

7/91

وزارة التعليم العالي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ع 02/7191.

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
BIBLIOTHEQUE - المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT : GENIE CHIMIQUE

## PROJET DE FIN D'ETUDES

SUJET

CONTRIBUTION A L'ETUDE  
DE L'HUILE ESSENTIELLE  
D'ARTÉMISIA HERBA-ALBA ASSO  
D'ALGERIE

Proposé par :

Pr. R. BELABBES

Etudié par :

M<sup>lle</sup> A. BOUKHENOUDA

Dirigé par :

M<sup>lle</sup> C. BOUTEKEDJIRET

PROMOTION : Juin 1991

وزارة التعليم العالي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

## ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT : GENIE CHIMIQUE

### PROJET DE FIN D'ETUDES

#### SUJET

CONTRIBUTION A L'ETUDE  
DE L'HUILE ESSENTIELLE  
D'ARTEMISIA HERBA ALBA ASSO D'ALGERIE

Proposé par :  
**Pr. R. BELABBES**

Etudié par :  
Melle A. BOUKHENOUGA

Dirigé par :  
Melle C. BOUTEKDJIRET

PROMOTION : JUIN 1991

LES PAYS QUI NEGLIGENT DE RECOURIR AUX LUMIERES  
SCIENTIFIQUES VERRONT LEUR PROSPERITE PERICLITER  
INFAILLIBLEMENT, AU FUR ET A MESURE QUE SE  
DEVELOPPERONT ET SE FORTIFIERONT LES NATIONS  
VOISINES, SOUS L'INFLUENCE VIVIFIANTE DES ARTS  
ET DES SCIENCES

H U M B O L D T

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR  
ÉCOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE  
DÉPARTEMENT : GENIE CHIMIQUE  
PROMOTEUR : Melle C. BOUTECKDJIRET  
ÉLÈVE INGÉNIEUR : Melle A. BOUKHENOÛFA

وزارة التعليم العالي  
المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
المكتبة : الهندسة الكيميائية  
الموجه : الأئمة شهرزاد بوتقجيرات  
لتلميذ المهندس : الأئمة بوخنوفه عقيلة

---

**SUJET** : Contribution à l'étude de l'huile essentielle  
d'Artemisia herba-alba-Asso d'Algérie.

**RESUME** : Ce travail porte sur l'étude de l'influence de  
la température du distillat sur le rendement en  
huile essentielle d'Artemisia herba-alba-Asso.

De plus, nous avons entrepris l'analyse par CPG  
et en partie par CG / SM, des fractions issues de  
la séparation sur gel de silice des échantillons  
d'huile essentielle provenant de trois régions  
d'Algérie, en l'occurrence: Bordj-Bou-Argeridj,  
Biskra et Ghardaïa; afin de confirmer et de  
compléter l'identification faite lors d'une étude  
antérieure.

---

**SUBJECT** : A contribution to the study of the Algeria's  
Artemisia herba-alba-Asso essential oil.

**ABSTRACT** : This work consists in the study of the influence  
of the distillate temperature on the yield of the  
Artemisia herba-alba-Asso essential oil.

Moreover, we have undertaken the gas chromatography  
and the GC/MS analysis of fractions obtained by  
separation by silicagel of the samples of essential oil  
originate from three area of Algeria, about it :  
Bordj-Bou-Argeridj, Biskra et Ghardaïa; so as to  
confirm and to complete the identification done on  
a previous study.

الموضوع: مساهمة لدراسة الزيت الأساسي لنبات الفيج : *Artemisia*  
*Herba - alba Asso*

الملخص: يستهدف هذا البحث دراسة تأثير درجة حرارة القطارة على

مردود الزيت الأساسي لنبات الفيج .  
كما باشرنا بواسطة جهاز كروماتوغرافيا الغاز (CAG)  
وجزءا منها بواسطة جهاز قياس الكتلة (CG/SM)  
في تحليل الأجزاء المنحدرة من تجزئة عينات من  
الزيت الأساسي على عمود هلام العوان و العادرة من  
ثلاث مناطق بالجزائر ، ألا وهي : برج بو عريج  
بسكرة و غرداية .  
وهذا للتثبيت وإتمام عملية الكشف عن بعض المكونات  
التي بودر في تنقيدها في دراسة سالفة .

D E D I C A C E S

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents,

A mes frères et soeur,

A ma belle soeur et mes neveux,

A tous ceux qui me sont chers (es)

Ce travail a été réalisé au département de Génie chimique de l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, sous la direction de Mademoiselle C.BOUTECKDJIRET Maître-Assistante au département de sciences fondamentales.

Je rends un hommage particulier à Melle C.BOUTECKDJIRET pour l'attention chaleureuse et l'aide précieuse avec lesquelles elle a respecté et poli ce travail.

Qu'il me soit permis de lui exprimer en cette circonstance ma profonde affection pour son soutien moral et sa compagnie.

LES MEMBRES DE JURY

PRESIDENT :

Monsieur R.BELABES

Professeur à l'E.N.P.

EXAMINATEURS :

Madame S.CHARCHARI

Maitre assistante  
à l'E.N.P.

Madame F.MEZIANI

Maitre assistante  
à l'E.N.P.

Madame S.BOUCHTAQUI

Maitre assistante  
à l'E.N.P.

PROMOTEUR :

Mademoiselle C.BOUTECKDJIRET

Maitre assistante  
à l'E.N.P.

## R E M E R C I E M E N T S

Qu'il me soit permis de remercier très sincèrement Monsieur le Professeur R.BELABBES d'avoir bien voulu accepter de présider la commission d'examen.

Mes remerciements vont également à Mme S.CHARCHARI, maître assistante à l'E.N.P, pour l'honneur qu'elle me fait d'avoir bien voulu accepter de participer au jury.

Il me plait également de remercier Mme F.MEZIANI et Mme S.BOUCHTAOUI maîtres assistantes à l'E.N.P pour avoir accepté de faire partie du jury.

Que tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail, trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

LISTE DES ABBREVIATIONS

A - herba-alba-Asso	: Artémisia herba-alba-Asso.
HE	: Huile essentielle.
HE"	: Huile essentielle secondaire récupérée des eaux de distillation.
S	: Solubilité de l'huile essentielle dans l'eau.
E	: Evaporation de l'huile essentielle.
mHE évap.	: Masse de l'huile essentielle évaporée.
CPG	: Chromatographie en phase gazeuse.
CPL	: Chromatographie en phase liquide.
CG / SM	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
HC	: Hydrocarbure.
HE.BBA	: Huile essentielle extraite de la plante de la région de Boudj-Bou-Arréridj.
HE.BISKRA	: Huile essentielle extraite de la plante de la région de Biskra.
HE.GHARDAIA	: Huile essentielle extraite de la plante de la région de Ghardaïa.

LISTE DES FIGURES

- FIGURE 1 : GLANDES COMPOSITES
- FIGURE 2 : REPRESENTATION SOUS FORME DE COURBE TOTALE
- FIGURE 3 : REPRESENTATION SOUS FORME D'HISTOGRAMME
- FIGURE 4 : VARIATION DE LA SOLUBILITE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO DANS L'EAU EN FONCTION DE LA TEMPERATURE
- FIGURE 5 : VARIATION DE L'EVAPORATION DE L'HUILE ESSENTIELLE D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO EN FONCTION DE LA TEMPERATURE
- FIGURE 6 : SCHEMA DE L'APPAREILLAGE DE LA CHROMATOGRAPHIE SUR GEL DE SILICE
- FIGURE 7 : CHROMATOGRAMME DE L'H.E. BBA SUR COLONNE CAPILLAIRE OV.101
- FIGURE 8 : CHROMATOGRAMME DE L'H.E. BISKRA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M
- FIGURE 9 : CHROMATOGRAMME DE L'H.E GHARDAIA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M
- FIGURE 10 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION A DE L'H.E. BBA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M
- FIGURE 11 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION B DE L'H.E. BBA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M
- FIGURE 12 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION C DE L'H.E. BBA SUR COLONNE CAPILLAIRE OV.101
- FIGURE 13 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION D DE L'H.E. BBA SUR COLONNE CAPILLAIRE OV.101
- FIGURE 14 : CHROMATOGRAMME DE L'H.E D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO EXTRAITE DE LA PLANTE DE B.B.A. OBTENU PAR CG/SM
- FIGURE 15a: SPECTRES DE MASSE DES CONSTITUANTS IDENTIFIES DANS L'H.E D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO EXTRAITE DE LA PLANTE DE BORDJ-BOU-ARRERIDJ

- FIGURE 15b : SPECTRES DE MASSE DES CONSTITUANTS IDENTIFIES DANS L'H.E D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO EXTRAITE DE LA PLANTE DE BORDJ.BOU.ARRERIDJ
- FIGURE 16 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION A DE L'H.E BISKRA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M
- FIGURE 17 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION B DE L'H.E BISKRA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M
- FIGURE 18 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION C DE L'H.E BISKRA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M
- FIGURE 19 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION D DE L'H.E BISKRA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M
- FIGURE 20 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION E DE L'H.E BISKRA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M
- FIGURE 21 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION A DE L'H.E GHARDAIA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M
- FIGURE 22 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION B DE L'H.E GHARDAIA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M
- FIGURE 23 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION C DE L'H.E GHARDAIA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M
- FIGURE 24 : Hydrogenation d'une double liaison

LISTE DES TABLEAUX

**TABEAU 1 : VARIATION DE LA SOLUBILITE DANS L'EAU DE L'HUILE  
ESSENTIELLE D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO EN FONCTION  
DE LA TEMPERATURE.**

**TABEAU 2 : VARIATION DE L'EVAPORATION DE L'HUILE ESSENTIELLE  
D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO EN FONCTION DE LA  
TEMPERATURE.**

S O M M A I R E

	PAGE
INTRODUCTION.....	1
RAPPELS BOTANIQUES.....	2
TRAVAUX ANTERIEURS.....	5
 ETUDE DE L'HUILE ESSENTIELLE	
I. RAPPELS THEORIQUES.....	9
I.1. GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES.....	9
I.2. PROCEDES D'EXTRACTION.....	10
I.2.1. L'EXPRESSION A FROID.....	10
I.2.2. L'EXTRACTION PAR LES CORPS GRAS.....	11
I.2.2.1. L'ENFLEURAGE.....	11
I.2.2.2. LA MACERATION OU DIGESTION.....	11
I.2.3. L'EXTRACTION PAR SOLVANTS VOLATILS.....	12
I.2.4. L'EXTRACTION PAR LE CO <sub>2</sub> LIQUIDE OU SUPERCRITIQUE.....	12
I.2.5. L'EXTRACTION AU FORANE 113.....	13
I.2.6. L'EXTRACTION PAR COUPLAGE EXTRACTION PAR SOLVANT - ENTRAINEMENT A LA VAPEUR.....	14
I.2.7. L'EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU.....	14

I.3.	DEFINITION DES PARAMETRES INTERVENANT DANS LE PROCEDE D'EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU.....	17
I.3.1.	LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE.....	17
I.3.2.	LA VITESSE DE DISTILLATION.....	17
I.3.3.	LA DUREE D'EXTRACTION.....	18
I.3.4.	LA QUANTITE DE VAPEUR.....	18
I.3.5.	LES COURBES DE DISTILLATION.....	20
I.3.6.	LA TEMPERATURE DU DISTILLAT.....	23
I.3.6.1.	LA SOLUBILITE DES HUILES ESSENTIELLES DANS L'EAU EN FONCTION DE LA TEMPERATURE.....	23
I.3.6.2.	L'EVAPORATION DES HUILES ESSENTIELLES EN FONCTION DE LA TEMPERATURE.....	25
II.	PARTIE EXPERIMENTALE.....	26
II.1.	ETUDE DE L'INFLUENCE DE LA TEMPERATURE DU DISTILLAT SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE.....	26
II.1.1.	DETERMINAION DE LA VARIATION DE LA SOLUBILITE DE L'HUILE DANS L'EAU EN FONCTION DE LA TEMPERATURE.....	26
II.1.2.	DETERMINAION DE LA VARIATION DE L'EVAPORATION DE L'HUILE EN FONCTION DE LA TEMPERATURE.....	30
II.3.1.	C O M M E N T A I R E S.....	33

ETUDE ANALYTIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE  
D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO

I.	RAPPELS THEORIQUES.....	34
I.1.	LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE.....	34
I.2.	LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE.....	36
I.3.	LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE ( CG / SM ).....	39
II.	ANALYSE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO PROVENANT DE TROIS REGIONS D'ALGERIE.....	41
II.1.	PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....	41
II.1.1.	SEPARATION DE L'HE D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO SUR COLONNE DE GEL DE SILICE.....	41
II.1.2.	ANALYSE DES FRACTIONS DE L'HE D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO PAR CPG.....	44
II.1.3.	ANALYSE DES FRACTIONS DE L'HE D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO PAR CG / SM.....	45
II.2.	TENTATIVE D'IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES.....	46
II.3.	TENTATIVE D'IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS DES FRACTIONS OBTENUES PAR SEPARATION SUR GEL DE SILICE DES ECHANTILLONS D'HUILE ESSENTIELLE.....	51

**ANALYSE DES CONSTITUANTS D'HE D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO AYANT  
SUBIT UNE TRANSFORMATION ANTERIEURE A L'INTRODUCTION DE  
L'ECHANTILLON DANS LE CHROMATOGRAPHE :**

<b>I.</b>	<b>RAPPELS THEORIQUES.....</b>	<b>73</b>
<b>I.1.</b>	<b>HYDROGENATION DES HUILES ESSENTIELLES.....</b>	<b>73</b>
<b>I.2.</b>	<b>ACETYLATION DES HUILES ESSENTIELLES.....</b>	<b>77</b>

<b>CONCLUSION.....</b>	<b>79</b>
------------------------	-----------

<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>82</b>
---------------------------	-----------

<b>ANNEXES.....</b>	
---------------------	--

I N T R O D U C T I O N

Le règne végétal s'est révélé être un trésor inépuisable de médicaments au cours des millénaires de son existence.

De la plante sauvage dotée de vertus curatives à son application dans la médecine moderne, l'évolution peut sembler longue et complexe, le poison peut devenir un remède précieux, le médicament, pour sa part, peut s'avérer fatalement toxique " La dose seule fait qu'une chose n'est pas un poison " disait déjà PARACELSE.

En effet, l'utilisation anarchique de plantes peut-être fatale dans certains cas. Il s'imposent donc des études phytochimiques et pharmacologiques, dont les résultats contribueront à une raisonnable utilisation des végétaux.

Mais ce n'est que vers le début de XIX siècle que les premiers principes actifs d'origine végétale sont isolés grâce aux travaux de nombreuses équipes de recherches, consacrés à l'étude de la composition chimique des plantes.

L'utilisation des plantes aussi bien en parfumerie, qu'en alimentation et en médecine est étroitement liée aux huiles essentielles, qu'elles renferment.

Notre travail n'est que la suite d'une étude antérieure.

Il consiste à déterminer l'influence de la température du distillat sur le rendement en huile essentielle; ensuite, à soumettre nos échantillons d'HE provenant de trois régions d'Algérie, à un fractionnement sur gel de silice. L'analyse par CPG et par GC/SM des fractions issues de chacun de ces échantillons d'HE d'*Artemisia herba-alba* Asso nous a permis d'une part de confirmer la présence de certains constituants déjà identifiés et d'autre part de compléter cette identification et de constater la variation de la composition des constituants d'HE en fonction du lieu de végétation.

RAPPELS BOTANIQUES

Les artémisia appartiennent à la famille des composées, une des plus importantes familles des gamopétales, avec près de 1000 genres et de 15000 espèces. Cette famille est considérée par beaucoup d'auteurs comme la plus évoluée, et elle est surtout représentée dans les régions tempérées et froides du globe (1)

Le genre des artémisia comporte plusieurs centaines d'espèces réparties pour la plupart dans l'hémisphère boréal. Il fut divisé par Engler et Prantl. en 1894. en quatre sections.

L'Artemisia herba - alba Asso appartient à la section seriphidium Bess (2). C'est une plante spontanée, très répandue en Afrique du Nord et au Moyen-Orient. Elle affectionne les climats secs et chauds, et existe sous forme de peuplements importants dans les zones désertiques.

Dans les steppes d'Algérie, elle couvre près de 6 millions d'hectares, elle est très abondante sur les hauts plateaux, plus rare au Sahara septentrional (Zoufama, El-Golea, Hamada, Tinqhert), massif du Sahara centrale (3,4,2,5).

L'artemisia herba - alba Asso est une plante dominante sur sols argilleux, et dans les dépressions où l'eau s'accumule (6). Elle est aussi appelée Armoise blanche ou Semen - Contra de Barbarie et est connue en Algérie sous le nom de cheih (7,1).

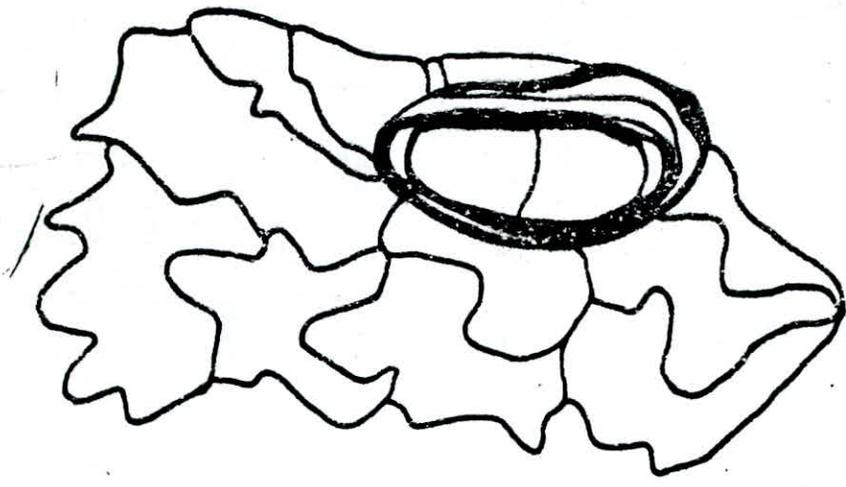
L'Artemisia herba - alba Asso est une plante très odorante, elle forme des buissons blancs laineux de 30 à 80 cm de hauteur. Les feuilles sont longues, étroites et espacées, les capitules ovoïdes à involucre scarieux comportent 3 à 8 fleurs jaunâtres. Le fruit est un akène comprimé dépourvu de côtes sans aigrette ni couronne membraneuse au sommet. (4, 2)

L'armoise doit son odeur caractéristique à l'huile essentielle à l'état libre qu'elle renferme. Celle-ci est emmagasinée dans des dépôts appelés glandes composites faisant partie des organes sécréteurs de la plante. Ces glandes sont exogènes situées à la surface des feuilles et des fleurs et peu sur les tiges (8).

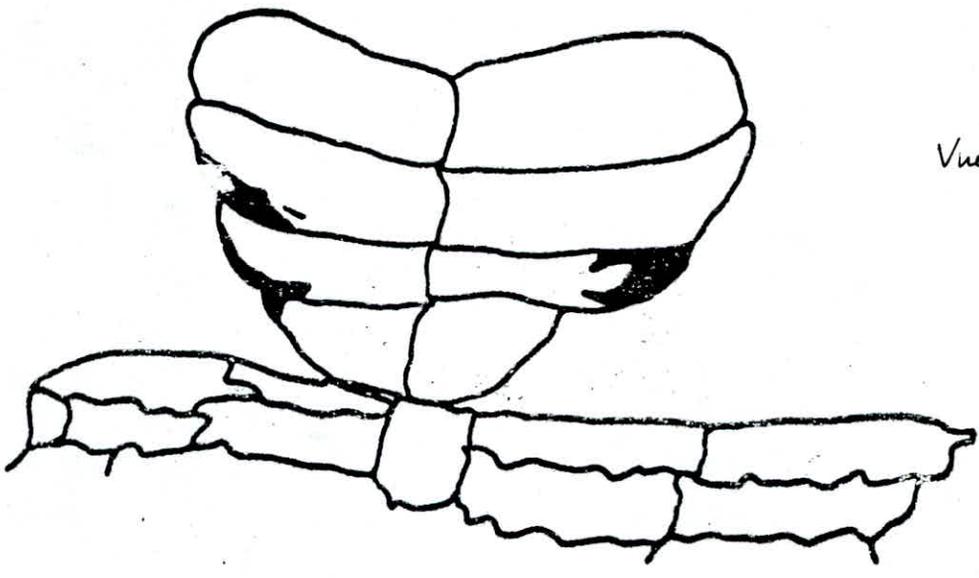
Cependant certains auteurs (9) signalent la présence de petites quantités d'HE dans le parenchyme de quelques Artémisia.

Les glandes composites sont des formations épidermiques constituées d'un pied cellulaire (figure 1 ). Ces cellules vivantes sécrètent l'huile essentielle dans l'espace intercellulaire durant le cycle complet de végétation de la plante. Le dépôt ainsi formé est recouvert d'une membrane appelée cuticule. Celle-ci est assez résistante à la pression de l'HE accumulée et empêche son écoulement vers l'extérieur, ainsi que son évaporation ( 10 ).

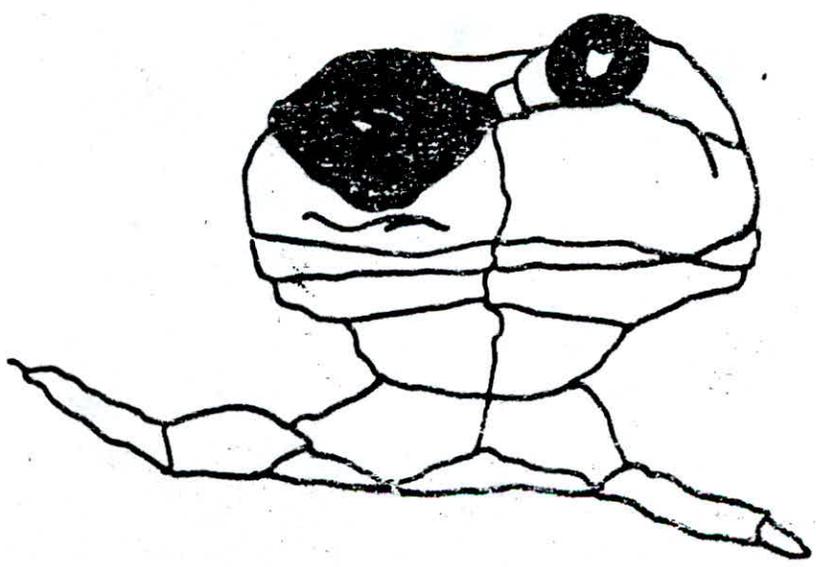
L'Artémisia herba-alba Asso est connue en médecine depuis des temps immémoriaux comme vermifuge, antispasmodique, diurétique, emmenagogue et surtout utilisée contre les troubles digestifs en infusion ou décoction ( 2 ).



Vue de dessus



Vue de profil



Vue de profil

Goutte d'huile essentielle

FIGURE 1 : relations corporelles

TRAVAUX ANTERIEURS

L'étude de l'HE d'Artémisia herba-alba Asso débute au siècle dernier. Elle est plutôt d'intérêt chimiotaxonomique et elle concerne la composition de l'HE obtenue par entraînement à la vapeur d'eau, l'isolation et l'élucidation de la structure des lactones sesquiterpéniques qu'elle contient, en vue d'une classification botanique.

Ainsi M.E.GRIMAL obtient de l'herbe fraîche et non fleurie d'Artémisia herba - alba Asso d'Algérie, une huile essentielle jaune - verdâtre d'odeur extrêmement agréable.

L'Entraînement à la vapeur d'eau de cette plante a donné un rendement de 0.3 % . Par distillation sous vide, il a réussi à isoler du camphène gauche, du cinéol et du camphre (11).

Quelques années plus tard, M.M SHIMMEL et Cie ont reçu d'Egypte une herbe qui porte le nom de chieh. L'identification de cette herbe par M. HECKEL a confirmé que c'est de l'artémisia herba - alba Asso. L'extraction par entraînement à la vapeur d'eau a donné une huile essentielle jaunâtre avec un rendement de 1.6 % avant l'odeur de la thymone. Un second lot de la même plante n'a donné que 0.58 % d'HE différente de la précédente : La nouvelle essence est dextrogyre, alors que l'ancienne est levogyre.

