

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



Département Génie Chimique

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

Thème

**L'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. :
extraction, composition chimique, propriétés physiques et
antimicrobiennes**

Proposé et dirigé par :
Pr. S. CHARHARI

Etudié par :
M^{elle} K. KASSOUSSI
M. M. M. ZEKRI

PROMOTION JUIN 2008
E.NP.10, Avenue Hacén Badi – El-Harrach - Alger

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

Il a été soutenu, le 17.06.2008, devant le jury composé de:

M. C. E. CHITOUR	Professeur à ENP	Président
Mme R. DERRICHE	Professeur à ENP	Examinatrice
M. E.-H. BENYOUSSEF	Professeur à ENP	Examineur
Mme S. CHARCHARI	Professeur à ENP	Rapporteur

Dédicaces

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

A la mémoire de mon oncle Abd'El Djabbar

A ma petite sœur Selma

A mon frère et ma sœur Mohammed, Khadidja

A mes grands parents

A mes oncles et mes tantes

A toute ma famille

A tous mes amis

A tous ceux qui me sont chers ;

Je dédie ce modeste travail,

Karima KASSOUSSI

Dédicaces

À ma merveilleuse mère, à mon très cher père,

*À tous ceux qui me sont chers en signe de respect, et de
profonde affection.*

Mohamed El Mehdi ZEKRI

الزيت الأساسية لنبته المريمية : استخلاص على مستوى نصف صناعي، تركيب كيميائي، خصائص فيزيائية و ميكروبيولوجية.

ملخص:

يتضمن هذا العمل استخلاص الزيت الأساسية لنبته المريمية بواسطة وحدة استخلاص ببخار الماء على مستوى نصف صناعي. تأثير حاصل حجم الماء المنتج بالنسبة لكتلة المادة النباتية في وحدة زمنية على مردود و حركية الاستخلاص درسوا على حدى اضافة إلى اثر درجة حرارة ماء التقطير في المرسب على مردود الزيت الأساسية و الثانوية. معاينات تحت المجهر الضوئي لمقاطع في الساق و الأوراق للنبته مكنتنا من تأكيد البنية الإفرازية الخارجية و فرضية وجود بنية إفرازية داخلية. التحليل الكيميائي بCG-SM مكنتنا من تحديد وجود 61 مكون بنسبة 97.4 % من الزيت الأساسية و اكتشاف صنف كيميائي جديد. بعض الخصائص الفيزيائية و الميكروبيولوجية درست.

الكلمات المفتاحية :

الزيت الأساسية، نبته المريمية، استخلاص ببخار الماء، بنية إفرازية، صنف كيميائي، خصائص ميكروبيولوجية

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.: extraction à l'échelle semi-pilote, composition, propriétés physique et antimicrobiennes

Résumé :

Ce travail porte sur l'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. par entraînement à la vapeur d'eau à l'échelle semi-pilote. L'influence sur le rendement et la cinétique d'extraction de l'huile, du débit spécifique et du mode de séchage de la matière végétale, a été mise en évidence. L'impact de la température des eaux de distillation dans le décanteur, sur les rendements en huiles primaire et secondaire, a été étudié. L'observation au microscope photonique des coupes de la tige et de la feuille du végétal a permis de confirmer le caractère exogène de la structure sécrétrice et de soupçonner la présence des poches endogènes. L'analyse par CG-SM, a permis l'identification de 61 constituants, représentant 97,4% de l'huile essentielle et la définition d'un nouveau chemotype de *Salvia officinalis* L. Quelques propriétés physiques de l'huile et son activité antimicrobienne ont été évaluées.

Mots clés: Huile essentielle, *Salvia officinalis* L., entraînement à la vapeur d'eau, structure sécrétrice, chemotype, activité antimicrobienne.

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

Summary:

This work concerns the extraction of the essential oil of *Salvia officinalis* L. with steam distillation on the scale semi-pilot. The influence of the specific flow and the mode of the drying of the vegetable matter on the yield and the kinetics of extraction was highlighted. The impact of the temperature of water of distillation in the decanter, on the oil yields: primary and secondary, was studied. The observation under the photonic microscope of cuts of stems and leaves of the plant has enabled us to confirm the exogenous character of the secreting structure and to suspect the presence of the endogenous cavities. The analysis by GC-MS, allowed the identification of 61 components, accounting for 97,4% of essential oil and the definition of new a chemotype of *Salvia officinalis* L. Some physical properties of oil and its antimicrobial activity were evaluated.

Key words: Essential oil, *Salvia officinalis* L, steam distillation, secretory structure, chemotype, activity antimicrobial.

SOMMAIRE

	Page
INTRODUCTION	01
CHAPITRE I : LA MATIERE VEGETALE	
I-1. Historique	02
I-2. Description.....	03
I-3. Culture et récolte.....	03
I-4. Composition chimique.....	03
I-5. Usages.....	04
I-6. Matière végétale utilisée.....	05
I-7. Structure sécrétrice de <i>Salvia officinalis</i> L.	06
I-7.1. Travaux antérieurs	06
I-7.2. Observations microscopiques	12
CHAPITRE II : L’HUILE ESSENTIELLE DE <i>SALVIA OFFICINALIS</i> L.	
II.1. Les huiles essentielles	18
II-1.1. Définitions	18
II-1.2. Procédés d’extraction des huiles essentielles	18
II-1.3. Composition chimique des huiles essentielles	19
II-1.4. Propriétés physiques des huiles essentielles	22
II-1.5. Propriétés chimiques des huiles essentielles	22
II-1.6. Propriétés biologiques des huiles essentielles	23
II-1.7. Conservation des huiles essentielles	24
II-1.8. Emploi des huiles essentielles	24
II-2. Travaux antérieurs relatifs à l’huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	24
II-2.1. Composition chimique de l’huile essentielle	24
II-2.2. Propriétés physiques de l’huile essentielle	27
II-2.2. Propriétés antimicrobiennes de l’huile essentielle	28
CHAPITRE III. EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D’EAU A ECHELLE SEMI-PILOTE DE L’HUILE ESSENTIELLE DE <i>SALVIA OFFICINALIS</i> L.	
III-1. Le procédé d’entraînement à la vapeur d’eau	29
III-1.1. Principe	29
III-1.2. Théorie	30
III-1.3. Paramètres du procédé d’entraînement à la vapeur d’eau	32
III-1.3.1. La durée d’extraction	32
III-1.3.2. Le débit de vapeur	32
III-1.3.3. Le débit spécifique de vapeur	32

III-1.3.4. La température du distillat	32
III-1.4. Cinétique de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	32
III-1.5. Rendement en huile essentielle	33
III-1.6. Avantages et inconvénients du procédé	33
III-2. Installation d'extraction de l'huile essentielle	33
III-3. Les essais d'extraction de l'huile essentielle	36
III-3.1. Etude de l'influence du débit spécifique sur le rendement en huile ...	36
III-3.2. Etude de l'influence de la température du distillat dans le décanteur sur les rendements en huile primaire et secondaire	38
III-3.2.1. Evaluation statistique de la reproductibilité des résultats ...	38
III-3.2.2. Interprétation des résultats	40
III-3.3. Etude de l'influence du séchage de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle	41
III-3.4. Etude de la cinétique d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	42
III-3.4.1. Influence du séchage de la plante sur la cinétique d'extraction	42
III-3.4.2. Influence du débit spécifique de vapeur sur la cinétique d'extraction	47

CHAPITRE IV. ETUDE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *SALVIA OFFICINALIS* L.

IV.1. Composition chimique l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	48
IV-1.1. Le couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse	48
IV-1.2. Conditions opératoires d'analyse	48
IV-1.3. Identification des constituants	49
IV-1.4. Résultats	49
IV.2. Propriétés physiques de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. ...	52
IV.2.1. Aspect	52
IV.2.2. Densité	52
IV.2.3. Indice de réfraction	52
IV.2.4. Volatilité	53
IV.2.5. Evolution de la solubilité dans l'eau de l'huile essentielle, en fonction de la température	54
IV.3. Propriétés antimicrobiennes	55
CONCLUSION	58

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure I.1 : Vue d'ensemble de <i>Salvia officinalis</i> L avant et pendant la floraison...	03
Figure I.2 : Cavité sécrétrice mature située sur la feuille de Myrtus.....	07
Figure I.3 : Vue de la surface du calice de <i>Salvia officinalis</i> L. trichomes tecteurs (1), peltés (2) et capités (3).....	08
Figure I.4 : Trichome pelté.....	08
Figure I.5 : Trichome capité du type I.....	09
Figure I.6 : Trichome capité du type II.....	10
Figure I.7 : Trichome capité du type III.....	10
Figure I.8 : Trichome capité du type IV.....	11
Figure I.9 : Vue de la surface de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx4).....	13
Figure I.10 : Vue de la surface de la feuille de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx4).....	13
Figure I.11 : Vue de la surface du pétale de la fleur de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx4)..	13
Figure I.12 : Vue de la surface du calice de la fleur de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx4)...	13
Figure I.13 : Coupe de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx80)	14
Figure I.14 : Coupe de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx320) Différents types de trichomes capités	15
Figure I.15 : Coupe de la feuille de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx80) Trichome pelté et poche endogène située dans le parenchyme).....	16
Figure I.16 : Coupe de la feuille de <i>Salvia officinalis</i> L. (Gx80) Trichome pelté e trichome capité du type I avec une extension reliant la cellule basale à une cavité endogène.....	17
Figure III.1 : Schéma type d'une installation d'entraînement à la vapeur d'eau..	29
Figure III.2. : Schéma de l'installation d'extraction solide-fluide.....	35
Figure III.3 : Variation du rendement R en huile essentielle, en fonction du débit spécifique Dsp.....	37
Figure III.4 : Evolution de la proportion d'huile secondaire par rapport à l'huile totale obtenue à différentes températures du distillat dans le décanteur.....	40
Figure III.5 : Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale fraîche.....	43
Figure III.6 : Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale séchée à l'ombre.....	44
Figure III.7 : Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale séchée au soleil.....	44
Figure III.8 : Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale fraîche.....	45
Figure III.9 : Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale séchée à l'ombre.....	46
Figure III.10 : Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale séchée au soleil.....	46
Figure III. 11 : Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction avec différents débits spécifiques.....	47
Figure IV.I : Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	50
Figure IV.2 : Evolution de la solubilité dans l'eau de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L., en fonction de la température.....	54

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1.1: Histochimie des trichomes glandulaires de <i>Salvia officinalis</i> L	12
Tableau II.1: Composition normalisée de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	25
Tableau II.2: Composition de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L provenant de différents pays	26
Tableau II.3 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. provenant d'Algérie.....	27
Tableau II.4 : Caractéristiques physiques des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i> L.	27
Tableau II.5 : Effet antibactérien de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. ...	28
Tableau III.1: Variation du rendement R en huile essentielle, en fonction du débit spécifique D.....	37
Tableau III.2: Evaluation statistique de la reproductibilité des résultats.....	39
Tableau III.3: Masses d'huile primaire et secondaire obtenus à différentes températures du distillat dans le décanteur.....	40
Tableau III.4: Influence du séchage de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle.....	41
Tableau III.5 : Evolution du rendement en huile, en fonction du temps, lors de l'extraction des échantillons de plante fraîche et séchée à l'ombre et au soleil.....	43
Tableau IV.1: Classes chimiques des composés identifiés dans l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	51
Tableau IV.2: Principaux constituants de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	51
Tableau IV.3: Indices de réfraction de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. obtenue des échantillons de la plante de différents taux d'humidité.....	53
Tableau IV.4: Volatilité de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. à 20°C.....	54
Tableau IV.5 : Solubilité dans l'eau de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L. à différentes températures.....	54
Tableau IV.6 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	56

INTRODUCTION

Nous assistons, de nos jours, à un intérêt sans précédent pour les produits naturels, en général, et pour les huiles essentielles, en particulier. Les industries pharmaceutique, alimentaire, de cosmétiques, des parfums, mais aussi le simple consommateur, sont à la recherche des huiles essentielles variées et de bonne qualité.

Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. par entraînement à la vapeur d'eau à l'échelle semi-pilote, à l'étude de sa composition chimique, à la détermination de ses propriétés physiques et à l'évaluation de son activité antimicrobienne.

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

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

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

Enfin, le dernier chapitre de cette recherche est consacré à l'élucidation de la composition chimique de l'huile essentielle par CG-SM., à la détermination de ses propriétés physiques, telles que la densité, l'indice de réfraction, la solubilité dans l'eau à différentes températures, la volatilité à 20°C, et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile vis-à-vis de 16 souches bactériennes.

CHAPITRE I
LA MATIERE VEGETALE

Les sauges, du nom scientifique *Salvia*, sont un genre de plantes de la famille des Lamiacées, comprenant plus de 900 espèces, annuelles, bisannuelles, vivaces ou arbustives [1].

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

La sauge officinale ou *Salvia officinalis* L. (nom binomial), est un sous-arbrisseau, souvent cultivé dans les jardins comme plante condimentaire et officinale ou tout simplement pour la beauté de son feuillage et de ses fleurs. On l'appelle aussi herbe sacrée, thé d'Europe, Sage, Salvia, Broadleaf Sage, Common Sage, Dalmatian Sage, Garden Sage, Ryytisalvia [1,3].

I-1. Historique

Son nom est déjà une sorte de diplôme d'efficacité, puisque *Salvia* vient du latin *salvare* qui signifie «sauver», «guérir». C'est une des plantes sacrées des anciens. Les Romains la récoltaient avec un cérémonial spécial, sans l'intervention d'outils de fer, «en tunique blanche, les pieds nus et bien lavés », après avoir sacrifié au préalable avec du pain et du vin [1].

Ses effets, dus à son huile essentielle et la présence d'un œstrogène, avaient déjà été observés aussi bien par les Romains que par les Égyptiens. Pendant tout le Moyen Âge, elle reste une plante primordiale et entre dans de très nombreuses préparations : Eau d'arquebuse, Eau céleste, Eau impériale, etc. Ce qui est confirmé par le dicton : «qui a de la sauge dans son jardin, n'a pas besoin de médecin» [1].

Salvia officinalis L. est utilisée dans la pharmacopée moderne. [1]. Elle figure dans B.P.C.1934, ainsi que dans les Pharmacopées d'Autriche, de Tchécoslovaquie, d'Allemagne, d'Hongrie, d'ex-Yougoslavie, des Pays Bas, du Portugal, de Russie et de Suisse. [3]

I-2. Description [1]

La sauge est un sous-arbrisseau atteignant une hauteur de l'ordre d'un mètre. Sa racine est brunâtre et fibreuse. La tige, très rameuse, mesure de 20 à 30 centimètres. Les feuilles, opposées, elliptiques, pétiolées, rugueuses, à bord dentelé, réticulées, molles, à dessus blanchâtre, persistent l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protège.



Figure I.1 : Vue d'ensemble de *Salvia officinalis* L. avant et pendant la floraison

Les fleurs, bleu - rose ou lilas, visibles de Mai à Août, sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieures, l'ensemble forme de grands épis

I-3. Culture et récolte [4]

Commune en Europe, plus spécialement dans les régions méridionales, la sauge aime les terres chaudes, légères, rocailleuses. Malgré ses poils laineux, elle craint les gelées. Sa multiplication s'effectue par semis au début du printemps et repiquage deux mois plus tard, puis replantation définitive à l'automne. On peut également en faire des boutures ou diviser les touffes. La récolte des feuilles se fait au printemps et à l'automne, plusieurs coupes peuvent être réalisées.

