un débit de vapeur de 4,45ml/mn, peut être attribué aussi bien au débit insuffisant de vapeur, qu'au tassement excessif de la matière végétale dans l'extracteur. Ce dernier est à l'origine des chemins préférentiels de la vapeur d'eau. Dans ce cas, le contact intime entre la vapeur et la totalité du matériel végétal n'est pas assuré et par conséquent, le rendement en huile diminue.

Les résultats de cette étude nous ont permis de retenir, pour la suite de nos essais, la valeur de 0,06 g/g.mn pour le débit spécifique.

III.3.2. Etude de l'influence de la température du distillat dans le décanteur sur les rendements en huile primaire et secondaire

Pour les besoins de cette étude, nous avons utilisé un décanteur à flux inversé. Ce dernier est constitué d'une ampoule décanter de capacité 500 ml, dans laquelle le distillat venant du condenseur s'écoule le long d'un tube, dont la longueur permet d'introduire le mélange eau - huile environ à la mi-hauteur de l'ampoule. L'extrémité inférieure de l'ampoule est reliée à un siphon, afin de fixer le niveau de soutirage des eaux de distillation et maintenir un niveau constant de l'huile essentielle surnageante. L'ampoule à décanter a été plongée dans un bain thermostaté. La température du bain a été fixée respectivement à 15°, 20°, 25°, 30° et 35°C.

Les essais d'extraction ont été réalisés avec des échantillons représentatifs du lot de la matière végétale cultivé au Jardin d'essais et leur taux d'humidité a été mesuré préalablement. Le débit spécifique moyen de $D_{sp} = 0,056 \text{ g/g.mn}$, soit un débit moyen de vapeur de 8,3 ml/mn et une masse de matière végétale fraîche de 600g, est proche de la valeur optimale, déterminée précédemment.

Pendant toute la durée d'extraction, fixée à 3 heures, la température des eaux de distillation et de l'huile essentielle dans le décanteur a été maintenue à une valeur fixe et constante à $\pm 1^\circ\text{C}$.

Après la fin de l'extraction, l'huile décantée dans l'ampoule, ou huile primaire, est séparée des eaux de décanter et pesée. Les eaux de distillation subissent 2 extractions successives à l'éther diéthylique, afin de récupérer l'huile secondaire. Sa masse est déterminée par pesée, après l'évaporation de l'éther.

Les résultats obtenus nous ont permis, d'une part, d'évaluer l'influence de la température du distillat dans le décanteur sur les rendements en huile primaire et secondaire, et d'autre part, d'effectuer une évaluation statistique de leur reproductibilité.

III.3.2.1. Evaluation statistique de la reproductibilité des résultats

Etant donné que l'ensemble des cinq essais ont été réalisés, en utilisant des échantillons représentatifs d'un même lot de matière végétale, de même masse, de même taux d'humidité et leur huile totale a été obtenue par entraînement à la vapeur d'eau dans les mêmes conditions opératoires, mise à part la température du distillat dans le décanteur, les rendements en huile totale devraient être comparables. On peut, donc, considérer ces essais comme des essais répétitifs, en négligeant les pertes dues à l'évaporation de l'huile aux différentes températures. Ceci a été rendu possible en réduisant la surface d'évaporation.

Pour évaluer la reproductibilité, on doit mesurer plusieurs fois le même grandeur ou phénomène. La différence avec la répétitivité est que l'on reprépare à chaque fois la mesure. Ceci permet de prendre en compte la totalité de la chaîne de mesures et les erreurs humaines [72].

Pour chaque essai, nous avons mesuré le taux d'humidité de la matière végétale, le débit de vapeur et estimé le rendement total en huile essentielle.

Pour chacun des grandeurs, l'intervalle de confiance a été déterminé, pour une probabilité de se tromper de 5%. Il est exprimé par :

$$\bar{y} - k.S_d < \bar{y} < \bar{y} + k.S_d$$

où \bar{y} est la moyenne arithmétique des résultats des essais répétitifs, k est le critère de Student, égal à 2,78, pour 4 degrés de liberté, et S_d la déviation standard, calculée par la relation suivante:

$$S_d = \frac{1}{n-1} \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

où n est le nombre d'essais répétitifs et y_i , sont les résultats des essais répétitifs [72]

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau III.2 suivant.

Tableau III.2: Evaluation statistique de la reproductibilité des résultats

Essai	Température T(°C)	Taux d'humidité H(%)	Débit de la vapeur d'eau D(ml/min)	Rendement en huile totale, R(%)
1	15	76,4	8,50	0,86
2	20	76,4	7,50	0,37
3	25	76,4	7,71	0,71
4	30	76,4	7,97	0,73
5	35	73,9	9,08	0,83
Moyenne		75,2	8,32	0,70
Déviation standard, S_d		1,06	1,33	0,21
Intervalle de confiance		73,3÷77,1	7,39÷9,25	0,43÷0,97

Au vu des valeurs de ce tableau, on constate que le rendement obtenu par l'essai 2 n'appartient pas à l'intervalle de confiance. Il s'agit, de toute évidence, d'une erreur de manipulation. Aussi, nous avons décidé de ne pas tenir compte de cet essai, car, dans le cas

contraire, cela peut nous conduire à des interprétations erronées.

III.3.2.2. Interprétation des résultats

En tenant compte des masses d'huile primaire, secondaire et totale, obtenus en maintenant la température du mélange eau - huile dans le décanteur à différentes températures, nous avons calculé les proportions des masses des huiles primaire et secondaire par rapport à celle de l'huile totale obtenue. Le tableau III.3 regroupe les résultats obtenus.

Tableau III.3: Masses d'huile primaire et secondaire obtenus à différentes températures du distillat dans le décanteur

T(°C)	Masse HE, g			Proportion HE, %	
	HEprim	HEsec	HEtotale	HEprim/HEtotale	HEsec/HEtotale
15	1,1379	0,0866	1,2245	92,92	7,08
25	0,9309	0,0655	0,9964	93,42	6,58
30	1,0151	0,0188	1,0339	98,18	1,82
35	1,2578	0,0461	1,3039	96,46	3,54

L'examen des valeurs de ce tableau montre que la proportion d'huile secondaire est maximale pour la température de 15°. En effet, 7% de l'huile totale sont solubilisés dans la phase aqueuse et ne peuvent être récupérés par décantation. Ce résultat est en accord avec des données de la littérature [70], relatives à la solubilité dans l'eau de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Le pourcentage d'huile secondaire solubilisée dans les eaux de distillation, par rapport à l'huile totale récupérée à différentes températures du distillat dans le décanteur, présente un minimum à 30°, comme le montre la figure III.3 suivante.

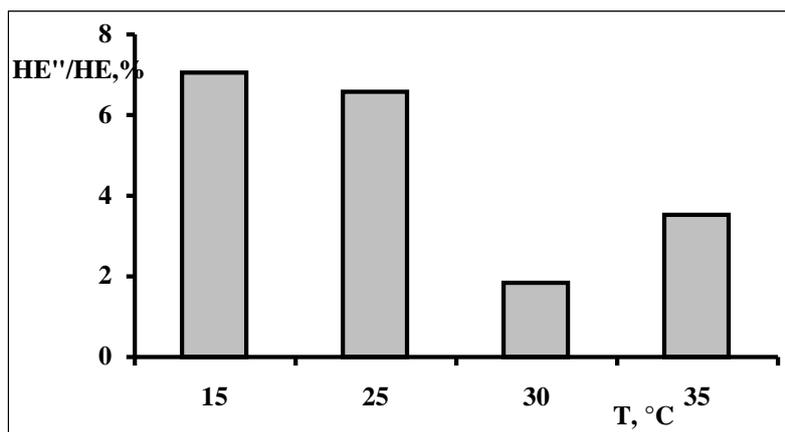


Figure III.3 : Evolution de la proportion d’huile secondaire par rapport à l’huile totale obtenue à différentes températures du distillat ans le décanteur

Le minimum observé à 30° suggère que, dans l’intervalle de températures allant de 15 à 30°C, de la solubilité de l’huile est essentiellement du type colloïdale : celle-ci diminue avec l’augmentation de la température. Au-delà de cette valeur, la solubilité de l’huile est due à la solubilité moléculaire de ses constituants dans l’eau, qui augmente avec l’élévation de la température.

Les résultats de cette étude montrent que la solubilité de l’huile essentielle dans l’eau est affectée de façon non négligeable par la température du distillat, d’où la nécessité de rechercher la température optimale du distillat pendant son séjour dans le décanteur, afin d’éviter de faire appel à d’autres procédés de récupération de l’huile secondaire, tels le cohobage ou l’extraction liquide-liquide.

III.3.3. Etude de l’influence du séchage de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle

Nous avons procédé à l’extraction par entraînement à la vapeur d’eau des échantillons, de matière végétale provenant de trois lots différents, à l’état frais, séché à l’ombre et au soleil.

L’étude a porté sur la sauge provenant du Jardins d’essais. En raison des contraintes de disfonctionnement du système de chauffage de la chaudière, deux séries d’essais ont été réalisées :

- Série 1 : extraction de la plante fraîche et séchée à l’ombre avec un débit de vapeur moyen de 7,5 ml/mn

- Série 2 : extraction de la plante fraîche et séchée au soleil avec un débit de vapeur moyen de 4,7 ml/mn.

