

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Ecole Nationale Polytechnique



**LAVALEF**

Département de Génie Chimique  
Laboratoire de Valorisation des Energies Fossiles

Mémoire de projet de fin d'études  
pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'état en Génie Chimique

**Extraction simultanée des huiles essentielles et des polyphénols par  
hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L.  
et *Laurus nobilis* L.**

Yasmine TOUARI , Amira Radia ZERHOUNI

Sous la direction de : M. E.H BENYOUSSEF Professeur  
Mlle L. LOUCIF SEIAD Maitre de conférences B

Présenté et soutenu publiquement le (19/06/2017)

**Composition du Jury :**

Président	M. T. AHMED ZAID	Professeur	ENP
Examinatrice	Mme F. MOHELLEBI	Professeur	ENP
Examinatrice	Mlle F. KIES	Maitre de conférences A	ENP
Promoteur	M. E-H. BENYOUSSEF	Professeur	ENP
Promotrice	Mlle. L. LOUCIF SEIAD	Maitre de conférences B	UMBB



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Ecole Nationale Polytechnique



**LAVALEF**

Département de Génie Chimique  
Laboratoire de Valorisation des Energies Fossiles

Mémoire de projet de fin d'études  
pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'état en Génie Chimique

**Extraction simultanée des huiles essentielles et des polyphénols par  
hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L.  
et *Laurus nobilis* L.**

Yasmine TOUARI , Amira Radia ZERHOUNI

Sous la direction de : M. E.H BENYOUSSEF Professeur  
Mlle L. LOUCIF SEIAD Maitre de conférences B

Présenté et soutenu publiquement le (19/06/2017)

**Composition du Jury :**

Président	M. T. AHMED ZAID	Professeur	ENP
Examinatrice	Mme F. MOHELLEBI	Professeur	ENP
Examinatrice	Mlle F. KIES	Maitre de conférences A	ENP
Promoteur	M. E-H. BENYOUSSEF	Professeur	ENP
Promotrice	Mlle. L. LOUCIF SEIAD	Maitre de conférences B	UMBB

# *Dédicaces*

*A ceux qui m'ont tant appris, à ceux qui se sont toujours dévoués et sacrifiés pour moi, à ceux qui ont toujours été présents dans les bons comme les mauvais moments, à ceux qui m'ont tout donné : affection, amour, présence, à ceux qui ont partagé mes joies, mes rires et mes larmes, à mes très chers parents.*

*A mes chers sœurs, Fatiha, Maya et Imène qui ont toujours répondu présentes et ont été un modèle à suivre*

*A mes adorable petits neveux Ryan, Samy, Kamel et Zaki qui ont égayé mes journées*

*A la mémoire de mon cher grand père, puisse-t-il reposer en paix*

*A ma très chère grand-mère, pour tout l'amour qu'elle m'a apporté.*

*A ma tante qui n'a jamais cessé de m'encourager durant mon cursus.*

*Aux merveilleuses personnes que j'ai rencontrées durant mes cinq années, à mes copines et camarades de classe, à ces personnes qui m'ont fait vivre des moments mémorables à Radia, Ghizlene, Fatima, Nedjma et Imene.*

*A Nassim et Charaf, nos camarades de laboratoire qui nous ont soutenu tout au long de l'année.*

*A tous mes professeurs de l'ENP pour leur attester mon profond respect et ma loyale considération.*

*A toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.*

*Je dédie cet humble travail*

*Yasmine*

# *Dédicaces*

*A mes chers parents, qui se sont dévoués corps et âme pour moi en m'apportant sans cesse leur soutien et leurs encouragements. A eux qui m'ont donné leur amour et affection inconditionnelle dans les bons moments comme dans les mauvais. A eux, mes modèles, qui ont fait de moi celle que je suis, et à qui je dois tout.*

*A mon adorable frère Hichem, qui a toujours su me guider avec humour et sagesse en m'apportant ses précieux conseils, et qui a toujours veillé à mon bonheur et épanouissement.*

*A ma merveilleuse sœur Djazila, mon modèle de rigueur, de force et de combativité, qui a toujours veillé sur moi avec tendresse.*

*A mes camarades et amies Yasmine, Ghizlene, Fatima et Selma, qui m'ont apporté tant de petits moments de bonheur et de rires.*

*A mes meilleurs amis Mina, Mouni et Mehdi qui ont toujours été là pour moi durant toutes ces longues années.*

*A Nassim et Charaf, nos camarades de laboratoire qui nous ont soutenu tout au long de l'année.*

*A mes professeurs de l'Ecole Nationale Polytechnique, qui ont mis un point d'honneur à nous apporter la meilleure formation en Génie chimique et qui m'ont tant appris, je leur dois ma reconnaissance et mon profond respect.*

*A tous ceux qui me sont chers.*

*Je dédie ce modeste travail*

*Radia*

# *Remerciements*

En premier lieu, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Ce mémoire de fin d'étude a été réalisé au sein du Laboratoire de Valorisation des Energies Fossiles, département du Génie Chimique de l'Ecole Nationale Polytechnique à Alger, sous la direction de monsieur E.H. Benyoussef, Professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique.

Nos plus vifs remerciements vont tout d'abord au Professeur E.H. Benyoussef pour son aide précieuse, ses encouragements et ses conseils tout au long des années passées au sein de l'école et sans lesquels ce travail n'aurait pu aboutir. Nous le remercions également pour sa patience, son écoute et sa disponibilité. Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nous tenons par ailleurs à remercier Mlle Loucif Seiad Maitre de conférences à l'université de Boumerdes pour le temps qu'elle nous a consacré.

Nous tenons à remercier Mr T.Ahmed Zaid, Professeur à l'E.N.P. de nous avoir fait honneur d'accepter la présidence du jury. Nous remercions également Mme F.Mohellebi et Mlle F.Kies de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail.

Nous tenons à remercier Mr M.Ould-Hamou, chef de Département Mines et les techniciens de ce même département pour nous avoir permis d'utiliser leur appareil afin de mener à bien nos expériences.

Nous remercions Mmes Radia Benghoulis et Sarah Djelloul, ainsi que l'ensemble du département du Génie Chimique.

Que tous les enseignants, trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance. Merci pour votre aide, vos précieux conseils, mais aussi votre disponibilité.

**ملخص : الإستخراج المزدوج الزيوت الأساسية و مركبات الفينول عن طريق عملية التقطير ببخار الماء لإكليل الجبل و الرند**

يركز هذا العمل على استخراج الزيوت الأساسية عن طريق عملية التقطير ببخار الماء من اكليل الجبل و الرند و التعرف على المكونات الرئيسية من خلال تقنية إستشراب غازي- مطياف كتلة. الكشف عن وجود مركبات الفينول من خلال المعايرة بطريقة فولين سيوكالتو مكن مراقبة حركية إستخراجهم للنظر في الاسترداد المزدوج عند عملية استخراج الزيوت الأساسية عن عملية التقطير ببخار الماء.

**الكلمات الدالة:** الرند, اكليل الجبل, الزيوت الأساسية, التقطير ببخار الماء, مركبات الفينول

**Abstract : Simultaneous extraction of essential oils and phenolic compounds by hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis L.* and *Laurus nobilis L.***

This work deals with the hydrodistillation extraction of essential oils from *Rosmarinus officinalis L.* and *Laurus nobilis L.* and the identification of their major compounds by CG-MS.

The highlighting of the presence of phenolic compounds via the Folin ciocalteu method as well as the monitoring of their kinetics of extraction in the distillation waters made the consideration of a double valorization in the extraction process possible.

**Key words:** Essential oil, Phenolic compounds, *Rosmarinus officinalis L.*, *Laurus nobilis L.*, hydrodistillation

**Résumé : Extraction simultanée des huiles essentielles et des polyphénols par hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis L.* et *Laurus nobilis L.***

Ce travail porte sur l'extraction par hydrodistillation d'huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* et *Laurus nobilis L.* et l'identification de leurs composés majoritaires par CG-MS.

La mise en évidence de la présence des composés phénoliques via le dosage par la méthode de folin ciocalteu de même que le suivi de leur cinétique d'extraction dans les eaux de distillation et dans les eaux issues du ballon ont permis d'envisager une double valorisation lors du procédé d'extraction de l'huile essentielle

**Mots clés :** Huile essentielle, polyphénols, *Rosmarinus officinalis L.*, *Laurus nobilis L.*, hydrodistillation

# *Table des matières*

Liste des tableaux

Liste des figures

<b>Introduction générale</b> .....	11
<b>Partie 1 : Synthèse bibliographique</b> .....	14
Chapitre 1 : Matière végétale et ses composés.....	14
1.1    La matière végétale.....	15
1.1.1    Rosmarinus officinalis L. ....	15
1.1.2    Laurus nobilis L. ....	20
1.2    Les huiles essentielles.....	27
1.2.1    Historique .....	27
1.2.2    Définition .....	28
1.2.3    Répartition et localisation.....	28
1.2.4    Composition chimique des huiles essentielles .....	29
1.3    Les composés phénoliques .....	30
1.3.1    Définition .....	30
1.3.2    Classification .....	30
Chapitre 2 : Techniques extractives .....	35
2.1    Différentes techniques extractives.....	36
2.1.1    Enfleurage .....	36
2.1.2    Hydrodistillation.....	37
2.1.3    Entrainement à la vapeur sèche .....	38
2.1.4    Extraction par solvant volatil.....	38
2.1.5    Extraction au CO <sub>2</sub> supercritique.....	39
2.1.6    Extraction assistée par microondes .....	40
2.2    Hydrodistillation.....	40
2.2.1    Principe.....	40
2.2.2    Mécanisme .....	41
2.2.3    Paramètres du procédé de l'hydrodistillation.....	41
2.2.4    Cinétique de l'hydrodistillation.....	42
Chapitre 3 : Méthodes d'identification.....	44
3.1    Chromatographie en phase gazeuse.....	45
3.1.1    Principe.....	45
3.1.2    Appareillage .....	46
3.2    Spectrométrie de masse .....	47

3.2.1	Principe.....	47
3.2.2	Appareillage .....	48
3.3	Couplage spectrométrie de masse et chromatographie en phase gazeuse GC /MS...	49
3.3.1	Principe.....	49
3.3.2	Appareillage .....	50
<b>Partie 2</b>	<b>Partie expérimentale.....</b>	<b>74</b>
Chapitre 4	Matériel et Méthodes.....	52
4.1	Matières végétales utilisées .....	53
4.1.1	Cueillette .....	53
4.1.2	Echantillonnage.....	54
4.1.3	Détermination du taux d'humidité .....	54
4.2	Appareillage et protocole expérimental de l'hydrodistillation .....	55
4.3	Cinétique d'extraction des huiles essentielles .....	56
4.4	Cinétique d'extraction par solvant des polyphénols.....	57
4.4.1	Choix du solvant.....	57
4.4.2	Dispositif et protocole expérimentaux .....	57
4.5	Dosage des composés phénoliques dans les eaux de distillation et du ballon.....	58
4.5.1	Mode opératoire .....	59
4.6	Produits chimiques utilisés .....	59
Chapitre 5	Résultats et discussions .....	60
5.1	Taux d'humidité .....	61
5.2	Extraction des huiles essentielles .....	61
5.2.1	Rendement en huile essentielle globale.....	61
5.2.2	Etude des cinétiques d'extraction des huiles essentielles.....	62
5.3	Valorisation des eaux de distillation et des eaux du ballon de l'hydrodistillation ....	64
5.3.1	Courbe d'étalonnage .....	64
5.3.2	Cinétique d'extraction des polyphénols dans l'hydrolat et les eaux du ballon	64
5.4	Cinétique d'extraction par solvant des composés phénoliques .....	68
5.5	Composition chimique des huiles essentielles.....	69
5.5.1	Conditions opératoires d'analyse par CG-SM	
5.5.2	Méthode d'identification des constituants.....	70
5.5.3	Résultats d'analyse .....	71
<b>Conclusion</b>	.....	<b>74</b>
<b>Bibliographie</b>	.....	<b>77</b>
<b>Webographie</b>	.....	<b>83</b>

# *Liste des tableaux*

Tableau 1.1 : Chémotype de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. ....	20
Tableau 1.2 : Composition de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> L. de différentes régions	24
Tableau 1.3 : Composition de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> d'Iran pour différentes parties de la plante.....	25
Tableau 1.4 : Classification des composés phénoliques.....	31
Tableau 5.3 : Résultats de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle .....	62
Tableau 5.4 : Identification des composés de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> L. par CG-MS .....	72
Tableau 5.5 Identification des composés de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L par CG/MS .....	74

# Liste des figures

Figure 1.1 : Vue d'ensemble de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. ....	16
Figure 1.2 : Micrographie lumineuse des trichomes non glandulaires de la feuille de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Marin, Koko, Duletic- Lausevic, 2006).....	18
Figure 1.3 : Vue d'ensemble du <i>Laurus nobilis</i> L.....	22
Figure 1.4 : Micrographie de la feuille de <i>L. nobilis</i> montrant des canaux sécréteurs au MEB x500.....	26
Figure 1.5 : Coupe transversale de la feuille de <i>L. nobilis</i> observée au microscope optique x400 montrant des canaux sécréteurs.....	26
Figure 1.6 : Structure des anthocyanosides.....	32
Figure 2.1 : Châssis d'enfleurage.....	37
Figure 2.2 : Installation d'hydrodistillation.....	37
Figure 2.3 : Installation de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	38
Figure 3.1 : Schéma de principe d'un spectromètre de masse.....	49
Figure 3.2 : Schéma de principe d'une GC - MS.....	50
Figure 4.1 : <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	53
Figure 4.2 : <i>Laurus nobilis</i> L.....	53
Figure 4.3 : Schéma de l'installation d'hydrodistillation.....	55
Figure 4.4 : Schéma du dispositif expérimental de l'extraction solide-liquide.....	58
Figure 5.1 : Courbe cinétique d'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle.....	62
Figure 5.2 : Courbe cinétique d'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle.....	63
Figure 5.3 : Courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration de l'acide gallique.....	64
Figure 5.4 : Courbe cinétique d'extraction par hydrodistillation des composés phénoliques de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. dans l'hydrolat.....	65
Figure 5.5 : Courbe cinétique d'extraction par hydrodistillation des composés phénoliques de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. dans les eaux issues du ballon.....	66
Figure 5.6 : Courbe cinétique d'extraction par hydrodistillation des composés phénoliques de <i>Laurus nobilis</i> L. dans l'hydrolat.....	66
Figure 5.7 : Courbe cinétique d'extraction par hydrodistillation des composés phénoliques de <i>Laurus nobilis</i> L. dans les eaux issues du ballon.....	67
Figure 5.8 : Courbe cinétique d'extraction par solvant des composés phénoliques de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. ....	68
Figure 5.9 : Courbe cinétique d'extraction par solvant des composés phénoliques de <i>Laurus nobilis</i> L.....	69
Figure 5.10 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse de l'échantillon de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> L.....	71
Figure 5.11 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse de l'échantillon de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	73

# **Introduction générale**

Le monde végétal offre des ressources inépuisables et tout au long du développement des cultures humaines, l'Homme a entretenu avec son environnement végétal une relation très intime et d'importance vitale.

Les effets bioactifs des extraits des plantes, notamment, des huiles essentielles et des antioxydants qu'elles renferment, se sont avérés être liés à la richesse de ces plantes en composés terpéniques et phénoliques de structures chimiques diverses.

A l'heure actuelle, ces produits naturels connaissent un intérêt croissant et trouvent des applications dans de nombreux domaines, tels : l'agroalimentaire, la pharmacie, les parfums et cosmétiques. En effet, leur utilisation est encouragée, car les composés équivalents issus de synthèses chimiques ont, souvent, des effets indésirables et une mauvaise presse parmi le grand public. Il existe, donc, un besoin de production de substances naturelles bioactives isolées, concentrées et purifiées, pour la substitution aux produits synthétiques.

Bien que le *Laurus nobilis* L. soit doté de multiples propriétés médicinales et qu'il fasse partie des condiments les plus utilisés en cuisine, le Laurier reste très peu étudié.

Le *Rosmarinus officinalis* L., quant à lui représente une source inépuisable de substances ayant des activités anti-oxydantes très variées et dont la connaissance constituerait une raison de plus pour la préservation et la valorisation de cette richesse naturelle, par l'extraction des produits à hautes valeurs ajoutées qu'elle contient, en utilisant des procédés de plus en plus performants.

Ainsi, dans le domaine de l'extraction des produits naturels et particulièrement des huiles essentielles, la distillation reste la méthode d'extraction la plus utilisée. Cette méthode traditionnelle, éprouvée, est consommatrice d'énergie et d'eau. Afin de permettre le maintien et le développement économique de cette filière, des progrès substantiels ont été accomplis pour améliorer les techniques d'extraction.

Dans ce contexte, nous nous sommes proposé d'étudier l'extraction de l'huile essentielle ainsi que de polyphénols simultanément lors d'une hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. et de *Laurus nobilis* L. et ce dans l'espoir de valoriser tous les produits et sous-produits du procédé d'extraction.

Sachant que la valeur d'une huile essentielle et notamment ses propriétés biologiques et organoleptiques dépendent fortement de sa composition chimique, nous avons procédé à l'analyse des huiles essentielles extraites par chromatographie en phase gazeuse couplée à la

spectrométrie de masse (CG/SM) afin d'identifier et de déterminer la teneur des constituants majoritaires présents dans chacune d'entre elle.

La première partie de cette étude est une synthèse bibliographique comportant trois chapitres qui ont pour sujet la matière végétale, les techniques d'extraction en général, et l'hydrodistillation en particulier, et enfin les méthodes d'identification.

Dans la seconde partie expérimentale, nous proposons des détails sur la technique d'extraction, le protocole expérimental suivi ainsi que les différents résultats obtenus et leurs interprétations.

**Partie 1**  
**Synthèse**  
**bibliographique**

# **Chapitre 1**

## **Matières végétales**

## 1.1 La matière végétale

### 1.1.1 Rosmarinus officinalis L.

#### 1.1.1.1 Etymologie

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) tiendrait son appellation du latin «*ros marinus*» (Scheler, 1862), signifiant rosée de mer en référence à l'habitat de la plante que l'on trouve, selon une légende, uniquement dans les régions où s'étend, au petit jour, la rosée venant de la mer ou encore du latin *Rosa marina* qui signifie « Rose de mer ». (Escuder, 2007).