I-4. Composition chimique [5]

La composition chimique de la sauge est la suivante:

- 1 à 2,5% d'huile essentielle : sa composition varie en fonction du lieux et de la période de végétation et est à l'origine de la définition de différents chemotypes, selon la teneur des constituants majoritaires.

- 2 à 6% de tanins, avec comme constituant majeur l'acide rosmarinique.
- Des diterpènes, tels le carnosol, ou picrosalvine, formé à partir de l'acide carnosolique lors du séchage et du stockage, le rosmanol, l'isorosmanol, le saffcinolide etc...
- 1 à 3% de flavonoïdes: ce sont des dérivés de la lutéoline et de l'apigénine, ainsi que des glycosylflavones comme le caféyl-fructosylglucoside, le caféyl-apiosylglucoside etc... Ils sont considérés comme responsables des propriétés antioxydantes.

I-5. Usages

- **Usage culinaire**

Les feuilles sont employées comme aromates en cuisine, tout particulièrement dans les marinades et dans l'assaisonnement du gibier.

Les fleurs sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour la confection de confitures.

L'huile essentielle sert à l'aromatisation des sauces, soupes, viandes...[1].

- **Usage médicinal**

La sauge est utilisée comme antiseptique, stimulant, tonique et stomachique. Elle possède aussi, à divers degrés, des propriétés antispasmodiques, anti-inflammatoires, emménagogues, fébrifuges, antisudorales.

En usage externe, en décoction, ses propriétés sont résolutes, vulnéraires, antiseptiques et cicatrisantes.

En tisane ou comme aromate, elle facilite la digestion, mais prises en excès les infusions de sauge seraient nocives.

La drogue est employée dans des poudres dentifrices, des collutoires, des toniques de cheveux et pour leur dressage [1].

Une récente étude menée par Akhondzadeh et coll. [6] a rapporté que les extraits de sauge, administrés pendant quatre mois à des personnes âgées atteintes de la maladie d'Alzheimer, améliorent les fonctions cognitives et diminuent l'agitation, comparativement aux personnes ayant reçu un placebo. La sauge serait efficace pour le traitement des cas légers et modérés de la maladie. Les mécanismes proposés pour expliquer ces effets comprennent l'amélioration de la transmission de l'influx nerveux dans le cerveau, ainsi que la diminution du stress oxydatif et des réactions inflammatoires [7].

I-6. Matière végétale utilisée

I-6.1. Lieu de végétation et période de récolte

La matière végétale, utilisée dans cette recherche, a été cueillie en Février et Mars, avant la période de floraison. Elle provient d'un lot cultivé au Jardin d'Essais d'El Hamma à Alger.

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

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

I-6.2. Taux d'humidité

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

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

I-6.3. Echantillonnage

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

L'échantillonnage est la sélection d'une partie dans un tout. Il s'agit d'une notion importante en métrologie : lorsqu'on ne peut pas saisir un événement dans son ensemble, il faut effectuer des mesures en nombre fini, afin de représenter l'événement. Par exemple, en analyse chimique, lorsqu'on analyse un produit, une des questions qui se pose est celle de l'homogénéité. Les méthodes d'analyse ne permettent d'avoir la composition que d'une quantité finie de produit, en général, de quelques microgrammes à quelques centaines de grammes. Lorsque la quantité du produit est importante, sa composition peut varier d'un endroit à un autre, à cause de son hétérogénéité, sa stratification, sa décantation... Dans le cas où il n'est pas possible d'homogénéiser, on doit effectuer des prélèvements en plusieurs endroits, selon un protocole précis [8].

L'utilisation des échantillons représentatifs d'un lot mère de matière végétale, constitué des feuilles et des tiges de forme et de poids différents est indispensable, car lors de son conditionnement, ces derniers se répartissent de manière aléatoire. Pour avoir une masse ou un échantillon qui regroupe les différents poids et formes, on doit tout d'abord homogénéiser la masse globale, puis procéder à un échantillonnage comme suit :

- tracer sur un papier de grandes dimensions un carré;
- bien mélanger cette masse, puis l'étaler sur toute la surface du carré;
- diviser cette masse en deux parties identiques, représentant chacune la somme des deux triangles opposés formés par les deux diagonales du carré ;
- prendre chacune des masses, ainsi obtenues et répéter la procédure jusqu'à l'obtention de la masse voulue [9].

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

I-7.1. Travaux antérieurs

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

Des études sur les cavités sécrétrices d'huile essentielle chez *Myrtus communis* L. [12] et *Leucophyllum frutescens* [13] ont montré que ces cavités se forment au cours du développement des feuilles, mais avec un ralentissement du rythme pour les feuilles matures. Leur ontogenèse commence par des divisions des cellules situées sous l'épiderme. Chaque cavité sécrétrice est développée à partir d'une seule cellule qui subit une division periclinale, suivie de plusieurs divisions cellulaires anticlinales et obliques. Le lumen de la cavité, formé par schizogenie, est entouré par une couche épaisse de cellules, l'isolant des autres cellules environnantes. Les

cellules sécrétrices sont situées sur les bords de la cavité. Cette dernière est couverte par des cellules modifiées de l'épiderme, qui ne semblent pas avoir d'ouvertures. L'huile essentielle ne peut être libérée qu'après un traitement mécanique de la feuille.

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

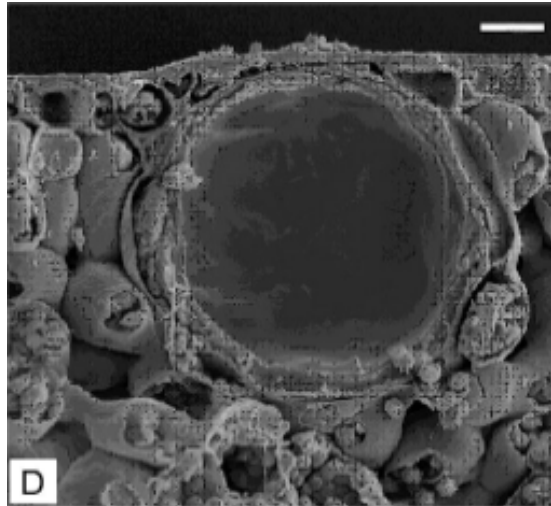
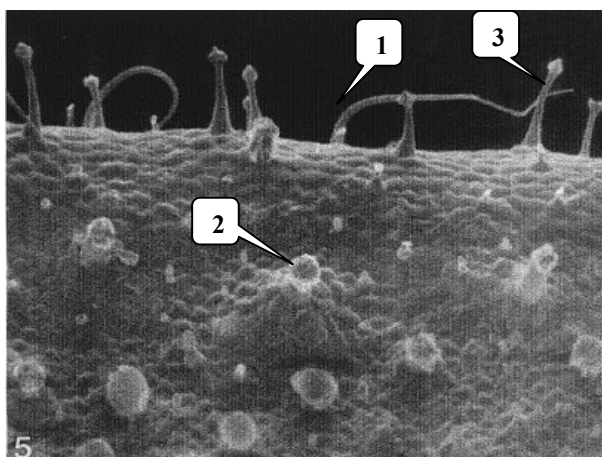


Figure I.2 : Cavité sécrétrice mature de la feuille de *Myrtus communis* L. [12]

Chez la famille des Lamiacées, ce sont les trichomes glandulaires qui forment les structures de sécrétion et de concentration de l'huile essentielle [14].

Selon G. CORSI et S. BOTTEGA [15] la structure sécrétrice de *Salvia officinalis* L. est exogène et constituée de trichomes peltés et de trichomes capités, situés à la surface des différents organes de la plante. A la figure I.3 suivante, est présentée la surface du calice de *Salvia officinalis* L. observée à l'aide du microscope électronique à balayage.



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

- **Les trichomes tecteurs**

Ces trichomes, appelés poils tecteurs, sont des trichomes non glandulaires, abondants sur tous les organes végétatifs de *Salvia officinalis* L. Ils sont plus longs sur les organes jeunes et collaborent, vraisemblablement, avec les poils glandulaires, à la défense contre les agressions mécaniques, créant une couche duveteuse épaisse. Les poils tecteurs sont également impliqués dans la protection des trichomes peltés contre la transpiration et l'insolation excessives [15].

- **Les trichomes peltés**

Les trichomes peltés sont constitués d'une cellule basale, d'un pied monocellulaire et d'une tête contenant quatre à douze ou seize cellules sécrétrices disposées en un ou deux cercles concentriques, comme montre la figure I.4 suivante.



Figure I.4 : Trichome pelté

Les trichomes peltés produisent des sécrétions contenant des composants lipophiles et hydrophiles, tels que des hydrates de carbone, autres que la cellulose, des huiles essentielles, des résines, des alcaloïdes, des protéines, des lactones sesquiterpéniques, des stéroïdes, des tannins et des flavonoïdes. Ces sécrétions s'accumulent sous la cuticule du trichome et la font gonfler [15].

- **Les trichomes capités [15]**

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

- Le type I (figure I.5), se distingue par un court pied uni- ou bicellulaire et une tête sécrétrice uni- ou bicellulaire de cuticule fine. La matière sécrétée est dégagée lentement à travers la cuticule.

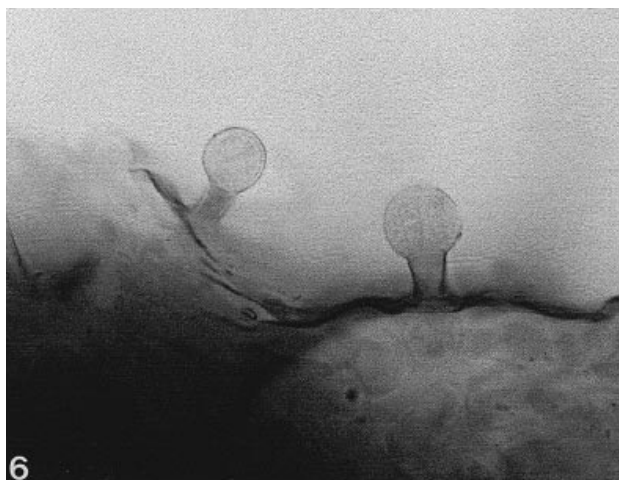


Figure I.5 : Trichome capité du type I

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

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

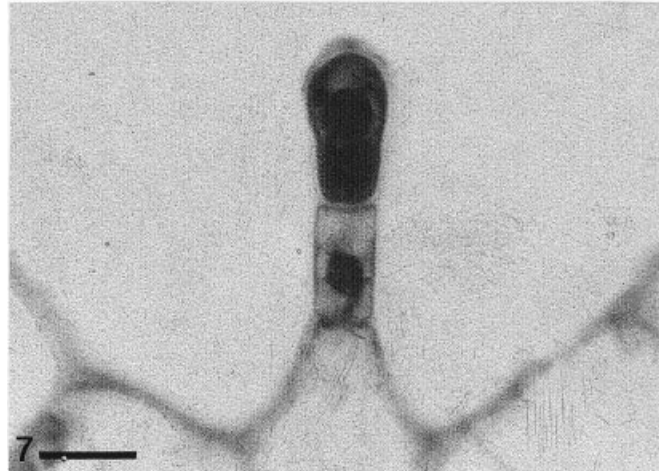


Figure I.6 : Trichome capité du type II

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

- Le type III (figure I.7), dont le pied avec sa large base est long, la tête est unicellulaire. La matière sécrétée se regroupe souvent comme une goutte sur la tête dégonflée.

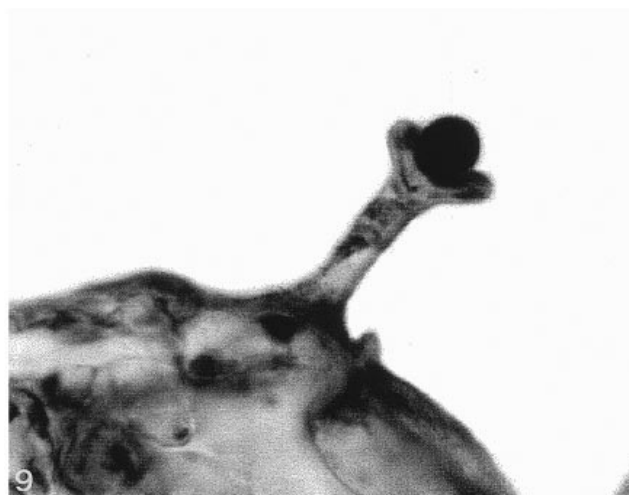


Figure I.7 : Trichome capité du type III

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

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

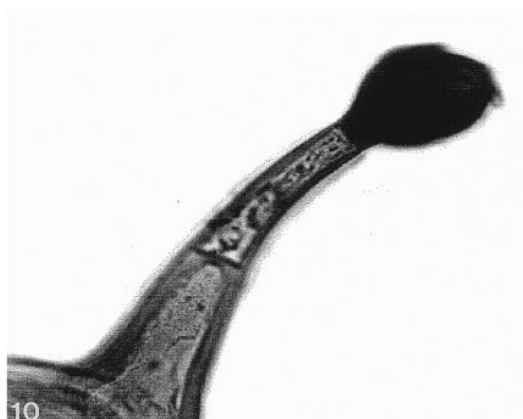


Figure I.8 : Trichome capité du type IV

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

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

La composition chimique des sécrétions produites par les différents trichomes glandulaires de *Salvia officinalis* L. est résumée dans le tableau 1.

Tableau 1.1 : Histochimie des trichomes glandulaires de *Salvia officinalis* L. [15]

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

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

L'examen du tableau I.1 montre que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. est produite majoritairement par les trichomes capités de type III et, en plus faible quantité, par les trichomes peltés et capités de types II et IV. Les trichomes capités de type I ne produisent pas d'huile essentielle.

I-7.2. Observations microscopiques de la plante utilisée

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

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



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



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



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



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

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

Ces résultats laissent espérer des meilleurs rendements en huile essentielle lors de l'entraînement à la vapeur d'eau des feuilles et des fleurs. En effet, certains auteurs [16] rapportent que les rendements en huile obtenus à partir des fleurs de *Salvia officinalis* L. sont les plus élevés.