Ces chercheurs expliquent les différences observées par le fait que la première fois, la distillation a été faite sur l'herbe fleurie, alors que les fleurs du second lot n'étaient pas encore très développées (11).

Une étude ultérieure de l'HE d'artémisia herba-alba Asso montra qu'elle contenait du camphène, du cinéol, du camphre, du géraniol et les acides caproïques et capriliques sous forme d'esters (12).

Depuis, l'étude de l'HE d'Artémisia herba-alba Asso fut pendant longtemps abandonnée elle n'éveilla de nouveau l'intérêt des chercheurs que dans les années 70.

Ainsi, COHEN et COLL (13) publient en 1972 leurs résultats sur l'étude analytique de l'HE de la plante du Maroc.

En 1979, BENJILALI et RICHARD (14, 15) étalent leur étude à une cinquantaine de peuplements et arrivent à distinguer 8 chemotypes suivant les constituants majoritaires de l'HE :

- A  $\alpha$  - Thvone = 68 +/- 4 %
- A  $\beta$  - Thvone = 58 +/- 15 %
- A camphre : 43  $\pm$  9 % et cétone (filifolone et chrysanthène).
- A acétate de chrysanthényle : 38 à 70 %
- A  $\alpha$  - Thvone : 31 +/- 3%  
et camphre : 38 +/- 3%
- A  $\alpha$  - Thvone : 31 +/- 3%  
et  $\beta$ Thvone : 30 +/- 3%
- A Davanone.

L'étude chimique de l'Artémisia herba-alba Asso du Maroc effectuée par HURABIELLE, MALSOT et PARIS (16) a conduit à l'identification de 15 constituants et à la distinction d'un autre chémotype : à chrysanthène. Ces auteurs proposent de considérer ce constituant comme étant un des critères chimiotaxonomiques de la tribu des Anthémidées.

Parmi les constituants mineurs, ils ont mentionné la présence de l'iso-artémisia - cétone, du yomoqi-alcool, de la verbénone et de l'époxyde de caryophyllène.

LEMBERG (17) a effectué des études analytiques très poussées sur les mêmes échantillons que ceux de BENJILLALI et RICHARD. Il a réussi, par conséquent, à identifier 25 nouveaux constituants de l'HE. Il constate que la composition (en  $\alpha$ -thylene,  $\beta$ -thylene et en camphre) est influencée par le lieu et la période de végétation et préconise pour la cueillette de la plante, la période entre Juin et Octobre. D'autre part, il rapporte que, la région de Marakech produit le chémotype: à  $\alpha$ -thylene : 31 % +/- 3 % combiné au camphre : 3% +/- 3 %.

Ce type d'huile, connu sous le nom d' "Essence de Marakech" est le plus recherché par les parfumeurs.

Le Maroc est, actuellement, l'un des plus importants producteurs d'HE d'Armoise (15,18). Il est à noter que l'extraction de l'HE d'Artémisia herba-alba Asso au Maroc est plutôt artisanale (18).

En 1980, SEGAL et COLL (19) ont identifié des alcools monoterpéniques irréguliers dans l'HE d'Artémisia herba-alba Asso du Moyen-Orient. Leurs études sur la composition de l'HE et la constitution des lactones sesquiterpéniques de 5 peuplements de cette plante (20, 21) leur permettent de définir deux nouveaux chémotypes: à cinéole - thylene - camphre et à dérivés du pinane.

Les études très récentes effectuées par ces chercheurs sur la plante d'Espagne (22) ont montré que celle-ci présentait des différences du point de vue chimiotaxonomique avec la plante du Moyen-Orient.

L'étude de l'HE d'Artémisia herba-alba Asso ne s'est pas limitée à sa composition chimique. En effet, l'activité antimicrobienne de l'HE et des extraits par différents solvants de l'Artémisia herba-alba Asso a fait l'objet de plusieurs études.

YASPHE et COLL (23) rapportent que seule l'huile présente une activité grâce à un de ses constituants: Santolina-alcool. Très récemment, ils publient les résultats d'une étude (24) sur l'activité de l'huile et de chacun de ses constituants. Ils trouvent que les alcools présents dans l'huile, à l'exception du bornéol, sont responsables de cette activité, par contre celle des cétones est relativement faible.

En étudiant l'effet antispasmodique de l'HE, ils trouvent qu'il est 100 à 1000 fois plus important que l'effet bactéricide.

A leur avis, ces deux effets sont à l'origine de l'utilisation et de l'appréciation de l'Artémisia en médecine traditionnelle.

SYED KHAQUAM (25), AL YAHYA (26) et SHERIFF (27) publient des recueils traitant de l'utilisation des plantes du genre Artémisia en médecine traditionnelle respectivement au Pakistan, en Arabie Saoudite, en Afrique du Nord et au Moyen-Orient et ils soulignent l'intérêt pharmacologique que présente l'Artémisia herba-alba-Asso.

Aux Etats-Unis, Gordon et Coll (28) ont réussi à isoler trois lactones sesquiterpéniques de structure germacranolide.

Récemment, en effectuant une étude analytique sur la plante d'Espagne, MARCO a identifié 7 nouveaux lactones sesquiterpéniques.

En Algérie, la recherche dans ce domaine est à ses débuts et les résultats obtenus jusqu'à nos jours sont encourageants (29, 30, 31, 32 et 33).

ETUDE DE L'HUILE ESSENTIELLE

## I - RAPPELS THEORIQUES :

### I.1 - GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES :

Les huiles essentielles, très répandues dans la nature, sont des produits d'excrétion du métabolisme végétal. Elles peuvent apparaître dans tous les organes de la plante, mais s'accumulent assez souvent dans des zones déterminées des feuilles, des fleurs, des racines et sont caractérisées par leur arôme généralement très prononcé (34).

Ces huiles essentielles, communément appelées essences, sont des substances odorantes, huileuses, volatiles, incolores ou jaunâtres, inflammables, s'altérant facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont généralement liquides à la température ambiante. Leur densité est généralement inférieure à 1; leur point de congélation varie beaucoup plus que le point de fusion. Elles possèdent invariablement des indices de réfraction très élevés, compris généralement, entre 1,45 et 1,56; la plupart d'entre elles font dévier le plan de polarisation de la lumière, quelques unes sont inactives (35).

La composition chimique de l'HE est assez complexe. On y trouve généralement des composés terpéniques et aromatiques, des acides organiques, des esters, des aldéhydes, des cétones de faible poids moléculaire ainsi que des coumarines volatiles (36).

Parmi les constituants de l'HE, il s'en trouve souvent un dont l'odeur est caractéristique de cette essence; ce constituant est, en même temps, la fraction qui a la plus grande valeur. Le désir d'isoler celle-ci sous sa forme la plus concentrée et la plus pure, semble bien avoir été le but qui a déterminé les premières recherches scientifiques relatives aux essences (11).

Vue le grand nombre de ces constituants majoritaires, leur diversité ainsi que leurs proportions très variables, les études s'orientent de plus en plus vers la recherche des constituants mineurs, mais olfactivement intéressants ou présentant une activité pharmacologique particulière (36).

Des recherches ont permis d'affirmer qu'une HE est très fluctuante dans sa composition sur laquelle intervient un grand nombre de paramètres liés d'une part à la plante, et d'autre part au mode d'exploitation du matériel végétal.

En fonction de la composition chimique de l'HE, différentes races chimiques ou chémotypes sont définies pour une même espèce végétale. La variabilité de la composition peut aussi provenir de l'organe considéré (racines, écorces, tronc, feuilles, etc...).

D'autre part, au cours du cycle végétal, des modifications importantes dans la composition peuvent être relevées (37).

Les HE sont utilisées à des fins multiples en tant que composants d'herbes aromatiques et médicinales : en pharmacie, dans l'industrie alimentaire, l'industrie cosmétique, etc. (34).

En Algérie, la totalité des HE sont exportées sans analyses préalables, et le marché extérieur leur attribue souvent des qualités qui ne leur correspondent pas (38).

## I.2 - PROCÉDES D'EXTRACTION :

L'extraction des HE se fait par différentes méthodes. Le choix du procédé d'extraction varie selon la nature de la matière à traiter, sa richesse en essence et la fragilité de celle-ci aux températures élevées et à l'action de l'eau (39, 40).

Parmi ces méthodes, nous distinguons :

### I.2.1 : L'expression froid :

Cette méthode primitive qui ne peut être utilisée que lorsque la matière première est riche en essence, n'est actuellement employée que pour l'obtention des essences d'Hespéridées, obtenues à partir du zeste des fruits: Oranges douce et amère, citron, etc.

Vu que ces HE ne supportent pas de traitements à chaud et qu'elles sont altérables par l'action de la vapeur d'eau, l'expression se fait à froid et les essences ainsi préparées ont généralement un parfum d'une grande finesse.

Généralement, c'est le procédé de scarification mécanique et d'entraînement de l'HE par un courant d'eau qui est utilisé dans l'industrie. L'essence est ensuite séparée par décantation. (37)

#### I.2.2. Extraction par les corps gras :

La constatation de l'affinité des corps gras pour le parfum des fleurs est un fait très ancien (41, 39).

Par conséquent, deux procédés d'extraction ont été mis en évidence:

##### I.2.2.1 : L'enfleurage :

Cette technique présente un des premiers moyens employés dans un but exclusif de parfumerie (41). Elle s'applique aux fleurs dont le parfum est particulièrement délicat, et spécialement, à celles à fonctions vitales différées (35).

L'enfleurage n'est pratiquement plus utilisé en raison du prix élevé de la matière première utilisée (fleurs) et de l'importante main-d'oeuvre qu'elle requiert (35, 37).

##### I.2.2.2 : La macération :

Cette technique est employée pour le traitement des fleurs dont les fonctions vitales s'arrêtent à la cueillette et qui exigent un traitement plus énergique pour céder leur parfum; telles que : la cassie, la violette, la rose, etc.

La macération est basée sur le même principe que celui de l'enfleurage, mais à chaud, ce qui augmente le pouvoir absorbant des graisses utilisées (41).

### I.2.3 : L'extraction par Solvants Volatils :

Cette technique est basée sur la propriété qu'ont la plupart des solvants organiques et particulièrement les hydrocarbures aliphatiques (Pentane Hexane) ou aromatiques (Benzène) de dissoudre les HE (37).

Cette extraction consiste à épuiser le produit odorant par un solvant qui provoquera l'apparition d'une phase nouvelle.

Le passage du Soluté de la phase solide (la plante) dans la phase liquide (solvant) constitue un transfert de matière à la suite duquel, il suffit de chasser le solvant de l'extrait, soit par distillation, soit par précipitation (37, 42, 43).

Le produit obtenu après évaporation du solvant est appelé concrète. Le solvant doit être pur, volatil, posséder le pouvoir dissolvant nécessaire et une grande selectivité. Il doit être aussi bon marché, ne pas présenter de danger d'incendie et ne pas être nuisible à la santé (35).

### I.2.4.L'extraction par le CO2 liquide ou supercritique: (44,45)

La plupart des solvants utilisés dans l'extraction possèdent un point d'ébullition proche de celui des constituants volatiles de l'HE, par conséquent, la perte en extraits volatils est considérable.

SHULTZ et RANDALL ont remédié à cet inconvénient, en introduisant le dioxyde de carbone liquide qui possède des coordonnées critiques peu élevées ( $T_c = 31^{\circ}\text{C}$ ,  $P_c = 72,9$  bar) permettant ainsi la manipulation à une température voisine de l'ambiante et à des pressions acceptables. Par ailleurs, il est abondant, pur, inerte et présente l'avantage d'être non toxique.

Ces propriétés ont fait de lui un solvant de choix pour les applications dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et biologiques.

Le CO<sub>2</sub> est utilisé dans l'extraction, sous ces deux états liquide et supercritique. Leurs installations correspondent à un même schéma de fonctionnement, seules les conditions opératoires diffèrent.

Le principe de ce procédé d'extraction repose sur la haute sélectivité du CO<sub>2</sub> envers les esters, les aldéhydes, les cétones et les alcools et sur sa bonne solubilité des matières à extraire. Cette propriété est utilisée d'une part, pour la réalisation d'extraction dans le domaine supercritique (ou liquide) où l'on recherche une solubilité maximale du soluté, et d'autre part pour la séparation par détente du CO<sub>2</sub> supercritique (ou liquide) à l'état gazeux, état où le soluté n'est plus soluble dans le CO<sub>2</sub> et se dépose dans le séparateur.

#### I.2.5. Extraction au Forane 113 : (37).

L'application du concept de raffinage à l'extraction des HE a permis de mettre au point une technologie originale d'extraction dont les produits sont : les huiles végétales et les cires ainsi que le support solide constitué de polysaccharides de réserve ou pariétaux.

Le principe de l'extraction au forane 113 est simple. Il se décompose en trois étapes :

1) L'extraction proprement dite qui permet une double valorisation du végétal en une seule étape à l'issue de laquelle le résidu végétal sec est récupéré. Par ailleurs ce dernier est stable et donc valorisable puisque le Forane 113 entraîne également l'eau.

2) Recyclage du solvant par distillation, ce qui permet de récupérer la concrète qui est un mélange d'huile lipidique et d'HE.

3) Séparation de l'HE par entraînement à la vapeur des composés aromatiques. Cette dernière étape n'est pratiquée que sur une charge égale au plus à 15% de la matière végétale initiale.

#### I.2.6. Méthode d'extraction par couplage entraînement à la vapeur d'eau - extraction par solvant

Dans le cas où les constituants volatils d'une HE peuvent être entraînés par la vapeur d'eau sans être dégradés, la méthode consistant à combiner l'entraînement à la vapeur d'eau et l'extraction par solvant est possible.

L'appareillage prévu pour cette combinaison est capable d'opérer sous une pression réduite.

Les avantages de cette combinaison, sont :

1)- Les composés volatils désirés peuvent être amenés à une concentration très élevée à partir d'une solution, au bout d'une seule opération à durée très courte (1 heure).

2)- Le volume du solvant utilisé est faible, d'où minimisation du risque d'introduction d'artefacts du solvant et de l'eau.

3)- La dégradation thermique des constituants volatiles, peut être diminuée puisque l'opération s'effectue sous une pression réduite.

Parmi les solvants utilisés, l'Hexane s'est montré le meilleur pour la plupart des composés.

#### I.2.7. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :

L'entraînement à la vapeur d'eau est le procédé industriel le plus souvent utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle à partir de la matière végétale.

Ce procédé d'entraînement des matières odorantes des plantes par distillation à la vapeur d'eau, à pression atmosphérique, est très ancien. En effet, des éléments trouvés en Chine font penser que cette façon d'obtenir les huiles essentielles vient de ce pays.

Au cours des siècles, cette technique s'est répandue progressivement vers l'ouest tout en se perfectionnant. Son développement industriel s'est fait en Europe et en particulier à Grasse (46).

L'entraînement des huiles essentielles des plantes par la vapeur d'eau est applicable à un grand nombre de cas comme les fleurs d'oranger, la citronnelle, la menthe et en général à toutes les essences qui ne sont pas sensiblement altérées par l'eau à 100°C (40).

Le procédé est basé sur le fait que la plupart des composés odorants volatils sont susceptibles d'être entraînés par des aérosols de vapeur d'eau du fait de leur point d'ébullition relativement bas. Ils ne sont donc ni retenus par et dans les biopolymères de la plante, ni solubilisés dans l'eau (46).

Le principe de l'entraînement à la vapeur d'eau a été mis en évidence par LEIBIG en 1832 et n'est en fait qu'une conséquence de la loi de DALTON sur le mélange des gaz et des vapeurs.

Ils en résulte deux faits :

a) Le mélange entrera en ébullition lorsque la somme des tensions de vapeur sera égale à la pression qu'il supporte, c'est à dire à une température qui sera nécessairement inférieure à la température d'ébullition du constituant le plus volatil.

b) Tant que les deux corps resteront en présence et quelles que soient leurs proportions relatives, le point d'ébullition du mélange restera fixe et comme chaque corps distille proportionnellement à sa propre tension de vapeur, la composition du distillat restera constante (39).

La vapeur saturée ou surchauffée, et généralement à des pressions supérieures à la pression atmosphérique, est introduite à travers la matière végétale et entraîne les constituants volatils. Une partie de l'huile essentielle présente à la surface de la plante est immédiatement disponible à la vaporisation.

Le reste de l'huile arrive à la surface après la diffusion de la vapeur à travers l'ensemble du tissu végétal (47).

Cette technique présente les avantages suivants :

a) Traiter de grande quantité de matière première, avec un matériel assez simple et une main-d'oeuvre minime.

b) Fournir directement une essence très pure.

c) Le rendement obtenu est en général assez important.

Cependant, on ne peut appliquer l'entraînement à la vapeur d'eau dans tous les cas, car il présente les inconvénients suivants :

a) Modification ou création de corps odorants sous l'action chimique de l'eau.

b) Difficulté d'extraire les produits odorants les moins volatils et ceux qui sont appréciablement solubles dans l'eau. Il en résultera que l'essence obtenue par distillation à la vapeur n'aura pas toujours exactement l'odeur de la matière première.

c) Méthode ne permettant pas l'isolement du parfum de diverses fleurs; entre autres le parfum de fleurs de Jasmin (39,41).

En effet, la distillation des essences sous le vide, qui présente une conquête précieuse pour l'industrie des parfums, permet de supprimer les inconvénients de l'emploi de la chaleur sur les essences délicates, facilement décomposables (35).

I.3. DEFINITION DES PARAMETRES INTERVENANT DANS LE PROCEDE D'EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU: (8)

I.3.1. Le rendement en huile essentielle :

Il est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse de matière végétale traitée.

$$R = \left( \frac{m}{m_0} \right) \times 100 \quad \text{où } R = \text{rendement de l'HE exprimée en } \%$$

m = La masse de l'HE (g)  
m<sub>0</sub> = La masse de la matière végétale (g).

I.3.2. La vitesse de distillation :

La vitesse de distillation est fonction du débit de distillation en ml/mn ou en l/h. Elle est souvent exprimée en pourcentage et représente le volume du distillat recueilli pendant une heure à partir d'un appareil de distillation ayant une capacité de 100 l.

Elle peut être donnée par l'expression suivante:

$$V = (a \times 36 \times 10^4) / t \times v (\%)$$

où V = Vitesse de distillation (%)  
a = Volume du Distillat (l)  
t = Durée de distillation (s)  
v = Capacité de l'alambic (l)

La vitesse de distillation calculée par cette expression ne tient pas compte du rapport H/D de l'alambic où H est la hauteur et D le diamètre de ce dernier. Donc, pour pouvoir comparer les vitesses de distillation d'alambics ayant des rapports H/D différents, il faut utiliser l'expression suivante qui permet de calculer la vitesse relative de distillation :

$$V_r (\%) = \frac{a \times 36 \times 10^4}{t \times v} \times (H/D)$$

où  $V_r$  = Vitesse relative de distillation (%)

$a$  = Volume de distillation (ml)

$t$  = Durée de distillation (s)

$v$  = Capacité de l'alambic (ml)

$H$  = Hauteur de l'alambic (m)

$D$  = Diamètre de l'alambic (m)

### 1.3.3. La durée d'extraction :

La durée d'extraction de l'huile essentielle dépend principalement de la localisation des glandes sécrétrices de l'HE dans la plante.

Ainsi les plantes à glandes endogènes nécessitent un temps d'extraction long afin de pouvoir récupérer toute l'huile essentielle.

Par contre l'extraction des plantes ayant des glandes exogènes est de courte durée.

### 1.3.4. La quantité de vapeur :

La quantité de vapeur nécessaire pour un processus technologique tel que l'entraînement à la vapeur d'eau est la somme des quantités de vapeur utilisées pour :

- L'échauffement de la matière végétale et de l'appareillage.
- L'entraînement à la vapeur de l'HE.
- L'échange de chaleur par convection et par rayonnement.
- La condensation.

La quantité de vapeur utilisée pour l'entraînement de l'HE dite " Vapeur utile " , est évaluée par la quantité des eaux de distillation et peut être calculée à l'aide des expressions suivantes :

$$QHE = a/g \text{ (Kg/l)}$$

où a = volume du distillat (l)  
g = masse de l'HE (Kg)

$$QMV = a/G \text{ (Kg/l)}$$

où a = volume du distillat (l)  
G = masse de matière végétale (Kg)

La quantité de vapeur nécessaire pour le processus technologique peut être évaluée par les formules suivantes :

$$QTHE = \frac{a + c}{g}$$

où QTHE = quantité de vapeur (Kg de vapeur / Kg de HE).

a = volume du distillat (l)

c = volume des eaux de condensation (l)

g = Masse d'HE (Kg)

$$QTMV = \frac{a + c}{G}$$

où QTMV = quantité de vapeur  
(Kg de vapeur/Kg de matière végétale)  
G = masse de matière végétale

Pour simplifier les calculs, la densité des eaux de distillation et de condensation est prise égale à l'unité.

Il est clair que moins l'essence est soluble, plus il faudra injecter de vapeur; et que l'emploi de la vapeur directe surchauffée n'est possible que dans quelques cas assez rares, vu la grande sensibilité des essences à la chaleur (35).

#### I.3.5. Les courbes de distillation : (48)

Deux types de courbes de distillation sont généralement utilisés pour décrire la cinétique d'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau :

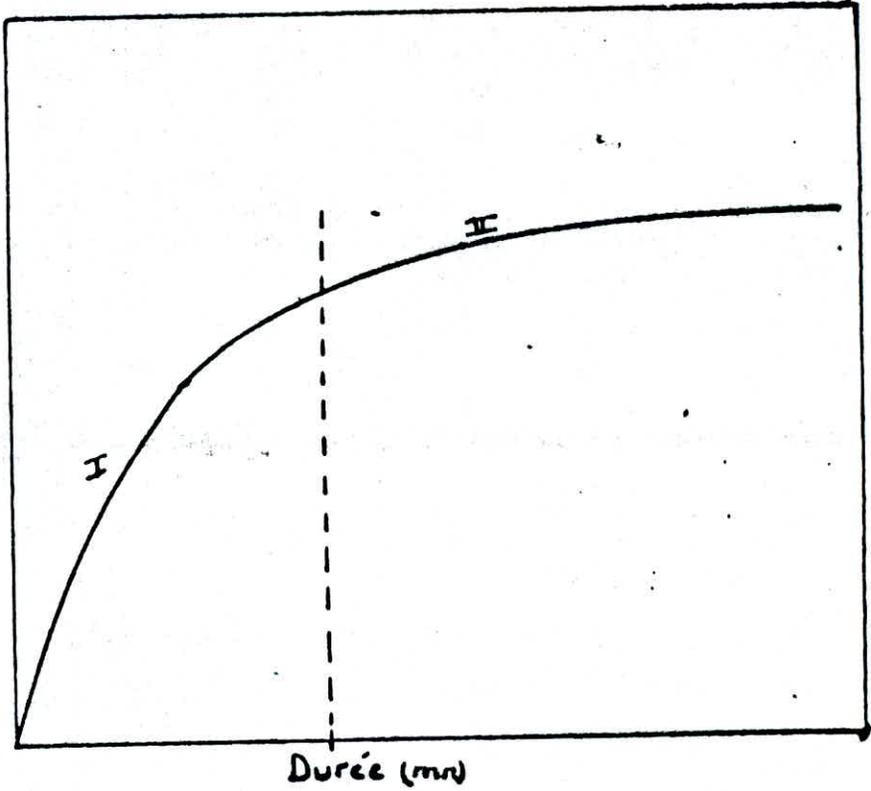
- Une courbe totale traduisant la variation de l'huile essentielle en fonction de la durée d'extraction (fig.2 ), est constituée de deux parties correspondant chacune à une phase distincte du processus.

\* La phase I représente la distillation de l'HE située à la surface de la matière végétale. La vitesse de distillation est élevée et constante jusqu'à épuisement de l'huile superficielle.