Les rendements, exprimés par rapport à la matière sèche, sont présentés dans le tableau III.4 suivant.

Tableau III.4: Influence du séchage de la matière végétale de Jardins d'essais sur le rendement en huile essentielle

	Série 1		Série 2	
Etat de la plante	Fraîche	Séchée à l'ombre	Fraîche	Séchée au soleil
Taux d'humidité H(%)	65,8	16,9	73,9	5,9
Rendement en huile , R(%)	0,39	1,25	0,08	0,57

Nous constatons que, quelque soit le mode de séchage, à l'ombre ou au soleil, il provoque une augmentation du rendement en huile essentielle. Ce fait a été observé pour d'autres espèces végétales et serait dû au métabolisme secondaire des sucres de l'organisme végétal. Ce dernier a lieu en absence d'oxygène dans les tissus végétaux et conduit, entre autres, à la formation de terpènes. Le phénomène est connu sous le nom de respiration terpénique. [70]

Les meilleurs rendements en huile, 1,25% et 0,57%, obtenus respectivement, à partir de l'échantillon de la plante séchée à l'ombre et de la plante séchée au soleil, nous amènent à déconseiller l'extraction de la plante fraîche, si toutefois, la qualité de l'huile essentielle n'est pas affectée.

Nous avons voulu confirmer ces résultats on procédant à l'extraction de l'huile essentielle des échantillons représentatifs de la plante fraîche, séchée à l'ombre et au soleil des lots 1 et 2. Les rendements en huile obtenus n'ont pas pu être comparés, car une forte variation du débit de vapeur a eu lieu, suite à un dysfonctionnement du système de chauffage de la chaudière. Cette étude pourrait faire objet à des travaux futurs.

III.4. Etude de la cinétique d'extraction

III.4.1. Influence de séchage sur la cinétique d'extraction

Dans un premier temps, nous avons suivi l'évolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'entraînement à la vapeur d'eau de 3 échantillons de la plante provenant du Jardins d'essais:

- fraîche, de taux d'humidité 73,9%
- séchée à l'ombre, de taux d'humidité 43,6%
- séchée au soleil, de taux d'humidité 5,9%

L'extraction des échantillons de la plante fraîche et séchée au soleil a été réalisée avec un débit spécifique de 0,017g/g.mn, celle de la plante séchée à l'ombre, avec un débit spécifique de 0,020 g/g.mn, à cause de la difficulté de maîtriser le débit de vapeur rigoureusement constant.

Au cours de l'extraction, des fractions du distillat ont été recueillies à des intervalles précis de temps. Ayant constaté qu'au terme de 3 h d'extraction, la matière végétale fraîche n'est pas épuisée de son huile essentielle, nous avons prolongé l'extraction des deux autres échantillons, respectivement, de 10 et 30 minutes. La masse de l'huile essentielle de chaque fraction, récupérée par extraction 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.

Les rendements obtenus sont rapportés dans le tableau III.5 suivant.

Tableau III.5: Evolution du rendement en huile, en fonction du temps, lors de l'extraction des échantillons de plante provenant du Jardins d'essais fraîche et séchée à l'ombre et au soleil

t(mn)	Rendement en huile R (%)		
	Plante fraîche	Plante séchée à l'ombre	Plante séchée au soleil
0	0,00	0,00	0,00
5	-	0,06	0,002
10	0,003	0,13	0,07
20	0,02	0,28	0,15
30	0,02	0,33	0,24
45	0,04	0,54	0,24
60	0,06	0,60	0,32
90	0,07	0,61	0,38
120	0,07	0,64	0,44
150	0,07	0,65	0,51
180	0,08	0,66	0,57
190	-	0,66	-
210	-	-	0,57

Sur la base de ces résultats, nous avons tracé et présenté, sur les figures III.4, III.5 et III.6, les courbes cinétiques totales, donnant l'évolution du rendement, en fonction du temps.

Les allures de ces courbes nous permettent d'observer des évolutions que l'on peut lier à la structure sécrétrice de la plante et aux étapes du processus d'entraînement à la vapeur d'eau, rapportées dans la littérature [70].

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'entraînement à la vapeur d'eau. Aussi, selon le mécanisme proposé [70], en début du processus, au contact avec la surface de la matière végétale, la vapeur s'y condense et l'eau de condensation pénètre par osmose dans les trichomes sécréteurs. L'eau étant devenue abondante dans le trichome, la pression exercée de l'intérieur de la cellule vers le milieu opère, alors, sur la paroi primaire (cuticule). Ce phénomène est appelé pression de turgescence. [73]. Par ailleurs, la turgescence provoque le gonflement du trichome et un élargissement des pores de la cuticule. Dans ces conditions, on assiste à la thermodiffusion ou exsudation thermique de l'huile [74], jusqu'à l'établissement d'un équilibre des températures à l'extérieur et à l'intérieur du trichome. La température élevée provoque la coagulation du protoplasme du trichome et par conséquent ce dernier, mais aussi la cuticule perdent leur perméabilité. Arrivée à l'extérieur du trichome, l'huile essentielle rencontre une couche d'eau de condensation 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.

Ce mécanisme semble refléter correctement l'allure des courbes cinétiques des figures III.4, III.5 et III.6.

En examinant la courbe cinétique, relative à l'extraction de l'huile essentielle de la plante fraîche, (figure III.4), on distingue les trois étapes suivantes:

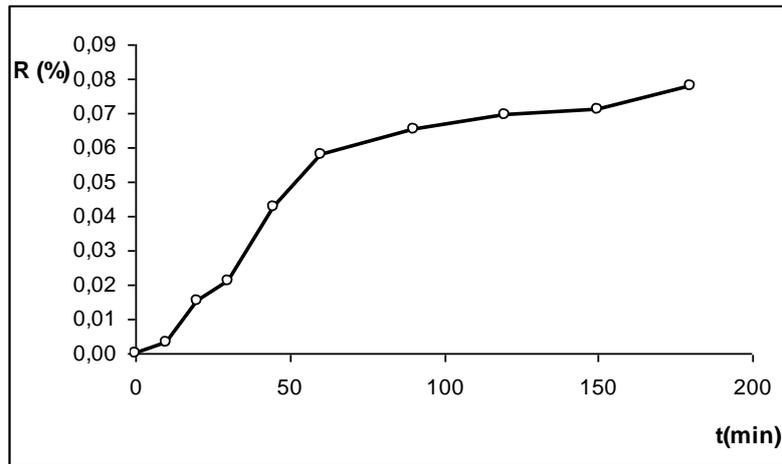


Figure III. 4: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale fraîche provenant du Jardins d'essais

- Une première étape relativement lente, au début du processus, au cours de laquelle aurait lieu, l'exsudation thermique de l'huile produite par les trichomes sécréteurs, migrant lentement, à travers leur cuticule, vers l'interface huile -eau de condensation d'où elle s'évapore et est entraînée par la vapeur. Simultanément, intervient l'extraction de l'huile libre, provenant de l'éclatement des trichomes, suite aux agressions environnementales.

- La seconde étape, entre 30 et 90 minutes, pourrait correspondre à l'entraînement de l'huile libérée des trichomes sécréteurs, arrivée à l'interface huile -vapeur.

- La troisième étape, au-delà de 90 minutes, pourrait être attribuée, à notre avis, à l'extraction de l'huile provenant des poches endogènes, dont on a supposé l'existence à l'issue des observations, au microscope photonique, des coupes de la tige et de la feuille.

Si ces trois étapes, se traduisant par l'apparition de pseudo paliers, sont bien distinctes dans la courbe cinétique, relative à l'extraction de l'échantillon de la plante fraîche, elles se confondent dans les courbes cinétiques de la plante séchée à l'ombre et au soleil.