Son nom pourrait aussi lui venir d'autres origines, telles que du grec « *rhopsmyrinos* » signifiant buisson aromatique ou encore du latin « *rhusmarinus* » ou sumac de mer (Rameau et al, 2008). Enfin, on l'appelle également « herbe-aux-couronnes », « romarin des troubadours » et, en provençal, « encensier ». (Paume, 2008)

#### 1.1.1.2 Historique

Le romarin est considéré comme une herbe sacrée depuis des millénaires. Il était associé aux rites funéraires de l'ancienne Egypte par les embaumeurs, puis par les Athéniens et les Romains pour les funérailles et autres rites religieux. Il est également employé, dans l'alimentation, comme épice depuis fort longtemps. De plus, il est reconnu comme une des meilleures sources d'antioxydants d'origine naturelle. (Besombes, 2008)

Il est aussi utilisé en médecine. C'est le médecin grec Dioscorides qui signale, le premier, quelques-unes de ses propriétés médicinales. Le romarin est employé en phytothérapie, officiellement reconnue depuis 1986, comme médecine à part entière par le ministère de la santé, pour ses diverses propriétés. (Besombes, 2008)

L'huile essentielle est apparue plus tard. Elle aurait été isolée par R. Lulle en 1330 et/ou mentionnée au XIII<sup>ème</sup> siècle dans les écrits d'Arnold Villanovus. Elle doit son succès à « l'eau de la Reine de Hongrie ». Cette reine, à 72 ans, aurait retrouvé sa jeunesse et sa beauté passée grâce à cette potion magique, de composition inconnue, mais dont le principal constituant serait l'huile essentielle de romarin. (Besombes, 2008)

### 1.1.1.3 Description botanique

Le romarin appartient à la famille des Labiées ou lamiacées. Il se présente sous forme d'arbuste, sous arbrisseau ou herbacée (Atikbekkara et al., 2007) mesurant environ de 0,8 à 2m de hauteur (Gonzalez-Trujano et al., 2007) toujours vert, très aromatique, très rameux, très feuillé. Les feuilles sont coriaces, persistantes, sessiles, linéaires, entières, enroulées sur les bords, vertes et ponctuées dessus, blanches tomenteuses à la face inférieure (Berkane, 2014). Leur odeur, est très camphrée et évoque l'encens (d'où il tient son nom « encensier » en provençal).

La floraison du romarin a lieu, en général, deux fois par an, la première au mois de février jusqu'en avril voire mai, et la seconde en automne (Paume, 2008), mais exceptionnellement, si les conditions nécessaires sont réunies, on peut le voir fleurir tout au long de l'année (Escuder, 2007).

La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet, hermaphrodites, visibles de janvier à mai. Elles sont groupées à l'extrémité des rameaux à la base des feuilles. (Grégory, 1988)

Le fruit, ovoïde, est entouré par un calice persistant, sec est constitué de quatre akènes (tétrakène). Il attire les insectes (entomophiles) pour assurer la pollinisation. (Berkane, 2014)



Figure 1.1 : Vue d'ensemble de *Rosmarinus officinalis* L.

#### 1.1.1.4 Répartition géographique

Le romarin possède une aire géographique très vaste, il pousse sur tous types de terrains avec une préférence pour les sols calcaires, argileux, argileux limoneux situé dans les endroits ensoleillés chauds, secs et abrités du vent. Il est répandu sur la pluparts des maquis, garrigues sur les rivages marins, on le rencontre jusqu'à 1500m d'altitude. Il accompagne souvent le pin d'Alep, la sauge, le thym (Gilly, 2005).

Plante commune du bassin méditerranéen, son aire de répartition s'étend jusqu'au sud-ouest de l'Asie (Rombi et Robert, 2007).

En Algérie le romarin s'étale sur une superficie excédant 100 000 hectares (Bensebia et al.,2009).

#### 1.1.1.5 Utilisation

- **Alimentation**

Les extraits du romarin présentent un pouvoir antioxydant important et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques, ces propriétés sont dues aux acidespoly-phénoliques (rosmarinique, caféique).

L'épice et l'huile de romarin sont largement utilisés en alimentation. L'épice est utilisée dans les aliments cuits, viande, condiment assaisonnement, les aliments industriels, casse-croûtes, sauces et autres. L'huile est utilisée dans les desserts glacés, confiseries, aliments cuits, viande, condiments et assaisonnement, entre autres. (Berkane, 2014)

- **Medecine**

Le romarin est utilisé pour ses effets détoxiquant, diurétique, expectorant, anti-inflammatoire, antinévralgique, astringent, aromatique, cholagogue. Utilisé en bouquet, ou en infusion dans le bain pour stimuler et tonifier, il est aussi recommandé aux convalescents, aux surmenés, aux dépressifs, de même qu'aux personnes sujettes aux palpitations, aux migraines, aux angoisses et aux insomnies. (Donadieu, 2008)

- **Cosmétique**

Grâce à la capacité de stimulation des terminaisons nerveuses cutanées, le romarin est employé comme tonique dans des bains moussants, et comme liniment pour muscles fatigués. Il est utilisé dans la formulation des déodorants corporels pour ses propriétés dermo-purifiantes. En lotion et shampooing, l'extrait du romarin sert à stimuler le cuir chevelu et

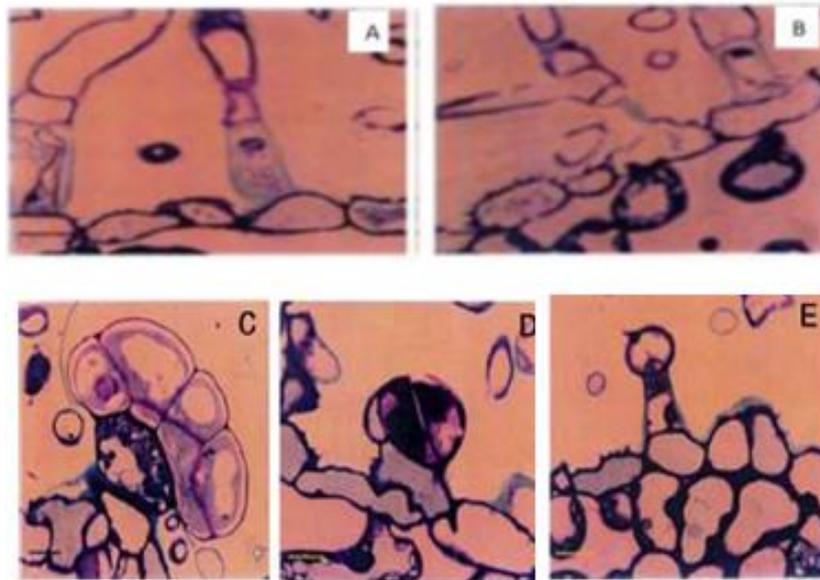
raffermir la peau. (Martini, 2011)

L'huile essentielle de romarin entre dans la composition de nombreux parfums, notamment de la célèbre eau de Cologne. [Site web 1]

#### 1.1.1.6 Structure sécrétrice de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* L.

La structure sécrétrice de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* L. est exclusivement exogène. Une étude (Marin, Koko, Duletic-Lausevic, 2006) portant sur des analyses stéréologiques et histochimique des trichomes glandulaires des feuilles de *Rosmarinus officinalis* L. par microscopie de fluorescence et photonique, a montré que les feuilles de *Rosmarinus officinalis* L. sont recouvertes d'une cuticule épaisse.

Une uni-couche épidermique est présente sur les surfaces abaxiale et adaxiale. Les feuilles portent des trichomes glandulaires et non glandulaires sur les deux côtés de la lame. Les trichomes non glandulaires sont présents dans les veines et les marges de la feuille. Certains des trichomes non glandulaires sont monocellulaires, mais plus nombreux, d'autres sont multicellulaires et ramifiés, comme montré sur la figure I.2



**Figure 1.2 : Micrographie lumineuse des trichomes non glandulaires de la feuille de *Rosmarinus officinalis* L. (Marin, Koko, Duletic- Lausevic, 2006)**

- A: Section longitudinale des trichomes non glandulaires non ramifiés, bar=100µm;
- B: Section longitudinale des trichomes non glandulaire ramifiés, bar=100µm.
- C: Section longitudinale d'un trichome glandulaire pelté, bar=100 µm ;
- D: Section longitudinale d'un trichome glandulaire capité de type I, bar=100 µm ;
- E: Section longitudinale d'un trichome glandulaire capité de type II, bar=100 µm.

Deux types de trichomes glandulaires peuvent être reconnues sur la figure 1.2: peltés et deux types de trichomes capités. Les trichomes peltés sont présents majoritairement sur la surface abaxiale et localisés dans des dépressions épidermiques. Ils sont constitués d'une cellule épidermique basale, d'une large tige unicellulaire et d'une tête sécrétrice multicellulaire.

Les trichomes capités sont situés sur la surface adaxiale et abaxiale des feuilles et ils sont plus nombreux que les trichomes peltés. Les trichomes capités de type I sont constitués d'une cellule basale, d'une courte tige unicellulaire et d'une tête à un ou à deux loges sécrétrice (figure 1.2.D). Les trichomes capités de type II sont composés d'une cellule basale, une courte tige mono ou bicellulaire et une tête sécrétrice unicellulaire (figure 1.2.E).

### 1.1.1.7 Composition chimique de l'huile essentielle et chémotypes

Les composés aromatiques ne sont pas présents en quantités constantes pour une même espèce, et ce, en raison de différents facteurs reliés à la localisation géographique, tels, que l'ensoleillement, l'altitude, la nature et la composition du sol qui influencent la biosynthèse végétale et, dans le cas du *Rosmarinus officinalis* L, plusieurs études l'ont démontré (Tuker and Maciarello, 1986; Tewari and Virmani, 1987; Mizrahi et al., 1991; Svoboda et Deans, 1992; Chalchat et al., 1993; Lawrence, 1995; Rao et al., 1997; Dellacassa et al., 1999, Boutekedjiret, 1999)

Afin de différencier cette variation chimique, relativement constante, on utilise le terme de chémotype ou race chimique.

Quatre chémotypes du *Rosmarinus officinalis* L., sont rapportés dans la littérature (Raskin, 2003):

- à camphre ;
- à 1,8-cinéole ;
- à myrcène ;
- à verbénone.

La composition chimique de l'huile essentielle du Romarin cultivé à l'Ecole Nationale Polytechnique a été déterminée par CG/MS (Abdelli,2010) et par CPG ( Arab et Beddar, 2011)

Le tableau 1.1 regroupe les compositions chimiques des huiles essentielles du romarin

appartenant aux différents chémotypes

**Tableau 1.1 : Chémotype de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.**

Chémotypes	Teneur (%)						
	Camphre	1,8-cinéole	Verbénone	myrcène	Algérie		
					Boutekdjiret 1999	Abdelli 2010	Arrab et Beddar 2011
$\alpha$ -pinène	20,21	11,37	17,66	11,2	0,4	15,5	37,74
Camphène	8,33	4,69	6,03	3,4	0,3	10,5	5,82
$\beta$ -pinène	4,26	7,84	2,67	2,9	0,3	4,03	3,38
Myrcène	5,63	1,13	1,66	31,5	tr	1,5	1,34
$\alpha$ -Phellandrène	0,46	0,21	-	1,4	-	0,4	0,32
$\alpha$ -terpinène	0,57	0,61	0,56	0,9	-	1,1	0,77
p-cymène	3,24	0,53	1,22	1,4	tr	4	0,55
1,8-cinéole	19,13	44,48	8,06	14,9	31,9	-	-
Limonène	4,47	2,25	4,15	3,2	-	2,1	3,47
cis- $\beta$ -ocimène	0,14	-	-	0,7	-	1,8	
$\gamma$ -terpinène	0,75	0,9	1,31	1,8	tr	2,7	2,59
terpinoléne	0,59	0,42	1,24	0,6	tr	1,5	1,38
Linalol	0,76	0,53	1,96	1,2	3,9	2,1	2,64
Camphre	18,67	10,07	14,46	14,4	19,7	15,2	9,26
Bornéol	2,46	3,57	3,06	1	12,1	3,9	3,01
$\gamma$ -terpinéol	0,11	-	-	-	-	-	-
terpinène-4-ol	0,14	0,96	1	1	4	1,1	1,2
$\alpha$ -terpinéol	2,6	2,08	1,09	1,4	12,8	0,8	0,16
verbénone	0,23	0,02	10,08	2,6	-	1	2,15
acetate de bornyl	1,3	1,5	11,19	0,2	3,1	3,6	2,22
$\beta$ -caryophyllène	1,49	4,55	1,33	0,5	3	-	-
$\alpha$ -humulène	-	-	0,41	0,1	tr	0,7	1,69
Verbénol	-	-	-	-	-	-	0,7
cis- $\alpha$ -bisabolène	-	-	-	0,1	-	-	0,28
oxyde de caryophyllène	-	0,16	-	0,2	tr	0,8	-

## 1.1.2 *Laurus nobilis* L.

### 1.1.2.1 Etymologie

Le mot est issu du latin *lauda*, ce qui signifie louanges. Il était expressément réservé à la confection de couronnes que l'on plaçait sur la tête de ceux qui méritaient louanges. [Site Web 2]

*Laurus nobilis*, de son nom arabe: *rand* ou *warkat moussa* est parfois appelé Laurier d'Apollon, Laurier noble ou Laurier sauce.

### **1.1.2.2 Historique**

Le Laurier sauce est originaire d'Asie, et amené en région méditerranéenne par les Romains de l'ère chrétienne.

Le laurier est le symbole d'Apollon. Selon Ovide, Daphné nymphe de la mythologie grecque, qui fut le premier amour d'Apollon, le fuyait et allait être rattrapée après une longue poursuite par ce dernier, quand, au dernier moment, son père, le dieu fleuve Pénéé, la métamorphosa en laurier. Dès lors, Apollon en fit son arbre et le consacra aux triomphes, aux chants et aux poèmes. Chez les Grecs et les Romains anciens, l'usage s'était établi de couronner de laurier les poètes et les vainqueurs.

Au Moyen Âge aussi, on couronnait de laurier les savants distingués dans les universités. Dans les écoles de médecine, la couronne dont on entourait la tête des jeunes docteurs était faite de rameaux feuillés de laurier avec des baies, d'où le nom « baccalauréat » (baccalauréa : baie de laurier) donné encore de nos jours en France au diplôme qui sanctionne la fin des études secondaires. [Site web 3]

### **1.1.2.3 Description botanique**

Le laurier appartient à la famille des Lauracées. Il se présente sous forme d'arbre de 2 à 10m, aromatique glabre, très rameux à rameaux dressés.

Ses feuilles sont alternes, coriaces persistantes, elliptiques, lancéolées, longues de 16cm sur 8cm de large, atténuées en court pétiole, entières, ondulées aux bords comportant quelques minuscules dents, vert foncé luisant dessus et vert pâle mat dessous, aromatiques et pourvues de glandes à huile.

Ses fleurs sont dioïques blanchâtres, odorantes, disposées en petites ombelles axillaires pédonculées et involuquées. La floraison a lieu en Mars-Avril ou Mai. (Beloued, 2001).

Le fruit est une petite baie ovoïde de 2cm de longueur sur 1cm de largeur, verte puis noir vernissé à maturité (Beloued, 2001)



Figure 1.3 : Vue d'ensemble du *Laurus nobilis* L.

#### 1.1.2.4 Distribution géographique

Le laurier pousse sur les terrains rocaillieux, ravins, vallées humides, ripisylves (forêts des bords de rivières). Sa culture demande un sol fertile, relativement humide, mais bien drainé, et un emplacement ensoleillé. Il est d'ailleurs planté en sujet isolé ou en haies partout où le climat est assez doux. (Beloued, 2001)

Originaire d'Asie Mineure, le laurier pousse spontanément dans le bassin méditerranéen, sur des hauteurs culminant à 1200 m d'altitude; cependant il est également cultivé, et ce pour son feuillage extrêmement aromatique. En Algérie nous le retrouvons dans les forêts et ravins humides, commun dans le tell algérois et constantinois.

#### 1.1.2.5 Utilisation

- **Alimentation**

Les feuilles de laurier sont coriaces et fortement aromatiques. Elles constituent la base du fameux « bouquet garni » de la cuisine française. Le laurier-sauce réveille l'appétit et redonne du tonus aux organismes affaiblis.

- **Médecine**

En infusion, le laurier est indiqué pour soulager les flatulences et stimuler les estomacs paresseux. Certains phytothérapeutes le conseillent comme remède contre l'arthrite. Antiseptique, il désinfecte par fumigation les voies respiratoires et soulage, en infusion, les

maux de dents. Il est recommandé en essence contre les entorses et les meurtrissures et ce grâce à ses propriétés antifongique, antibactérienne, antivirale et anti-hématome.[Site web 4]

- **Cosmétique**

Le laurier n'est pas seulement une plante aromatique, il est également apprécié depuis des millénaires pour ses propriétés purifiantes. Le laurier a même été à la base de l'industrie cosmétique actuelle.

L'huile essentielle de Laurier est utilisée en cosmétique pour la peau grasse, l'acné, les rides et ridules et ce grâce à ses propriétés anti oxydantes, purifiantes et tonifiantes.

L'huile de laurier est l'ingrédient essentiel du premier savon dur. Le savon d'Alep, dont la fabrication remonte à plus de mille ans, est à l'origine de tous les savons durs. La qualité du savon est déterminée par sa teneur en huile de laurier.[Site web 5]

- **Ornemental**

Cet arbuste est aussi très cultivé pour l'ornementation, notamment pour l'art topiaire (La Belgique est connue pour ses pépinières spécialisées dans la culture de laurier noble). Hors des régions de climat méditerranéen, il peut être sensible au gel et souvent cultivé en bacs. La branche de Laurier-sauce s'utilisait aussi comme ornement par les Romains.[Site web 3]

#### 1.1.2.6 Composition chimique de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L.

Les feuilles du Laurier sauce contiennent une huile essentielle représentant 1 à 3% du poids sec. La composition de l'huile essentielle de laurier est exprimée en pourcentage de divers composés des familles des oxydes terpéniques, des monoterpénols, des phénols des monoterpènes, des sesquiterpènes et des esters terpéniques (Flamini et al., 2007).

- Oxydes terpéniques: 1,8-cinéole (calébtol) (48.38%).
- Monoterpénols: linalol (3.50%), terpinén-4-ol (2.84%), alpha-terpinéol (2.46%)
- Phénols: eugénol (0.08%).
- Monoterpènes: sabinène (9.46%), bêta-pinène (4.99%), alpha-pinène (5.77%), limonène (4.10%), para-cymène (2.38%), gamma-terpinène (2.12%), myrcène (0.64%), camphène (0.32%), alpha-phellandène (0.24%), alpha-terpinène (0.28%).
- Phénol méthyl-ethers : Méthyleugénol (2.28%)
- Sesquiterpènes : Beta-élémane (0.61%), T.Cadinène (0.28%), Gamma.cadinène (0.13%), humulène (0.12%)
- Esters terpéniques : acétate d'alpha-terpényle (8.52%), acétate de bornyle (0.16%).