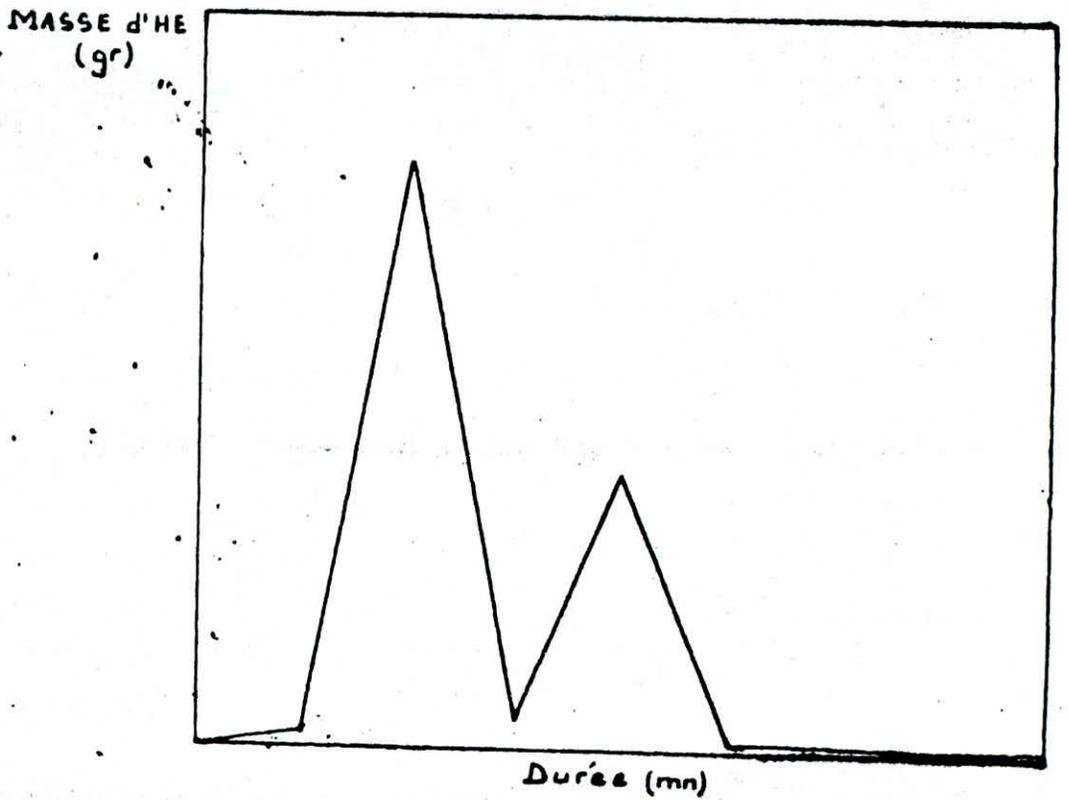
\* La partie II illustre la phase suivante, au cours de laquelle l'hydrodiffusion et/ou la désorption de l'HE adsorbée lors de la première phase deviennent prédominantes. Du fait que ces deux phénomènes sont lents, la courbe atteint un palier.

- Une courbe périodique ou histogramme représentant la variation de la quantité d'HE recueillie pendant des intervalles de temps réguliers. Ces courbes (fig. 3 ) sont plus souvent utilisées car elles fournissent des informations concernant non seulement la cinétique du processus, mais encore la composition de l'HE.

Masse d'HE  
(gr)



**FIGURE 2 :Représentation sous forme de courbe totale**



**FIGURE 3 : Représentation sous forme d'histogramme**

### I.3.6. La température du distillat :

La récupération complète de l'HE des eaux de condensation dépend de la température du distillat recueilli à la sortie du condenseur. En augmentant la température du distillat, la densité de l'HE diminue plus rapidement que celle de l'eau et par conséquent la séparation est nettement meilleure, cependant la variation de la température du distillat est liée à la solubilité et l'évaporation des huiles essentielles dont il faut tenir compte pour le choix d'une température convenable (49)

#### I.3.6.1 La solubilité des huiles essentielles dans l'eau en fonction de la température.

La solubilité des corps dans l'eau est très variable et les fondement sur lesquels pourrait être basée la prévision des valeurs de la solubilité ne sont pas encore connus. Cependant, les corps constitués par des molécules polaires et les corps à liaison ionique sont plus solubles dans les solvants polaires (eau, alcool, ammoniacque); tandis que les substances non polaires sont plus solubles dans les solvants non polaires (Benzène, Sulfure de carbone) (50).

Les huiles essentielles ne sont pas miscibles à l'eau et ne s'y dissolvent qu'en très faible proportion; cependant, malgré cette faible solubilité, elles communiquent à l'eau, après un contact plus ou moins prolongé, un parfum plus ou moins intense.

Ainsi, il a été remarqué que les eaux de distillation des huiles essentielles tiennent en dissolution une partie de leurs constituants dont l'importance dépend qualitativement et quantitativement de la conduite de la distillation, de la décantation et plus particulièrement de la température du distillat (35, 51).

La solubilité de l'HE dans l'eau est de deux types: colloïdale et moléculaire.

Dans certains cas, elle passe par un maximum (rose, patchouli) ou par un minimum (menthe).

Dans d'autres cas, elle augmente continuellement (basilic), ou bien reste constante dans un intervalle de température assez large.

Le minimum de solubilité est dû au fait que l'augmentation de la température provoque la diminution de la solubilité colloïdale jusqu'au moment où s'établit un équilibre entre la destruction des miscelles colloïdales et la solubilité moléculaire qui augmente avec l'élévation de la température et à la température élevée elle prédomine.

La quantité d'huile essentielle solubilisée ou émulsifiée dans les eaux de distillation, appelée huile secondaire, varie au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau; elle est maximale au début du processus.

L'huile secondaire peut représenter 1,5 à 95 % de l'huile totale. Ainsi, il a été remarqué que l'eau de distillation de l'essence de roses par exemple, est très riche en alcool phényléthylique, auquel est due principalement l'odeur de la rose.

Vue la proportion élevée des constituants solubilisés dans l'eau de distillation, leur récupération est absolument nécessaire dans certains cas, en l'occurrence pour les huiles très solubles dans l'eau (8,35). Parfois, l'huile solubilisée contient une proportion élevée d'alcools, de dérivés carbonylés et peu d'esters et d'hydrocarbures (52, 53, 54, 55) et est considérée de mauvaise qualité (menthe, lavande) (8).

I.3.6.2. L'évaporation des huiles essentielles  
en fonction de la température :

L'évaporation des huiles essentielles augmente avec l'élevation de la température, mais les pertes dues à l'évaporation sont négligeables (1 à 2 %) par rapport à celles dues à la solubilité (52, 54, 56).

L'évaporation est maximale pendant les premières heures de l'action de la température. Les composés évaporés sont surtout les hydrocarbures et leurs dérivés volatils (8).

L'évaporation est souvent exprimée en g/m<sup>2</sup>.h.

Les études faites sur l'évaporation des huiles essentielles à 20°C a permis de les classer en quatre groupes (49).

Groupe I : Huiles essentielles très volatiles 30g/m<sup>2</sup>.h.

Groupe II: Huiles essentielles moyennement volatiles 30-10g/m<sup>2</sup>.h

Groupe III: Huiles essentielles peu volatiles 10-5 g/m<sup>2</sup>.h

Groupe IV: Huiles essentielles non volatiles < 5g/m<sup>2</sup>.h

## II PARTIE EXPERIMENTALE:

### II-1 ETUDE DE L'INFLUENCE DE LA TEMPERATURE DU DISTILLAT SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE:

Dans le but d'étudier l'influence de la température du distillat sur le rendement en huile essentielle: nous avons effectué à l'échelle de laboratoire, quelques essais préliminaires consistant à déterminer la variation de la solubilité et de l'évaporation de l'huile essentielle en fonction de la température.

#### II-1.1 DETERMINATION DE LA VARIATION DE LA SOLUBILITE DANS L'EAU EN FONCTION DE LA TEMPERATURE

Le mode opératoire consistant à déterminer la variation de la solubilité de l'huile essentielle dans l'eau a été proposé par GUEORGUEV.

Dans une ampoule à decanter, sont mélangés 3 g d'huile essentielle et 150 ml d'eau. Après l'agitation rigoureuse pendant 2 à 3 minutes, l'ampoule est placée dans un bain thermostaté à une température fixe (20, 30, 40, et 50°C) pendant 2 heures.

Après décantation, l'huile essentielle est séparée de l'eau, et l'huile solubilisée dans l'eau est extraite à l'éther et récupérée dans un tube à essai pesé après l'évaporation de l'éther.

RESULTATS ET DISCUSSION:

La masse de l'huile essentielle solubilisée (HE") à une température donnée est la moyenne de 2 à 4 essais répétitifs.

La solubilité S de l'huile essentielle est déterminée par l'expression suivante:

$$S = \frac{mHE''}{VH2O} \times 100$$

où : S = Solubilité dans l'eau (mg / 100 ml d'eau)  
mHE'' = masse de l'huile essentielle solubilisée (mg)  
vH2O = volume d'eau utilisée (ml).

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 1.

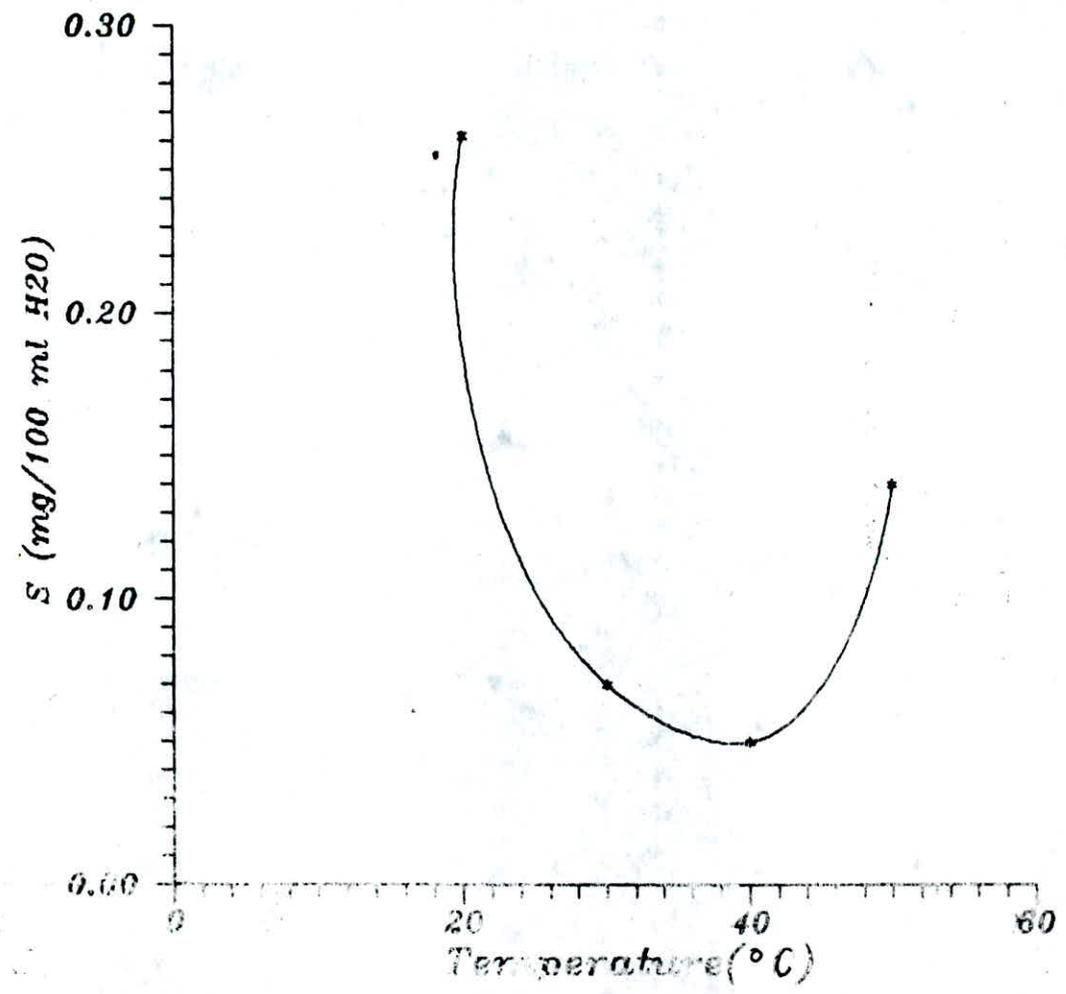
Les variations de S en fonction de la température sont représentées sur la figure 4.

TABEAU 1:

Variation de la solubilité dans l'eau de l'huile essentielle d'Artemisia herba - alba Asso en fonction de la température.

TEMPERATURE ( °C)	20	30	40	50
mHE'' (mg)	0,160	0,038	0,013	0,052
S (mg/100ml d'eau)	0,2615	0,0630	0,0530	0,1387

fig\_4\_ :Variation De La Solubilité Dans l'eau de l'HE D'Artemisia Herba\_Alba Asso En Fonction De La Temperature



La courbe ainsi tracée est une parabole donnant un minimum de solubilité à une température de  $40^{\circ} \text{C}$ .

A  $20^{\circ} \text{C}$ , l'huile forme une émulsion avec l'eau.

En augmentant la température, l'émulsion est détruite et il y a formation des micelles colloïdales dont la solubilité dans l'eau est faible, ce qui explique la partie descendante de la courbe de solubilité en fonction de la température.

Au fur et à mesure que la température augmente, il y a destruction des micelles colloïdales et apparition d'une compétition entre la solubilité colloïdale et la solubilité moléculaire.

A  $40^{\circ} \text{C}$ , il s'établit un équilibre entre ces deux dernières, nous obtenons alors un minimum de solubilité de l'HE dans l'eau. Au delà de  $40^{\circ} \text{C}$ , la solubilité moléculaire l'emporte, nous observons alors une augmentation de la solubilité de l'HE dans l'eau; ce qui explique la partie ascendante de la courbe de la solubilité en fonction de la température.

DETERMINATION DE LA VARIATION DE L'EVAPORATION DE L'HUILE  
EN FONCTION DE LA TEMPERATURE:

Les essais de détermination de la variation d'évaporation de l'huile essentielle de l'A HERBA-ALBA ASSO en fonction de la température ont été réalisés en adoptant le mode opératoire suivant :

1 g d'huile essentielle est introduit dans une boîte de PETRI (D = 3,5 cm et h = 3 cm).

La boîte sans le couvercle est placée dans un bain thermostaté à une température fixée (20, 30, 40 et 50° C) pendant 2 heures. La boîte de PETRI est ensuite pesée et la masse de l'huile évaporée est déterminée.

RESULTATS ET DISCUSSION:

La masse de l'huile essentielle évaporée (ME évaporée) est la moyenne de 2 essais répétitifs.

L'évaporation (E) est exprimée en g d'huile essentielle par unité de surface (m<sup>2</sup>) pendant 1 heure. Elle est déterminée par l'expression suivante :

$$E = \frac{mHE \text{ evap}}{S \times t}$$

où ( E = Evaporation (g/m<sup>2</sup>.h)

( S = Surface de la section de la boîte de PETRI (m<sup>2</sup>)

avec:  $( S = \frac{D^2}{4}$  avec D = diamètre de la section de la boîte de PETRI.

( t = durée de l'évaporation (h) avec: t = 2 heures.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 2.

La représentation graphique de ces résultats en fonction de la température est donnée sur la figure 5.

TABLEAU 2 :

VARIATION DE L'EVAPORATION DE L'HUILE ESSENTIELLE  
D'A.HERBA-ALBA ASSO EN FONCTION DE LA TEMPERATURE

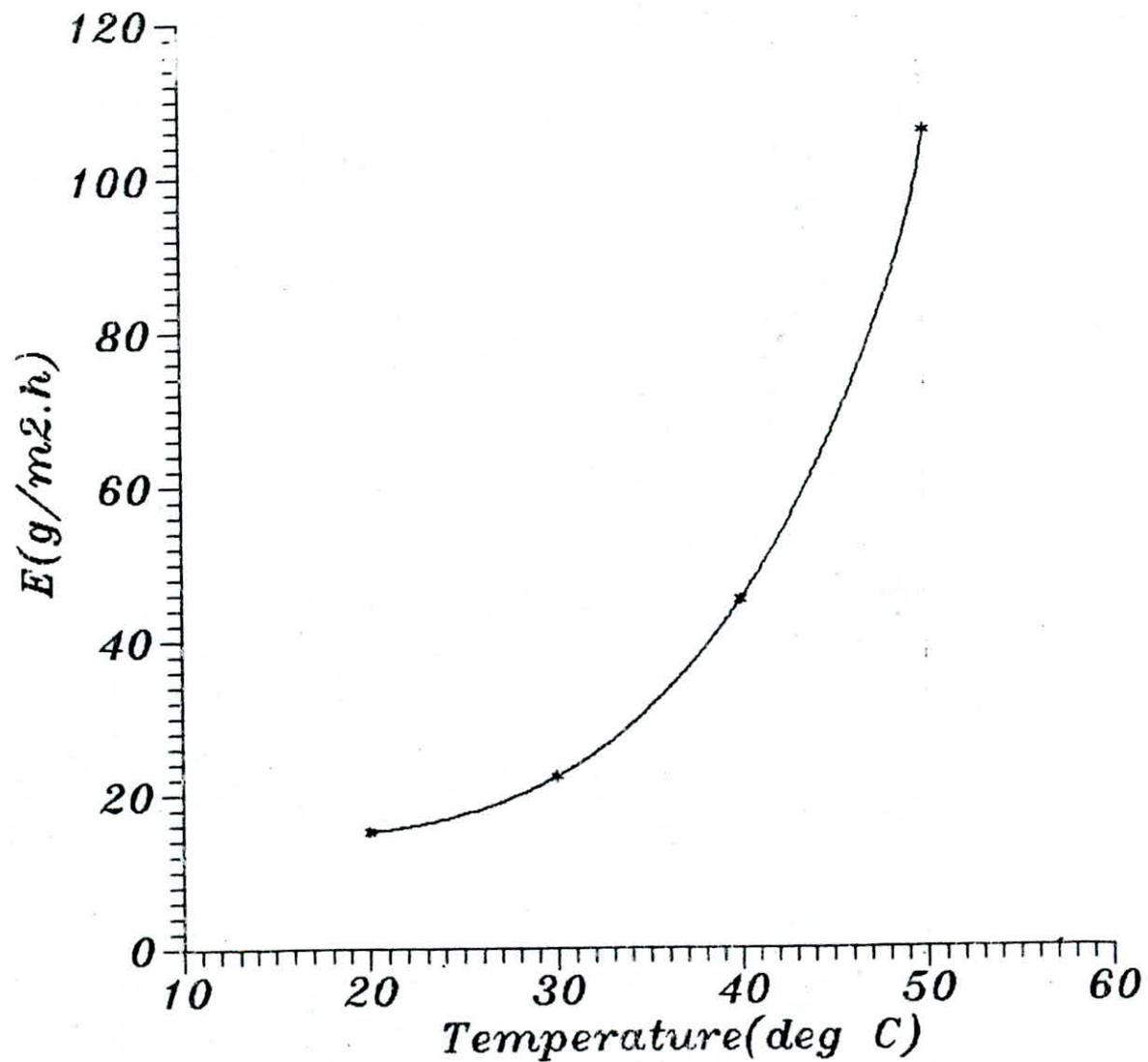
TEMPERATURE ( °C)	20	30	40	50
mHE evap. ( g )	0,0252	0,0458	0,0870	0,2040
E ( g/m <sup>2</sup> .h)	13,10	23,81	45,23	106,07

Les résultats du tableau 2 montrent que l'évaporation de l'huile augmente avec l'élévation de la température.

La variation de l'évaporation en fonction de la température suit une branche parabolique (fig.5).

La comparaison de l'évaporation de l'huile essentielle de l'A.herba-alba Asso à 20°C (13,10 g/m<sup>2</sup>.h) avec les données bibliographiques permet de classer cette huile dans la catégorie des huiles moyennement volatiles (paragraphe I-3.6.2).

Fig-5. :Variation de l'evaporation de l'HE d'Artemisia herba-alba As  
en fonction de la temperature.



L'augmentation de l'évaporation entre 20 - 30 et 30 - 40 °C est relativement uniforme de l'ordre de 86 % ; Par contre, sa variation entre 40°C et 50°C est plus importante : 134,50% ; cela pourrait s'expliquer par le fait qu'aux faibles températures (20, 30, 40°C) se sont les composés légers qui s'évaporent ; à partir de 50°C, l'évaporation concernera les composés lourds.

Des analyses par CPG des échantillons d'HE avant et après chaque essai d'évaporation pourraient permettre de mieux expliquer le phénomène.

#### C O M M E N T A I R E

A la température 40°C, la solubilité est minimale et l'évaporation n'est pas très élevée ce qui établit un compromis favorable permettant d'envisager une amélioration du rendement en huile essentielle pour cette température. Ceci éviterait aussi un traitement supplémentaire des eaux de distillation en vue d'une récupération de l'HE solubilisée.

Pour confirmer nos résultats obtenus à l'échelle de laboratoire, nous recommandons de réaliser l'extraction de l'HE d'A.herba-alba Asso à l'échelle semi-pilote à différentes températures du distillat

#### REMARQUES :

Les obstacles rencontrés lors de la répartition de la chaudière conçue pour compléter l'appareillage d'extraction d'HE par entraînement à la vapeur d'eau, a fait de sorte que nous ne puissions réaliser l'extraction de l'HE d'A.herba-alba Asso à différentes températures du distillat, à l'échelle semi-pilote, ce qui ne nous a pas permis de confirmer nos résultats obtenus à l'échelle de laboratoire.

Nous recommandons alors de compléter nos résultats par un travail ultérieur.

ETUDE ANALYTIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE  
D'ARTEMISIA HERBA - ALBA ASSO

## I- RAPPELS THEORIQUES :

### I.1. LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE :

La chromatographie en phase liquide est la plus ancienne des techniques chromatographiques. Depuis son introduction au début du siècle (1906) par le botaniste russe, M.S. TSNETT, pour séparer et isoler des pigments végétaux sur colonne; elle a été utilisée, surtout, comme méthode annexe.

Vers la fin des années 60, un renouveau considérable de la technique originelle a été déclenché et a débouché sur la chromatographie en phase liquide moderne, appelée "Chromatographie en phase liquide à haute performance" (HPLC) et qui est toujours en pleine évolution à l'heure actuelle (57, 58).

Dans la version classique de la chromatographie liquide sur colonne, l'appareillage se compose essentiellement d'une colonne qui est un tube de verre de section constante monté verticalement d'un système qui permet de maintenir, au bas de la colonne, la phase stationnaire: plaque de verre ou de porcelaine percée de nombreux trous, ou une rondelle de verre fritté. En dessous de la plaque d'arrêt, on trouve un robinet pour commander le débit du solvant (59).

Le principe de la CPL est basé sur des interactions spécifiques entre les molécules de l'échantillon et les phases stationnaire et mobile (57).

Généralement, pour un type de colonne donné, le mécanisme de la séparation est régi par un des modes principaux de la chromatographie: adsorption, partage, exclusion stérique, échange d'ions, etc.

Mais la séparation peut faire intervenir plusieurs mécanismes sur une colonne de gel de silice, par exemple, la séparation est surtout le fait d'un mécanisme d'adsorption, mais l'utilisation d'un mélange de solvant provoque généralement, des phénomènes de partage; et ces colonnes peuvent aussi donner une séparation par exclusion stérique (57).

L'analyse par élution, que l'on doit à REICHSTEIN, consiste à poursuivre le lavage de la colonne par le solvant de migration, entraîné par la force de la pesanteur, jusqu'à ce que les différentes zones qui se sont séparées lors du développement, aient migré jusqu'au pied de la colonne (59).

En effet, en mettant en présence du gel de silice, une solution de molécules de diverses dimensions: Les plus grosses, dont les dimensions sont supérieures à celles des pores du gel, circulent ainsi dans la phase liquide, dans l'espace interstitiel entre les grains du gel, où elles se déplacent facilement et rapidement, en ne s'adsorbant que sur les sites actifs de la surface externe des grains.