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

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

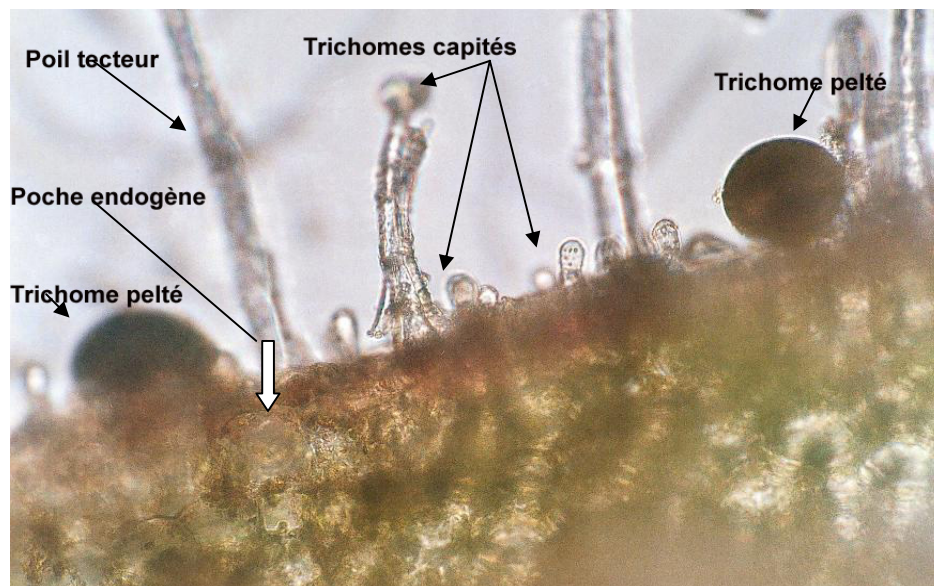


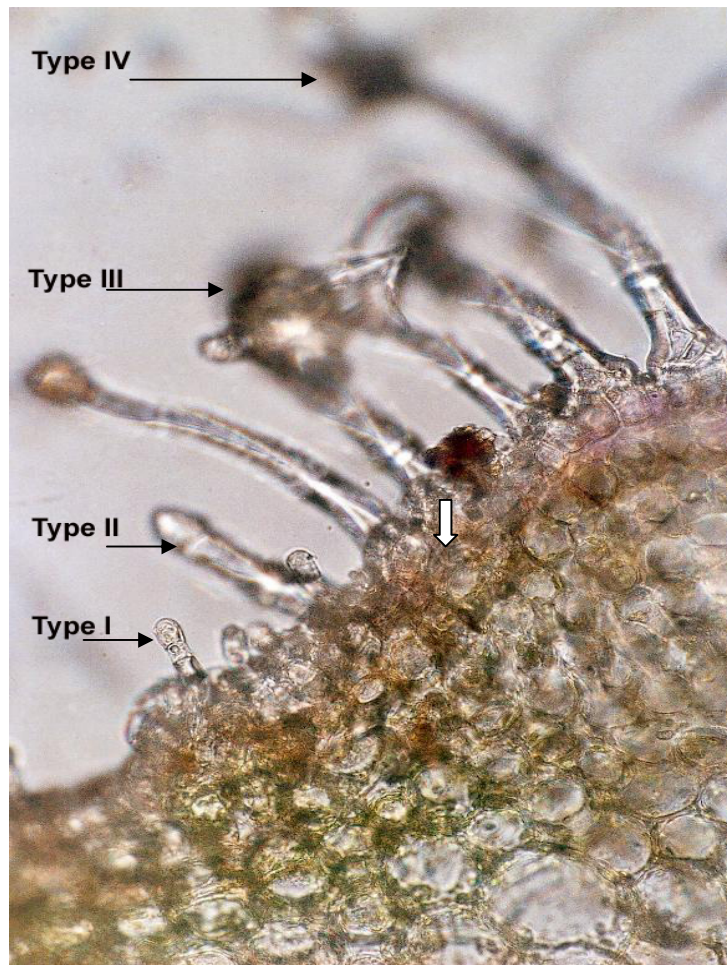
Figure I.13 : Coupe de la tige de *Salvia officinalis* L. (Gx80)

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

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

Une structure particulière, désignée par la flèche blanche, a attiré notre attention. Elle a une forme différente de celle des cellules du parenchyme environnant. Cette structure, à parois cellulaires épaisses, rappelle les cavités endogènes décrites précédemment [12,13] et pourrait éventuellement être une poche endogène.

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

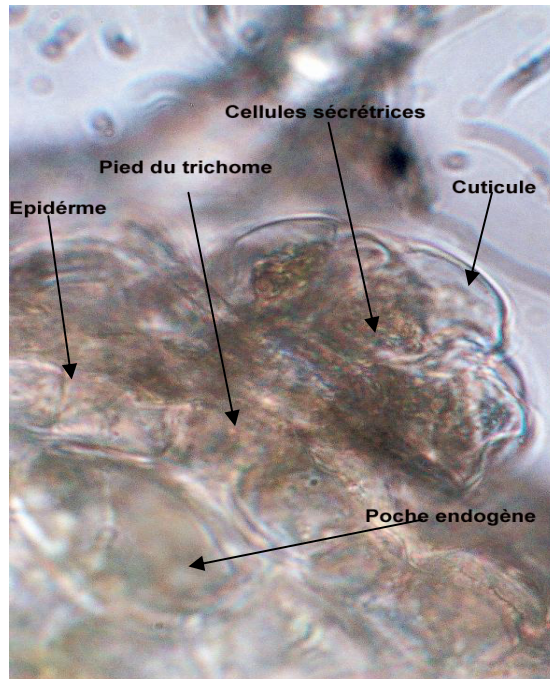


**Figure 1.14 : Coupe de la tige de *Salvia officinalis* L. (Gx320)
Différents types de trichomes capités**

On note la présence, des quatre types de trichomes, décrits dans la littérature [15], à la surface de la tige.

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

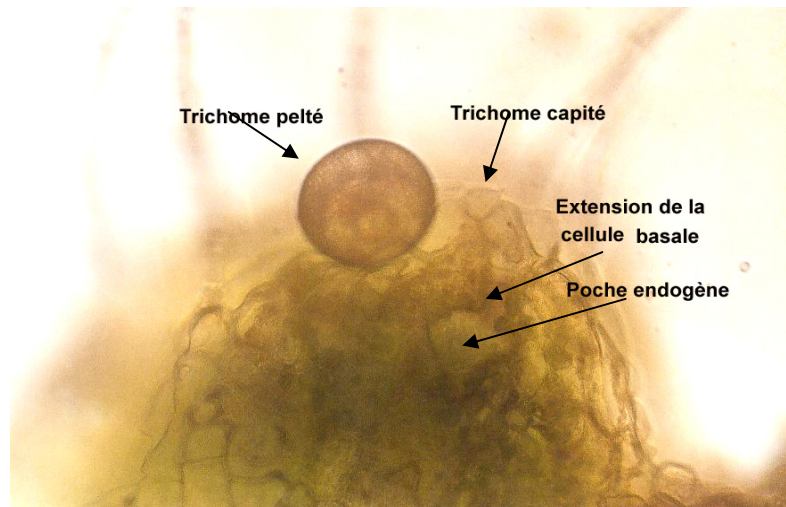
La figure I.15 suivante présente un trichome pelté situé à la surface de la feuille. Il est constitué d'une cellule basale, insérée entre les cellules d'épiderme, d'un pied monocellulaire et d'une grande tête qui contient les cellules sécrétrices. L'espace entre la cuticule et les cellules sécrétrices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



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

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

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



**Figure I.16 : Coupe dans la feuille de *Salvia officinalis* L. (Gx80)
Trichome pelté et trichome capité du type I avec une
extension reliant la cellule basale à une cavité endogène**

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

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

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

CHAPITRE II

L'HUILE ESSENTIELLE DE *SALVIA OFFICINALIS* L.

II-1. Les huiles essentielles

II-1.1. Définitions

On appelle huile essentielle ou essence végétale le liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques volatils d'une plante. Elle est obtenue par distillation ou extraction par solvants (eau, alcool, etc...). Contrairement à ce que suppose la dénomination, ces extraits ne sont pas forcément huileux. C'est un mélange de molécules variées, comprenant majoritairement des terpènes et leurs dérivés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones...).[17]

Quant à la norme AFNOR [18], elle définit les huiles essentielles comme étant «des produits obtenus soit à partir des matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

D'après Naves [19], aucune des définitions des huiles essentielles n'a le mérite de la clarté, ni celui de la précision. Cet auteur définit les huiles essentielles comme des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale. Ces mélanges passant avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau. Cette définition est restrictive, car elle ne tient pas compte des produits obtenus par expression à froid du péricarpe ou zeste de fruits des agrumes.

II-1.2. Procédés d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont extraites des matières végétales par différents procédés. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'essence dans le végétal et de son utilisation dans les divers domaines et industries [20]. Quelque soit l'échelle (laboratoire, pilote ou industrielle), les procédés utilisés pour l'extraction des huiles essentielles sont l'entraînement à la vapeur d'eau à flux ascendant ou descendant (hydrodiffusion), l'hydrodistillation et l'expression.

Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé le procédé d'entraînement à la vapeur d'eau à flux ascendant.

II-1.3. Composition chimique des huiles essentielles

En général, les huiles essentielles comprennent deux classes de composés chimiques ayant des origines biogénétiques bien distinctes : le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, ainsi que leurs dérivés oxygénés [21].

- **Les terpènes ou terpénoïdes**

Il répondent à la formule brute : $(C_5H_8)_n$. Une classification de ces composés a pu être établie selon la valeur du nombre n d'unités isopréniques [22]:

n=2 Les monoterpènes en C_{10} .

n=3 Les sesquiterpènes en C_{15} .

n=4 Les diterpènes en C_{20} .

n=5 Les sesterpènes en C_{25} .

n= 6 Les triterpènes en C_{30} .

n=8 Les tetraterpènes en C_{40} .

n>40 Les polyterpènes.

- **Composés aromatiques**

Ils sont moins fréquents que les terpénoïdes. Ce sont, pour la plupart, des allyl- et propényl-phénols [23], tels que :

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

- des composés en C_6-C_3 comme le cinnamaldéhyde ou comme l'estragole (essence de basilic).

- les acides benzoïque et cinnamique sont présents.

- des aldéhydes phénoliques comme l'aldéhyde protocatéchétique ou l'aldéhyde salicylique de la reine des prés.

- **Composés d'origines variées**, à titre d'exemple :

- Des hydrocarbures : l'heptane est la paraffine dans l'essence de camomille [24].

- Des acides en C_3 à C_{10} .

- Des alcools, comme le oct-1ène-3-ol de l'essence de lavande,...

- Des composés azotés et soufrés

La composition chimique des huiles essentielles varie d'une famille à une autre, mais aussi au sein d'une même espèce. Plusieurs facteurs sont à l'origine de cette variation.

- **Facteurs extrinsèques**

Ce sont des paramètres qui concernent le lieu de végétation de la plante, tels que :

- **Origine géographique**

Ainsi, les feuilles d'une même espèce de Romarin poussant dans divers pays fournissent une essence dont le rendement d'extraction est de 0,43 à 0,73% pour l'Espagne, 0,38 à 0,80% pour la France, 1,00 à 5,00% pour la Turquie, 1,5 à 2,10% pour la Yougoslavie, etc. [25].

- **Facteurs écologiques**

Les caractéristiques écologiques exercent une influence directe sur la qualité et la quantité d'une huile essentielle [26]. On peut citer :

- la nature du sol (calcaire, siliceux,...),
- la pluviométrie,
- l'humidité,
- le régime des vents,
- les températures nocturnes et diurnes,
- la durée d'exposition au soleil,
- les aspects cultureux comme la densité de culture,
- l'apport d'engrais,
- le nombre de récoltes par an
- l'alimentation en eau

- **Facteurs intrinsèques**

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

- **Origine botanique**

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

- Les chimiotypes

Les chimiotypes, chémotypes ou les races chimiques existent chez de nombreuses plantes aromatiques et fournissent des essences différentes par composition de leurs constituants majoritaires. L'un des exemples le plus démonstratif est celui du thym (*Thymus vulgaris* L.). Cette espèce a sept chémotypes différents: à thymol, carvacrol, géraniol, linalol, α -terpinéol, mycéenol, thyanol [26].

- Organes du végétal

Le rendement des huiles essentielles, ainsi que leur composition dépend du nombre de glandes sécrétrices existant et de leur localisation au niveau des différents organes de la plante. Pour certaines espèces, la teneur en huile essentielle est plus importante dans les fleurs que dans les feuilles [27].

- Cycle biologique

Des variations importantes du rendement et de la composition des huiles essentielles sont observées, en fonction de l'âge et au cours de différents stades du développement de la plante au fil des saisons [21].

- Conservation du matériel végétal

Le mode et la durée du séchage et du stockage du matériel végétal peuvent entraîner de profondes modifications de l'essence [26].

• Facteurs technologiques

Le procédé d'extraction d'une huile essentielle marque de son empreinte le rendement et la composition chimique de celle-ci. En effet, l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau ne conduisent pas à la même quantité et qualité d'essence. [27]

Par ailleurs, les paramètres du procédé, tels, sa durée, la vitesse de la distillation, ainsi que la masse du végétal à traiter ont une grande influence sur le rendement et la composition, par conséquent sur les propriétés physicochimiques des huiles essentielles.

Il est nécessaire d'étudier l'influence de tous ces paramètres, afin d'assurer un rendement maximal d'huile essentielle de bonne qualité.

II-1.4. Propriétés physiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont généralement liquides à la température ordinaire souvent colorées, d'odeurs agréables. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau et varie, de 0,850 à 0,950, à l'exception des essences de cannelle, girofle, sassafras, la plus dense étant celle de vétiver: 1,187. Elles ont un indice de réfraction élevé et, le plus souvent, sont douées de pouvoir rotatoire. [28]

Les huiles essentielles sont volatiles et entraînaibles par la vapeur d'eau. Selon leur volatilité V à 20°C, exprimée en $\text{g/m}^2\cdot\text{h}$, elles sont classées en quatre catégories [29]:

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

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

- l'hydrosolubilité ne varie pas, en fonction de la température [30]
- l'hydrosolubilité présente un maximum
- l'hydrosolubilité présente un minimum [31]:

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

Elles ont un indéniable pouvoir de pénétration percutané : il a été constaté qu'un individu qu'on frictionne à l'eucalyptol présente quelques instants après une haleine très odorante. [28]

II-1.5. Propriétés chimiques des huiles essentielles [28]

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

II-1.6. Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles

Lorsque l'on parle d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets : une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique. Le plus souvent, l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides. Plusieurs études ont ainsi montré l'apparition de fuites d'ions potassium dans des cellules microbiennes (*Escherichia Coli* et *Staphylococcus aureus*) en contact avec certaines huiles essentielles. Cette fuite de potassium est la toute première preuve de l'existence de lésions irréversibles au niveau de la membrane de la bactérie. Le thymol, le carvacrol, des composants actifs d'huiles essentielles, rendent perméable la membrane des bactéries, un effet précurseur de leur mort. Les huiles essentielles ont donc bien des propriétés bactéricides. L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires, alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques, et à leurs effets [32].

II-1.6.1 Les actifs antibactériens

Les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols : thymol, carvacrol et eugénol. Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utilisés contre les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation. Le thymol et l'eugénol sont responsables des activités fongicides et bactéricides des huiles essentielles qui en contiennent. La molécule de thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches et, parmi elles, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, sur lesquelles elle provoque des fuites d'ions potassium [33].

II-1.6.2 Les actifs antifongiques

Les groupes moléculaires avec les actions antibactériennes les plus puissantes, sont également des antifongiques efficaces, mais ils doivent être utilisés sur de plus longues périodes. Des études fondamentales ont également montré que les alcools et les lactones sesquiterpéniques présentent une activité antifongique [34].

II-1.7. Conservation des huiles essentielles

A cause de leurs volatilité et sensibilité à la lumière et à la chaleur, les huiles essentielles doivent être conservées au frais, dans des bouteilles en verre sombre, remplies au ras de bord et fermées hermétiquement [35].

II-1.8. Emploi des huiles essentielles [28]

Les huiles essentielles sont très utilisées en pharmacie, pour usage thérapeutique et comme excipients. C'est un arsenal thérapeutique de double face, vu que la dose de la toxicité est très proche de la dose thérapeutique. Il faut éviter l'automédication par les huiles essentielles, ne pas les utiliser directement sur les yeux, respecter les doses prescrites

La parfumerie, la cosmétologie et l'industrie alimentaire sont les autres secteurs utilisateurs des huiles essentielles.

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

L'intérêt croissant pour l'huile essentielle issue des parties aériennes de *Salvia officinalis* L. a donné lieu à de nombreuses études relatives à sa composition, à ses propriétés physico-chimiques et microbiologiques.