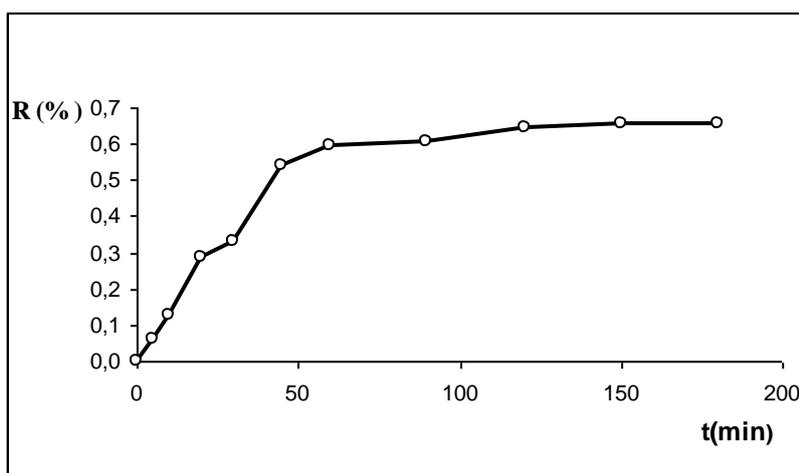


Figure III. 5: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale provenant du Jardins d'essais séchée à l'ombre

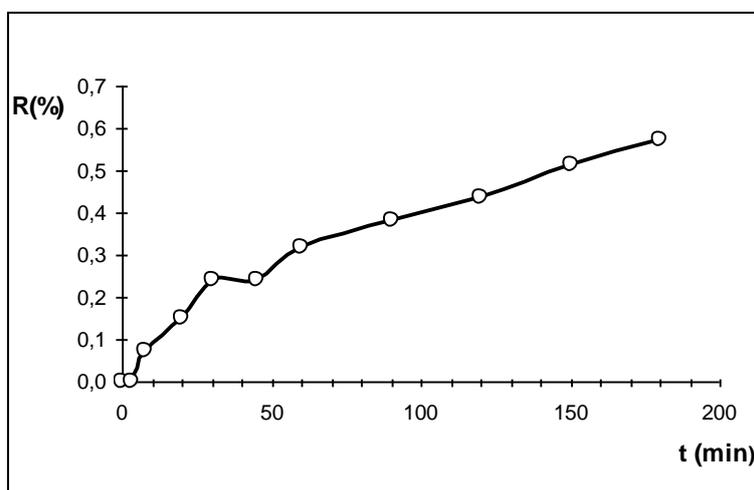


Figure III. 6: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale provenant du Jardins d'essais séchée au soleil

En effet, on constate, sur la Figure III.6, que la quantité d'huile superficielle libre, récupérée pendant les 5 premières minutes, est très faible, certainement, à cause de son évaporation rapide sous l'effet de la chaleur pendant le séchage. La plus grande vitesse d'extraction entre 5 et 30 minutes observée, par référence à l'extraction de l'huile essentielle de la plante fraîche (figure III.4), pourrait être attribué au fait qu'au cours de séchage, les cuticules des trichomes sécréteurs se déshydratent, deviennent plus fragiles et plus perméables. L'huile essentielle atteint plus rapidement la surface et est entraînée par la vapeur au terme de 45 minutes du début du processus. Au delà d'une heure d'extraction, on

remarque, une évolution ascendante et monotone du rendement en huile, se terminant par un palier. Cette allure particulière pourrait être due, à notre avis, à l'entraînement de l'huile diffusant lentement des poches endogènes vers la surface du végétal.

Par ailleurs, pour les mêmes raisons, mais aussi, probablement à cause du plus grand débit spécifique, utilisé lors de l'extraction de cet échantillon, la vitesse d'extraction de l'huile de la plante séchée à l'ombre (figure III.5) est plus élevée par rapport à celle de la plante fraîche au début du processus. De même, l'extraction de l'huile endogène commence plutôt que dans le cas de l'extraction de la plante fraîche.

III.4.2. Cinétique d'extraction et composition chimique de l'huile essentielle

Des travaux antérieurs [70] rapportent que l'allure des histogrammes peut fournir des renseignements sur la composition qualitative de l'huile essentielle :

- un maximum observé au début d'extraction, correspondrait à une teneur élevée en monoterpènes et leurs dérivés ;
- une forte teneur en sesquiterpènes et leurs dérivés se traduirait par un maximum au milieu de l'histogramme ;
- lorsque le maximum est situé en fin de l'histogramme, il indiquerait une teneur élevée en composés lourds, tels les diterpènes.

L'examen des histogrammes, présentés sur la figure III.7, relatifs à la cinétique d'extraction de l'huile des échantillons de la plante du Jardin d'essais, fraîche, séchée à l'ombre et au soleil, laisse envisager, en effet, la prédominance dans l'huile des dérivés sesquiterpéniques, le maximum étant situé au milieu de l'histogramme.

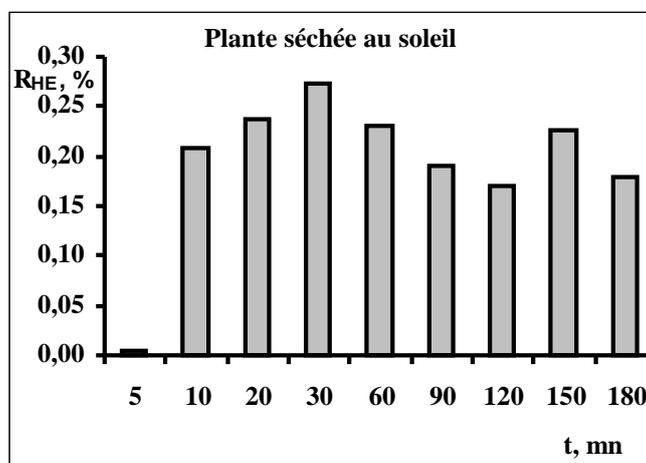
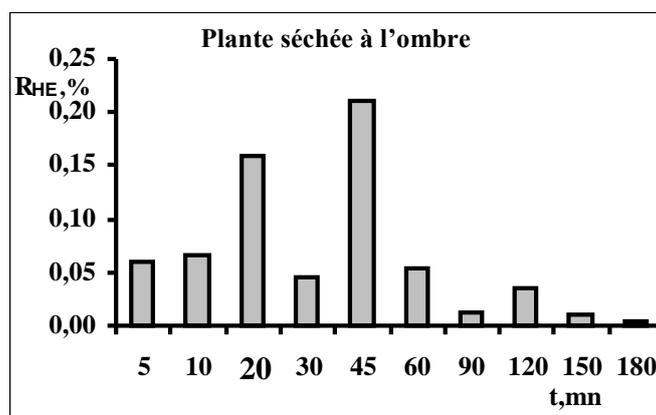
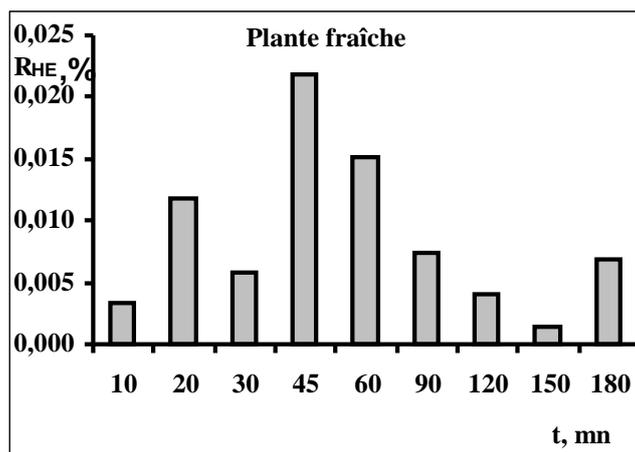


Figure III.7: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale fraîche, séchée à l'ombre et au soleil, provenant du Jardin d'essais

L'allure de l'histogramme, correspondant à l'échantillon de la plante séchée au soleil, suggère, en outre, une plus faible teneur en monotépénoïdes et une teneur plus élevée en composés lourds.

L'étude de la cinétique d'extraction d'huile essentielle des échantillons de la plante fraîche des trois lots nous ont permis présenter sur la figure III.8 les histogrammes correspondants.

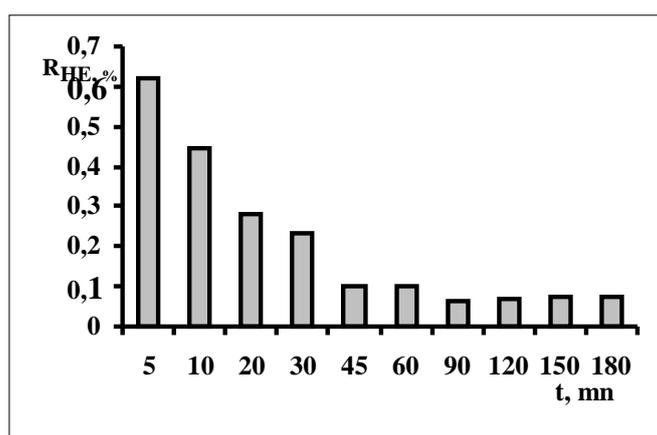
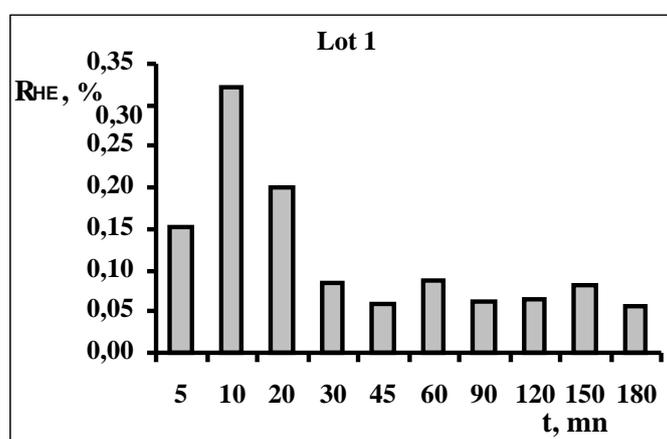
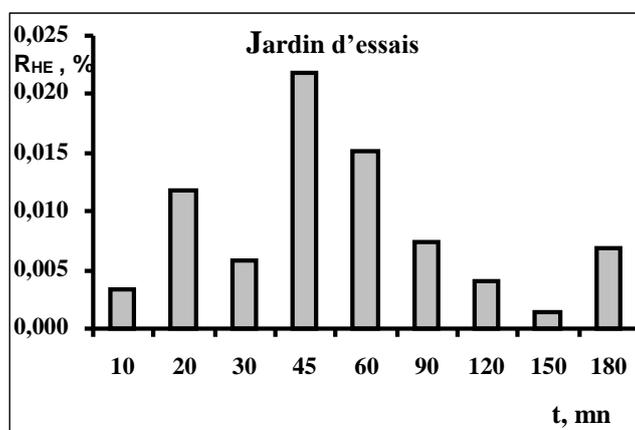