Dans le cas des petites molécules, elles pénètrent à l'intérieur des pores du gel, pour atteindre par des fins canalicules, des sites d'absorption internes. Ces sites actifs sont ralentis et les molécules qui suivent cette voie vont donc être en retard par rapport aux autres. Les constituants du mélange initial vont donc quitter la colonne contenant le gel de silice dans l'ordre décroissant de leurs poids moléculaires, ordre qui correspond à la durée de leur passage par diffusion dans le gel.

L'identification de l'éluat est assurée par des méthodes convenables (59,60).

Les applications de la chromatographie sur gel sont très nombreuses, elles se classent en deux groupes principaux : (61).

- 1) Analyse des protéines.
- 2) Analyse des hauts polymères synthétiques.

## I.2. La Chromatographie en phase gazeuse :

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode d'analyse physico-chimique de séparation des constituants complexes de gaz ou de liquides susceptibles d'être volatilisés sans décomposition. C'est aussi une technique plutôt délicate à appliquer si l'on veut obtenir des résultats parfaitement reproductibles.

De multiples appareils existent sur le marché depuis plusieurs années et la méthode s'est imposée dans de nombreux secteurs de l'industrie chimique : l'industrie pétrochimique et pharmaceutique, l'industrie de la parfumerie et des cosmétiques, des peintures et vernis, des produits alimentaires, etc. (61).

La séparation est uniquement basée sur les interactions de l'échantillon à analyser et de la phase stationnaire déposée sur un granulé poreux dans le cas des colonnes à remplissage ou sur les parois de la colonne dans le cas des colonnes capillaires.

La phase mobile, qui est généralement, un gaz inerte, a pour seul rôle d'assurer le transport des molécules de l'échantillon au travers du système (57).

Un chromatographe se compose essentiellement de : (61)

- Une chambre d'injection précédant la colonne et maintenue à une température supérieure à celle de la colonne.
- Une colonne de séparation, à température contrôlée.
- Un détecteur.
- Un enregistreur.
- Une alimentation en gaz vecteur.

Le mélange à analyser est introduit dans l'injecteur, sous la forme d'un tampon de vapeur que le gaz vecteur amène au contact de la phase stationnaire.

Il s'établit ainsi, en chaque point de la colonne un équilibre entre la fraction de soluté retenue par la phase fixe et celle qui subsiste dans la phase mobile.

Les constituants du mélange quittent la colonne après y avoir séjourné chacun pendant un temps bien déterminé. Ce temps appelé " Temps de rétention " caractérise qualitativement le constituant; il dépend entre autres de la nature du composé et de la phase stationnaire, de la vitesse du gaz vecteur et de la température de la colonne et permet ainsi son identification.

Après avoir quitté la colonne, les constituants arrivent dans le détecteur qui envoie vers l'enregistreur un signal constant appelé ligne de base. Le passage d'un constituant modifie le signal et un pic est enregistré.

L'ensemble des pics ainsi obtenus, appelé chromatogramme, permet l'identification des constituants du mélange par comparaison de leur temps de rétention à ceux des étalons, déterminés dans les mêmes conditions d'analyse.

L'identification peut encore se faire par le biais de la méthode des ajouts qui consiste à ajouter dans le mélange à analyser un étalon. Si l'étalon fait partie du mélange, l'aire du pic correspondant augmente, sinon, un autre pic dû à la présence de l'étalon apparaît sur le chromatogramme.

La chromatographie isotherme et isobare fut longtemps la seule forme pratiquement utilisée pour les analyses en phase gazeuse; mais l'emploi des colonnes isothermes présente beaucoup de difficultés quand il s'agit de séparer des constituants à points d'ébullition très différents. L'introduction de la programmation de la température au cours du temps indique une amélioration de la séparation des pics voisins.

L'analyse des huiles essentielles est le domaine dans lequel la chromatographie en phase gazeuse peut rendre beaucoup de services. En effet, la CPG est une méthode irremplaçable pour les mélanges complexes: Les hydrocarbures constituent le meilleur terrain de la chromatographie en phase gazeuse du fait qu'ils ne présentent pas d'adsorptions parasites. Cependant l'analyse par CPG des alcools, des acides carboxyliques et des composés oxygénés, est plus délicate que celle des hydrocarbures puisqu'ils présentent des adsorptions parasites sur la phase stationnaire, ce qui entraîne la formation de pics non symétriques, parfois mal séparés, mais toujours très difficiles à exploiter pour l'analyse quantitative.

D'une façon générale, pour répondre au désir de chromatographier des composés plus volatils, moins polaires, moins adsorbables et parfois d'une stabilité thermique meilleure, la chromatographie en phase gazeuse peut s'intégrer dans une suite de transformations plus ou moins complexes.

Ces réactions auxiliaires peuvent être effectuées à différents stades de l'analyse chromatographique :

1) Transformation antérieure à l'introduction de l'échantillon dans le chromatographe.

2) Transformation dans le chromatographe entre l'injecteur et la colonne. (transformation pré-colonne).

3) Transformation chimique des fractions entre la colonne et le détecteur (transformation post-colonne) (63) .

I-3. ANALYSE DE L'HE PAR LE COUPLAGE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE  
GAZEUSE - SPECTROMETRE DE MASSE

En 1959, R.S GOHLKE couple directement à l'aide d'un capillaire la sortie du détecteur du chromatographe à un spectromètre de masse, dans le but de gagner du temps et d'augmenter la sensibilité de la détection (59).

Actuellement, la CG/SM est la technique d'analyse la plus performante pour la séparation et l'identification des constituants d'un mélange complexe. L'appareillage comprend un chromatographe relié à un spectromètre de masse, celui-ci jouant le rôle de détecteur du chromatographe, et qui se compose de :

\* Une source d'ions : enceinte dans laquelle la molécule à étudier est ionisée, soit en la bombardant par un faisceau d'électrons, soit en la portant à haute température au contact d'un filament incandescent (thermo-ionisation).

\* Une chambre d'accélération : où on communique aux ions formés une vitesse importante.

\* Un système dispersif : où les ions de masse différentes sont séparés.

\* Un récepteur: qui collecte les ions et mesure leur nombre en fonction de leur masse. (64).

L'échantillon à analyser est introduit dans la chambre d'injection du chromatographe où il est vaporisé. Il est ensuite entraîné à travers la colonne par le gaz vecteur. Les constituants de l'échantillon, après séparation passent dans le spectromètre de masse où ils sont bombardés par un faisceau d'électrons accélérés. Les molécules de la substance analysée sont introduites et fragmentées en plusieurs morceaux. Au cours du choc entre une molécule et un électron accéléré, l'énergie de celui-ci est transférée à la molécule qui peut dissiper de plusieurs manières l'excédent d'énergie. Elle peut en particulier éjecter un électron et acquérir ainsi une charge positive et devenir ion-radical.

La séparation de ces ions positifs s'effectue selon le rapport de leur masse à leur charge. La majorité des ions provenant des molécules organiques ont une charge unique ( $e = + 1$ ), de sorte que la séparation se fait facilement en fonction de leur masse. (64, 65, 66).

II - ANALYSE DE L'HE D'ARTEMISIA HERBA-ALBA ASSO  
PROVENANT DE TROIS REGIONS D'ALGERIE

II.1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

II.1.1. SEPARAION DE L'HE D'A. HERBA-ALBA ASSO SUR COLONNE  
DE GEL DE SILICE

Dans le but de séparer et de purifier nos différents échantillons d'HE, et pour confirmer et compléter l'identification menée lors d'une étude antérieure (33), et afin d'obtenir une bonne efficacité, le fractionnement de l'HE a été réalisé en obeissant à la relation suivante :

$$\frac{\text{Longueur de la colonne} = 25 \text{ (57)}}{\text{Diamètre de la colonne}}$$

Ou bien:

$$\frac{\text{Masse du gel de silice utilisé} = 25}{\text{Masse de l'HE}}$$

Pour la préparation de notre colonne chromatographique, nous avons opté pour le remplissage par voie humide : Pour ce faire, la suspension préparée à partir de l'adsorbant (Gel de Silice) et du solvant (n-pentane) est versée par petites fractions dans la colonne. Le robinet de celle-ci reste ouvert afin de permettre au solvant de s'écouler goutte à goutte ce qui favorise le tassement de l'adsorbant et son homogénéité.

A l'aide d'une pipette, l'échantillon à analyser est versé sur la paroi de la colonne, au dessus du gel de silice mouillé.

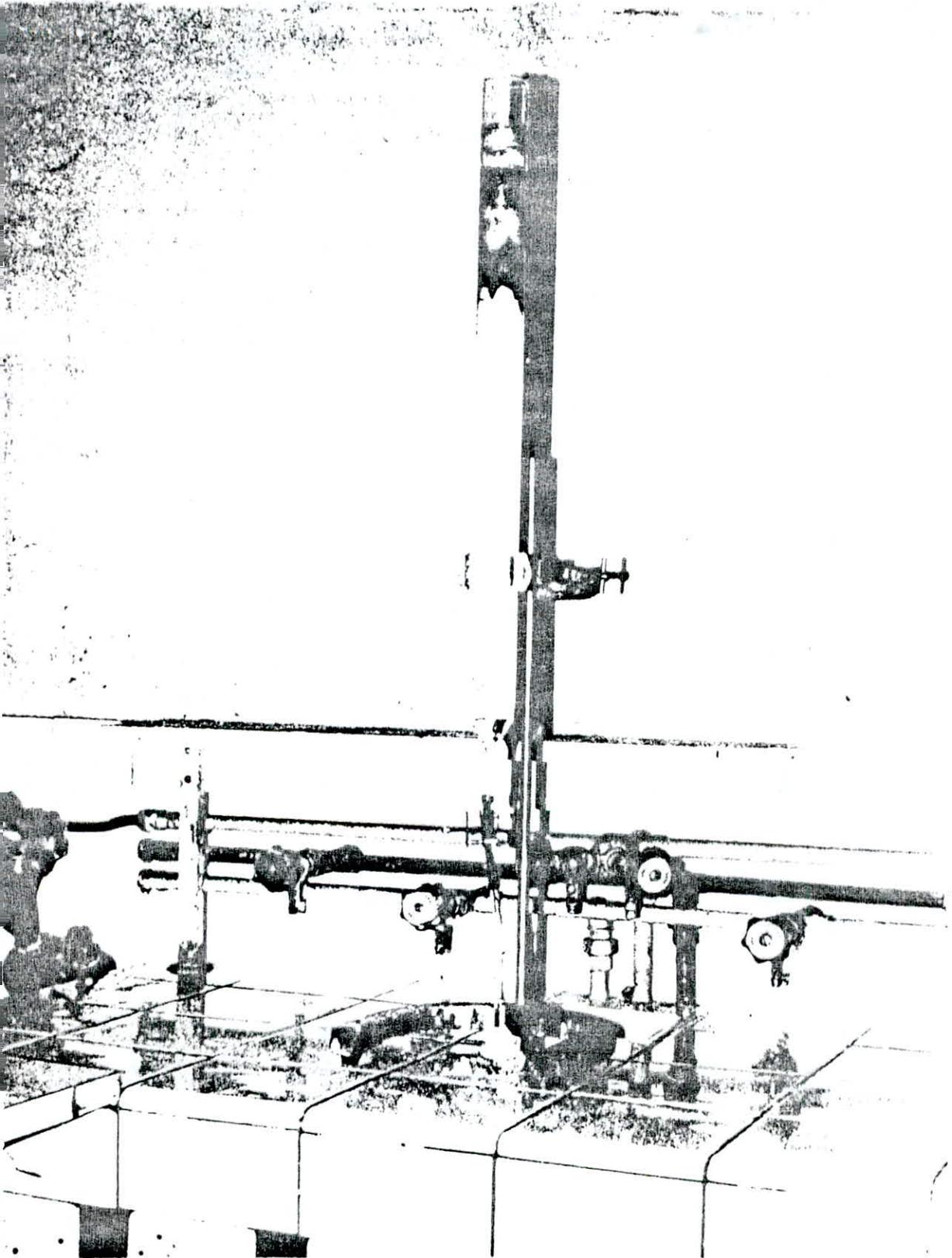


FIG. 6 : COLONNE CHROMATOGRAPHIQUE : Appareillage de la chromatographie sur gel de silice

Le robinet de la colonne est ensuite ouvert permettant ainsi au solvant de s'écouler et aux solutés de se fixer sur l'adsorbant, formant ainsi la zone initiale.

L'éluion est d'abord effectuée avec du n-pentane pur pour recueillir les hydrocarbures, puis nous avons utilisé des mélanges n-pentane - Ether diéthylique de plus en plus riche en ether, pour augmenter la polarité de l'éluant et récupérer ainsi les constituants plus polaires: Ethers, Cétones, Esters et Alcools.

Lors de cette opération, le débit de l'éluant est maintenu constant afin de ne pas laisser " sécher la colonne ".

L'éluat qui sort de la colonne coule goutte à goutte dans un tube à essai. Nous avons procédé ensuite, après évaporation du solvant, à la pesée du contenu de chaque tube ce qui nous a permis de représenter graphiquement les variations de la masse de chaque fraction en fonction du numéro du tube (chromatogramme) et de réunir ainsi les fractions identiques.

II-1.2. ANALYSE DES FRACTIONS DE L'HE.D'A. HERBA-ALBA-A550  
PAR C.P.G.

Nous avons effectué l'analyse des échantillons d'HE provenant des régions suivantes :

- \* Bordj-Bou-Argeridj
- \* Biskra
- \* Ghardaia

Une étude antérieure (33) nous a orienté sur le choix des conditions opératoires d'analyse par CPG.

Celle-ci a été réalisé à l'aide d'un chromatographe de type PYE UNICAM série 304 PHILIPS à détecteur à ionisation de flamme (FID), muni d'un intégrateur-enregistreur PV.4840 COMPUTING INTEGRATOR PHILIPS.

Les conditions d'analyse adoptées étaient les suivantes :

- Colonne Capillaire PEG.20M de longueur 25 m et de diamètre 0,25 mm. (ou colonne capillaire OV 101).
- Gaz Vecteur : Helium (BBA), Azote (Biskra, Ghardaia).
- Température : Colonne : 70°C ---- 200°C à raison de 4°C/mm.

Injecteur : 200° c.  
Détecteur : 300° c.

- Débit des gaz en ml/mn.
- Gaz Vecteur (Helium ou Azote) : 0,2
- Hydrogène : 33
- Air : 333
- Atténuation : 8 - 16 - 32
- Vitesse du papier (cm/mn) : 0,5
- Volume injecté (A1) : 0,1 - 1

Selon le protocole expérimental correspondant, nous avons enregistré les chromatogrammes des échantillons d'HE dont nous disposons et de chaque fraction obtenue par séparation sur gel de silice.

II-1.3. ANALYSE DES FRACTIONS DE L'HE. D'A. HERBA-ALBA ASSO  
PAR CG / SM

L'analyse de l'huile essentielle d'A. herba-alba-Asso a été effectuée sur un instrument HEWLETT-PACKARD composé d'un chromatographe 5890 série II, d'un spectromètre de masse 5970 A et d'un ordinateur HEWLETT - PACKARD 9153 C série 300.

Les conditions opératoires d'analyse sont données ci-dessous :

- Gaz vecteur : Helium ; débit = 1ml/min.
- Colonne capillaire : PEG 20 M de longueur L = 25 m et de 0,20 mm de diamètre.
- Température :
  - Colonne : 2 mn à 70°C ; puis de 70°C à 200 °C à raison de 4°C/min.
  - Injecteur : 200 ° C.
  - Détecteur : 250 ° C.

## II-2. TENTATIVE D'IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES

L'HE d'Artémisia herba-alba Asso que nous avons soumis aux diverses méthodes d'analyses a été extraite de la plante fleurie, provenant de trois régions d'Algérie.

Les échantillons de la plante ont été cueillis en Décembre 1988 dans les régions de Bordj-Bou-Arréridj, Biskra et Ghardaïa; et ils ont fait l'objet d'une étude antérieure (33) à travers laquelle une meilleure séparation des constituants de l'HE sur colonne capillaire PEG . 20 M a été constaté.

Pour compléter et confirmer cette identification nous avons utilisé la méthode des étalons. Les données bibliographiques (15,24) nous ont orienté dans le choix des étalons.

Nous avons enregistré dans les mêmes conditions que précédemment (paragraphe II.2) les chromatogrammes de chacun d'eux (Annexe ) et ceux correspondant à chacun des trois échantillons d'huile (Fig. 7, 8, 9).

L'examen de ces chromatogrammes nous a permis d'élucider en partie la composition de l'huile essentielle de chaque région et d'autre part de repérer les constituants majoritaires et d'avoir accès à leur teneur relative.

Par comparaison des temps de rétention des étalons à ceux des constituants de l'HE. d'A. herba-alba Asso de Bordj-Bou-Arréridj, nous avons réussi à identifier les composés suivants : p - Cymen, 1,8 - Cineol, Chrysanthénone,  $\alpha$  - Thyone, Borneol, Camphre, Carveol cis et trans et Alcool Cuminique.



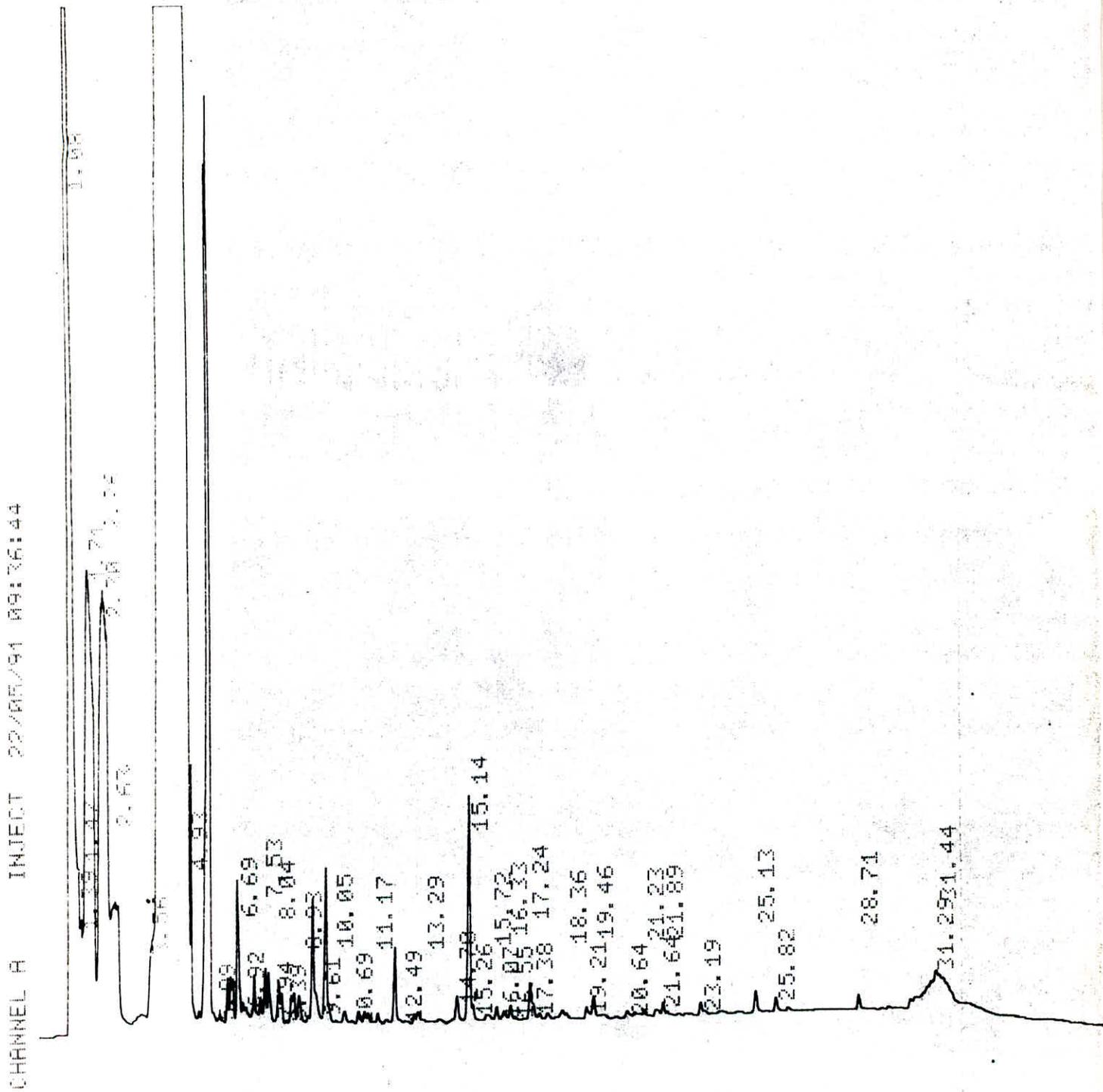


FIGURE -3- : Chromatogramme de l'HE. Ghardaia  
Sur colonne capillaire PEG. 20M



En procédant de la même façon pour l'échantillon de Biskra, nous avons constaté la présence de :  $\alpha$  Pinène,  $\alpha$  terpinène,  $\alpha$  Phellandrène,  $\alpha$  Thyone, Chrysanthénone, Camphre,  $\alpha$  Terpinéol et Aldehyde cuminique.

L'examen du chromatogramme correspondant à l'échantillon de Ghardaïa a révélé la présence de :  $\alpha$  Pinène,  $\alpha$  Terpinène,  $\alpha$  Thyone,  $\beta$  Thyone, Caryophyllen, P. Cymen - 8 - 01 et Alcool cuminique.

Ainsi, les échantillons étudiés peuvent être différenciés par les composés majeurs de l'huile qu'ils renferment :

Bordj-Bou-Arréridj : 27,25 %  $\alpha$  Thyone ,  
17,88 % Chrysanthénone,  
15,95 % Camphre.

Biskra : 50,04 %  $\alpha$  Thyone ,  
24,42 % Chrysanthénone,

Ghardaïa : 83,83 %  $\alpha$  Thyone ,  
3,70 %  $\alpha$  Pinène ,  
3,22 %  $\beta$  Thyone.

Nous constatons alors que la variation de la composition quantitative de l'HE d'A. herba-alba-Asso en fonction du lieu de développement de la plante est très importante, ce qui nous permet de confirmer les hypothèses avancées par BENDJILALI et COLL (14).

II-3. TENTATIVE D'IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS DES FRACTIONS ISSUES DE LA SEPARATION DE L'HE SUR COLONNE DE GEL DE SILICE

II-3.1. HUILE ESSENTIELLE D'A.HERBA-ALBA ASSO EXTRAITE DE LA PLANTE DE BORDJ-BOU-ARRERIDJ

II-3.1.1. SEPARATION SUR COLONNE DE GEL DE SILICE DE L'HE DE LA PLANTE DE BORDJ-BOU-ARRERIDJ

La séparation sur colonne de gel de silice de l'HE de Bordj-Bou-Arreridj nous a permis d'obtenir onze fractions que nous avons analysé par CPG, dans les conditions citées précédemment.

Un premier examen des chromatogrammes obtenus, nous a permis de rassembler les fractions dont les chromatogrammes étaient identiques et d'en réduire ainsi le nombre à quatre à savoir :

La fraction A :

Constituée des fractions 2, 3 et 4; la fraction 1 ne comportait que du solvant en l'occurrence du n - pentane.

La fraction B :

Constituée des fractions 5 et 6.

La fraction C :

Constituée des fractions 7, 8, 9 et 10

La fraction D :

Constituée de la fraction 11.

## II-3.1.2. ANALYSE PAR CPG DES QUATRE FRACTIONS :

### Fraction A : (Fig.10)

La fraction A regroupe les HC peu polaires élués au n-pentane. Par comparaison des temps de rétention des étalons dont nous disposons aux temps de rétention des pics du chromatogramme obtenu, nous avons pu identifier les constituants suivants :  $\alpha$  Pinène,  $\beta$  pinène,  $\alpha$  thylene,  $\beta$  thylene, du camphre et des traces de : 1,8 cinéol,  $\alpha$  phellandrené, p-cymen, chrysanthénone, acétate de Bornyl, iso-bornéol,  $\alpha$  terpineol du bornéol et p-cymen-8 ol.