II-2.1. Composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L

On sait, aujourd'hui, que des plantes appartenant à la même espèce fournissent des huiles essentielles de compositions différentes. Cette variabilité dépend essentiellement des facteurs cités auparavant.

Des monographies [36, 37], consacrées à la composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L, publiées en 1990, signalent que seuls quatre composés se partagent les teneurs les plus élevées dans l'huile essentielle et sur cette base, cinq chémotypes ont été définis [37]:

- Chémotype à camphre > α -thuyone > 1-8 cinéol > β -thuyone
- Chémotype à camphre > α -thuyone > β -thuyone > 1-8 cinéol
- Chémotype à β -thuyone > camphre > 1-8 cinéol > α -thuyone
- Chémotype à 1-8 cinéol > camphre > α -thuyone > β -thuyone
- Chémotype à α -thuyone > camphre > β -thuyone > 1-8 cinéol

La composition de l'huile commerciale de *Salvia officinalis* L. a été, alors, réglementée par la norme ISO 9909 qui indique les taux des principaux composés de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L, présentés dans le tableau II.1 suivant.

Tableau II.1 : Composition normalisée de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Composé	Teneur, %	Composé	Teneur, %
α-thuyone	18,0-43,3	Nα-Humulène	0-12,0
β-thuyone	3,0-8,5	α-thuyène	1,0-6,5
Camphre	4,5-24,5	Camphène	1,5-7,0
1,8-Cinéol	5,5-13,0	Limonène	0,5-3,0
Acétate de bornyle	< 2,5		

Cette norme couvre la presque totalité des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. étudiées jusqu'à 1999 [38].

Depuis 1999, de nombreuses études rapportent des compositions différentes et, par conséquent, des nouveaux chémotypes de *Salvia officinalis* L. ont été définis, comme montré dans le tableau II.2.

Tableau II.2 : Teneurs, %, des constituants majoritaires de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. provenant de différents pays [40,41]

Islande	Italie	Cuba	Serbie	Géorgie	Roumanie	Portugal	France
α-thuyone 45,5 Camphre 15,9 β-Thuyone 8,4 1,8-cineole 8,3	Camphre 26,8 α-thuyone 23,0 p-cymène 11,8 Pinocarvéol 6,6	α-Humulene 14,7 Viridiflorol 13,4 α-thuyone 12,9 β-Thuyone 10,8	α-thuyone 22,1 1,8-cineole 16,2 α-Humulene 11,0 β-Caryophyllene 6,0	α-thuyone 31,5 β-Thuyone 17,5 1,8-cineole 17,5	α-thuyone 21,8 Viridiflorol 11,7 Camphre 11,2 Manool 9,1	α-thuyone 22,8 1,8-cineole 15,7 Viridiflorol 10,9	Camphre 22,0 α-thuyone 20,9 1,8-cineole 13,4
Hongrie	République Tchèque	Brésil	Herzégovine	Bulgarie	Turquie	Espagne	Iran
Camphre 30,7 β-Thuyone 17,6 1,8-cineole 17,0 Camphene 4,4	α-thuyone 25,1 Camphre 24,1 1,8-cineole 11,9 α-Humulene 6,8	α-thuyone 24,8 1,8-cineole 14,8 Borneol 11,1 Camphre 10,9	Viridiflorol 18,5-24,0 α-thuyone 9,3-15,6 α-Humulene 10,2-13,6 Manool 10,0-13,3 1,8-cineole 9,2-10,9	α-thuyone 21,5 1,8-cineole 16,2 α-Humulene 11,2 β-pinene 7,6	α-thuyone 29,4 β-Thuyone 17,4 1,8-cineole 12,5 Camphre 11,7	Camphre 22,9 α-thuyone 20,6 β-Thuyone 15,1 Borneol 7,9	1,8-cineole 15,3-22,3 α-thuyone 9,1-25,2 β-pinene 7,1-16,4 p-Cymene 3,5-11,0
Lituanie [39,41]							
Lituanie -Vilnius	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D	Lot E	Lot G	Lot H
α-thuyone 14,8-18 α-Humulene 7,6-8,7 Manool 10,0-13,3 Viridiflorol 7,7-8,2 1,8-cineole 6,6-8,2	1,8-Cineole 17,6 Viridiflorol 13,8 α Humulene 11,2 β-Caryophyllene 10,2 Manool 7,9	1,8-Cineole 12,4 β-Caryophyllene 9,0 Manool 8,9 α -Thuyone 8,3 Borneol 7,5	Manool 14,4 α-thuyone 11,5 Viridiflorol 10,5 α -Humulene 8,7 Borneol 5,9	Manool 20,9 Viridiflorol 16,5 α-Humulene 7,2 Humulene epoxide II 3,7 Borneol 3,5	Manool 15,5 Viridiflorol 11,2 α-thujone 9,6 α-Humulene 8,7 Borneol 8,1	α-thujone 12,6 Manool 11,5 Viridiflorol 10,5 α-Humulene 9,8 Borneol 7,1	α-Thujone 12,6 Manool 10,3 Camphor 9,9 α-Humulene 9,2 Viridiflorol 9,0

Concernant la composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. d'Algérie, les résultats de recherches récents publiés ou en cours, sont regroupés dans le tableau II.3 suivant.

Tableau II.3 : Teneurs, %, des constituants majoritaires de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., provenant d'Algérie

T. DOB et coll. [40]		I. CHAFAA [42]		O. BENSELMA, N. LAZLI [43]	
Camphre	20,4	Manool	17,8	α -thuyone	21,7
α - thuyone	19,6	Viridiflorol	11,2	1,8- cinéol	19,3
1,8- cinéol	12,3	β -Caryophyllène	9,7	Camphre	10,1

Si les compositions des huiles essentielles étudiées dans les travaux [40] et [43] permettent de les rattacher aux chémotypes déjà décrits précédemment [37], celle présentée dans le travail [42] est différente des compositions rapportées dans la bibliographie [39-41], ce qui suggère qu'on est probablement en présence d'un nouveau chémotype de *Salvia officinalis* L.

II-2.2 Propriétés physiques de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L

Les propriétés physiques d'une espèce chimique constituent, sa carte d'identité.

Nous présentons, dans le tableau II.4 suivant, quelques caractéristiques physiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. rapportées dans la littérature.

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

Caractéristiques physiques	Algérie [46]	Georgie [47]	Amérique [44]	Dalmatie [44]	AFNOR [45]
Densité	0,926	0,921	0,922-0,926	0,915-0,927	0,910-0,930
Indice de réfraction	1,4676	1,4630	1,4699-1,4650	1,4647-1,4680	1,4580-1,4740
Pouvoir rotatoire	+3°	24,91°	+4°28' - +4°56'	+4° - +11°42'	+2° - +30°

La densité et l'indice de réfraction sont les propriétés les plus souvent utilisées pour le contrôle et la caractérisation des huiles essentielles. Le pouvoir rotatoire est une propriété qui nous renseigne sur l'activité optique d'une substance et la plupart des huiles essentielles en possèdent un.

II-2.2 Propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L

Dans la médecine ancienne, la sauge était utilisée pour soulager divers maux, notamment, les inflammations de la bouche et de la gorge. Cette utilisation traditionnelle a été justifiée, ultérieurement, grâce à des études scientifiques [48-50].

Des études menées par la méthode de l'antibiogramme, pour déterminer l'inhibition de la croissance des bactéries par l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., rapportent une certaine efficacité contre des souches de bactéries, comme *S.aureus*, *B.subtilis*, *S.feacalis* et des variantes de *E.coli* [51].

Le protocole expérimental et l'interprétation des résultats obtenus par la méthode d'antibiogramme sont présentés en annexe II.

A titre d'exemple, nous rapportons dans le tableau II.5, les résultats d'une étude [51] portant sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. et d'une de ses fractions, obtenue par distillation sous vide de l'huile essentielle, de teneur totale, en camphre, thuyones et 1,8-cinéol, respectivement, 71,26 et 28,86 %. La concentration en huile utilisée est de 2 µL/disque. L'activité antimicrobienne est évaluée par le diamètre de la zone d'inhibition.

Tableau II.5 : Effet antibactérien de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

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

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

CHAPITRE III

EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU À ECHELLE SEMI-PILOTE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *SALVIA OFFICINALIS* L.

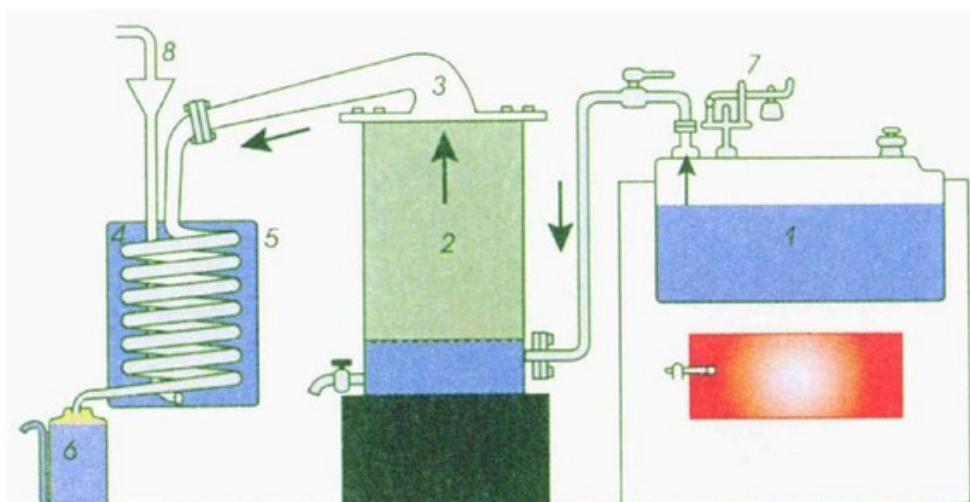
L'extraction solide/fluide est une opération de séparation d'un ou plusieurs constituants solides ou liquides, contenus dans un corps solide, par solubilisation dans un fluide. Ce fluide, appelé généralement solvant, peut être un liquide ou un gaz (vapeur d'eau ou fluides supercritiques) [52]. Tout l'art de l'extraction est la connaissance des paramètres influant sur la nature et la cinétique de ce transfert de masse du solide vers le solvant. [53]

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

III-1.1. Principe

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'un des plus anciens procédés d'extraction ou de séparation de certaines substances organiques, apporté par les Arabes au IXe siècle et ayant pour but d'entraîner avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts. [54]

La matière végétale, placée sur une grille, dans l'alambic est traversée par un flux de vapeur, venant du générateur. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles, en les séparant du substrat cellulosique. Chargée de l'essence, elle se condense dans le serpentin du condenseur, avant d'être récupérée dans un essencier, vase florentin ou décanteur.



Légende

- 1 - Générateur de vapeur 2 - Alambic 3 - Chapiteau 4 - Serpentin 5 - Condenseur
6 - Décanteur 7 - Soupape de sécurité 8 - Alimentation en eau froide

Figure III.1: Schéma type d'une installation d'entraînement à la vapeur d'eau [54]

Les eaux de condensation sont décantées pour donner l'huile surnageante ou huile essentielle. La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation ou hydrolat. On recueille, alors, un mélange de ces deux produits.

L'entraînement à la vapeur est applicable aux composés peu ou pas solubles dans l'eau, dotés d'une tension de vapeur assez importante vers 100°C. Toutes les matières premières aromatiques naturelles ne peuvent pas donner de l'huile essentielle de bonne qualité par ce procédé. Par exemple, on ne peut pas traiter les fleurs de jasmin par distillation, car son parfum complexe et délicat est en grande partie détruit à la température d'ébullition de l'eau et plusieurs constituants caractéristiques subissent par hydrolyse une altération profonde. Dans ce cas, on préfère utiliser des procédés d'extraction aux solvants volatils. [55,56]

III-1.2. Théorie

Les phénomènes régissant l'entraînement la vapeur d'eau sont complexes et peu connus à ce jour. Tous les travaux semblent se référer à la théorie de Von Rechenberg [57]. Selon cette théorie, le mode de récupération des huiles essentielles à partir des cellules végétales, au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau, suit deux processus : l'osmose et la diffusion libre.

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

Les échanges de vapeurs eau - huile essentielle à travers les tissus de la plante dépendent de la perméabilité de ces derniers. Des études microscopiques semblent prouver que les parois cellulaires sont imperméables et emprisonnent les huiles essentielles, aux températures ordinaires. Seule une faible quantité de composés volatils arrive à s'échapper. Au cours de l'entraînement à la vapeur, les conditions de température et de pression augmentent considérablement le mouvement des molécules dans la plante, mais à la température d'ébullition de l'eau, une partie des composés volatils de l'huile diffuse dans l'eau qui aurait pénétré les tissus de la plante. Le mélange eau - huile essentielle, ainsi obtenu, diffuse jusqu'à la surface de la plante, où l'huile essentielle est entraînée sous forme d'azéotrope par la vapeur d'eau.

Une étude menée par GOKHALE et MASADA [58] sur l'entraînement à la vapeur d'eau des graines confirme l'existence de deux étapes : osmose, dans le cas d'un matériel végétal intact, où les parois cellulaires ralentissent la cinétique d'extraction, et diffusion libre dans le cas d'un matériel broyé, le broyage détruit toute barrière entre l'huile essentielle et la vapeur d'eau [59].

Lorsque le matériel végétal est finement découpé, les parois cellulaires sont détruites et l'entraînement de l'huile se fait exclusivement par diffusion libre. Dans ce cas, les

constituants de l'huile distillent dans l'ordre de leurs volatilités. Le processus de distillation est accéléré et la durée totale d'extraction peut ainsi être considérablement réduite. Le découpage est donc conseillé, car il diminue le chemin de l'essence, à travers le tissu de la plante, jusqu'à la surface et évite les phénomènes de diffusion à cinétique lente, mais d'autre part, il provoque inévitablement des pertes d'huile essentielle.

Pour une huile essentielle, les écarts entre la tension de vapeur d'une part, et le poids moléculaire des constituants d'autre part, montrent qu'il peut s'établir une sélectivité d'entraînement, probablement, selon le gradient de température d'ébullition, elle-même liée à ces deux facteurs. Le fractionnement d'une huile essentielle au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau est dû principalement à la différence de volatilité entre les divers constituant [60].

D'autre part, il semblerait [59] que, pour un matériel végétal intact, les composés polaires soient entraînés plus vite que les composés apolaires. Ainsi, les hydrocarbures monoterpéniques sortiraient après les alcools monoterpéniques. Or, la considération des températures d'ébullition n'explique pas cet ordre de sortie. Ce phénomène trouverait une interprétation, en considérant que la vitesse de diffusion des composés oxygénés dans l'eau, est supérieure à celle des composés apolaires et ils seront les premiers à arriver à la surface pour y être entraînés par la vapeur.

En résumé, l'entraînement à la vapeur d'eau des huiles essentielles est un processus de transfert de matière complexe, du fait que les dépôts d'huile dans la matière végétale sont de nature et de localisations différentes : exogènes et endogènes. Le processus s'effectue en deux étapes :

- L'hydrodiffusion: c'est la diffusion de matière en milieu aqueux jusqu'à la surface de la matière végétale.
- La distillation: c'est l'évaporation de l'huile essentielle se trouvant à la surface de la matière végétale dont les constituants sont directement entraînés par la vapeur.