- Cétones :Undécane (0.17%)

La composition chimique de l'huile essentielle de feuilles, obtenue à partir de différentes méthodes d'isolement, a été étudiée par les chercheurs. Dans tous les cas, le 1,8-cinéole est le principal composant avec des pourcentages compris entre 10 et 71%. D'autres composés sont présents en quantités appréciables. En règle générale, le rendement et la composition de l'huile varie en fonction de l'origine, la période de collecte, et le stade de croissance de la plante. (Marzouki & al,2009, Anton R. et Lobstein A., 2005, Isbilir & al, 2008)

**Tableau 1.2 : Composition de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. de différentes régions**

Origine géographique	Constituants chimiques identifiés
Jordanie	$\alpha$ -pinène (5,82%), sabinène (6,92%), $\beta$ -pinène (4,55%), 1,8-cinéol (40,91%), $\alpha$ -terpinenyl acetate (5,86%), humulene epoxide II (5,85%)
Italie	$\alpha$ -pinène (3,1%), sabinène (8,2%), $\beta$ -pinène (3%), 1,8-cinéol (52,6%), linalol (7,2%), $\alpha$ -terpineol (3,1%), $\alpha$ -terpenylacetate (8%), methyl eugenol (3,2%)
Turquie	$\alpha$ -pinène (4,9%), sabinène (6,8%), $\beta$ -pinène (3,6%), 1,8-cinéol (56,7%), $\alpha$ -terpineol (7%), $\alpha$ -terpinen-4-ol (2,5%)
Italie	Eudesmol (3,9%), costunolide (2,34%), ermanthin (5,19%), vitamine E (9,03%), $\alpha$ -terpinyl acetate (7,14%), methyl eugenol (2,91%)
Maroc	$\alpha$ -pinène (3,71%), sabinène (6,13%), $\beta$ -pinène (3,14%), 1,8-cinéol (52,43%), $\alpha$ -terpinyl acetate (8,96%), limonene (5,25%)
Croatie	$\alpha$ -pinène (2,1%), sabinène (5,7%), 1,8-cinéol (45,5%), linalol (8,5%), camphor (2,1%), terpinen-4-ol (2,1%), $\alpha$ -terpinyl acetate (9,1%), eugenol (2,5%), methyl eugenol (10%), trans-caryophyllene (2,1%)
Algérie	$\alpha$ -pinène (2,7%), sabinène (4,6%), $\beta$ -pinène (2,1%), 1,8-cinéol (16,3%), linalol (10,9%), $\alpha$ -cadinol (1,2%), $\alpha$ -terpineol (2,6%), $\alpha$ -terpinyl acetate (16,6%), eugenol (2,5%), methyl eugenol (11%), E-caryophyllene (6,4%), elemicin (2%), caryophyllene oxide (4,4%), $\gamma$ -cadinene (1,4%)

Quant au tableau 1.3, il regroupe la composition de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*, au sein des feuilles, du fruit, des graines et des fleurs (Mohammadreza Verdian-rizi, Abbas Hadjiakhoondi 2008)

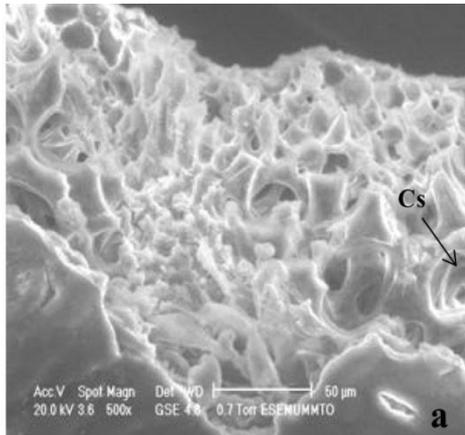
**Tableau 1.3 : Composition de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* d'Iran pour différentes parties de la plante**

Compound	Phenological stage			
	vegetative	Buds	Flowers	Seeds
$\alpha$ - Thujene	0,4	1	0,3	0,3
$\alpha$ -Pinene	3,2	2,6	2,6	2,7
Camphene	0,3	0,3	0,3	0,3
Sabinene	6,5	6	5,8	5,9
$\beta$ -pinene	2,9	2,5	2,4	2,5
Myrcene	1,1	0,9	0,8	1
3-Carene	0,5	0,4	0,4	0,5
$\alpha$ -Terpinene	0,2	0,2	0,2	0,2
p-Cymene	0,2	0,2	0,2	0,2
Limonene	1,3	1,4	1,3	1,3
1,8-cineol	35,7	34,9	31,4	35,7
$\gamma$ -Terpinene	0,4	0,4	0,3	0,4
Cis-Sabinene hydrate	0,6	0,6	0,6	0,6
Terpinolene	0,2	0,2	0,2	0,2
Trans-Sabinene hydrate	9,7	11,9	9,8	11,4
$\gamma$ -Terpineol	-	0,4	0,6	0,4
Borneol	-	0,2	-	0,2
4-Terpineol	1,4	1,6	1,6	1,5
$\alpha$ -Terpineol	2,8	3,2	3,3	3
Nerol	0,2	0,3	0,3	0,2
Linalyl acetate	0,3	0,4	0,4	0,4
Isobornyl acetate	0,3	0,4	0,4	0,4
terpinen-4-yl acetate	0,1	0,2	0,2	0,2
$\alpha$ -Terpinyl acetate	9,3	12,1	11,4	10,4
Eugenol	4,8	3,8	5,5	4,3
$\beta$ -Elemene	0,1	-	-	-
Methyl eugenol	6,8	8,1	9,4	7,9
$\beta$ -Caryophyllene	0,6	0,4	0,5	0,5
Valencene	0,3	0,3	0,4	0,3
$\beta$ -bisabolene	0,2	-	0,2	0,2
Elemicin	0,6	0,5	0,7	0,5
Spathulenol	0,6	-	-	-
Germacrene D	1,2	1,2	1,6	1,2
Caryophyllene oxide	0,2	0,7	0,8	0,7
Viridiflorol	0,3	0,2	0,3	0,2
$\gamma$ -Eudesmol	0,2	0,1	0,2	0,2
Bisabolol	0,2	0,2	0,2	0,2

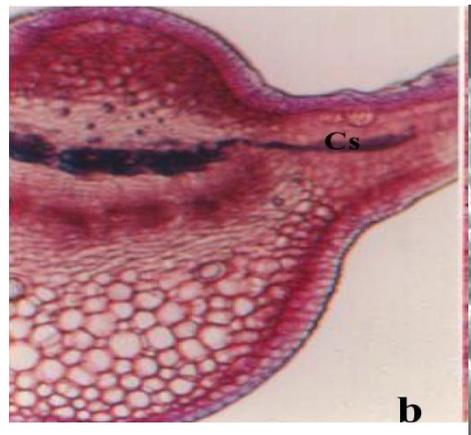
$\beta$ -Eudesmol	0,5	0,5	0,5	0,2
$\alpha$ -Cadinol	1,2	0,8	1,3	1
Total identified	95,8	98,8	95,5	97,3

### 1.1.2.7 Structure sécrétrice

Chez *Laurus nobilis* L. des canaux sécréteurs sont visualisés sous le parenchyme palissadique de la feuille. Ils se présentent sous forme de cellules isolées comme dans le cas de toutes les Lauraceae. Ils sont très nombreux, de forme arrondie et entourés par une assise de cellules sécrétrices. Les stomates ne sont présents que sur la face abaxiale des feuilles. Elles sont donc hypostomatiques. L'épiderme supérieur est formé de grosses cellules recouvertes d'une cuticule épaisse, caractérisé par une absence complète de poils.



**Figure 1.4 :** Micrographie de la feuille de *L. nobilis* montrant des canaux sécréteurs au MEB x500 (Taleb-Toudert, 2015)



**Figure 1.5 :** Coupe transversale de la feuille de *L. nobilis* observée au microscope optique x400 montrant des canaux sécréteurs. (Taleb-Toudert, 2015)

Le parenchyme qui fait suite est formé de cellules ovalaires, allongées se retrouvant même jusque dans le parenchyme lacuneux ; ces cellules ont comme caractère particulier la présence de glandes unicellulaires, volumineuses, remplies d'huile essentielle (Figures 1.4 et 1.5) (Taleb-Toudert, 2015).

L'épiderme inférieur n'a rien de particulier, il est comme le précédent, dépourvu de poils et entouré d'une cuticule épaisse et assez résistante. (Taleb-Toudert, 2015)

## **1.2 Les huiles essentielles**

### **1.2.1 Historique**

Depuis des temps immémoriaux, les peuples indigènes de toutes les civilisations du monde ont utilisé les plantes tant pour se soigner que pour vénérer leurs dieux (Baudoux, 2008). En effet, l'homme préhistorique pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorantes et des pierres brulantes. La vapeur dégagée entraînait les molécules volatiles, puis le tout était recueilli à l'aide d'une peau d'animal dont l'essorage donnait quelques gouttes d'huile essentielle. (Paris et Moïse, 1976).

Il apparaît que la civilisation la plus avancée dans l'usage des huiles essentielles fut l'Égypte à la période des pharaons. Les Égyptiens utilisaient les plantes aromatiques pour l'embaumement car ils maîtrisaient les vertus antibactériennes et antiputrides de certaines d'entre elles. (Baudoux, 2008).

Les civilisations égyptiennes et arabes ont développé l'usage des principes odorants des plantes et leur extraction au fil des siècles (Sell, 2006). D'ailleurs, c'est autour de l'an 1000 que le médecin du monde arabe Ibn Sina, dit Avicenne, mit au point l'alambic, qui permet l'extraction des huiles essentielles par le processus de distillation à la vapeur d'eau (Baudoux, 2008).

C'est sans doute grâce aux croisades que la distillation a pu être ramenée en Occident, ou pas moins de cent huiles essentielles sont utilisées couramment et de manière ciblée dès le début du XVII<sup>ème</sup>.

L'avènement de la civilisation industrielle entraîna un oubli presque total de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles, jusqu'au début du XVI<sup>ème</sup> siècle, où Paracelse, médecin suisse considéré comme le père de la pharmaco-chimie étudia l'extraction de «l'âme» des végétaux sous forme de «quintessence» (ou cinquième essence) à laquelle le nom «d'esprit» a été donné. Puis, on lui attribua le nom «d'essence» et finalement «d'huile essentielle». (Paris et Moïse, 1976).

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques pour leur obtention et l'analyse de leur composition chimique, et de nombreux travaux ont démontré

leurs vertus thérapeutiques. De nos jours, l'usage des huiles essentielles est très large dans plusieurs domaines, tels que la pharmacologie, la cosmétique et l'agroalimentaire.

### **1.2.2 Définition**

L'association française de normalisation AFNOR définit l'huile essentielle 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» (AFNOR, 1996).

Selon Telphon, l'huile essentielle est un produit volatil, liquide ou semi-liquide, composé de molécules aromatiques sécrétées par certaines plantes ou certains arbres. Comme n'importe quelle huile, elle n'est pas soluble dans l'eau, cependant elle n'est pas un produit gras à proprement parler. Le caractère volatil de l'huile essentielle lui confère un parfum souvent très odorant. Il est dit que plus l'huile est volatile, plus son parfum est fort. (Telphon, 2005)

La Pharmacopée Française (1965) quant à elle définit les huiles essentielles comme étant "des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation".

### **1.2.3 Répartition et localisation**

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon Lawrence, 17500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants que composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, ex : Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae.

Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits, graines.

Les essences peuvent être localisées dans des cellules sécrétrices isolées (cas des lauracées et magnoliacées), mais on les trouve le plus souvent dans des organes sécréteurs spécialement différenciés et variables suivant les familles botaniques. On peut citer, par exemple, les poils sécréteurs des lamiacées, les poches sécrétrices des rutacées et les canaux sécréteurs des conifères (Endrias, 2006).

### 1.2.4 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de manière quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et celui des composés aromatiques, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatiles (Bruneton, 2009).

#### a) Les composés terpéniques

Les composés terpéniques sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique.

Suivant le nombre  $n$  entier d'unités pentacarbonés ( $C_5$ ) ramifiées, dérivées du 2-méthyl-1,3-butadiène (isoprène), la classification suivante a été réalisée :

- Pour  $n = 2$ : les monoterpènes. Ces terpènes proprement dits sont des hydrocarbures en  $C_{10}$ . Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales, surtout alcool et aldéhyde.
- Pour  $n = 3$ : les sesquiterpènes. Ce sont des hydrocarbures de formule  $C_{15}$ , soit une fois et demie (sesqui-) la molécule des terpènes (en  $C_{10}H_{16}$ ). Un groupe particulier de sesquiterpènes est représenté par les azulènes, composés instables dont le nom vient de leur coloration bleue et qui sont importants en pharmacognosie en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires. Ces composés, non saturés, sont constitués par deux cycles penta et hepta carbonés.
- Pour  $n = 4$ : les diterpènes qui sont des dérivés d'hydrocarbures en  $C_{20}$ . Ces composés, à point d'ébullition élevé, se rencontrent surtout dans les résines.
- Pour  $n = 5$ : les sesterpènes. Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en  $C_{25}$ .
- Pour  $n = 6$ : les triterpènes. Ces composés en  $C_{30}$  sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifiés, ou sous forme hétérosidique.

#### b) Les composés aromatiques

Parmi les divers composés aromatiques nous pouvons citer :

- Les aldéhydes (anisiques, cuminiques, cinnamiques).
- Les phénols et éthers (thymol, eugénol, anéthol).
- Les coumarines (bergapteine, ombellifèrone).

Des composés acycliques tels que les acides organiques à faible poids moléculaire (acétique, formique, valérique) peuvent être également rencontrés. (Alloun, 2013)

### c) Composés d'origines diverses

Il s'agit là des produits résultant de la transformation des molécules non volatiles:

- Composés issus de la dégradation d'acides gras.
- Composés issus de la dégradation des terpènes. (Bruneton, 2009)

## 1.3 Les composés phénoliques

### 1.3.1 Définition

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence d'au moins deux groupes phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes.

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols, les boissons telles que jus de fruits et surtout café, thé ou vin apportant le reste (Middleton et al., 2000).

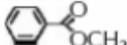
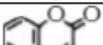
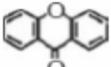
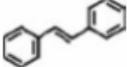
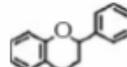
Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment à cause de leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

### 1.3.2 Classification

Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples, acides-phénols (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique) et coumarines, en naphthoquinones, en stilbénoides (deux cycles en C<sub>6</sub> liés par deux atomes de carbone), en flavonoïdes, isoflavonoïdes et anthocyanes, et en formes

polymérisées: lignanes, lignines, tanins condensés. Ces squelettes carbonés de base sont issus du métabolisme secondaire des plantes.

**Tableau 1.4 : Classification des composés phénoliques**

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénols	Acide gallique	
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	acétophénones	Gallacetophénone	
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique	
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinamiques	Acide p-coumarique	
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Coumarines	Esculitine	
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphthoquinones	Juglone	
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones	Mangiferine	
14	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resveratrol	
15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes	Naringénine	

En se basant sur la structure carbonée de base, on peut dégager les principales classes de composés phénoliques suivantes :

- **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes (ou bioflavonoïdes) sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones : C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, chaîne souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagonal. Certains auteurs, comme Bruneton, préfèrent séparer, pour tenir compte de leurs propriétés particulières, les dérivés flavaniques, les anthocyanosides et les isoflavonoïdes et conserver l'appellation de flavonoïdes stricto sensu pour les autres.

Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits, ils couvrent une large gamme de couleur allant du rouge à l'ultraviolet en passant par le jaune. On trouve ces pigments dans le rouge des pommes et des poires, dans les baies de genièvre, le miel, le raisin et le vin.

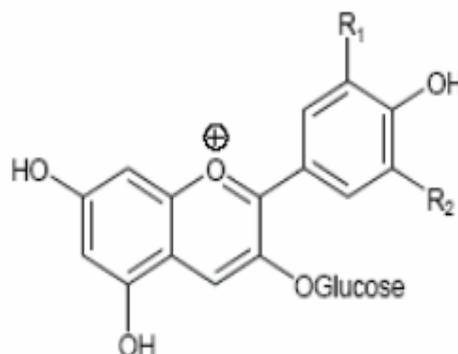
Les flavonoïdes représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation. Il y en a plus de 6000 à avoir été décrits chez les plantes.

- **Anthocyanosides**

Ce sont des pigments naturels des feuilles, des pétales et des fruits, situés dans les vacuoles des cellules, solubles dans l'eau, allant du rouge orangé au bleu pourpre dans le spectre visible.

Les anthocyanosides sont présents dans un certain nombre de végétaux tels que myrtille, mûre, cerise, raisin noir, orange sanguine, aubergine, pomme de terre vitelotte, prune, bleuets (airelle bleue du Canada, ne pas confondre avec le Bleuets des champs), mauve, etc. Ils donnent leur couleur aussi bien aux feuilles d'automne qu'aux fruits rouges. Ils jouent un rôle important dans la pollinisation des fleurs et la dispersion des graines, ainsi que dans la protection des plantes contre les agressions du milieu (froid, lumière, ravageurs, etc.).

Leur fort pouvoir colorant, leur solubilité en milieu aqueux et leur absence de toxicité font des anthocyanosides des colorants naturels susceptibles de remplacer les colorants synthétiques utilisés dans l'industrie agroalimentaire. Enfin, leur activité anti-oxydante laisse supposer que leur apport par l'alimentation pourrait jouer un rôle bénéfique dans la santé humaine, notamment dans le domaine des risques cardiovasculaires.



**Figure 1.6 : Structure des anthocyanosides**

- **Tannins**

Les tanins sont des substances végétales de la famille des polyphénols, le plus souvent hydrosolubles, qui possèdent la capacité de précipiter les protéines, alcaloïdes et polysaccharides, à partir de leur solution aqueuse. Ces métabolites secondaires sont utilisés par les plantes supérieures (arbres, plantes à fleur, etc) comme moyen de défense chimique

contre les parasites. On les retrouve dans quasiment tout type de partie végétale exposée à des risques de prolifération microbienne (écorces, racines, feuilles, fruits, etc.), et donc, dans certaines boissons comme le thé, le café, la bière et le vin.

Les propriétés particulières des tanins leur permettent d'être utilisés à des usages divers notamment dans le tannage des peaux, la fabrication des encres ou en pharmacologie. Sur le plan chimique, ils sont constitués soit de polyol (glucose le plus souvent), ou de catéchine ou de triterpénoïde auquel sont attachés des unités galloyles (ou leurs dérivés) soit d'oligomères ou polymères de flavanols.

- **Phénols simples et les acides phénoliques**

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique.

- **Coumarines**

Le terme de coumarine désigne la classe des composés phénoliques dérivés de cette dernière molécule, la 2H-1-benzopyrane-2-one. Ces composés possèdent des hydroxyles phénoliques qui peuvent être méthylés ou être engagés dans des liaisons hétérosides, ils constituent alors la génine. Plus d'un millier de coumarines naturelles ont été décrites. Elles sont très largement distribuées dans le règne végétal.

La coumarine utilisée en parfumerie ou pour aromatiser les aliments ou les boissons est surtout obtenue par synthèse.

- **Quinones**

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa- 2,5-diéniqne (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5- diéniqne (ortho-quinones) (Bruneton, 2009).

Plus d'un millier de coumarines naturelles ont été décrites. Elles sont très largement distribuées dans le règne végétal.