Figure III.8: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction de la matière végétale fraîche provenant des trois lots

L'examen des allures de ces histogrammes suggère, d'une part, une composition différente des huiles essentielles des trois lots et, d'autre part, laissent envisager:

- la prédominance des sésquiterpènes et de leurs dérivés, dans l'huile essentielle de la plante du Jardin d'essais (maximum au milieu de l'histogramme);
- les monoterpènes et leurs dérivés oxygénés seraient majoritaires dans l'huile du Lot 2 (maximum au début de l'histogramme);
- une composition plus complexe de l'huile du Lot 1, avec une prédominance des dérivés monoterpéniques par rapport aux sesquiterpénoïdes.

III.4.3. Influence de débit spécifique sur la cinétique d'extraction

Afin d'apprécier l'influence du débit spécifique sur la cinétique d'extraction, nous avons comparé les allures des courbes cinétiques III.9, obtenues lors de l'extraction de l'huile essentielle de deux échantillons de la matière végétale fraîche du Jardin d'essais, avec différents débits spécifiques, respectivement, de 0,017g/g.mn et 0,030g/g.ml.

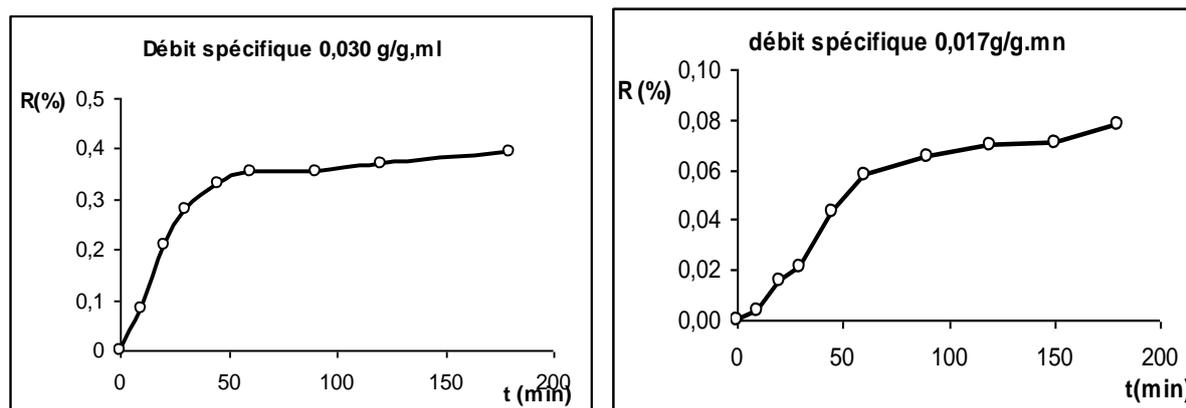


Figure III. 9: Evolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction de deux échantillons de la matière végétale fraîche du Jardin d'essais avec différents débits spécifiques

Nous constatons que la vitesse d'extraction de l'huile essentielle est nettement plus élevée, lorsque le débit spécifique est grand. En effet, 90 % de l'huile totale sont récupérés au terme de 90 minutes, avec un débit spécifique de 0,030g/g.ml, alors que ce pourcentage n'est atteint qu'au bout de 150 minutes, avec un débit spécifique de 0,017g/g.ml.

Par ailleurs, on observe que le débit spécifique affecte la vitesse des deux premières étapes, mais semble ne pas influencer sur la vitesse de récupération de l'huile en fin du processus. Dans l'hypothèse que cette huile proviendrait des cites endogènes, ceci peut être attribué au

fait que la vitesse d'extraction de cette étape est régie par la lenteur de la diffusion de l'huile vers la surface du végétal.

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

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

Nous avons procédé à l'analyse de l'huile essentielle *Salvia officinalis* L, obtenues des échantillons de plante fraîche des trois lots étudiés, par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectromètre de masse, afin d'élucider sa composition chimique.

IV.1.1 Le couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse

Le couplage chromatographie en phase gazeuse–spectrométrie de masse, CG-SM, est aujourd'hui une des techniques les plus utilisées dans la chimie analytique. Cette association des deux techniques, l'une séparative, l'autre, d'identification, permet la séparation des mélanges complexes et l'identification de leurs constituants présents à l'état de traces, de quelques nano grammes de mélange. [75]

La technique est aujourd'hui à son apogée et trouve des applications dans des domaines aussi variés, tels que l'industrie agroalimentaire, la médecine, la pharmacologie ou l'environnement [76].

La chromatographie en phase gazeuse est réservée à l'analyse des composés relativement volatils et thermiquement stables. Le rôle du chromatographe, dans cette technique, est de séparer les constituants du mélange. Il est constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire, placée dans un four, et un détecteur.

Le spectromètre de masse, quant à lui, permet l'identification et la quantification des composés purs. Il comporte trois éléments : une source, un analyseur et un détecteur [76].

Les limites de la GC-MS sont celles de la chromatographie en phase gazeuse. Le facteur limitant étant la volatilité des constituants du mélange, cette technique est réservée à l'analyse de molécules aisément vaporisables et thermiquement stables, c'est à dire, en première approximation, de composés de poids moléculaire faible à moyen. Ces limites admises, la GC-MS est un formidable outil d'analyse. La diversité des modes d'injection et des colonnes capillaires (géométrie, nature de la phase stationnaire) autorise la séparation des mélanges extrêmement complexes, tels les huiles essentielles, les métabolites, hydrocarbures... [77].

IV.1.2. Conditions opératoires d'analyse

L'huile essentielle a été analysée, à l'aide d'un appareil HEWLETT-PACKARD, série 5973A, dans les conditions opératoires suivantes :

- Colonne capillaire: en silice fondu, de longueur 60m et diamètre inférieur 0,25mm
- Phase stationnaire : DB5, épaisseur du film 0,25µm

- Gaz vecteur : hélium
- Détecteur : MSD
- Débit de gaz vecteur : 0,5ml/mn
- Température de colonne : 60 à 220°C à raison de 3°C/mn
- Température de l'injecteur : 220°C
- Volume injecté : 1µl
- Mode d'injection : split 1/25
- Température de la source : 230°C
- Energie d'ionisation : 70 eV
- Vide : 35 mtorrs

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

IV.1.3. Identification des constituants

L'identification des constituants de l'huile essentielle a été réalisée par deux méthodes:

- comparaison de leurs indices de rétention, calculés suivant la formule de Van den Dool et Kratz [78] à ceux publiés dans la littérature [79].
- comparaison de leurs spectres de masse à ceux, de la banque de données de l'appareil, en l'occurrence, NIST, et à ceux publiés dans la littérature [79].

IV.1.4. Résultats

Les chromatogrammes des huiles essentielles sont présentés sur les figures IV.1, IV.2 et IV.3 suivantes, où sont indiqués les noms de quelques uns des constituants identifiés.