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

III-1.3.1. La durée d'extraction

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

III-1.3.2. Le débit de vapeur

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

III-1.3.3. Le débit spécifique de vapeur

Le débit spécifique représente la masse de vapeurs d'eau par unité de masse de matière végétale sèche et par unité de temps :

$$D_{sp} = D/M \quad (III.1.)$$

Il est exprimé en g/g.mn

III-1.3.4. La température du distillat

La température du distillat est liée à la solubilité de l'huile essentielle dans l'eau, dont il faut tenir compte. La récupération complète, par décantation, de l'huile essentielle des eaux de distillation, appelée huile primaire, dépend donc de la température du distillat recueilli à la sortie du condenseur. Le choix d'une température convenable permet de minimiser la quantité d'huile solubilisée dans l'eau, appelée huile secondaire, et, dans certains cas, d'éviter un traitement supplémentaire des eaux de distillation [61]

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

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

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

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

- Les histogrammes représentent les valeurs du rendement en huile obtenu dans un intervalle de temps. Ils fournissent des informations concernant la cinétique du processus et la composition de l'huile essentielle. [61]

III-1.5. Le rendement en huile essentielle

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

$$R (\%) = m_{HE} \times 100 / M \quad (III.2)$$

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

III-1.6. Avantages et inconvénients du procédé

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

Parmi les inconvénients de ce procédé, le plus souvent se sont les suivants :

- Certaines substances odorantes sont altérées à la température d'ébullition de l'eau.
- Certains constituants des essences qui sont solubles dans l'eau [23], ne se retrouveront pas dans l'essence, ou tout au moins n'y seront que partiellement représentés. Il en résultera que l'essence obtenue par distillation à la vapeur d'eau n'aura pas toujours exactement l'odeur de la matière première.

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

Nous avons mené nos expériences sur une installation d'extraction solide/fluide à échelle semi-pilote, conçue et réalisée au Département du Génie chimique de l'Ecole Nationale Polytechnique [62]. L'installation est schématisée sur la figure III.2. Elle a été réalisée avec des éléments de récupération en verre spécial (EIVS) et la taille des différents équipements a été imposée par leur disponibilité.

La chaudière génératrice de vapeur est constituée d'un ballon de capacité de 14 l, placé dans un chauffe ballon. Le chauffage est assuré par trois résistances, de 500 W chacune, enrobées dans la laine de verre. L'hémisphère supérieur du ballon chaudière est recouvert

d'une calotte sphérique chauffante amovible, dans le but de diminuer les pertes thermiques et d'augmenter la puissance de chauffe. Ces résistances sont commandées par des disjoncteurs.

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

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

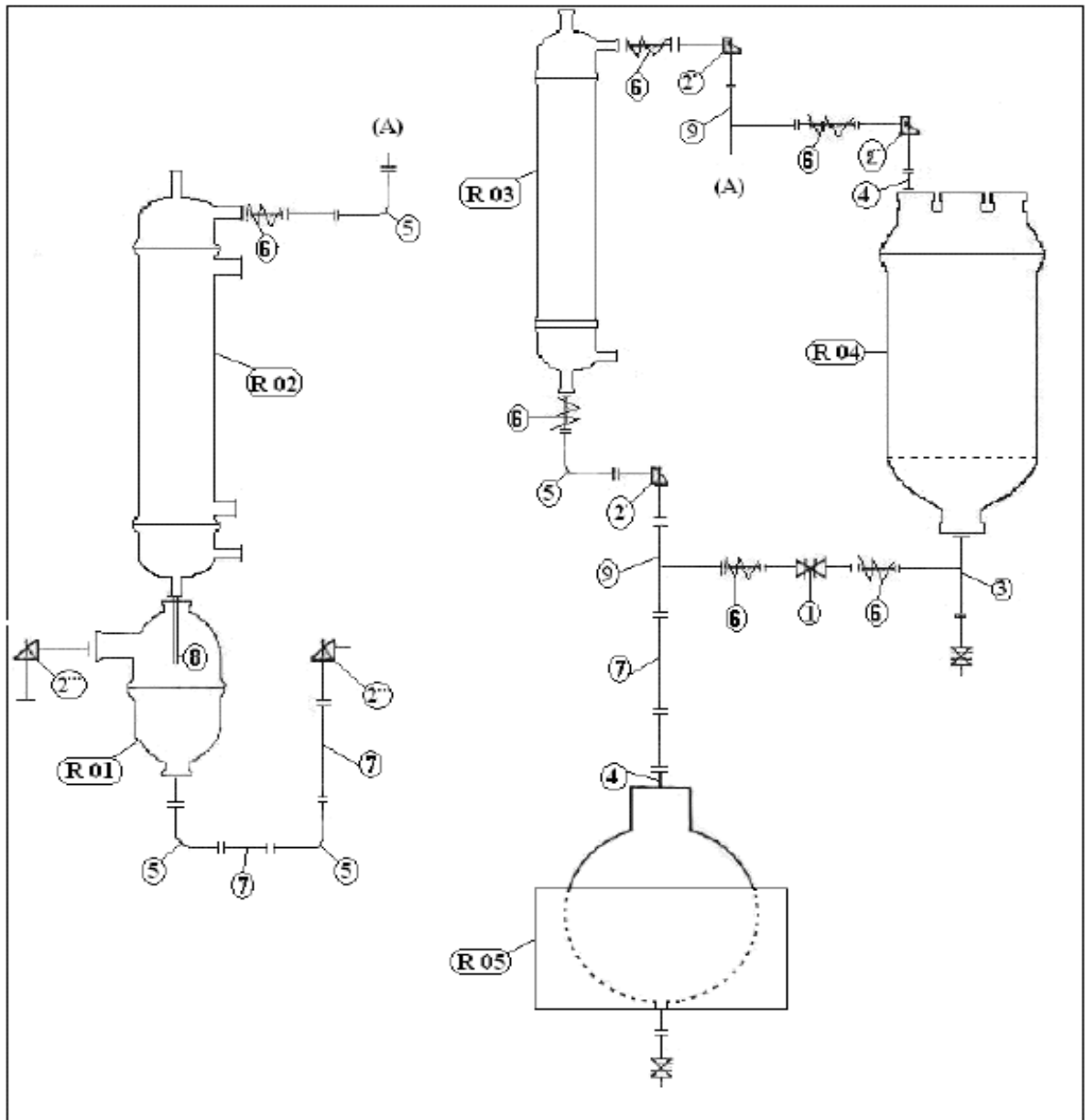


Figure III.2. : Schéma de l'installation d'extraction solide-fluide [62]

Principaux équipements

R01 : Décanteur

R02 : Condenseur

R03 : Petit extracteur

R04 : Grand extracteur

R05 : Chaudière

Les jonctions

1. Robinet de passage direct

2. Robinet de passage d'équerre

3. Réduction avec sortie latérale

4. Réduction

5. Coude à 90°

6. Flexible

7. Conduite

8. Conduite de diamètre inférieur à celui de 7

9. Tube en T

Le décanteur est à flux inverse, constitué de deux cloches superposées, la cloche inférieure a une seule ouverture verticale, la cloche supérieure en a deux, une verticale et une horizontale. La sortie de la cloche inférieure est reliée à un siphon pour fixer le niveau du

soutirage de la phase lourde et maintenir une interface assurant l'évacuation en continu de la phase légère. Le distillat issu du condenseur s'écoule le long d'un tube fin dont la longueur permet de fixer le niveau d'introduction du mélange eau-huile dans le décanteur. L'huile essentielle est évacuée par une sortie transversale et le niveau d'eau dans le décanteur est contrôlé à l'aide d'une vanne.

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

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

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

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

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

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

En se basant sur les résultats d'une étude en cours [63], la durée d'extraction a été fixée à 3 heures pour l'ensemble des essais.

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

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

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

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

Tableau III.1: Variation du rendement R en huile essentielle, en fonction du débit spécifique D

Masse de matière végétale, g	Taux d'humidité %	Débit de vapeur ml/mn	Débit Spécifique g/g.ml	Rendement en huile essentielle, %
600	76,4	8,5	0,060	0,86
700	65,8	7,8	0,044	0,44
750	65,8	8,7	0,037	0,39
800	73,9	8,6	0,041	0,71
1000	73,9	4,4	0,017	0,08

La variation du rendement en huile essentielle, en fonction du débit spécifique est présentée à la figure III.3 suivante.

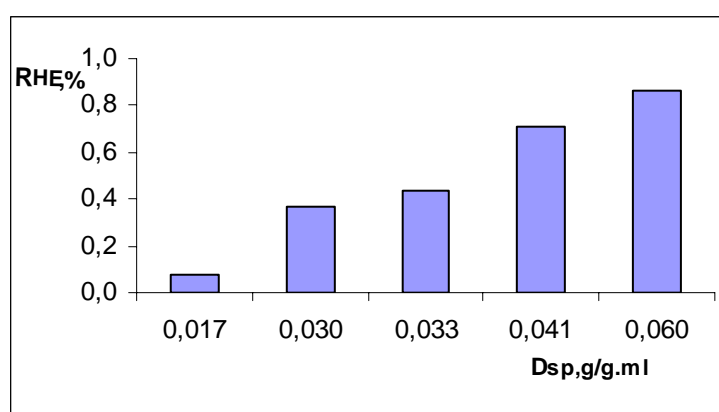


Figure III.3 : Variation du rendement R en huile essentielle, en fonction du débit spécifique Dsp

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

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

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

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

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

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

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

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

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

III-3.2.1. Evaluation statistique de la reproductibilité des résultats

Etant donné que l'ensemble des cinq essais ont été réalisés, en utilisant des échantillons représentatifs d'un même lot de matière végétale, de même masse, de même taux d'humidité dont l'huile totale a été obtenue par entraînement à la vapeur d'eau dans les mêmes conditions opératoires, mise à part la température du distillat dans le décanteur. Les

rendements en huile totale devraient être comparables. On peut, donc, considérer ces essais comme des essais répétitifs, si l'on néglige les pertes dues à l'évaporation de l'huile aux différentes températures.

En effet, pour évaluer la reproductibilité, on doit mesurer plusieurs fois la même grandeur ou phénomène. La différence avec la répétitivité est que l'on reprépare à chaque fois la mesure. Ceci permet de prendre en compte la totalité de la chaîne de mesure et les erreurs humaines [64].

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

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

$$\bar{y} - k.S_d < \bar{y} < \bar{y} + k.S_d \quad (\text{III.1})$$

Où \bar{y} est la moyenne arithmétique des résultats des essais répétitifs, k est le critère de Student, égal à 2,78, pour 4 degrés de liberté, et S_d la déviation standard, calculée par la relation III.3 suivante:

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

Où n est le nombre d'essais répétitifs et y_i , sont les résultats des essais répétitifs [64]

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

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

Essai	Température °C	Taux d'humidité %	Débit de la vapeur d'eau ml/min	Rendement en huile totale, %
1	15	76,4	8,50	0,86
2	20	76,4	7,50	0,37
3	25	76,4	7,71	0,71
4	30	76,4	7,97	0,73
5	35	73,9	9,08	0,83
Moyenne		75,2	8,32	0,70
Déviati on standard, S_d		1,06	1,33	0,21
Intervalle de confiance		73,3÷77,1	7,39÷9,25	0,43÷0,97

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

III-3.2.2. Interprétation des résultats

En tenant compte des masses d'huile primaire, secondaire et totale, obtenus en maintenant la température du mélange eau - huile dans le décanteur à différentes températures, nous avons calculé les proportions des masses des huiles primaire et secondaire par rapport à celle de l'huile totale obtenue. Le tableau III.2 regroupe les résultats obtenus.

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

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

L'examen des valeurs de ce tableau montre que la proportion d'huile secondaire est maximale pour la température de 15°. En effet, 7% de l'huile totale sont solubilisés dans la phase aqueuse et ne peuvent être récupérés par décantation. Ce résultat est en accord avec des données de la littérature [61], relatif à la solubilité dans l'eau de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

Le pourcentage d'huile secondaire solubilisée dans les eaux de distillation, par rapport à l'huile totale récupérée à différentes températures du distillat dans le décanteur, présente un minimum à 30°, comme le montre la figure III.4 suivante.

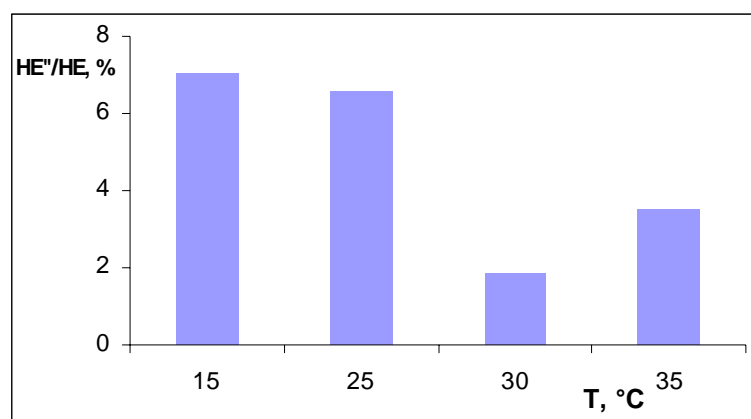


Figure III.4 : Evolution de la proportion d'huile secondaire par rapport à l'huile totale obtenue à différentes températures du distillat ans le décanteur

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

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

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

Nous avons procédé à l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau des échantillons, de matière végétale, à l'état frais, séché à l'ombre et au soleil. Deux séries d'essais ont été réalisées, en raison des contraintes de dysfonctionnement du système de chauffage de la chaudière :

- Série 1 : extraction de la plante fraîche et séchée à l'ombre avec un débit de vapeur moyen de 7,5 ml/mn
- Série 2 : extraction de la plante fraîche et séchée au soleil avec un débit de vapeur moyen de 4,7 ml/mn.

Les rendements, exprimés par rapport à la matière sèche, sont présentés dans le tableau III.3 suivant.

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

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

Nous constatons que, quelque soit le mode de séchage, à l'ombre ou au soleil, il provoque une augmentation du rendement en huile essentielle. Ce fait a été observé pour d'autres espèces végétales et serait dû au métabolisme secondaire, ayant lieu en absence d'oxygène dans les tissus végétaux, conduisant à la formation des terpènes. Le phénomène est connu sous le nom de respiration terpénique. [61]

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

III-3.4. Etude de la cinétique d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

III-3.4.1. Influence du séchage de la plante sur la cinétique d'extraction

Nous avons suivi l'évolution du rendement en huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'entraînement à la vapeur d'eau de 3 échantillons de la plante :

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

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

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

La masse de l'huile essentielle de chaque fraction, récupérée par extraction à l'éther diéthylique, a été déterminée par pesée, après l'évaporation de ce dernier. Le rendement en huile a été exprimé, en %, par rapport à la matière sèche.

Nous avons rapporté, dans le tableau III.5, les rendements obtenus.

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

Temps, mn	Rendement en huile, %		
	Plante fraîche	Plante séchée à l'ombre	Plante séchée au soleil
0	0,00	0,00	0,00
5	-	0,06	0,002
10	0,003	0,13	0,07
20	0,02	0,28	0,15
30	0,02	0,33	0,24
45	0,04	0,54	0,24
60	0,06	0,60	0,32
90	0,07	0,61	0,38
120	0,07	0,64	0,44
150	0,07	0,65	0,51
180	0,08	0,66	0,57
190	-	0,66	-
210	-	-	0,57

Sur la base de ces résultats, nous avons tracé sur les figures III.5, III.6 et III.7, les courbes cinétiques totales, donnant l'évolution du rendement, en fonction du temps.