- **Stilbène**

Ce sont des polyphénols naturels présents dans de nombreuses familles de plantes supérieures (comme le trans-resvératrol du raisin). Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Rassemblés avec les bibenzyls et les phénanthrènes, ils forment la famille des stilbénoides.

- **Lignanes**

Les lignanes sont des composés phénoliques formés de deux unités monolignols. Ces mêmes unités de base servent aussi aux végétaux pour synthétiser un long polymère ramifié, au nom proche mais mieux connu, la lignine, présente dans les parois des vaisseaux conducteurs. Il existe de très nombreux lignanes, qui diffèrent par le type de liaison entre les deux unités et les modifications qui interviennent après la dimérisation.

# **Chapitre 2**

## **Techniques extractives**

## 2.1 Différentes techniques extractives

L'extraction des principes actifs contenus dans les plantes, date de la plus haute antiquité. L'homme a en effet découvert très tôt les bienfaits des végétaux et les premières techniques pour en retirer ce que l'on appelle aujourd'hui un "extrait". Les premiers extraits sont obtenus principalement par distillation aqueuse ou fermentation alcoolique, les méthodes d'extraction ont évolué au fil du temps grâce aux avancés du génie des procédés : les ultrasons, les micro-ondes, les hautes pressions sont devenues, aujourd'hui, des termes fréquents dans l'extraction végétale.

### 2.1.1 Enfleurage

L'enfleurage est l'un des plus anciens procédés. Il est basé sur l'affinité des parfums pour les graisses et concerne les plantes qui conservent leur parfum après avoir été cueillies (comme le jasmin ou la tubéreuse). Elle peut être pratiquée, selon la différence de résistance des plantes à la chaleur, à chaud ou à froid.

#### ➤ Principe

L'enfleurage à chaud ou macération consiste à faire infuser les fleurs ou autres éléments odorants dans des matières grasses, huiles ou graisses, préalablement chauffées. Les mélanges obtenus sont ensuite filtrés à travers des tissus afin d'obtenir des onguents parfumés. Cette technique connue dès l'Antiquité fut complétée au cours des siècles avec les progrès réalisés dans les autres méthodes d'extraction.

Le lavage mécanique à l'alcool de ces pommades parfumées dans des batteuses permet ainsi de produire un extrait alcoolique parfumé après séparation des produits gras et alcooliques.

Les fleurs les plus fragiles, comme le jasmin, la tubéreuse ou la jonquille ne supportant pas d'être chauffées, se développa également la technique de l'enfleurage à froid, elle consiste à étaler une couche de graisse inodore sur les parois d'un châssis en verre que l'on recouvre ensuite de fleurs. Ces fleurs sont renouvelées jusqu'à ce que la graisse soit saturée de parfum.

Les pommades parfumées obtenues peuvent être utilisées en l'état pour la fabrication de produits cosmétiques. Traitées à l'alcool dans des batteuses pour les décharger de leur graisse, elles permettent d'obtenir après évaporation une absolue.



Figure 2.1 : Châssis d'enfleurage [Site Web 6]

### 2.1.2 Hydrodistillation

L'hydro-distillation est l'un des procédés les plus simples et le plus ancien. Il repose sur le fait que la plupart des matières odorantes peuvent être entraînées à la vapeur d'eau. L'appareil utilisé est un alambic. Le but étant d'entraîner avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts.

#### ➤ Principe

La masse végétale est mélangée à un volume d'eau dans un ballon. Ce mélange est chauffé jusqu'à ébullition. Les vapeurs contenant l'huile essentielle s'acheminent par un serpentin refroidi dans un circuit d'eau puis se condensent et sont recueillies dans un vase florentin (ou essencier). La séparation entre eau et huile essentielle se fait par différence de densité, ce qui permet de récupérer facilement l'huile essentielle par décantation.



Figure 2.2 : Installation d'hydrodistillation [Site Web 7]

### 2.1.3 Entraînement à la vapeur sèche

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats, les techniciens ont mis au point le procédé de l'entraînement à la vapeur sèche.

#### ➤ Principe

Dans une cuve, la masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche est pulsée. Les cellules se distendent et les particules d'essences se libèrent puis sont vaporisées et recondensées dans le serpentin réfrigéré. La récupération de l'huile essentielle est la même que dans le cas de l'hydrodistillation.

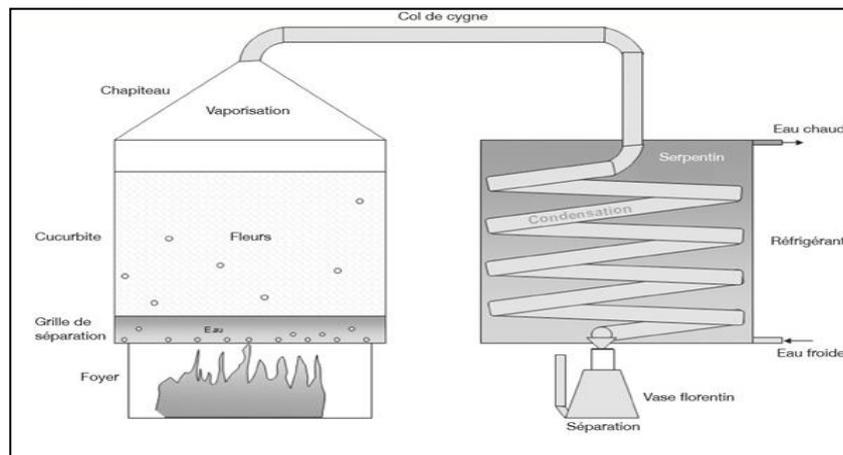


Figure 2.3 : Installation de l'entraînement à la vapeur d'eau [Site Web 8]

### 2.1.4 Extraction par solvant volatil

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, éthanol, méthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone (Kim et Lee, 2002; Dapkevicius et *al.*, 1998). Cependant il existe plusieurs techniques pour l'extraction des concrètes et des oléorésines, ces techniques peuvent être subdivisées en techniques dites conventionnelles (extraction par Soxhlet, macération avec un mélange alcool-eau, extraction en mode batch) et en techniques nouvelles (extraction par solvant accéléré, extraction par fluide supercritique)

Le choix de la méthode la mieux adaptée à l'extraction se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'extrait et de son usage (Abdoul, 2002).

#### ➤ Extraction en mode batch

Dans ce mode d'extraction, la matrice végétale est immergée dans le solvant pendant un temps suffisamment lent pour atteindre l'équilibre. L'extrait est ensuite collecté pour être purifié (Chung-Hung et al., 2014). L'avantage majeur de l'extraction en mode batch par agitation est la possibilité de travailler facilement avec des mélanges de solvants (par exemple diverses proportions alcool-eau) et de contrôler la température d'extraction, en évitant le risque de destruction des composés thermolabiles. C'est une méthode simple et efficace mais qui exige des procédures postérieures de filtration et de concentration relativement longues (Chung-Hung et al., 2014).

### 2.1.5 Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique ou CO<sub>2</sub> sous pression et à température supérieure à 31°C, le gaz carbonique se trouve dans un état dit « supercritique », intermédiaire entre le gaz et le liquide.

Dans cet état, le CO<sub>2</sub> présente la particularité de dissoudre de nombreux composés organiques. Cette propriété a été mise à profit pour extraire des matières premières végétales intéressantes pour la parfumerie. Pour cette application, l'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique présente de nombreux avantages par rapport aux procédés d'extraction traditionnels. Les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine.

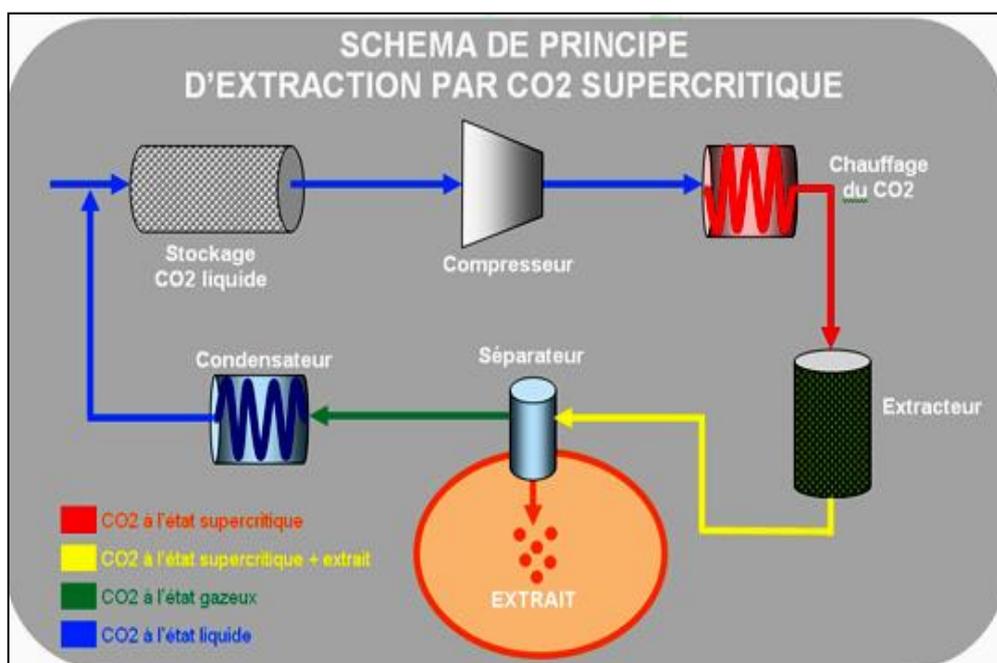


Figure 2-4 : Schéma de principe d'extraction par CO<sub>2</sub> supercritique

### ➤ Principe

La matière végétale est chargée dans l'extracteur, puis le CO<sub>2</sub> introduit sous pression et réfrigéré. Le mélange est ensuite recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO<sub>2</sub> reprend sa forme gazeuse et est complètement éliminé et l'extrait végétal est isolé. Les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine et sans solvant résiduel. [Site web 9]

#### 2.1.6 Extraction assistée par microondes

Contrairement aux techniques classiques de chauffage par conduction ou convection, l'utilisation des micro-ondes implique une interaction directe entre un rayonnement électromagnétique et la matière. Le chauffage par micro-ondes d'un produit résulte ainsi de la conversion en chaleur de l'énergie d'une onde électromagnétique au sein de ce matériau. Ce transfert d'énergie particulier induit un transfert de matière lui aussi particulier et dont les mécanismes diffèrent notablement de ceux de l'extraction solide-liquide traditionnelle.

L'efficacité (en termes de rendement ou de cinétique d'extraction) et la sélectivité (en terme de pureté des produits) des procédés d'extraction assistée par micro-ondes sont un corollaire de ces conditions particulières de transfert de matière et d'énergie.

Les durées des procédés d'extraction assistée par micro-ondes sont en effet de l'ordre de quelques minutes. Les rendements, dans la plupart des cas, sont comparables à ceux obtenus par les procédés traditionnels d'extraction. Lorsqu'ils sont inférieurs, il s'agit le plus souvent d'une manifestation de la sélectivité du procédé, conduisant à une plus grande pureté des extraits. (Anizon et al, 2003)

## 2.2 Hydrodistillation

### 2.2.1 Principe

Au cours de l'hydrodistillation, la matière végétale est immergée dans l'eau et l'ensemble est porté à ébullition. L'opération est généralement conduite à pression atmosphérique et la température est limitée par la température d'ébullition de l'eau: 100°C.

Les vapeurs d'eau et d'huile essentielle sont condensées et l'huile est séparée des eaux de condensation par décantation. L'hydrodistillation peut être réalisée avec ou sans recyclage de ces dernières, communément appelé cohobage.

### 2.2.2 Mécanisme

Pour expliquer les différentes phases de l'hydrodistillation des végétaux, des études relativement récentes (Gueorguiev, 1995) proposent un mécanisme comportant les trois étapes ci-après.

✓ La thermodiffusion : dans un premier temps, pour que l'huile puisse être entraînée, il faut qu'elle soit en contact direct avec la vapeur. Une telle contrainte impose la destruction de la structure cellulaire du végétal, chose que les conditions sous lesquelles est menée l'hydrodistillation ne permettent pas. On pense alors qu'au début du processus, on assiste à la « thermodiffusion » ou exsudation thermique de l'huile et ceci se poursuit jusqu'à l'établissement d'un équilibre des températures à l'extérieur et à l'intérieur du site sécréteur.

✓ L'osmose : au contact de la surface du végétal, l'eau pénètre par osmose dans les sites sécréteurs et engendre une augmentation de la pression à l'intérieur du site. Cette pression dite de « turgescence » qui s'exerce sur la cuticule, provoque l'expansion du trichome et une dilatation des pores. Il s'ensuit l'expulsion de l'huile essentielle du site sécréteur, vers l'extérieur, sans que la cuticule du trichome soit déchirée. La température élevée, quant à elle, provoque la coagulation du protoplasme du trichome et, par conséquent, la semi-perméabilité de la cuticule se trouve diminuée.

✓ L'hydrodiffusion : Une fois à l'extérieur du trichome, l'huile essentielle rencontre une couche d'eau de condensation qui enveloppe le substrat végétal. L'huile essentielle diffuse à travers cette couche (hydrodiffusion), jusqu'à atteindre l'interface huile-vapeur. Le contact direct huile-vapeur étant assuré, l'huile s'évapore et est entraînée par le flux de vapeur.

Cependant, une conséquence à l'étape d'hydrodiffusion est le fait que la vitesse de vaporisation des constituants de l'huile essentielle est davantage conditionnée par leurs solubilités dans l'eau que par leurs points d'ébullition (Leguet 1993).

### 2.2.3 Paramètres du procédé de l'hydrodistillation

Plusieurs paramètres interviennent dans ce procédé :

- La durée d'extraction, diffère d'une plante à l'autre selon la localisation des sites sécréteurs.

- Rapport volume d'eau/masse de matière végétale, un paramètre à prendre compte lors de la mise en œuvre de l'hydrodistillation. Lorsque ce rapport est insuffisant, la matière végétale peut cramer au contact des parois de l'alambic. Un rapport élevé, par contre, est économiquement injustifié, car nécessite une importante quantité de chaleur pour mettre en ébullition un grand volume d'eau et favorise la dissolution des composés hydrosolubles.
- Débit de vapeur, qui est un paramètre très important du procédé. Mise à part l'entraînement de l'huile essentielle, un débit de vapeur élevé assure, au cours de l'hydrodistillation, l'agitation du matériel végétal et un meilleur contact entre les phases. (Geogiev, 1995)

#### 2.2.4 Cinétique de l'hydrodistillation

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

Dans le cas des végétaux ayant des dépôts exogènes, l'hydrodistillation est de courte durée, la plus grande quantité d'huile est récupérée au début du processus.

Lorsque la matière végétale à dépôts exogènes est traitée avec des organes du végétal dépourvus ou contenant peu d'huile (tiges, racines), une partie de l'huile peut être adsorbée à leur surface. La désorption ayant lieu ensuite est très lente. Ces phénomènes d'adsorption et de désorption sont souvent la cause de prolongation de la durée du processus. L'hydrodistillation des végétaux ayant une structure sécrétrice endogène est lente.

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

- une première partie, où la vitesse de l'extraction est relativement élevée, jusqu'à l'épuisement de l'huile essentielle superficielle, elle concernera donc, la distillation de l'huile essentielle exogène de la matière végétale.

- une seconde partie, tendant vers un pallier où la vitesse de distillation est relativement lente. Cette phase du processus correspond à la désorption de l'huile adsorbée à la surface du végétal au cours de la première période, ou est régie par les phénomènes de diffusion de l'huile endogène à travers les tissus de la plante.

# **Chapitre 3**

## **Méthodes d'identification**

### 3.1 Chromatographie en phase gazeuse

Cette méthode chromatographique permet de séparer des mélanges gazeux complexes par suite continue d'équilibres s'établissant entre une phase mobile gazeuse et une phase stationnaire appropriée. Cette méthode ne s'adresse pas seulement aux molécules se trouvant naturellement à l'état de gaz, mais à tout composé susceptible d'être volatilisé par l'élévation de la température. La nécessité de maintenir les molécules à l'état gazeux implique donc que toute l'opération chromatographique se réalise à une température compatible avec cet état sans provoquer leur destruction. Un nombre de molécules peuvent ainsi être séparées directement ou après transformation lorsqu'elles sont thermolabiles ou peu volatiles. En Chromatographie Gazeuse CG, il n'y a que des interactions du soluté avec la phase stationnaire (alors qu'en Chromatographie Liquide CL il y a des interactions avec la phase stationnaire et avec la phase mobile), ce qui rend la méthode moins complexe mais en diminue quelque peu les possibilités.

#### 3.1.1 Principe

L'échantillon (un liquide volatil) est d'abord introduit en tête de colonne par l'intermédiaire d'une micro seringue qui va traverser une pastille souple, appelée septum, pour se retrouver dans une petite chambre en amont de la colonne appelée injecteur. L'injecteur est traversé par le gaz porteur et porté à une température appropriée à la volatilité de l'échantillon. Les quantités injectées peuvent varier de 0,2 à 5,0  $\mu\text{l}$ .

Ensuite, une fois rendus volatils, les différents composés de l'échantillon vont être emportés par le gaz porteur (ou gaz vecteur) à travers la colonne et se séparer les uns des autres en fonction de leur affinité avec la phase stationnaire. La phase stationnaire peut être un liquide non (ou peu) volatil (chromatographie gaz-liquide) ou un solide adsorbant (chromatographie gaz-solide). Dans les deux cas, la phase stationnaire va provoquer un phénomène de rétention chromatographique avec les différents composés (appelés solutés). Plus le composé a d'affinité avec la phase stationnaire, plus il mettra de temps à sortir de la colonne. La grandeur expérimentale brute est appelée temps de rétention. C'est le temps qui s'écoule entre l'injection de l'échantillon et l'apparition du signal maximum du soluté au détecteur.

Pour favoriser le transport de tous les composés à travers la colonne (élution), il faut déterminer la bonne température du four. En général, la température doit être légèrement supérieure à la température d'ébullition des composés (de manière que les composés ne sortent pas trop tôt, ce qui aurait pour conséquence d'avoir leurs pics confondus avec celui du

temps mort). On peut travailler en isotherme, c'est-à-dire avec une température fixe durant toute l'analyse ou avec un programme de température qui varie.

À la sortie de la colonne, les composés rencontrent un élément essentiel qui est appelé détecteur. Cet élément évalue en continu la quantité de chacun des constituants séparés au sein du gaz porteur grâce à la mesure de différentes propriétés physiques du mélange gazeux. Le détecteur envoie un signal électronique vers un enregistreur (sorte d'imprimante) qui dessinera les courbes de chaque pic en fonction de leur intensité (courbe de type Gaussienne). L'ensemble des pics est appelé chromatogramme. Actuellement et de plus en plus, les logiciels remplacent avantageusement les enregistreurs papiers pour l'interprétation des signaux envoyés par les détecteurs.