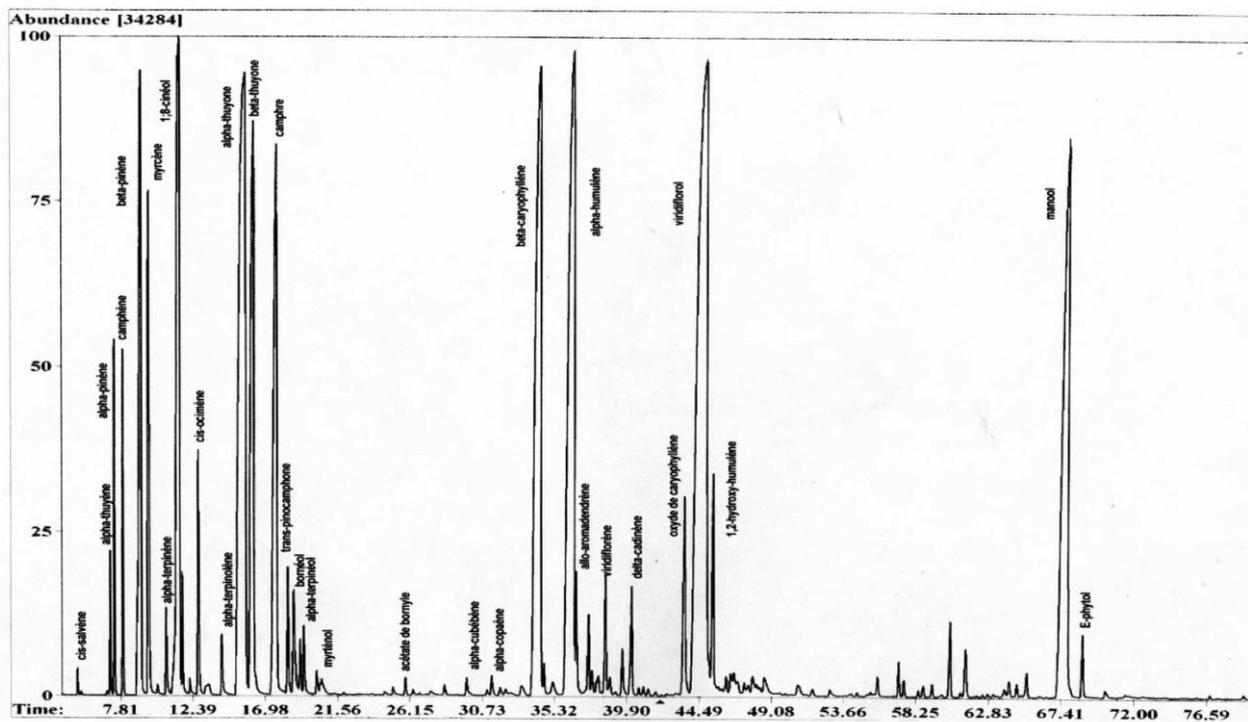


Figure IV.1 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. du Jardin d'essai.

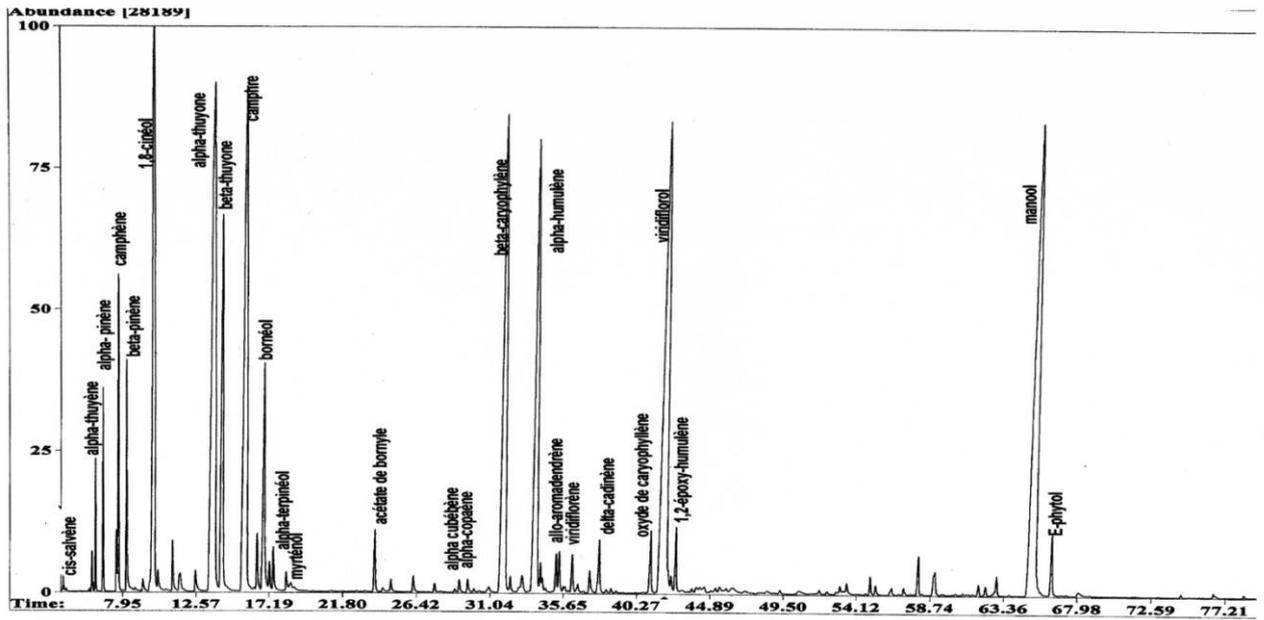


Figure IV.2 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. du Lot 1.

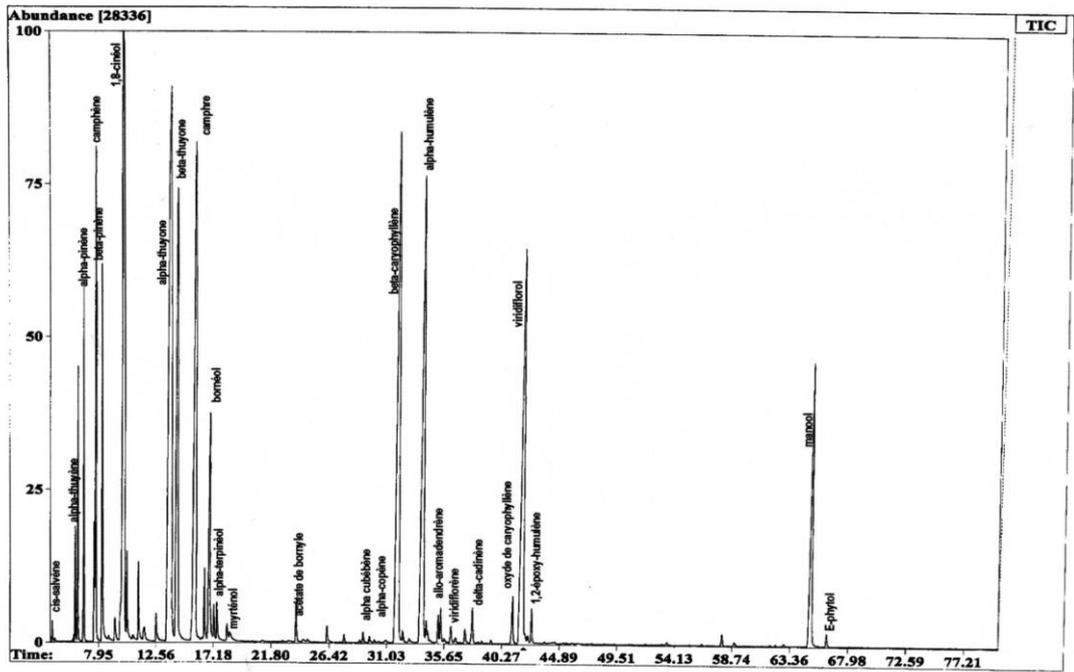


Figure IV.3 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. du Lot 2.

La composition qualitative des huiles essentielles des trois lots de *Salvia officinalis* L s'est avérée identique: les 73 composés, identifiés au total, sont présents dans les trois échantillons d'huile essentielle analysés. Parmi ces composés, 68 sont des terpènes, 4 sont des dérivés aromatiques et 1 dérivé aliphatique. Les composés identifiés représentent 97,9% de l'huile essentielle extraite de la plante du Jardin d'essais, 96,5% de celle du Lot 1 et 99,6% de l'huile du Lot 2.

Le tableau IV.1 regroupe l'ensemble des composés identifiés, repartis selon leur appartenance à une classe de terpènes.

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

Monoterpènes et dérivés	Sesquiterpènes et dérivés	Diterpènes et dérivés	Composés non terpéniques
salvène tricyclène α -thuyène α -pinène camphène sabinène β -pinène myrcène α -phellandrène α -terpinène limonène 1,8-cinéol cis-ocimène trans-ocimène γ -terpinène cis-hydrate de sabinène α -terpinolène α -thuyone β -thuyone camphre bornéol trans-pinocamphone cis-pinocamphone terpinen-4-ol α -terpinéol myrténal myrténol acétate de bornyle acétate de terpényle	α -cubébène α -ylangène α -copaène β -bourbonène γ -caryophyllène β -caryophyllène β -gurjunène aromadendrène α -humulène alloaromadendrène γ -muurolène germacrène-D β -sélinène sativène viridiflorène aristolène α -muurolène γ -cadinène δ -cadinène 1,4-cadinadiène α -cadinène viridiflorol α -cubéol oxyde de caryophyllène 1,2-époxy-humulène α -muurolol α -cadinol kongol sativène	phytone néophytadiène néophytadiène(1) néophytadiène(2) ent-pimara-8,5-diène atisirène épimanol manool longiborn-9-ène phytol	Aromatiques p-cymène thymol α -calacorène calaménène Aliphatiques acide palmitique

Cependant, du point de vue quantitatif, la répartition de ces composés dans l'huile essentielle de chaque lot est différente comme montré sur la figure IV.4 suivante.

