

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA-BEJAIA



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés

Projet fin de cycle

Pour l'obtention du diplôme de master en Génie chimique

Thème

Extraction d'huile essentielle du *Rosmarinus Officinalis L.* issus de deux régions de Bejaia et caractérisation par HPLC

Présenté par :

BOUCHENAK Lydia
TAGUELMIMT Lydia

Soutenue le : 11/10/2021 devant le jury composé de :

Présidente :	Maitre d'assistante	BOUARICHE Zakia.
Examinatrice :	Maitre de conférences	ROUBA Nabila.
Encadreur :	Maitre de conférences	KETRANE Rachid.

Année Universitaire : 2020/2021.

Remerciements

C'est avec un immense plaisir que nous réservons ces quelques lignes en signe de gratitude et de reconnaissance à tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

Nous souhaitons adresser, en premier lieu, nos remerciements les plus sincères à notre encadrant Mr. Ketrane pour sa disponibilité, sa patience et son précieux suivi tout au long de la réalisation de ce travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour avoir consacré une partie de leurs temps à la lecture de ce mémoire et pour l'intérêt qu'ils ont portés à ce travail.

Nous aimerons aussi remercier Mme. Amarani et Mr. Yahiaoui ont eu l'amabilité de nous recevoir et de répondre à toutes nos questions.

Nos remerciements s'étendent à tous nos enseignants du département de génie des procédés de l'université Abderrahmane Mira de Bejaïa.

Pour finir, il est plus qu'agréable de réserver l'expression de notre gratitude et nos remerciements les plus particuliers, aux membres de nos familles respectives qui ont su nous encourager et nous soutenir sans siller, durant toute cette année et celles d'avant. Puissent-ils être fiers de nous.

Liste des Abréviations

$[\alpha]_D^{20}$: Pouvoir rotatoire.

AB : Agriculture Biologique.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

CCM : Chromatographie sur une couche mince.

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

CPG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

DL50 : Dose Létale à 50%.

d_4^{20} : Densité à 20°C.

ECOCERT : Un organisme français de certification et de contrôle des produits cosmétiques écologiques et biologiques.

H(%) : Taux d'humidité.

HE : L'huile essentielle.

HEBBD : L'huile essentielle botaniquement et biochimiquement définie.

HECT : L'huile essentielle chémotypée.

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

Mv/Me : Le rapport (masse végétale/masse d'eau).

n_D^{20} : Indice de réfraction à 20°C.

PPAM : Plante à parfumer aromatique et médicinale.

R(%) : Rendement.

RAS : Romarin sec de la région d'Akbou.

RAF : Romarin frais de la région d'Akbou.

RES : Romarin sec de la région El kseur.

REF : Romarin frais de la région El kseur.

RC : Romarin commercial.

RAMF : Romarin frais de la région d'Akbou récolté au mois de mai.

RAMS : Romarin sec de la région d'Akbou récolté au mois de mai.

REMF : Romarin frais de la région d'El kseur récolté au mois de mai.

REMS : Romarin sec de la région d'El kseur récolté au mois de mai.

RAJF : Romarin frais de la région d'Akbou récolté au mois de juillet.

RAJS : Romarin sec de la région d'Akbou récolté au mois de juillet.

REJF : Romarin frais de la région d'El kseur récolté au mois de juillet.

REJS : Romarin sec de la région d'El kseur récolté au mois de juillet.

Liste des figures

- Figure I.1 :** Rosmarinus officinalis L.
- Figure I.2 :** Optimum écologique : Caractéristiques du sol.
- Figure I.3 :** Optimum écologique : Caractéristiques climatiques.
- Figure II.1 :** Liaison de type tête-queue.
- Figure II.2 :** Exemples de structures mono- et sesqui-terpéniques.
- Figure II.3 :** Exemples de structures de composés aromatiques.
- Figure II.4 :** Exemples de structures de composés d'origines diverses.
- Figure II.5 :** Pictogramme du label BIO.
- Figure II.6 :** Pictogramme du label AB.
- Figure II.7 :** Pictogramme du label ECOCERT.
- Figure II.8 :** Pictogramme de la norme AFNOR.
- Figure II.9 :** Pictogramme du label HECT.
- Figure II.10 :** Pictogramme du label HEBBD.
- Figure II.11 :** Graphique représentant les labels les plus utilisées dans les officines.
- Figure II.12 :** Etiquette d'une HE.
- Figure III.1 :** Schéma du montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.
- Figure III.2 :** Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.
- Figure III.3 :** Schéma du montage d'hydrodiffusion.
- Figure III.4 :** Représentation de la distillation sèche.
- Figure III.5 :** Montage de l'expression à froid.
- Figure III.6 :** Schéma du montage d'extraction de solvant.
- Figure III.7 :** Schéma du montage de l'enfleurage.
- Figure III.8 :** Dispositif d'extraction au CO₂ supercritique.
- Figure III.9 :** Extraction assistée par micro-ondes.
- Figure III.10 :** Principales opérations industrielles d'extraction.
- Figure III.11 :** Schéma simplifié de la chromatographie en phase gazeuse.
- Figure III.12 :** Fonctionnement schématique d'une chromatographie HPLC.
- Figure IV.1 :** Image satellite montre les deux localités des plantes recueillies.
- Figure IV.2 :** Feuilles du romarin frais et sec.
- Figure IV.3 :** Schéma synoptique du protocole expérimental.
- Figure IV.4 :** Montage de l'hydrodistillation.
- Figure IV.5 :** Montage de la décantation.
- Figure IV.6 :** Type de flacon de conservation d'HE.
- Figure IV.7 :** Pycnomètre.

Figure IV.8 : Réfractomètre d'Abbe.

Figure IV.9 : Appareillage HPLC.

Figure V.1: Illustration de l'évolution de la masse végétale au cours du séchage.

Figure V.2 : Taux d'humidité et en matière sèche du Rosmarinus Officinalis de la région d'Akbou récolté au mois de juillet 2021.

Figure V.3 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de RAMF et RAMS.

Figure V.4 : Evolution du rendement en fonction de (Mv/Me) de REMF et REMS.

Figure V.5 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me du RAJF et RAJS.

Figure V.6 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me du REJF et REJS.

Figure V.7 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me du RAMF et REMF.

Figure V.8 : Evolution du rendement fonction de Mv/Me de RAMS et REMS.

Figure V.9 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de RAJF et REJF.

Figure V.10 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de RAJS et REJS.

Figure V.11 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de RAMF et RAJF.

Figure V.12 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de RAMS et RAJS.

Figure V.13 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de REMF et REJF.

Figure V.14 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de REMS et REJS.

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Différentes nomenclatures du romarin.

Tableau I.2 : Classification du romarin.

Tableau I.3 : Compositions chimiques de l'extrait du romarin.

Tableau I.4 : Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'HE du Romarin.

Tableau II.1 : Exemples d'HE et leurs parties de plantes utilisées.

Tableau V.1 : Evolution du taux d'humidité et de la masse végétale du romarin au cours de séchage pendant une période de 8 jours.

Tableau V.2 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAMF et RAMS.

Tableau V.3 : Rendements en fonction des Mv/Me de REMF et REMS.

Tableau V.4 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAJF et RAJS.

Tableau V.5 : Rendements en fonction des Mv/Me de REJF et REJS.

Tableau V.6 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAMF et REMF.

Tableau V.7 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAMS et REMS.

Tableau V.8 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAJF et REJF.

Tableau V.9 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAJS et REJS.

Tableau V.10 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAMF et RAJF.

Tableau V.11 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAMS et RAJS.

Tableau V.12 : Rendements en fonction des Mv/Me de REMF et REJF.

Tableau V.13 : Rendements en fonction des Mv/Me de REMS et REJS.

Tableau V.14 : Rendements moyens en l'HE du romarin.

Tableau V.15 : Densité des différents extraits cueilli au mois de juillet.

Tableau V.16 : Indice de réfraction des différents extraits cueilli au mois de juillet.

Tableau V.17 : Propriétés organoleptiques de l'HE de Rosmarinus Officinalis récolté au mois de juillet.

Tableau V.18 : Temps de rétention des flavonoïdes standards.

Tableau V.19 : Temps de rétention des flavonoïdes présents dans les extraits du romarin.

Liste d'annexe

Annexe I : Chromatogrammes d'HPLC.

Sommaire

Introduction.	1
--------------------	---

1ère partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I

Romarin

I.1. Généralité sur les plantes	3
I.1.1. Plantes aromatiques.....	3
I.1.2. Plantes médicinales.	3
I.1.3. Classification des plantes médicinales et aromatiques.	3
I.1.4. Systématique botanique de la plante	3
I.2. Plante étudiée	4
I.2.1. Historique.....	4
I.2.2. Généralités	4
I.2.3. Description botanique	4
I.2.4. Etymologie (origine du nom).....	5
I.2.5. Taxonomie	5
I.2.6. Répartition géographique	6
I.2.7. Variétés Rosmarinus Officinalis	7
I.2.8. Culture de romarin	7
I.2.8.1. Environnement de culture	7
I.2.8.2. Cultures voisines	9
I.2.8.3. Récolte et séchage du Romarin.....	9
I.2.9. Composition du romarin.	10
I.2.9.1. Parties utilisées.....	10
I.2.9.2. Principaux constituants du romarin.....	10
I.2.9.3. Composition chimique de l'HE du Rosmarinus Officinalis	11
I.2.10. Propriétés médicinales	12
I.2.11. Propriétés du romarin.....	12
I.2.12. Précautions	14

Chapitre II

Huiles essentielles

Sommaire

II.1. Généralité sur les HE	15
II.1.1. Définitions	15
II.1.1.1. HE.....	15
II.1.1.2. Aromathérapie	15
II.1.2. Localisation des HE dans la plante	16
II.1.3. Composition des HE	16
II.1.3.1. Terpènes.....	16
II.1.3.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane	19
II.1.3.3. Composés d'origines diverses	19
II.1.4. Facteurs influençant la composition	20
II.1.5. Rôle physiologique des HE	21
II.1.6. Qualité d'une HE	21
II.1.7. Normes des HE	21
II.1.7.1. Label BIO	21
II.1.7.2. Label AB.....	22
II.1.7.3. ECOCERT	22
II.1.7.4. Norme AFNOR.....	23
II.1.7.5. Label HECT.....	23
II.1.7.6. Label HEBBD.....	24
II.1.8. Propriétés physicochimiques des HE.....	25
II.1.9. Principales voies d'utilisation des HE	26
II.1.9.1. Diffusion atmosphérique	26
II.1.9.2. Voie interne	26
II.1.9.3. Voie externe.....	27
II.1.10. Toxicité des HE	27
II.1.11. Principaux domaine d'application	27
II.1.11.1. Secteur parfumerie cosmétique.....	28
II.1.11.2. Secteur parfumerie technique	28
II.1.11.3. Secteur agroalimentaire	28
II.1.11.4. Secteur médical.....	29
II.1.12. Précautions d'usage des HE.....	29
II.1.13. Conservation des HE	30
II.1.14. Etiquetage	30

Sommaire

II.2. Hydrolat	32
II.2.1. Différence entre l'eau florale et l'hydrolat	32
II.2.2. Considérations générales	32
II.2.3. Composition de l'hydrolat	33
II.2.4. Conservation de l'hydrolat	33

Chapitre III

Méthodes d'extraction des Huiles essentielles

III.1. Méthodes d'extraction des HE	34
III.1.1. Distillation	34
III.1.1.1. Entraînement à la vapeur d'eau	34
III.1.1.2. Hydrodistillation	35
III.1.1.3. Hydrodiffusion	36
III.1.1.4. Distillation sèche	37
III.1.2. Expression à froid	38
III.1.3. Extraction par solvants	39
III.1.4. Enfleurage	39
III.1.5. Extraction au CO ₂ supercritique	40
III.1.6. Extraction assistée par micro-onde	41
III.2. Caractérisations des HE	43
III.2.1. Caractéristiques organoleptiques	43
III.2.2. Caractérisation physicochimique	44
III.2.2.1. Caractérisation physique	44
III.2.2.1.1. Densité	44
III.2.2.1.2. Indice de réfraction	44
III.2.2.1.3. Pouvoir rotatoire	44
III.2.2.1.4. Solubilité des HE	45
III.2.2.2. Caractérisation chimique	45
III.2.2.2.1. Indice d'acide	45
III.2.2.2.2. Indice de saponification	45
III.2.2.2.3. Indice d'ester	46
III.2.2.2.4. Indice d'iode	46

Sommaire

III.2.2.2.5. Indice de carbonyle	46
III.2.2.2.6. Indice de peroxyde	46
III.2.3. Méthodes d'analyse chromatographique.....	46
III.2.3.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)	46
III.2.3.2. Chromatographie en phase gazeuse	47
III.2.3.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	48
III.2.3.4. Chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC	49

2ème Partie : Partie expérimentale

Chapitre IV Matériels et méthodes

IV.1. Objectif.....	50
IV.2. Matériels.....	50
IV.2.1. Appareillages et produits chimiques	50
IV.2.2. Matériel végétal.....	50
IV.3. Méthodes	52
IV.3.1. Extraction de l'HE du romarin.....	52
IV.3.2. Décantation de l'HE	54
IV.3.3. Caractérisation des HE extraites	55
IV.3.3.1. Caractères organoleptiques	55
IV.3.3.2. Détermination des propriétés physiques	55
IV.3.3.2.1. Rendement d'extraction	55
IV.3.3.2.2. Calcul de la densité	56
IV.3.3.2.3. Indice de réfraction	57
IV.3.3.2.4. Calcul du taux d'humidité.....	58
IV.4. Analyse chromatographique des HE.....	58
IV.4.1. Préparation des échantillons.....	59
IV.4.2. Préparation de la phase mobile	59
IV.4.3. Protocole expérimental.....	59

Chapitre V Résultats et discussions

Sommaire

V.1. Taux d'humidité de la plante fraîche.....	61
V.2. Extraction de l'HE du romarin	63
V.2.1. Extraction par hydrodistillation.....	63
V.2.1.1. Effet de séchage.....	63
V.2.1.2. Effet de région	68
V.2.1.3. Effet de saison	73
V.3. Caractéristiques physiques des HE de <i>Rosmarinus Officinalis</i>	78
V.3.1. Détermination de la densité	78
V.3.2. Détermination de l'indice de réfraction.....	79
V.4. Caractéristiques organoleptiques des HE de <i>Rosmarinus Officinalis</i>	79
V.5. Analyse qualitative par HPLC.....	80
Conclusion.....	83
Références bibliographiques	
Annexe	
Résumé	

Sommaire

INTRODUCTION

Avec une superficie de 2 381 741 km², l'Algérie est le plus grand pays africain mais aussi riverain de la Méditerranée. Il est reconnu par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays. Ce sont des savoir-faire ancestraux transmis de génération en génération chez les populations, le plus souvent rurales. C'est un héritage familial oral, dominant en particulier chez les femmes âgées et illettrées.

Dans le Hoggar et en absence de médecins, dans certaines contrées isolées, les Touaregs se soignent avec les plantes médicinales et aromatiques dont ils connaissent le secret transmis de père en fils. En Kabylie, lorsqu'il y a de la neige et que les routes sont coupées, les montagnards utilisent des plantes médicinales et aromatiques pour se soigner (fumigation de feuilles d'eucalyptus contre la grippe). Dans la steppe pendant les transhumances, les nomades utilisent l'armoise blanche pour lutter contre les indigestions [1].

La richesse de la flore algérienne est donc incontestable, elle recèle un grand nombre d'espèces classées en fonction de leur degré de rareté : 289 espèces assez rares, 647 espèces rares, 640 espèces très rares, 35 espèces rarissimes et 168 espèces endémiques [2].

Ces plantes sont certes abondantes, mais dispersées géographiquement et ont des potentialités de rendement faible, leur contrôle est difficile, leur exploitation ne suffit pas à couvrir les besoins nationaux de la médecine, de la pharmacie et de l'herboristerie.

En 2011, environ 33 stères de plantes aromatiques de différentes espèces (romarin, myrte, etc.) ont été extraites en Algérie, alors que la production pour l'année 2010 était de 735,5 stères et pour l'année 2009 de 23 stères. Ces chiffres en apparence assez faibles au regard du potentiel de l'Algérie semblent être confirmés par des données concernant les importations et exportations algériennes. Ces plantes sont, le plus souvent, de nature sauvages ce qui rend difficile leur quantification, les plus importantes d'entre elles sont le thym, le romarin, le caroubier, l'origan et les feuilles de laurier, l'armoise, le myrte, la menthe pouliot, etc [3].

Les PPAM (Plantes à Parfumés, Aromatiques et Médicinales) restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments. [4]

INTRODUCTION

En Algérie, le marché des huiles essentielles est très instable et le nombre d'usines est très faible. Ce secteur se développe très difficilement et il demeure modeste. La balance commerciale est négative et le secteur n'a enregistré aucune activité d'exportation durant ces trois dernières années. A l'inverse les importations sont en hausse.

De manière générale, l'extraction des huiles essentielles préalable à l'analyse chimique se compose de deux étapes : l'extraction et l'analyse.

Le romarin de la famille des Labiées, est une herbe appréciée pour ses propriétés aromatiques, anti-oxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques et anti-tumorales. Elle a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques et cosmétiques [5].

L'objectif du présent travail consiste d'abord dans le choix de la plante à étudier qui est le Romarin. Le but est de valoriser les produits locaux. Le Romarin faisant l'objet de cette étude provient de deux régions différentes de la wilaya de Bejaia : Akbou et El Kseur. Par ailleurs, la récolte s'était faite au mois de mai et au mois de juillet de l'année 2021.

L'extraction a été menée par l'hydrodistillation. Les échantillons extraits ont été par la suite analysés pour déterminer les caractéristiques physiques et organoleptiques. Une analyse fine a aussi été menée HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Des échantillons d'huile essentielle de Romarin préparés industriellement ont été aussi analysés pour des besoins de comparaison.

Le présent mémoire est subdivisé en plusieurs parties :

Le premier chapitre est consacré à la présentation botanique de la plante choisie à savoir le <<Romarin>>, en mettant en relief sa composition chimique, sa culture et ses propriétés médicinales.

Le deuxième chapitre est consacré aux huiles essentielles. Dans cette section, nous présenterons quelques notions de base sur les huiles essentielles.

Dans le troisième chapitre sont exposé le matériel et méthodes. Les deux procédés d'extraction utilisés sont présentés.

Le besoin d'identifier les composés individuels des échantillons on a utilisé également HPLC.

Dans le quatrième chapitre, sont rapportés les résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin, une conclusion regroupant les résultats saillants de ce travail est présentée.

INTRODUCTION

Chapitre I

Romarin

Chapitre I : Romarin

I.1. Généralités sur les plantes

Dans cette section, nous présenterons quelques notions de base sur les plantes. Nous commencerons par définir les plantes aromatiques et les plantes médicinales. Ensuite, nous présenterons les classifications possibles des plantes, puis nous décrirons l'importance de la systématique botanique.

I.1.1. Plantes aromatiques [6]

Les plantes aromatiques sont constituées d'organes qui apportent une odeur et une saveur destinées à améliorer un bien-être lors de la dégustation. Il peut s'agir soit d'une plante entière ou d'un organe particulier (feuilles, fleurs, fruits, bourgeons, grains, rhizomes ou bulbes).

I.1.2. Plantes médicinales

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui possèdent une activité pharmacologique pouvant conduire à des utilisations thérapeutiques, grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives, dont la plupart agissent sur l'organisme humain [7].

I.1.3. Classification des plantes médicinales et aromatiques [8]

La classification des plantes peut se faire en fonction de nombreux intérêts :

- ❖ Classification botanique (systématique).
- ❖ Classification thérapeutique (action physiologique).
- ❖ Classification chimique (nature du principe actif).
- ❖ Classification commerciale (intérêt commercial).

I.1.4. Systématique botanique de la plante

La systématique botanique est une identification de la plante et sans cette dernière, il est très difficile d'entamer un travail de recherche.

La connaissance de l'origine botanique de la plante destinée à l'obtention de son HE est également nécessaire pour les applications futures, en parfumerie, en cosmétique, en pharmacie et même en agroalimentaire. L'identité de la matière initiale (plante ou partie de plante) est indispensable pour la traçabilité et pour éviter les éventuelles fraudes. L'identification est effectuée par le fournisseur qui doit présenter un certificat d'analyse, l'acheteur, quant à lui, devrait également effectuer les tests de confirmation.

Chapitre I : Romarin

I.2. Plante étudiée

Dans le cadre de notre étude, nous avons opté pour l'étude de la plante aromatique médicinale *Rosmarinus Officinalis*. Dans cette section, nous aborderons en premier lieu un historique et quelques généralités sur le romarin, ainsi que sa description botanique. Nous présenterons, par la suite, l'origine du nom romarin, sa répartition géographiques et ses différentes variantes. Enfin, nous décrirons la culture du romarin, sa composition et ses propriétés médicinales.

I.2.1. Historique

Le romarin, chargé de symboles chez les Anciens qui en faisait des couronnes, a servi à l'élaboration d'un remède longtemps réputé, « l'Eau de la reine de Hongrie » qui en fait est un alcoolat : à l'aide de ce remède, la souveraine, âgée de 72 ans, guérit des rhumatismes et de la podagre. Les médecins arabes utilisaient beaucoup le romarin et ce sont eux qui réussirent les premiers à en extraire l'HE [9].

I.2.2. Généralités

Le romarin est un arbrisseau qui se reconnaît de loin à son odeur pénétrante [10].

Le romarin est connu depuis l'antiquité, c'est l'espèce la plus utilisée en méditerranée, notamment en Algérie. Il possède plus de 3300 espèces et environ 200 genres.

Le romarin se trouve à l'état sauvage. Il peut être cultivé. C'est la plante la plus populaire dans le bassin méditerranéen [11]. En Algérie, nous le trouvons dans les jardins, les parcs des sociétés, des écoles et les zones cultivées à l'entrée.

I.2.3. Description botanique [12-14]

Le Romarin, plante commune à l'état sauvage, est l'une des plantes les plus populaires en Algérie. C'est un arbrisseau toujours vert, de 50 cm à 2 m, très aromatique et très rameux. La tige ligneuse est couverte d'une écorce grisâtre et se divise en de nombreux rameaux opposés. Les feuilles sont sessiles, linéaires, opposées, persistantes et coriaces, enroulées sur les bords. Les feuilles de *Rosmarinus Officinalis* sont de couleur verte sombre luisante sur la face supérieure et blanchâtre en dessous. La floraison commence en janvier-février et se poursuit jusqu'en avril – mai.

Les fleurs sont réunies au sommet des rameaux, de couleur bleu pâle à blanchâtre, pratiquement sessiles, disposées en petites grappes axillaires et terminales. Le fruit ovoïde est entouré d'un calice persistant, sec et constitué de quatre akènes (tétrakène). Il attire les insectes entomophiles pour assurer la pollinisation.

Chapitre I : Romarin

I.2.4. Etymologie (origine du nom) [10,15]

Du latin, ros apparenté à rhus et signifie arbrisseau ou buisson Rosmarina : signifie rosée de la mer et pourrait s'appliquer au parfum de la plante, à la couleur de la fleur ou même à sa prédilection pour le littoral.

Officinalis : rappelle les propriétés médicinales de la plante.

Dérive du latin «Ros» rosée : «Marinus» : marin ou de marine et en anglais: Rosmary.

Tableau I.1: Différentes nomenclatures du romarin [15,16].

Nom commun	Romarin
Noms vernaculaire arabe	Iklil Al Jabal, Klil, Hatssalouban, Hassalban, Aklel.
Nom targui ou berbère	Lazir, azir, ouzbir, touzala.
Autre nom	Herbes aux couronnes, herbes aux troubadours, encensier, arbre de marine, rose de mère, rose de marine, roumaniou, roumarine
Nom scientifique	Rosmarinus Officinalis L., le mot romarin (Rosmarinus)

I.2.5. Taxonomie [17]

Rosmarinus officinalis est classé comme suit :

Chapitre I : Romarin

Tableau I.2 : Classification du romarin.

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Espèce	Rosmarinus Officinalis L.
Période de floraison	Février à Avril
Couleur des fleurs	Bleu / mauve
Exposition	Soleil
Hauteur	150 cm

I.2.6. Répartition géographique [8, 18-21]

Plante locale poussant spontanément dans toute l'Algérie. Le *Rosmarinus Officinalis* est originaire du bassin méditerranéen. Commun dans les maquis, non loin de la mer, les garrigues et les forêts claires, il est dispersé en plusieurs endroits privilégiant un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec. Sous les climats plus nordiques, on la traite comme une annuelle que l'on cultive par semis ou par bouturage, car elle ne résiste pas aux hivers rigoureux.

Le romarin se trouve dans toutes les régions d'Europe, plus particulièrement autour de la méditerranée, de préférence dans les lieux secs, arides et exposés au soleil. À l'état sauvage, il se trouve sur des sols calcaires.

En Algérie, le romarin est l'une des sept espèces végétales excédant 50.000 hectares sur le territoire national. C'est une plante pérenne de type arbrisseau qui peut vivre plus de 20 ans. Mais en culture, sa durée de vie est d'environ douze ans. L'aire géographique du romarin est spécifiquement méditerranéenne. Il est répandu dans les pays européens, en France, en Espagne, au Portugal. De l'autre côté de Gibraltar, on le retrouve au Maroc, en Tunisie et en Libye. Toutefois, il devient rare et ne se manifeste que dans quelques stations isolées en Egypte, en Palestine, au Liban, à Chypre, et réapparaît en Turquie, en Grèce et en Italie.



Figure I.1: *Rosmarinus officinalis* L [22].

I.2.7. Variétés *Rosmarinus Officinalis*

On dénombre plus de 150 variétés du Romarin et 25 variétés en Algérie.

Elles se différencient par leurs tailles maximales (d'une dizaine de centimètres à 2 mètres), leurs tenues (vertical ou rampant), la couleur de leurs fleurs (violette, bleue, blanche, rose) et de leurs feuilles, leurs rusticités [23].

I.2.8. Culture de romarin

I.2.8.1. Environnement de culture

Le Romarin peut pousser dans diverses conditions. Cependant, certains types de sol (**Figure I.2**) lui sont plus favorables ainsi que certaines conditions climatiques (**Figure I.3**).

Chapitre I : Romarin

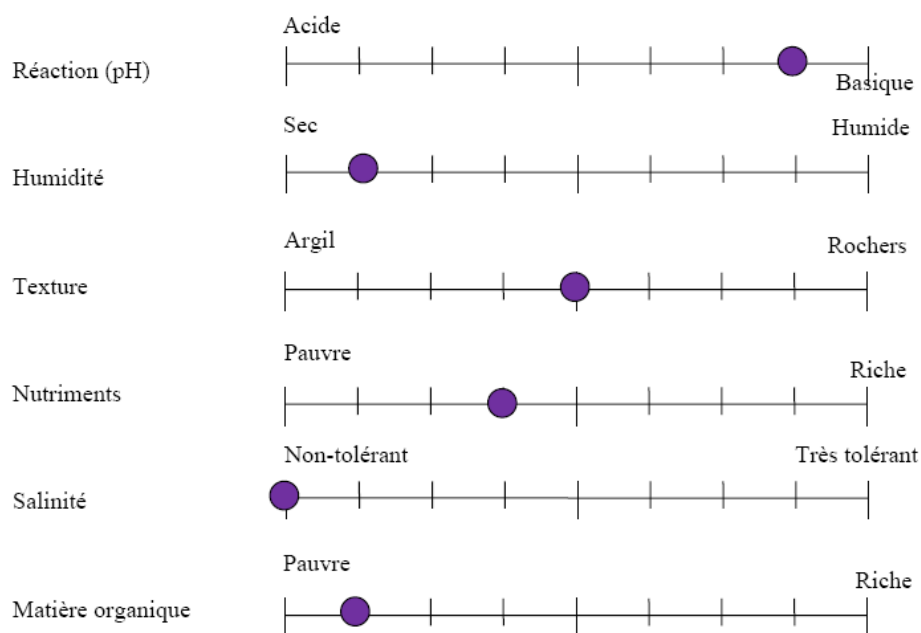


Figure I.2 : Optimum écologique : Caractéristiques du sol [24].

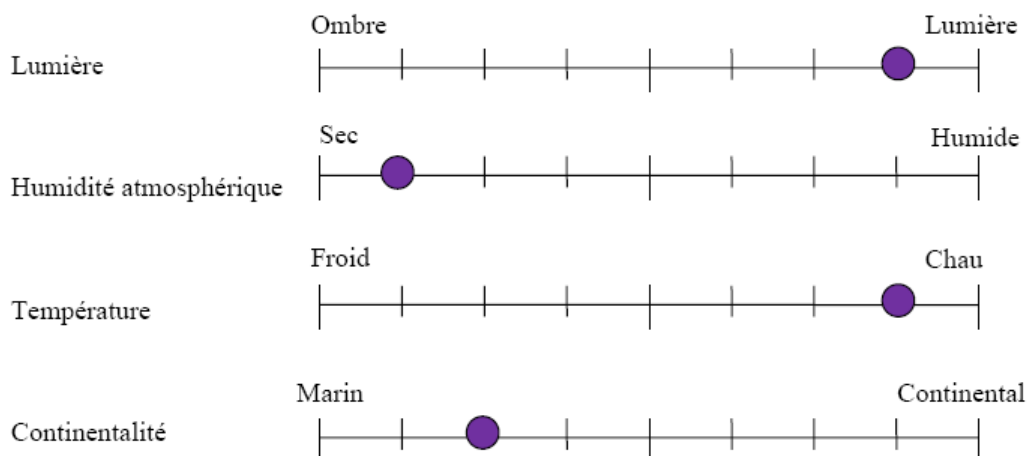


Figure I.3 : Optimum écologique : Caractéristiques climatiques [24].