Les allures de ces courbes nous permettent d'observer des évolutions que l'on peut lier à la structure sécrétrice de la plante. En examinant la courbe cinétique, relative à l'extraction de l'huile essentielle de la plante fraîche, présentée à la figure III.5, on distingue trois étapes :

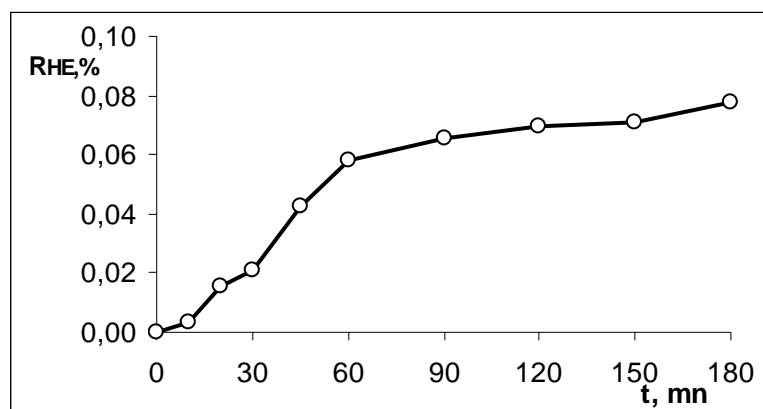


Figure III. 5: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale fraîche

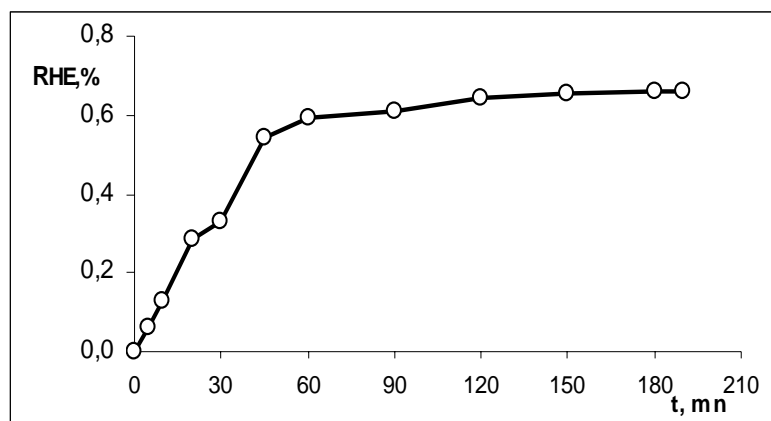


Figure III. 6: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale séchée à l'ombre

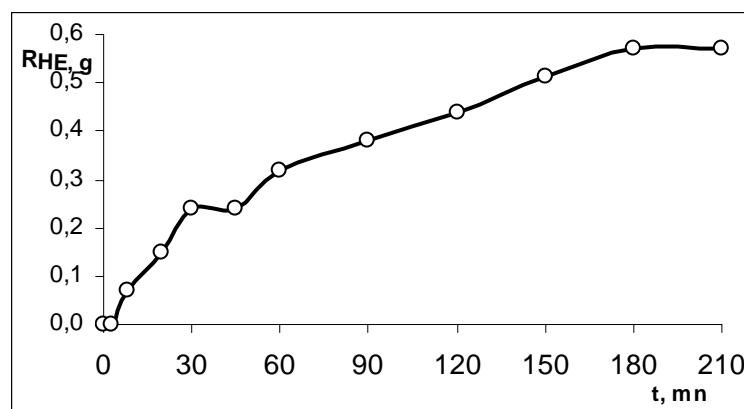


Figure III. 7: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale séchée au soleil

- Une première étape, au début du processus, où la vitesse d'extraction est relativement lente. Au cours de cette étape a lieu, probablement, l'extraction de l'huile libre, située à la surface du végétal, provenant de l'éclatement des trichomes glandulaires, suite aux agressions mécaniques.

- Une seconde étape, entre 30 et 90 minutes, pourrait correspondre à l'extraction de l'huile produite par les trichomes glandulaires, situés à la surface du végétal.

- Une troisième étape, au-delà de 90 minutes, que l'on pourrait attribuer à l'extraction de l'huile provenant des poches endogènes, dont on a supposé l'existence à l'issu des observations, au microscope photonique, des coupes de la tige et de la feuille.

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

En effet, on observe, sur la Figure III.7 que la quantité d'huile, récupérée au cours de la première étape, est très faible, certainement, à cause de son évaporation rapide sous l'effet de la chaleur. La seconde étape, intervenant entre 5 et 30 minutes est la plus rapide. Ceci peut être dû au fait qu'au cours du séchage, les cuticules des trichomes glandulaires se déshydratent, deviennent plus fragiles et plus perméables pour le flux de vapeur, il atteint plus rapidement l'huile essentielle et l'entraîne au terme de 45 minutes du début du processus. Au delà d'une heure d'extraction, on remarque, une évolution ascendante et monotone du rendement en huile, se terminant par un palier. Cette allure particulière pourrait être attribuée, à notre avis, à l'entraînement de l'huile diffusant lentement des poches endogènes vers la surface du végétal.

Par ailleurs, pour les mêmes raisons, mais aussi, probablement à cause du débit spécifique plus élevé, utilisé lors de l'extraction de cet échantillon, la vitesse d'extraction de l'huile de la plante séchée à l'ombre (figure III.6) est plus élevée par rapport à celle de la plante fraîche au début du processus, où l'entraînement de l'huile localisée dans les trichomes glandulaires intervient avant que toute la quantité de l'huile libre, située à la surface des feuilles et des tiges, ne soit complètement récupérée. De même, l'extraction de l'huile endogène commence plutôt que dans le cas de l'extraction de la plante fraîche.

L'examen des histogrammes, présentés sur les figures III.8, III.9 et III.10, confirme ces constatations.

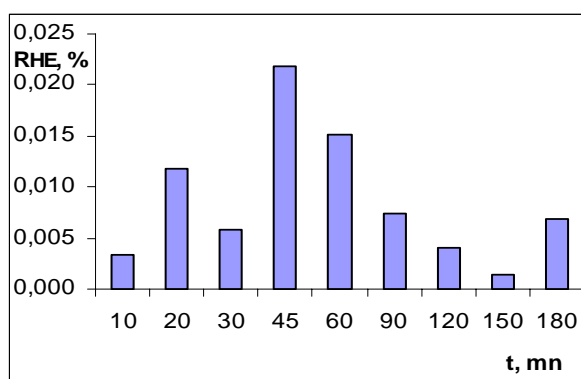


Figure III. 8: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale fraîche

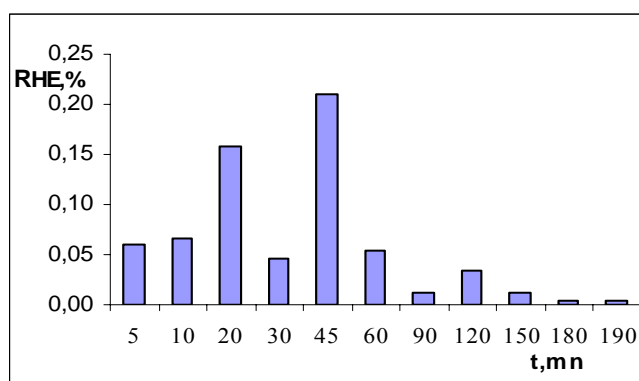


Figure III. 9: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale séchée à l'ombre

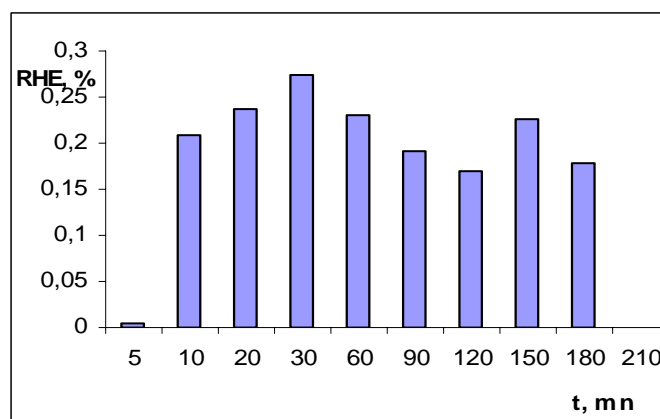


Figure III. 10: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction d'un échantillon de matière végétale séchée au soleil

Enfin, nous remarquons que les rendements en huile obtenus lors de l'extraction des échantillons séchés à l'ombre et au soleil sont de même ordre de grandeur. Cependant, la totalité de l'huile est récupéré en 190 minutes pour l'échantillon séché à l'ombre et en 180 minutes, pour celui, séché au soleil.

L'allure des histogrammes fournit, en outre, des renseignements sur la composition chimique de l'huile essentielle. Les pics des histogrammes situés entre 5 et 10 minutes du début de l'extraction signifient la présence dans l'huile de monoterpènes, ceux entre 20 et 30 minutes pourraient être attribués à leurs dérivés oxygénés, au-delà distillent les sesquiterpènes et leurs dérivés oxygénés, puis les diterpènes etc. [61]

L'allure de l'histogramme, correspondant à l'échantillon de la plante séchée au soleil, suggère une composition chimique plus complexe des fractions d'huile que celle des fractions récupérées, dans les mêmes intervalles du temps, des deux autres échantillons, dont les histogrammes sont similaires au terme d'une heure d'extraction.

III-3.4.2. Influence du débit spécifique sur la cinétique d'extraction

Afin d'apprécier l'influence du débit spécifique sur la cinétique d'extraction, nous avons comparé les allures des courbes cinétiques III.11, obtenues lors de l'extraction de deux échantillons de la matière végétale fraîche avec différents débits spécifiques, respectivement, de 0,017g/g.mn et 0,030g/g.mn.

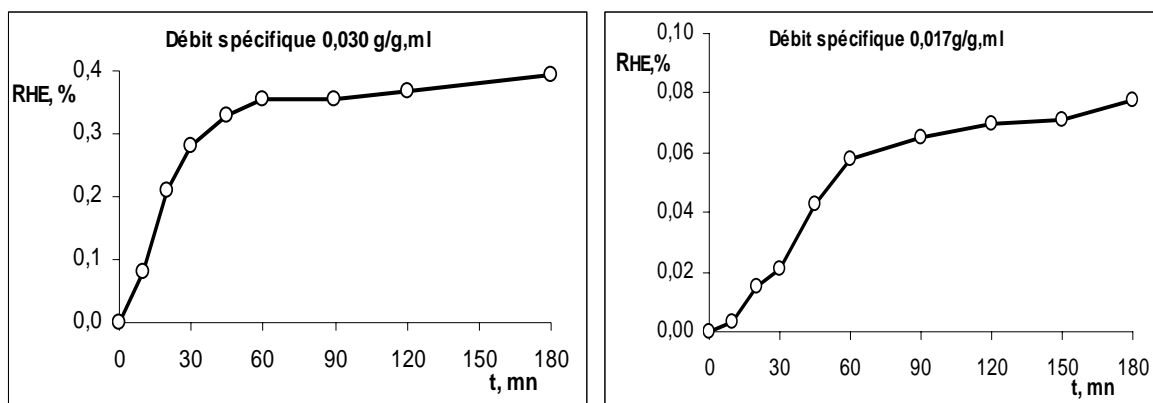


Figure III. 11: Evolution du rendement d'huile essentielle, en fonction du temps, lors de l'extraction avec différents débits spécifiques

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

Par ailleurs, on observe que le débit spécifique affecte la vitesse d'extraction de l'huile, située à la surface de la matière végétale et celle issue des trichomes glandulaires, mais semble ne pas influencer sur la vitesse de récupération de l'huile, provenant des sites endogènes. En effet, cette dernière est régie par la vitesse de diffusion de l'huile vers la surface du végétal.

CHAPITRE IV

ETUDE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *SALVIA* *OFFICINALIS* L.

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

Nous avons procédé à l'analyse de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, afin d'élucider sa composition chimique.

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

Le couplage chromatographie en phase gazeuse–spectrométrie de masse, CG-SM, est aujourd'hui une des techniques les plus utilisées dans la chimie analytique. Cette association des deux techniques, l'une séparative, l'autre, d'identification, permet la séparation des mélanges complexes et l'indentification de leurs constituants présents à l'état de traces, de quelques nano grammes du mélange. [65]

La technique est aujourd'hui à son apogée et trouve des applications dans des domaines aussi variés, tels que l'industrie agroalimentaire, la médecine, la pharmacologie ou l'environnement [66].

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

Le spectromètre de masse, quant à lui, permet l'identification et la quantification des composés purs. Il comporte trois éléments : une source, un analyseur et un détecteur [67].

Les limites de la CG-SM sont celles de la chromatographie en phase gazeuse. Le facteur limitant étant la volatilité des constituants du mélange, cette technique est réservée à l'analyse de molécules aisément vaporisables et thermiquement stables, c'est à dire, en première approximation, de composés de poids moléculaire faible à moyen. Ces limites admises, la CG-SM est un formidable outil d'analyse. La diversité des modes d'injection et des colonnes capillaires (géométrie, nature de la phase stationnaire) autorise la séparation des mélanges extrêmement complexes, tels les huiles essentielles, les métabolites, et d'hydrocarbures... [65].

IV-1.2. Conditions opératoires d'analyse

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

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

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

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

IV-1.3. Identification des constituants

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

- comparaison de leurs indices de rétention, calculés suivant la formule de Van den Dool et Kratz [68] à ceux publiés dans la littérature [69].
- comparaison de leurs spectres de masse à ceux, de la banque de données de l'appareil, en l'occurrence, NIST, et à ceux publiés dans la littérature [69].

IV-1.4. Résultats

Le chromatogramme de l'huile essentielle est présenté à la figure IV.1 suivante, où sont indiqués les noms de quelques uns des constituants identifiés.