D'autre part, cette fraction a été analysée par CG / SM.

Le chromatogramme obtenu (Fig.14) présente plusieurs pics.

L'exploitation des spectres de masse nous a permis d'en identifier quelques uns, à savoir : La  $\alpha$  et  $\beta$  thylene, l'acétate de chrysanthényl, la cis-verbenone et éventuellement la carvone, le sabinène ou le  $\alpha$  terpinène. Les spectres de masse de ces constituants sont donnés aux figures (15a, 15b).

### Fraction B :

L'examen du chromatogramme de cette fraction (Fig.11) nous a permis de mettre en évidence la présence de : Camphène,  $\alpha$  et  $\beta$  pinène, 1,8 cinéol, p-cymen,  $\alpha$  thylene, chrysanthénone, camphre, acétate de Bornyl, Aldehyde cuminique, p cymen-8-ol et alcool cuminique.

### Fraction C :

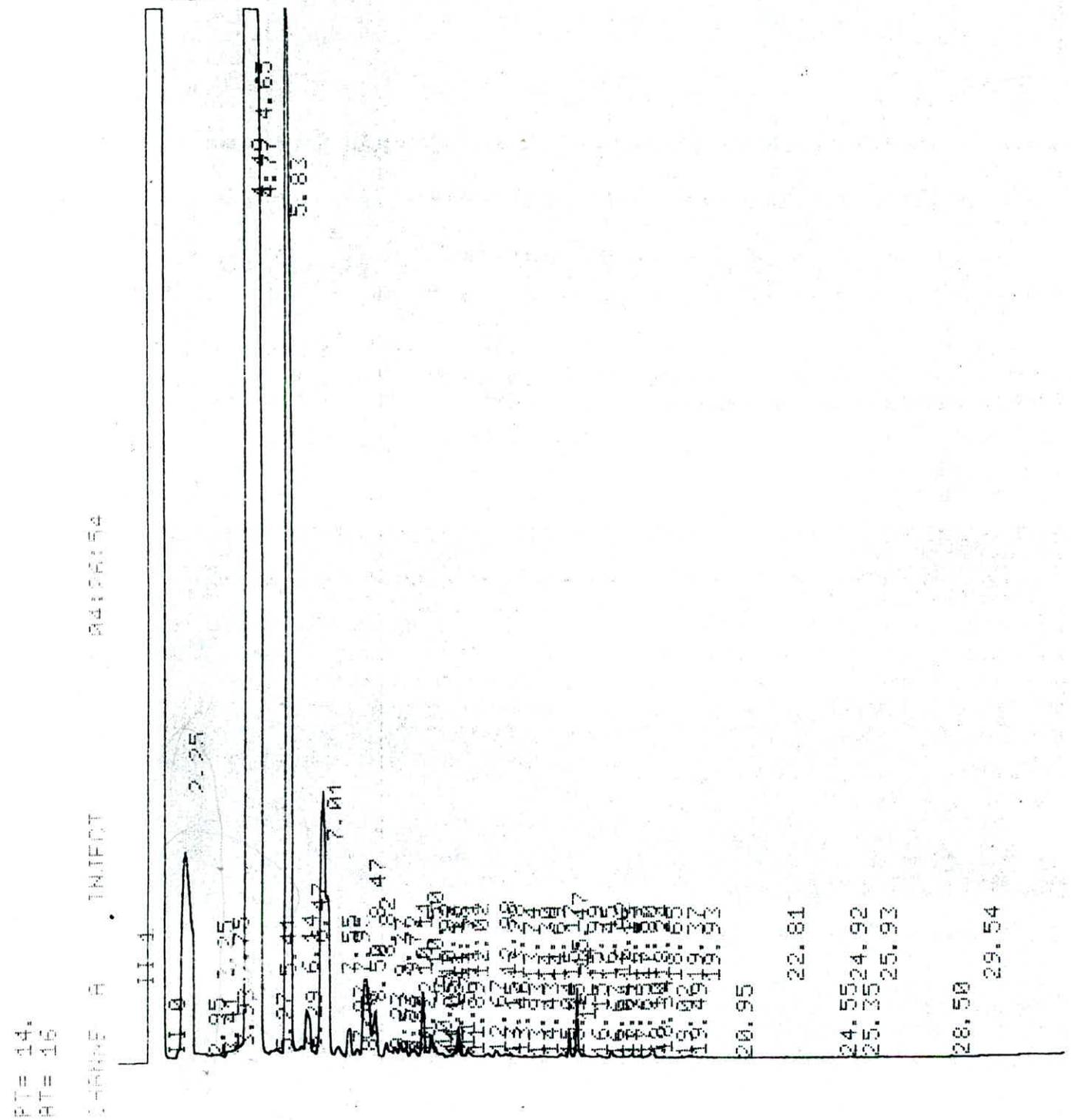
Celle ci est relativement pure, elle est constituée essentiellement de camphre (Fig.12) (83,4 %), et des traces de :  $\beta$  pinène, 1,8 cinéol, chrysanthénone,  $\alpha$  thylene, camphre, carveol trans, alcool cuminique et de l'acétate de bornyl.

### Fraction D :

Le chromatogramme de cette fraction (Fig.13) est très fourni, malheureusement seuls quelques uns ont pu être identifiés, à savoir :  $\alpha$  pinène,  $\beta$  pinène, p.cymen, 1,8 cinéol,  $\alpha$  terpinène, chrysanthénone,  $\alpha$  et  $\beta$  thylene, camphre, carveol cis + trans, aldehyde cuminique, acétate de bornyl, alcool cuminique et du caryophyllen. Cependant, une analyse par CG/SM est à prévoir pour confirmer la présence de ces constituants.

CONCLUSION :

L'analyse par CPG des fractions issues de la séparation sur colonne de gel de silice de l'HE extraite de la plante de Bordj-Bou-Argeridj a permis l'identification de quelques constituants, à savoir :  $\alpha$  pinène, camphre,  $\beta$  pinène, 1,8-cinéol,  $\alpha$  phyllandréne, p-cymen, chrysanthénone, acétate de bornyl, iso bornéol,  $\alpha$  terpinéol, Bornéol, acétate de chrysanthényl, cis-verbénone,  $\alpha$  et  $\beta$  thyon, camphre, aldehyde cuminique, alcool cuminique, carveol cis + trans, caryophyllen,  $\alpha$  terpinène, p-cymen B.01 et essentiellement la carvone et le sabinène (ou le  $\alpha$  terpinène). Une analyse par CG/SM est à envisager pour confirmer cette identification.



PT= 18.

CHANNEL A INJECT 17/03/19 16:00:51

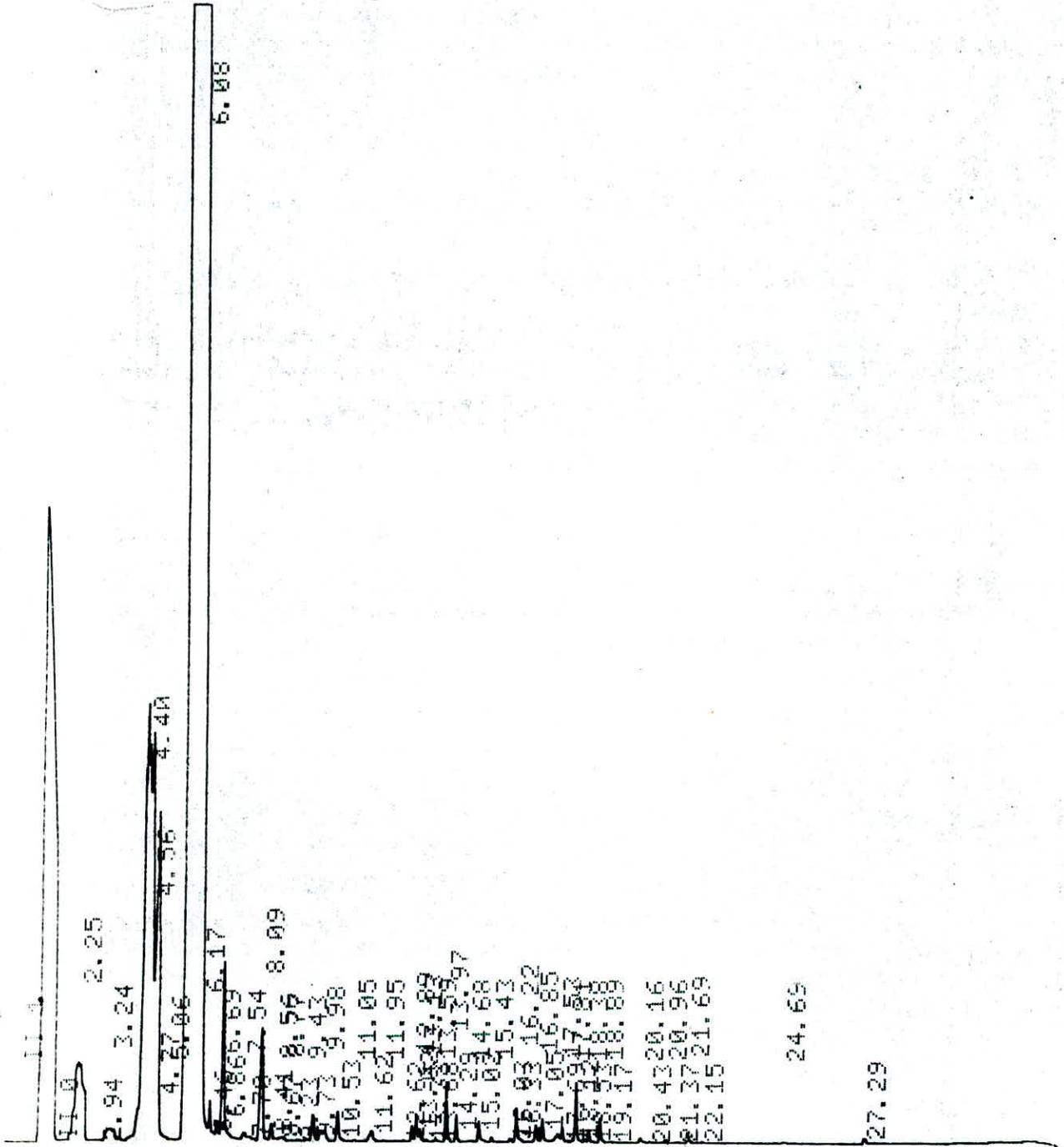


FIGURE 11 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION B DE L'HE B.B.A. SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20.M

CHANNEL A INJECT 24/07/94 14:02:18

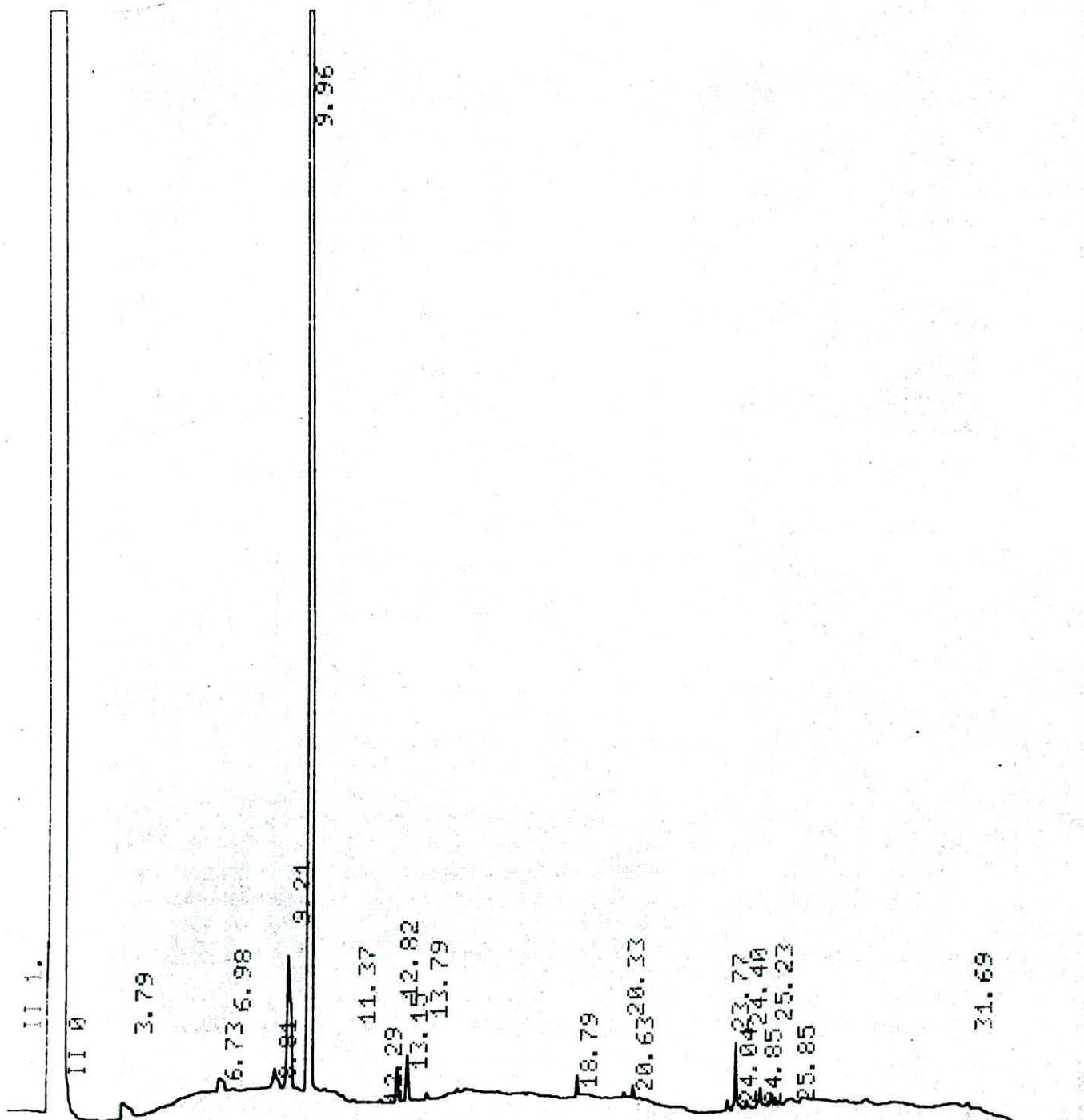


FIGURE 12 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION C DE L'HE B.B.A. SUR COLONNE CAPILLAIRE OV.101

Spectra-Physics

CHANNEL 8 INJECT 24/03/94 15:59:19

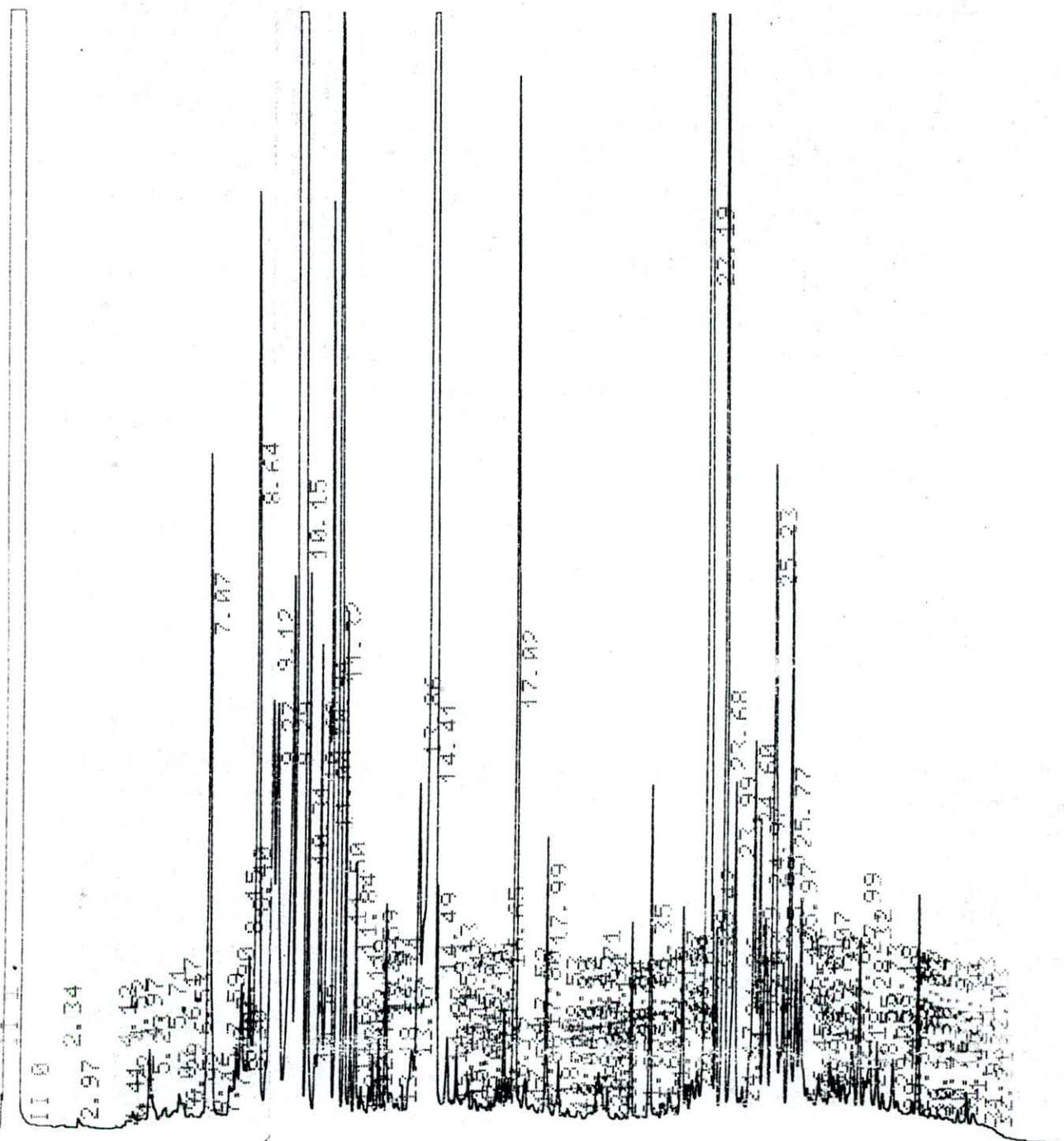


FIGURE 13 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION D DE L'HE B.B.A. SUR COLONNE CAPILLAIRE OV.101

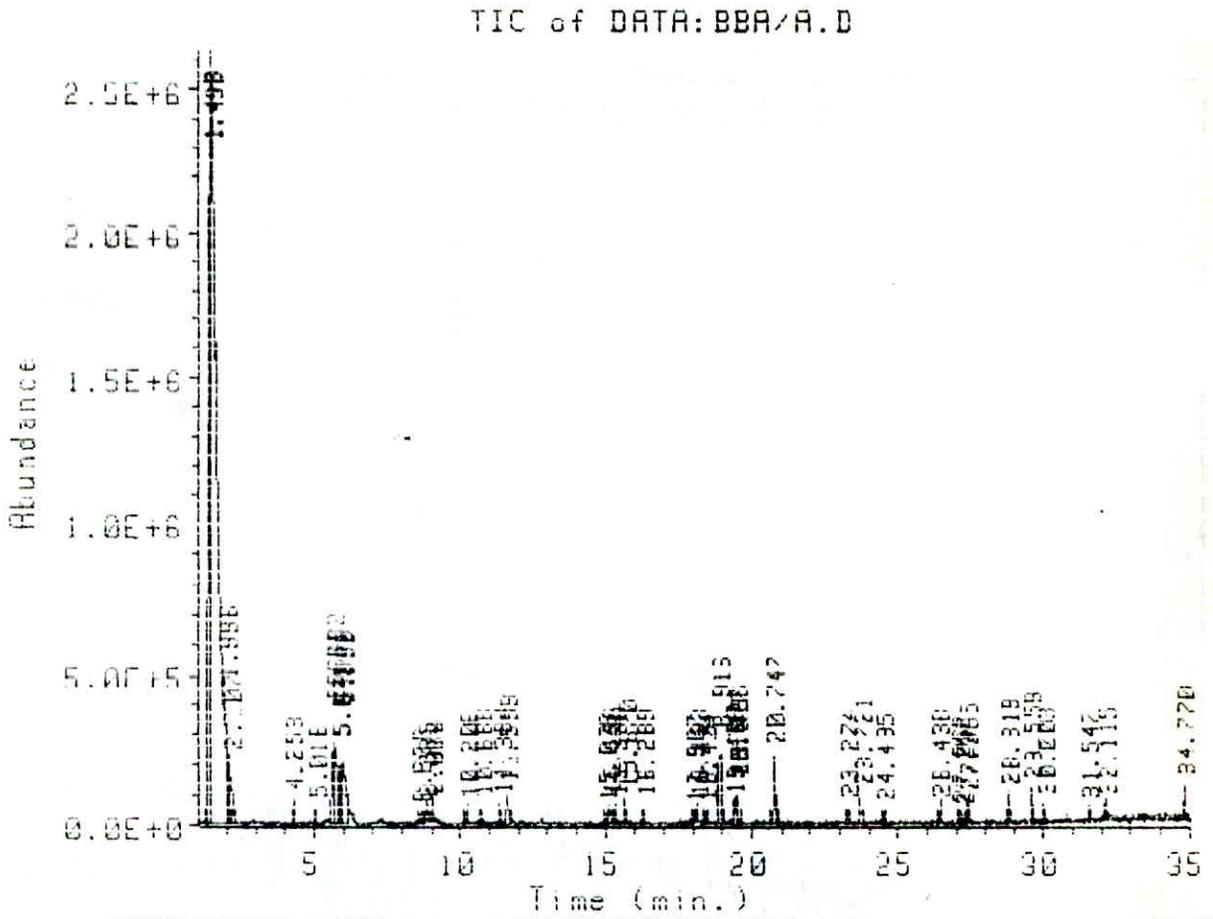
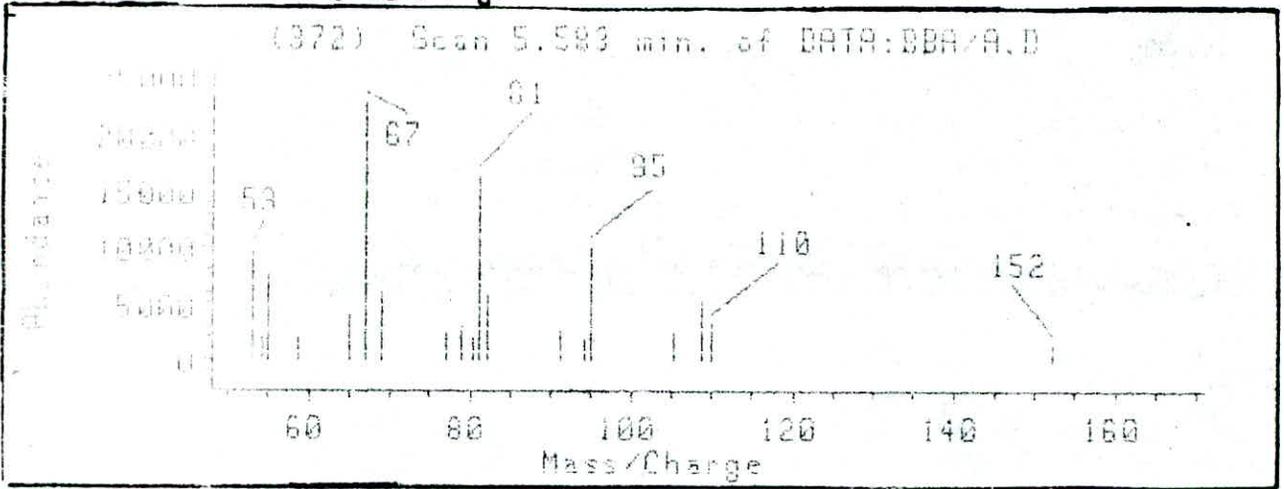
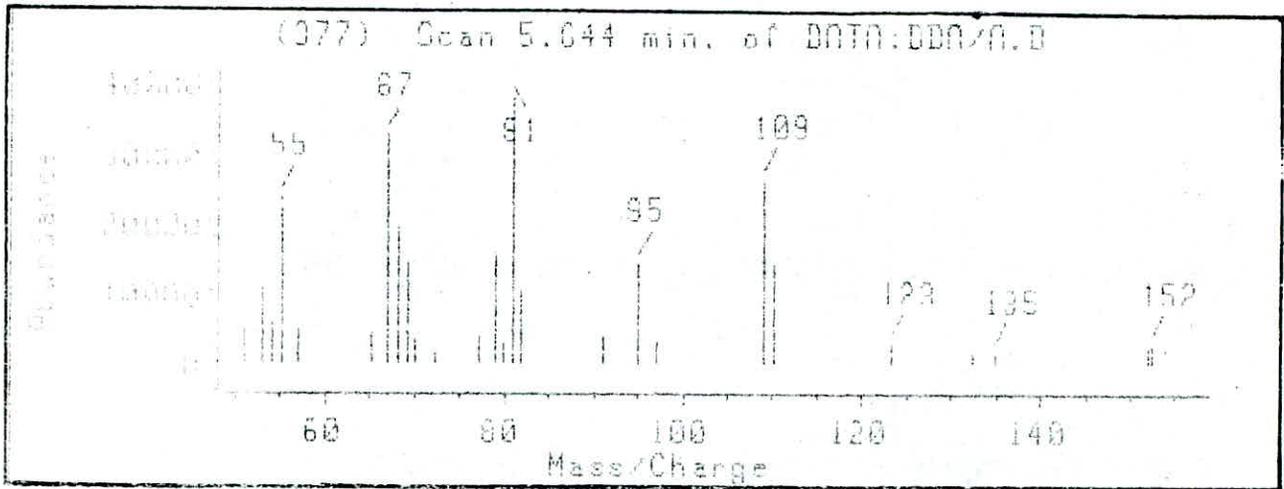