Le Romarin peut pousser même sur des terrains non adaptés à une exploitation agricole, il a donc peu d'exigences vis-à-vis du sol. Il a une préférence pour les sols argileux ou sablonneux, étant situés dans des endroits secs, chauds (c'est ainsi qu'il produit le plus d'HE et qu'il dégage les parfums les plus puissants), abrités du vent et ensoleillés. Les meilleures conditions pour le romarin en zone non rustique, terre bien drainée et calcaire sont comme suit : une exposition plein sud, des plants démarrés sans engrais chimiques et de bonne provenance.

Il fleurit tôt : le tailler après la floraison permet de développer la production des feuilles.

Chapitre I : Romarin

Lorsque les gels sont fréquents, les plantes du romarin devront être mis sous abri, rempotés dans une bonne terre, placés à l'intérieur dans une serre ou près d'une fenêtre et arrosés ponctuellement en profondeur, uniquement quand la terre est sèche. Lorsque tout danger de gel est passé, les plantes doivent être sorties au printemps et taillées à l'extrémité des rameaux avant la floraison. Puis, il faut rabattre la plante et lui donner de l'engrais organique [25, 26].

I.2.8.2. Cultures voisines

La culture du Romarin est favorable à celle des tomates, choux de Bruxelles, carottes, brocolis, choux-fleurs et haricots. Il peut être planté à côté de la Sauge et des carottes, dont il éloigne les mouches [26].

I.2.8.3. Récolte et séchage du Romarin [26-28]

De manière générale, la récolte d'une plante est réalisée quand les principes actifs sont à leur maximum, afin de pouvoir compter sur des effets utiles et constants.

Les feuilles et tiges herbacées sont récoltées lorsque la fleur commence à se développer, soit 12 à 18 mois après plantation. Les feuilles peuvent être récoltées toute l'année mais sont plus parfumées l'été. Il faut donc les cueillir à cette période. La récolte se fait par temps chaud et sec, soit deux ou trois heures après le lever du soleil, lorsque la rosée s'est dissipée.

Quant aux fleurs et sommités fleuries (partie supérieure du végétal), elles sont récoltées au même moment de la journée que les feuilles, lorsque les fleurs commencent à s'épanouir. L'odeur résidant principalement dans le calice, celui-ci doit être pris délicatement et séché. La récolte des sommités fleuries a lieu au mois de juillet.

La récolte des parties aériennes en fleur se fait soit à la machine pour les cultures de Romarin soit à la serpette (manuellement) pour les parcelles de Romarin sauvage. La plante rapidement séchée est passée au crible afin de n'obtenir plus que des feuilles et des fleurs.

Afin de ne pas abîmer les plantes sauvages, les récoltes seront modestes.

Pour le séchage :

- ❖ feuilles et tiges herbacées : étalées sur des châssis de toile à larges mailles ou sur de la paille bien sèche, et séchées dans une pièce sombre. Il faut les brasser régulièrement afin que l'air pénètre uniformément. À conserver dans une pièce non humide. Les feuilles séchées sont ensuite séparées des tiges.
- ❖ fleurs et sommités fleuries : espacées sur des claies garnies de papier, remuées de temps en temps, dans une pièce sombre ou à l'étuve.

Chapitre I : Romarin

Une fois sèche, il faut conserver le Romarin dans des bocaux ou boîtes garnis de papier et bouchés ou en petites bottes enveloppées dans du papier et gardées au sec. La durée de conservation est d'environ un an.

I.2.9. Composition du romarin

I.2.9.1. Parties utilisées

Les parties utilisées sont les sommités fleuries et les feuilles, ces dernières sont récoltées à la floraison puis séchées. Les feuilles persistantes peuvent être récoltées à tout moment de l'année, une fois mondées, elles sont simplement mises à sécher. Le romarin est utilisé en infusion ou sous forme d'HE [29].

I.2.9.2. Principaux constituants du romarin [30, 31]

Les principaux constituants du romarin sont présentés dans le tableau I.3 :

Chapitre I : Romarin

Tableau I.3 : Compositions chimiques de l'extrait du romarin.

HE : 1 à 2,5 %	Les sommités fleuries de romarin fournissent 10 à 25ml/kg d'une HE dont les constituants principaux sont: le camphre (15 à 25%), le cinéole (15 à 50%), alpha-pinène (10 à 25%) et le bornéol libre et estérifié.
Diterpènes phénoliques tricycliques	Acide carnosolique: 0,35 %, rosmadial, carnosol (picrosalvine), l'épirosmanol et le rosmanol sont en fait des artéfacts d'oxydation lors de l'extraction de la drogue.
Tanins des labiées	Acides phénoliques: environ 3% de l'acide caféique avec l'acide rosmarinique notamment.
Flavones méthylées	Genkwanine, lutéoline, diosmétine, et leurs hétérosides
Triterpènes et stéroïdes	Environ 10% d'acide oléanolique et 5% de dérivés de l'acide ursolique accompagnées de alpha-et béta-amyrines.
Cuticule cireuse des jeunes feuilles	N-alkanes (97%), isoalkanes et alkènes.
Constituants divers	Polysaccharides acides (environ 6%); traces de salicylates.

I.2.9.3. Composition chimique de l'HE du *Rosmarinus Officinalis*

Les constituants majeurs de l'HE du *Rosmarinus Officinalis* sont 1,8-cinéole (15-30%), camphre (15-25%), α -pinène (jusque 25%), autres monoterpènes : bornéol libre (10-15%) et estérifié (5-10%), limonène, camphène (5-10%), α -terpinéol (12-24%), β -pinène, β -caryophyllène, myrcène, etc. La composition chimique de l'HE peut varier selon la phase de développement et l'origine de la plante [32].

Les feuilles du *Rosmarinus Officinalis* contiennent une essence spéciale 1,50% à odeur aromatique, saveur chaude et camphrée, composée d'acétate et de valérianate de bornyle [15].

Le composé majoritaire de l'HE du Romarin varie d'une région à l'autre (voir le tableau I.4) On trouve le 1-8 cinéole, le camphre, le pinène, le linalool et le limonène [33].

Chapitre I : Romarin

Tableau I.4 : Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'HE du Romarin [34-38].

Composé majoritaire	% massique	Origine
α -pinène	23,1	ALGERIE(Tlemcen)
Camphre	14,5	
β - pinène	12,2	
α -pinène	14,9	IRAN (Tlemcen)
Linalool	14,9	
Pipéritone	23,7	
α -pinène	10,2	TURQUIE(Izmir)
1,8-cinéole	61,4	
α -pinène	11,4	MAROC
1,8-cinéole	50,2	
camphre	9,1	
α -pinène	13,5	SERBIE (vojvodina)
Limonène	21,7	
camphre	21,6	

I.2.10. Propriétés médicinales

En médecine traditionnelle, le romarin aide à la digestion, traite les céphalées et les migraines, les blanchîtes, les coliques, améliore les fonctions hépatiques et biliaires en cas de troubles digestifs. Il est utilisé en usage externe pour soigner les rhumatismes et les troubles circulatoires [39]. C'est un hypoglycémique, il soigne les affections oculaires [40] et est utilisé comme antiseptique, cholagogue, antispasmodique, vulnéraire et diurétique [41]. L'HE du romarin est également un bon antimicrobien vis-à-vis de germes pathogènes. Grâce à ses propriétés antioxydantes, cette plante est très utilisée en cuisine comme condiment et en agroalimentaire comme conservateur naturel pour la conservation des viandes et des graisses. En Algérie, les feuilles et les fleurs de romarin officinalis sont considérées, en médecine traditionnelle, comme les meilleurs stimulants, antispasmodiques, diurétiques, cholagogues et vermifuges. Ces organes végétatifs sont aussi utilisés dans les cas de convalescence et de stress [15].

I.2.11. Propriétés du romarin [41-43]

Les propriétés du romarin sont comme suit :

❖ **Activité antibactérienne**

Afin de chercher des agents antibiotiques et antimicrobiens, une étude a été élaborée pour examiner les effets antimicrobiens des extraits des composés isolés de certaines plantes, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures ayant une pertinence dermatologique. L'extrait obtenu

Chapitre I : Romarin

par le dioxyde de carbone (CO₂) supercritique du romarin, a présenté un large spectre antimicrobien. La croissance de 28 sur 29 germes a été empêchée par cet extrait d'acide carnosique.

❖ **Activité antifongique**

En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, l'activité biologique de 11 HE dont celle du romarin a été évaluée. Les résultats ont montré que de ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures examinées (*Candida albicans*, *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowialy politica*).

❖ **Activité ovicide**

L'HE du romarin s'est avérée être un agent ovicide contre trois espèces de moustique (*Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*). De même, il a été trouvé que cette huile présente une activité répulsive contre les moustiques.

❖ **Activité antivirale**

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial du romarin a indiqué qu'il y a une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) à très faible concentration. Cependant, le carnosol a montré une activité anti-HIV à une concentration modérée qui n'était pas cytotoxique.

❖ **Activité anti-oxydante**

L'activité anti-oxydante du romarin est connue depuis environ 30 ans. En raison de ses propriétés antioxydantes, le romarin est largement accepté en tant qu'épices dont l'activité anti-oxydante est la plus élevée. Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du romarin comme antioxydant pour la conservation des produits de viande.

❖ **Effet anti-cancérogène**

Grace à certains composants (Carnosol, Rosmaridiphénol, Rosmanol et l'acide Rosmarinique), le Romarin est considéré comme une thérapie contre le cancer.

❖ **Effet hypoglycémiant**

L'observation après administration orale de différentes doses de l'extrait éthanolique du romarin à 3 groupes de lapins (lapins ayant une glycémie normale, lapins ayant une

Chapitre I : Romarin

hyperglycémie provoquée par l'administration oral du glucose, lapins diabétiques d'alloxaneont) a clairement montré que cet extrait exerce une activité hypoglycémiant remarquable à une dose de 200 mg par 1kg.

❖ Effet anti-hépatotoxique

De nombreuses études ont été réalisées pour étudier l'effet anti hépatotoxique du Romarin. Le travail s'est concentré sur l'évaluation de l'efficacité de l'extrait méthanolique du Romarin pour normaliser certains paramètres histologiques et biochimiques du foie, après l'ingestion d'un hépatotoxine le tétrachlorure de carbone(CCL₄). Les résultats ont indiqué que cet extrait empêchait la peroxydation lipidique et augmentait l'activité du glutathion-S-transférase (GST).

I.2.12. Précautions

L'huile du romarin augmente la pression sanguine. Il faut donc éviter de l'utiliser en cas d'hypertension artérielle. Il peut être irritant pour les peaux sensibles. L'huile du romarin peut déclencher des crises d'épilepsie chez les personnes sensibles [44].

Chapitre II

Huiles

essentielles

Chapitre II : Huiles Essentielles

II.1. Généralités sur les HE

Dans cette section, nous présenterons quelques notions de base sur les HE. Pour cela, nous introduisons, dans un premier temps, quelques définitions. Ensuite, nous présenterons les principaux composants des HE, ainsi que quelques notions clé relatives aux HE. Enfin, nous terminerons par une présentation des normes et des propriétés des HE.

II.1.1. Définitions

II.1.1.1. Huile essentielle (HE)

Le terme HE dérive de « quinta essentia », un nom donné par le médecin suisse Paracelsus aux extraits de plantes obtenus par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante.

Les HE également appelées essences végétales, sont des extraits purs et naturels provenant de plantes aromatiques. Elles concentrent l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit de substances odorantes, volatils, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs. Il faut donc une très grande quantité de plantes pour obtenir quelques millilitres d'HE [45].

Selon l'AFNOR NF T75-006, elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des plantes contenant des citrals, soit par distillation sèche.

Elles se différencient des huiles grasses, par leurs propriétés physiques et leurs compositions, du fait qu'elles se volatilisent à la chaleur contrairement aux huiles végétales. En revanche, les huiles végétales ne sont jamais contre-indiquées comme les HE, elles doivent s'utiliser avec précaution, et leurs taches sur le papier sont passagères [46].

Les HE ont, à toute époque, occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'homme qui les utilisait aussi bien pour se parfumer, pour aromatiser la nourriture ou encore pour se soigner.

II.1.1.2. Aromathérapie

L'aromathérapie est l'utilisation médicale des extraits aromatiques de plantes. Ce mot vient du latin « aroma » signifiant odeur et du grec « therapeia » signifiant traitement. Il s'agit donc de soigner à l'aide de principes odorifères [47].

Chapitre II : Huiles Essentielles

II.1.2. Localisation des HE dans la plante

Selon Bruneton (1999), les HE n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les plantes capables d'élaborer les constituants, qui composent ces HE, sont connues sous le nom de plantes aromatiques, réparties dans un nombre limité de familles, ex : Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées, Apiacées, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées, Pipéracées, etc.

Le tableau suivant résume tous les organes végétaux qui peuvent renfermer des HE.

Tableau II.1 : Exemples d'HE et leurs parties de plantes utilisées [48].

Partie de plante utilisée	Exemples d'HE
Les sommités fleuries	Lavande, Menthe
Les écorces	Cannelier
Les racines	Vétiver
Les rhizomes	Gingembre
Les fruits	Anis, Fenouil, Badiane
Le bois	Camphrier
Les feuilles	Citronnelle, Eucalyptus
Les graines	Muscade
Les fleurs	Bergamotier, jasmin
Les boutons floraux	Clou de Girofle

II.1.3. Composition des HE

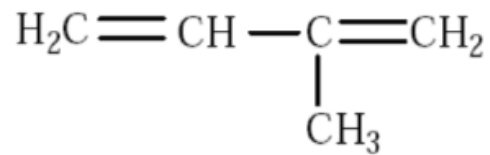
L'étude de la composition chimique des HE révèle qu'il s'agit de mélange complexe et variable de constituants appartenant exclusivement à deux groupes. D'une part le premier groupe comprend les terpènes qui sont présents dans la majorité des essences. D'autre part, le deuxième groupe contient des dérivés du phénylpropane qui sont des composés moins fréquents, mais retrouvés dans les essences d'anis, de cannelle et de girofle [49].

II.1.3.1. Terpènes

Les terpènes constituent les principaux composants des HE. Ce sont des hydrocarbures dont formule brute est (C_5H_8). Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques (2méthylbuta-1,3-diène) [50].

Chapitre II : Huiles Essentielles

La formule développée de 2méthylbuta-1,3-diène est donnée ci-contre :



Selon le nombre d'unités associées, on les classe en : héli-(C₅), mono-(C₁₀), sesqui -(C₁₅), di-(C₂₀), tri-(C₃₀), tétra-(C₄₀) terpènes et polyterpènes.

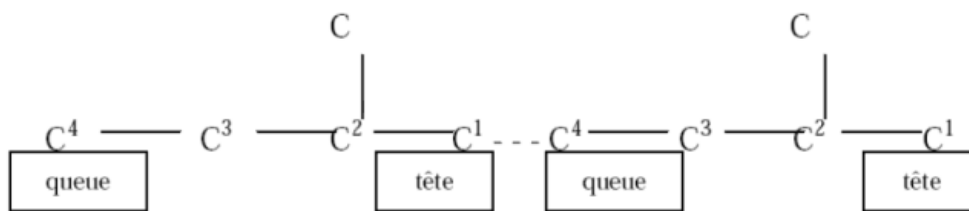


Figure II.1 : Liaison de type tête-queue [50].

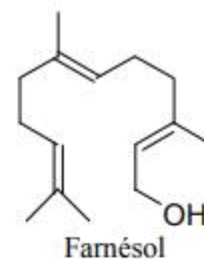
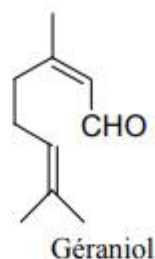
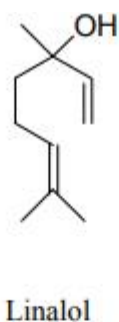
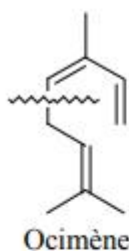
Ces unités isopréniques se lient entre elles le plus souvent par des liaisons dites régulières de type tête-queue [51].

Ils peuvent se lier par des liaisons dites irrégulières de type artémésyl, santolinyl, lavandulyl et chrysanthémyle [52].

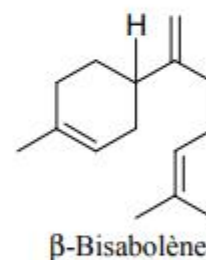
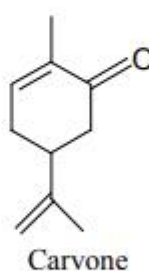
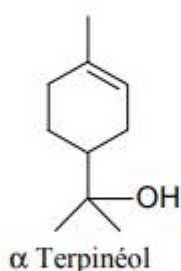
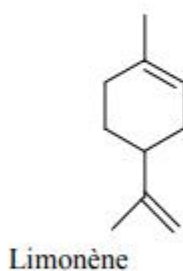
Les HE contiennent particulièrement des monoterpènes(C₁₀), des sesquiterpènes(C₁₅) et peu souvent de diterpènes(C₂₀) [53].

Les terpènes sont de structures très diverses (acycliques, monocycliques, bicycliques,...) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques. A titre indicatif, quelques-unes de leurs structures sont représentées sur la figure suivante :

Acycliques



Monocycliques



Bicycliques

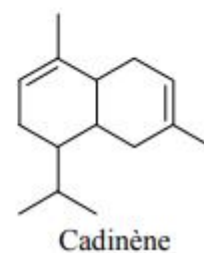
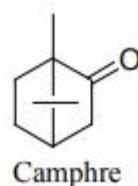
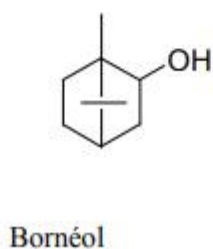


Figure II.2 : Exemples de structures mono- et sesqui-terpéniques [50].

❖ Monoterpènes

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est $C_{10}H_{16}$ [54]. Ces composés peuvent être des : monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques (α - et γ -terpinène, p-cymène) et aux monoterpènes bicycliques (pinènes, Δ^3 -carène, camphène, sabinène). La réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions: alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols [55].

❖ Sesquiterpènes

Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est $C_{15}H_{24}$ soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes [56]. Ils présentent une grande variété dans les structures conduisant à un nombre élevé de possibilités, ce qui a retardé l'élucidation de leurs structures [54]. Les sesquiterpènes peuvent également être, comme les monoterpènes, acycliques (farnésol),

Chapitre II : Huiles Essentielles

monocycliques (humulène, α -zingibèrene) ou polycycliques (matricine, artéannuine, β , artémisinine). Ils renferment aussi des fonctions telles que des alcools (farnésol, carotol, β -santalol, patchoulol), des cétones (nootkatone, cis-longipinane-2.7-dione, β -vétivone), des aldéhydes (sinensals), des esters (acétate de cédryle) [57].

II.1.3.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropane (C_6-C_3). Ils sont moins fréquents que les terpènes. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des HE. Nous pouvons citer comme exemple de composés odorants la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole. Ils sont fréquemment retrouvés dans les HE d'Apiacées (cumin, fenouil, persil, etc.) et sont caractéristiques de celles de la vanille, de l'estragon, du basilic, du clou de girofle [58].

Quelques Structures de composés aromatiques sont données sur la figure suivante :

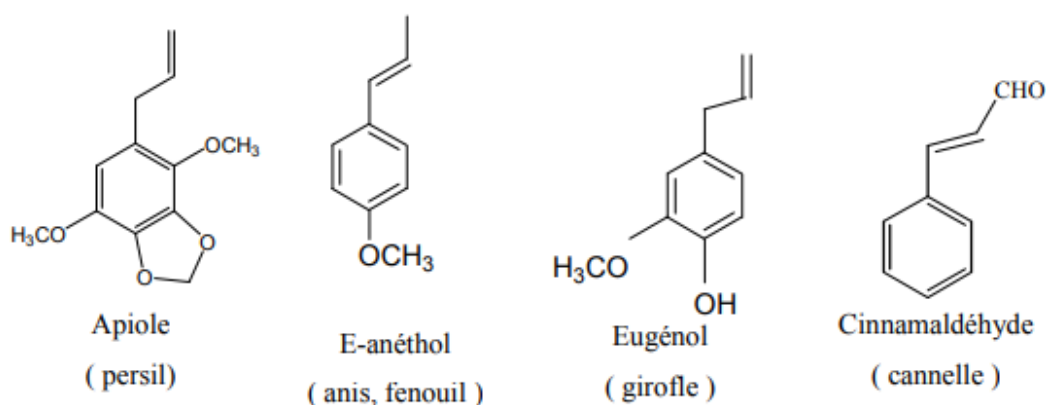


Figure II.3 : Exemples de structures de composés aromatiques [58].

Ils se distinguent entre eux par :

- ❖ La position de la double liaison de la chaîne latérale, allylique ou propénylique.
- ❖ Le degré d'oxydation de la chaîne aliphatique (alcool, aldéhyde ou cétone, acide...).
- ❖ Le nombre et la position des groupements hydroxyle et méthoxy.

II.1.3.3. Composés d'origines diverses [59]

En général, les composés d'origine diverses de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions. A titre indicatif, nous pouvons citer :

- ❖ L'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille.
- ❖ Des acides en C_3 et C_{10} .

Chapitre II : Huiles Essentielles

- ❖ Des esters acycliques présents surtout dans les fruits : acétate de butyle (pomme) et acétate d'isoamyle (banane).
- ❖ Des aldéhydes comme l'octanal et le décane des citruses.
- ❖ Des alcools comme le 1-octén-3-ol de l'essence de lavande.
- ❖ Produits azotés ou soufrés.

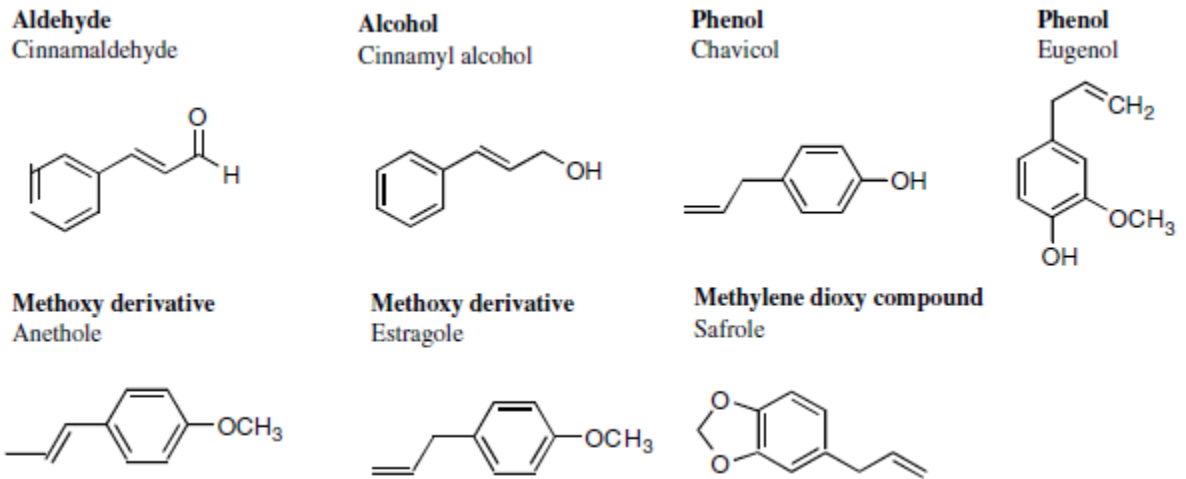


Figure II.4 : Exemples de structures de composés d'origines diverses [59].

II.1.4. Facteurs influençant la composition

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'HE. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la latitude et l'altitude ainsi que la composition du sol sont autant de facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques.

Certains auteurs se sont préoccupés d'autres facteurs tels que le cycle végétatif, l'âge et l'organe végétal, la période de récolte, les parasites, les virus et les mauvaises herbes qui influent sur le rendement et la composition chimique des HE.

Le rendement et la composition chimique des HE varient également en fonction de la méthode d'extraction. La durée de séchage affecte aussi bien le rendement que la composition [60].

Outre la composition, ces facteurs peuvent également avoir un impact sur la teneur en HE. Les Citrus, par exemple, ont une teneur plus importante en HE lorsque la température est élevée [57].

Les conditions principales requises pour une production rentable en HE sont : un bon matériel végétal, la variété de la plante, le sol, l'équipement de distillation, le climat [61].

II.1.5. Rôle physiologique des HE [62]

Beaucoup de plantes produisent des HE en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu. Les HE peuvent avoir plusieurs effets «utiles» pour la plante.

- ❖ Repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation.
- ❖ Comme source énergétique.
- ❖ Facilitant certaines réactions chimiques.
- ❖ Permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques.
- ❖ Réduction de la compétition des autres espèces de plantes par inhibition chimique de la germination des graines.
- ❖ Par protection contre la flore microbienne infectieuse.
- ❖ Action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables.

II.1.6. Qualité d'une HE [63]

Les conditions pour qu'une HE soit de bonne qualité sont :

- ❖ L'origine géographique de la plante.
- ❖ Le mode de récolte.
- ❖ La partie de la plante distillée.
- ❖ Le mode d'extraction de l'HE.
- ❖ Le stade de développement botanique : moment de la cueillette avant, pendant ou après la floraison.
- ❖ L'HE doit être 100% pure, naturelle et complète.

II.1.7. Normes des HE [64]

La présence de différents labels doit être un critère de choix pour le patient lors de l'achat de son HE.

II.1.7.1. Label BIO

Le label Bio est une norme européenne établie grâce à un cahier des charges qui précise que la culture de la plante doit être réalisée sans pesticides, sans herbicides et sans engrais chimiques.



Figure II.5 : Pictogramme du label BIO.

Chapitre II : Huiles Essentielles

Ce logo peut être appliquée sur les produits qui contiennent 100% d'ingrédients issus du mode de production biologique ou au moins 95% de produits agricoles biologiques dans le cas des produits transformés, si la part restante n'est pas disponible en bio et est expressément autorisée.

Le logo « bio » sera accompagné de la référence à l'organisme ayant certifié le produit conformément au règlement, sous la forme de son numéro de code attribué par l'Etat membre (par exemple « FR-BIO ») et de précisions sur le lieu de production des matières premières agricoles (Agriculture UE, Agriculture non UE, Agriculture UE/non UE)

La plupart des HE produites en France sont dites « bio ».

II.1.7.2. Label AB

Ce label national AB est donné par le ministère de l'Agriculture, non obligatoire pour les HE utilisées en aromathérapie. Ce label AB répond aux mêmes conditions d'utilisation que le logo européen.



Figure II.6 : Pictogramme du label AB.

Ce logo garantit que les produits sont issus d'un mode de production biologique, mais ne s'intéresse qu'aux HE que l'on peut ingérer.

II.1.7.3. ECOCERT

ECOCERT est un organisme français de certification et de contrôle des produits cosmétiques écologiques et biologiques.



Figure II.7 : Pictogramme du label ECOCERT.

Tous les cosmétiques certifiés contiennent au minimum 95% d'ingrédients d'origine naturelle et transformés selon des procédés respectueux de l'environnement validés par ECOCERT, les 5 autres % devant faire partie d'une liste très restreinte (dont 5 conservateurs autorisés, et ce dans le but d'être conforme à la réglementation en matière de sécurité du consommateur).

Tous ces cosmétiques contiennent des ingrédients bio selon les règles suivantes : 95% des

Chapitre II : Huiles Essentielles

végétaux doivent être certifiés bio, le produit doit contenir au minimum 10% de bio, le pourcentage de bio réel est affiché sur l'étiquetage. De plus, aucun parfum de synthèse, OGM, parabènes, colorants de synthèse n'est autorisé.

Les labels « Bio », « AB » et la certification « Ecocert » assurent l'utilisation de produits dits biologiques, c'est-à-dire dénués de pesticides, d'herbicides, d'engrais chimiques ou d'autres produits de synthèse.

II.1.7.4. Norme AFNOR

L'abréviation AFNOR a pour signification, Association Française de Normalisation, c'est un organisme officiel qui agit particulièrement dans les domaines de la normalisation et de la certification. En France, les normes AFNOR sont retrouvées sous le sigle NF.



Figure II.8 : Pictogramme de la norme AFNOR.

Dans le domaine de l'aromathérapie, l'AFNOR se distingue des normes :

- ❖ La norme NF-T.75-002 (1996) concerne l'étiquetage comportant la « désignation commerciale de l'HE avec le nom latin de la plante, la partie de la plante dont elle est extraite, la technique de production ou le traitement spécifique qu'elle a subi : distillation ou pression »
- ❖ La norme NF-T.75-004 (1976) précise les règles de dénomination, les chimiotypes, l'origine géographique, les hybrides.
- ❖ La norme NF T 75-401 : (mai 1985) HE – Analyse par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire – Méthode générale.