### 3.1.2 Appareillage

Les appareils de chromatographie gazeuse sont appelés chromatographes. Ils sont principalement composés:

- d'un four (type chaleur tournante) qui permet une programmation de température ajustable de 20 °C (–100 °C pour certains systèmes) à 450 °C et qui est également équipé d'un système de refroidissement rapide;
- d'un système d'injection, qui va permettre d'introduire et de rendre volatil l'échantillon à analyser. L'injection peut se faire d'une manière manuelle ou automatique à l'aide d'un échantillonneur;
- d'une colonne (capillaire ou remplie) qui peut faire plus de 50 mètres, sur laquelle les différentes molécules de l'échantillon injecté vont se séparer suivant leurs affinités avec la phase stationnaire;
- d'un système de détection, qui va permettre de mesurer le signal émis par les différentes molécules et de pouvoir les identifier. Pour l'enregistrement du signal émis par le détecteur, des logiciels sur PC remplacent avantageusement les enregistreurs analogiques sur papier;
- d'un système de détenteur-régulateur pour les gaz utilisés (hélium, dihydrogène, diazote et air comprimé). Sur les chromatographes modernes, on trouve des systèmes électroniques pour la régulation des gaz qui sont également purifiés par des cartouches filtrantes.

Il existe des chromatographes de différentes tailles. Cela va du portable (env. 10 kg) conçu pour les analyses sur le terrain, à ceux utilisés dans la purification des gaz rares.

Il existe trois sortes de chromatographes :

- Chromatographe industriel, utilisé pour la purification des produits, c'est ainsi qu'Air Liquide a conçu et fabriqué un chromatographe de grande taille pour la purification du krypton et du xénon.
- Chromatographe à colonne, utilise un produit (phase stationnaire) imprégné ou greffé sur un support solide inerte à forte capillarité
- Chromatographe capillaire, où la phase stationnaire est fixée directement sur la surface interne du tube capillaire creux, dont le diamètre interne est de l'ordre du demi ou quart de millimètre.

La chromatographie de type gaz-liquide, largement utilisée de nos jours par rapport à celle de type gaz-solide, se fonde sur le partage du soluté entre une phase mobile gazeuse et une phase stationnaire liquide immobilisée sur un support inerte.

### 3.2 Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une technique physique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse, et de caractériser leur structure chimique. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ). Elle est utilisée dans pratiquement tous les domaines scientifiques

#### 3.2.1 Principe

La spectrométrie de masse est une méthode destructive, qui permet à la fois d'accéder à la mesure de la masse moléculaire d'une substance ainsi que d'obtenir des données structurales : la substance ionisée se trouve dans un état excité qui provoque sa fragmentation. L'analyse de ces fragments informe sur la structure de la molécule. Chacun des ions formés est caractérisé par son rapport masse/charge ( $m/z$ ) et l'appareil est capable de séparer ces ions par un champ magnétique et de les détecter qualitativement et quantitativement.

La spectrométrie de masse a récemment élargi son champ d'application, qui était classiquement limité à l'étude des petites molécules organiques, pour permettre actuellement d'étudier des macromolécules.

### 3.2.2 Appareillage

Le spectromètre de masse, initialement conçu par le Britannique Joseph John Thomson, comporte une source d'ionisation suivie d'un ou plusieurs analyseurs qui séparent les ions produits selon leur rapport  $m/z$ , d'un détecteur qui compte les ions et amplifie le signal, et enfin d'un système informatique pour traiter le signal. Le résultat obtenu est un spectre de masse représentant les rapports  $m/z$ , où  $m$  représente la masse et  $z$  la valence des ions détectés selon l'axe des abscisses et l'abondance relative de ces ions selon l'axe de ordonnées.

Le spectromètre de masse se compose donc de quatre parties :

- Le système d'introduction de l'échantillon : l'échantillon peut être introduit directement dans la source, sous forme gazeuse, liquide (infusion directe) ou solide (canne d'introduction directe, dépôt sur plaque MALDI...) ou encore par l'association à une méthode séparative (chromatographie en phase liquide, chromatographie en phase gazeuse, électrophorèse capillaire...).
- La source d'ionisation : elle consiste à vaporiser les molécules et à les ioniser. Une source d'ionisation peut être utilisée soit en mode positif pour étudier les ions positifs, soit en mode négatif pour étudier les ions négatifs. Plusieurs types de sources existent et sont utilisés en fonction du résultat recherché et des molécules analysées.
  - L'ionisation électronique (EI), l'ionisation chimique (CI) et la désorption-ionisation chimique (DCI)
  - Le bombardement par atomes rapides (FAB), atomes métastables (MAB) ou ions (SIMS, LSIMS)
  - Le couplage plasma inductif (ICP)
  - L'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) et la photo-ionisation à pression atmosphérique (APPI)
  - L'électronébulisation ou électrospray (ESI)
  - La désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI), activée par une surface (SELDI) ou sur silicium (DIOS)
  - L'ionisation-désorption par interaction avec espèces métastables (DART)
- L'analyseur : il sépare les ions en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ). Il existe des analyseurs basse résolution : le quadripôle ou quadrupôle (Q), le piège à ions 3D (IT) ou linéaire (LIT), et des analyseurs haute résolution, permettant de mesurer la masse

exacte des analytes : le secteur magnétique couplé à un secteur électrique, le temps de vol (TOF), la résonance cyclotronique ionique à transformée de Fourier (FTICR) et l'Orbitrap. Ces analyseurs peuvent être couplés entre eux pour réaliser des expériences de spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). En général, un premier analyseur sépare les ions, une cellule de collision permet de fragmenter les ions, et un second analyseur sépare les ions fragments. Certains analyseurs, comme les pièges à ions ou le FT-ICR, constituent plusieurs analyseurs en un et permettent de fragmenter les ions et d'analyser les fragments directement.

- Le détecteur et système de traitement : le détecteur transforme les ions en signal électrique. Plus les ions sont nombreux, plus le courant est important. De plus, le détecteur amplifie le signal obtenu pour qu'il puisse être traité informatiquement.

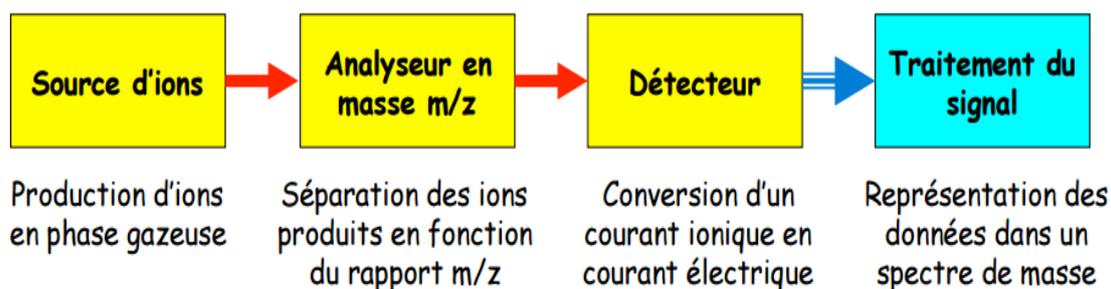


Figure 3.1 : Schéma de principe d'un spectromètre de masse

### 3.3 Couplage spectrométrie de masse et chromatographie en phase gazeuse GC /MS

#### 3.3.1 Principe

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse, pour la séparation des composés d'un échantillon, et de la spectrométrie de masse, pour la détection et l'identification des composés en fonction de leur rapport masse sur charge. Cette technique permet d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances présentes en très petites quantités, voire en traces.

Les applications de la GC-MS comprennent le dosage de médicaments ou de stupéfiants, l'analyse environnementale, la médecine légale et l'identification de toutes substances inconnues même sous forme de traces. La GC-MS est d'ailleurs présentée comme étant le « gold standard » des analyses en médecine légale.

### 3.3.2 Appareillage

Une unité GC-MS est composée de deux blocs principaux: un chromatographe en phase gazeuse et un spectromètre de masse. Le chromatographe en phase gazeuse utilise une colonne capillaire qui dépend des dimensions de la colonne (longueur, diamètre, épaisseur du film) ainsi que des propriétés de la phase. La différence des propriétés chimiques entre les différentes molécules dans un échantillon les sépare quand celui-ci se déplace le long de la colonne. Les molécules prennent différents temps (appelé temps de rétention) pour sortir du chromatographe en phase gazeuse, ce qui permet au spectromètre de masse en aval de capturer, ioniser et de détecter les molécules ionisées séparément. Le spectromètre de masse brise pour cela chaque molécule en fragments ionisés et détecte ces fragments en fonction de leur rapport masse sur charge. Ces deux composantes utilisées ensemble, permettent l'identification d'une substance à un degré beaucoup plus fin que chaque unité utilisée séparément.

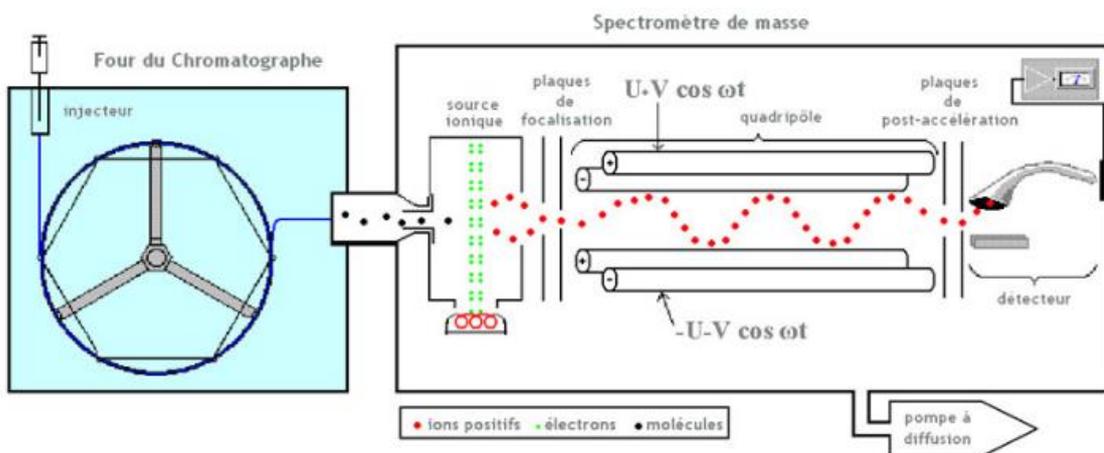


Figure 3.2 : Schéma de principe d'une GC - MS

**Partie 2**  
**Partie**  
**expérimentale**

# **Chapitre 4**

## **Matériels et méthodes**

#### 4.1 Matières végétales utilisées

##### 4.1.1 Cueillette

- *Rosmarinus officinalis* L.

Le romarin utilisé dans notre étude provient d'un lot cultivé à l'école nationale polytechnique d'Alger. Les parties utilisées sont les sommités aériennes constituées des feuilles et des tiges. La récolte a été effectuée au début du mois d'Avril 2017.



Figure 4.1 : *Rosmarinus officinalis* L.

- *Laurus nobilis* L.

Le laurier utilisé provient d'un lot cultivé dans la région Algéroise. Les parties utilisées sont les feuilles. La récolte a été effectuée à la mi-avril 2017.



Figure 4.2 : *Laurus nobilis* L.

Les deux plantes ont été identifiées au département de botanique de l'École Nationale Supérieure d'Agronomie d'Alger comme étant le *Rosmarinus officinalis* L. et *Laurus nobilis* L.

#### 4.1.2 Echantillonnage

L'utilisation des échantillons représentatifs d'un lot mère de matière végétale, est indispensable, car les feuilles et les tiges se répartissent d'une manière aléatoire lors de son conditionnement.

Un échantillonnage, a été effectué pour chacune des deux matières végétales utilisées pour l'extraction de l'huile essentielle, visant la préparation des échantillons représentatifs du lot mère, ayant les mêmes propriétés moyennes. Ce qui revient à considérer que chaque élément de la population a une chance égale d'appartenir à un même échantillon (Dagnelle, 1981).

L'échantillonnage a été réalisé selon la méthode d'usage suivante (Gueorguiev, 1995).

- la masse de matière végétale du lot mère, bien mélangée, est étalée sur toute la surface d'un carré ;
- cette masse est divisée en deux parties identiques, représentant chacune la somme des deux triangles opposés, formés par les deux diagonales du carré ;
- chaque partie obtenue, est ensuite mélangée et étalée sur la surface d'un carré, puis divisée en quatre triangles identiques. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention de la masse des échantillons désirée.

#### 4.1.3 Détermination du taux d'humidité

Une masse déterminée de matière végétale a été pesée dans un cristalliseur, ce dernier a été introduit dans une étuve préalablement chauffé à 105° pendant une durée d'une heure.

Le cristalliseur contenant la matière végétale séchée a été mis par la suite dans un dessiccateur afin que cette dernière, très chaude à cet instant, n'absorbe pas l'humidité de l'air. La teneur en eau de notre plante se calcule selon la relation suivante

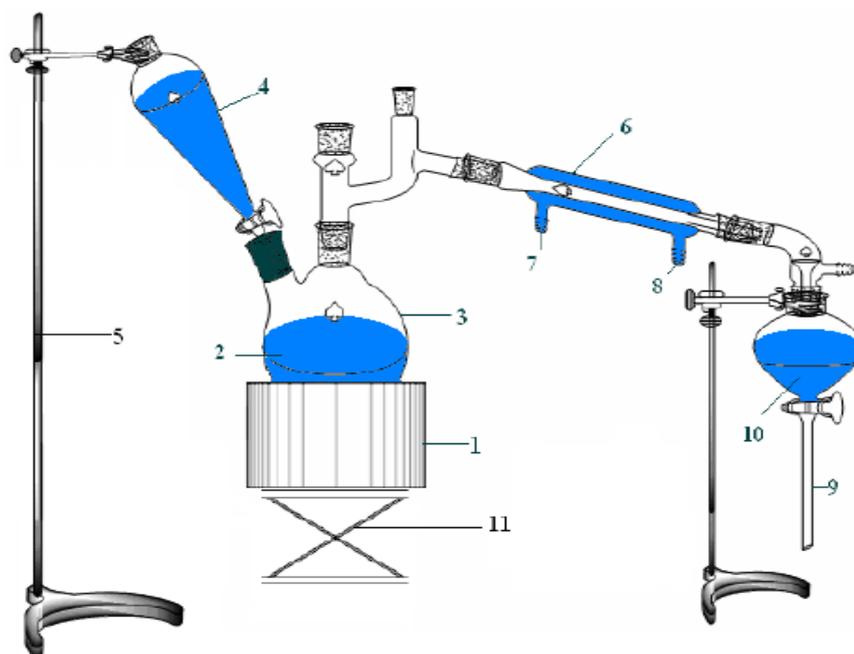
$$H = \frac{M_H - M_S}{M_H} * 100 \quad (4.1)$$

Où  $M_H$  désigne la masse de la matière végétale humide et  $M_s$  la masse de la matière végétale après séchage.

#### 4.2 Appareillage et protocole expérimental de l'hydrodistillation

Les essais d'hydrodistillation des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. et de *Laurus nobilis* L. ont été réalisés à l'échelle laboratoire dans le dispositif expérimental schématisé sur la figure 4.3.

La matière végétale préalablement pesée, est mise en contact avec l'eau, dans le ballon de 2 litres. L'ensemble est porté à ébullition à pression atmosphérique. Le chauffage est assuré par un chauffe-ballon. Les vapeurs d'eau et d'huile essentielle sont refroidies et condensées dans le réfrigérant et le condensât est recueilli dans une ampoule à décanter. Un système de cohobage a été utilisé, afin de maintenir le volume d'eau dans le ballon constant et de récupérer l'huile essentielle dissoute.



**Figure 4.3 : Schéma de l'installation d'hydrodistillation**

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

Le rapport volume d'eau/masse de matière végétale correspond au rapport minimal permettant d'immerger l'intégralité de la matière végétale dans le liquide. Il a été fixé à 15. La durée d'extraction a été fixée à 3h00.

A la fin de l'opération, l'huile est séparée des eaux de distillation par décantation et sa masse est déterminée par pesée. Le rendement en huile est calculé par rapport à la masse de matière sèche selon la relation suivante :

$$R_{HE} = \frac{100 \times m_{HE}}{M_S} \quad (4.2)$$

Où  $R_{HE}$  désigne le rendement en huile essentielle, exprimé en pourcentage,  $m_{HE}$  et  $M_S$  sont, respectivement, les masses, en grammes, de l'huile essentielle et de la matière végétale sèche.

### 4.3 Cinétique d'extraction des huiles essentielles

L'évolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps, a été déterminée expérimentalement, lors de l'extraction par hydrodistillation des échantillons représentatifs de *Rosmarinus officinalis* L. et de *Laurus nobilis* L.

Une masse de 154g de matière végétale est mise en contact avec l'eau, dans un ballon de 4 litres. L'ensemble est porté à ébullition à pression atmosphérique. Le chauffage est assuré par un chauffe-ballon. Les vapeurs d'eau et d'huile essentielle sont refroidies et condensées dans le réfrigérant et le condensât est recueilli dans l'ampoule à décanter. Un système de cohobage a été utilisé, afin de maintenir le volume d'eau dans le ballon constant et de récupérer l'huile essentielle dissoute.

Le rapport volume d'eau/masse de matière végétale a été fixé à 13, cette valeur a été déterminée après avoir effectué de nombreux essais préliminaires. Le débit moyen était de 6ml/min et la durée d'extraction de 2h45 pour les deux substances végétales.

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

Des échantillons des eaux de distillation et des eaux issues du ballon sont prélevés et conservés à l'abri de la lumière, afin de subir un dosage en polyphénols totaux.

## 4.4 Cinétique d'extraction par solvant des polyphénols

### 4.4.1 Choix du solvant

Le choix du solvant d'extraction peut se faire sur la base de ses capacités de pénétration dans la matière végétale, de son pouvoir de solubilisation et de ses propriétés de transfert de matière. Le choix du solvant repose sur sa capacité de pénétration cellulaire et de diffusion dans les organes sécréteurs d'une part et sa sélectivité d'extraction sans avoir une action destructrice sur les molécules aromatiques d'une autre part.

Dans cette étude un mélange (éthanol-eau, 80%) a été utilisé. Il est à noter que l'éthanol est un bon solvant pour l'extraction des composés phénoliques, en raison de leur polarité moyenne et de leur bonne solubilité, mais il peut entraîner aussi des substances lipophiles résiduelles, les résultats de (Mohsen et Ammar, 2009), ont prouvé que l'éthanol était le meilleur solvant pour extraire les composés phénoliques, suivi du méthanol et finalement par de l'eau.