FIGURE 14 : CHROMATOGRAMME DE L'HE.HERBA.ALBA.ASSO  
EXTRAITE DE LA PLANTE DE B.B.A. OBTENU  
PAR CG/SM

1)  $\alpha$ -Thyone



2)  $\beta$ -Thyone



3) Acetate de chrysanthème

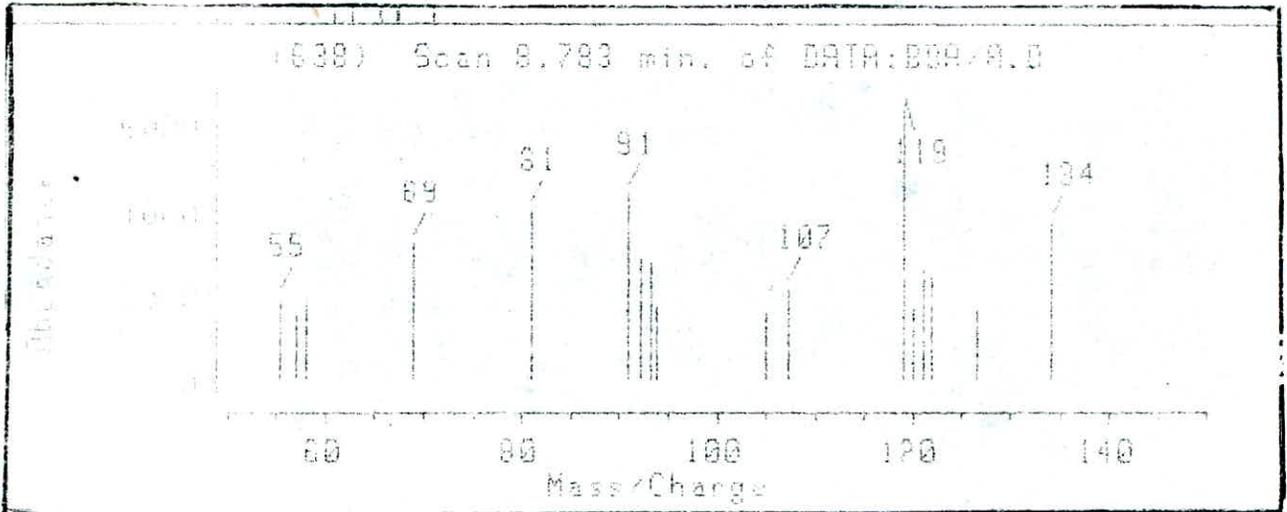
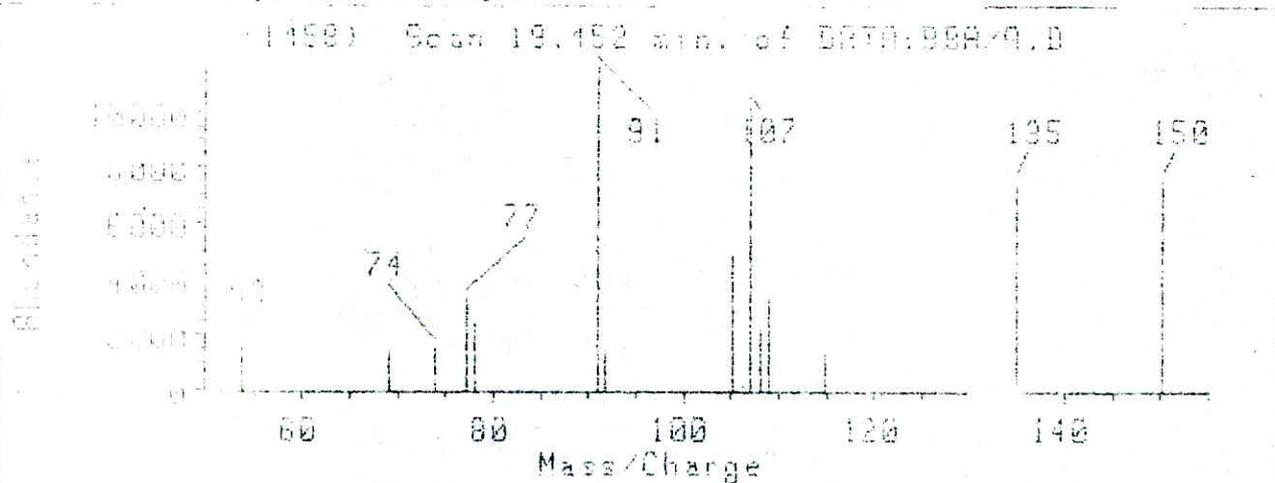
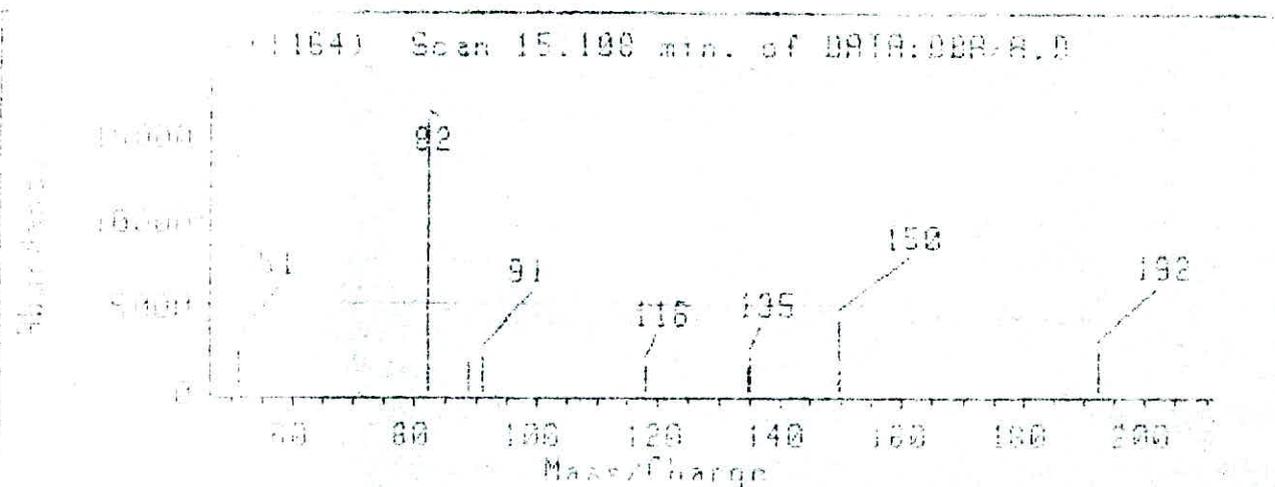


FIGURE 15 a. SPECTRES DE MASSE DES CONSTITUANTS IDENTIFIES DANS L'HE. HERBA ALBA ASSO EXTRAITE DE LA PLANTE DE B.B.A.

1) *cis* verbenone. -60-



2) Camphor



3) sabinene (= *α*-terpinene)

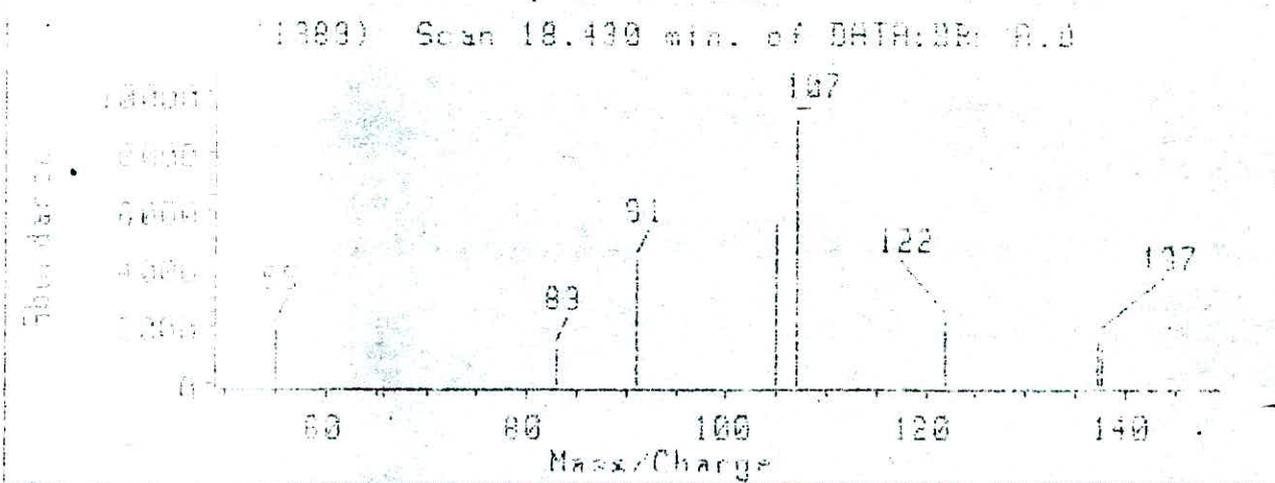


FIGURE 15b: SPECTRES DE MASSE DES CONSTITUANTS IDENTIFIES DANS L'HE.HERBA ALBA ASSO EXTRAITE DE LA PLANTE DE B.B.A.

## II-3.2. HUILE ESSENTIELLE D'A. HERBA-ALBA ASSO EXTRAITE DE LA PLANTE DE BISKRA

### II-3.2.1. SEPARATION SUR COLONNE DE GEL DE SILICE DE L'HE DE LA PLANTE DE BISKRA

La séparation sur colonne de gel de silice de l'HE extraite de la plante de Biskra a fourni une vingtaine de fractions que nous avons analysé par CPG dans les conditions citées précédemment.

L'examen préliminaire des chromatogrammes de ces fractions nous a permis d'en réduire le nombre à cinq, notées respectivement : fraction A, B, C, D et E.

### II-3.2.2. ANALYSE PAR CPG DES DIFFERENTES FRACTIONS

#### Fraction A :

Le chromatogramme de cette fraction (Fig.16) suggère la présence d'hydrocarbures lourds. Malheureusement aucun des pics présents ne correspond aux étalons dont nous disposons.

L'analyse par CG/SM aurait pu nous aider à les identifier, mais elle n'a pu être réalisée en raison de l'appareil qui est tombé en panne.

#### Fraction B :

Cette fraction (Fig.17) contient de la  $\beta$  thylene et des traces de  $\alpha$  pinène de camphène et de l'acétate de Bornyl.

Nous remarquons également la présence de quelques pics déjà majoritaires présents dans la fraction A que nous n'avons pas réussi à identifier.

#### Fraction C :

Le chromatogramme de cette fraction (Fig.18) présente des pics bien séparés, correspondant à des constituants relativement polaires, parmi ces pics nous avons pu identifier : du camphène,  $\beta$  pinène,  $\alpha$  thylene,  $\beta$  thylene, camphre, acétate de bornyl et de quelques traces de caryophyllen, du  $\alpha$  terpineol, du p.cymen.8.01 et du carveol trans.

CHANNEL A INJECT 08/04/91 10:12:33

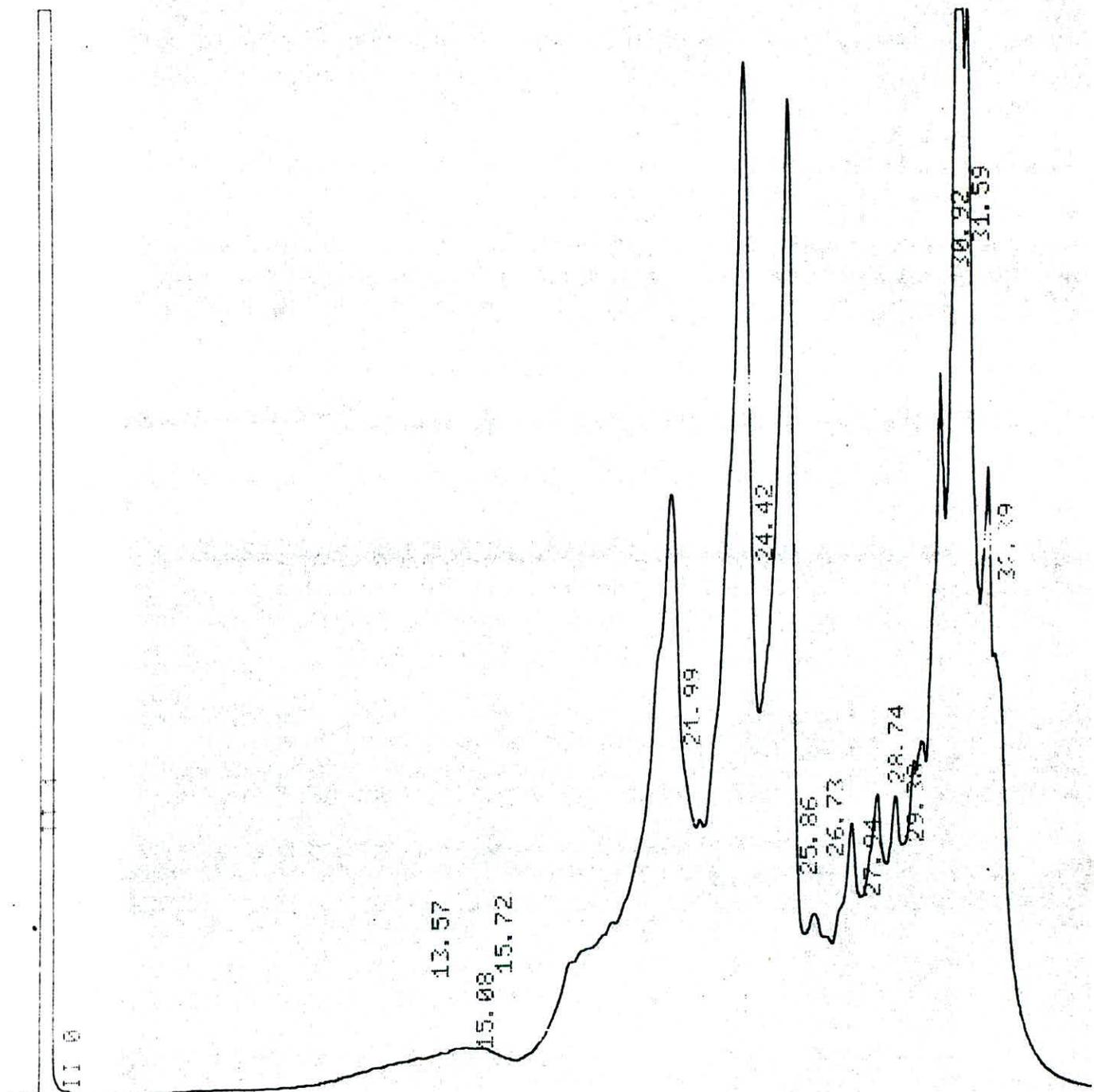


FIGURE 16: CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION A DE L'HE BISKRA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M

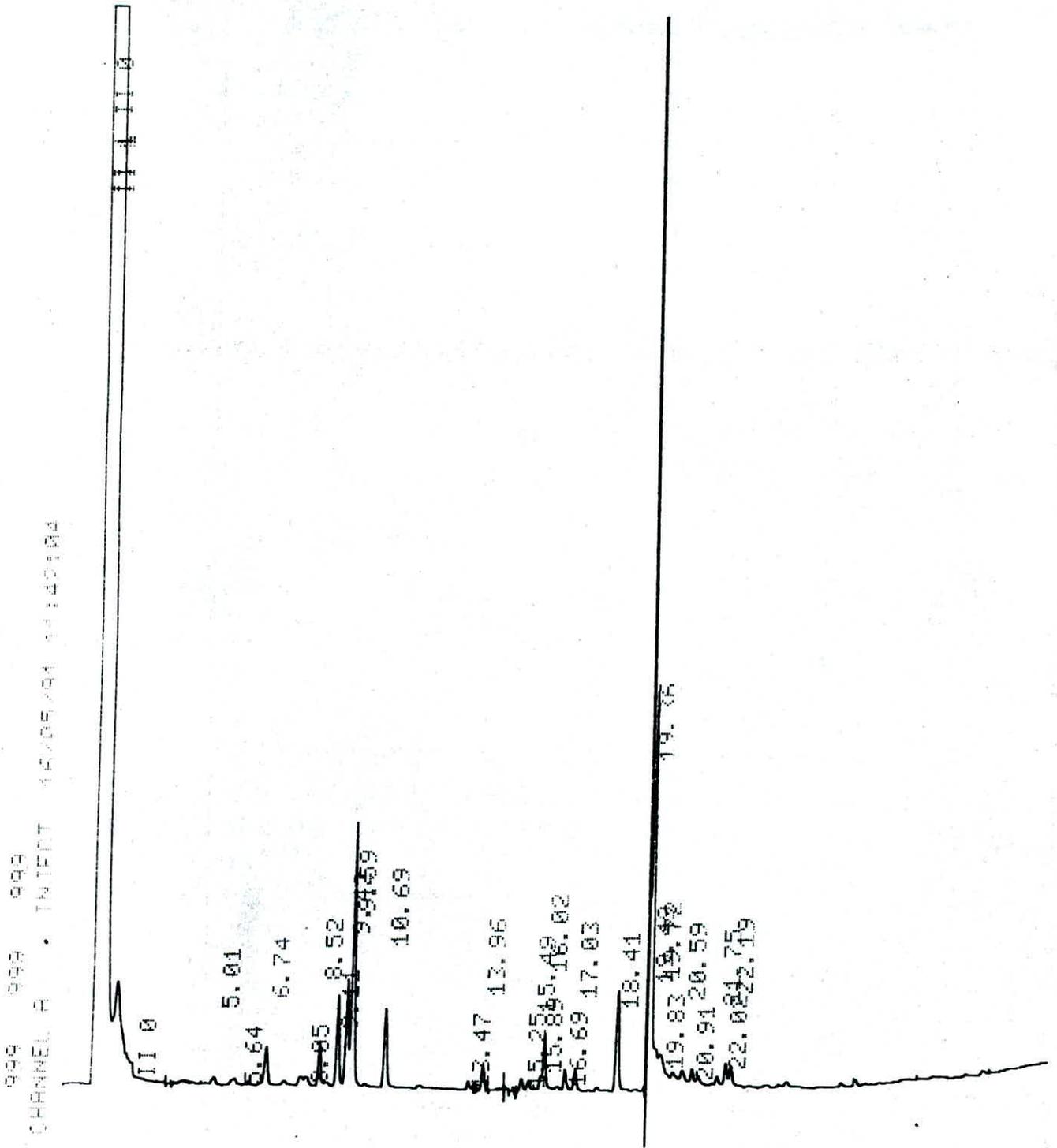


FIGURE 17: CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION B DE L'HE BISKRA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M

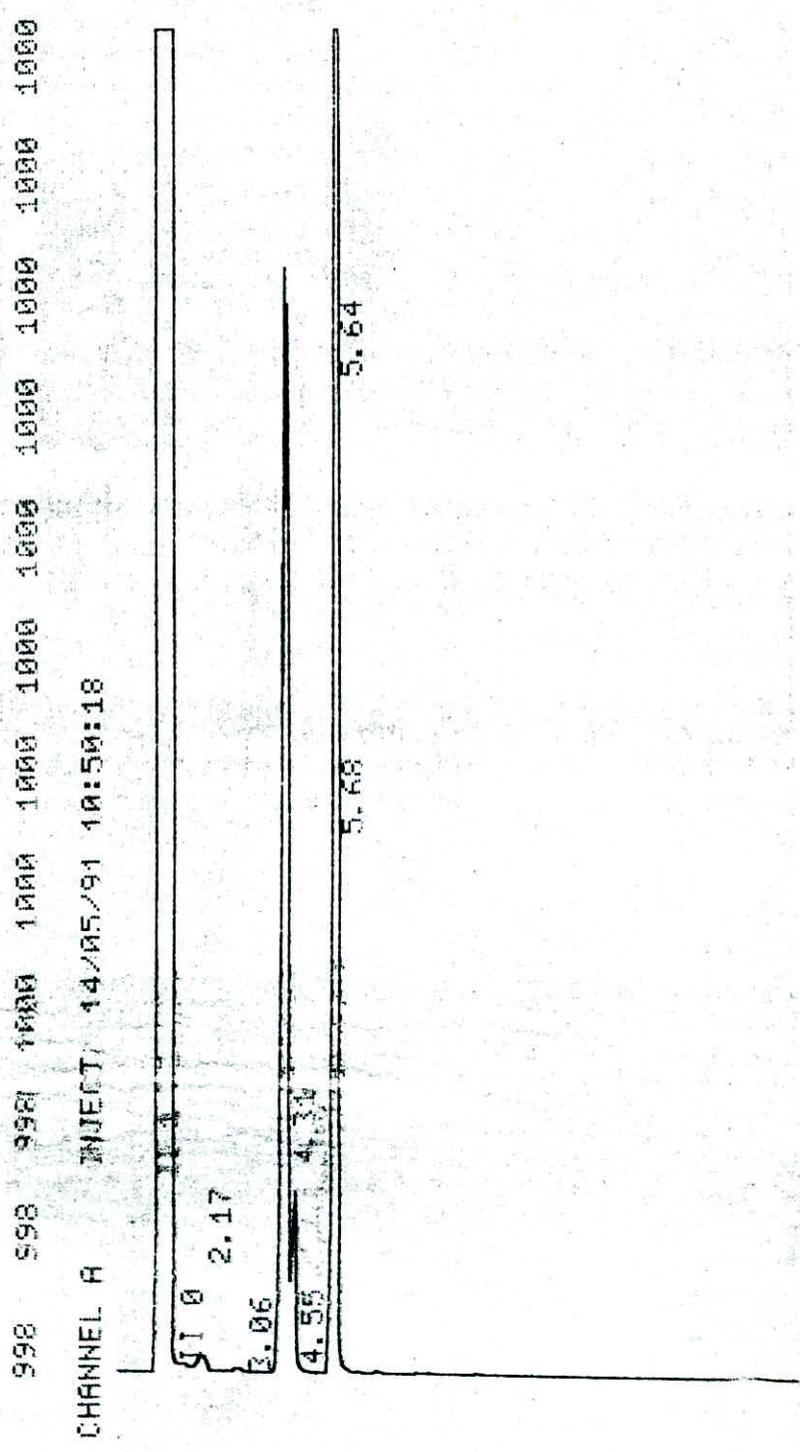


FIGURE 19: CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION C DE L'HE BISKRA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M

Fraction D :

L'examen du chromatogramme de cette fraction (19) montre que celle-ci est essentiellement constituée de :  $\alpha$  phyllandène,  $\alpha$  thyone,  $\beta$  thyone et des traces de camphène.