II.1.7.5. Label HECT

Le label HECT (HE chémotypée) garantit l'utilisation d'une HE :

- ❖ 100% naturelle, non dénaturée par des composants synthétiques, par des huiles ni par des essences minérales ;
- ❖ 100% pure, elles ne sont pas mélangées avec d'autres HE, huiles grasses ou alcools ;
- ❖ 100% totale, non décolorée, non peroxydée, non déterpénée et non rectifiée.



Figure II.9 : Pictogramme du label HECT.

II.1.7.6. Label HEBBD

Le label HEBBD qui signifie « HE botaniquement et biochimiquement définie » n'est pas officiel et ne fait que reprendre les normes spécifiques définies par l'AFNOR.

Il garantit :

- ❖ L'espèce botanique exacte de la plante.
- ❖ L'organe producteur de la plante clairement mentionné.
- ❖ La spécificité biochimique ou le chémotype contrôlé et mentionné.
- ❖ L'HE non diluée, non rectifiée, non déterpénée.
- ❖ La distillation à la vapeur et à la pression à froid.



Figure II.10 : Pictogramme du label HEBBD.

Le contrôle de qualité par chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse. Les labels « HEBBD » et « HECT » garantissent l'utilisation d'HE 100% naturelles, mais ne sont pas des normes officielles.

Les labels sur lesquels le pharmacien d'officine se base le plus pour acheter ces différentes HE sont : le label BIO, le label HEBBD et le label HECT [65].

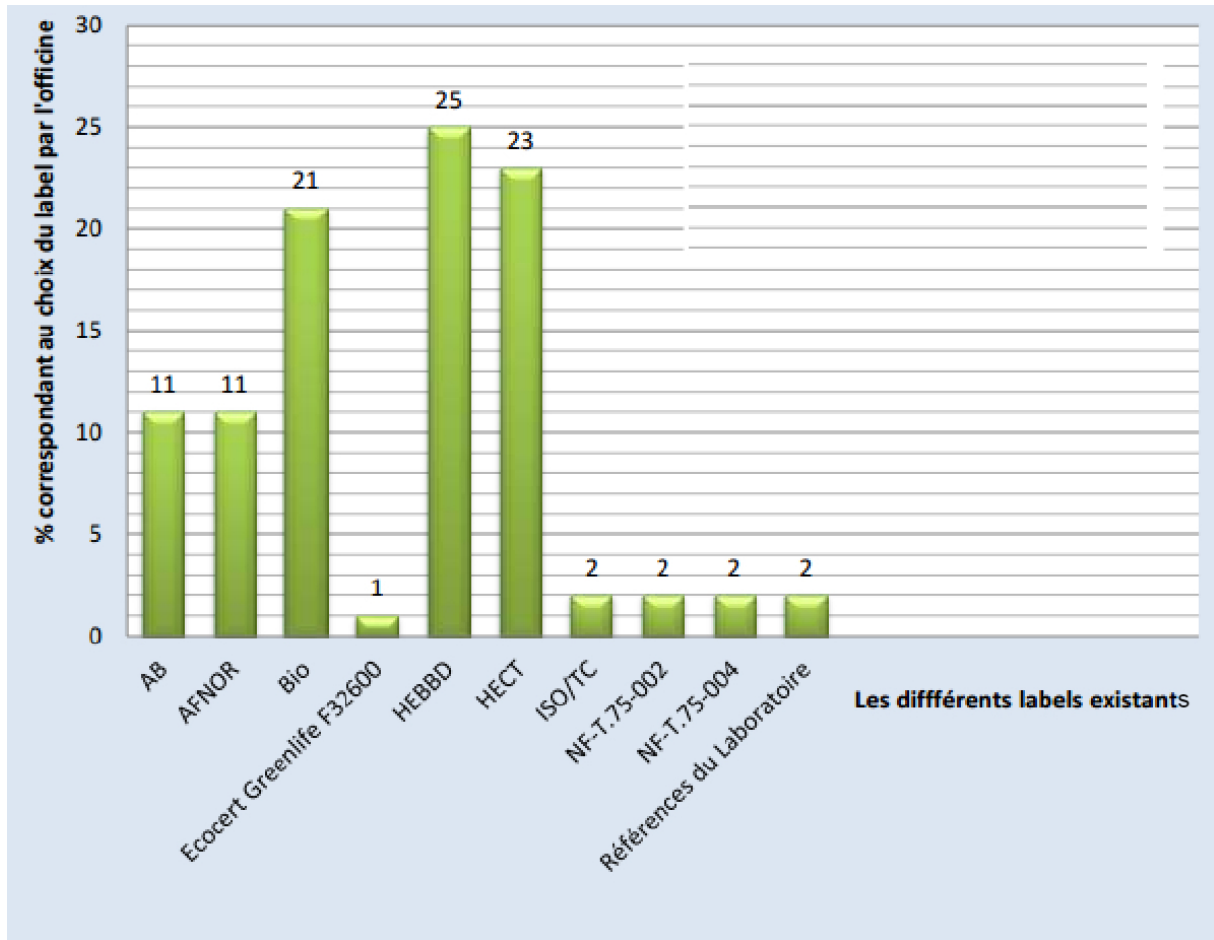


Figure II.11 : Graphique représentant les labels les plus utilisées dans les officines [65].

II.1.8. Propriétés physicochimiques des HE [66,67]

Malgré leur différence de constitution, les HE possèdent un certain nombre de propriétés physico-chimiques communes très connues à savoir :

- ❖ A température ambiante, elles sont généralement liquides, alors qu'elles sont volatiles à température élevée. C'est leur volatilité qui les distingue des huiles fixes telles que l'huile d'olive et l'huile d'amande douce.
- ❖ Pouvoir intense de diffusion et de pénétration.
- ❖ Elles sont incolores ou jaune pâle à l'exception de quelques HE telles que l'huile de l'Achillée et l'huile de la Matricaire. Ces dernières se caractérisent par une coloration bleu à bleu verdâtre, due à la présence de l'azulène et du chamazulène.
- ❖ Elles ont généralement une densité inférieure à celle de l'eau, mais il existe des exceptions (les HE de Safran, de Girofle et de Cannelle dont la densité est supérieure à celle de l'eau.).
- ❖ Elles possèdent un indice de réfraction généralement élevé.

Chapitre II : Huiles Essentielles

- ❖ Elles sont peu solubles dans l'eau.
- ❖ Elles sont solubles dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques.
- ❖ Leur point d'ébullition se situe entre 60 et 240°C.
- ❖ Les HE sont stables à température ambiante si elles sont conservées de manière adéquate (à l'abri de l'oxydation et de la polymérisation provoquées par l'air, par la lumière et par les variations de température).
- ❖ Elle se caractérise aussi par pouvoir rotatoire, viscosité, point d'ébullition et congélation.
- ❖ Les HE s'oxydent à la lumière, et absorbent de grandes quantités d'oxygène de l'air, en se résinifiant, ce qui modifie leurs odeurs [68].

II.1.9. Principales voies d'utilisation des HE [69]

II.1.9.1. Diffusion atmosphérique

D'abord la diffusion dans l'atmosphère demande de bien choisir des HE pures et adaptées afin d'éviter les allergies et les contre indications. Ainsi, elle ne dépasse pas 15 minutes et ne doit pas être en continu toute la nuit dans une pièce close surtout loin des yeux et le visage en évitant l'irritation des muqueuses respiratoires. Il faut utiliser un diffuseur qui ne chauffe pas les HE afin qu'elles ne s'oxydent pas.

Cette voie d'administration est préférée dans certaines indications comme pour les HE utilisées pour une indication respiratoire comme l'Eucalyptus globulus.

II.1.9.2. Voie interne

La voie interne peut être utilisée avec beaucoup de précaution.

❖ Voie orale

L'ingestion ne doit jamais se faire pure il faut toujours les diluer avec de l'huile végétale ou par exemple dans du miel car celles-ci ne sont pas solubles dans l'eau et laisser fondre sous la langue. Il existe des capsules à avaler déjà prêtes avec une base d'huile végétale. Il est préférable de ne jamais ingérer plus de trois gouttes d'une même HE plus de trois fois par jour.

❖ Voie rectale

L'emploi de suppositoires est le mode d'utilisation préconisé dans les infections broncho pulmonaires. Cette voie permet une absorption rapide et efficace des principes actifs des HE en évitant le circuit digestif.

Chapitre II : Huiles Essentielles

❖ Voie gynécologique

Elle permet une action rapide localement avec l'emploi d'ovules vaginaux fabriqués sur le même modèle que les suppositoires en aromathérapie.

II.1.9.3. Voie externe

❖ Voie cutanée

La voie cutanée est beaucoup utilisée en aromathérapie.

L'HE est appliquée pure ou en mélange avec une huile végétale préférentiellement au niveau des poignets ou du plexus solaire.

❖ Bain

On peut également mettre quelques gouttes d'HE dans un bain et le dilué avec une huile végétale pour éviter tout risque de réaction cutanée, du fait de leur contact avec la peau en trop grande concentration.

Les HE sont toujours insolubles dans l'eau, pour cette raison, il faut utiliser un dispersant en quantité quatre fois supérieure à celle de l'HE pour disperser le tout dans le bain.

II.1.10. Toxicité des HE

Il faut savoir que les HE, bien que produits issues de plantes, peuvent présenter une certaine toxicité. Il faudra donc toujours bien expliquer au patient qu'il est important de respecter scrupuleusement les voies d'administration, les posologies, les durées de traitement, les contre-indications de chaque HE.

Ce n'est pas un « produit anodin », comme peuvent le penser de nombreuses personnes. Par exemple les HE contenant du camphre, du menthol, de la thuyone (se sont des composants que l'on retrouve assez régulièrement dans la composition des HE) sont des HE toxiques.

En règle générale, les HE ont une toxicité aigue par voie orale faible ou très faible: la majorité des huiles qui sont couramment utilisées ont une dose létale (DL₅₀) comprise entre 2 et 5 g/kg (Anis, Eucalyptus, Girofle...etc.) ou, ce qui est le plus fréquent, supérieure à 5 g/kg (Camomille, Lavande...etc.). D'autres, une quinzaine, ont une DL₅₀ comprise entre 1 et 2 g/kg : Basilic, Estragon, Hysope (1,5 g/kg). Les plus toxiques sont les HE de Boldo (0,13 g/kg; convulsions apparaissant dès 0,07 g/kg), de Chénopode (0,25 g/kg), de Thuya (0,83 g/kg), ainsi que l'essence de moutarde (0,34 g/kg) [57].

II.1.11. Principaux domaine d'application [70-72]

Les plantes aromatiques donnent les HE, essences destinées à l'utilisation industrielle. Ces

Chapitre II : Huiles Essentielles

HE ne sont pas forcément des produits finaux dans la mesure où, une fois produites, elles peuvent servir d'intrants à la fabrication de plusieurs produits : elles sont destinées en effet à quatre grands secteurs industriels.

II.1.11.1. Secteur parfumerie cosmétique

L'utilisation des HE comme base dans la fabrication de parfums constitue une pratique courante depuis des siècles dans la plupart des civilisations. L'Europe et les Etats-Unis ont développé des industries importantes qui se démarquent par leur haut niveau d'exportation dans ce domaine.

Les propriétés odoriférantes des HE confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, du par fumage, des savons et des cosmétiques et leurs emplois dans les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les HE de lavande, de citron, de citronnelle, qui sont utilisées.

La consommation d'huiles dans ce secteur se caractérise par le besoin d'une très grande variété de produits, de quantités relativement faibles et de prix souvent élevés.

II.1.11.2. Secteur parfumerie technique

La parfumerie technique (qui comprend les produits d'entretien ménager domestiques ou industriels) a également recours aux HE pour l'image de propreté à laquelle elles sont associées, mais aussi parfois pour leurs propriétés antiseptiques. Par exemple, la citronnelle dégage un parfum qui indique au visiteur que l'endroit a été fraîchement lavé. Dans ce secteur, l'industrie consomme de grandes quantités d'huiles, au meilleur prix possible, car l'industrie désire garder le prix de revient de son produit au minimum.

II.1.11.3. Secteur agroalimentaire

Les HE jouent un rôle capital dans l'aromatisation des aliments. En effet, elles donnent la flaveur aux condiments (poivre, gingembre) et aux aromatisants (menthe, anis, oranger, thym, laurier). A faible dose, certaines substances ont un effet favorable sur la digestion, ce qui explique leur utilisation en liquoristerie (essence d'anis ou de badiane). Les HE entrent donc, pour leurs diverses propriétés, dans la composition des arômes employés de manière fréquente aujourd'hui dans tous les produits alimentaires comme les plats cuisinés ou prêts à l'emploi.

Maintenant, l'industrie agroalimentaire utilise les HE dans les préparations surgelées non seulement pour rehausser le goût, aromatiser et colorer les aliments mais aussi pour empêcher

Chapitre II : Huiles Essentielles

les contaminations alimentaires qui se développent (effet antimicrobien).

II.1.11.4. Secteur médical

Dans le domaine de la santé, il faut distinguer le secteur pharmaceutique de celui des médecines douces. Dans ce deuxième secteur, les vertus thérapeutiques des huiles sont reconnues et utilisées depuis des siècles dans beaucoup de pays. En effet, ce marché a donné naissance à une industrie des produits naturels comme les produits homéopathiques. Cette industrie, très développée en Europe, bénéficie d'un attrait croissant de la part des consommateurs non seulement en Europe mais aussi en Amérique du Nord. De plus, les produits naturels avec effets thérapeutiques ont attiré l'attention des divers groupes pharmaceutiques.

Les huiles à utilisation médicinale peuvent être vendues pures en petits flacons ou sous forme de vaporisateurs, de pastilles, de bonbons... ces huiles peuvent également être utilisées comme inhalant pour soulager les difficultés respiratoires, comme dentifrice (dans l'eau), ainsi que pour rafraîchir ou soulager la gorge. Par conséquent, les HE ont une variété d'applications et, dans bien des cas, la même huile peut être recherchée pour des propriétés différentes selon les secteurs industriels. Les propriétés médicinales des HE sont nombreuses, mais chacune possède ses vertus particulières.

II.1.12. Précautions d'usage des HE [73]

Comme dit précédemment, l'HE n'est pas un produit anodin qui s'utilise n'importe comment. Il y a donc certaines règles à respecter quant à l'utilisation de celles-ci.

- ❖ Il faut utiliser des huiles 100% pures et naturelles, de préférence certifiées et « issues de l'agriculture biologique ».
- ❖ L'HE n'étant pas miscible à l'eau, celle-ci doit toujours être mélangée avant usage avec, par exemple, de l'huile végétale, du sucre, du miel.
- ❖ Avant toute utilisation par voie cutanée, il faut réaliser un test pour vérifier que la peau tolère bien l'HE en déposant quelques gouttes de celle-ci diluées sur le pli du coude.
- ❖ Il ne faut jamais appliquer d'HE pure sur les yeux, les muqueuses nasales, auriculaires et ano-génitales. En cas de contact accidentel, il faut utiliser une huile végétale ou une huile de table pour absorber le produit.
- ❖ Il ne faut jamais avaler d'HE pure, il faut toujours veiller à utiliser un support (miel, sucre, comprimé neutre...).

Chapitre II : Huiles Essentielles

- ❖ En cas d'absorption accidentelle, il faut boire de l'huile végétale (olive, tournesol) ; en aucun cas il ne faut boire de l'eau et se faire vomir.
- ❖ Les HE contenant des agrumes sont photo sensibilisantes : l'exposition au soleil dans les 12 heures qui suivent une utilisation par voie orale ou cutanée de ces huiles (Citron, Mandarine, Pamplemousse) est vivement déconseillée.
- ❖ Il ne faut jamais utiliser les HE de manière continue sur une longue période, même à faibles doses ; il faut également respecter scrupuleusement les posologies préconisées.
- ❖ Il ne faut pas associer un traitement médicamenteux à un traitement par les HE car cela pourrait provoquer des effets indésirables, potentialiser ou annuler les effets du traitement médicamenteux.
- ❖ Les HE doivent toujours être tenus hors de la portée et de la vue des enfants.
- ❖ Elles sont vivement déconseillées chez les femmes enceintes, chez les femmes allaitantes, ainsi que chez les enfants de moins de 6 ans.
- ❖ Il faut veiller à toujours bien se laver les mains après massage ou application cutanée pour éviter toute ingestion accidentelle.
- ❖ Il ne faut jamais injecter d'HE par voie intraveineuse ou intramusculaire.
- ❖ Les HE riches en phénols et en aldéhydes sont agressives pour la peau et les muqueuses, elles sont dites dermocaustiques (agressive pour la peau) ; il faut de préférence les diluer avec des huiles végétales.

II.1.13. Conservation des HE

Les HE de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années (3 à 5 ans) sous certaines conditions. Elles ont même tendance à s'améliorer avec le temps (à l'exception des HE extraites des zestes d'agrumes qui ne se conservent pas plus de 2 ans).

Il est recommandé de les stocker dans des flacons en verre ambre ou foncé, il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air, il faut bien refermer les flacons après usage car les arômes s'évaporent dans l'atmosphère. Tenir les flacons hors de portée des enfants. Les flacons doivent être stockés en position verticale, en position horizontale il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile (les huiles ont une action corrosive sur le plastique). Dans ces conditions, les HE se conservent plusieurs années [74].

II.1.14. Etiquetage [75]

L'étiquetage est un critère de choix important quand à l'achat de son HE, c'est un gage important de qualité et de traçabilité.

Chapitre II : Huiles Essentielles

L'étiquette de tout flacon d'HE doit porter un certain nombre de mentions :

- ❖ La dénomination botanique en français et en latin (Tea-Tree, *Melaleuca alternifolia*).
- ❖ La partie de plante utilisée (feuilles, écorces...).
- ❖ Les molécules principales (1,8-cinéole, camphre, citral...).
- ❖ Le chémotype s'il existe (HE de thym commun à linalol).
- ❖ L'origine géographique (Australie, Afrique, Népal...).
- ❖ L'indication « 100% pure et naturelle ».
- ❖ Le mode d'obtention (expression, distillation à la vapeur d'eau...) qui permet de savoir si l'HE a été produite en utilisant des solvants.
- ❖ Le mode de culture (biologique, conventionnelle ou récolte sauvage).
- ❖ La quantité (volume ou poids).
- ❖ Le numéro de lot.



Figure II.12 : Etiquette d'une HE [76].

II.2. Hydrolat

II.2.1. Différence entre l'eau florale et l'hydrolat [77]

Ce sont deux termes qui désignent une eau qui a servi à la distillation d'une HE le plus souvent (mais certains hydrolats n'ont pas de correspondance en HE : c'est le cas d'hamamélis, de bleuet, de plantain par exemple). H₂O (l'eau) sous sa forme gazeuse traverse la plante et capte la fraction aromatique de cette dernière mais pas seulement.

Pour résumer : un hydrolat est issu d'une distillation de plante aromatique et une eau florale d'une fleur.

II.2.2. Considérations générales

Lors de certains processus d'extraction des HE, un sous-produit se forme à partir de l'eau ayant servi à l'extraction des molécules odorantes. Ce produit est l'hydrolat ou hydrosol en anglais. Dans le cas de la distillation, la vapeur d'eau traverse la matière végétale puis se condense au contact des parois froides d'un réfrigérant. L'eau se dissocie alors spontanément de l'HE du fait de leur non miscibilité tout en conservant une petite portion des composés volatils de l'HE [78]. Malgré cette faible concentration en principes actifs, les hydrolats présentent certaines activités pharmacologiques et biologiques intéressantes.

Certains hydrolats sont utilisés depuis des siècles dans des préparations cosmétiques, thérapeutiques et culinaires: les hydrolats de rose, de fleur d'oranger, de lavande et de fleurs de bleuets sauvages en sont des exemples. Certaines plantes sont distillées uniquement pour leur hydrolat comme par exemple *Hamamelis virginiano* L. dont le distillât de feuilles et de rameaux floraux est un composant fréquent de produits dermatologiques grâce à ses propriétés désinfectantes et astringentes [79]. Le principal marché des hydrolats se situe dans le domaine des cosmétiques et des arômes alimentaires. Cependant, avec le regain d'intérêt actuel pour les médecines alternatives telle que l'aromathérapie, les hydrolats sont aujourd'hui de plus en plus utilisés pour leurs vertus thérapeutiques [80].

Malgré cet engouement, les chercheurs ne s'y intéressent que très peu. Il existe donc un réel manque de données scientifiques dans ce domaine. Pourtant, la faible toxicité et la nature chimique des hydrolats en font un produit original, intéressant à étudier comme en témoignent les rares publications parues à leur sujet. Les études pharmacologiques réalisées présentent en effet des résultats très prometteurs.

Dans la littérature scientifique anglophone, les hydrolats sont trouvés sous différentes appellations: hydrosol, floral water, aqueous distillate, aromatic water, etc. La plupart de ces

Chapitre II : Huiles Essentielles

termes prêtent à confusion puisque beaucoup sont employés d'une manière incorrecte. Le terme hydrosol est le plus communément utilisé mais ce mot est inapproprié puisqu'il s'agit d'un terme générique employé pour désigner, en chimie physique, une solution colloïdale dans l'eau. Un hydrosol est obtenu par macération prolongée de l'HE dans de l'eau pure alors que l'hydrolat est obtenu par un procédé d'hydrodistillation. Le terme floral water ou eau florale est également inadéquat puisqu'il désigne uniquement les infusions obtenues par macération de fleurs dans l'eau. Pour mettre fin à cette confusion, les anglophones utilisent de plus en plus le terme français « hydrolat » [78].

II.2.3. Composition de l'hydrolat [81]

En règle générale, les hydrolats sont riches en composés oxygénés hydrophiles alors que les composés lipophiles comme les hydrocarbures terpéniques sont la plupart du temps absents. On y trouve souvent de petits acides organiques volatiles, ce qui implique que les hydrolats sont habituellement à pH acide.

La composition de l'hydrolat est différente de celle de l'HE : il contient une infime portion des composants de l'HE et surtout tous les composés hydrosolubles de la plante (qui ne se retrouvent pas ou peu dans l'HE).

Un hydrolat d'une plante donnée n'aura donc pas nécessairement les mêmes propriétés que les HE. Par exemple l'hydrolat de Cannelle contient en dissolution 92% d'aldéhyde cinnamique, l'HE n'en contient que 75-76%.

L'hydrolat de thym renferme 46% de phénols (surtout du carvacrol) alors que l'HE n'en contient que 32%. L'un et l'autre sont donc souvent complémentaires. Mais l'intérêt principal des hydrolats sur le plan thérapeutique, c'est qu'ils sont beaucoup mieux tolérés que les huiles essentielles (par les enfants et les animaux en particulier).

Pour pouvoir analyser la composition chimique des hydrolats par CPG-SM, il faut procéder à une extraction liquide-liquide avec un solvant organique tel que l'éther di éthylique ou chloroforme afin de concentrer l'hydrolat avant l'injection.

II.2.4. Conservation de l'hydrolat

Tant qu'il n'est pas ouvert, conservé dans un flacon opaque, et dans des conditions optimales de conservation (à l'abri de la lumière et de trop d'écart de Température) un hydrolat peut se conserver jusqu'à 1 an 1/2. En revanche, dès l'ouverture, il faudra le conserver au réfrigérateur et le consommer dans les trois mois.

Chapitre II : Huiles Essentielles

Chapitre III

Méthodes d'extraction et caractérisations des HE

Chapitre III : Méthodes d'extraction et caractérisations des HE

III.1. Méthodes d'extraction des HE [82,83]

Historiquement, la plus vieille méthode d'extraction des HE est sans doute l'infusion dans l'huile. Aujourd'hui, il existe plusieurs méthodes pour obtenir des HE.

Le choix d'une technique d'exploitation des plantes aromatiques doit être adapté aux composés spécifiquement recherchés ; en principe cela ne dépend pas du type d'organe utilisé (feuille, fleur, bois, graine ou fruit, racine ou rhizome), à l'état frais ou à l'état sec.

La méthode dépend du type de produit souhaité, ou de la nature chimique des molécules recherchées. Le rendement en l'huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées. Elles sont obtenues par distillation, par extraction mécanique (pression) ou par solvant.

Les principaux paramètres à prendre en compte dans les opérations fondamentales d'extraction de matières premières naturelles aromatiques sont :

- ❖ La volatilité.
- ❖ La solubilité.
- ❖ La taille et la forme des molécules constitutives.
- ❖ L'adsorption.

En réalité, le procédé d'extraction est un facteur clé qui conditionne la qualité d'une HE : une extraction réalisée dans des conditions inadéquates peut dégrader HE obtenue et altérer sa signature chimique.

III.1.1. Distillation

III.1.1.1. Entraînement à la vapeur d'eau [84]

La distillation par entraînement à vapeur d'eau est le procédé le plus utilisé pour obtenir les HE. Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Le principe de la distillation à la vapeur d'eau consiste à faire passer la vapeur d'eau à travers la plante à une température adéquate pour détruire les cellules végétales, libérer les molécules aromatiques et les entraîner dans un serpentín de refroidissement. Là, les vapeurs refroidies retournent à l'état liquide formant un mélange « eau + HE ». Recueillies dans un essencier, l'HE et l'eau florale se séparent par simple différence de densité.

Le serpentín débouche sur l'essencier, muni de deux robinets. Celui du bas permet de recueillir l'hydrolat ou l'eau florale et celui du haut l'HE.

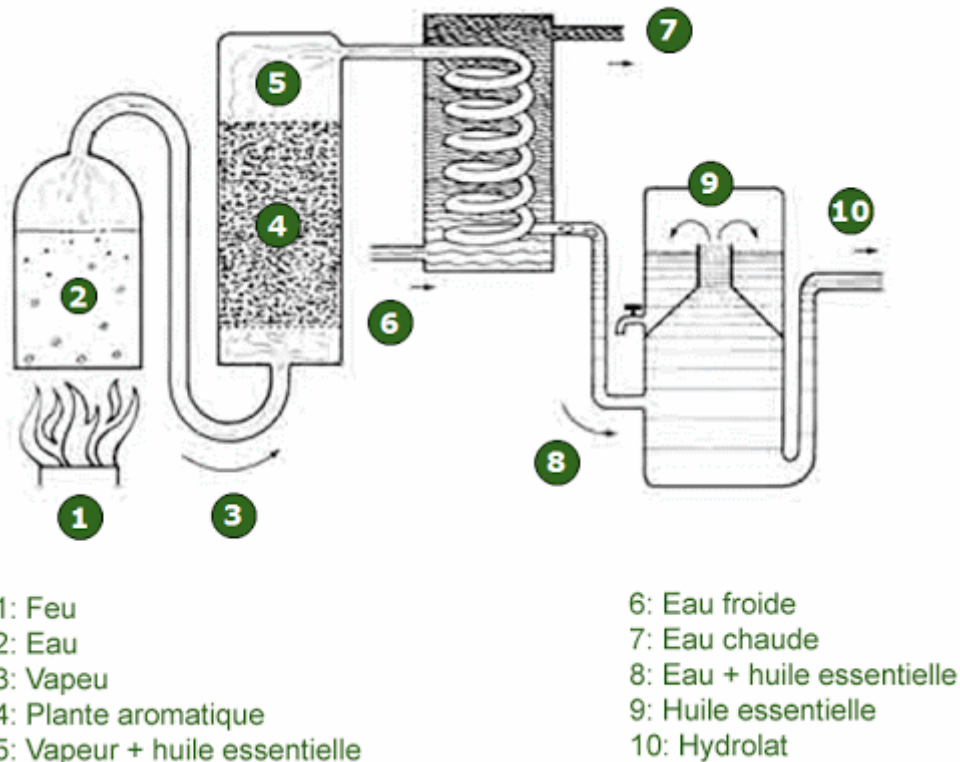
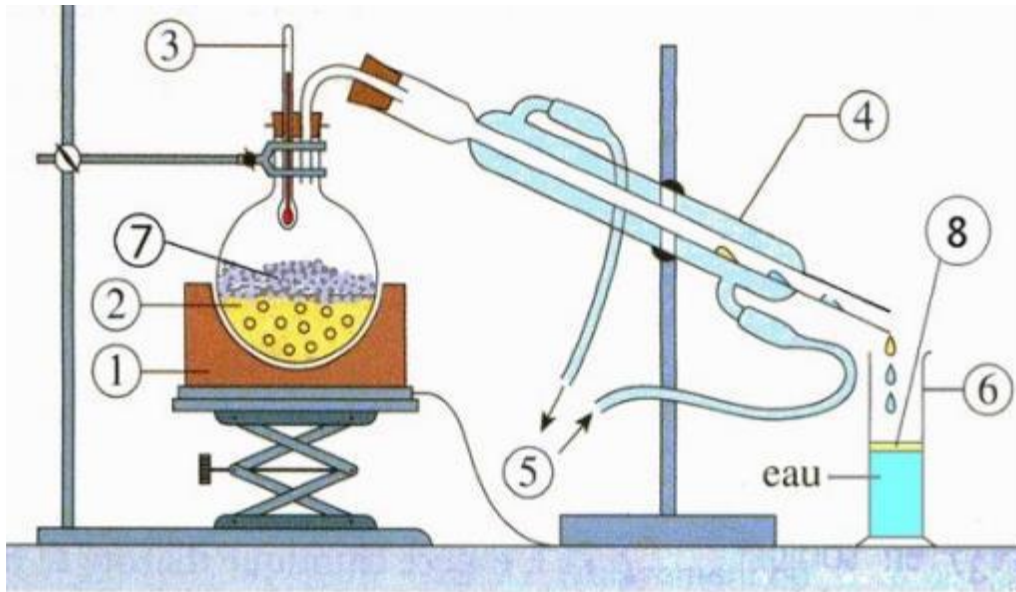


Figure III.1 : Schéma du montage de l'entraînement à la vapeur d'eau [85].