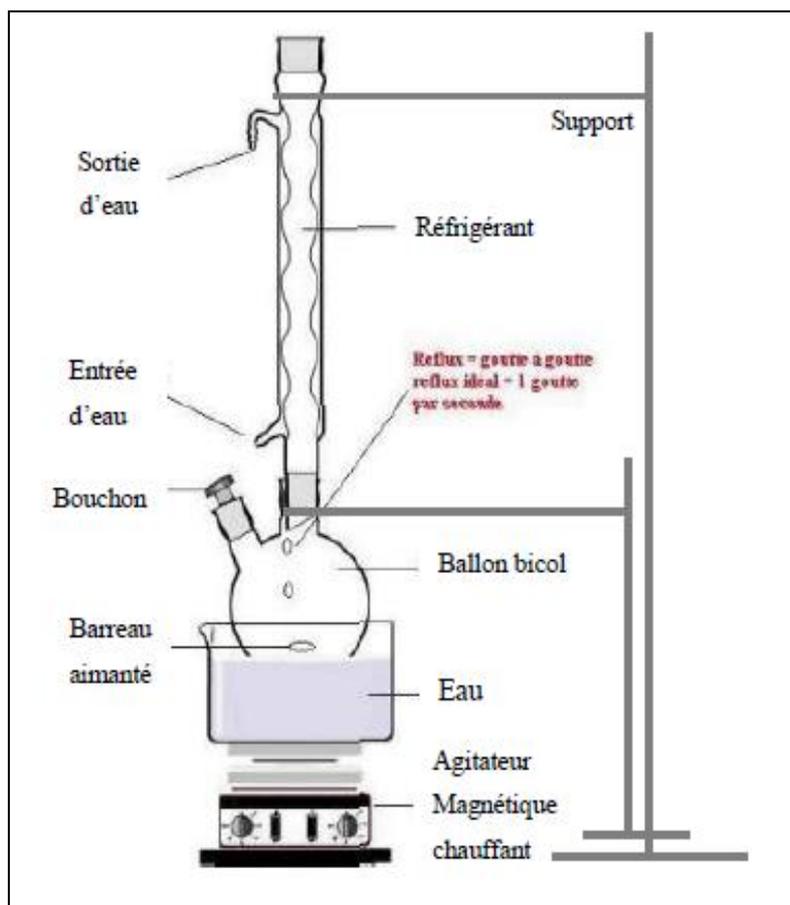
L'addition de l'eau au solvant d'extraction améliore le rendement en composés phénoliques glycosyles et des phénols avec un degré de polymérisation plus élevé. Néanmoins, l'augmentation de l'eau dans le solvant d'extraction entraîne des quantités importantes de composés non phénoliques comme les glucides et les protéines, susceptibles de polymériser avec les composés phénoliques ce qui conduit à la formation de complexes colloïdaux qui ne sont pas détectés par le test utilisé (Poncet-Legend et *al.*, 2003). Ce qui explique ce choix du solvant et les proportions du mélange.

### 4.4.2 Dispositif et protocole expérimentaux

Le dispositif est composé d'un ballon de 2 L surmonté d'un réfrigérant à reflux et un bain marie, l'agitation a été réglée au maximum grâce à un barreau aimanté à vitesse d'agitation constante. Le schéma du dispositif est représenté sur la figure (4.4).

L'avantage de cette méthode est la possibilité de travailler facilement avec des mélanges de solvants et de contrôler les paramètres opératoire d'extraction, pour éviter le risque de destruction des composés thermolabiles

L'échantillon de matière végétale, pesant 79g, est mis en contact avec le mélange solvant (éthanol-eau, 80%) dans le ballon. Le mélange est agité et maintenu à une température fixée à 50°C.



**Figure 4.4 : Schéma du dispositif expérimental de l'extraction solide-liquide**

L'évolution de la quantité en polyphénols, en fonction du temps, a été déterminée expérimentalement, lors de l'extraction par solvant, pour le *Rosmarinus officinalis* L. ainsi que le *Laurus nobilis* L.

Après des intervalles de temps bien déterminés, La phase liquide contenant les composés phénoliques est récupérée et conservée à l'abri de la lumière afin d'être analysée.

#### 4.5 Dosage des composés phénoliques dans les eaux de distillation et les eaux du ballon

Ce dosage a été effectué par la méthode de Folin Ciocalteu. Le réactif Folin Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleu foncée produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux qui est déterminée en se référant à une

courbe d'étalonnage établie à partir de concentrations connues. [Site web 10]

#### 4.5.1 Mode opératoire

Des échantillons ont été préparés dans le méthanol à partir d'une solution mère d'acide gallique de 1 mg/mL dans l'intervalle 1-30  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Un volume de 2.5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée) est ajouté à 0,5 mL de l'échantillon. Le mélange est agité et laissé pendant 5 minutes, puis 2 mL d'une solution saturée de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) de 75g.L<sup>-1</sup> sont versés dans la solution. Les mélanges réactionnels, correspondant à chaque point de gamme et échantillon, sont agités et incubés 10 min à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Les solutions sont versées dans des tubes à essai, puis ces derniers sont mis dans un bain-marie (50°C) pendant 25 minutes, ensuite les tubes sont refroidis dans la glace.

L'absorbance de la solution est mesurée à une longueur d'onde de 760 nm au moyen d'un spectrophotomètre UV/visible de marque Jenway (6700/05/15)

La concentration en polyphénols totaux, exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche, *mg* EAG/g Ms, est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage donnant l'évolution de l'absorbance, en fonction de la concentration d'acide gallique.

#### 4.6 Produits chimiques utilisés

- Réactif de Folin-Ciocalteu (2M, Sigma-Aldrich)
- Carbonate de sodium,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (99.5%, BDH Chemicals Ltd)
- Méthanol (99.7%, Sigma-Aldrich)
- Ethanol (96%, Riedel-de Haen)
- Acide gallique (97%, sigma-Aldrich)

# **Chapitre 5**

## **Résultats et discussion**

## 5.1 Taux d'humidité

La détermination du taux d'humidité a été effectuée pour les deux matières végétales avant chaque hydrodistillation, les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 5.1 : Taux d'humidité relatif à *Rosmarinus officinalis* L. et *Laurus nobilis* L.**

	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	<i>Laurus nobilis</i> L.
<b>Taux d'humidité (%)</b>	68,17	49,21

## 5.2 Extraction des huiles essentielles

### 5.2.1 Rendement en huile essentielle globale

Après une durée d'extraction de trois heures par hydrodistillation d'une masse de 154g pour les deux matières végétales, les rendements en huiles essentielles obtenus à partir des deux végétaux étudiés sont reportés dans le tableau 5.2

**Tableau 5.2 : Rendement en huiles essentielles globales pour le *Rosmarinus officinalis* L. et le *Laurus nobilis* L.**

	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	<i>Laurus nobilis</i> L.
<b>Rendement (%)</b>	0,38	0,13

Le rendement obtenu pour le *Rosmarinus officinalis* L. est acceptable car des études ont montré qu'il pouvait varier de 0.2% selon l'étude menée par Taleb-Toudert en 2015, jusqu'à une valeur de 1.2% selon les travaux effectués par Abdelli en 2010. Le rendement obtenu lors de cette étude est similaire à celui trouvé par Bousbia et ses collaborateurs en 2009.

En ce qui concerne le rendement en huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., le rendement obtenu est relativement faible et de même ordre de grandeur que ceux trouvés dans la littérature (Guedouari& al., 2015 ; Goudjil & al., 2015)

5.2.2 Etude des cinétiques d'extraction des huiles essentielles

Les variations du rendement en huile essentielle en fonction du temps de *Rosmarinus officinalis* L. et *Laurus nobilis* L. sont données dans le tableau suivant.

Tableau 5.3 : Résultats de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle de romarin et de laurier par hydrodistillation

Temps (min)	Rendement en huile essentielle (%)	
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	<i>Laurus nobilis</i> L.
5	0,0306	0,0045
10	0,0943	0,0097
15	0,1691	0,0157
20	0,2405	0,0213
30	0,2829	0,0306
45	0,2990	0,0373
60	0,3150	0,0447
75	0,3250	0,0499
90	0,3350	0,0536
105	0,3445	0,0574
120	0,3531	0,0607
135	0,3613	0,0637
150	0,3691	0,0639

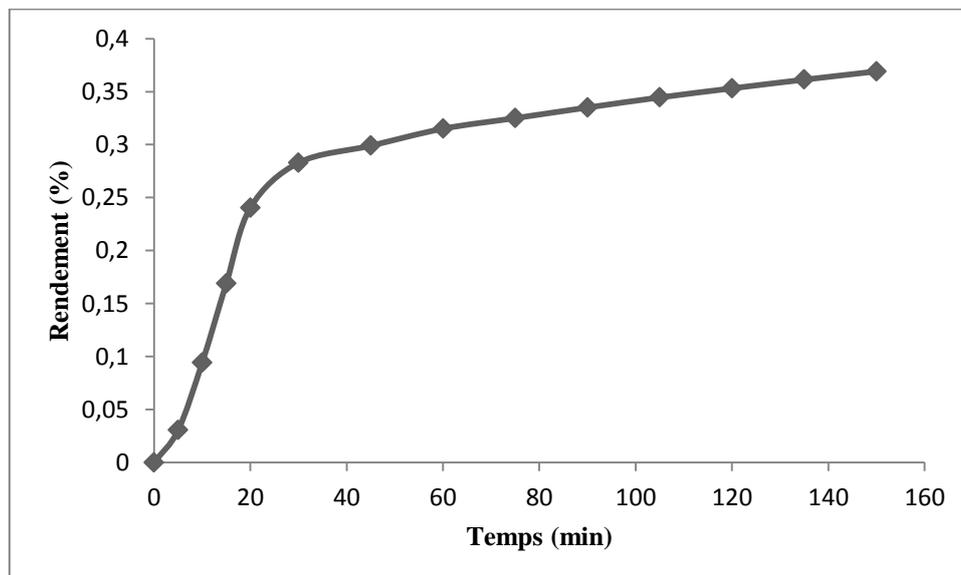
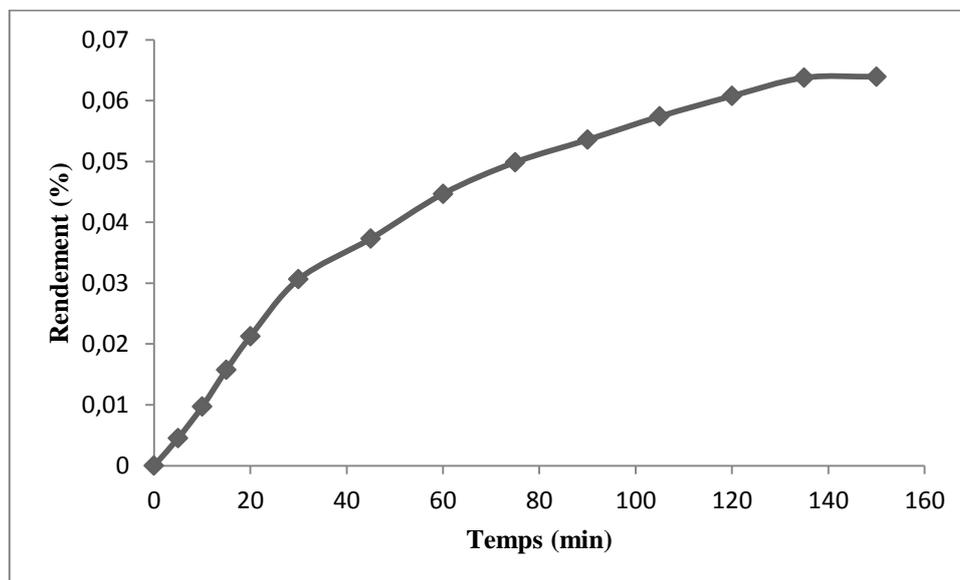


Figure 5.1 : Courbe cinétique d'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.

L'examen de la figure 5.1, qui représente l'évolution du rendement en huile essentielle du romarin au cours du temps, suggère que la cinétique d'extraction peut être subdivisée en 2 étapes.

- Une première étape, allant de 0 à 30 min, caractérisée par une évolution rapide du rendement en huile essentielle, qui serait due à l'extraction de l'huile localisée dans les sites exogènes, en l'occurrence les trichomes sécréteurs.
- Une deuxième étape, au-delà de 30 min, où la courbe cinétique de *Rosmarinus officinalis* L. présente une augmentation moins prononcée que celle observée lors de la première étape, ce qui correspondrait éventuellement à la désorption de l'huile auparavant adsorbée à la surface des organes contenant peu d'huile, tels les tiges (Georgiev, 1995)



**Figure 5.2 : Courbe cinétique d'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L.**

L'examen de la figure 5.2, qui représente l'évolution du rendement en huile essentielle du laurier au cours du temps, montre une ascension monotone du rendement en huile lors de l'hydrodistillation pendant une durée de deux heures. Dans ce cas, l'extraction serait gouvernée par l'hydrodiffusion de l'huile localisée dans les sites endogènes. Au-delà de ces deux heures, la courbe tend vers un pallier, ce qui correspondrait à l'épuisement de la plante de son huile essentielle.

### 5.3 Valorisation des eaux de distillation et des eaux du ballon de l'hydrodistillation

#### 5.3.1 Courbe d'étalonnage

Afin de pouvoir appliquer la méthode de Folin-Ciocalteu pour le dosage des polyphénols, nous avons établi au préalable la courbe d'étalonnage, donnant la variation de l'absorbance, en fonction des concentrations des solutions diluées de l'acide gallique, allant de 1 à 30  $\mu\text{g/mL}$ , la courbe d'étalonnage est une droite passant par l'origine de pente égale à 0.0093 et de coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9897$ .

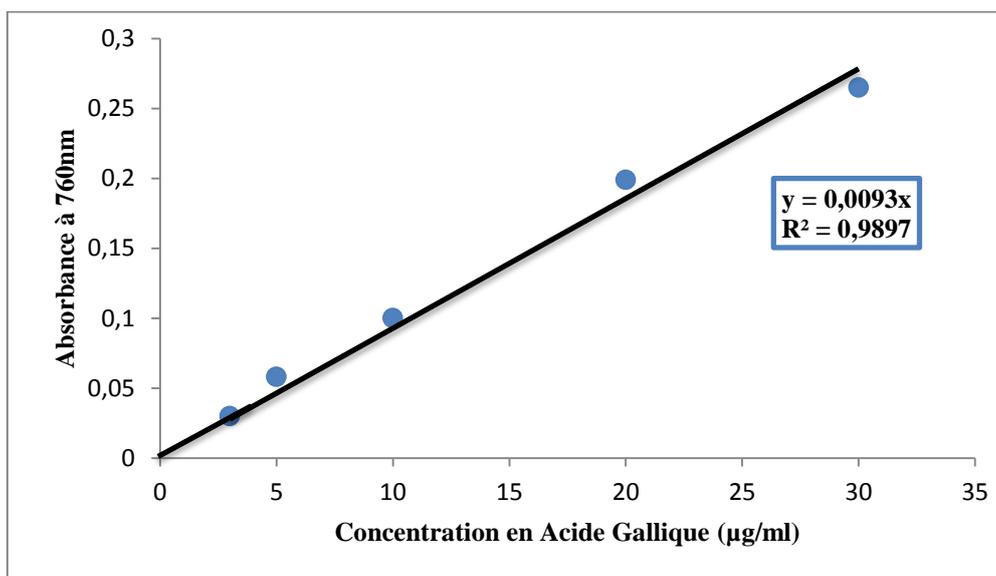


Figure 5.3 : Courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration de l'acide gallique

#### 5.3.2 Cinétique d'extraction des composés phénoliques dans les eaux de distillation et les eaux issues du ballon

Le dosage des polyphénols totaux des échantillons prélevés lors de l'hydrodistillation du *Rosmarinus officinalis L.* et du *Laurus nobilis L.* a permis de suivre la cinétique d'extraction des composés phénoliques dans l'hydrolat, ainsi que dans les eaux issues du ballon pour les deux matières végétales .

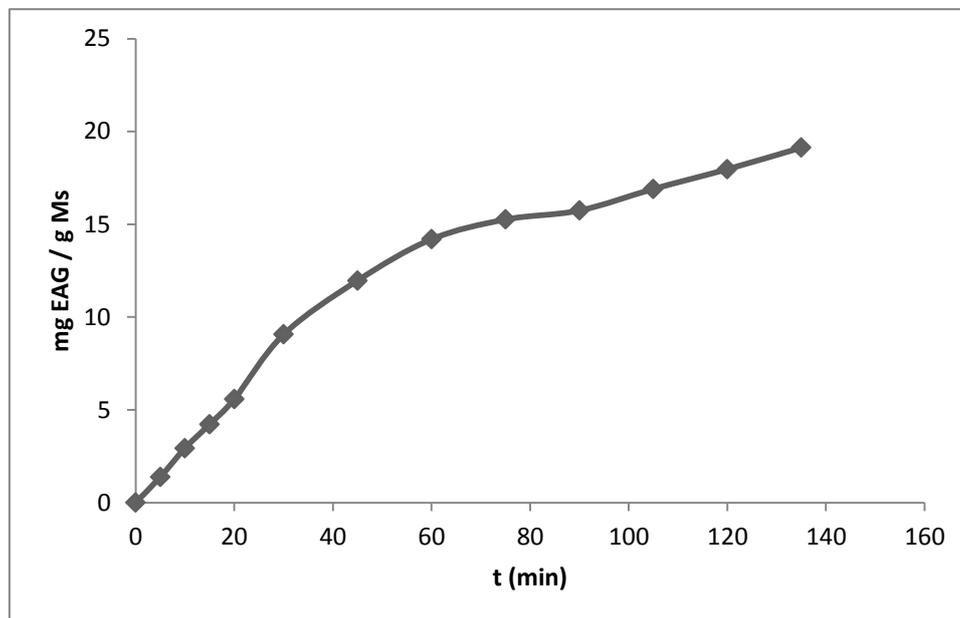
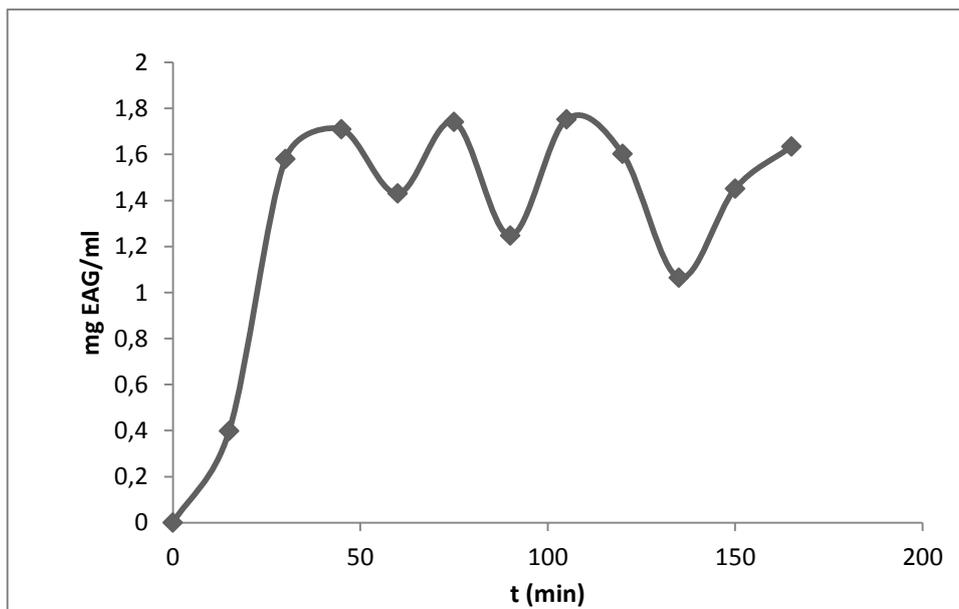
1) *Rosmarinus officinalis L.*

Figure 5.4 : Courbe cinétique d'extraction par hydrodistillation des composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis L.* dans l'hydrolat

L'examen de la figure 5.4 suggère que la cinétique d'extraction peut être subdivisée en 3 parties.