Fraction E :

Plusieurs pics apparaissent dans le chromatogramme (20) de cette fraction. Cependant, seuls les constituants suivants ont été identifiés :  $\alpha$ .Thyone,  $\beta$ .thyone, camphre, acétate de bornyl, bornéol, p.cymen.8.01, carveol trans et l'alcool cuminique.

Cependant les constituants majoritaires n'ont pas été identifiés (44,13 % et 14,33 %) du fait qu'ils ne correspondent à aucun des étalons dont nous disposions.

II-3.2.3. CONCLUSION :

L'analyse par CPG des fractions issues de la séparation sur colonne de gel de silice de l'HE extraite de l'Artémisia herba-alba Asso de Biskra, nous a permis de confirmer la présence des constituants suivants :  $\alpha$  pinène, camphène,  $\beta$  pinène,  $\alpha$  terpinène,  $\alpha$ .thyone,  $\beta$ .thyone, acétate de bornyl, camphre, caryphyllén,  $\alpha$  terpineol, p-cymen, 8-01, carveol trans,  $\alpha$  phellandrène, borneol et alcool cuminique.

L'identification pourrait être complétée par une analyse ultérieure par CG/SM.

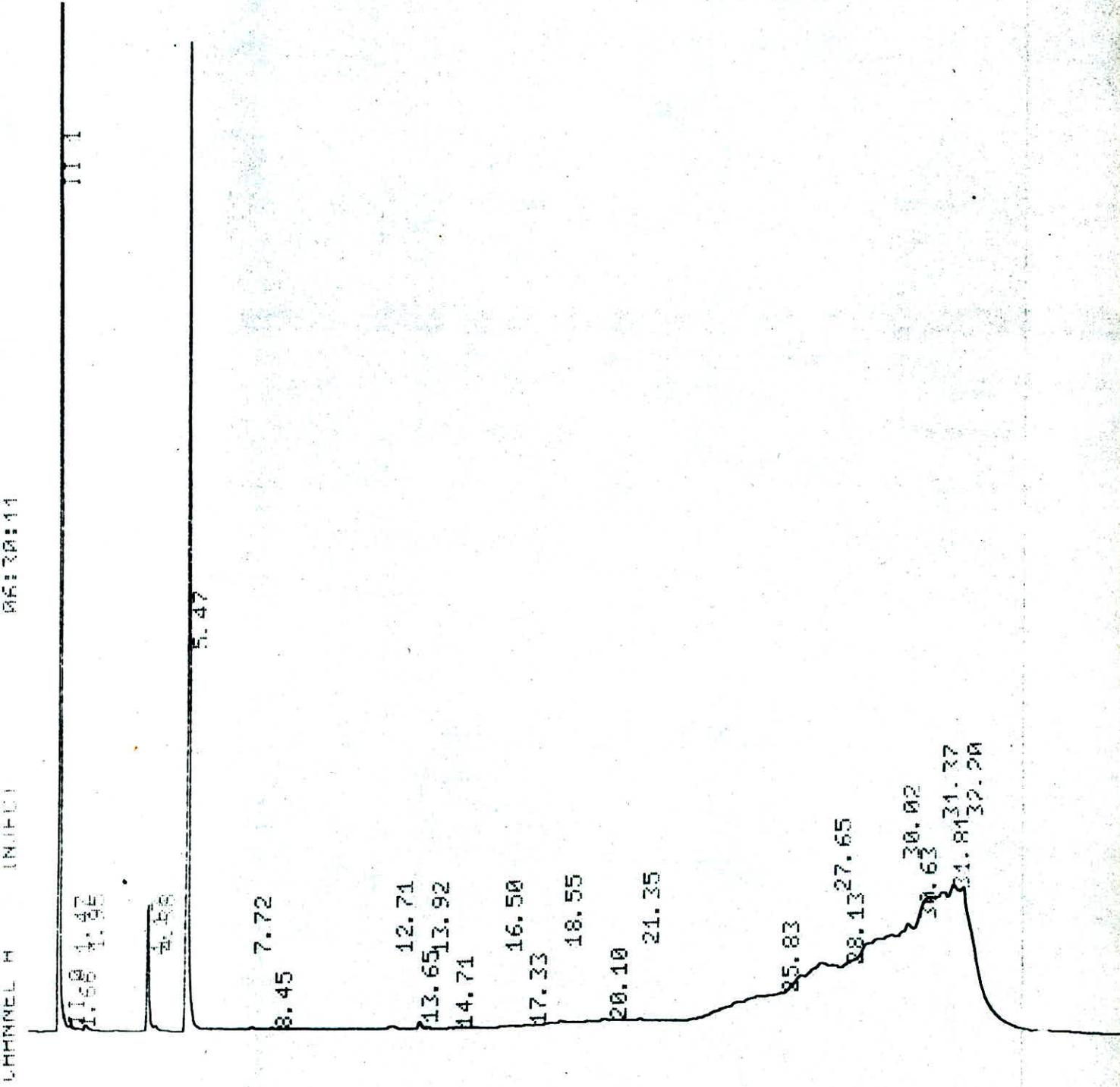


FIGURE 19 : CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION B DE L'HE BISKRA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M

CHANNEL H INJECT 30/04/91 13:58:18

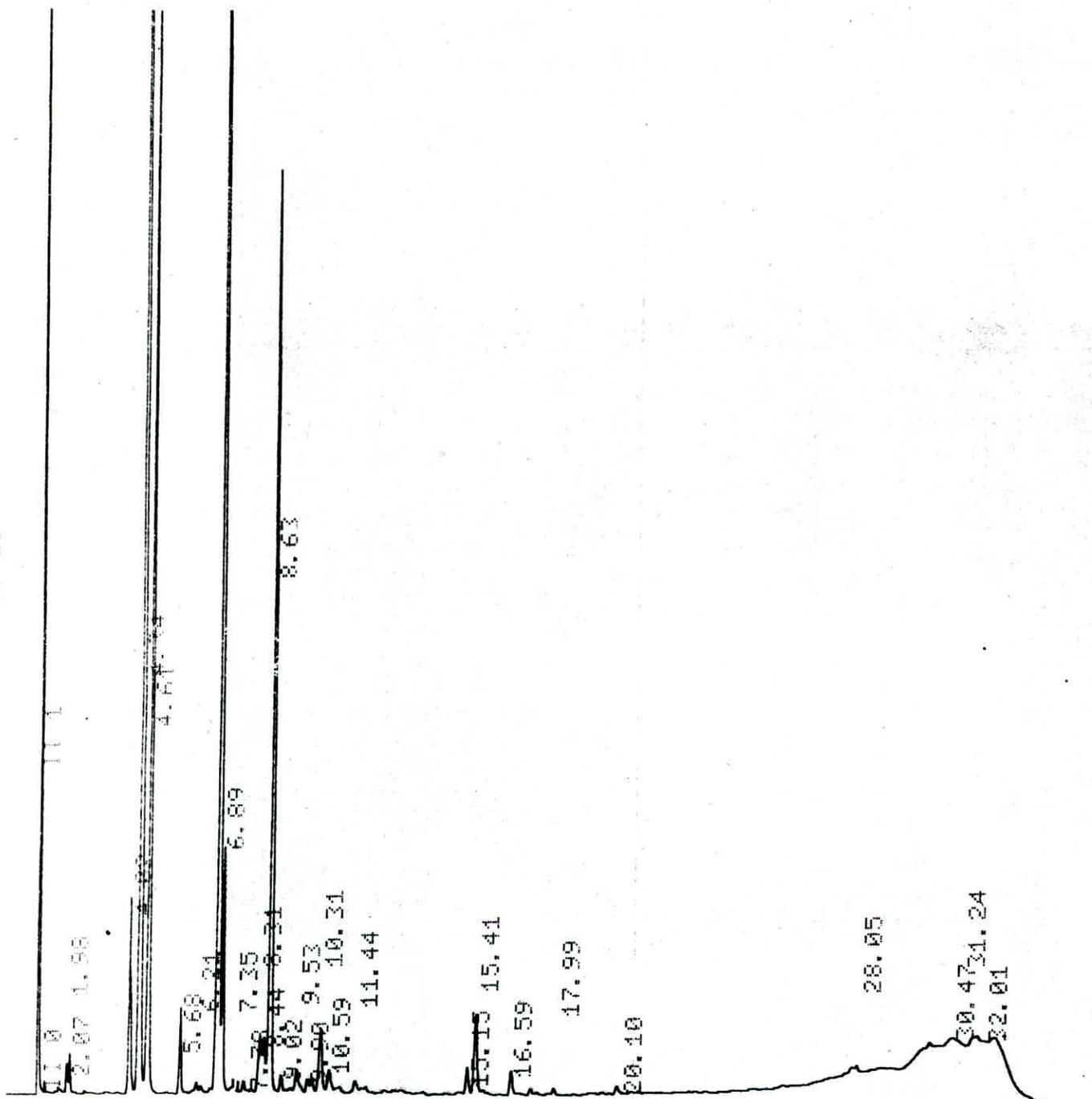


FIGURE 20: CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION E DE L'HE BISKRA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M

### II-3.3. HUILE ESSENTIELLE D'A. HERBA-ALBA-ASSO EXTRAITE DE LA PLANTE DE GHARDAIA

#### II-3.3.1. SEPARATION SUR COLONNE DE GEL DE SILICE DE L'HE DE LA PLANTE DE GHARDAIA

cet échantillon d'HE a subi le même protocole expérimental que les deux précédents. Nous avons obtenu 24 fractions que nous avons également analysé par CPG dans les mêmes conditions.

Après examen des chromatogrammes obtenus, le nombre de fractions a été réduit à trois, notées fractions A, B et C.

#### II-3.3.1. ANALYSE PAR CPG DES DIFFERENTES FRACTIONS

##### Fraction A :

Le chromatogramme de cette fraction est représenté par la (Fig. 21). Les pics identifiés correspondent aux :  $\alpha$  pinène, camphène,  $\beta$  pinène,  $\beta$  thylene et acétate de borneol.

##### Fraction B : (Fig. 22)

En plus des constituants déjà identifiés dans la fraction A et en proportion plus importante dans cette fraction, nous avons pu identifier le  $\alpha$  terpinène, le camphre et l'iso-borneol.

##### Fraction C :

Le chromatogramme de cette fraction (Fig. 23) est très fourni. Il présente entre autre les mêmes constituants que la fraction B. Parmi les nouveaux pics, seuls le borneol, le chrysanthénone, le caryophyllen, le  $\alpha$  terpineol, le carveol et le thymol ont pu être identifiés.

Une analyse par CG / SM est à prévoir pour compléter cette identification.

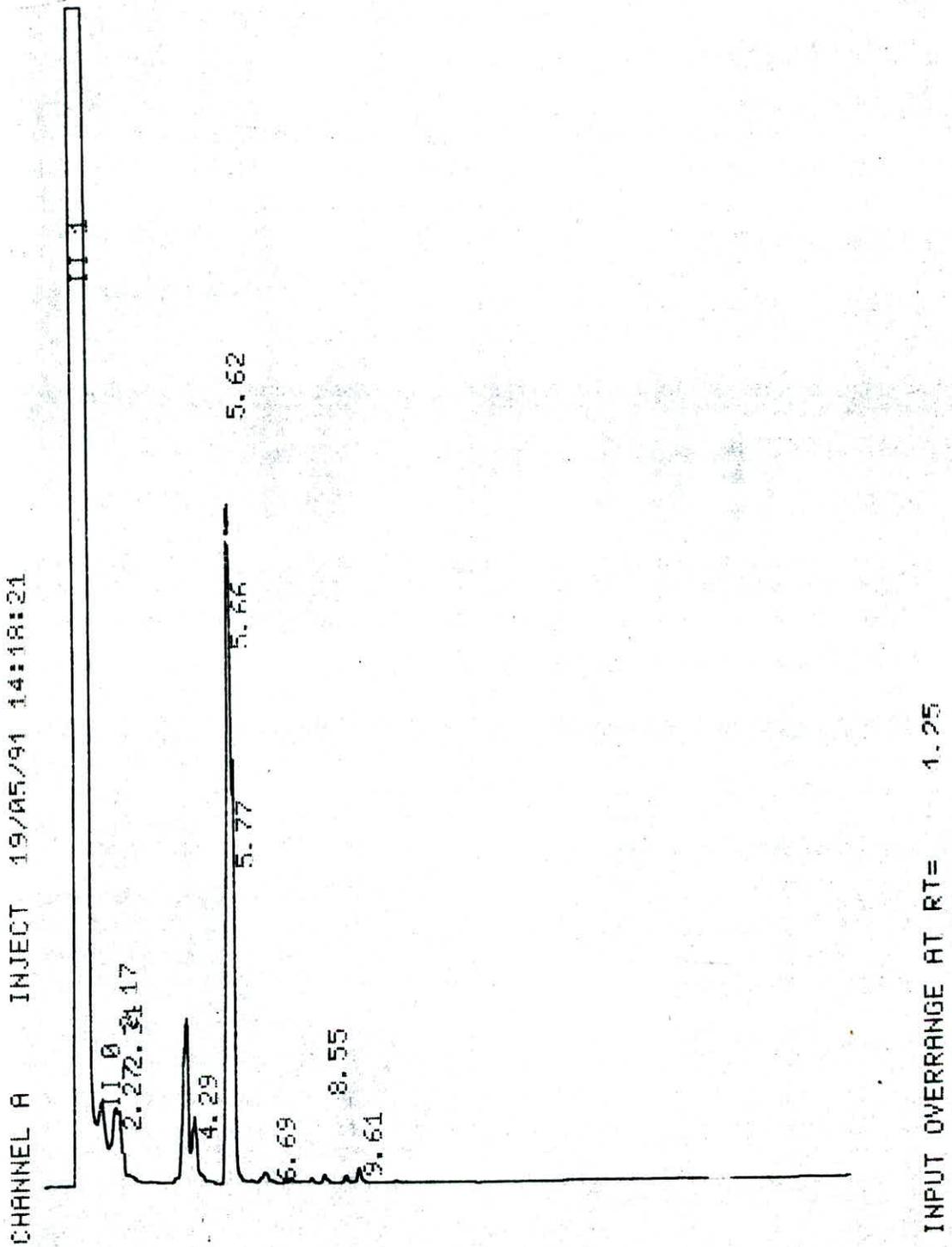


FIGURE 21: CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION A DE L'HE GHARDAIA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M

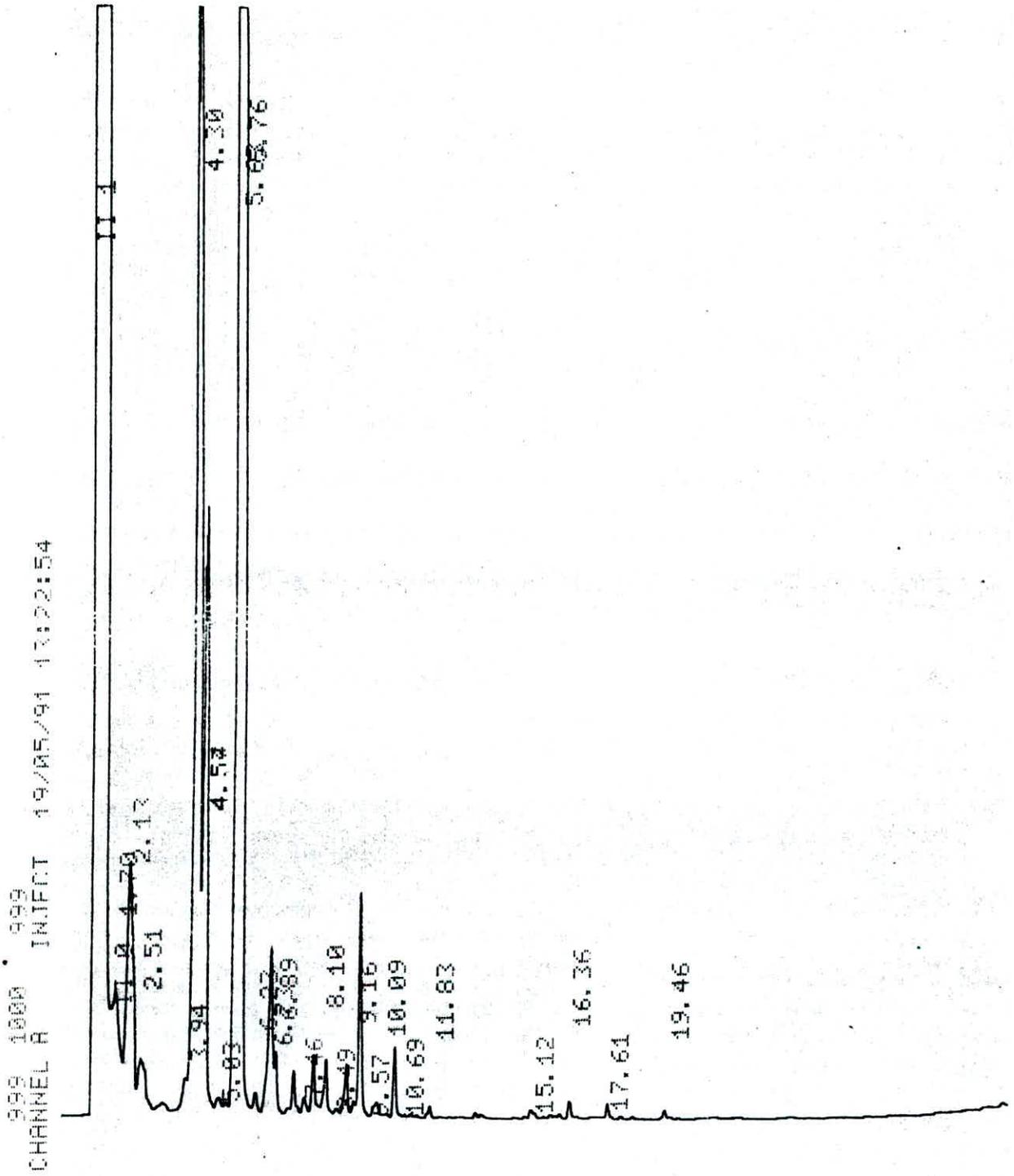


FIGURE 22: CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION B DE L'HE  
GHARDAIA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG.20M

CHANNEL A INJECT 19/05/91 12:39:30

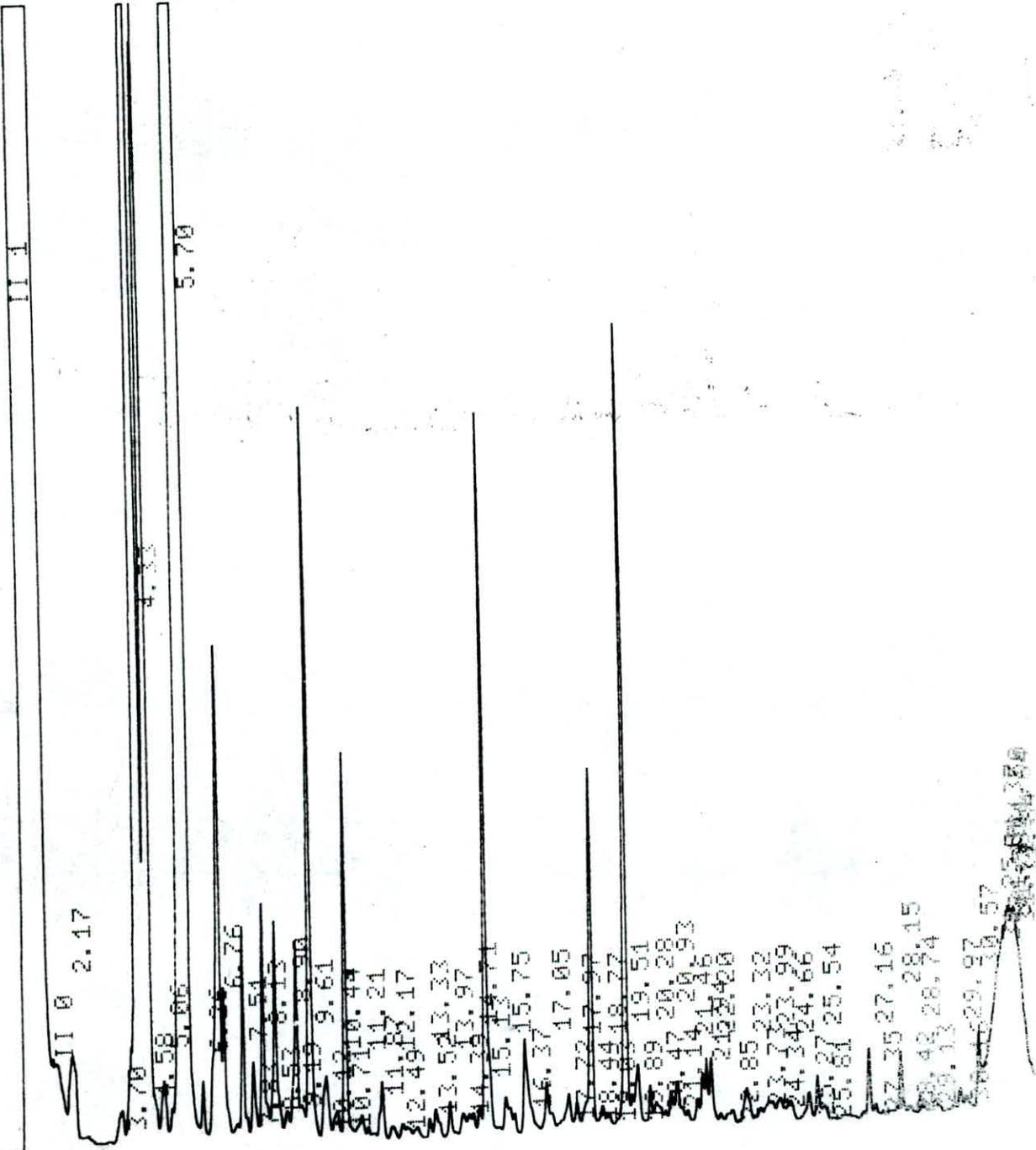


FIGURE 23: CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION C DE L'HE GHARDAIA SUR COLONNE CAPILLAIRE PEG 20M

### II.3.3.3. CONCLUSIONS :

L'analyse par CPG des fractions issues du fractionnement sur gel de silice de l'HE d'Artémisia herba-alba-Asso extraite de la plante de Ghardaïa, nous a permis d'élucider la présence de certains composés tels que :  $\alpha$  pinène,  $\beta$  pinène, camphène,  $\beta$  thyone,  $\alpha$  terpinène, camphre, acétate de bornyl, iso-bornéol, bornéol, chrysanthénone, caryophyllen,  $\alpha$  terpinol, carvéol cis et le thymol.

**ANALYSE DES CONSTITUANTS D'HE D'ARTEMISIA  
HERBA-ALBA ASSO AYANT SUBIT UNE TRANSFORMATION  
ANTERIEURE A L'INTRODUCTION DE L'ECHANTILLON  
DANS LE CHROMATOGRAPHE**

## I-1. HYDROGENATION DES HUILES ESSENTIELLES

### I-1.1. INTRODUCTION :

L'hydrogénation présente l'une des plus importantes transformations des corps gras. Cette opération industrielle a pour but de modifier partiellement ou totalement la structure de ces derniers pour les rendre utilisables de manière plus efficace par l'industrie des corps gras (67).

### I-1.2. HISTORIQUE D'HYDROGENATION:

S'appuyant sur les travaux de SABATIER et SENDERENS (Université de Toulouse, en 1890) relatifs à l'hydrogénation catalytique, le chimiste allemand NORMANN appliqua, en 1902, la technique d'hydrogénation aux corps gras en phase liquide avec un catalyseur suspendu, à base de Nickel (67).