III.1.1.2. Hydrodistillation [86]

Distillation à l'eau ou «hydrodistillation» : le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. Le procédé consiste à immerger le matériel végétal dans un récipient rempli d'une quantité adéquate d'eau. Le tout est ensuite porté à l'ébullition, Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'HE se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'HE étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolat.

Les inconvénients de cette méthode sont : la calcination du matériel végétal, ce qui entraîne une modification de la composition et des caractéristiques chimiques de l'HE et aussi un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques.



- | | |
|-------------------|--|
| 1- Chauffe ballon | 5- Entrer et sortie de refroidissement |
| 2- Ballon | 6- Eprouvette graduée |
| 3- Thermomètre | 7- Matière à extraire l'essence |
| 4- Réfrigérant | 8- La couche d'HE |

Figure III.2 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation [87].

III.1.1.3. Hydrodiffusion

Cette technique est relativement récente. C'est une forme de distillation à la vapeur, la différence réside dans le sens d'introduction de la vapeur d'eau : la vapeur est introduite par le haut de l'alambic. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite (0,02-0,15 bar), la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau-HE » dispersé dans la matière végétale.

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'HE obtenue avec ce procédé contient des composés non volatils ce qui lui vaut une appellation spéciale : « essence de percolation » [88].

De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

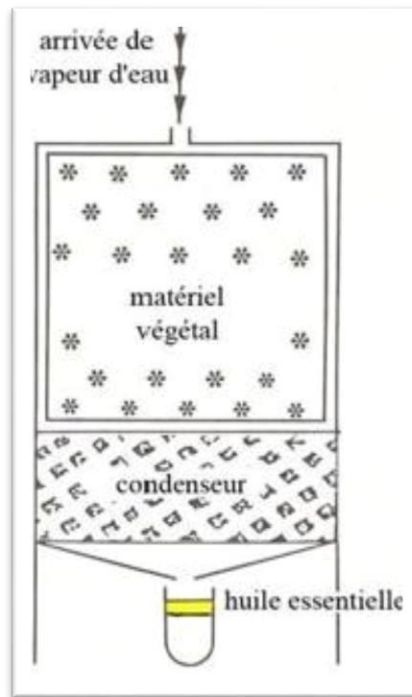


Figure III.3 : Schéma du montage d'hydrodiffusion [89].

III.1.1.4. Distillation sèche

La distillation « sèche », aussi appelée distillation « destructive », est utilisée pour la séparation des produits chimiques liquides contenus dans des matériaux solides. Il s'agit d'une méthode d'extraction des HE caractéristiques des végétaux fragiles tels que les pétales de rose.

Dans le domaine de l'extraction végétale, la distillation sèche consiste à chauffer de façon très modérée les plantes ou parties de plantes sans ajout d'eau ni de solvants organiques, puis à condenser les substances volatiles. L'avantage de cette méthode est la température à laquelle se déroule l'extraction : inférieure à 100°C, ce qui évite la dénaturation de certaines molécules thermosensibles. Mais si cette technique présente un avantage certain au niveau de la qualité, elle aboutit cependant à des rendements extrêmement faibles en HE [90].

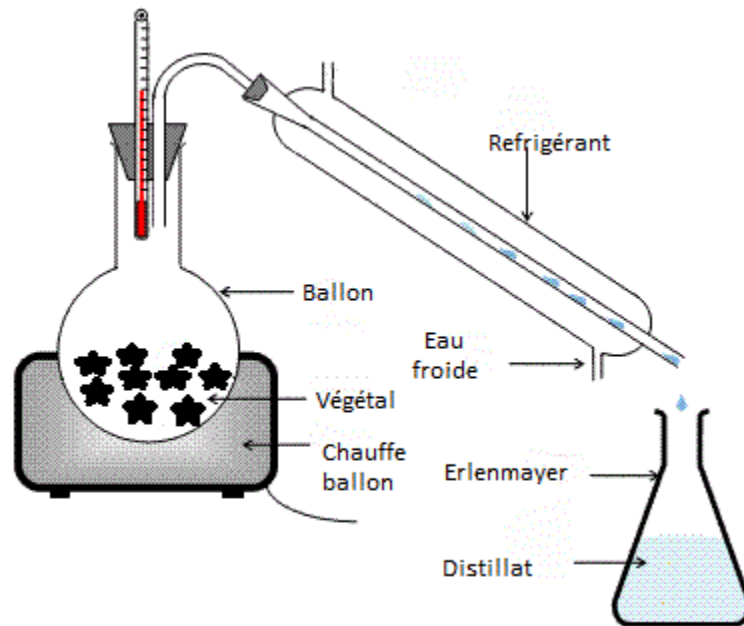


Figure III.4 : Représentation de la distillation sèche [91].

III.1.2. Expression à froid [92]

L'expression à froid est utilisée pour obtenir les essences et est réservée aux Citrus (citron, mandarine, orange...). Le principe de fonctionnement est le suivant : l'écorce d'agrumes est lacérée par une aiguille qui va créer des zones de compression à l'endroit d'impact (aux alentours de l'aiguille). La création de zones de compression dans la peau, entourées par des zones de basse pression, va inciter l'huile à sortir vers l'extérieur; la séparation de l'HE se fait par centrifugation.

Cette méthode est simple et limite l'oxydation à son minimum.

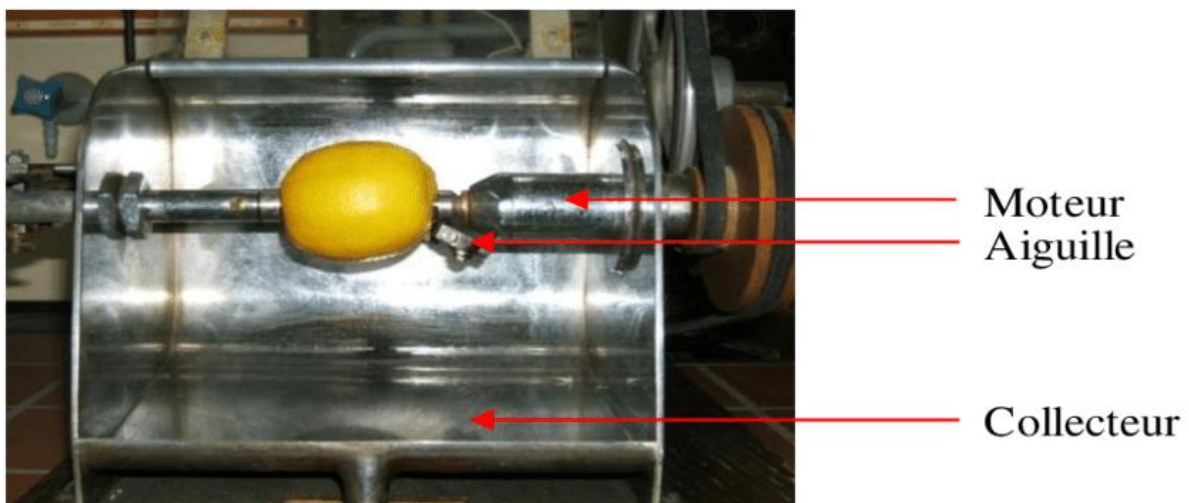


Figure III.5 : Montage de l'expression à froid [93].

III.1.3. Extraction par solvants [94]

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson.

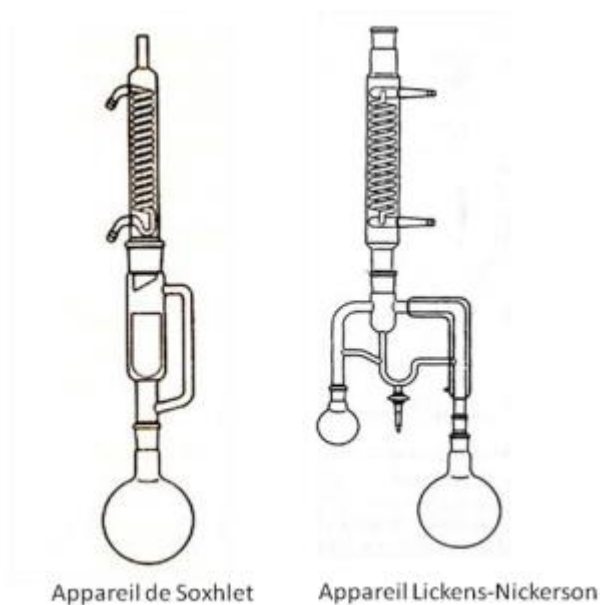


Figure III.6 : Schéma du montage d'extraction par solvant [95].

Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances [82].

III.1.4. Enfleurage

L'enfleurage est une technique ancienne mettant en contact l'organe producteur (généralement la fleur) avec une graisse qui se sature en HE après quelques jours. On obtient alors des pommades qui sont utilisées telles quelles ou extraites par de l'éthanol. Les extraits alcooliques aux fleurs ainsi obtenus sont appelés « absolues » [96].

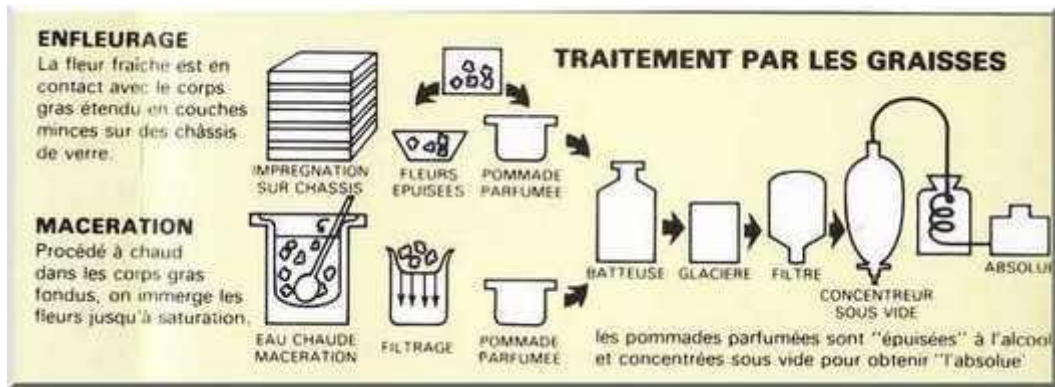


Figure III.7 : Schéma du montage de l'enfleurage [97].

III.1.5. Extraction au CO₂ supercritique [98]

Ce procédé, très moderne, consiste à faire éclater les poches à essences des végétaux et ainsi entraîner les substances aromatiques en faisant passer un courant de CO₂ à haute pression dans la masse végétale (en générale les fleurs). On utilise le CO₂ car il possède de nombreux atouts : il s'agit d'un produit naturel, inerte chimiquement, ininflammable, facile à éliminer totalement, aisément disponible, peu réactif chimiquement et enfin peu coûteux. Le CO₂ a également la capacité de fournir des extraits de compositions très proches de celles obtenues par les méthodes décrites dans la pharmacopée européenne. Tous ces avantages permettent à ce procédé de se développer malgré un investissement financier important.

Le principe est d'utiliser le gaz CO₂ mis dans un état supercritique (ni à l'état liquide, ni à l'état gazeux), c'est-à-dire à un niveau de pression élevé (plus de 50 bars), à basse température (30 °C). L'état supercritique amène à augmenter la diffusivité de la matière, ce qui en fait un excellent solvant naturel. Il permet, lorsqu'il est plongé dans les pétales de Rose, d'extraire tous les éléments actifs, sans chauffer, et sans adjonction de produit chimique. De plus, en fin de processus, le CO₂ est récupéré totalement, ce qui en fait une méthode d'extraction très écologique, car totalement recyclable.

Pour produire de l'extrait au CO₂ supercritique, la partie de la plante d'où on désire extraire l'HE dans une colonne qui sera insérée dans un cylindre soumis à une forte pression et dans lequel on va faire circuler le CO₂ à l'état supercritique.

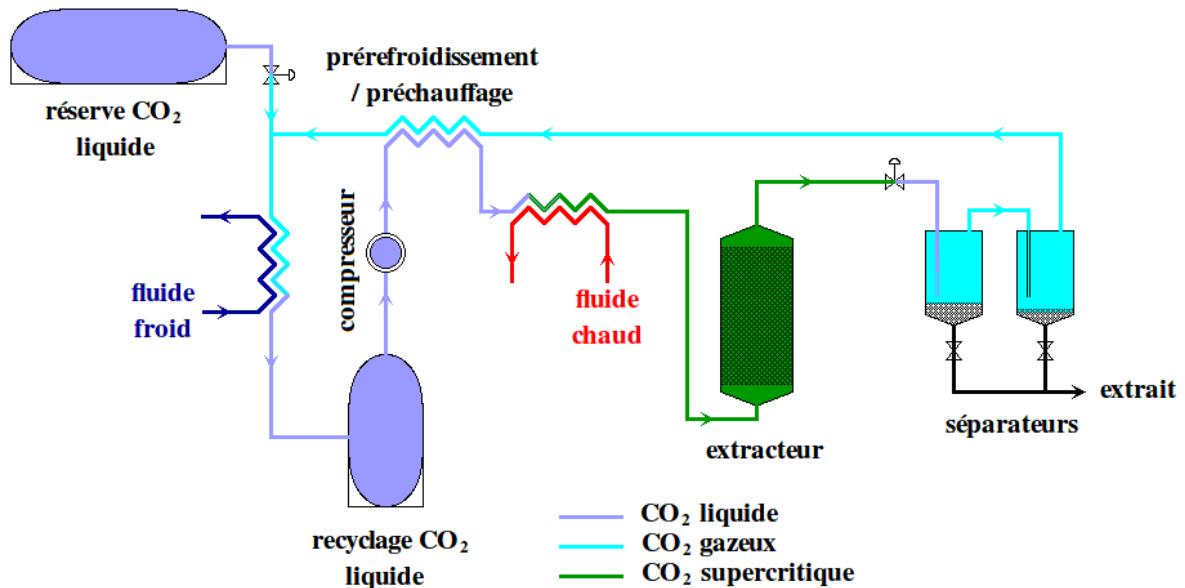


Figure III.8 : Dispositif d'extraction au CO₂ hypercritique [99].

III.1.6. Extraction assistée par micro-onde [100]

Méthode très rapide (temps de travail divisé par 5 à 10 par rapport à l'hydrodistillation traditionnelle), peu consommatrice d'énergie (température plus basse) et de qualité supérieure à l'hydrodistillation traditionnelle. Elle consiste à chauffer sélectivement une plante par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte où la pression est diminuée de façon séquentielle.

Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques condensation, refroidissement et décantation. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels que le gain de temps d'extraction, utilisation de petites quantités de solvant, l'économie d'énergie, une dégradation thermique réduite et un rendement d'extraction élevé.

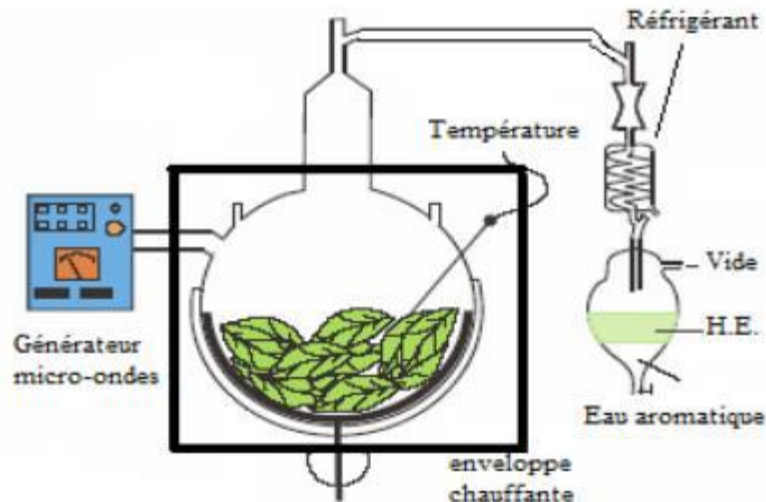


Figure III.9 : Extraction assistée par micro-ondes [101].

Ces différents procédés d'extraction des HE permettent de définir plusieurs termes qui sont utilisés dans la pratique courante [102].

- ❖ **Concrète:** extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction au moyen d'un solvant non aqueux suivie d'une élimination de ce solvant par un procédé physique.
- ❖ **Résinoïdes :** extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir de matière première sèche d'origine végétale, par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux, suivie de l'élimination de ce solvant par un procédé physique.
- ❖ **Pommade florale :** corps gras parfumé obtenu à partir de fleurs soit par « enfleurage à froid » soit par « enfleurage à chaud ».
- ❖ **Absolute:** produit ayant une odeur caractéristique, obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par l'extraction à l'éthanol à température ambiante. La solution éthanolique obtenue est généralement refroidie et filtrée dans le but de supprimer les cires ; l'éthanol est ensuite éliminé par distillation.
- ❖ **Eau florale :** obtenue lors de la distillation des plantes par condensation de la vapeur d'eau chargée d'HE, et séparation des deux phases obtenues en HE et eau florale moins concentrée en composés odorants.
- ❖ **Hydrolat :** résulte de la macération d'une plante dans l'eau.

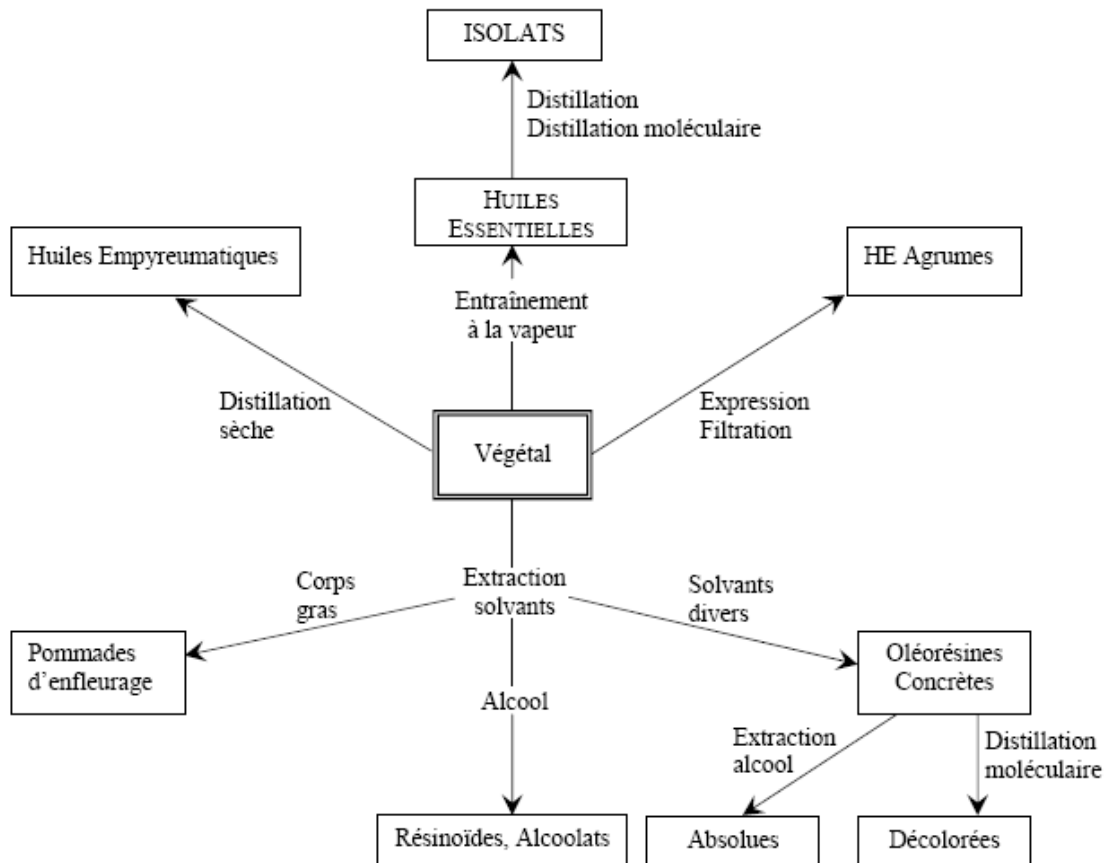


Figure III.10 : Principales opérations industrielles d'extraction [103].

III.2. Caractérisations des HE

L'importance des HE dans divers domaines (pharmacie, cosmétique, parfumerie...) nous amène à vérifier leur qualité. La caractérisation d'une huile consiste à :

- ❖ Vérifier ses caractéristiques organoleptiques (Aspect, couleur, odeur).
- ❖ Déterminer ses indices physico-chimiques (densité, indice de réfraction, et indice d'acide).
- ❖ Obtenir son profil chromatographique et une quantification relative des différents constituants.

III.2.1. Caractéristiques organoleptiques

Chaque extrait est caractérisé par ces propriétés organoleptiques telles que l'odeur, l'aspect et la couleur :

❖ Odeur

L'odorat est un sens chimique très sensible et l'habileté des parfumeurs à classer et

Chapitre III : Méthodes d'extraction et caractérisations des HE

caractériser des substances chimiques parviennent à doser les produits naturels et leur perception peut aller jusqu'au dix millièmes de grammes par litre d'air.

❖ Couleur

La coloration d'une HE dépend des produits qui la constituent. Certains solvants ont le pouvoir d'extraire beaucoup de pigments, ce qui intensifie la couleur d'une huile donnée.

❖ Aspect

L'aspect d'un extrait dépend des produits qui la constituent, qui peuvent nous apparaître sous forme solide, liquide ou bien solide- liquide.

III.2.2. Caractérisation physicochimique

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) étaient autre fois les seules indications permettant d'évaluer la qualité d'une HE, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une HE et sa valeur sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques.

III.2.2.1. Caractérisation physique

III.2.2.1.1. Densité

La densité, notée d_4^{20} , représente le rapport de la masse d'un volume de liquide par la masse du même volume d'eau. Elle est sans unité et varie en fonction de la température et mesurée par deux appareils : le densimètre et le pycnomètre.

La densité des HE est en général inférieure à celle de l'eau à l'exception des HE de saffran, de cannelle et de girofle.

III.2.2.1.2. Indice de réfraction

L'indice de réfraction notée par n_D^{20} qui est une grandeur sans dimension, car c'est le rapport de deux vitesses, elle caractérise un milieu, décrivant le comportement de la lumière dans celui-ci. Plus la lumière est ralentie, plus la matière a un indice de réfraction élevé ; Il est mesuré couramment par le réfractomètre d'Abbe. Les HE ont souvent un indice de réfraction élevé (1,25-1,56), supérieur à ceux de l'eau à 20°C = 1,3356.

III.2.2.1.3. Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est la propriété que possèdent certaines substances chimiques de dévier le plan de vibration de la lumière polarisée. Cette déviation est due à la présence d'un carbone

Chapitre III : Méthodes d'extraction et caractérisations des HE

asymétrique dans la molécule. Le pouvoir rotatoire ou rotation spécifique d'un échantillon mesuré à 20°C, en utilisant la raie D du sodium (Na) $\lambda=589$ nm comme source lumineuse, est exprimé par la loi de Biot.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{L \cdot C}$$

α : valeur de l'angle de déviation de la lumière polarisée lue sur le polarimètre.

L : longueur de la cellule exprimée en dm.

C : concentration de la solution à examiner exprimée en g/100mL.

III.2.2.1.4. Solubilité des HE

- ❖ Dans l'eau : elles ne sont naturellement pas, ou très peu, solubles dans l'eau ; certains composants sont néanmoins plus solubles que d'autres (verbénone du romarin officinal, lavandulol de la lavande vraie) ; quelques-unes ont des constituants particulièrement solubles, ce qui entraîne, durant la distillation des écorces de cannelle, l'obtention habituelle d'émulsions [104].
- ❖ Dans les huiles fixes : elles sont totalement solubles dans les huiles grasses [105].
- ❖ Dans l'éthanol : Une HE est dite miscible à V volumes et plus de l'éthanol de titre alcalimétrique détermine à la température de 20°C, lorsque le mélange de 1 volume d'HE et de V volumes de cet éthanol est limpide, et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre jusqu'à un total de 20 volumes [106].
- ❖ Dans les solvants organiques : les HE s'y solubilisent très bien [104].

III.2.2.2. Caractérisation chimique

III.2.2.2.1. Indice d'acide

C'est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'HE. La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps, l'indice d'acide permet donc de juger de leur état de détérioration [107].

III.2.2.2.2. Indice de saponification

L'indice de saponification est le nombre de milligramme (mg) d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides libres et saponifier les acides estérifiés contenus dans un gramme d'HE [108].

III.2.2.2.3. Indice d'ester

L'indice d'ester est le nombre de milligramme de potasse nécessaire pour saponifier les esters présents dans 1 gramme d'HE [109].

III.2.2.2.4. Indice d'iode

L'indice d'iode peut être défini comme le nombre de grammes d'iode absorbés par 100 g d'échantillon. Il permet d'avoir une information sur la proportion des composés insaturés dans le mélange. Plus il y a de composés insaturés, plus la quantité d'iode absorbée sera importante et plus l'indice sera élevé [108].

III.2.2.2.5. Indice de carbonyle

La teneur en composé carbonylés s'évalue par la détermination de l'indice de carbonyle. Pour cela, on utilise la potentiométrie à froid ou à chaud [108].

III.2.2.2.6. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde est un indicateur du degré d'oxydation des HE (plus celui-ci est élevé, plus l'HE est oxydée). Il correspond au nombre de milliéquivalents de peroxyde par kilogramme d'échantillon [108].

III.2.3. Méthodes d'analyse chromatographique

L'analyse d'une huile est complexe, de par son très grand nombre de constituants chimiques volatils mais aussi, souvent, de par l'importance des composés à l'état de traces qui font le caractère spécifique de l'huile [110].

III.2.3.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) [111]

La Chromatographie sur Couche mince ou CCM est une méthode analytique couramment utilisée dans les laboratoires de phytochimie pour la séparation et l'identification rapides des constituants d'un extrait donné. Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption ; la phase mobile est un solvant ou un mélange des solvants ; qui progresse le long d'une phase stationnaire qui peut être soit une couche mince de gel de silice ; l'alumine ; ou cellulose. Celle-ci doit être uniformément étalée sur un support en aluminium, sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou sur une plaque de verre.

L'analyse s'effectue en trois grandes étapes : le dépôt, l'élution, puis la révélation. Le dépôt se fait par capillarité à l'aide d'un simple capillaire ou d'une seringue mais on se sert de plus

Chapitre III : Méthodes d'extraction et caractérisations des HE

en plus du dépôt par spray. La phase stationnaire la plus utilisée est la silice à laquelle est souvent ajouté un pigment fluorescent pour permettre une détection des produits à la lumière UV. A cette longueur d'onde, la phase stationnaire émet une lumière généralement verte, sauf aux endroits où un produit absorbe le rayonnement UV, ce qui provoque l'apparition de taches sombres. Après un passage par un système de migration automatisé, les colorations sont révélées à l'aide de révélateurs spécifiques.

III.2.3.2. Chromatographie en phase gazeuse

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition [112]. C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des HE, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. La différence principale par rapport à l'HPLC vient du fait que dans la CPG la phase mobile est gazeuse (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée de la colonne. La phase stationnaire dans la colonne peut être solide ou liquide (si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer, on parle de chromatographie gaz-liquide ou chromatographie de partage. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine...), on parle de chromatographie gaz-solide ou chromatographie d'adsorption) [113]. Le mélange est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur). Les différentes molécules du mélange se séparent et sortent de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps dépendant de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules. A la sortie de la colonne, les composés rencontrent un élément essentiel - le détecteur qui va alors envoyer un signal représenté par un pic. A chaque pic correspond un temps de rétention, qui correspond au temps qui s'écoule entre l'injection de l'échantillon et l'apparition du signal au détecteur. Ce temps de rétention sera alors comparé à celui d'un témoin standard et permettra l'identification du composant. Le résultat obtenu est traduit sous forme d'un chromatogramme.

La CPG permet une évaluation quantitative et qualitative de la composition chimique des HE. Elle présente de nombreux avantages : facilité de mise en œuvre, temps d'analyse assez court et fiabilité des résultats [114].

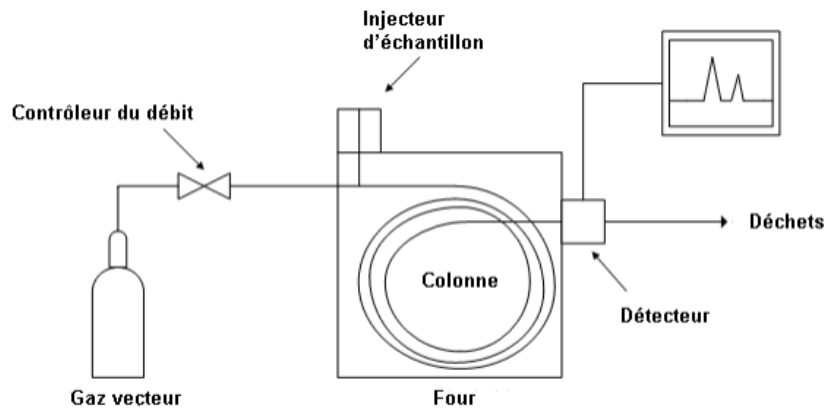


Figure III.11 : Schéma simplifié de la chromatographie en phase gazeuse [115].