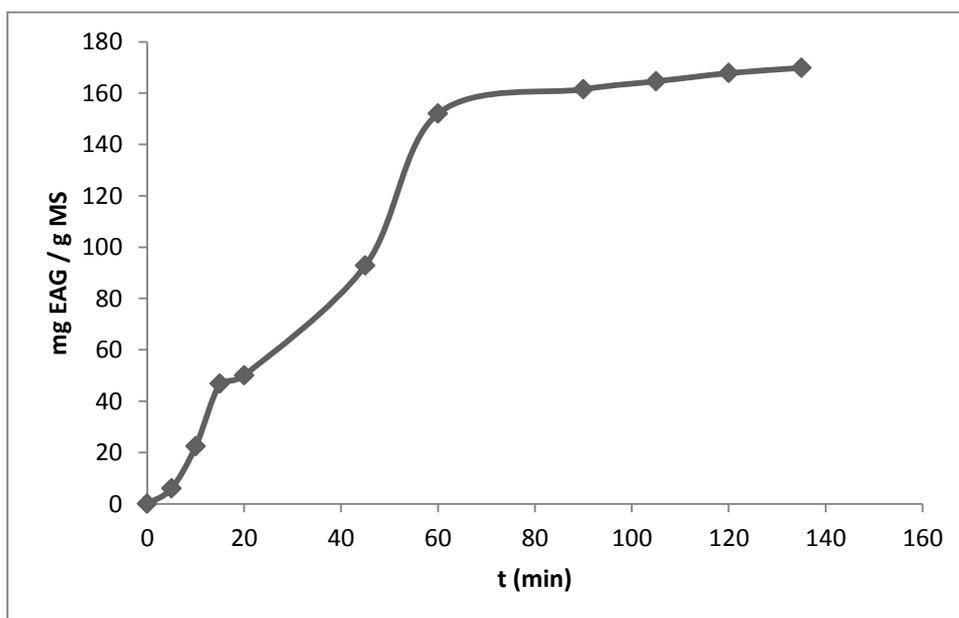
- La première partie, allant de 0 à 20 minutes, où la courbe est croissante, est caractérisée par une linéarité, qui serait due à l'extraction des composés phénoliques situés en surface.
- La deuxième partie quant à elle allant de 20 à 90 minutes présente l'allure d'une exponentielle négative. Dans cette étape, l'extraction des composés phénoliques serait gouvernée par le processus diffusionnel.
- La dernière étape, au-delà de 90 minutes, présente la même allure que celle de la première étape, qui serait également due à l'extraction des composés phénoliques localisés en surface.



**Figure 5.5 : Courbe cinétique d’extraction par hydrodistillation des composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis L.* dans les eaux issues du ballon**

La figure 5.5 présente une croissance significative de la teneur en polyphénols totaux au cours des 40 premières minutes. Par la suite, des fluctuations sont observées durant la suite du processus, qui traduirait deux cinétiques agissant en opposé, l’une favorisant l’extraction des composés phénoliques, et l’autre leur consommation par des phénomènes physiques ou chimiques. (Benyoussef, 1990)

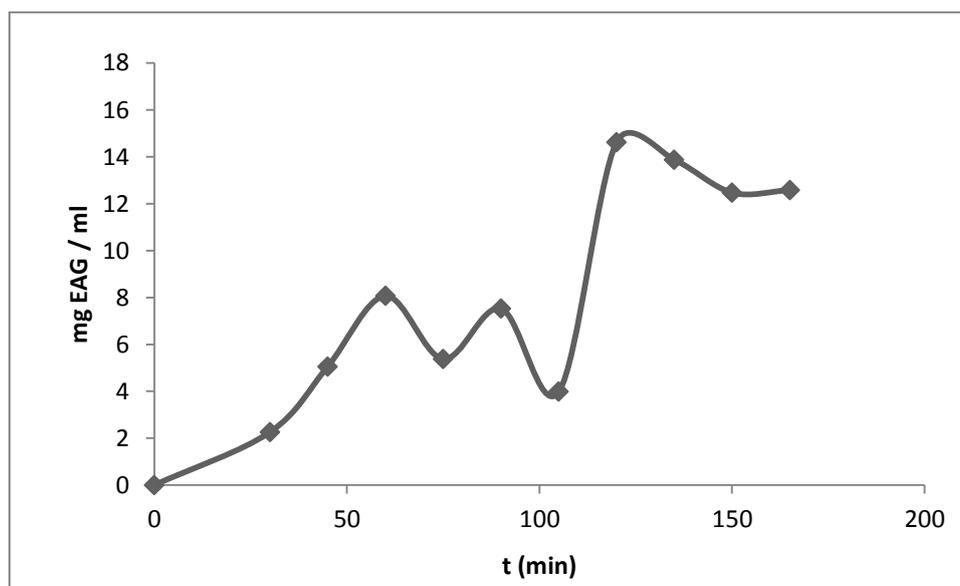
2) *Laurus nobilis L.*



**Figure 5.6 : Courbe cinétique d’extraction par hydrodistillation des composés phénoliques de *Laurus nobilis L.* dans l’hydrolat**

L'examen de la figure 5.6 suggère que la cinétique d'extraction peut être subdivisée en 3 parties.

- La première partie, allant de 0 à 45 minutes, où une augmentation rapide de la teneur en polyphénols totaux est observée, pourrait être expliquée par l'extraction des composés phénoliques situés en surface.
- La deuxième partie, allant de 45 à 90 minutes, présentant l'allure d'une exponentielle négative, traduirait l'extraction des composés phénoliques selon le processus diffusionnel.
- La troisième partie, au-delà de 90 minutes, présente une linéarité, qui serait due à l'extraction des composés phénoliques localisés en surface.

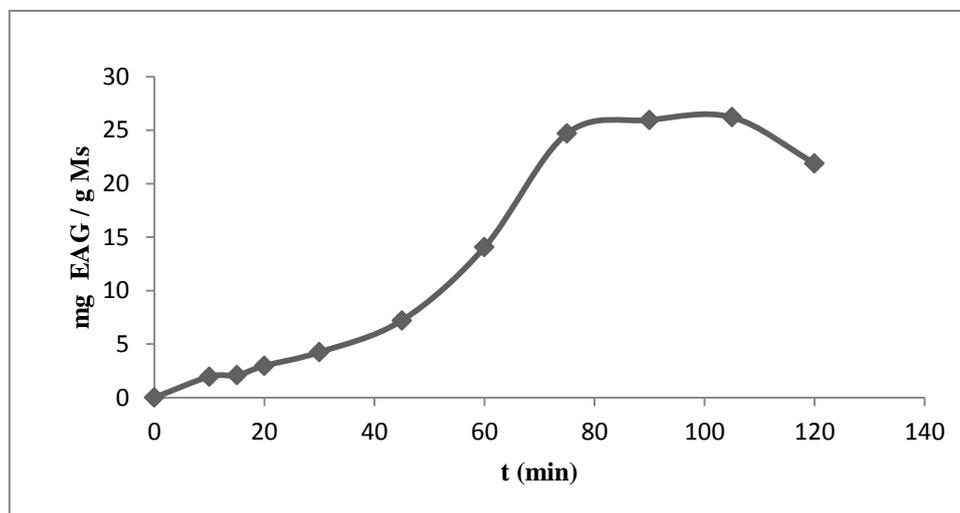


**Figure 5.7 : Courbe cinétique d'extraction par hydrodistillation des composés phénoliques de *Laurus nobilis L.* dans les eaux issues du ballon**

La courbe ci-dessus présente la même allure que celle de la cinétique d'extraction des composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis L.* dans les eaux issues du ballon, de telle sorte que plusieurs tangentes horizontales sont observées, ce qui pourrait être traduit de la même manière par l'existence de deux cinétiques d'extraction et de consommation des composés phénoliques, agissant en opposé. (Benyoussef, 1999)

#### 5.4 Cinétique d'extraction par solvant des composés phénoliques

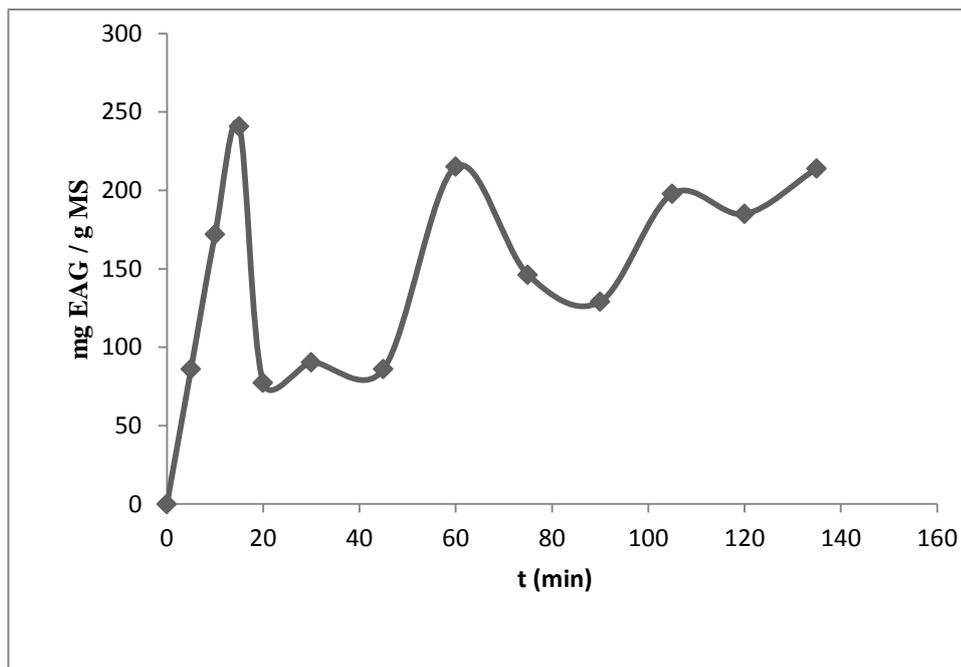
Le dosage des polyphénols totaux des échantillons prélevés lors de l'extraction par solvant du *Rosmarinus officinalis* L. et du *Laurus nobilis* L. a permis de suivre la cinétique d'extraction des composés phénoliques. Les résultats sont représentés dans les figures ci-dessous.



**Figure 5.8 : Courbe cinétique d'extraction par solvant des composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis* L.**

La courbe cinétique, représentée sur la figure 5.8, peut être divisée en trois parties.

- La première partie, allant de 0 à 30 minutes, où la teneur en polyphénols totaux croît lentement.
- La deuxième partie, allant de 30 à 75 minutes, présentant l'allure d'une exponentielle, et donc une augmentation rapide de la teneur en composés phénoliques jusqu'à atteindre un maximum.
- La troisième partie, au-delà de 75 minutes, la courbe présente une tangente horizontale qui serait due à l'inversion de la force motrice du processus, qui pourrait être expliquée par la consommation des composés phénoliques.



**Figure 5.9 :** Courbe cinétique d'extraction par solvant des composés phénoliques de *Laurus nobilis* L.

La cinétique d'extraction par solvant des composés phénoliques de *Laurus nobilis* L. présente d'importantes fluctuations. En effet, la présence de plusieurs tangentes horizontales suggère l'existence de deux cinétiques d'extraction et de consommation agissant en opposé. De tels phénomènes, traduisant l'inversion des forces motrices, sont très répandus lors de l'extraction par solvant, particulièrement lorsque cette dernière se fait en mode batch, tel qu'il a été rapporté par la littérature (Benyoussef, 1990)

## 5.5 Composition chimique des huiles essentielles

Nous avons procédé à l'analyse des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. et de *Laurus nobilis* L. obtenues par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM), afin de déterminer leur composition chimique.

### 5.5.1 Conditions opératoires d'analyse par CG-SM

Les huiles essentielles ont été analysées, à l'aide d'un appareil Hewlett-Packard Agilent 6890 Plus, dans les conditions opératoires suivantes.

- Injecteur  
Température : 250°C  
Mode d'injection : Split 50:1  
Volume injecté : 0.1µL
  
- Colonne  
Type : HP5MS  
Dimensions : long 30m, D int 0.25 mm, épaisseur film 0.25µm  
Phase stationnaire : 5% phenyl 95% dimethylpolysiloxane
  
- Température du four  
60°C pendant 8 minutes, 2°C/min jusqu'à 250°C  
Isotherme pendant 10 minutes  
Durée d'analyse : 113 minutes  
Gaz vecteur : Hélium pureté : N6  
Débit GV : 0.5ml/min
  
- Détecteur de masse  
Mode d'analyse : Scan TIC (de 30 à 550)  
Délais du solvant : 3,5ml  
Température de l'interface : 270°C  
Type d'ionisation : Impact électronique  
Intensité du filament : 70év  
Type de l'analyseur de masse : Quadripoles  
Température de la source : 230°C

### 5.5.2 Méthode d'identification des constituants

L'identification des constituants des huiles essentielles a été réalisée par comparaison de leurs indices de rétention, calculés suivant la formule de Van Den Dool et Kratz, et de leurs spectres de masse rapportés à ceux de la banque de données de l'appareil, et à ceux publiés dans la littérature [Site Web11]. L'indice de Van Den Dool est calculé par la formule :

$$I = 100 n + 100 \frac{T_i - T_n}{T_{n+1} - T_n} \quad (5.1)$$

Où :  $T_i$ ,  $T_n, T_{n+1}$  sont les températures de rétention des constituants  $i$ ,  $n$  et  $n+1$  respectivement.

Avec  $i$  : constituant à identifier ;  $n$  : alcane élué avant le constituant  $i$  ;  $n + 1$  : alcane élué après le constituant  $i$ .

Les températures de rétention ont été calculées de la manière suivante :

$$T_i = T_0 + r t_i \quad (5.2)$$

Avec :  $T_0$  : Température initiale du four

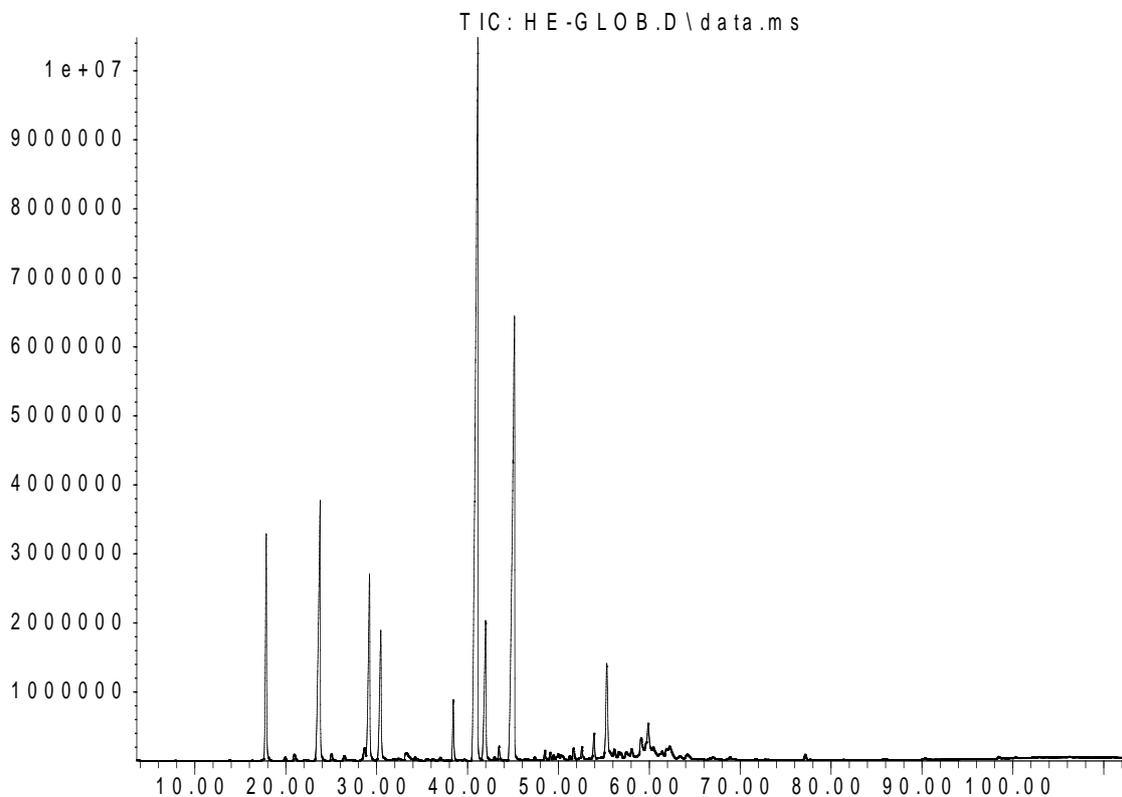
$R$  : Pas de l'augmentation de la température

$T_i$  : Temps de rétention du constituant  $i$

### 5.5.3 Résultats d'analyse

#### 5.5.3.1 Composition de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L.

Abundance



Time -->

#### 5.10 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse de l'échantillon de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L

L'analyse CG/MS a permis d'aboutir aux composés représentés sur le tableau ci-dessous.