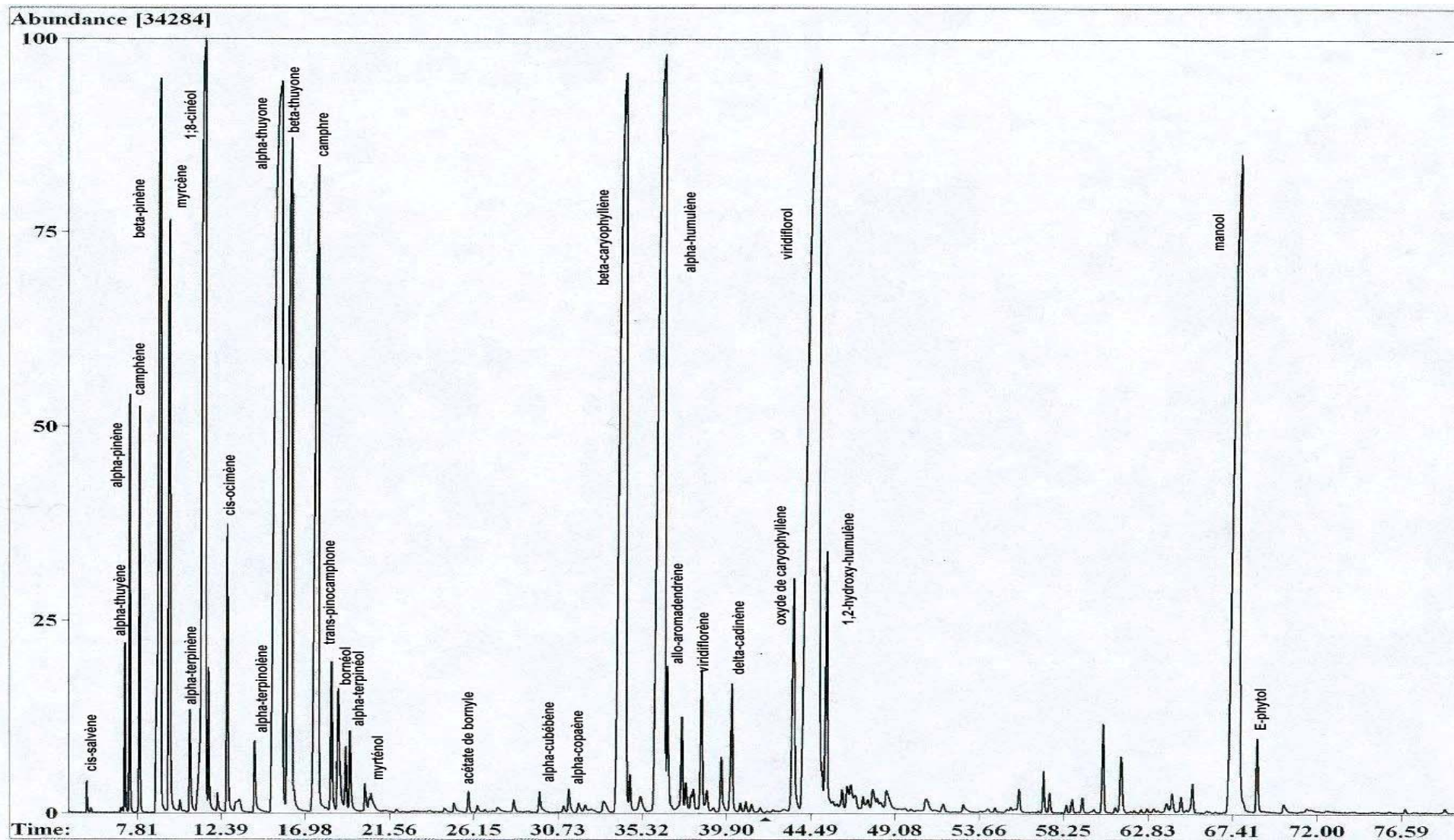


Figure IV.1 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Au total, 61 composés, représentant 97,37% de l'huile essentielle, ont été identifiés. Ils se répartissent entre les différentes classes de composés chimiques, comme montré dans le tableau IV.1 suivant.

Tableau IV.1: Classes chimiques des composés identifiés dans l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Classe chimique	Teneur, %
Hydrocarbures monoterpéniques	10,82
Dérivés oxygénés des monoterpènes	31,32
Hydrocarbures sesquiterpéniques	25,46
Dérivés oxygénés des sesquiterpènes	20,39
Dérivés oxygénés des diterpènes	9,21
Hydrocarbures aliphatiques et dérivés	0,18
Hydrocarbures aromatiques et dérivés	traces

L'examen du tableau IV.1 montre que les dérivés oxygénés des monoterpènes, présents à 31,32%, sont majoritaires, suivis des hydrocarbures sesquiterpéniques, 25,46%, et des dérivés oxygénés des sesquiterpènes, 20,39%. Par contre, les hydrocarbures, aliphatiques et aromatiques, et leurs dérivés sont les classes chimiques les moins représentées.

Dans le tableau IV.2 suivant, nous avons réunis les principaux constituants, dont la teneur relative dans l'huile essentielle est supérieure à 1%.

Tableau IV.2: Principaux constituants de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Nom du composé	Teneur, %	Nom du composé	Teneur, %
β -pinène	4,41	β -caryophyllène	10,47
Myrcène	2,12	α -humulène	11,59
1,8-cineol	6,73	Oxyde de caryophyllène	1,24
α -thuyone	11,99	Viridiflorol	17,79
β -thuyone	5,29	1,2-époxy-humulène	1,13
Camphre	5,15	Manool	9,21

Nous constatons que les composés majoritaires, représentant 61,05% de l'huile essentielle, sont les suivants:

Viridiflorol	17,79%
α-thuyone	11,99%
α-humulene	11,59%
β-caryophyllene	10,47%
Manool	9,21%

Si l'on se réfère au chémotypes de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. rapportés par les travaux antérieurs et regroupés dans le tableau II.2, on constate que cette composition est inédite et pourrait donner lieu à la définition d'un nouveau chémotype.

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

L'huile essentielle extraite de l'échantillon de la matière végétale séchée à l'ombre, de taux d'humidité de 16,9%, ayant fourni le rendement maximal de 1,25%, a fait l'objet de quelques essais tels que la détermination des propriétés physiques, à savoir : la densité, la volatilité et la solubilité dans l'eau.

IV-2.1 Aspect

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. , est un liquide mobile, limpide, d'odeur caractéristique camphrée, un peu épicée.

L'huile faisant objet de cette étude est marron clair, par contre celle extraite à partir de la plante fraîche, est jaune clair.

IV-2.2. Densité

La densité de l'huile essentielle a été déterminée à l'aide d'un pycnomètre de 5ml. A la température de 20°C, sa valeur de 0,912, est conforme à la norme AFNOR (Tableau II.4).

IV-2.3. Indice de réfraction

L'indice de réfraction de l'huile essentielle, obtenue des échantillons de la plante fraîche et séchée à l'ombre de différents taux d'humidité, a été mesuré à la température de 20°C, en utilisant la raie D de sodium. Les valeurs sont regroupées dans le tableau IV.3.

Tableau IV.3: Indices de réfraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. obtenue des échantillons de la plante de différents taux d'humidité

Echantillon de plante	Taux d'humidité, %	η_D^{20}
fraîche	73,9	1,4712
séchée à l'ombre	24,9	1,4657
séchée à l'ombre	16,9	1,4657

Nous avons constaté que les valeurs des indices de réfraction mesurées sont conformes à la norme AFNOR (Tableau II.4).

Par ailleurs, on remarque que l'indice de réfraction de l'huile varie, en fonction de l'état de la plante, mais reste constant pour l'huile extraite de la plante séchée à l'ombre, quelque soit son taux d'humidité.

IV-2.4. Volatilité

La volatilité à 20°C de l'huile essentielle a été déterminée, en utilisant le protocole expérimental d'usage [30]. Il consiste à verser, dans un cristalliseur de forme cylindrique, une quantité d'huile essentielle de masse connue, suffisante pour couvrir le fond du cristalliseur, l'exposer à l'air libre, à température fixe, et de procéder à des pesés, pour déterminer la masse d'huile évaporée. La volatilité est exprimée en grammes d'huile essentielle, évaporées en unité du temps par unité de surface, g/hm^2 .

Les mesures ont été effectuées chaque heure, pendant trois heures. La durée de trois heures a été choisie, en se référant à la durée d'extraction de l'huile.

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau IV.4 suivant.

Tableau IV.4 : Volatilité de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. à 20°C

Temps, heures	Volatilité, g/hm^2
1	11,72
2	10,24
3	9,46

Nous constatons que la volatilité de l'huile essentielle diminue, lorsque la durée d'exposition à l'air libre augmente.

La valeur moyenne de la volatilité à 20°C appartient à l'intervalle $10 \div 30 g/hm^2$ et permet classer l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. dans la catégorie des huiles à volatilité moyenne.

IV-2.5. Evolution de la solubilité dans l'eau de l'huile essentielle, en fonction de la température

L'évolution de la solubilité dans l'eau de l'huile essentielle a été déterminée suivant le protocole expérimental d'usage [31]. Il consiste à mélanger dans une ampoule à décanter l'huile essentielle, de masse connue, avec de l'eau. Après une agitation rigoureuse, l'ampoule est placée, pendant 3 heures, dans un bain thermostaté à une température fixe, respectivement, à 15, 20, 25 et 30°C. L'huile essentielle est séparée ensuite, par décantation, et l'eau subit des extractions successives à l'éther diéthylique. La masse de l'huile solubilisée dans l'eau est déterminée par pesée, après l'évaporation de l'éther. La solubilité de l'huile est exprimée en milligrammes d'huile dans 100 ml d'eau, mg/100ml.

Deux essais répétitifs ont été réalisés pour chaque température et les valeurs moyennes de la solubilité dans l'eau de l'huile essentielle à différentes températures sont réunies dans le tableau IV.5 suivant.

Tableau IV.5 : Solubilité dans l'eau de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. à différentes températures

Température, °C	15	20	25	30
Solubilité dans l'eau, mg/100ml	69,1	0,1	26,1	100,3

Sur la base de ces résultats, nous avons tracé, sur la figure IV.2, la courbe de solubilité dans l'eau de l'huile essentielle, donnant l'évolution de la solubilité dans l'eau, en fonction de la température.

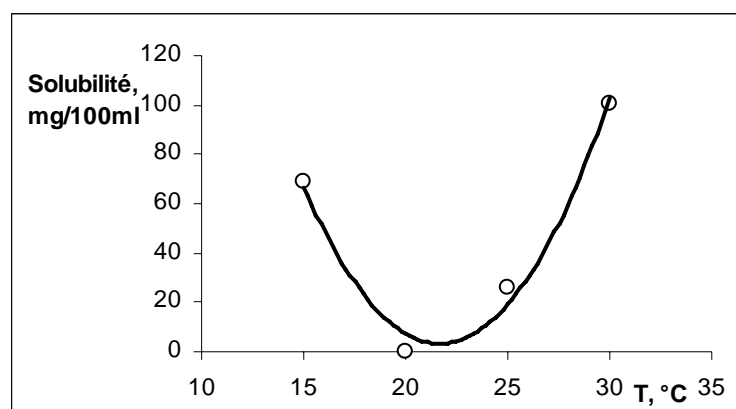


Figure IV.2 : Evolution de la solubilité dans l'eau de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., en fonction de la température

L'évolution de la solubilité S dans l'eau de l'huile essentielle, dans l'intervalle de températures, T, de 15 à 30°C, est correctement représentée par l'équation IV.1 suivante, le facteur de corrélation étant de 0,98 :

$$S=1,432T^2 - 62,048T + 675,28 \quad (\text{IV.1})$$

La branche décroissante de cette parabole traduit la diminution de la solubilité colloïdale de l'huile essentielle dans l'eau, qui diminue avec l'augmentation de la température. L'augmentation de la solubilité moléculaire avec l'élévation de la température est représentée par la branche ascendante.

L'équation IV.1 possède un minimum à 22°C. A cette température, la solution colloïdale coagule et les gouttelettes d'huile formées remontent vers l'interface huile-eau.

Ce résultat est intéressant, car il permet de recommander le maintien de la température des eaux de distillation dans le décanteur à 22°C, lors de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de l'huile essentielle à partir de la matière végétale séchée à l'ombre, afin d'éviter un traitement supplémentaire des eaux de distillation, visant la récupération de l'huile secondaire.

IV-3. Propriétés antibactériennes

Nous avons évalué, par la méthode d'antibiogramme, l'activité antimicrobienne de deux échantillons d'huile essentielle :

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

En se basant sur des travaux antérieurs [70], nous avons fixé la concentration de l'huile à 2,5µl/disque.

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

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

Tableau IV.6 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Microorganisme	Origine	Diamètre de la zone d'inhibition, mm		
		Echantillon 1	Echantillon 2	
Cocci				
<i>Staphylococcus aureus</i>	P.C. 802	Pus de fistule	<6	<6
<i>Staphylococcus aureus</i>	P.C. 830	Pus de fistule	<6	<6
<i>Staphylococcus aureus</i>		ATTC 25923	<6	15
<i>Staphylococcus aureus</i>	P.C. 4309	ECBU*	<6	<6
<i>Enterococcus faecalis</i>	P.C. 215	ECBU	20	18
<i>Enterococcus faecalis</i>	P.C. 270	ECBU	<6	16
Entérobactéries				
<i>Echerichia coli</i>		ATTC 25922	<6	<6
<i>Echerichia coli</i>	P.C. 532	ECBU	<6	<6
<i>Echerichia coli</i>	P.C. 527	ECBU	<6	<6
<i>Echerichia coli</i>	P.C. 464	ECBU	<6	<6
<i>Echerichia coli</i>	P.C. 396	P.V	<6	<6
<i>Serratia marcescens</i>	P.C.	ECBU	<6	<6
<i>Citrobacter freundii</i>	P.C.	ECBU	<6	<6
<i>Citrobacter diversus</i>	P.C. 486	Coproculture	<6	<6
<i>Proteus vulgaris</i>	P.C. 818	Pus de fistule	<6	<6
BGN oxydatif				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	P.C. 816	Pus de fistule	<6	<6

* ECBU : examen cytobactériologique des urines

L'examen de ces résultats suscite les remarques suivantes :

- Seules les cocci sont sensibles à l'action de l'huile essentielle. L'activité de l'huile vis-à-vis de ces microorganismes est très élevée, car le diamètre des zones d'inhibition est supérieur à 13 mm.

- Les cocci sont plus sensibles à l'huile essentielle extraite de la plante sèche: l'huile extraite de la plante fraîche n'a d'effet que sur *Enterococcus faecalis* P.C. 215.

- Pour la concentration de 2,5 μ l/disque utilisée, les autres souches bactériennes se sont révélées résistantes à l'huile essentielle.

Les résultats de ces premiers essais sont encourageants et la recherche dans ce domaine mérite d'être approfondie et orientée, notamment, vers la détermination de la concentration minimale inhibitrice pour chaque souche.

CONCLUSION

Ce travail a porté sur l'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. par entraînement à la vapeur d'eau, l'élucidation de sa composition chimique, la détermination de ses propriétés physiques et l'évaluation de son activité antimicrobienne.

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

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

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

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

Les observations microscopiques des différents organes, des coupes de la tige et de la feuille de la plante, ont confirmé le caractère exogène de la structure sécrétrice de *Salvia officinalis* L. et ont révélé la présence des cavités, qui pourraient être assimilées à des poches endogènes, renfermant éventuellement de l'huile essentielle.

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

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

L'analyse de l'huile essentielle par CG-SM, a permis l'identification de 61 composés, représentant 97,37% de l'huile. Cinq composés majoritaires se partagent 61,05% de l'huile essentielle, en l'occurrence, le viridiflorol (17,79%), l' α -thuyone (11,99%), l' α -humulene (11,59%), le β -caryophyllene (10,47%) et le manool (9,21%). Cette composition est inédite et pourrait donner lieu à la définition d'un nouveau chémotype de *Salvia officinalis* L.

Les propriétés physiques de l'huile essentielle, notamment, son aspect, sa densité et son indice de réfraction, sont conformes aux normes AFNOR pour la commercialisation des huiles essentielles et la valeur de la volatilité à 20°C de l'huile permet de la classer dans la catégorie des huiles de volatilité moyenne. Quant à la solubilité dans l'eau de l'huile, issue des essais, ayant fourni le meilleur rendement, elle présente un minimum à 22°C.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle, vis-à-vis de seize souches, appartenant à trois familles, cocci, entérobactéries et BGN oxydatif, a été évaluée par la méthode d'antibiogramme. Pour la concentration en huile par disque utilisée, seules les cocci sont sensibles à l'action de l'huile essentielle, en particulier, de celle extraite de la plante sèche à l'ombre, et son activité s'est révélée très élevée.