III.2.3.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM)

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

Le principe de cette méthode consiste à transférer par le gaz vecteur (phase mobile) les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs bibliothèques de référence permet son identification à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques, dans des conditions opératoires comparables [116].

III.2.3.4. Chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC [117]

La chromatographie est une technique permettant la séparation de composés d'un mélange afin de les identifier et permettre leur quantification. Une bonne chromatographie permet ainsi de mettre en évidence les différents composés présents ainsi que leur concentration. Pour cela l'échantillon à analyser est associé à un solvant puis traverse sous pression une colonne contenant ce que l'on appelle la phase stationnaire, un gel qui a la propriété de retenir les molécules qui le traversent. En fonction de l'affinité qu'il y'a entre les composés de

Chapitre III : Méthodes d'extraction et caractérisations des HE

l'échantillon à analyser et la phase stationnaire, ces composés seront retenus plus ou moins longtemps dans la colonne avant d'en sortir et d'être mesurés. Un détecteur suit en continu le liquide à la sortie de la colonne afin de détecter la présence des composés. Différents types de détecteurs peuvent être utilisés, le plus courant étant un spectrophotomètre UV-visible, qui mesure l'absorption de la lumière par le produit.

Les composés étant retenus plus ou moins longtemps à l'intérieur de la colonne, une bonne chromatographie (choix des bons solvants et phase stationnaire) fera sortir les composés les uns après les autres avec assez d'espace entre eux pour qu'ils soient bien repérables. En traçant dans le temps les résultats du détecteur à la sortie de la colonne, on obtient ainsi un graphique sur lequel apparaissent différents pics représentant chacun un composé donné. L'aspect de ces pics, leurs largeurs, leurs hauteurs, leurs courbures nous renseignent aussi sur la concentration des composés analysés.

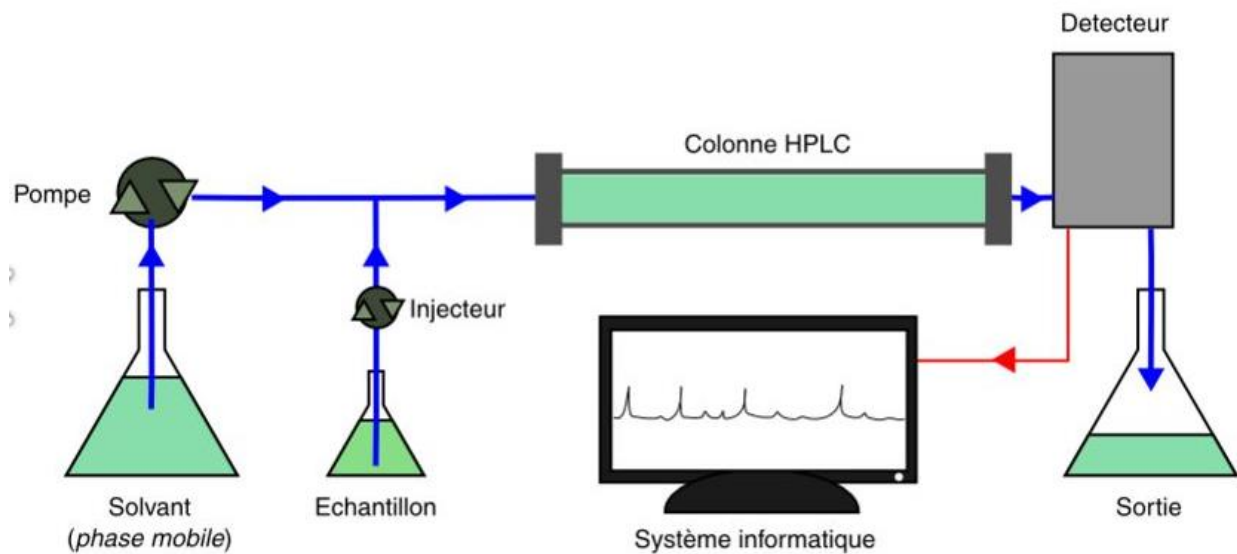


Figure III.12 : Fonctionnement schématique d'une chromatographie HPLC [118].

Chapitre IV

Matériels et méthodes

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1. Objectif

L'objectif de notre étude est d'extraire l'HE du romarin frais et sec durant deux saisons (printemps et été) et de deux régions différentes et ceci afin de les comparer par leurs propriétés physiques, organoleptiques et leurs rendements. Ainsi qu'un extrait de l'HE commercial a été pris en compte dans l'intention de mesurer sa densité, son indice de réfraction et son profil chromatographie ; ce dernier sera comparé avec les extraits obtenus. Selon l'objectif visé, la pratique était réalisée au niveau du laboratoire pédagogique de Génie Pharmaceutique de l'université A. MIRA – BEJAIA.

IV.2. Matériels

IV.2.1. Appareillages et produits chimiques

❖ Appareillage

- ❖ Chauffe ballon.
- ❖ Ballon d'un litre.
- ❖ Réfrigérant à eau coudé et tuyaux.
- ❖ Ampoule à décanter.
- ❖ Becher.
- ❖ Pompe à eau.
- ❖ Un entonnoir.
- ❖ Pissette.
- ❖ Réservoir d'eau.
- ❖ Tubes à essai.
- ❖ Pipettes pasteur.
- ❖ Support élévateur.
- ❖ Potence noix et pinces.
- ❖ Balance.
- ❖ Filtre seringues 0,45µm.
- ❖ Chromatographie liquide à haute performance HPLC (type HPLC-RP-C18).
- ❖ Pycnomètre.
- ❖ Refractomètre d'Abbe.

❖ Produits chimiques

- ❖ Eau distillée.
- ❖ Méthanol HPLC.
- ❖ Acide acétique.
- ❖ Ethanol.

IV.2.2. Matériel végétal

La récolte du romarin a été effectuée au mois de mai et juillet de l'année 2021 au niveau des régions d'EL KSEUR et d'AKBOU qui se trouvent dans la wilaya de Bejaia. La récolte a été effectuée sur les parties aériennes (les feuilles) de la plante.

Pour l'ensemble de nos expérimentations, nous avons utilisé approximativement 7 kg de matière végétale fraîche.

Chapitre IV : Matériels et méthodes

Des échantillons ont été conservés à l'état frais afin de pouvoir déterminer le taux d'humidité et le rendement en HE. Tout le reste de la récolte a été séché à l'air libre dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Par la suite, les feuilles du romarin ont été conservées dans des sacs en papier.

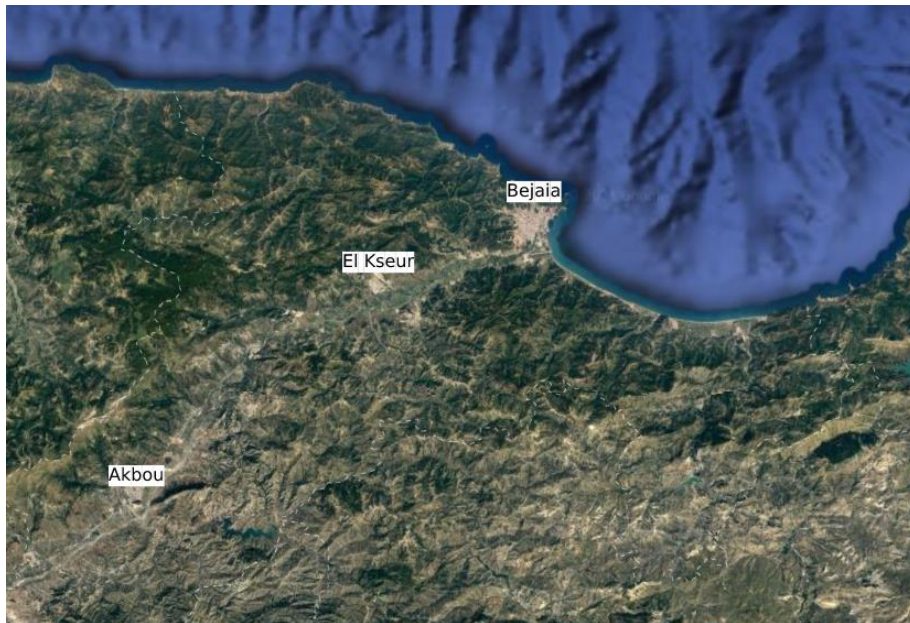


Figure IV.1 : Image satellite montre les deux localités des plantes recueillies [119].



Figure IV.2 : Feuilles du romarin frais et sec.

IV.3. Méthodes

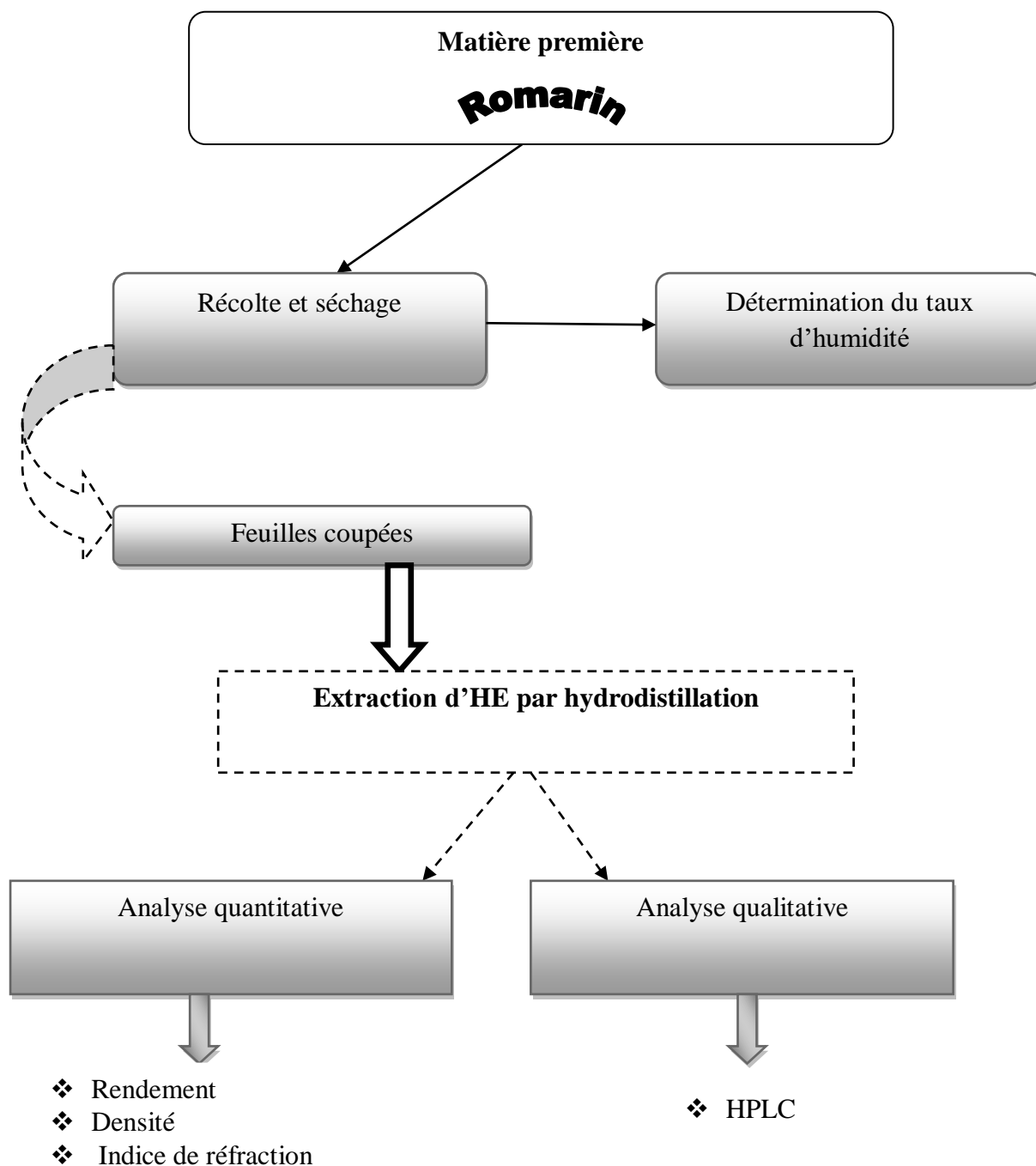


Figure IV.3 : Schéma synoptique du protocole expérimental.

IV.3.1. Extraction de l'HE du romarin

Il existe plusieurs procédures d'extractions des HE, parmi elles : l'entraînement à la vapeur d'eau, l'enflourage, l'hydrodistillation, l'extraction par gaz supercritique, le chauffage aux micro-ondes, etc.

Chapitre IV : Matériels et méthodes

L'extraction d'HE du romarin a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation.

❖ Hydrodistillation

Dans un ballon d'une capacité d'un litre, on introduit différentes quantités de matière végétale (feuilles du romarin). Puis, on ajoute un volume d'eau qui correspond à 600ml. Ensuite, Ce dernier avec son contenu a été mis sur le chauffe-ballon et l'adapter à l'appareil de condensation et on alimente le réfrigérant en eau froide (alimentation de l'eau à contre-courant dans le réfrigérant).

La vapeur chargé d'HE arrive dans le réfrigérant où elle se condense. La durée totale de l'extraction est estimée à 1 h30 (jusqu'à ce qu'on obtienne plus d'HE). Après la condensation l'HE et l'hydrolat (eau aromatique) se versent dans un ballon où ils forment deux couches non miscibles et bien distinctes en fonction de leurs différentes densités et couleurs. On la sépare de celui-ci par décantation. Elle est ensuite récupérée et conservée dans des flacons de couleur brune, hermétiquement fermés et stockés dans un endroit frais et sec à l'abri de la lumière.



Figure IV.4 : Montage de l'hydrodistillation.

IV.3.2. Décantation de l'HE

L'opération de décantation a été effectuée à l'aide d'une ampoule à décanter, dans laquelle on verse le mélange de deux phases. Par la suite, on laisse le mélange hétérogène se décanter jusqu'à l'obtention de deux phases distinctes ; la phase supérieure dite organique comporte l'HE et la phase inférieure correspond à la phase aqueuse.



Figure IV.5 : Montage de la décantation.

L'HE recueillie puis conservée dans des flacons en verre brun hermétiquement fermés à l'abri de la lumière et un endroit frais et sec en vue de leurs utilisations.



Figure IV.6 : Type de flacon de conservation d'HE.

IV.3.3. Caractérisation des HE extraites

Les HE doivent répondre à des caractéristiques analytiques qui sont établies par des commissions nationales et internationales d'experts. Selon les normes, chaque HE est caractérisée par ses caractères organoleptiques et ses propriétés physicochimiques pour connaître la qualité de l'HE étudiée.

IV.3.3.1. Caractères organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) sont des indications qui permettent d'évaluer initialement la qualité d'une HE. Mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une HE et sa valeur commerciale sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques.

❖ Odeur

L'odeur est un sens chimique très sensible et l'habileté des parfumeurs à classer et caractériser des substances chimiques parvient à doser les produits naturels. Leur perception peut aller jusqu'à dix millièmes de grammes par litre d'air

❖ Couleur

La coloration d'une HE dépend des produits qui la constituent.

❖ Aspect

L'aspect d'une essence végétale change selon les produits qui la constituent, cette essence peut apparaître sous forme solide, liquide, ou semi-solide.

IV.3.3.2. Détermination des propriétés physiques

IV.3.3.2.1. Rendement d'extraction

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en HE (noté R(%)) est défini comme étant le rapport entre la masse de l'HE obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M).

Le rendement est exprimé en pourcentage, il est donné par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{M'}{M} * 100$$

R : Rendement en HE en %.

M' : Masse d'HE en gramme.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

IV.3.3.2.2. Calcul de la densité

La densité relative de l'HE est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile à 20°C et la masse d'un égal volume d'eau distillée à 20°C.

Mode opératoire

Le pycnomètre de 5 ml vide est pesé sur une balance et sa masse est notée m_0 à une température de 20°C. Ensuite, le pycnomètre est rempli d'eau distillée en ajustant au trait de jauge et est pesé (m_1). Après que le pycnomètre soit rincé et séché, il est rempli avec de l'HE et est pesé (m_2).



Figure IV.7 : Pycnomètre.

La densité est donnée par l'expression suivante :

$$d_4^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m_0 : masse du pycnomètre vide en (g).

m_1 : masse du pycnomètre + eau en (g).

m_2 : masse du pycnomètre + huile essentielle en (g).

Si l'expérience est effectuée à une température T, un facteur de correction selon la norme AFNOR NF- T 75- 111 est introduit selon la relation suivante :

$$d_4^{20} = d_4^T + 0,0007(T - 20)$$

Où T : température ambiante au moment de la manipulation en °C.

IV.3.3.2.3. Indice de réfraction

L'indice de réfraction relie le sinus de l'angle d'incidence à celui de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante. La valeur affichée correspond à celle de l'indice de réfraction, noté n_D^{20} . L'indice de réfraction d'une matière est un nombre qui caractérise le pouvoir qu'a cette matière à ralentir et à dévier la lumière. Plus la lumière est ralentie, plus la matière a un indice de réfraction élevé. Les mesures sont effectuées à l'aide d'un réfractomètre d'ABBE.

Si l'expérience est effectuée à une température T, un facteur de correction selon la norme AFNOR NF- T 75- 112 est introduit selon la relation suivante :

$$n_D^{20} = n_D^T + 0,0004(T-20)$$

Avec :

n_D^{20} : Indice de réfraction à température 20°C.

n_D^T : Indice de réfraction à la température de l'expérience T.

T : Température de l'expérience en °C.

Mode opératoire

Les indices de réfraction sont mesurés à l'aide d'un réfractomètre d'Abbe à la température de chambre dont la procédure est :

D'abord, régler le réfractomètre en mesurant l'indice de réfraction de l'eau distillée qui doit être de 1,3356 à 20°C. Ouvrir le prisme secondaire et déposer 2 ou 3 gouttes de l'échantillon liquide sur la partie centrale du prisme principal et fermer ensuite doucement le prisme secondaire puis l'échantillon s'étale entre le prisme principal et le prisme secondaire en un film mince. Enfin, attendre que la température soit stable et effectuer la mesure.



Figure IV.8 : Réfractomètre d'Abbe.

IV.3.3.2.4. Calcul du taux d'humidité

L'humidité est une perte de la masse d'eau lors du séchage de la matière végétale, jusqu'à l'obtention d'un poids constant [120].

$$H(\%) = \frac{m - m'}{m} * 100$$

m : Masse de l'échantillon avant séchage.

m' : Masse de l'échantillon après séchage.

IV.4. Analyse chromatographique des HE

La séparation et l'identification des constituants des HE ont été réalisées par HPLC (chromatographie en phase liquide haute performance ou haute pression). Le besoin d'identifier les composés individuels dans les échantillons exige le remplacement des méthodes traditionnelles par des techniques séparatives. L'HPLC est sans doute la technique analytique très puissante qui permet de caractériser les composés polyphénoliques [121].

IV.4.1. Préparation des échantillons

Chapitre IV : Matériels et méthodes

Afin de réaliser cette analyse, les étapes suivantes ont été effectuées :

- ❖ Dilution des HE : dans des tubes à essais et à l'aide d'une pipette on prélève un volume d'extrait d'HE du romarin obtenu par les échantillons récoltés au mois de mai (RAF, RAS, REF, RES et RC) en ajoutant un volume d'éthanol jusqu'à ce que le mélange soit homogène.
- ❖ Préparation des standards (Rutine, Quercétine et Catéchine) : 0,1mg de ces étalons est introduit dans des fioles jaugées de 25ml et compléter jusqu'au trait de jauge par du méthanol HPLC.
- ❖ Filtration : on filtre les extraits (HE et les standards) par des filtres seringues 0.45µm.
- ❖ Remplir les vials de 20 µl par ces extraits préparés pour les analyser par HPLC.

IV.4.2. Préparation de la phase mobile

En HPLC la composition de la phase mobile est primordiale pour favoriser les interactions avec la colonne ou au contraire favoriser l'élution des composés ; les appareils d'HPLC peuvent soit maintenir la composition de la phase mobile durant toute l'analyse : mode isocratique, soit faire évoluer sa composition au cours de l'analyse : mode gradient.

La phase mobile est constituée d'un mélange de trois éluants : l'eau distillée, méthanol HPLC, acide acétique (50% ; 47% ; 2,5%) qui correspond aux volumes suivants : 250ml d'eau distillée, 235ml de méthanol HPLC et enfin 12,5ml d'acide acétique et le tout est mélangé dans une fiole de 500ml.

Cette phase a été filtrée par papier filtre avant de la verser dans la cuve chromatographique qui a été fermée afin d'éviter l'évaporation des solvants.

IV.4.3. Protocole expérimental [122]

L'analyse par HPLC a été réalisée selon le protocole suivant :

Un volume de 20 µl de chaque extrait est injecté dans une colonne de type phase inverse C18, de dimensions égales à 125 x 4,6 mm. La phase mobile est constituée de trois éluants : l'eau distillée, méthanol HPLC, acide acétique (50% ; 47% ; 2,5%). Le gradient d'élution appliqué est de type isocratique étalé sur 10 min. Le débit est de 1 ml / min. La détection a été effectuée par un détecteur UV-Vis à une longueur d'onde égale à 254 nm.

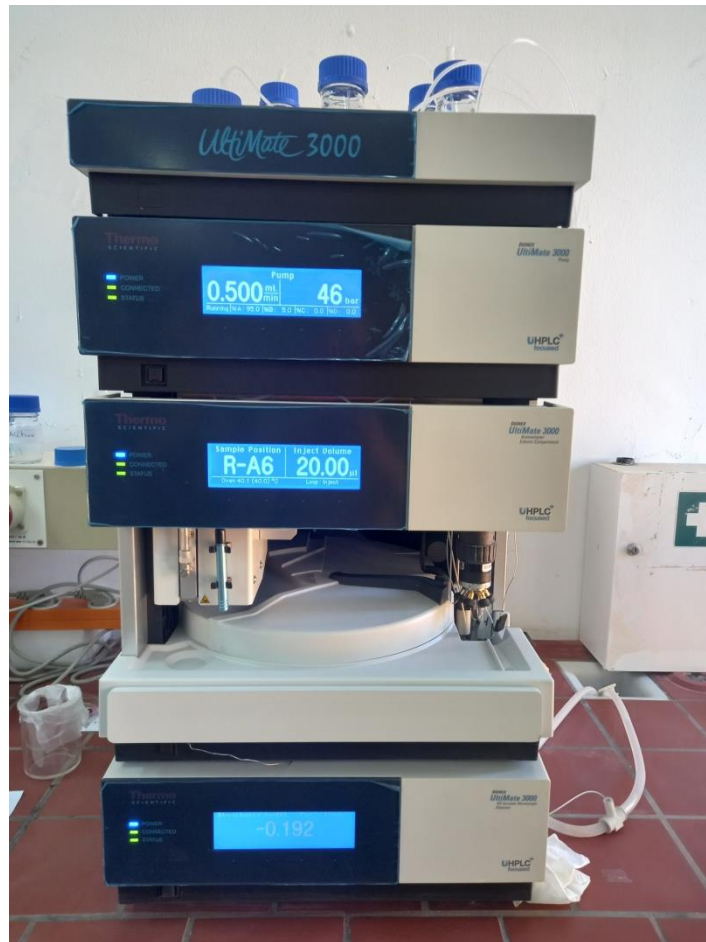


Figure IV.9 : Appareillage HPLC.

Chapitre V

Résultats et discussions

Chapitre V : Résultats et discussions

Dans le présent chapitre, nous représenterons les principaux résultats expérimentaux obtenus relatifs au chapitre IV ainsi que leurs discussions. Cette représentation portera les aspects qui seront développés et qui sont le taux d'humidité, le rendement, les propriétés physiques, les caractéristiques organoleptiques et l'analyse qualitative HPLC, mettons en évidence les effets de séchage, de région et de saison, et il faut citer qu'un échantillon d'extrait de l'HE commercial a été pris en considération afin de comparer son profil chromatographique de même que ses caractéristiques physico-chimiques avec les extraits obtenus.

V.1. Taux d'humidité de la plante fraîche

Dans ce qui suit, sont présentés et discutés les résultats expérimentaux relatifs au taux d'humidité et de masse végétale.

Le matériel végétal (feuille fraîche du romarin de la région d'Akbou récolté au mois de juillet 2021) a été pesé et séché à température ambiante et à l'abri de la lumière et dans des endroits bien aérés et secs.

La détermination du taux d'humidité a été calculée en utilisant la formule citée dans le chapitre IV (voir Tableau V.1).

L'évolution du taux d'humidité (H(%)) et de la masse végétale (Mv(g)) au cours du séchage de *Rosmarinus Officinalis* L. (feuilles fraîches) ont été évaluées pendant une période de 8 jours. Les résultats obtenus sont rapportés dans le Tableau V.1 et la Figure V.1.

Tableau V.1 : Evolution du taux d'humidité et de la masse végétale du romarin au cours de séchage pendant une période de 8 jours.

Temps (jours)	1	2	3	4	5	6	7	8
Mv(g)	180	152	133	121	113	108	108	108
H(%)	0	15,55	26,11	32,77	37,22	40	40	40

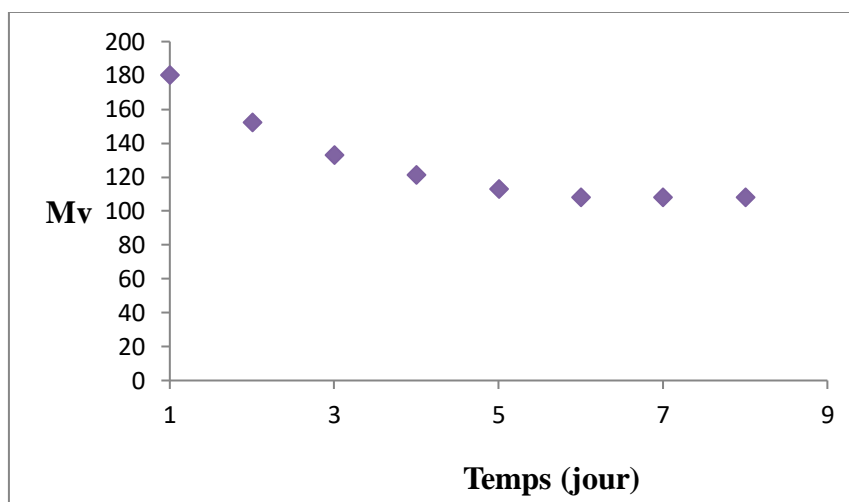


Figure V.1: Illustration de l'évolution de la masse végétale au cours du séchage.

En étudiant le graphique de la Figure V.1 (Masse végétale en fonction du temps) et les résultats du tableau V.1, nous constatons qu'à température ambiante, il a fallu une durée de 6 jours pour avoir une stabilisation de la masse végétale, qui est 108g de feuilles fraîches, et du taux d'humidité de 40%. Toutefois, le séchage a été poursuivi jusqu'à une durée de 8 jours pour assurer une parfaite stabilité.

La Figure V.2 montre la teneur en humidité et en matière sèche de *Rosmarinus Officinalis*, suite aux analyses de notre échantillon. Les statistiques révèlent un taux d'humidité de 40%. Cela signifie donc que plus de la moitié du poids de la plante est constitué de matière sèche.

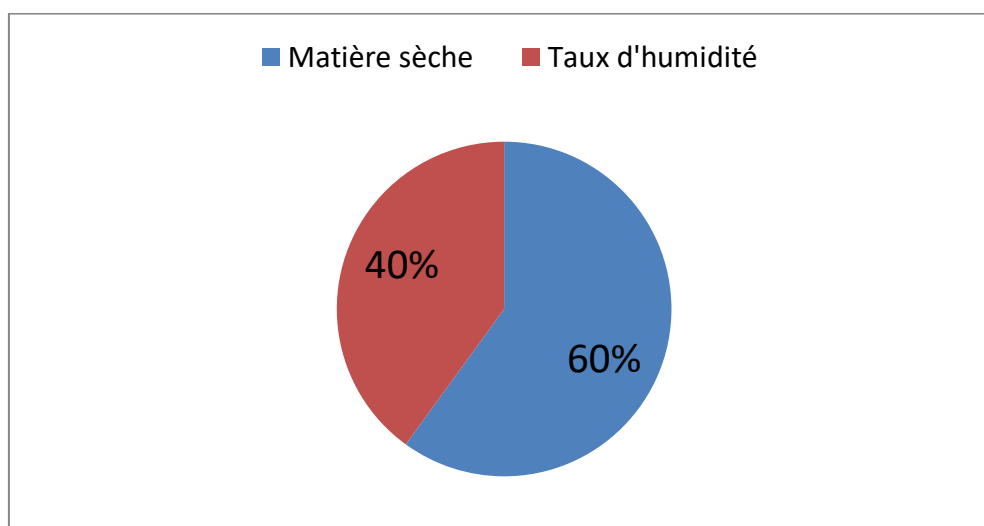


Figure V.2 : Taux d'humidité et en matière sèche du *Rosmarinus Officinalis* de la région d'Akbou récolté au mois de juillet 2021.