**Tableau 5.4 : Identification des composés de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. par CG-MS**

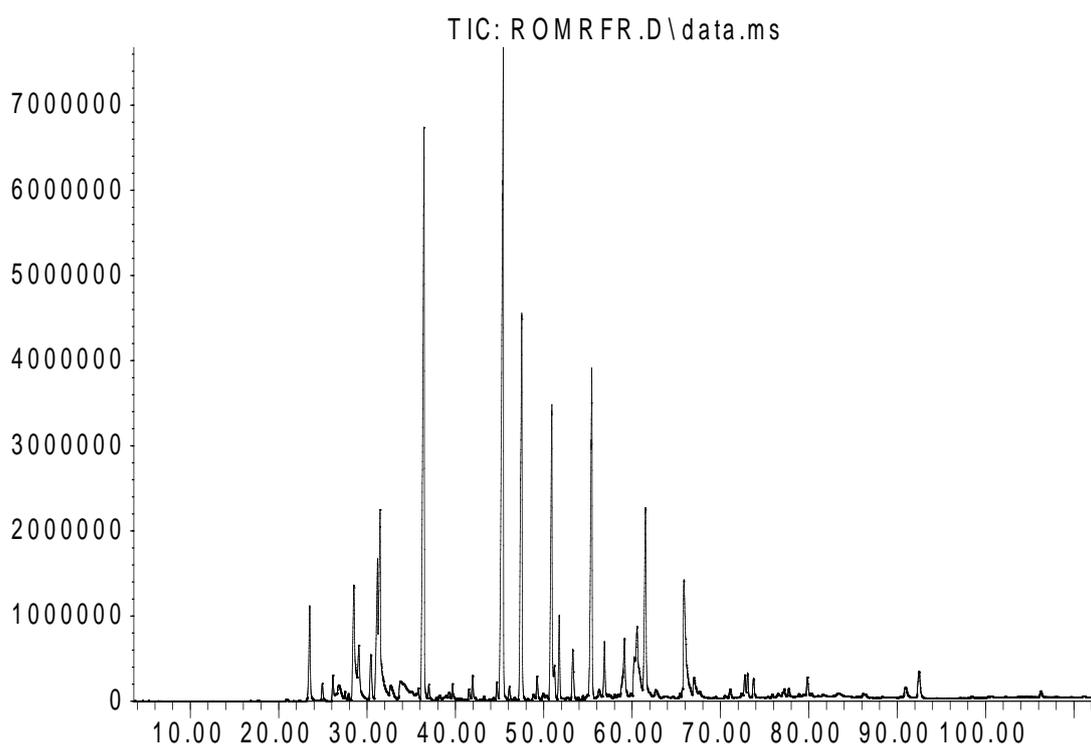
Composés	Teneur relative (%)
1,8-cinéol	5,18
gamma terpinéne	0,07
Linalol	9,6
trans-piperitol	0,14
Terpinen-4-ol	5,78
Alpha terpinéol	4,25
2-Undecanone	0,12
Alpha terpenyl acetate	32,09
Eugenol	4,75
Geranyl acetate	0,11
Beta elemene	0,38
Methyl isoeugenol	19,88
Humulène	0,09
Ethyl cinnamate	0,26
Germacrene D	0,2
Beta-Selilene	0,14
Alpha elemene	0,28
delta cadinene	0,35
Spathulenol	0,36
Elemicin	0,75
viridiflorol	0,38
Ledol	0,22
tau.-Cadinol	2,19
Alpha.cadinol	0,76
Aromadendrene oxide	0,99
Leden oxyde	0,19
<b>Total</b>	<b>89,51</b>

En comparant les résultats obtenus par l'analyse de l'échantillon d'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. provenant de la région d'Alger, avec les résultats trouvés dans la littérature, nous remarquons que la majorité des composés sont présents dans notre échantillon, cependant leur teneur est différente. En effet la teneur en 1.8-Cinéole, considéré comme composé majoritaire du Laurier (de 15% à 50% environ), est relativement faible dans notre échantillon (5.19%).

Aussi la teneur en Alpha terpenylacetate trouvé dans notre échantillon est plus importante. Ces différences de teneur pourraient être dues à la répartition géographique, ou la période de récolte car ces derniers ont une grande influence sur la composition de l'huile essentielle

### 5.5.3.2 Composition de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. par CG/MS

Abundance



Time-->

#### 5.11 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse de l'échantillon de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L

L'analyse de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. par CG-MS (tableau V.5) montre que les composés qui la constituent sont, pour la plupart, similaires à ceux rencontrés dans d'autres travaux, cependant une différence significative réside dans les teneurs de certains composés censés être majoritaires, tel que le camphre qui présente une teneur de 0.48% dans notre échantillon contre une teneur aux alentours de 10%. De plus, nous notons l'absence de certains composés, tel que l' $\alpha$ -pinène, constituant supposé être majoritaire, ceci peut être expliqué par l'évaporation de ce dernier suite au stockage de l'huile essentielle. La différence de composition chimique, quant à elle, pourrait être due à différents facteurs, tels que la période de récolte, ou la différence de répartition géographique.

**Tableau 5.5 : Identification des composés de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. par CG/MS**

Nom du composé	Teneur relative
Linalool	1,927
campholenal	0,321
Camphre	0,478
Verbenol	0,923
pinocarvone	0,183
Bornéol	3,427
Terpinène-4-ol	1,766
$\alpha$ -terpinéol	1,15
D-Verbenone	3,017
isobornéol	5,457
E-carvéol	0,709
camphène	0,806
Methyl Nerolate	0,418
Acetate de bornyl	12,444
2-undécanone	0,297
Thymol	0,138
Carvacrol	0,184
Isoterpinolène	0,298
copaène	0,138
méthyl-eugénol	0,32
$\beta$ -caryophyllène	15,814
$\beta$ - Bergamotène	0,228
$\alpha$ -Caryophyllene	8,423
$\alpha$ -Amorphene	0,153
$\alpha$ -curcumène	0,503
$\alpha$ -farnesene	0,168
$\beta$ --bisabolène	5,944
$\beta$ -Sesquiphellandrene	1,387
germacrène-B	1,08
Oxyde ce caryophyllène	7,082
Santolina Triene	0,371
1,2 epoxyde humulène	1,173
Methyl Jasmonate	2,036
Melonol	4,791
$\alpha$ - bisabolol	0,387
$\alpha$ -Farnesene	0,098
$\alpha$ -bergamotene	4,345
8,15-Pimaradiene	0,152
Sclarene	0,515
Farnesyl acetone	0,423
Androst-5-en-4-one	0,174
Z,Z-11,13-Hexadecadien-1-ol acetate	0,416
Ferruginol	0,829
<b>Total</b>	<b>90,89</b>

# **Conclusion**

Cette étude a porté sur l'extraction simultanée des huiles essentielles ainsi que des composés phénoliques par hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. et de *Laurus nobilis* L.

Ce travail, loin d'être achevé, a permis d'obtenir des composés phénoliques extraits lors du procédé d'hydrodistillation, procédé d'extraction d'huile essentielle, et d'aboutir ainsi à une double valorisation lors d'un seul et même procédé. En effet, une quantité assez importante en composés phénoliques a été extraite et dosée, et ce en ayant également obtenu une huile essentielle.

Une extraction par solvant a également été réalisée par le mélange (eau-éthanol), et nous a permis d'extraire une quantité importante de composés phénoliques, ce qui confirme les résultats trouvés par (Mohsen et Ammar, 2009), que l'éthanol est le meilleur solvant pour extraire les composés phénoliques, en raison de sa polarité et de sa bonne solubilité pour ces composés. Ainsi l'addition de l'eau au système d'extraction a amélioré la teneur en composés phénoliques.

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu, a révélé que le *Rosmarinus officinalis* L. ainsi que le *Laurus nobilis* L. seraient riches en polyphénols totaux et donc posséderaient une forte activité antioxydante, propriété qui mérite des études approfondies étant donné ses nombreux bienfaits.

Des essais de détermination de l'activité antioxydante des échantillons issus de l'hydrodistillation des deux matières végétales ont été réalisés, mais n'ont pas été concluants. Ceci serait peut-être dû à l'utilisation d'un mode opératoire inapproprié.

Une identification par CG-MS des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. et de *Laurus nobilis* L. a été effectuée au sein du centre de recherche scientifique et technique en analyse physico-chimique (CRAPC) et a permis de révéler la composition chimique de ces plantes. Contrairement à l'huile essentielle de romarin dont la composition chimique a été étudié dans de nombreux travaux, la composition de l'huile essentielle du laurier, particulièrement celui cultivé en région Algéroise, reste très peu connue. Cette étude a donc

permis d'établir une première caractérisation de l'huile essentielle du laurier d'Alger.

Cette double valorisation ouvre la voie à une nouvelle génération de procédés d'extraction qui s'inscrit dans une démarche de protection de l'environnement en minimisant l'utilisation de solvants étant donné leur toxicité, et de matière végétale permettant ainsi la préservation des ressources naturelles et ce tout en assurant une économie d'énergie. Ceci concorde avec la philosophie de développement durable que la communauté scientifique ne cesse de défendre.

# **Bibliographie**

- Abdelli, M. (2010). *Extraction des huiles essentielles de Salvia officinalis L., de Rosmarinus officinalis L. et de Coriandrum Sativum L. par hydrodistillation en présence de tensioactifs*. 89p. Mémoire de magister : Génie chimique : Alger, Ecole Nationale Polytechnique.
- Abdoul, D. (s.d.). *Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation*. Thèse de doctorat, Ouagadougou: Université d'Ouagadougou : 2002, p. 24-27.
- AFNOR, A. F. (1996). *Recueil des normes françaises, Huiles essentielles, NF T 75-006, 5<sup>e</sup> édition*. Paris.
- Alloun K. (2013). *Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de l'aneth, de la sauge et de la rue des montagnes*. Thèse de Magister. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach.
- Anizon, J.-Y., Lemaire, B., & Surbled, M. (2003). *Extraction assistée par micro-ondes*. Techniques de l'ingénieur. Ref F3060 V1. [En ligne] [consulté le 15 avril 2017] Disponible sur: <<http://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/>>.
- Anton, R., & A, L. (2005). *Plantes aromatiques. Epice, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec & Doc, Paris ( France ).
- Arab, S., & Beddar, B. (2011). *Huile essentielle de Rosmarinus officinalis L.: extraction, composition chimique, propriétés physiques et antimicrobiennes*. 74p. Projet de fin d'études : Génie chimique : Alger, Ecole Nationale Polytechnique.
- Atik bekkara F., B. L. (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. 7: 6-11.
- Baudoux D. (2008). *L'aromathérapie : se soigner par les huiles essentielles*. Bruxelles: Éditions Amyris SPRL.
- Beloued A. (2001). *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des publications universitaires, p124.
- Bensebia, O., Barth, D., Bensebia, B., & Dahmani, A. (2009). *Supercritical CO2 extraction of rosemary: effect of extraction parameters and modeling*. The Journal of supercritical fluids, Vol. 49, p.p. 161-166.
- Benyoussef, E.-h. (1990). *Etude du procédé d'extraction du bois de cèdre de l'Atlas Algérien par l'hexane. Contribution à l'étude analytique des extraits obtenus*. 96p. Thèse

de Magister : Genie chimique : Alger, Ecole Nationale Polytechnique.

- Berkane, A. (s.d.). *La détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de Rosmarinus Officinalis L.* Thèse de Master. Chimie pharmaceutique. Université Djilali Bounaama. 2014.
- Besombes, C. (s.d.). *Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques : applications généralisées.* Récupéré sur Génie des procédés. Université de La Rochelle, 2008. Français. <tel-00399135>: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00399135>
- Bousbia, N., Abert Vian, A., Ferhat, M., Petitcolas, E., Meklati, B., & Chemat, F. (2009). *Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves : Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity.* Food Chemistry 114 , 355-362.
- Boutekdjiret, C. (1999). *Etude des procédés d'extraction appliqués à la récupération des essences du romarin: transfert de matière et modélisation, p174.* Thèse de Doctorat : Génie chimique : Alger, Ecole Nationale Polytechnique. .
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.).* Tech & doc-Lavoisier, Paris 570 P.
- Chung-Hung, C., Rorita, Y., & Gek-Cheng, N. (2014). *Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction.* Chemical engineering research and design. 92: 1169–1186.
- Dagnelle, P. (1981). *Principe d'expérimentation.* d. Presses agronomiques de Gembloux, Belgique
- Dapbekvicius, A., Venskutonis, R., Van Beek, T., & Linssen, J. (1998). *Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania.* Journal of Science Food and Agriculture. 77(1): 140-146.
- Donadieu, Y. (2001-2008). *Les thérapeutiques naturelles, plantes médicinales, romarin.* Récupéré sur <http://www.01sante.com/xoops/modules/icontent/index.php?page=655>.
- Endrias, A. (2006). *Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à l'Hibiscus.* sabdarifJa L. et à l'Artemisia annua. Thèse N° 2340, Docteur de l'institut national polytechnique.
- Escuder, O. (2007). *Plantes médicinales mode d'emploi, Les reconnaître dans la nature, les utiliser, les cultiver au jardin.,* Ed Eugen Ulimer, p 210.

- Flamini, G., Tebano, M., Cioni, P., Ceccarini, L., Ricci, A., & Longo, I. (2007). *Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven.* J. Chromatogr. A 1143 36-40. .
- Ganou, L. (1993). Contribution a l'étude des mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielle. *Thèse de l'Institut National Polytechnique.* Toulouse , France .
- Geogiev, E. (1995). *Technologie des produits aromatiques naturels et synthétiques.* Ed. Zemizdat.
- Gilly D. (2005). *Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse : botanique, culture, chimie, production et marché.* Ed l'Harmattan, Paris, 405 p.
- Gomez-Caravaca, A., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., & Fernandez-Gutierrez, A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 41: 1220-1234.
- Gonzalez-Trujano, M., Pena, E.I., Martinez, A., Moreno, J., Guevara-Fefer, P., et al. (2007). *Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents.* J Ethnopharmacol. 111: 476-482. .
- Goudjil, M. B., Bencheikh, S.-E., Zighmi, S., & Ladjel, S. (s.d.). *Détermination expérimentale de la cinétique de séchage à l'ombre des huiles essentielles de *Laurus Nobilis Lauraceae*.* Revues. Univ-Ouargla. [en ligne] 2015. Vol 7 Numéro 1AST. [consulté le 07 Mai 2017]  
Disponible sur <<https://revues.univ-ouargla.dz/index.php/volume-7-numero-1-ast-2015/>> .
- Grégory, C. (1988). *Encyclopédia Universalis, Aolto Anabaptisme, Corpus 1.* France S.A. .
- Guedouari, R., & Nabiev, M. (2015). *Etude de l'influence de séchage sur l'extraction des huiles essentielles des feuilles du *Laurus nobilis* .* 5ème Séminaire Maghrébin sur les Sciences et les Technologies du Séchage. [en ligne] [consulté le 7 Mai 2017]  
Disponible sur : <<https://manifest.univ-ouargla.dz/documents/Archive/>> .
- Isbilir, S., Ozcan, H., & H, Y. (2008). *Some Biochemical properties of lipase from Bay Laurel ( *Laurus nobilis* L.) seeds-*. J Am oil Chem Soc. Vol.85.pp.227-233. .
- Kim, N., & Lee, D. (2002). *Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatographymass spectrometry.* Journal of Chromatography A., 982: 31-47.
- Leguet, G. (1993). *Contribution à l'étude de mécanismes fondamentaux de*

*l'hydrodistillation des huiles essentielles.*, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France, p. 16.

- Marin, M., Koko, V., & Duletic-Lausevic, S. (2006). *Glandular trichomes on the leaves of Rosmarinus officinalis : Morphology, stereology and histochemistry*. South African Journal of Botany, 72: 378–382.
- Martini, M. (2011). *Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie*. Edition Lavoisier, p 358.
- Marzouki, H., ELaissi, A., Khaldi, A., Bouzid, S., Falconieri, D., Marongiu, B., et al. (2009). *Seasonal and geographical variation of laurus nobilis L. Essential oil from Tunisia*. The open Natural products journal. Vol.2.pp.86-91, Tunisia.
- Mohammadreza Verdian-rizi, A. H. (2008). *Essential Oil Composition of Laurus nobilis L. of Different Growth Stages*. [en ligne ] [consulté le 20/05/2017 ] Disponible sur : <http://www.znaturforsch.com/s63c/s63c0785.pdf>.
- Mohsen, S., & Ammar, A. (2009). *Total phenolic contents and antioxydant activity of corn tassel extracts*. Food chem. 112:559-558.
- Paris, R. R., & Moyse, H. (1976). *Matière médicale*. Paris: Ed Masson.
- Paume, M.-C. (2008). *Sauvages et médicinales : Plantes remèdes pour nos petits maux*. Ed Edisud, p 212.
- *Pharmacopée française VIIIe édition*. (1965). Paris.
- Poncet-Legrand, C., Cartalade, D., Putaux, J., Cheyrier, V., & Vernhet, A. (2003). *Falavan-3-ol aggregation in model ethanolic solutions : Incidence of polyphenol structure, concentration, ethanol content, and ionic strength*. Langmuir. 19(25). 10563-10572.
- Rodzoko, V. (1999-2000). *Abécédaire de Phytothérapie, Romarin*. Récupéré sur <http://larodz.chez-alice.fr/plantes/romarin.html>.
- Rombi, M., & Robert, D. (2007). *120 Plantes Médicinales : Composition, Mode d'action et intérêt thérapeutique ... de l'ail à la vigne rouge*. Ed Alpen. p 398.
- Scheler, A. (1862). *Dictionnaire d'étymologie française d'après les résultats de la science moderne*.
- Sell, S. C. (2006). *The chemistry of fragrance. From perfumer to consumer*. Ed. Royal society of chemistry. Cambridge, 329 p.

- Taleb-Toudert, K. (2015). *Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dis plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie. (Nord Algérien). Evaluation de leur effets sur la bruche de niébé Callosobruchus maculatus (Coleoptera : Bruchidae). [en ligne].* Thèse de Doctorat : Biologie animale et végétale : Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou. 160p. [consulté le 28 avril 2017]  
Disponible à l'adresse : [http://www.ummo.dz/IMG/pdf/Taleb-Toudert\\_Karima.pdf](http://www.ummo.dz/IMG/pdf/Taleb-Toudert_Karima.pdf) .
- Telphon, T. (2005). *ABC des huiles essentielles.* Ed Grancher.
- Van Del Dool, H., & Kratz, P. (1963). *J. of Chromatography.*, vol.11, p. 453. .

# Webographie

- **Site Web 1**  
<https://www.consoglobe.com/les-bienfaits-du-romarin-cg/3>.
- **Site Web 2**  
<https://booksofdante.wordpress.com/2014/01/16/le-laurier-noble-laurus-nobilis/>.
- **Site Web 3**  
<https://www.doc-developpement-durable.org/file/Culture-epices/laurier/Laurus-nobilis.pdf>
- **Site Web 4**  
<https://www.soignez-vous.com/traitements/les-proprietes-naturelles-du-laurier-laurus-nobilis>.
- **Site Web 5**  
<http://www.laurusnobilis.nl/fr/le-laurier-lorigine-de-la-beaute/>
- **Site Web 6**  
<http://tout-savoir-sur-le-parfum.e-monsite.com/pages/methode-naturelle/methodes-naturelles-d-extraction.html>
- **Site Web 7**  
<http://aps-parfums.blogs.laclasser.com/2013/12/03/hydrodistillation/>
- **Site Web 8**  
<http://popups.ulg.ac.be/1780-4507/index.php?id=6518>
- **Site Web 9**  
<http://eduscol.education.fr/sti/sites/eduscol.education.fr.sti/files/ressources/pedagogiques/3727/3727-ressources-extraction.pfe>
- **Site Web 10**  
[https://www6.inra.fr/cahier\\_des\\_techniques/content/1/79\\_chap2\\_boizot.pdf](https://www6.inra.fr/cahier_des_techniques/content/1/79_chap2_boizot.pdf)
- **Site Web 11**  
[www.pherobase.com](http://www.pherobase.com).