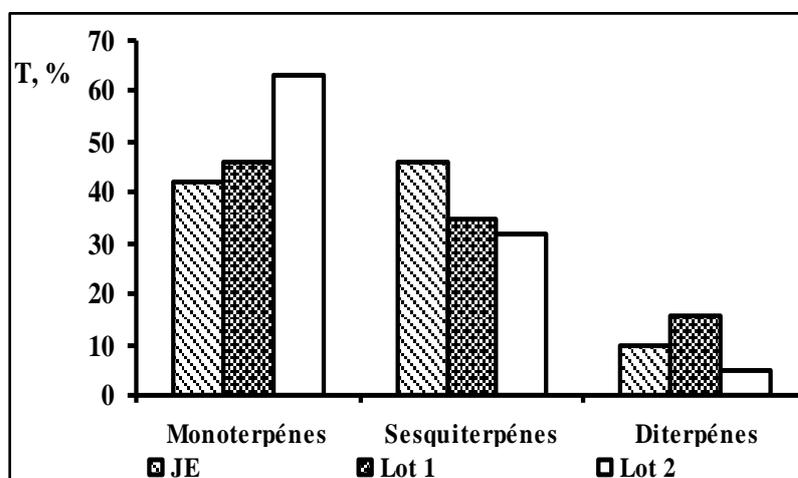


Figure IV.4. Teneurs, en %, en mono-, sesqui- et di-terpènes dans les huiles essentielles des trois lots étudiés

Nous avons constaté que dans l'huile essentielle de la plante de Jardin d'essais (JE) prédomine la fraction sesquiterpénique (46,89% des constituants identifiés), les monoterpènes (63,08%) sont majoritaires dans l'huile de la plante du lot 2, tandis que l'huile du lot 1 contient plus de diterpènes (16,03%) que les autres. Cette tendance est en accord avec les informations sur la composition des huiles, fournies par les histogrammes de la figure III.10.

Dans le tableau IV.2 suivant sont réunies les teneurs relatives des constituants majoritaires, représentant près de 60% dans l'huile de chaque lot.

Tableau IV.2 : Teneurs relatives Te, %, des principaux constituants des huiles essentielles de *S. officinalis* L

Lot	Jardin d'essais		Lot 1		Lot 2	
	Composé	Te, %	Composé	Te, %	Composé	Te, %
Principaux constituants	Viridiflorol	17,79	Manool	13,42	α -thuyone	17,26
	α -thuyone	11,99	Viridiflorol	13,21	1,8-cinèol	13,54
	α -humulène	11,59	α -thuyone	12,33	β -caryophyllène	12,24
	β -caryophyllène	10,47	Camphre	10,27	Camphre	10,20
	Manool	9,21	β -caryophyllène	9,94	α -humulène	9,74

En se référant aux compositions des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. rapportées par les travaux antérieurs [46, 50, 51], nous constatons que ces compositions quantitatives sont inédites et pourront donner lieu à la définition de trois nouveaux chémotypes.

IV.2. Propriétés organoleptiques et physico-chimiques

Les huiles essentielles extraites des échantillons de la matière végétale des trois lots étudiés, séchée à l'ombre et au soleil ont été caractérisées par leurs propriétés organoleptiques, leurs densités et indices de réfraction.

IV.2.1. Propriétés organoleptiques

Les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. des trois lots sont des liquides mobiles et limpides. Leurs propriétés organoleptiques sont regroupées dans le tableau IV.3 suivant.

Tableau IV.3 : Propriétés organoleptiques des huiles essentielles *Salvia officinalis* L obtenues des échantillons de la plante des trois lots étudiés

Lot	Jardin d'essais			Lot 1			Lot 2	
Etat de la plante	Fraîche	Séchée à l'ombre	Séchée au soleil	Fraîche	Séchée à l'ombre	Séchée au soleil	Fraîche	Séchée à l'ombre
Couleur	Jaune verdâtre	Marron clair	Marron clair	Jaune clair	Marron foncé	Marron foncé	Jaune clair	Marron clair
Odeur	agréable camphrée	agréable camphrée	agréable camphrée	agréable camphrée	désagréable	désagréable	agréable camphrée	agréable camphrée

On observe une sensible variation des propriétés organoleptiques des huiles, selon l'état de la matière végétale et sa provenance.

IV.2.2. Densité

La densité des huiles essentielles, déterminée à l'aide d'un pycnomètre de 5ml, à la température de 20°C, variant entre 0,912 et 0,934, est conforme à la norme AFNOR [26].

IV.2.3. Indice de réfraction

L'indice de réfraction des huiles essentielles, obtenues des échantillons de la plante fraîche séchée à l'ombre et au soleil a été mesuré à la température de 20°C, en utilisant la raie D de sodium. Les valeurs obtenues sont réunies dans le tableau IV.4 suivant.

Tableau IV.4 : Indice de réfraction des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. obtenues des échantillons de la plante des trois lots étudiés

Lot	Jardin d'essais			Lot 1			Lot 2	
	Fraîche	Séchée à l'ombre	Séchée au soleil	Fraîche	Séchée à l'ombre	Séchée au soleil	Fraîche	Séchée à l'ombre
η_D^{20}	1,4668	1,4657	1,4772	1,4774	1,4460	1,4775	1,4700	-

On constate que l'indice de réfraction de l'huile varie en fonction de l'état et de provenance de la matière végétale, toutefois ces valeurs sont conformes à la norme AFNOR [26], à l'exception de celle de l'huile extraite de la plante du lot 1 séchée à l'ombre.

IV.3. Propriétés antimicrobiennes

IV.3.1. La méthode de l'antibiogramme

La méthode de l'antibiogramme, appelée aromagramme, méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques, est une technique utilisée en bactériologie médicale [80].

La technique consiste à imprégner de disques de papier Wattman de diamètre de 6 mm d'une quantité donnée d'huile essentielle à tester. Une suspension de chaque germe est préparée dans de l'eau distillée stérile et ajustée à 10^8 bactéries/ml. La gélose nutritive, spécifique à chaque microorganisme, est versée dans une boîte de Petri et est ensuite uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. La boîte de Petri est incubée, dans une étuve, à 37°C, pendant 24 heures.

L'huile essentielle diffuse à partir du disque au sein de la gélose. Les bactéries se développent sur toute la surface de la gélose, sauf là où elles rencontrent une concentration d'huile suffisante pour inhiber leur croissance. On observe, ainsi, autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition (Figure IV.5 [81]). L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle est appréciée par la valeur du diamètre de la zone d'inhibition y compris le diamètre du disque.

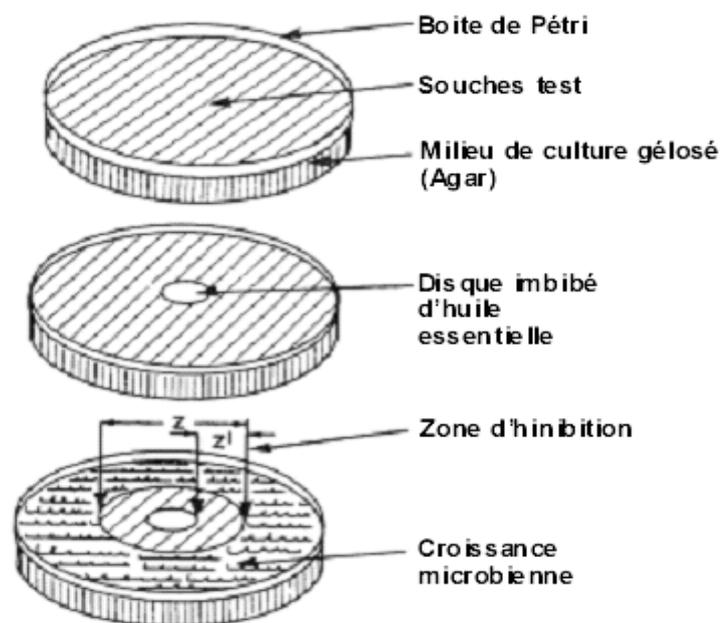


Figure IV.5: Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîtes de Pétri [81]

Les résultats sont exprimés selon trois niveaux de sensibilité des microorganismes :

- résistant : $d < 6$ mm
- sensibilité intermédiaire : $6 \leq d \leq 13$ mm
- sensible : $d > 13$ mm

IV.3.2. Résultats et discussion

Nous avons évalué, par la méthode d'antibiogramme, l'activité antimicrobienne de quatre échantillons d'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. :

- Echantillon 1, obtenu à partir de la matière végétale fraîche du Jardin d'essais, ayant un taux d'humidité de 73,9%
- Echantillon 2, obtenu à partir de la matière végétale du Jardin d'essais, séchée à l'ombre de taux d'humidité de 16,9%.
- Echantillon 3, obtenu à partir de la matière végétale fraîche du lot 1
- Echantillon 4, obtenu à partir de la matière végétale fraîche du lot 2.

En se basant sur des travaux antérieurs [82], nous avons fixé la concentration de l'huile à 2,5µl/disque. Seize souches bactériennes, appartenant à trois familles, cocci, entérobactéries et BGN oxydatif, ont été testées. Certaines proviennent des prélèvements cliniques (PC), d'autres, sont des souches de référence ATCC (American typing culture collection). Le tableau IV.5, réunit les microorganismes testés, leur origine et les diamètres, en mm, des zones d'inhibition.