Chapitre V : Résultats et discussions

Le taux d'humidité de notre plante est de 40%, ce résultat est supérieur par rapport à celui trouvé par (Makhloufi ; 2011) qui a obtenu un taux d'humidité de 28.17% pour l'espèce *Rosmarinus Officinalis L.* provenant de la région de Béchar. Selon le même auteur, la différence marquée entre le taux d'humidité est probablement due à la région de récolte de la plante car les plantes cultivées dans les régions tempérées comme le sud Algérien a un taux d'humidité plus faible par rapport aux plantes cultivées dans le nord.

V.2. Extraction de l'HE du romarin

L'extraction de l'HE de romarin a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation afin d'évaluer le rendement, les caractéristiques et la qualité des extraits obtenus.

V.2.1. Extraction par hydrodistillation

Les essais d'extraction des HE par hydrodistillation sont conduits suivant la procédure expérimentale décrite dans le chapitre IV. L'évolution du rendement en fonction du rapport masse végétale/masse d'eau (M_v/M_e) (exprimé en pourcentage) est illustrée et représentée dans les tableaux et les courbes suivantes. Les effets de séchage, de région et de saison sont mis en évidence.

V.2.1.1. Effet de séchage

Le séchage est un paramètre important dans l'extraction des HE. Ce paramètre a été étudié dans des conditions de température ambiante dans un endroit frais et sec à l'abri de la lumière. Les rendements (R (%)) ont été déterminés par rapport à des masses variables du matériel végétal, sec ou frais, récolté aux mois de mai et juillet 2021, dans deux régions différentes de la wilaya de Bejaia. Les résultats obtenus sont illustrés dans les tableaux et figures suivantes.

Le tableau V.2 et la figure V.3 présentent l'évolution du R (%) en fonction de M_v/M_e de RAMF et RAMS.

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau V.2 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAMF et RAMS.

Etat Echantillon	Frais		Sec	
	R%	Mv/Me	R%	Mv/Me
Akbou (Mai)	0,00	0,1	0,64	0,167
	0,08	0,13	0,875	0,2
	0,15	0,16	1,19	0,23
	0,26	0,2	1,02	0,25
	0,38	0,25	0,91	0,28
	0,56	0,3		
	0,46	0,375		

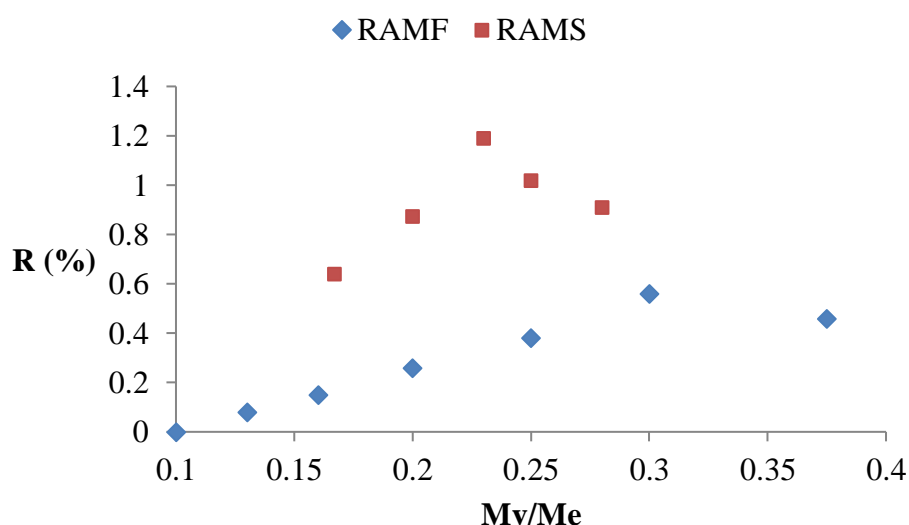


Figure V.3 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de RAMF et RAMS.

Le Tableau V.2 et la Figure V.3 montrent l'évolution du rendement en fonction de (Mv/Me). En analysant les résultats obtenus, nous avons constaté pour le RAMF, une augmentation progressive du rendement avec le rapport (Mv/Me) de 0,1 à 0,3. Ces résultats montrent également qu'au-delà d'un rapport Mv/Me de 0,3, nous observons une diminution du rendement. Comme nous pouvons constater que le rendement de RAMS augmente avec le rapport Mv/Me de 0,167 à 0,23 et diminue lorsque ce dernier dépasse 0,23.

Notons que le rendement optimal obtenue de RAMS est de 1,19% pour une masse végétale de 140g/600g d'eau, et le R(%) optimal de RAMF est de 0,56% pour une masse végétale de 180g/600g d'eau. Nous pouvons également voir dans la Figure V.3 que toutes les valeurs des R(%) de RAMS sont plus grandes que les valeurs des R(%) de RAMF. Cela signifie donc que le R(%) du romarin récolté au mois de mai dans la région d'Akbou est meilleur à l'état sec.

Chapitre V : Résultats et discussions

Nous allons à présent étudier le rendement pour l'autre échantillon REMF et REMS. Le tableau V.3 et la Figure V.4 montrent l'évolution du rendement en fonction de (Mv/Me).

Tableau V.3 : Rendements en fonction des Mv/Me de REMF et REMS.

Etat Echantillon	Frais		Sec	
	R%	Mv/Me	R%	Mv/Me
El kseur (Mai)	0,1	0,1	0,33	0,11
	0,17	0,116	0,29	0,2
	0,24	0,13	0,21	0,26
	0,39	0,15		
	0,325	0,2		

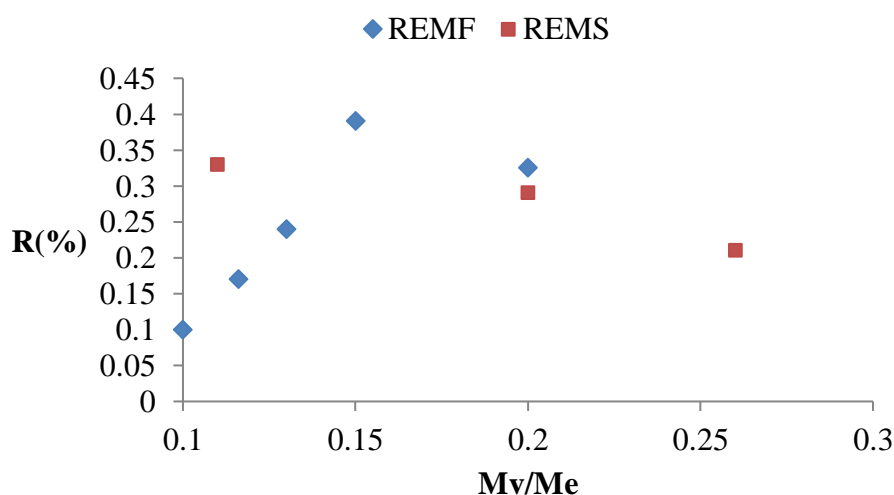


Figure V.4 : Evolution du rendement en fonction de (Mv/Me) de REMF et REMS.

Les résultats ci-dessus montrent que le R(%) de REMF augmente avec le rapport Mv/Me de 0,1 à 0,15, et qu'il diminue lorsque ce rapport dépasse 0,15. Dans le cas du REMS, nous observons, en revanche, une diminution directe du rendement avec l'augmentation du Mv/Me de 0,11 à 0,26.

Notons également que le R(%) optimal d'échantillon REMF est de 0,39%. Ceci correspond à une masse végétale de 90g/600_g d'eau.

Cette étude a donc montré que pour les petites masses végétales, le R(%) du romarin d'El kseur est meilleur à l'état sec. Par contre, à mesure que la masse végétale augmente, le R(%) du romarin d'El kseur devient meilleur à l'état frais.

Chapitre V : Résultats et discussions

Après avoir étudié le rendement des plantes récoltées au mois de mai 2021, nous allons maintenant étudier le rendement à partir des échantillons de plantes récoltées du mois de juillet 2021. Le Tableau V.4 et la Figure V.5 montrent l'évolution du rendement en fonction de la masse végétale (Mv/Me) pour le RAJF et RAJS.

Tableau V.4 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAJF et RAJS.

Etat Echantillon	Frais		Sec	
	R%	Mv/Me	R%	Mv/Me
Akbou (Juillet)	0,24	0,13	0,69	0,16
	0,32	0,16	0,91	0,2
	0,38	0,2	1,25	0,25
	0,572	0,25	1,00	0,28
	0,5	0,28		

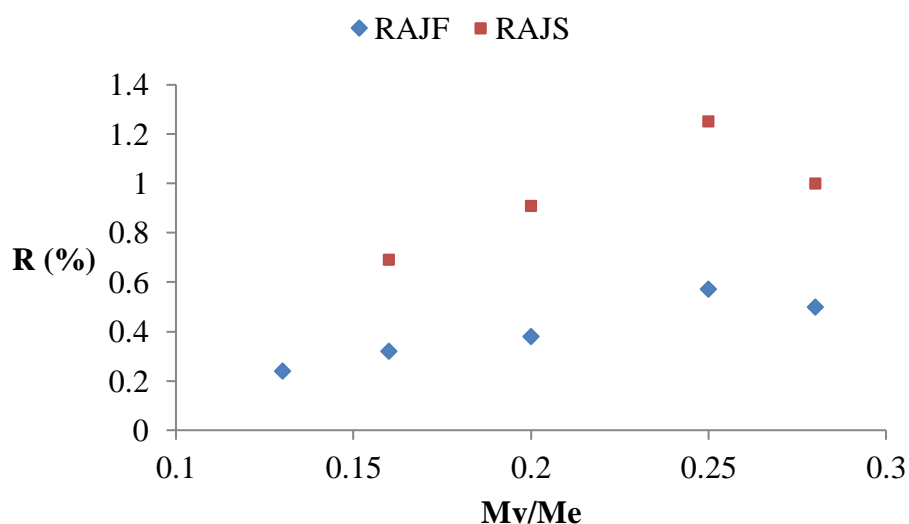


Figure V.5 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me du RAJF et RAJS.

On observe à partir du tableau V.4 et de la figure V.5 que le R(%) de RAJF varie avec le rapport Mv/Me de 0,13 à 0,25, et le R(%) de RAJS est proportionnellement avec le rapport Mv/Me qui varie de 0,16 à 0,25. Enfin, le R(%) diminue lorsque le rapport Mv/Me varie de 0,25 à 0,28.

Le rendement optimal 1,25% correspond à l'échantillon de RAJS pour une masse végétale de 150g. Pour une même masse végétale de RAJF nous obtenons le R(%) optimal qui est de 0,572%. Nous pouvons voir aussi dans la Figure V.5 que toutes les valeurs de rendements RAJS sont plus grandes que les valeurs de rendements RAJF. Ainsi, le R(%) du romarin récolté au mois de juillet dans la région d'Akbou est meilleur à l'état sec. Ce qui montre bien

Chapitre V : Résultats et discussions

que ces résultats obtenus pour le mois de juillet sont cohérents avec ceux obtenus pour le mois de mai.

Le Tableau V.5 et la Figure V.6 montrent l'évolution du R(%) en fonction de (Mv/Me) pour le REJF et REJS.

Tableau V.5 : Rendements en fonction des Mv/Me de REJF et REJS.

Etat Echantillon	Frais		Sec	
	R%	Mv/Me	R%	Mv/Me
El kseur (Juillet)	0,20	0,11	0,71	0,11
	0,35	0,15	0,56	0,2
	0,73	0,2	0,42	0,27
	0,58	0,25		

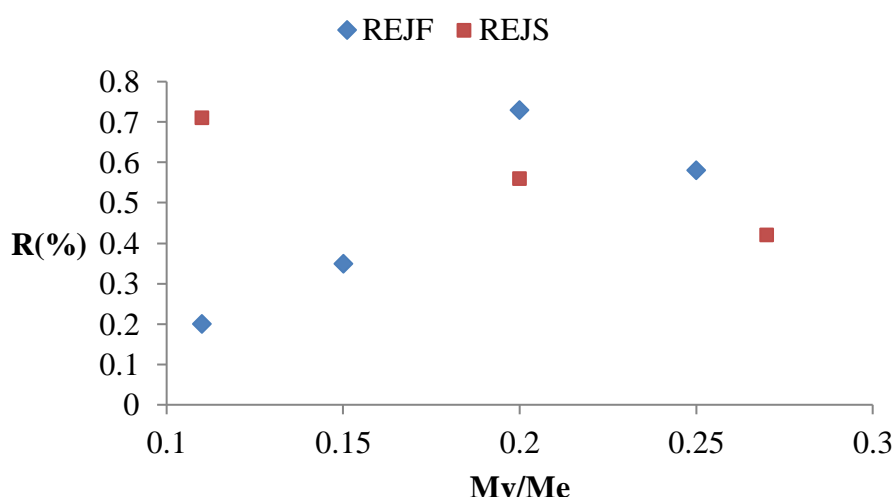


Figure V.6 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me du REJF et REJS.

Les résultats obtenus ci-dessus montrent que le R(%) du REJF reste meilleur. Nous avons observé que le R(%) augmente avec la masse jusqu'à atteindre un R(%) de 0,73% optimal correspondant à une masse végétale de 120g. Au-delà, le R(%) diminue. Dont le REJS nous avons observé que les petites masses donnent un meilleur R(%). En effet, avec une masse de 70g de matière végétale, nous avons obtenu une masse de 0,497g d'HE, ce qui représente un rendement de (0,71%).

Chapitre V : Résultats et discussions

Ainsi, nous observons le même comportement qu'avec l'échantillon du mois de mai. C'est-à-dire que pour des petites masses végétales, le rendement du romarin d'El kseur est meilleur lorsqu'il est sec. Par contre, lorsque la masse végétale augmente, le rendement du romarin d'El kseur est meilleur lorsqu'il est frais.

En conclusion, nous avons observé à travers notre étude que le R(%) du romarin récolté aux mois de mai et juillet dans la région d'Akbou est meilleur lorsqu'il est sec.

Il est également intéressant de noter que pour des petites masses végétales, le R(%) du romarin provenant d'El kseur est meilleur lorsqu'il est sec. Par contre, dans le cas du romarin frais, lorsque la masse végétale augmente, le rendement du romarin provenant d'El kseur est meilleur, et ce pour le mois de mai et juillet.

V.2.1.2. Effet de région

La région géographique est un facteur influençant le rendement en HE [123]. Nous rappelons que le romarin utilisé dans notre étude est collecté dans deux régions différentes en termes de climat et de sol, qui sont encore deux autres facteurs qui influencent le rendement.

Le Tableau V.6 et la Figure V.7 présentent l'évolution du R(%) en fonction de Mv/Me de RAMF et REMF.

Tableau V.6 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAMF et REMF.

Etat Echantillon	Akbou		El kseur	
	R%	Mv/Me	R%	Mv/Me
Frais (Mai)	0,00	0,1	0,1	0,1
	0,08	0,13	0,17	0,116
	0,15	0,16	0,24	0,13
	0,26	0,2	0,39	0,15
	0,38	0,25	0,325	0,2
	0,56	0,3		
	0,46	0,375		

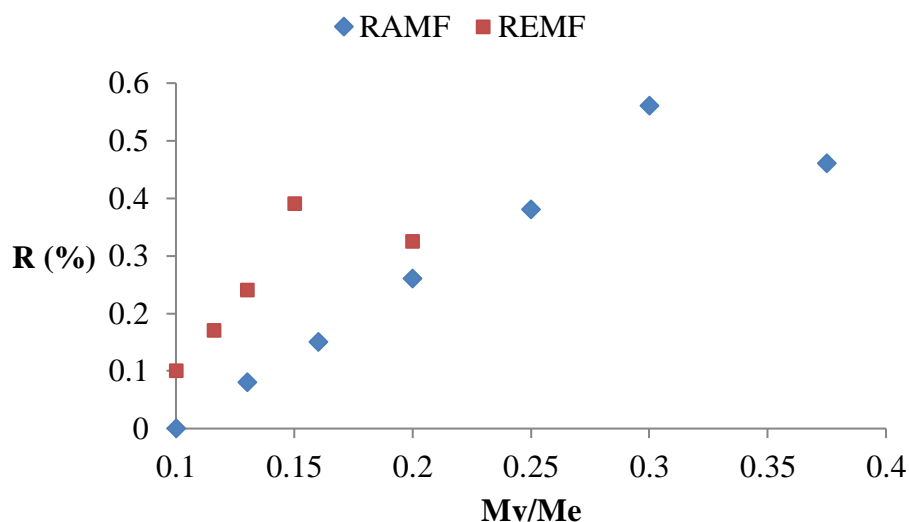


Figure V.7 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me du RAMF et REMF.

Deux phases sont observées dans la figure V.7. La première allant de 0,1 à 0,16 (Mv/Me), on observe une croissance du R(%) proportionnellement à Mv/Me des deux échantillons RAMF et REMF, dans la seconde phase le R(%) de REMF atteint 0,39%, qui correspond à une masse végétale de 90g, au delà il diminue à mesure que la masse végétale augmente. En contrepartie, le R(%) de RAMF continue à accroître avec des masses plus importantes pour atteindre 0,56% correspondant à une masse de 180g.

Donc le romarin être issu d'El kseur récolté au mois de mai produit un meilleur rendement pour des faibles masses végétales, tandis que le romarin être issu d'Akbou récolté au mois de mai produit le meilleur rendement lorsque la masse végétale est importante.

L'évolution du R(%) en fonction de (Mv/Me) du RAMS et REMS est illustrée dans le Tableau V.7 et la Figure V.8.

Tableau V.7 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAMS et REMS.

Etat Echantillon	Akbou		El kseur	
	R%	Mv/Me	R%	Mv/Me
Sec (Mai)	0,64	0,167	0,33	0,11
	0,875	0,2	0,29	0,2
	1,19	0,23	0,21	0,25
	1,02	0,25		
	0,91	0,28		

Chapitre V : Résultats et discussions

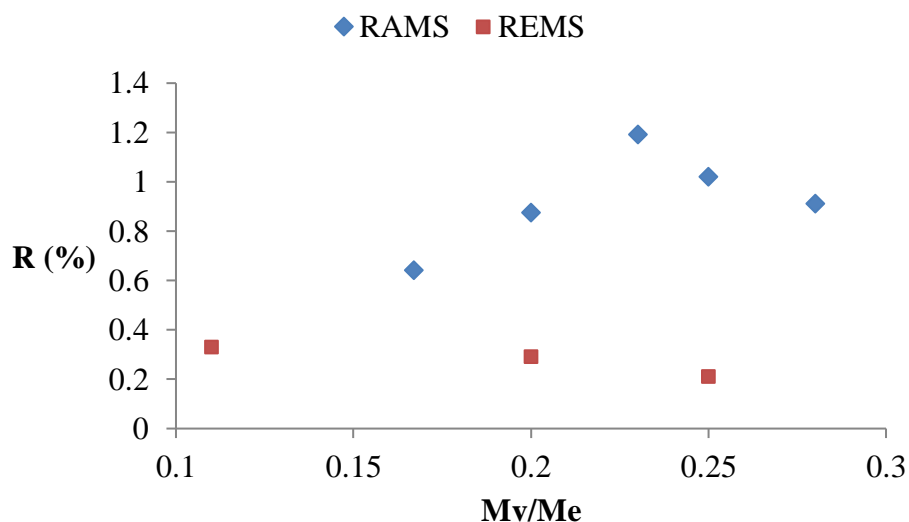


Figure V.8 : Evolution du rendement fonction de Mv/Me de RAMS et REMS.

A partir du tableau et de la figure ci-dessus on aperçu que le R(%) de RAMS augmente de 0,64% à 1,19% pour des masses allant de 100 à 140g, puis, diminue. Le rendement de REMS diminue de 0,33 jusqu'à 0,21% pour des masses allant de 70 à 150g.

Une masse de 150g du RAMS produit un rendement optimal de 1,19%. Sous les mêmes conditions le romarin REMS produit un rendement de 0,21%. La figure V.8 montre aussi que toutes les valeurs du R(%) du RAMS sont plus grandes que les valeurs de R(%) du REMS. Ainsi, le rendement du romarin sec récolté au mois de mai est meilleur dans la région d'Akbou, qui produit un rendement plus important.

Le Tableau V.8 et la Figure V.9 présentent l'évolution du rendement en fonction de (Mv/Me) de RAJF et REJF.

Tableau V.8 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAJF et REJF.

Etat Echantillon	Akbou		El kseur	
	R%	Mv/Me	R%	Mv/Me
Frais (Juillet)	0,24	0,13	0,20	0,11
	0,32	0,16	0,35	0,15
	0,38	0,2	0,73	0,2
	0,572	0,25	0,58	0,25
	0,5	0,28		

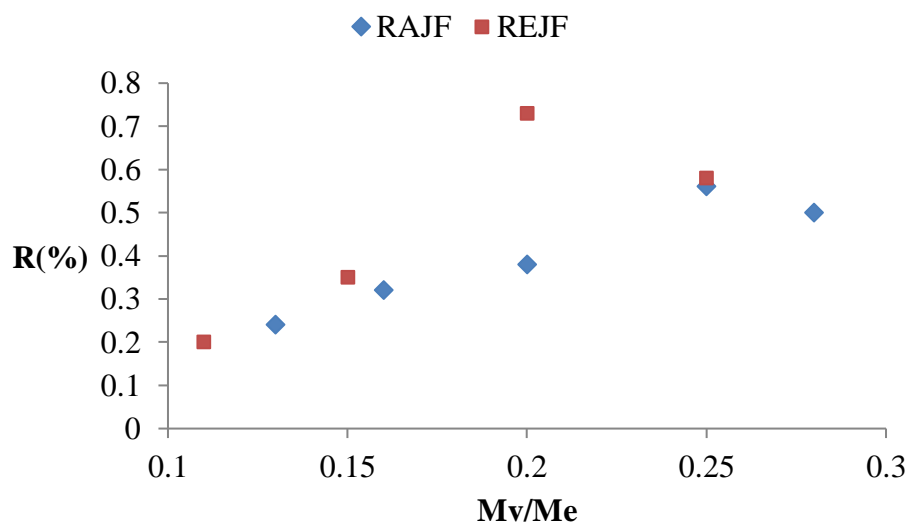


Figure V.9 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de RAJF et REJF.

Les résultats montrent que le R(%) du RAJF croit de 0,24% à 0,572 % pour des masses allant de 80 à 150g puis décroît pour atteindre à la fin de notre étude 0,5%. Ces résultats montrent également que le R(%) du REJF augmente de 0,2% à 0,73%, puis, diminue jusqu'à 0,58%.

Pour une masse végétale de 150g du romarin provenant d'El kseur (REJF), nous obtenons un rendement de 0,58%. Pour la même masse, le RAJF produit un R(%) de 0,572%, qui représente le rendement maximal dans le cas RAJF. Par contre, le rendement maximal du REJF est de 0,73% pour une masse de 120g. On observe aussi dans la figure V.9 que toutes les valeurs du rendement du romarin REJF sont plus grandes que les valeurs du rendement du RAJF.

Ce qui démontre que le rendement du romarin frais récolté au mois de juillet est meilleur dans la région d'El kseur. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus en mai, avec un meilleur rendement du romarin dans la région d'El kseur, même avec des masses plus importantes.

L'évolution du R(%) en fonction de (Mv/Me) de RAJS et REJS est illustrée dans le Tableau V.9 et la Figure V.10.

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau V.9 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAJS et REJS.

Etat Echantillon	Akbou		El kseur	
	R%	Mv/Me	R%	R%
Sec (Juillet)	0,69	0,16	0,71	0,11
	0,91	0,2	0,56	0,2
	1,25	0,25	0,42	0,27
	1,00	0,28		

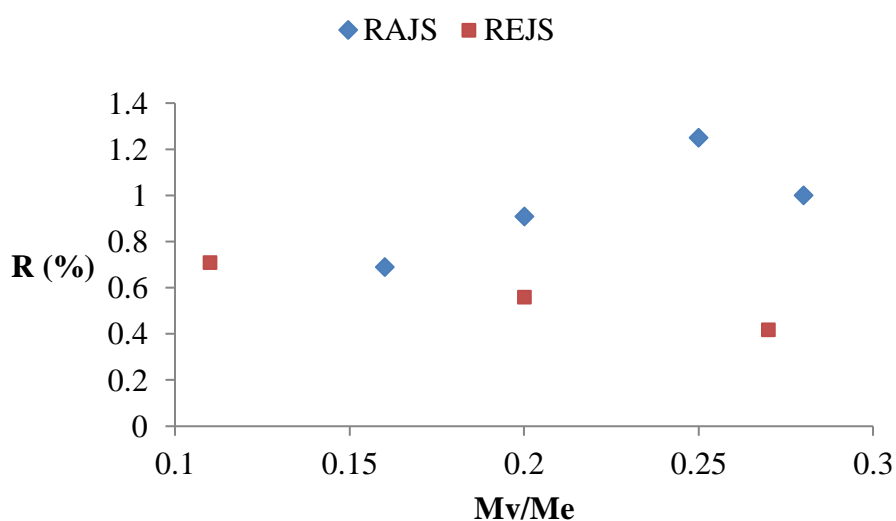


Figure V.10 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de RAJS et REJS.

En étudiant le Tableau V.9 et la Figure V.10, nous constatons que le R(%) du RAJS augmente de 0,69% à 1,25% pour des masses allant de 100 à 150g, puis, diminue jusqu'à 1,00%. En revanche, le R(%) du REJS diminue de 0,71% à 0,42% pour des masses allant de 70g à 160g.

Une masse de 120g du RAJS produit un rendement de 0,91%, en revanche le REJS produit un rendement de 0,56% pour une même masse végétale. Nous pouvons voir également dans la Figure V.10 que toutes les valeurs du rendement du RAJS sont plus grandes que les valeurs du rendement du REJS. De ce fait, le rendement du romarin sec au mois de juillet est meilleur dans la région d'Akbou.

En conclusion, nous avons observé à travers notre étude que le rendement du romarin frais récolté au mois de juillet est meilleur dans la région d'El kseur, alors que le rendement du romarin sec récolté aux mois de mai et juillet est meilleur dans la région d'Akbou.

Chapitre V : Résultats et discussions

Il est également intéressant de noter que pour des masses végétales moins importantes, le rendement du romarin frais est meilleur dans la région d'El kseur, pour les masses végétales plus importantes, le rendement du romarin frais provenant de la région d'Akbou est meilleur et ce pour le mois de mai.

V.1.1.3. Effet de saison

La meilleure saison de récolte du romarin est l'été, lorsque les principes actifs sont à leur maximum. Les feuilles se récoltent toute l'année mais c'est en été qu'elles sont les plus parfumées. Il faut donc les cueillir à cette période. Dans cette section, nous étudions l'effet de saison sur le rendement du romarin. Pour cela, nous analysons les rendements obtenus pour les mois de mai et de juillet 2021.

L'évolution du R(%) en fonction de Mv/Me de RAMF et RAJF est illustrée dans le Tableau V.10 et la Figure V.11.

Tableau V.10 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAMF et RAJF.

Etat Région	Frais (Mai)		Frais (Juillet)	
	R%	Mv/Me	R%	Mv/Me
Akbou	0,00	0,1	0,24	0,13
	0,08	0,13	0,32	0,16
	0,15	0,16	0,38	0,2
	0,26	0,2	0,572	0,25
	0,38	0,25	0,5	0,28
	0,56	0,3		
	0,46	0,375		

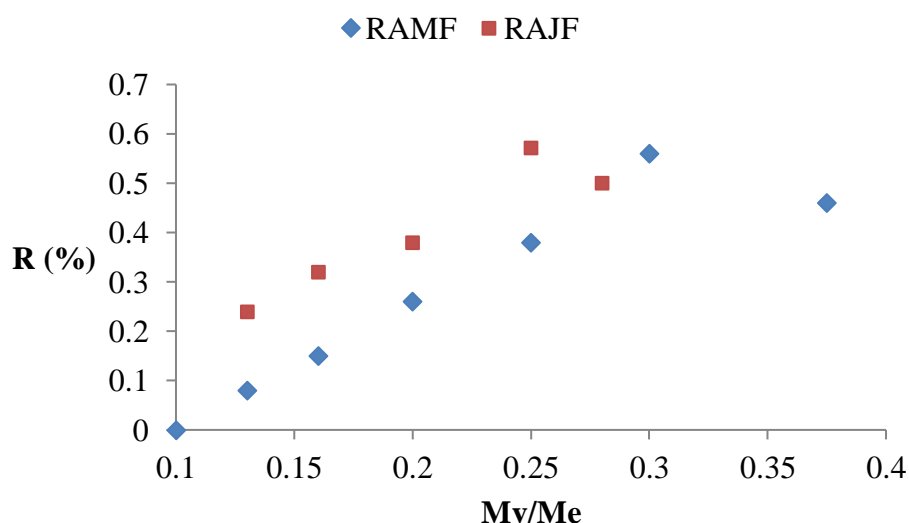


Figure V.11 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de RAMF et RAJF.