En 1912, naissait l'industrie d'hydrogénation des huiles et graisses. Cette invention permet, par combinaison avec l'hydrogène, de traiter les huiles et graisses végétales et animales, disponibles en quantité suffisante et d'en améliorer favorablement la conservation et la consistance.

A cela, s'ajoute que la plupart des huiles de départ perdent pendant l'hydrogénation leur odeur spécifique et deviennent de ce fait pleinement utilisables pour des usages alimentaires et industriels.

Aujourd'hui, il est possible de produire par hydrogénation un grand nombre de produits avec des caractéristiques particulières.

### I-1.3. DEFINITION DE L'HYDROGENATION :

L'hydrogénation est une opération industrielle qui consiste à fixer des molécules d'hydrogène sur les doubles liaisons des acides gras mono et polysaturés (hydrogénation catalytique) et qui permet d'une part d'accroître la stabilité thermique de l'huile et sa résistance à l'autooxydation et d'autre part d'élever son point de fusion (67,68)

### I-1.4. L'HYDROGENATION CATALYTIQUE HETEROGENE :

L'hydrogénation catalytique hétérogène (69) utilise les métaux réduits, insolubles dans le milieu tels que Pd, Pt, Ni, Cu, plus ou moins modifiés par voie chimique ou physique.

La réaction s'effectue par échanges entre phases à la surface du catalyseur; elle est contrôlée cinétiquement par des étapes d'adsorption et de désorption, et de ce fait l'activité et la sélectivité d'un catalyseur dépendent de nombreux facteurs entre autres état et nature de sa surface, pression, vitesse d'agitation et température. Il a été démontré que, dans chaque catalyse hétérogène, au moins l'un des deux réactifs est adsorbé chimiquement sur le catalyseur. Plusieurs auteurs admettent que ceci s'applique à la double liaison des acides gras insaturés.

Au cours d'une réaction catalytique (70), les doubles liaisons des acides gras naturels se trouvent en contact avec un centre métallique (catalyseur) disposant d'orbitales " d " vacantes, il s'ensuit une interaction du type donneur-accepteur d'électrons qui fait perdre à la double liaison son caractère

Le processus est analogue à celui de la chimisorption de l'éthylène. La chimisorption de l'hydrogène s'accomplit par la scission des molécules d'hydrogène en atomes, à la surface du catalyseur (71) comme le montre la figure 24 schématisant l'hydrogénation d'une double liaison A d'une molécule d'acide gras.

En B, la chimisorption est accomplie, par le fait que la double liaison est rompue et la molécule d'acide gras se lie à la surface du catalyseur.

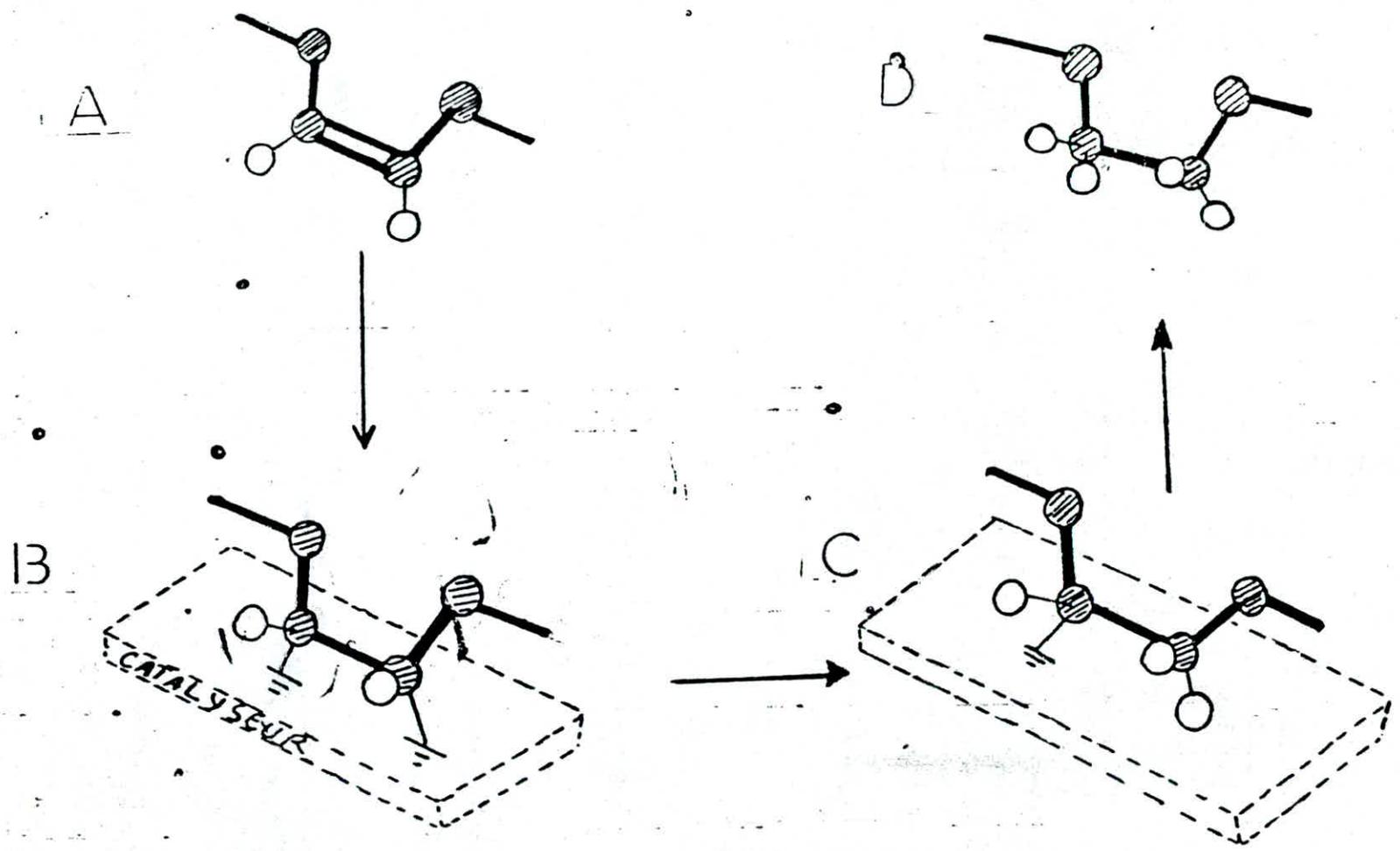


Figure - 24 - Hydrogénation d'une double liaison

La molécule " chimisorbée " peut réagir avec l'atome d'hydrogène très mobile, à la surface du catalyseur, permettant ainsi la formation d'un produit semi-hydrogéné lié encore au catalyseur par une liaison comme le montre la figure en C. Finalement en D, la molécule réagit encore avec un atome d'hydrogène donnant lieu à une liaison saturée qui n'est plus liée chimiquement au catalyseur.

Il est cependant probable qu'une partie de la molécule chimisorbée réagit en B, avec de l'hydrogène moléculaire adsorbé physiquement ou dissous dans l'huile. En même temps la molécule passe directement de l'état B à l'état D sans traverser l'état intermédiaire C semi-hydrogéné.

#### I.1.5. ETUDE DES HUILES HYDROGENEES :

En pratique, l'appréciation des produits hydrogénés rend compte surtout des caractères organoleptiques et des méthodes classiques d'analyse, permettant la détermination des critères suivants :

- Indice d'iode.
- Point de fusion.
- Indice de peroxyde.
- Analyse par CPG ou CG/SM

I.2. ACETYLATION DE L'H.E D'ARTEMISIA HERBA-ALBA-ASSO

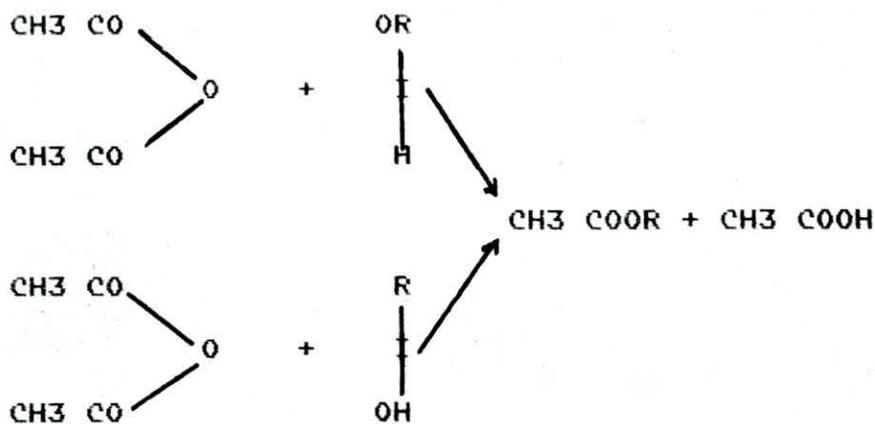
I-2.1. INTRODUCTION:

L'acétylation n'est en somme qu'une réaction d'estérification, dont elle suit les lois générales. Réalisée pratiquement par l'acide acétique, le chlorure d'acétyle ou l'anhydride acétique, sa vitesse varie suivant le réactif et les techniques utilisées. ( 72 )

I-2.2. DEFINITION DE L'ACETYLATION:

L'acétylation permet de déterminer le nombre d'hydroxyles contenus dans une molécule, ou de doser un composé hydroxylé dans un milieu complexe.

En 1887, BENEDIKT et ULZER ( ) montrèrent que les acides gras hydroxylés fixent quantitativement l'anhydride acétique qui reste encore aujourd'hui l'agent d'acétylation le plus courant. Deux mécanismes réactionnels sont possibles :



Le mécanisme varie avec la classe d'alcool, autrement dit suivant la nature de la coupure Ro/H ou R/OH.

Les alcools primaires s'acétylent plus facilement que les secondaires, les alcools tertiaires réagissant en général moins bien.

La réaction entre l'anhydride et l'hydroxyle est favorisée par différents composés, qui augmentent notamment la vitesse de réaction. LIEBERMANN et HORMANN ont préconisé l'acétate de Sodium, catalyseur très actif.

### I-2.3. ETUDE DES HUILES ACÉTYLÉES:

L'analyse de l'huile acétylée se fait par :

\* CPG ou CG/SM car les points d'ébullition des esters sont plus bas que ceux des acides dont ils dérivent.

\* Détermination de l'indice d'ester avant et après acétylation.

C O N C L U S I O N

Au cours de ce travail, nous avons essayé d'étudier l'influence de la température du distillat à la sortie du condenseur sur la solubilité dans l'eau et l'évaporation de l'huile essentielle d'Artémisia herba-alba-Asso provenant de la région des Bibans dans la wilaya de Bordj-Bou-Arreridj.

L'effet de la température du distillat sur le rendement en huile essentielle est un facteur très important.

Lors de cette étude, nous avons constaté que la solubilité de cette huile dans l'eau en fonction de la température suit une forme parabolique et passe par un minimum à 40° C.

L'étude de l'évaporation de l'huile essentielle en fonction de la température a permis de tracer la courbe d'évaporation : une branche parabolique croissante, et de classer l'huile essentielle d'Artémisia herba-alba-Asso parmi les huiles moyennement volatiles.

En raison du non fonctionnement de la chaudière de l'installation d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau et des difficultés rencontrées pour la réparer, nous n'avons pu faire les essais d'extraction de l'huile essentielle à différentes températures du distillat et mettre ainsi en évidence l'influence de ce paramètre sur le rendement en huile essentielle.

Cette étude est donc à entreprendre afin de déterminer la température permettant d'obtenir le meilleur rendement en minimisant la solubilité de l'huile dans l'eau et son évaporation.

La deuxième partie de notre étude consistait à séparer sur colonne de gel de silice d'huile essentielle d'Artémisia herba-alba-Asso provenant de trois régions d'Algérie, à savoir : Bordj-Bou-Arreridj, Biskra et Ghardaïa.

Cette méthode d'analyse nous a permis, après regroupement des fractions identiques, d'obtenir quatre fractions pour l'HE - Bordj-Bou-Arreridj, cinq pour celle de Biskra et trois pour l'HE de Ghardaïa.

L'analyse par CPG, et en partie par CG/SM, des fractions de l'HE de B.B.A. nous a permis d'identifier les constituants suivants: x et B pinnéne, camphène, 1,8 carvéol, x phéllandrène, p cymen, chrysanthénone, acétate de bornyl, iso bornéol, x terpinéol, x terpinéol, bornéol, acétate de chrysanthényl, cis verbénone, x et B thyone, camphre.

Nous avons pu également mettre en évidence la présence de: Aldéhyde cuminique, Alcool cuminique, Carvéol cis et trans, Caryophyllen, x terpinéne, p Cymen - 8 - Ol et éventuellement la Carvone et le Sabinéne (ou le x terpinéne).

Cependant, nous recommandons d'affiner les analyses pour des derniers et d'utiliser la CG/SM afin de confirmer leur présence dans cette huile.

Les fractions issues de l'huile de Biskra après analyse par CPG ont montré qu'elles sont constituées, entre autres des composés suivants : x et B pinéne, camphène, x terpinéne, x et B Thyone, Acétate de Bornyl, Camphre, Caryophyllen, x terpinéol, p-cymen-8-Ol, carvéol trans, x phellandrène, bornéol et alcool cuminique.

L'analyse par CPG des fractions issues de l'HE de Ghardaïa a permis l'identification de : x et B pinéne, camphère, B thyone, x terpinéne, camphre, acétate de bornyl, iso-bornéol, bornéol, chrysanthénone, caryophyllen, x terpinéol, carveol cis et le thymol.

Par cette étude nous avons confirmé la présence de certains constituants cités précédemment dans les trois échantillons d'huile essentielle et déjà identifiés lors d'une étude antérieure.

Cependant pour compléter cette identification, nous recommandons d'une part d'analyser les différentes fractions obtenues par fractionnement sur gel de silice, par CG/SM et de soumettre éventuellement l'huile essentielle à des traitements pré-analyse tels que des réactions d'hydrogénation et d'acetylation, et ensuite analyser par CPG et CG/SM les échantillons obtenus après ces traitements.

## B I B L I O G R A P H I E :

- 1- R.R.PARIS, H.MOYSE, Matière médicale. Ed.MASSON Paris 1976.
- 2- M.HURABIELLE, M.MALSOT, M.PARIS, Rivista Italiana, E.P.P.O.S., 6, P.296, 1981.
- 3- L.TRABUT, Précis de botanique médicale, Paris MASSON et Cie 1898.
- 4- L.BEGANGER, BEANQUENNE et COLL, Plantes médicinales des régions tempérées, Maloine SA 1980
- 5- P.OZENDA, Flore du Sahara, Edition du CNRS 1977.
- 6- F.WHITE, la Végétation de l'Afrique, ORSTOM - UNESCO 1986.
- 7- S.JERWAN, Dictionnaire des Etudiants, Français - Arabe, p.29 Beyrouth 1972.
- 8- E.GUEORGUIEV, Technologie des Produits Aromatiques et Synthétiques, pp 7.10, Plovdiv 1980.
- 9- M.I.GORYAER, Bazalitzkaya - V.S. POLYAKOV - PP, Composition Chimique des Armoises, pp 21-25, Alma Ata 1962.
- 10- BALINOVA - A.TSVETKOVA, G.DIAKV, Plant Science, N°2, PP.79-85, Sofia 1974.
- 11- FR.GILDERMEISTER, F.HOFFMAN, les Huiles Essentielles, Ed.SCHIMMEL et Cie, Tôme I, 1912.
- 12- M.P.OTTO, l'Industrie des Parfums d'après les théories de la Chimie Moderne, 2ème Ed., Paris, Dunod (1924).
- 13- A.COHEN, J.P.LAVERGNE, A.LEBLANC, P.VIALLEFONT, BULL.SOC SCI, Naturelles Physiques du Maroc, 52 (1 - 2), 1 - 9, 1972.
- 14- B.BENJILALI, H.RICHARD, Rivista Italiana, E.P.P.O.S., 2, PP 69 - 74, 1980.
- 15- B.BENJILALI, J.SARRIS, H.RICHARD, Science des Aliments, 2, PP 515 - 527, 1982.
- 16- M.HURABIELLE, M.MALSOT, M.PARIS, Rivista Italiana, E.P.P.O.S., 6, PP 296 - 299, 1981.
- 17- S.LEMBERG, Perfumer and Flavorist, Vol 7, PP 58-63, 1982.
- 18- M.SANTORINI, Parfums - Cosmétiques - Arômes, PP 51-79, 1983.

- 19- R.SEGAL, A.BREUER, I.FEUERSTEIN. *Phytochemistry*, Vol 19, PP. 2751 - 2762, 1980.
- 20- I.FEUERSTEIN, D.MULLER, A.DANIN, R.SEGAL. *Phytochemistry*, Vol.25, N° 10. PP. 2343 - 47, 1985.
- 21- R.SEGAL, I.FEUERSTEIN, A.DANIN, *Biochemical systematics Ecology*, Vol.15, N° 4, PP.411 - 416, 1984.
- 22- I.FEUERSTEIN, A.DANIN, R.SEGAL. *Phytochemistry*, Vol.27, N° 2, PP 433 - 434, 1988.
- 23- J.YASPHE, R.SEGAL, A.BREUER, G.ARDREICH-NAFTALI. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol.68, N° 7, 1979.
- 24- J.YASPHE, I.FEUERSTEIN, S.BAREL, R.SEGAL, *Int.J.Crude.Drug.Res*, 25, N° 2, PP 89-96, 1987.
- 25- S.K.HASAN, *Nat.Prod. Chemistry, Proc.Int.Symp.Pack U.S, Binatt Work Shop.Ist.* PP. 133 - 153, 1986.
- 26- M.A Al.Yahia, *Fitoterapia*, 3, PP. 179 - 182, 1986.
- 27- A.SHERIF, R.G.HALL, M.EL-AMAMY, *Medical Hypotheses* 23, PP. 187 - 193, 1987.
- 28- M.M.GORDON, V.D.DONALD, L.H.ZALKHOW, *J.Nat.Prod.* 44, PP. 432 - 440, 1981.
- 29- A.BENSEGUINI, M.JAG. *Thèse de Magister, Université de Constantine*, 1986.
- 30- C.BOUTEKEDJIRET, *Projet de fin d'études, ENP, Alger*, 1987.
- 31- H.BENBOUABDELLAH, *Projet de fin d'études, ENP, Alger*, 1987.
- 32- O.MERAD, *Projet de fin d'études, ENP, Alger*, 1989.
- 33- C.BOUTEKEDJIRET, *Thèse de Magister, ENP, Alger*, 1990.
- 34- fritz-Martin ENGEL, *Plantes vénéneuses - Vertus et Dangers*, Ed.Silva, Zurich 1984.
- 35- J.P.DURVELLE, *Fabrication des Essences et des Parfums*, P.114, 3ème Ed. 1929.
- 36- F.RIJKENS, *Parfum, Savon, Recherche*, 12, PP.272 - 1969.
- 37- T.BERNARD, F.PERINEAU, R.BRAVO, M.DELMAS, A.GASET, *Information Chimie*, N° 298, PP.179 - 184, 1988.

- 38- O.BENCHABANE , Contribution à l'Etude Chimiotaxinomique de Cupressus du Preziana a Camirs. Thèse de Magister, INA, 1979.
- 39- H.TATU , Industrie Moderne des Parfums, Ed.Baillièrre J.Bet Fils, 1932.
- 40- P.CARREE , Précis de Technologie et de Chimie Industrielle, Tome III, Ed.Baillièrre, J.Bet.Fils, 1953.
- 41- Y.R.NAVES, les Parfums Naturels. Ed.Masson et Cie., Paris, 1974.
- 42-GEORGES ARDITTI, Technologie Chimique Industrielle, Tome III, Ed.EYROLLE, 1968.
- 43- Y.R.NAVES , Technologie des Parfums Naturels, Masson, Paris, 197.
- 44- ROY TERANISKI, ROBERT A.FLATH, HIROSHI SUGISANVA, FLAVOR RESEARCH, Ed.DEKHER M., INC/NEW YORK.Basel, 1981.
- 45- MICHEL PERRUT, les FSC: un nouveau type d'extraction, Biofutur, Juin 1989.
- 46- E.BOCHIO , Parfums, Cosmétiques, arômes, N° 63, P.61, 1985.
- 47- E.GUENTHER, Essential Oil, Tome I et IV, Ed.R.E. KAIGER 1972.
- 48- C.V.RECHENBERG , Théorie Der Gewinnung und trennung der Atherischen öle durch distillation, Miltitz Ber Leipzig, Selbsverlag Von Schimmel Co, PP.261 - 317, 1910.
- 49- E.GUEORGIER , Technologie de la Production des Huiles essentielles, Edition Institut Supérieur Plovdiv, 1988.
- 50- N.GLINKA, Chimie Générale, Tome I, Ed.Mir-Moscou, 1987.
- 51- Y.R.NAVES. PART.COSM.SAVON, Vol.9, N° 5, 1966.
- 52- A.P.CHLIAPNIKOVA , V.A.CHLIAPNIKOVA , MASLO - GIROVAYA, Promichlenost, N° 7, p.27 - 29 , 1980.
- 53- A.P.CHLIAPNIKOVA , E.A.DIOUKOVA , Travaux de Bhierqk, Tome XV, P. 143 - 146, 1983.
- 54- V.N.RUTOVSKI , A.CHERKASOVA, EFIRO - MASLENAIA Promichlenost N° 4, P. 46 - 51, 1984.

- 55- E.GUEORGUIEV, S.STILIANOV, N.GUENOV, Evaporativity and water solubility of fennel oil. IX Intern Congress of essential oil. Singapore Essential oil technical paper Book I. 80 - 83. 1983.
- 56- G.F.KACHENKO, Y.A.AKIMOV, F.VOLCHENKOW, G.N.BOYZOV, MASLO-GIROVAYA, Promichlenost, Nr 10, p 24-25. 1971.
- 57- J.VAUMORON, Pratique de la chromatographie liquide, Edition Technique et Documentation. 1981.
- 58- S.GUERMOUCHE, These de Magister, USTHB 1977.
- 59- A.BERTHILLIER, la chromatographie et ses applications, Paris: Dunod 1972.
- 60- DETERMANN, Chromatographie sur gel, 1965
- 61- SAVIDAN, Chromatographie, Ed Masson et Cie, 1972
- 62- Anonyme, Chimie Analytique, revue des laboratoires Vol 54 Nr 3. 1972.
- 63- J.TRANCHANT, Manuel pratique de la chromatographie en phase gazeuse, Edition MASSON (3ème Ed.) 1982.
- 64- Cl.AUDIGIE, G.DUPONT, F.ZONZAIN, Principes des methodes d'analyse biochimique, tome 2, Ed. DOIN, 1983.
- 65- R.SILVERSTEIN, G.BESSELER, Identification spectrométrique des composés organiques, Ed.MASSON et Cie, GAUTHIER-VILLARD, Paris 1966.
- 66- N.ALLINGER, M.P.CAVA, C.R.JOHNSON, C.de JONGH, N.A.LEBEL, C.L.STEVENS, Chimie organique: applications, Tome III, MC.GRAW HILL, Ed.Universitaire 1984.
67. LAVOISIER, LES INDUSTRIES AGRICOLES ET ALIMENTAIRES  
PROGRÈS DE SCIENCES ET TECHNIQUES,  
Ed TECHNIQUE ET DOCUMENTATION, 1988.

- J. RASTOIN , REV FRANCAISE DES CORPS GRAS , n° 3 ,  
1985 , pp 97 - 102.
- E. UCCIANI , REV FRANCAISE DES CORPS GRAS , N° 6 ,  
1991 , pp 373 - 379.
- G. CECCHI , E. UCCIANI , REV FRANCAISE DES CORPS  
GRAS , N° 6 , 1981 , pp 257 - 262
- P. SOLTOFT , REV FRANCAISE DES CORPS GRAS ,  
N° 5 , 1961 , pp 309 - 316
- J.E. COURTOIS et coll , MISES au point de chimie  
analytique pure et appliquee' , Tome 4 ,  
Ed Masson et Cie , 1956 .