Tableau IV.5: Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Microorganisme	Origine	Diamètre de la zone d'inhibition d,			
		1	2	3	4
Cocci					
<i>Staphylococcus aureus</i> P.C.	Pus de fistule	<6	<6	<6	<6
<i>Staphylococcus aureus</i> P.C.	Pus de fistule	<6	<6	<6	<6
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATTC 25923	<6	15	17	<6
<i>Staphylococcus aureus</i> P.C.	ECBU*	<6	<6	<6	<6
<i>Enterococcus faecalis</i> P.C. 215	ECBU	20	18	18	<6
<i>Enterococcus faecalis</i> P.C. 270	ECBU	<6	16	15	<6
Entérobactéries					
<i>Echerichia coli</i>	ATTC 25922	<6	<6	<6	<6
<i>Echerichia coli</i> P.C.	ECBU	<6	<6	<6	<6
<i>Echerichia coli</i> P.C.	ECBU	<6	<6	<6	<6
<i>Echerichia coli</i> P.C.	ECBU	<6	<6	<6	<6
<i>Echerichia coli</i> P.C.	P.V.**	<6	<6	<6	<6
<i>Serratia marcescens</i> P.C.	ECBU	<6	<6	<6	<6
<i>Citrobacter freundii</i> P.C.	ECBU	<6	<6	<6	<6
<i>Citrobacter diversus</i> P.C.	Coproculture	<6	<6	<6	<6
<i>Proteus vulgaris</i> P.C.	Pus de fistule	<6	<6	<6	<6
BGN oxydatif					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P.C.	Pus de fistule	<6	<6	<6	<6

*ECBU : examen cyto bactériologique des urines

** P.V. : prélèvement vaginal

L'examen de ces résultats suscite les remarques suivantes :

- Seules les cocci sont sensibles à l'action de l'huile essentielle extraite de la plante du Jardin d'essais et du lot 1. L'activité de ces huiles 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 du Jardin d'essais et à l'huile extraite de la plante fraîche du lot 1, alors que l'huile essentielle du lot 2 ne présente aucune activité.
- Pour la concentration de 2,5µl/disque utilisée, les autres souches bactériennes se sont révélées résistantes à l'huile essentielle de trois lots.

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.

Conclusion

Ce travail a porté sur l'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. provenant de trois lots différents, par entraînement à la vapeur d'eau, l'élucidation de leur composition chimique, la détermination de leurs propriétés physiques et organoleptiques et l'évaluation de leur activité antimicrobienne.

Les essais d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de l'huile essentielle ont été effectués à l'échelle semi-pilote, dans une installation, conçue et réalisée au département Génie chimique de l'Ecole Nationale Supérieure Polytechnique. Ces essais ont permis d'étudier l'influence sur le rendement en huile des paramètres liés aussi bien au procédé lui-même, qu'aux propriétés de la matière végétale.

Parmi les paramètres du procédé, influençant le rendement en huile, une attention particulière a été portée sur le débit spécifique de vapeur d'eau. Les résultats d'une série d'essais d'extraction des échantillons représentatifs de la matière végétale provenant du Jardins d'essais, réalisés avec différents débits spécifiques, ont montré que le meilleur rendement en huile est obtenu avec un débit spécifique de 0,06g/g.min. Par ailleurs, il a été constaté que ce dernier affecte la cinétique d'extraction de sorte que 90% de l'huile totale sont récupérés au terme de 90 minutes, avec un débit spécifique de 0,030g/g.min, alors que la même quantité n'est récupérée qu'au bout de 150 minutes, avec un débit spécifique de 0,017g/g.min.

Le fait que l'installation, telle qu'elle a été conçue, ne permet pas d'effectuer la cohobation des eaux de distillation et l'intérêt d'éviter un traitement supplémentaire de celles-ci pour la récupération de l'huile solubilisée, nous ont incités à entreprendre une étude relative à l'influence, de la température du distillat pendant son séjour dans le décanteur sur les rendements en huile primaire et secondaire. Pour les besoins de cette étude, un dispositif expérimental, constitué d'un décanteur à flux inversé et un bain thermostaté, a été mis en œuvre. Les résultats des essais d'extraction des échantillons représentatifs de la matière végétale, réalisé avec un débit spécifique optimal et à différentes températures du distillat dans le décanteur, ont permis, d'une part, de constater que pour une température de 30°C le rapport des masses d'huile secondaire et d'huile totale est minimal, et d'autre part, d'effectuer une évaluation statistique de leur reproductibilité.

Parmi les paramètres liés aux propriétés de la matière végétale, nous nous sommes intéressés à la structure sécrétrice de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. et à l'influence, sur le rendement, de l'état de la matière végétale : fraîche, séchée à l'ombre et au soleil.

Les observations microscopiques des différents organes, des coupes de la tige et de la feuille de la plante, ont confirmé le caractère exogène de la structure sécrétrice de *Salvia*

officinalis L. et ont révélé la présence des cavités, qui pourraient être assimilées à des poches endogènes, renfermant éventuellement de l'huile essentielle.

L'allure des courbes cinétiques totales, donnant l'évolution du rendement, en fonction du temps, lors de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau des échantillons de la plante fraîche, séchée à l'ombre et au soleil, ont mis en évidence la présence trois étapes cinétiques que l'on peut lier à la structure sécrétrice de la plante.

L'étude de l'influence sur le rendement en huile, de l'état de la plante : fraîche, séchée à l'ombre et au soleil, a montré que, quelque soit le mode de séchage, il provoque une augmentation du rendement en huile essentielle. Le meilleur rendement en huile 1,25% a été obtenu à partir de la plante provenant du Jardins d'essais séchée à l'ombre, ayant un taux d'humidité de 16,9%.

L'analyse des huiles essentielles extraites à partir de la matière végétale provenant des trois lots, par CG-SM, a permis l'identification de 73 composés, tous présents dans les trois échantillons d'huiles essentielles analysées. Cependant, du point de vue quantitatif, leurs compositions sont différentes. Ces compositions sont inédites et pourront donner lieu à la définition de trois nouveaux chémotypes.

Les propriétés physiques des huiles essentielles, notamment, leurs densités et leurs indices de réfraction, varient selon l'état de la matière végétale et sa provenance. Elles sont conformes à la norme AFNOR.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles, vis-à-vis de seize souches, appartenant à trois familles, cocci, entérobactéries et BGN oxydatif, a été évaluée par la méthode d'antibiogramme. Pour la concentration en huile par disque utilisée, seules les cocci sont sensibles à l'action de l'huile essentielle extraite de la plante séchée à l'ombre du Jardins d'essais et à l'huile extraite de la plante fraîche du lot 1, alors que l'huile essentielle de lot 2 ne présente aucune activité.

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. **P. VANIER, C. TRUDEAU**
Encyclopédie des aliments, Ed Institut des nutraceutiques et des aliments fonctionnels, Université de Laval, 2006.
2. **F.COUPLAN, E.STYNER**
Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques.
3. **Site internet** : www.fr.Wikipédia.org/wiki/sauge.
4. **M.WICHL, R.ANTON**
Plantes thérapeutiques, tradition pratique officinale science et thérapeutique, 2^{ème} édition, Ed TEC et DOC, 2003.
5. **Le site internet** : <http://www.lardoiz.chez-alice.fr/plantes/sauge.htm>.
6. **J. GARNERO**
Techniques de l'ingénieur, traité Constantes physico-chimiques, p K345-2.
7. **A. BELOUAD**
Plantes médicinales d'Algérie, Ed. OPU, 1998.
8. **L. BEZANGER, M.P. BEAURQUESNE, M. TORCK, F. TROTIN**
Plantes médicinales des régions tempérées, Ed. Maloine, Paris, 1980.
9. **M.GRIECE**
A modern herbal, vol II. 1959.
10. **H.CHAUMETON**
Les plantes aromatiques, comment les reconnaître. Ed. Solar, Paris, 1981.
11. **C. F. LIMA, P. B. ANDRADE, R. M. SEABRA et coll.**
The drinking of a *Salvia officinalis* L., infusion improves liver antioxydant status in mice and rats. J. Ethnopharmacol, 2005.
12. **K. NINOMIYA, H. MATSUDA, H. SHIMODA et coll.**
Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage, Ed Bioorg Med Chem Lett, 2004.
13. **S. AKHONZADEH, M. NOROOZIAN, M. MOHAMMADI et 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.
14. **E. K. PERRY, A. T. PICKERING, W. W. WANG et coll.**
Medicinal plants and Alzheimer's disease : from Ethnobotany to Phytotherapy. J. Pharmacol. Sci., 1999.