Chapitre V : Résultats et discussions

Comme nous pouvons le voir dans le Tableau V.10 et la Figure V.11, le R(%) du RAJF augmente de 0,24% à 0,572% pour des masses allant de 80g à 150g. Ce rendement diminue, ensuite, lorsque la masse végétale dépasse les 150g. Les résultats montrent également que le R(%) du RAMF augmente de 0% à 0,56% lorsque la masse végétale augmente de 60g à 180g, puis diminue jusqu'à 0,5%. Un rendement maximal de 0,572% est atteint pour une masse végétale de 150g du RAJF. Pour une même masse, le rendement du RAMF produit un rendement de 0,38%. On observe ainsi dans la Figure V.11 que toutes les valeurs du R(%) du RAJF sont en dessus des valeurs du R(%) du RAMF. Ce qui confirme que le rendement du romarin frais de la région d'Akbou est meilleur au mois de juillet.

L'évolution du R(%) en fonction de Mv/Me de RAMS et RAJS est représentée dans le Tableau V.11 et la Figure V.12.

Tableau V.11 : Rendements en fonction des Mv/Me de RAMS et RAJS.

Etat Région	Sec (Mai)		Sec (Juillet)	
	R%	Mv/Me	R%	Mv/Me
Akbou	0,64	0,167	0,69	0,16
	0,875	0,2	0,91	0,2
	1,19	0,23	1,25	0,25
	1,02	0,25	1,00	0,28
	0,91	0,28		

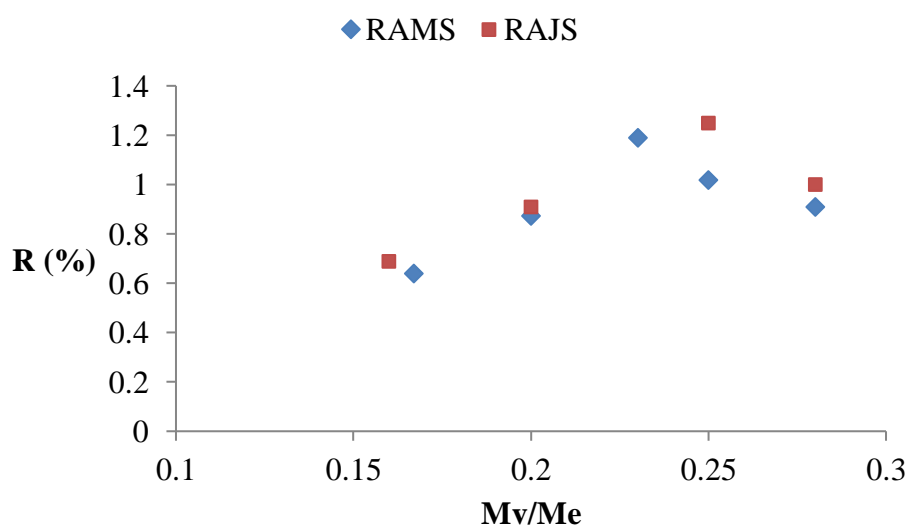


Figure V.12 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de RAMS et RAJS.

Chapitre V : Résultats et discussions

D'après les résultats exprimés dans le tableau et la figure ci-dessus, nous avons constaté une croissance du R(%) allant de 0,64% à 1,19% pour le RAMS avec le Mv/Me de 0,167 à 0,23. Au-delà de 0,23, une décroissance de R(%). Pour le RAJS, nous avons constaté une croissance du R(%) allant de 0,69 à 1,25% avec le rapport Mv/Me de 0,16 à 0,25. A partir de 0,25, le rendement diminue jusqu'à 1,00%.

La figure V.12 montre aussi que toutes les valeurs de rendements obtenus en juillet sont supérieures aux valeurs obtenus au mois de mai. Tous ces résultats montrent que le rendement du romarin sec de la région d'Akbou est meilleur lorsqu'il est récolté au mois de juillet.

Dans ce qui suit, nous étudions l'effet de saison sur le rendement du romarin de la région d'El kseur.

L'évolution du R(%) en fonction de Mv/Me de REMF et REJS est illustrée dans le Tableau V.12 et la Figure V.13.

Tableau V.12 : Rendements en fonction des Mv/Me de REMF et REJF.

Etat Région	Frais (Mai)		Frais (Juillet)	
	R%	Mv/Me	R%	Mv/Me
El kseur	0,1	0,1	0,20	0,11
	0,17	0,116	0,35	0,15
	0,24	0,13	0,73	0,2
	0,39	0,15	0,58	0,25
	0,325	0,2		

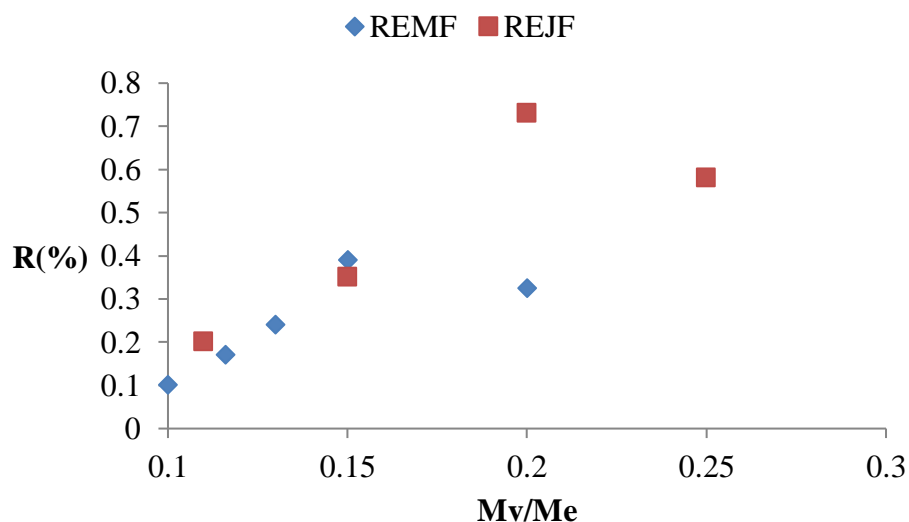


Figure V.13 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de REMF et REJF.

En étudiant le Tableau V.12 et le graphique de la Figure V.13, nous avons constaté pour le REMF une augmentation de R(%) de 0,1 à 0,39% avec le rapport Mv/Me de 0,1 à 0,15, au delà de 0,15, une diminution de R(%) était remarquée. De même, nous avons constaté pour le REJF qu'il y'a une augmentation du rendement de 0,2 à 0,73% lorsque le rapport Mv/Me est augmenté de 0,11 à 0,2. Au-delà de 0,2, le R(%) diminue jusqu'à 0,58%.

La Figure V. 13 montre aussi que toutes les valeurs du rendement du REJF sont supérieures à celles du REMF. Cela montre bien que le rendement du romarin frais de la région d'El kseur est meilleur au mois de juillet.

L'évolution du R(%) en fonction de Mv/Me de REMS et REJS est illustrée dans le Tableau V.13 et la Figure V.14.

Tableau V.13 : Rendements en fonction des Mv/Me de REMS et REJS.

Etat Région	Sec (Mai)		Sec (Juillet)	
	R%	Mv/Me	R%	Mv/Me
El kseur	0,33	0,11	0,71	0,11
	0,29	0,2	0,56	0,2
	0,21	0,26	0,42	0,27

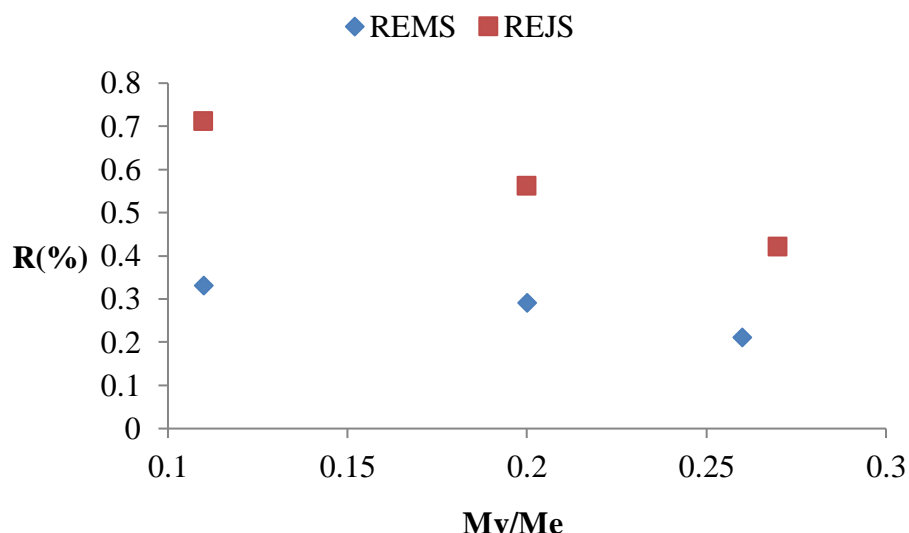


Figure V.14 : Evolution du rendement en fonction de Mv/Me de REMS et REJS.

Les résultats représentés dans le Tableau V.13 et la Figure V.14 montrent que le R(%) produit par le REMS est inversement proportionnel à le Mv/Me. Ces résultats montrent également une diminution du rendement produit par le REJS de 0,71% à 0,42%, pour des masses allant de 70g à 160g.

Pour une masse de 70g, le romarin sec provenant de la région El kseur récolté au mois de juillet (REJS) produit un rendement maximal de 0,71%, et le romarin récolté au mois de mai (REMS) produit un rendement maximal de 0,33%. Comme nous pouvons le voir sur la Figure V.14, toutes les valeurs du rendement du romarin récolté en juillet sont supérieures à celles du romarin récolté en mai. De ce fait, le rendement du romarin sec de la région d'El kseur est meilleur au mois de juillet. Tous ces résultats confirment ce que nous avons énoncé au début de cette section sur la qualité du romarin en été.

Les résultats représentés dans les tableaux et les figures précédentes nous ont permis de faire une comparaison entre les récoltes du mois de mai et de juillet dans les régions d'Akbou et d'El kseur, et nous arrivons à la conclusion que le meilleur rendement correspond à celui de juillet qu'il s'agisse de l'échantillon frais ou sec.

Les rendements (valeurs moyennes) en HE reportés dans le tableau V.14.

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau V.14 : Rendements moyens en l'HE du romarin.

Espèce	Région	Etat	Saison	Rendement (%)
Rosmarinus Officinalis L.	Akbou	Frais	Mai	0,317
			Juillet	0,4
		Sec	Mai	0,939
			Juillet	0,947
	El kseur	Frais	Mai	0,246
			Juillet	0,465
		sec	Mai	0,276
			Juillet	0,563

Les rendements moyens en HE ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Les échantillons de *Rosmarinus Officinalis* ont fourni des rendements (0,939%, 0,947%, 0,276%, 0,563% correspond respectivement aux RAMS, RAJS, REMS, REJS) ; Ils semblent bien plus important que celui rapporté par **Taleb-Toudert (2015)** qui est 0,2%. Cette différence dans les résultats est probablement due à l'origine de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements en HE.

Ainsi, **Williams et Lusunzi, 1994**, a démontré que la composition en HE, extraite par hydrodistillation, peut être influencée par la quantité en eau, mise dans le ballon de distillation, car certains composés tels que : le terpinèn-4-ol, l' α - terpinéol et le cinéol sont peu solubles dans l'eau.

V.3. Caractéristiques physiques des HE de *Rosmarinus Officinalis*

V.3.1. Détermination de la densité

La densité de l'HE du romarin cueilli au mois de juillet à 20°C, calculée par la méthode décrite au chapitre IV, est donnée dans le tableau V.15.

Tableau V.15 : Densité des différents extraits cueilli au mois de juillet.

	Norme AFNOR	RAF	RAS	REF	RES	RC
Densité	0,905-0,921	0,8608	0,9132	0,9418	0,9138	0,8987

La densité de l'HE obtenue est inférieure à celle d'eau qui est égale à 0,9980. Il s'agit donc d'une huile légère car elle est moins dense que l'eau.

Chapitre V : Résultats et discussions

La densité relative est l'un des paramètres physique utilisés lors de la classification des HE, La densité des extraits RES et RAS corrobore ceux obtenus par les normes AFNOR. En revanche, le reste des extraits (RAF, REF et RC) ne conforme pas dans les normes AFNOR. Ce paramètre est lié à la composition chimique de cette huile qui est affectée par un grand nombre de facteurs tels que le moment de récolte, le type de terrain, la conservation, le procédé et les conditions d'extraction.

V.3.2. Détermination de l'indice de réfraction

L'indice de réfraction de l'échantillon, obtenu par la méthode donnée dans le chapitre IV est montré dans le tableau V.16.

Tableau V.16 : Indice de réfraction des différents extraits cueilli au mois de juillet.

	Norme AFNOR	RAF	RAS	REF	RES	RC
indice de réfraction	1,4640-1,4700	1,4716	1,4669	1,4776	1,4699	1,4663

D'après le tableau ci-dessus, l'indice de réfraction de l'huile obtenu est supérieur à celui de l'eau distillée qui est de 1,3356.

L'indice de réfraction est utilisé pour l'identification et comme un critère de pureté des HE et de composés liquides divers. Nous remarquons que L'indice de réfraction des extraits RC, RAS et RES concordent avec ceux mentionnés par les normes AFNOR. En revanche, l'indice de réfraction des extraits RAF et REF ne sont pas en accord avec ceux par les normes AFNOR.

V.4. Caractéristiques organoleptiques des HE de *Rosmarinus officinalis*

Le procédé de l'hydrodistillation, nous a permis d'obtenir une HE dont les caractères organoleptiques (odeur, couleur, aspect) sont consignés dans le tableau V.17.

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau V.17 : Propriétés organoleptiques de l'HE du Rosmarinus Officinalis récolté au mois de juillet.

caractères	Norme AFNOR (1999)	RAF	RAS	REF	RES	RC
Aspect	Liquide mobile, limpide	Liquide mobile	Liquide huileux	Liquide mobile	Liquide mobile, limpide	Liquide mobile, limpide
Couleur	Presque incolore à jaune pale	Jaune foncé	Jaune foncé	Jaune	Jaune claire	Jaune claire
Odeur	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée de l'origine	camphrée	Camphrée puissante	camphrée	camphrée	camphrée

Les caractéristiques organoleptiques de l'HE extraite sont en accord avec celles obtenues par les normes (AFNOR ,1999).

V.5. Analyse qualitative par HPLC

Les différents extraits ont été analysés afin de comparer leurs profils chromatographiques et d'obtenir une information sur la composition de ces extraits en polyphénols en comparaison avec les différents standards.

Le méthanol utilisé pour l'extraction a un rôle protecteur. Il peut empêcher les composés phénoliques d'être oxydée par des enzymes, telles que des phénoloxydases.

La colonne utilisée pour séparer les composés phénoliques est exclusivement à phase inverse (la phase mobile est polaire et la phase stationnaire est non polaire). Ce système est une haute technique de résolution chromatographique largement répandue, pour la séparation et la quantification simultanée des substances phénoliques.

Les chromatogrammes d'HPLC des standards et des différents extraits sont représentés dans les annexes.

La comparaison des temps de rétention des standards avec ceux enregistrés dans les différents chromatogrammes, permet l'identification probable de certains flavonoïdes dans nos extraits. Il est à noter que cette analyse a été effectuée pour les échantillons récoltés au mois de mai.

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau V.18 : Temps de rétention des flavonoïdes standards.

Temps de rétention (min)	Le flavonoïde Standard
5,59	Quercétine
2,8	Rutine
3,822	Catéchine

Tableau V.19 : Temps de rétention des flavonoïdes présents dans les extraits du romarin.

Temps de rétention (min)				
RAF	RAS	REF	RES	RC
1,85	1,5	2,8	1,8	2,25
2,3	2,00	3,10	2,2	2,8
2,8	2,25	3,82	2,8	3,10
3,2	2,5	4,25	3,82	4,3
3,82	2,8	4,80	5,59	5,25
4,35	3,20	5,25	6,10	5,59
5,48	3,5	6,12	6,56	6,20
5,59	3,60	7,50	9,00	6,57
6,10	3,82	6,557	9,50	7,5
6,653	4,00	8,27		7,30
9,00	4,25	8,87		8,25
9,55	4,9	9,35		8,75
	5,75			9,25
	6,00			9,70
	6,625			9,90
	7,25			
	9,00			
	9,55			

Les résultats d'HPLC nous montrent la présence des éléments suivants :

- ❖ La rutine dans tous les extraits.
- ❖ La catéchine dans RAF, RAS, REF et RES.
- ❖ La quercétine dans RAF, RES et RC.

Chapitre V : Résultats et discussions

(Justesenet *al.*, 2001) et (Wojdyloet *al.*, 2007) ont trouvés d'autre résultats que les notre, ils ont utilisé comme phase mobile un système gradient ont révélé l'absence de la quercétine dans les extraits méthanoliques du romarin et la présence de la catéchine et de la rutine dans les extrait de méthanol du romarin.

Conclusion

L'objectif de présent travail, consiste d'abord de choix de plante qui est le Romarin. De but de valoriser les produits locaux et de mettre en évidence l'effet régional on s'est intéressé pour le romarin provenant de deux régions différentes celle d'Akbou et celle d'El kseur, ainsi que de mettre en évidence l'effet saisonnier. La récolte a été faite en deux saisons (mai et juillet). L'extraction s'est réalisé par Hydrodistillation, par la suite la détermination des caractéristiques physiques, organoleptiques et on finit par l'analyse HPLC ; noter qu'un échantillon industrielle extrait par la même méthode été pris en compte afin de comparer ses caractéristiques physiques et organoleptiques et son profil chromatographie.

L'étude de l'extraction des HE passe par la phase d'extraction puis par la caractérisation.

La 1^{ère} étape est effectuée par l'hydrodistillation et sa durée totale est estimée à 1h30.

De but de mettre en relief l'effet régional, l'effet saisonnier et l'effet de séchage, sur le rendement d'extraction, une comparaison a été effectuée sur ses rendements.

Constatons meilleur rendement obtenu par l'hydrodistillation est de 1,25% qui correspond à RAJS (Romarin Sec récolté en moi de Juillet de la région d'Akbou).

Afin de caractériser les HE obtenus ont étaient analysées selon la méthode standard AFNOR. Les résultats obtenus montrent que les valeurs de la densité de RAS et de RES sont égale respectivement à 0,9132 et 0,9138, ces valeurs sont conformes à la norme.

Les valeurs des indices de réfraction : RAS, RES et RC sont égale à 1,4669 ; 1,4699 ; 1,4663, ces valeurs concordent à la norme.

Concernant les résultats des caractéristiques physico-chimiques (densité et indice de réfraction) obtenus semblent être conforme à celles démontrés par la norme AFNOR.

Les résultats d'analyse qualitative par HPLC nous ont permis de déterminer le temps de rétention de chaque flavonoïde (Quercétine, Rutine et Catéchine) qui sont respectivement (5,590 ; 2,8 ; 3,82) en (min), ainsi qu'elles ont révélés la présence de la rutine dans tous les extraits, la catéchine dans RAF, RAS, REF et RES ; et la quercétine dans RAF, RES et RC.

Conclusion

Références bibliographiques

- [1] **MokkedemO. (2004).** Les plantes médicinales et aromatiques en Algérie : situation et perspectives. In : Actes du séminaire international sur le développement du secteur des plantes aromatiques et médicinales dans le bassin méditerranéen, Djerba, 1-3 juin 2004. IRA-ICARDA, ARS-USDA. p. 28-36.
- [4] **Yakhlef, Gh. (2011),**"Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *thymusvulgaris* L. et *laurusnobilis* L". Mémoire de magister, Université El-Hadj Lakhdar-Batna.
- [5] **Berra, D. (2015),**"Etude de l'effet du milieu d'extraction sur la composition des feuilles de *Matricaria Pubescens*". Thèse de master, Université Echahid Hamma Lakhdar EL Oued, p68.
- [6] **Mostafa, 2011S.F** << Extraction et caractérisation de l'HE et de quelque métabolites secondaires actifs d'une plante a caractère thérapeutique, *thymus vulgaris* L ., et étude de quelque activités pharmacologique >> Thèse de magistère BLIDA.
- [7] **Babulka.P. 2007** ;<< Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales ; la médecine traditionnelle à la phytothérapie ; phytothérapie >>. 5 ; pp 137-145.
- [8] **Zoubeidi. C. 2004** ; << Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis*. Labiatea>> ; Thèse de magistère ; université de ouargla.
- [9] **Botineau.M. 2010** ; << Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs >> ;Edition Lavoisier ; pp1025-1026,1028
- [10] **Beniston, 1984** : Fleurs d'Algérie « *Rosmarinus officinalis* ».E.N.L.Alger. p 47.
- [11] **Emberger ,1960** : Traité botanique fascicule II. Masson. p335.
- [12] **Coste, 1937** : Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Second Tirage, Paris – Librairie des Sciences et des Arts. 807 P.
- [13] **Rameau et Dumé, 2008** : Flore forestière française: Région méditerranéenne. Ed. Forêt privée française, p. 897.
- [14] **Zermane, 2010** : Etude de l'extraction supercritique Application aux systèmes agroalimentaires. Thèse de doctorat, université de Mentouri., Constantine, 120 p.
- [15] **Beloued, 2005** : Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires, Alger. P : 184, 196, 206.
- [17] **Cronquist, 1988:** the evolution and classification of flowering plants. New YorkBotanical Garden, Bronx.
- [18] **Quezel et Santa, 1963** : Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales Tome II. C.N.R.Sc. Paris.pp.781-783-793.

- [19] **Iserin et al., 2001** : Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse, pp10, 335.
- [20] **Schauenberget Paris, 1977**: Guide to Medicinal Plants. Keats, New Canaan, CT.
- [21] **Helal, 2010** : << Etude et biomasse du Romarin (*Rosmarinus Officinalis* .L) dans le massif des Beni-Imloul-Aures-Algérie>> : Université de la foresterie ; Sofia.
- [23] **BoulezazenAbdElmoumen 2016/2017** : Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'une plante aromatique (*Rosmarinus officinalis*) du foret Beni Melloul-khenchela 8p.
- [25] Schneider A. Arbres et arbustes thérapeutiques : les connaitre, les protéger, les utiliser. Montréal : Ed. De l'Homme, 2002, p384p.
- [26] **Harding J. 2011** : Bienfaits des herbes & des plantes : un guide pour la culture et l'utilisation des herbes aromatiques et des plantes médicinales. Bath : Parragon, 2011, 256p.
- [27] **Reclu M. 2004** : Manuel de l'herboriste : comprenant la culture, la récolte, la conservation, les propriétés médicinales des plantes du commerce, et un dictionnaire des maladies et des remèdes. Nîmes : C. Lacour, 2004, 160p.
- [28] **Fernandez X., Chemat F., Do T.K.T. 2012** : Les huiles essentielles : vertus et applications. Paris : Vuibert, 2012, 159p.
- [29] **collectif d'auteur** : la santé par les plantes, 2003 p198
- [30] **Jean Brunton 1999** : pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales : 3^{eme} édition.
- [31] Pharmacopée française Xéme édition 10(2) DAC 1998 : Rosmarin blatter.
- [32] **Wichtl et Anton, 2003** : Planes thérapeutiques. Edition Tec & Doc Lavoisier, Paris. P :364, 523,538.
- [33] **Gilly G.2005** : Les plantes aromatiques et HE à grasse : botanique, culture, chimie, production et marché .Paris : L'Harmattan, 2005, 414p
- [34] **AtikBekkara et al, 2007** : Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. J Biologie& Santé vol. 7, n° 1,
- [35] **Gachkar et al., 2007**:Gachkar L., Yadegari D., BagherRezaei M. al. Chemical and biological characteristics of *Cuminumcyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chemistry, 2007;102; 898-904.
- [36] **YesilCeliktas et al., 2007**: Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chemistry100 .553–559.
- [37] **Ouraini et al, . 2005** : Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à

propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes, J Phytothérapie Numéro 4: 147-157

[38] **Bozin et al., 2007**: Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007 ; 55 ; 7879-85.

[39] **Teuscher, 2005** : Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris, Lavoisier, 522p.

[40] **Bnouham et al., 2002** : Journal international du diabète et du métabolisme.

[41] **Benikhlef, 2014** : Comparaison entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla. Mémoire Master. Université Abou bakr Belkaid-Tlemcen, 27p.

[42] **Wang et al, 2008** Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. Food Chem.108:1019-1022.

[43] **Balentine et al, 2006**: The pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and during storage of ground beef. *Meat Science*.73, p.413-421.

[44] **Reclu M. Manuel de l'herboriste, 2004** : comprenant la culture, la récolte, la conservation , les propriétés médicinales des plantes du commerce , et un dictionnaire des maladies et des remèdes . Nîmes : C. Lacour, 2004, 160p

[45] **Roulier, 1990 ; wegrztn. , 2005** : Les huiles essentielles pour votre santé: traité pratique d'aromathérapie. Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Editions Dangles.

[46] **Benzie, 1996 I.F.F; Strain, J.J. Anal. Biochem ; 239, 70 –76.**

[47] **I. Pacchioni, 2010** : Aromathérapie : 150 vrai/faux sur les huiles essentielles, Editions du Rocher. 2010.

[48] **Belaiche, 1979** : Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris.

[49] **Macheix, 2005** : Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolite secondaire d'importance économique. Lausanne : Presses polytechniques universitaires Romandes.

[50] **Allinger, N.L., Cava, M.P., Dejoule, C.R., Jonhson, C.R., Lebel, N.A. et Stevens, C.L, 1975**, «Chimie organique», Ediscience McGraw.Hill, Paris, 1975, 813.

- [51] **Teissière, P.J, 1991** : « Chimie des Substances Odorantes », Ed. Techniques et Documentation Lavoisier, Paris,1991,10.
- [52] **DalePoulter,C.,Marscle,L.,Hughers,J.M.etArgyle,J.C.,J.Am.Soc.,1977,99,3823.**
- [53]**Finar, I.L.1994**:«Organic chemistry" ,Ed. Longman Scientific et Technical, 1994,Vol. II,354
- [54] **Rahal, 2004** : Chimie des produits naturels et des êtres vivants. O.P.U. Edition. p.162
- [55] **Bruneton, 1999** : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris.
- [56] **Belaiche, 1979** : Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris.
- [57] **Laouer 2004** : Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Setif, de Bejaia, de Msula et de DJelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Ammoides pusilla et de Magydaris pastinacea. Thèse de doctorat d'état, Département de Biologie m, Faculté des sciences, Ufa de Setif.
- [58] **Chemat et al, 2012** : « Activitéschimiques et biologiques des huiles essentielles », Lachimie des huilesessentielles.Ed. Vuibert, Paris 2012,pp. 212–248.
- [59] **Carole, 2013** : 200plantes qui vous veulent du bien. Franc. p 120-214.
- [60] **Yayi et al., 2004** : Siège de variation chimiques complexes au cours du développement. ComptesRendusChimie, 7 :1013-1018.
- [61] **Smallfield, 2001**: Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop & Food Research. Number 45, p4.
- [62]**Bakkali .,2008** : Biological effects of essential oils – A review. Food and ChemicalToxicology, 46: 446-475.
- [63] **Pibiri. M. C. 2006** : Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen des huiles essentielles. Thèse en sciences Lausanne, EPEL. 177p.
- [64]**J. Raynaud, 2016** : Prescription et conseil en aromathérapie, Tec & Doc Lavoisier.
- [65]**A. Beylemans, 2013** : « L'aromathérapie dans le monde de l'officine : rôle du pharmacien ».
- [66] **Paris M and Hurabielle M. 1981** : Abrégé de matière médicale, pharmacognosie. Tome 1, généralités, monographie, édition Masson, Paris, pp. 177-237.

- [67] **Kanko et al., 2004** : Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *Comptes rendus chimie*, 7(10).
- [68] **Padrini et Lucheroni, 2003** : Le grand livre des huiles essentielles. Ed., De Vecchi S.A. Paris , 118 p.
- [69] **WILLEM, J.P.** : Le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé.
- [70] **Grysole, 2005** : Huiles essentielles de la plante à la commercialisation – Manuel pratique 140-162.
- [71] **Porter, 2001**: Essential oils and their production. *Crop & Food Research*. Number 39.
- [72] **Nicole, 1996** : Aperçu de l'aromathérapie. *Info.essence*.2 :4-5.
- [73] **G. Guilbaud, 2016** : Je sais utiliser mes huiles essentielles.
- [74] Longevialle, 1981 ; Constantin, 1996.
- [75] **D.F. MILLET, 2015** : Le grand guide des HE , Marabout.
- [76] **J. Bruneton, 2009** : Pharmacognosie, Editions Lavoisier.
- [78] **Price et al., 2004**: Understanding hydrolats: The specific hydrosols for aromatherapy. Churchill Livingstone. 294 p.
- [79] **Bremness, 1996** : L'oeil nature: Les plantes aromatiques et médicinales. Bordas Nature Paris. 303P.
- [80] **Catty, 2001**: Hydrosols, the next aromatherapy. Healing Arts Press. Rochester. 290 p.
- [81] **Jeannot et al., 2003**: *Origanum compactum* Bentham: Composition of the hydrolat aromatic fraction, comparison with the essential oil and its interest in aromatherapy. *Int. J. Aromather.* 13, 90-94.
- [82] **Boutekedjiret, 1999** : Etude des procédés d'extraction appliqués à la récupération des essences de romarin: transfert de matière et modélisation, thèse de doctorat. DPT génie chimique. E.N. P. Alger.
- [83] **Hellal, 2011** : « Etude et biomasse du Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) Dans le massif des Beni-Imloul-Aures-Algerie » ; université de la foresterie ; Sofia.
- [84] **Neffati, 2010** : Thèse de doctorat en Sciences de l'université de Caen, Etude de la composition chimique et évaluation d'activités biologiques de l'huile essentielle d'une Apiaceae de Tunisie: *Pituranthos chloranthus*
- [86] **Lucchesim, 2004^a**: Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *J. Chromatogr. A*, Vol. 1043, pp : 323-327.