Cette étude, loin d'être achevée, a permis d'approcher les conditions optimales de fonctionnement de l'installation et de recommander l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. à partir de matière végétale séchée à l'ombre, avec un débit spécifique de l'ordre de 0,06 g/g.mn et une température de distillat dans le décanteur de 22°C. L'huile essentielle, ainsi obtenue est conforme aux normes

AFNOR et présente une activité antimicrobienne appréciable vis-à-vis des cocci. En outre, ce travail ouvre la voie de futures recherches, aussi bien dans le domaine des sciences appliquées que fondamentales, tels la biologie végétale, la microbiologie etc., en vue de la valorisation de *Salvia officinalis* L.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] **Site web** <http://fr.wikipedia.org/wiki/Sauge>, article de « Wikipédia, l'encyclopédie libre » 2008.
- [2] **Site web** : <http://www.larodz.chez-alice.fr/plantes/salviaofficinal.htm>
- [3] **P. BLACK.**
The folklore and cosmetic use of various of *Salvia* species. Chapter one. Ed White house, UK, 1997
- [4] **Site web**: <http://www.larodz.chez-alice.fr/plantes/sauge.htm>
- [5] **M. WICHTL, R. ANTON**
Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed TEC et DOC, 2003.
- [6] **S. AKHONDZADEH, M. NOROOZIAN, M. MOHAMMADI & coll.**
Salvia officinalis L., extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebo-controlled trial.
J Clin Pharm Ther, 2003.
- [7] **E. K. PERRY, A. T. PICKERING, W. W. WANG & coll.**
Medicinal plants and Alzheimer's disease: from ethnobotany to phytotherapy.
J. Pharm Pharmacol, 1999.
- [8] **Site web** : <http://fr.wikipedia.org/wiki/échantillonnage>, article de « Wikipédia, l'encyclopédie libre » 2008.
- [9] **P. DAGNELLE**
Principe d'expérimentation, Ed. Presses agronomiques de Gembloux, Belgique, 1981.
- [10] **E. WERKER, E. PUTIEVSKY, U. RAVID, N. DUDAI, I. KATZIR**
Glandular Hairs, Secretory Cavities and the Essential Oil in the Leaves of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.)
Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, Volume 2, Issue 3, 1994
- [11] **J. CARR**
Oil glands and ducts in *Eucalyptus* l'Herit. II. Development and structure of oil glands in the embryo
Aust. J. Bot., 18: 191-212, 1970.
- [12] **D. KALACHANIS, G.K. PSARAS**
Structure and development of the secretory cavities of *Myrtus communis* leaves.
Biologia Plantarum, 49 (1): 105-110, 2005
- [13] **N. R. LERSTEN, J. M. BEAMAN**
First report of oil cavities in Scrophulariaceae and reinvestigation of air spaces in leaves of *Leucophyllum frutescens*
American Journal of Botany 85(11): 1646–1649. 1998.
- [14] **A. STOIANOVA, M. PERIFANOVA-NEMSKA, E. GEORGIEV**
Ressources végétales des huiles essentielles et alimentaires

Ed. Agence 7D, Plovdiv, Bulgarie, pp. 164-165, 2006

[15] G. CORSI, S. BOTTEGA

Glandular Hairs of *Salvia officinalis*: New Data on Morphology, Localization and Histochemistry in Relation to Function.

Annals of Botany, 84: 657-664, 1999

[16] L. ASCENSAO, M. S. PAIS

The Leaf Capitulate Trichomes of *Leonotis leonurus*: Histochemistry, Ultrastructure and secretion

Annals of Botany **81**: 263-271, 1998

[17] Site web http://fr.wikipedia.org/wiki/huile_essentielle, article de « Wikipédia, l'encyclopédie libre » 2008.

[18] AFNOR « Huiles essentielles »

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

[19] Y. R. NAVES

Technologie et chimie des parfums naturels, Ed. Masson & Cie, Paris, 1974

[20] Site Internet: http://www.bivea.fr/info_bivea/pranarom/principe_extraction_huiles_essentielles.php.

[21] J. BRUNETON

Eléments de phytochimie et de pharmacologie. Ed. Lavoisier. Techniques et documentation, Paris, p 405, 1997.

[22] I.L. FINAR

Organic chemistry

Ed. Longman Scientific and technical, Vol. II, pp 354-356, 1994

[23] D. EL ABED, N. KAMBOUCHE

Huiles essentielles, Ed. Dar el Gherb, Algérie, 2003.

[24] P. PELLERIN

Perfumer & Flavorist, 16 (07-08), 37-39, 1991.

[25] F.VERNOU, H. RICHARD

Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles. APRIA, 2, 10, 151-166, 1979

[26] J. GARNERO

Phytochemistry, 13, 5, 1985

[27] E.WERKER, E. PUTIVESKY, U. RAVID

Annals of botany, 55, 793-801, 1985.

[28] Site web www.pennybio.com/huiles/propriete-huile-essentielle.htm.

[29] A. P. SHLYAPNIKOVA, V. A. SHLYAPNIKOV

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

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

Evaporativity and water solubility of Fennel oil,

Essential Oil Technical Paper, Book I, pp 80-83, IXth International congress of Essential Oils, Singapor, 1983.

[31] S. CHARCHARI, S. BENZAGHOU, H. MAIZA

Water solubility and volatility of Algerian *Mentha piperita* L. essential oil and its major components

Conférence Internationale "Food Science, engineering and technologies 2006", 27-28 Octobre, Plovdiv, Bulgarie, 2006

[32] Site web http://nutranews.org/article.php3?id_rubrique

[33] H. J. D. DORMAN & coll.

Pseudomonas aeruginosa, Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oil,

Journal of Applied Microbiology, 88 : 308-316, 2000

[34] G.O. ONAWUNMI & coll.

Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* Stapf

J. Ethnopharmacol., 12(3): 279-86, 1984

[35] Site web <http://www.scedu.Montreal.Ca/profs/laroser/crds/aromath.htm> Que ce que l'aromathérapie ?

[36] B. M. LAWRENCE.

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

[37] With A. O. Tucker and M. J. Maciarello.

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

[38] S. GOMES, F. FERREIRA

J. Agric. Food Chem., 2001.

[39] D. MOCKUTÉ, O. NIVINSKIENÉ, G. BERNOTIENÉ, R. BUTKIENÉ

The cis-thujone chemotype of *Salvia officinalis* L. essential oil.

Chemija, Vol. 14, N° 4, pp. 216–220, 2003.

[40] T. DOB, T. BERRAMDANE, D. DAHMANE, T. BENABDELKADER, C. CHELGHOUM

Chemical composition of the essential oil of *Salvia officinalis* from Algeria

Chemistry of Natural Compounds, Vol. 43, N° 4, 2007

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

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

[43] N. LAZLI, O. BENSELMA
Extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.
Projet de fin d'études, ENP, Département Génie Chimique, Alger, 2007.

[44] E. GUENTHER
Oil of sage, in *The Essential Oils*, Ed Krieger Malabar, 1949.

[45] AFNOR.
Les huiles essentielles. Recueil de normalisation française, 1992.

[46] M. AMELLAL, S. ACHOURI
Contribution à l'étude de l'huile essentielle de la sauge.
Projet de fin d'études, INA, Alger, 1998.

**[47] T. G. SAGAREISHVILI, B. L. GRIGOLAVA, N. E. GELASHVILI,
E. P. KEMERTELIDZE**
Composition of Eessential oil from *Salvia officinalis* cultivated in GEORGIA
Chemistry of Natural Compounds, Vol. 36, No. 4, 2000

[48] D.BARICEVIC, T. BARTOL,
The biological/pharmacological activity of the genus *Salvia*, Chapter V: Pharmacology in:
S. E. KINTZIOS (Ed.),
Sage, The Genus Salvia, Ed Harewood Academic Publishers, Amsterdam, p.143-184. 2000

[49] R.CAPASSO, I. IZZO, F. CAPASSO, G.ROMUSSI, , A.BISIO, N.MASCOLO
A diterpenoid from *Salvia cinnabarina* inhibits mouse intestinal motility
vivo. *Planta Med.* 70, 375-377. 2004

[50] Y.REN, J. P .HOUGHTON, C. R. HIDER, R. J. M HOWES
Novel diterpenoid acetylcholinesterase inhibitors from *Salvia miltiorhiza*.
Planta Med. 70 201-204. 2004

[51] V. RADULESCU, S. CHILIMENT, E.OPREA
Capillary gas chromatography–mass spectrometry of volatile and semi-volatile compounds of
Salvia officinalis
Journal of Chromatography A, 1027 (2004) 121–126

[52] C. JEANNON, Y. POURCELOT, A. VERNEY
Génie chimique, Génie pharmaceutique
Prob. Pharm., vol. 28, N°8, 1973.

[53] J. LEYBROS, P. FREMEAUX,

"Extraction solide-liquide",
Techniques de l'ingénieur, J2780, p. 2, 1993.

[54] Site web http://fr.wikipedia.org/wiki/entrainement_a_la_vapeur_d'eau.

[55] M. CAPON, V. COURILLEAU-HAVERLANT, C. VALETTE

Chimie des couleurs et des odeurs, Ed. Cultures et Techniques, Nantes, 1993.

[56] M. CHAVANNE, G. J. BEAUDOUIN, A. JULLIEN, F. FLAMMAND

Chimie organique expérimentale.
Ed. Modulo, 1991.

[57] C. VON RECHENBERG

Theorie der gewinnung und trennung der Ätherischen öle durh distillation
Miltitz Bei Leipzig, Selbsverlag Von Schimmel & Co, pp.261-317; 1910

[58] N.N GOKHALE, Y.MASADA

VII International congress essential oils, 242, 1977.

[59] C. GUENTHER

The essential oils, Tome 1, Ed. KRIFGER.RE, 1972.

[60] E.F.K. DENNY

"Field distillation for herbaceous oils", Ed. Denny, Mc Kenzie Associates, Lilydale,
Tasmania, Australia, 1991.

[61] E. GEORGIEV

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

[62] F.TIFAOU, M. SI MEHAND

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

[63] I. CHAFAA

Extraction et étude des propriétés de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.
Mémoire de Magister, ENP, Département Génie Chimique, Alger, en cours

[64] Site web [http://fr.wikipedia.org/wiki/ erreur-metrologie](http://fr.wikipedia.org/wiki/erreur-metrologie), un article de « Wikipédia, l'encyclopédie libre » 2008. 54

[65] S. BOUCHONNET, D. LIBONG

Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse
Département de Chimie, Laboratoire de Mécanismes Réactionnels Ecole Polytechnique,
Paris, 2007.

[66] J. TRANCHANT

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

[67] S. BOUCHONNET, Y. HOPPILLIARD, T. KARGAR-GRISEL

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

[68] H. VAN DEN DOOL, P. D. KRATZ

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

[69] Site web: www.pherobase.com

[70] S.CHARCHARI, A. DAHOUN, F. BACHI, A. BENSLIMANI

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

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

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

[73] V.-G. De BILLERBECK

Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques.
Phytothérapie 5: 249–253 Springer 2007 DOI 10.1007/s10298-007-0265-z, 2007.

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

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

[75] ZAIKA, L. L.

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

ANNEXE I

Taux d'humidité

L'appareil de Dean Stark est un montage de verrerie de laboratoire utilisé en chimie des synthèses pour extraire l'eau (ou parfois d'autres liquides) du milieu réactionnel. Il est utilisé en association avec un réfrigérant à eau et un chauffe-ballon afin d'éliminer l'eau produite par une réaction chimique s'effectuant en chauffage à reflux.

Au cours de la réaction, des vapeurs contenant le solvant et l'espèce à extraire montent jusqu'au condenseur et, une fois liquéfiées, tombent dans le cylindre gradué. A l'intérieur de celui-ci les liquides non-miscibles se séparent en phases. Lorsque la phase supérieure (moins dense) (dans notre cas le xylène) atteint le niveau du bras, elle coule dans celui-ci et retourne dans le ballon réacteur, alors que la phase inférieure reste dans le cylindre (dans notre cas l'eau).

On laisse que les phases se séparent bien ensuite on lit sur les graduations le volume qui correspond au volume d'eau contenu dans la matière végétale.

On lit la température à laquelle la lecture était faite et on prend la densité de l'eau à cette température :

Le calcul se fera ainsi : $H = \frac{V_{\text{eau}}}{m} * d^T_{\text{eau}}$; m : masse de la matière végétale mise dans le ballon [71]

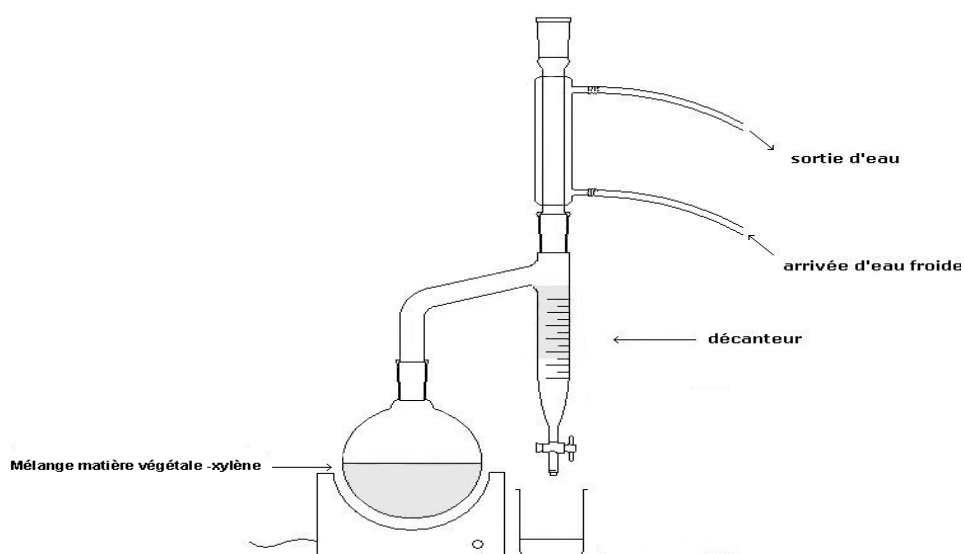


Figure annexe I : Montage de Dean et Stark [72]

ANNEXE II

La méthode de l'antibiogramme

La méthode de l'antibiogramme, appelée aromatogramme, méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques, est une technique utilisée en bactériologie médicale [73].

La technique consiste à utiliser des disques de papier Wattman de diamètre de 6 mm sur lequel on dispose une quantité donnée d'huile essentielle à tester. Une suspension de chaque germe est préparée en eau distillée stérile et ajustée à 10^8 bactéries/ml. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. L'huile essentielle diffuse à partir du disque au sein de la gélose. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose, sauf là où elles rencontrent une concentration d'huile suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition [74].

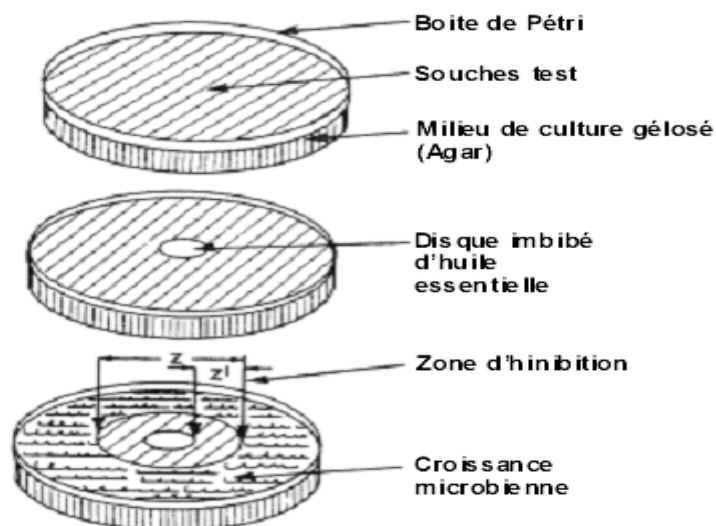


Figure annexe II : Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîtes de Pétri [75]

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

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