15. **F.J. ALARCON-AGUILLAR, R. ROMAN-RAMOS, J.L. FLORES-SAENZ et coll.**
Investigation on the hypoglycaemic effects of extracts of four Mexican medicinal plants in normal and alloxan-diabetic mice. *J. Phytother Res*, 2002.
16. **J. CAMPANELLA, A. BONANNI, G.FAVERO et coll.**
Determination of antioxidant properties of aromatic herbs, olives and fresh fruit using an enzymatic sensor. *J. Anal Bioanal Chem*, 2003.
17. **P. DAGNELLE**
Principe d'expérimentation, Ed. Presses agronomiques de Gembloux, Belgique, 1981.
18. **Site Internet:** http://www.bivea.fr/principe_extraction_huiles_essentielles.php
19. **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.
20. **D. KALACHANIS, G.K. PSARAS .**
Structure and development of the secretory cavities of *Myrtus communis* leaves. *Biologia Plantarum*, 49 (1): 105-110, 2005
21. **N. R. LERSTEN, J. M. BEAMAN.**
First report of oil cavities in Scrophulariaceae and reinvestigation of air spaces in leaves of *Leucophyllum frutescens*, *American Journal of Botany* 85(11): 1646–1649, 1998.
22. **A. STOIANOVA, M. PERIFANOVA-NEMSKA, E. GEORGIEV**
Ressources végétales d'huiles essentielles et alimentaires. Ed. Agence 7D, Plovdiv, Bulgarie, pp. 164-165, 2006
23. **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
24. **L. ASCENSAO, M. S. PAIS**
The Leaf Capitate Trichomes of *Leonotis leonurus*: Histochemistry, Ultrastructure and secretion, *Annals of Botany* **81**: 263-271, 1998
25. **Y.R.NAVES**
« Qu'est ce qu'une huile essentielle ? », *Industrie chimique belge, parfums*, p11, 1964
26. **AFNOR**
Huiles essentielles. Recueil des normes françaises, 5^{ème} édition, Paris, 1996, T2, p4.
27. **J. BRUNETON**
Éléments de phytochimie et de pharmacologie. Ed. Lavoisier. Techniques et documentation, Paris, p. 405, 1997.

28. **E. WERKER, E.PUTIEVSKY, U.RAVID, N. DUDAI, I. KATZIR**
Glandular hairs, secretory cavities, and the essential oil in leaves of Tarragon (*Artemisia dracuncululus* L.). Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants 2:19-32, 1994.
29. **L. AHMADI, M. MIRZA, F. SHAHMIR**
The volatile constituents of *Artemisia marschaliana* Sprengel and its secretory elements, Flavour and Fragrance Journal, Vol. 17, Issue 2 , pp.141 – 143, 2002
30. **S. CHARCHARI, S. HAMADI**
Kinetic study of *Artemisia judaica* L. Essenetial Oil steam distillation, JEOP, 10(4), pp. 304-309, 2007
31. **G. RICHTER**
Métabolismes des végétaux. Physiologie et biochimie, Presses polytechniques et universitaires. Romandes, p292, 1993
32. **Site internet :** http://www.mondebio.com/huiles_essentielles.php.
33. **D. EL ABED, N.KAMBOUCHE,**
Huiles essentielles, Ed Dar el Gherb, Algérie, 2003.
34. **N. L. ALLINGER, M.P.CAVA, C. R. DEJOGLE, C.R.JONHSON, N.A. LEBEL**
Chimie organique, Edi science MC Graw. Hill, Paris, 813,1975.
35. **I.L. FINAR**
Organic chemistry, Ed Longman Scientific and technical, vol II, pp. 354-356, 1994.
36. **P.PELLERIN**
Perfumer& flavorist, 16 (07-08), 37-39, 1991.
37. **F.VERNOU, R. RICHARD**
Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles. APRIA., 2, 10, 151-166, 1979.
38. **J. GARNERO**
Phytochemistry, 13, 5, 1985.
39. **R. O. J. CLARCK, R. C. MENERY**
Environmental and cultural factors affecting the yield and composition of peppermint oil (*Metha pepirita*), XIII congrès international des huiles essentielles, France, N °spécial, 1980.
40. **E. WERKER, E. PUTIVESKY, U. RAVID**
Annals of botany, 55, 793-801, 1985.
41. **J. GARNERO**
Journée de demopharmacie, France, 22-23 Mai, 1-23, 1976.
42. **M. SEU SABERNO, J. BLA BEWAY**
La mousse de chêne, une base de la parfumerie, Pour la Science, 83,1987.

43. **H. VIAUD**

Distillateur – thérapeutiques naturelles. Ed GNOMA,1993.

44. **B. M. LAWRENCE**

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

45. **A.O.TUCKER, M. J. MACIARELLO.**

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

46. **D. MOCKUTÉ, O. NIVINSKIENÉ, G. BEMOTIENÉ, R. BUTKIENÉ**

The cis-thujone chemotype of *Salvia officinalis* L. essential oils. Chemija (Vilnius), 2003.

47. **E.GUENTER**

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

48. **R. K. MHAY, P. G. WATERMAN**

In Volatil Oil Corps: Their Biology, Biochemistry and Production, Ed.Longman Harlow, U.K., 1993.

49. **NORME ISO 9909**, 1999

50. **T.DOB, T.BERRAMDANE, D.DAHMANE, T.ABDELKADER, C.CHELGHOU**

Chemical composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from Algeria
Chemistry of Natural Compounds, Vol.43, N°4, 2007.

51. **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.

52. **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.

53. **N. LAZLI, O. BENSELMA**

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

54. **S. GOMES, F. J. FERREIRA**

Agric. Food Chem., 2001.

55. **P. R.VENSKUTONIS**

Effet of draying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris*) and sage (*Salvia officinalis* L.). Food. Chem, vol 49, N°2, 1997.

56. **G.VERNIN, J. METZGER.**

Analysis of sage oils by GC-MS data-bank *Salvia officinalis* L. and *Salvia lavendulaefiola* Vah. Ed. Laboratoire de Chimie Organique, Faculté des sciences et techniques de St-

- Jérome, Marseille, France, 1986.
57. **M. AMELLAL, S. ACHOURI** Contribution à l'étude de l'huile essentielle de la sauge.
Projet de fin d'études, INA, Alger, 1998
58. **E. GILDMEISTER, F. HOFFMAN**
Les huiles essentielles, T III. Ed. Schimmel, 1919.
59. **M. EDEAS**
Guide de Gourmet, Ed la société française des antioxydants. 3^{ème} Conférence Ingrédients
Minceur, 2007.
60. **M. CUVELIER, C. BERSET, H. RICHARD**
Antioxydant constituants in sage (*Salvia officinalis* L.) J.Agric. food chem, 1994.
61. **D. BARICEVIC, T. BARTOL**
The biological/pharmacological activity of the genus *Salvia*, Chapter V: Pharmacology in:
S.E.KINTZIOS (Ed.), Sage, The Genus *Salvia*, Ed Harewood Academic Publishers,
Amsterdam, p.143-184.2000.
62. **R. CAPASSO, I. IZZO, F. CAPASSO, G. ROMUSSI, A. BISIO, N. MASCOLO**
A diterpenoid from *Salvia cinnabarina* inhibits mouse intestinal motility vivo, *Planta*
Med. 70, 375-377, 2004.
63. **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.
64. **L. L. ZAIKA**
Spices and Herbs - Their Antimicrobial Activity and Its Determination *Journal of Food Safety*
9- 2: (97-118).1988.
65. **Site internet:** <http://www.amabilia.com/contenu/aroma/extraction.html>
66. **Y. R NAVES**
Technologie des parfums naturels ; Ed Masson, 1974.
67. **C. VON ROCHENBERG**
Theorie der gewining und trennung der ätherishen öl durch destillation ; Selbot-
Verlag Von Shimmel,432, 1910.
68. **C. GUENTHER**
The Essentiel Oils, Tome1, Ed. KRIFGER.RE, 1972.
69. **N. N. GOKHALE, Y. MASADA**
VII International congress of Essential Oils, 242, 1977.
70. **E. GEORGIEV**

Technologie des produits aromatiques naturels et synthétiques, Ed. Zemizdat, Sofia, 1995

71. F. TIFAOU, M. SI MEHAND

Mise en œuvre d'une installation d'extraction solide/vapeur et solide/liquide à l'échelle semi-pilote, Projet de fin d'études, ENP, Département Génie Chimique, Alger, 2007.

72. **Site web :** [http://fr.wikipedia.org/wiki/ erreur-metrologie](http://fr.wikipedia.org/wiki/erreur-metrologie), article de « Wikipédia, l'encyclopédie libre » 2008.

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

74. M. G. CEPRA, R. B. MATO, M.J. COCERO

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

75. S. BOUCHONNET, D. LIBONG

Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectroscopie de masse, Ed du Département de Chimie, Laboratoire de Mécanismes Réactionnels Ecole Polytechnique, Paris, 2007

76. J. TRANCHANT

Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, Ed Masson, 1995.

77. S. BOUCHONNET, Y. HOPPILLIARD, T. KARGAR-GRISEL

Les différents types de spectromètres de masse utilisés pour l'analyse des composés organiques et bio-organiques Spectra Analyse, 207, p 11-25, 1999

78. H. VAN DEN DOOL, P. D. KRATZ

J. of Chromatography, vol.11, p. 453, 1963

79. **Site web:** www.pherobase.com

80. V. G. De BILLERBECK

Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Phytothérapie, 5 : 249-253 2007.

81. J.-L. FAUCHER

Bactériologie générale et médicale, Editions Ellipses, Paris, (365), 2002.

82. S. CHARCHARI, A. DAHOUN, F. BACHI, A. BENSLIMANI

Activité antimicrobienne in vitro des huiles essentielles d'Artemisia herba-alba Asso. et d'Artemisia judaïca L. d'Algérie, Rivista Italiana EPPOS, N°10, Avril 1996