- [87] **Lucchesi M. E. 2005** : Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Université de la Réunion.
- [88] **Franchomme, 1990 ; Richard, H., 1992** : L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges.445p.
- [90] **LUCCHESI.2005** : Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Université de la Réunion.
- [92] **KIMBALL, 1999** : Citrus processing : A complete guide. Second edition, Aspen Publication inc. 435 p.
- [93] **M.A. Ferhat, 2007** : Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes des huiles essentielles des Citrus d'Algérie : Compréhension, Application et Valorisation. Thèse de l'Université des Sciences et Technologie Houari Boumediene, Faculté de Chimie, Algérie.
- [94] Kim.N.S,D.S. Lee.J.Chrom.A.2002,982,31.
- [96] **Lardry J.M. et Haberkorn V. 2007** : les huiles essentielles : principes d'utilisation, Kinesitherapy Reviews 61, p 18-23
- [98] **Keville K. et Green M., 1995**: Aromatherapy: A complete guide to healing art, Ed 1: The Crossing Press; p: 120-140.
- [100] **Hemwimonet al, 2007** : Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda Citrifolia*. Separation and Purification Technology, Vol.54; pp 44-50.
- [101] **Lucchesi M.E, 2004^b**: An original solvent free microwavextraction of essential oil from spices. *Flavour Fragrance J.*, Vol. 19, pp : 134– 138.
- [102] **Brunton J.2002** : Pharmacognosie photochimie plantes médicinales 3ème édition. Paris.
- [103] **Peyron, 1992** : Techniques classiques actuelles de fabrication des matières premières naturelles aromatiques. Chapitre 10, pp 217 – 238. *Cité In* : Les arômes alimentaires.Coordinateurs RICHARD H. et MULTON J.-L. Ed. Tec & Doc-Lavoisier et Apria.438 p.
- [104] **Franchomme P ,Jollois R, Penoel D. 2001**. L'aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation des extraits aromatiques. Paris : Edition Roger Jollois.
- [105] Biotechnologie végétale. Les huiles essentielles[en ligne]. 2012 [consulté en Janvier 2018]. Disponible sur [http : mira biotéchnologievégétale.blogspot.com](http://mira.biotéchnologievégétale.blogspot.com)
- [106] **Chouiteh O.2012** composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhizaglabra*[thèse] Oran : Université d'Oran 2012.

- [107] **Tchiégang-Meguéni C. 2003.** Variabilité des caractéristiques physico-chimiques des huiles de extraites des amandes *Balanites aegyptiaca* L. Del. en provenance du Cameroun et du Tchad. *Procédé Biologiques alimentaires*, 1(1): 11p
- [109] Kaloustian J, Hadji-Minaglo F. *La connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie.* Paris. Edition Springer. 2012
- [110] **France-Ida, 1998 :** Comment s'assurer de la pureté d'une huile essentielle? *Info – essences.* 7 : 1-2.
- [111] **BENGRBA ADLEN université de constantine Mai 2008 :** Mémoire pour obtenir le grade de magister en chimie organique option phytochimique.
- [112] Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P., *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse,* Masson, Paris, 1995.
- [113] **Audigiet al., 1995 :** Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2ème ED. Doin, Paris, p. 44.
- [114] **Bruneton, 1999 :** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris.
- [115] Article Gaschromatography de l'encyclopédie collaborative en ligne Wikipédia.
- [116] **Desjobertet al., 1997; Bruneton, 1999 :** Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*, 25 (6) : 13-16.
- [120] **Zergui.A, 2012 :** Etude pharmaco-toxicologique de l'extrait aqueux de romarin (*Rosmarinus Officinallis*), P. 19.
- [121] **Gomez-Caravaca et al., 2006:** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* **41:** 1220-1234.
- [122] **Amarowicz et al. 2005:** Antioxidant activity of almond seed extract and its fractions. *J foodlipids.* **12:** 344-358.
- [123] Verbois S., *Huiles Essentielles et Parfums qui Guérissent et qui Relaxant, La Voix De l'Ayurveda,* 3ème Edition Trajectoire ; 2001.

Webographie

- [2] **FAO(2012).** L'état des ressources génétiques forestières mondiales. Rapport national Algérie. Rome : FAO. <http://www.fao.org/3/a-i3825e/i3825e0.pdf>.
- [3] **Ministère de l'Agriculture, 2015.** <http://www.mbumk.gov.al/>.

- [16] (<http://nature.jardin.free.fr/>)
- [22]<https://www.agriculture-afrique.com/romarin/>.
- [24]<http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-75333-synthese>
- [77](https://www.myrteaformations.com/index.php?mod=actus&article_id=WL1538465676W5bb31f8c0bf73).
- [85](<http://www.pranarom.com>).
- [89]https://www.researchgate.net/figure/montage-dhydrodiffusion-Lavantage-de-cette-methode-est-detre-plus-rapide-donc-moins_fig4_325202773
- [91] <https://www.pinterest.fr/ideas/%C3%A9ducation/934507790068/>
- [95]<https://www.lachimie.fr/materiel/extraction.php>
- [97]<https://blog.soin-et-nature.com/fr/les-differentes-techniques-pour-obtenir-des-huiles-essentielles/extraction-graisse-enfleurage/>
- [99]<https://refletnature.com/fr/content/16-extraction-au-co2-supercritique>
- [108]Wikipédia. Encyclopédie en ligne. Disponible sur www.wikipidia.fr
- [118] Copyright Oliver Schneider www.puerh.fr
- [117]http://www.puerh.fr/article/science_sante_vers_une_empreinte_des_thes_puerh.htm#Qu-est-ce-qu-une-empreinte-digitale-HPLC
- [119] google earth

Annexe I : Chromatogrammes d'HPLC.

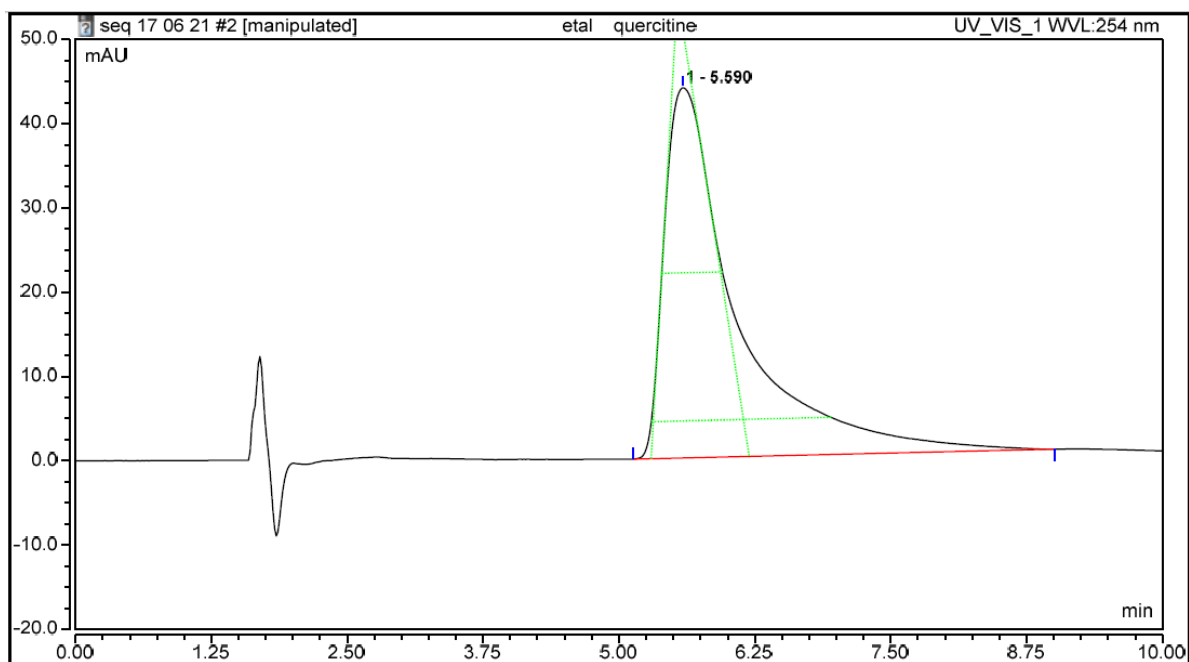


Figure I : Chromatogramme d'HPLC de la quercétine enregistré à 254 nm.

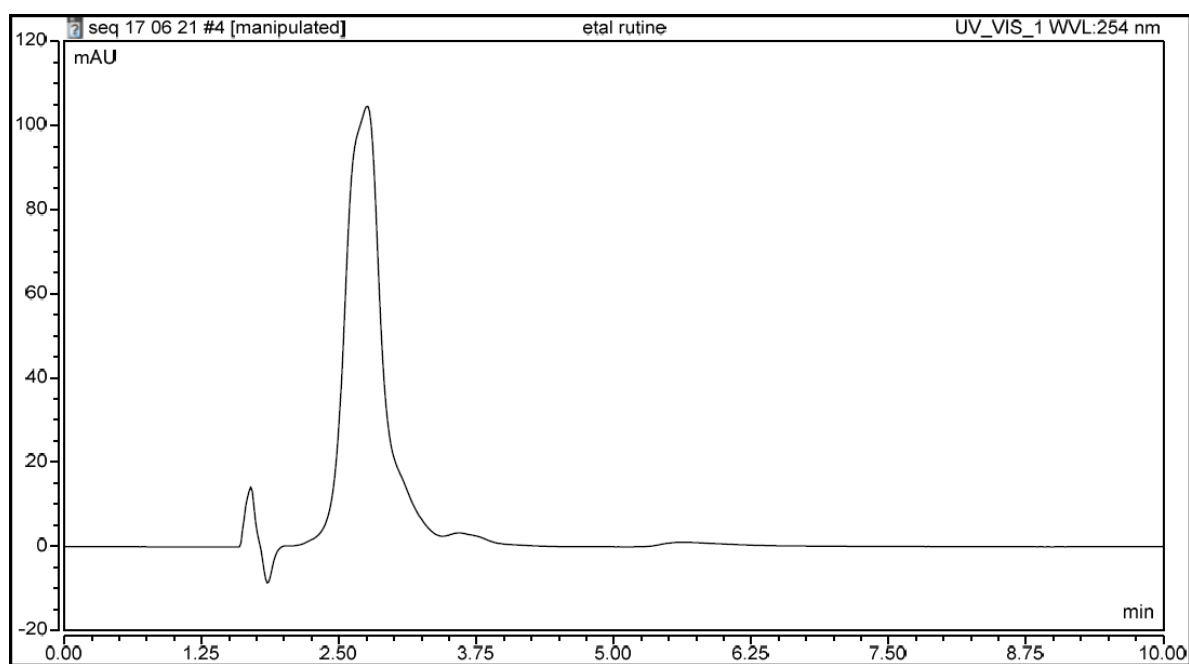


Figure II : Chromatogramme d'HPLC de la rutine enregistré à 254 nm.

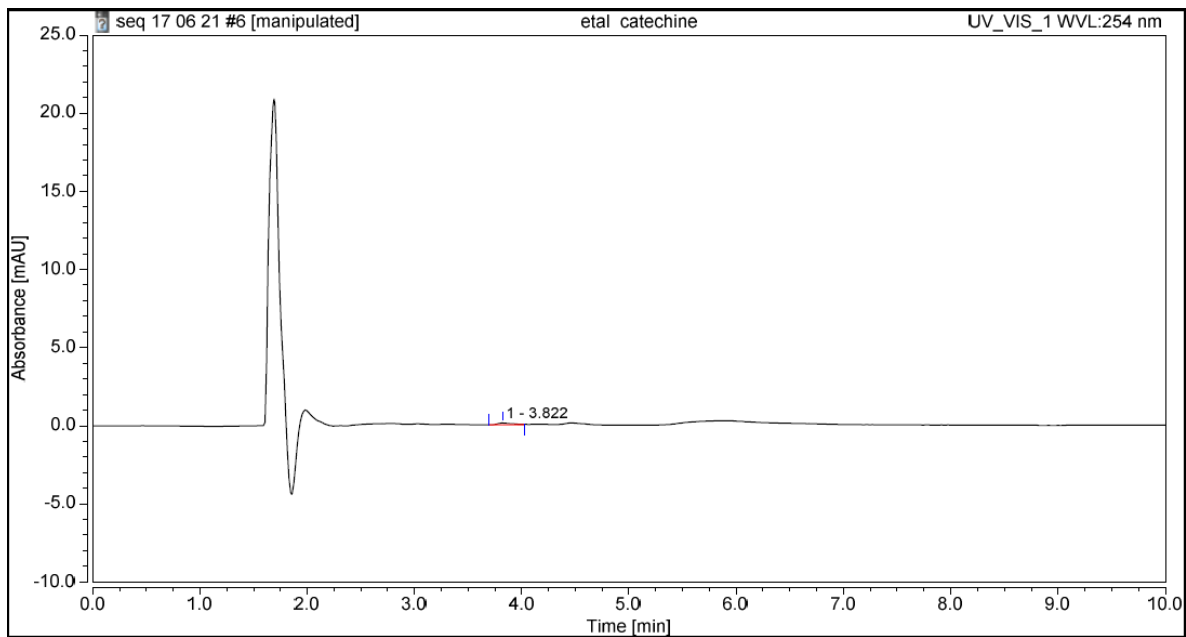


Figure III : Chromatogramme d'HPLC de la catéchine enregistré à 254 nm.

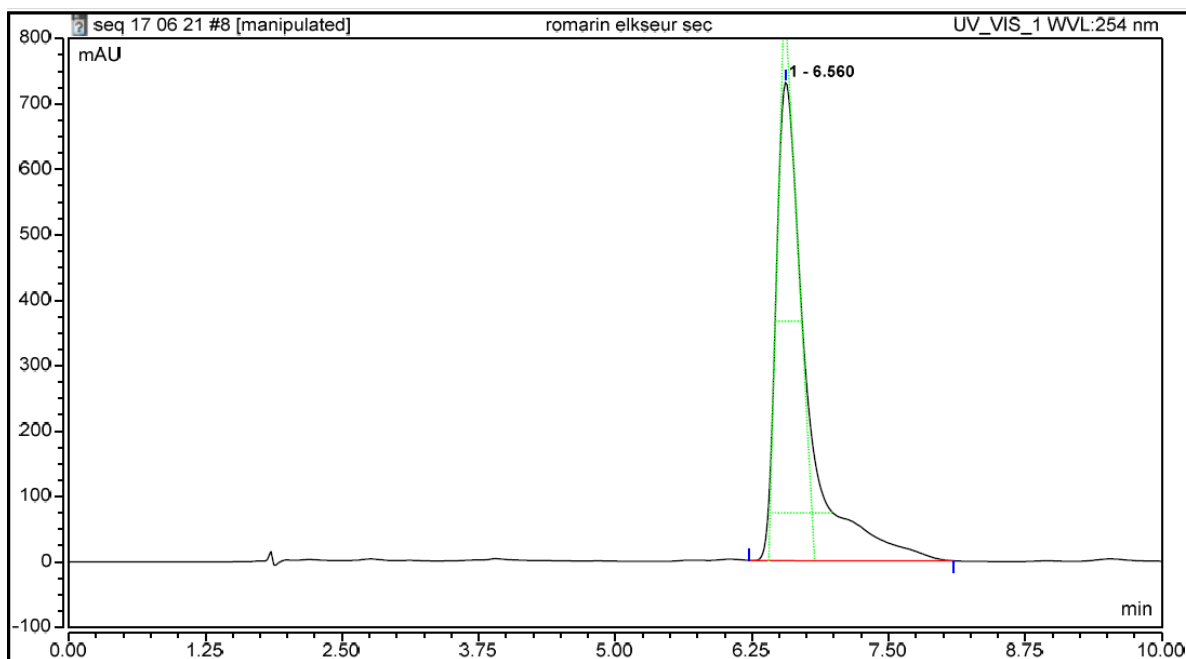


Figure IV : Chromatogramme d'HPLC du romarin sec de la région d'El kseur (RES) enregistré à 254 nm.

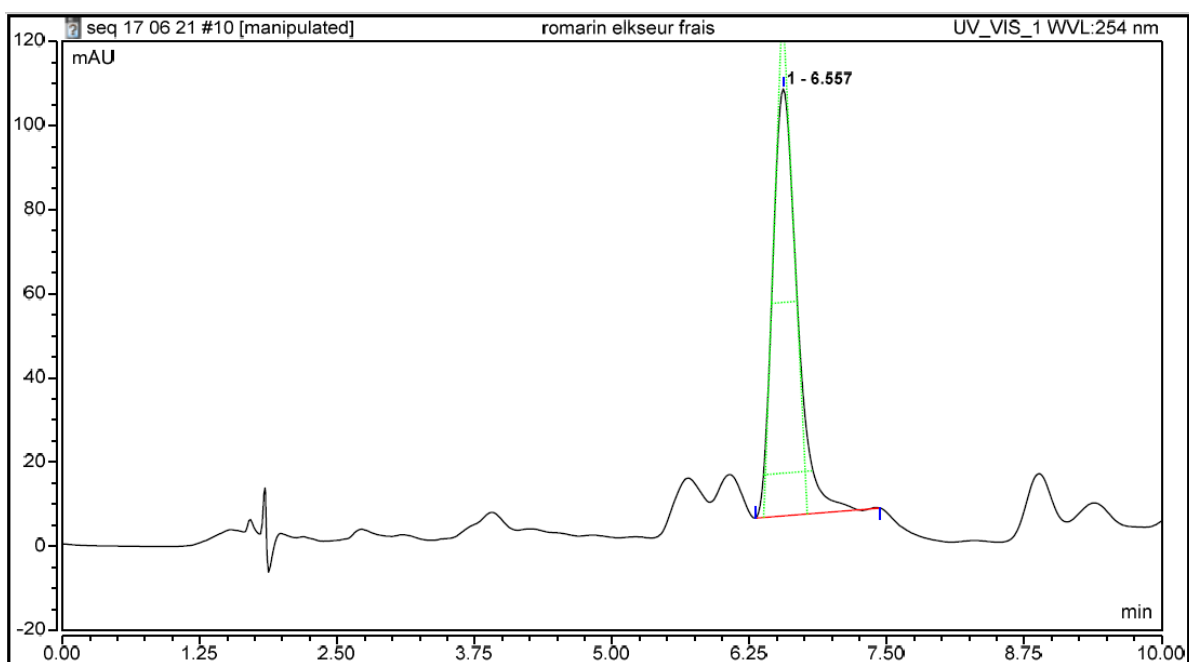


Figure V : Chromatogramme d'HPLC du romarin frais de la région d'El kseur (REF) enregistré à 254nm.

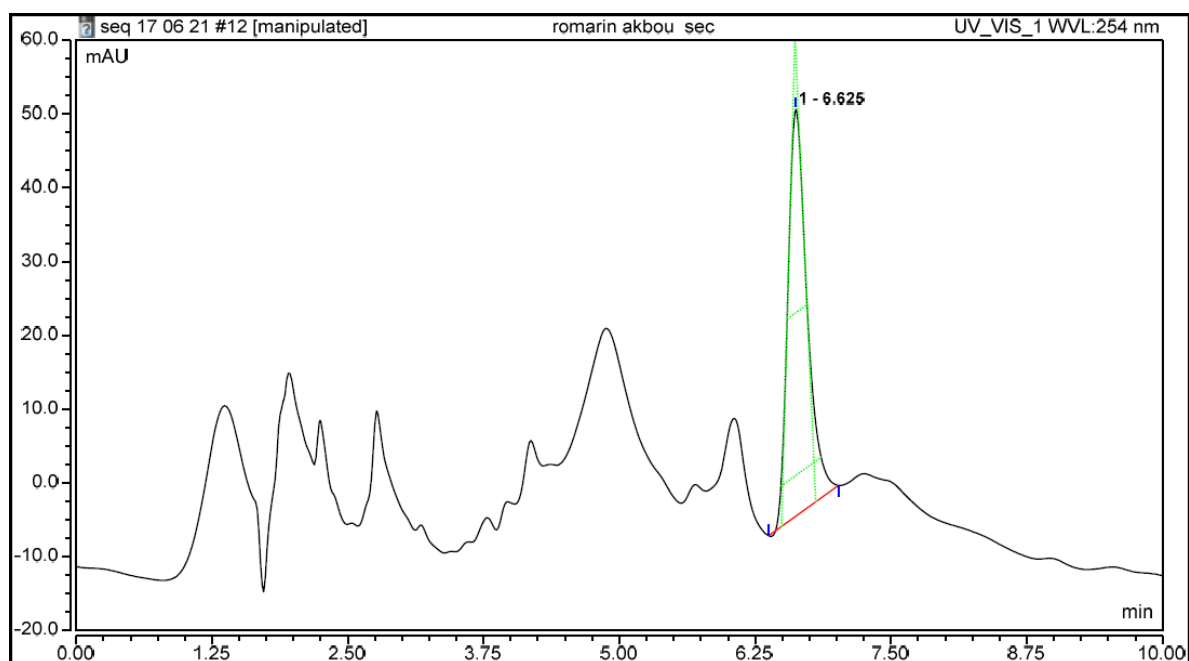


Figure VI : Chromatogramme d'HPLC du romarin sec de la région d'Akbou (RAS) enregistré à 254 nm

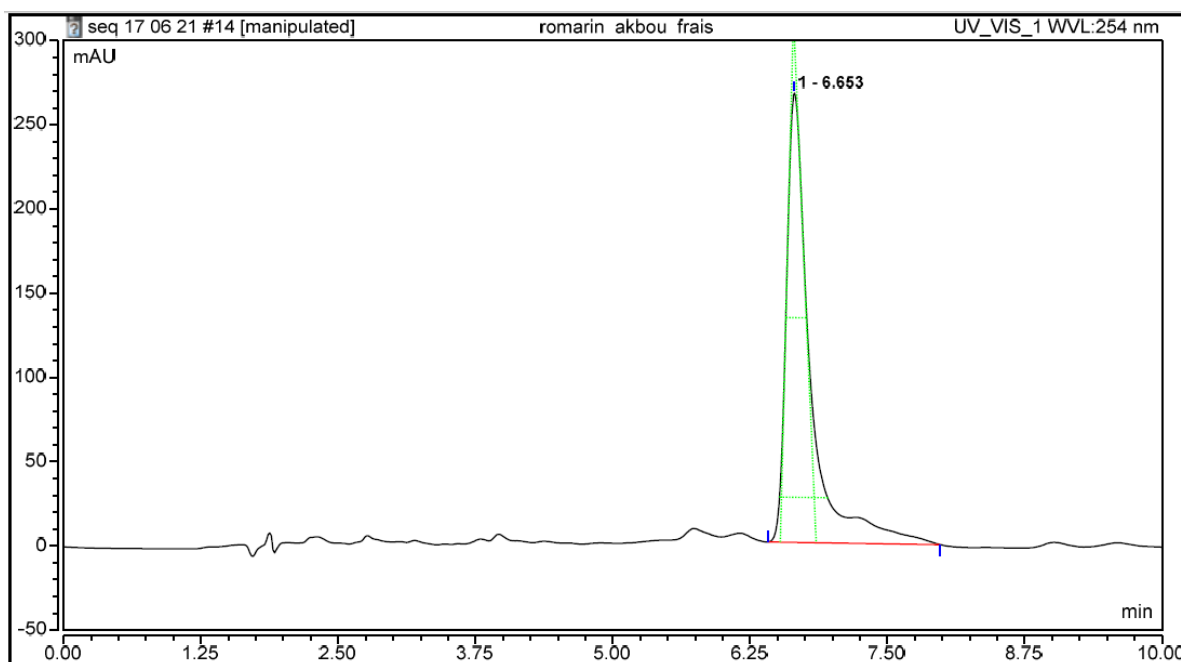


Figure VII : Chromatogramme d’HPLC du romarin frais de la région d’Akbou (RAF) enregistré à 254 nm.

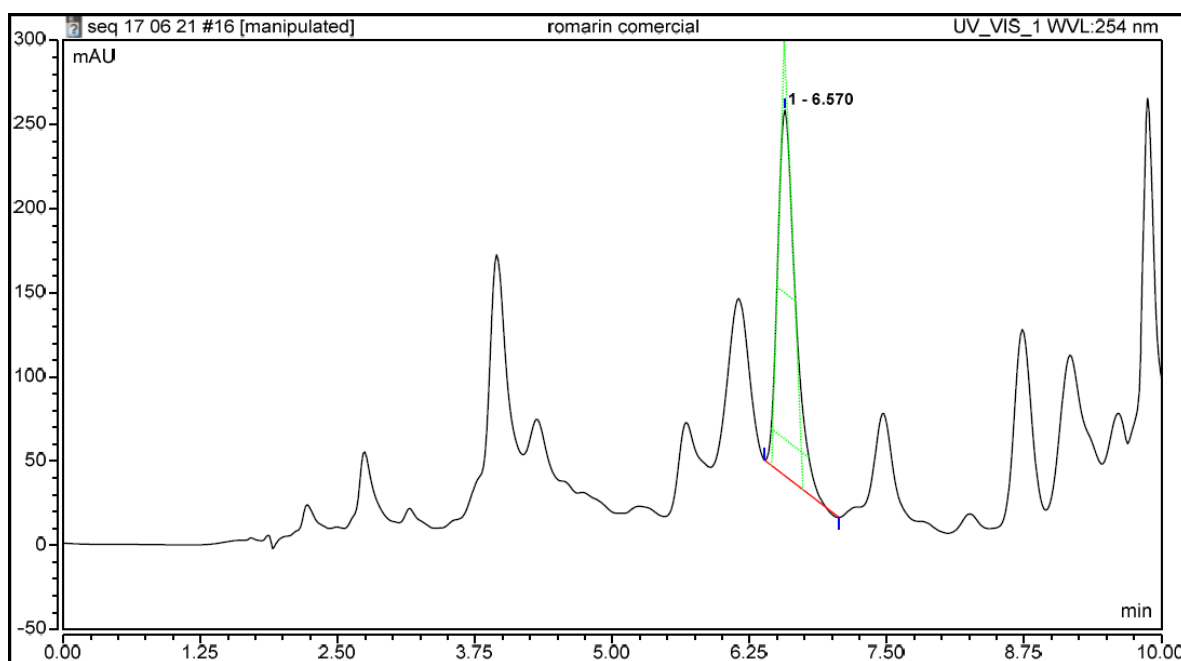


Figure VIII : Chromatogramme d’HPLC du romarin commercial (RC) enregistré à 254nm.

Résumé :

Dans le cadre de caractériser les HE d'une plante aromatique et médicinale qui est le Romarin, nous avons réalisé une étude sur deux échantillons provenant de deux régions différentes de la wilaya de Bejaia l'une d'Akbou l'autre d'El kseur de l'année 2021. Récolté en deux saisons (mois de mai et juillet).

Afin d'étudier l'effet d'humidité sur le rendement d'extraction on a réalisé l'extraction sur un produit frais, et un autre produit qui a été séché au laboratoire.

Après avoir extraire l'HE par Hydrodistillation et tenons en compte l'optimisation de ce procédé par la comparaison des différents rendements obtenus.

Par la suite, l'étape d'analyse s'est effectuée d'abord par une comparaison des propriétés physiques et organoleptiques des échantillons obtenus avec un extrait industriel puis une identification des composés contenus dans ces échantillons par HPLC.

Enfin, les résultats de ces travaux nous ont permis d'affirmer que les caractérisations physiques et la composition des HE se distinguent et s'influencent selon l'origine de la plante (la région), selon son taux d'humidité ainsi la saison de sa récolte.

Mot clés : HE, Romarin, hydrodistillation, caractéristiques physico-chimiques, HPLC.

Abstract:

Within the framework of characterizing the essential oil of an aromatic and medicinal plant which is the Rosemary, we carried out a study on two samples coming from two different regions of Bejaia, the first one is Akbou and the other is El kseur, of the year 2021. Collected in two seasons (May and July).

In order to study the humidity effect on the extraction yield, we carried out the extraction on a fresh product, and another product which was dried in the laboratory.

After extracting the essential oil by Hydrodistillation and let us take into account the optimization of this process by the comparison of the various outputs obtained.

Thereafter, the analysis stage was carried out first by a comparison of the physical and organoleptic properties of the samples obtained with an industrial extract and then an identification of the compounds contained in these samples by HPLC.

Finally, the results of this work allowed us to affirm that the physical characterizations and the composition of the essential oil are distinguished and influenced according to the origin of the plant (the region), according to its rate of moisture as well as the season of its harvest.

Key words: essential oil, Rosemary, hydrodistillation, physico-chemical characteristics, HPLC.