

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Hassiba Benbouali de Chlef

Faculté de Technologie.

Département de Génie Des Procédés



# THÈSE

Présentée pour l'obtention du diplôme de

## DOCTORAT LMD

Filière : Génie Des Procédés

Spécialité : Génie Chimique

Par

**Soumia MENAD**

Thème :

---

**EXTRACTION ET CARACTERISATION DES HUILES ESSENTIELLES DES FEUILLES ET  
TIGES DE LA *JUNIPERUS OXYCEDRUS* (GENEVRIER OXYCEDRE) LOCAL. ETUDE DE  
L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE ET ANTIOXYDANTE**

---

Soutenue le 06/06/2024, devant le jury composé de :

Abdallah LABBACI	Professeur	Université	Président
Djilali ACHOUR	Professeur	UHB.Chlef	Rapporteur
Mustapha DOUANI	Professeur	UHB.Chlef	Examineur
Kamel HACHAMA	Professeur	U.khemis Miliana	Examineur
Moussa BRADA	Professeur	U.khemis Miliana	Co - rapporteur

# *Dédicaces*

*À mes parents en témoignage de mon affection,*

*À mon mari (Said) et mes filles (Ibtihel et Ilef)*

*À mon frère (Ahmed) et sa femme (Samia)*

*À mes sœurs (Ahlem et Fatoum)*

*À tous mes enseignants sans exception*

*À tous mes amis (Salima, Akila...)*

## ***Remerciements***

Ce travail a été réalisé au département de Génie des procédés sous la direction de Monsieur D. Achour professeur au l'université Hassiba Ben Bouali Chlef.

Au terme de ce travail, tout d'abord, je remercie le Dieu tout puissant qui m'a donné la force et la volonté pour achever cette thèse.

J'adresse mes vifs remerciements à mon directeur de thèse Monsieur D. ACHOUR, pour tout ce qu'il m'a donné et apporté durant la période de réalisation de cette thèse.

J'exprime toute ma gratitude aux membres de Jury, en commençant par Monsieur Abdallah LABBACI, Professeur à l'Université de chlef pour avoir accepté de présider le jury et juger ce travail. Je remercie également Monsieur Mustapha DOUANI, Professeur à l'Université de chlef, Monsieur Kamel HACHAMA, professeur à université de khemis Miliana, qui ont bien accepté de faire partie du jury et d'apporter leurs vives contributions à l'enrichissement de ce travail.

J'exprime ma profonde gratitude à Monsieur M. Brada, professeur à université de khemis Miliana, pour son aide, ses précieux conseils pour la conception et réalisation de ce travail

Mes remerciements vont également à Mme M. BOUELAM et Monsieur Djamel ABDAOUI, MCA à l'Université DE Mostaganem et Mr M. DOUANI, professeur à université de Chlef pour leurs aides efficaces.

Enfin, j'exprime mes plus profonds remerciements à mes parents, à mon Mari, à mes filles, à mon frère et mes sœurs, à toute ma grande famille, à tous mes amis et à tous mes enseignants sans exception, pour leur soutien et leurs encouragements.

Un grand merci à tous !

## الملخص:

في العقود الأخيرة، ازداد استخدام الزيوت العطرية بشكل ملحوظ، مما أثر على مختلف جوانب الحياة اليومية للإنسان (مستحضرات التجميل والأدوية والمبيدات الحشرية وصناعة الأغذية). يهدف هذا العمل إلى دراسة وتوضيح تأثير طريقة الاستخلاص على التركيب الكيميائي للزيت العطري لسيقان وأوراق العرعر أو كسيكيدروس المستخرجة من شمال غرب الجزائر (مستغانم). وقد تم استخلاص الزيت العطري باستخدام ثلاث عمليات: التقطير بالبخار (EVD) (0.08%)، والتقطير المائي (HD) (0.14%) و SOXHLET. ودراسة حركية الاستخلاص، بهدف تفسير ظاهرة الاستخلاص. وسلطت الدراسة المقارنة الضوء على تأثير المعلمات المختلفة على محصول الزيوت العطرية (التجفيف، ووقت الاستخلاص، وكتلة المادة النباتية). تم تحديد الزيوت الأساسية المستخلصة بواسطة كروماتوغرافيا الغاز المقترنة بمطياف الكتلة (GC-MS)، وتم تحديد 35 مكونًا. أظهر التوصيف بواسطة GC-MS أن الاستخلاص عن طريق التقطير المائي أعطى نتيجة أفضل، وتميز بوجود  $\alpha$ -pinène (37.163%) و sabinene (12.829%) و limonène (5.795%) كمكونات كيميائية رئيسية. وقد تبين أن طريقة الاستخلاص لها تأثير كبير على تركيبة الزيت العطري. أظهر زيت العرعر أو كسيكيدروس العطري نشاطًا قويًا مضادًا للأكسدة. كان نشاط الزيوت التي تم الحصول عليها عن طريق التقطير المائي أعلى من تلك التي تم الحصول عليها عن طريق التجريد بالبخار (IC50 = 120 مجم. ml-1 و IC50 = 160 مجم. ml-1) لاختبارات تبييض DPPH و  $\beta$ -كاروتين على التوالي. وبالتالي يمكن أن تمثل زيوت J. oxycedrus الأساسية مكونًا جيدًا للاستخدام كعامل مضاد للأكسدة. ويُعد الزيت (HD) أفضل عامل مضاد للفطريات عند الحد الأدنى من التركيز (20 ملجم/مل)، والزيوت (EVD) له تأثير مثبط أعلى في اختبار مضادات البكتيريا عند الحد الأدنى من التركيز (10 ملجم/مل). يتمتع زيت العرعر أو كسيكيدروس العطري بنشاط جيد مضاد للفطريات ومضاد للبكتيريا وهو مصدر مهم في علم الأدوية.

## Résumé :

Au cours des dernières décennies, l'utilisation des huiles essentielles a augmenté de manière significative pour affecter divers aspects de la vie quotidienne de l'homme (cosmétiques, pharmacie, pesticides et industrie alimentaire). Le présent travail vise à étudier et démontrer l'influence de la méthode d'extraction sur la composition chimique de l'huile essentielle des tiges et des feuilles de juniperus oxycedrus extraite du nord-ouest de l'Algérie (Mostaganem). L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée en utilisant les trois procédés, d'entraînement à la vapeur d'eau (EVD) (0.08%) et à l'hydrodistillation (HD) (0.14%) et de SOXHLET. Et l'étude de la cinétique d'extraction, dans le but d'expliquer le phénomène d'extraction. L'étude comparative a permis de mettre en évidence l'influence de différents paramètres sur le rendement en huiles essentielles (le séchage, le temps d'extraction, la masse de la matière végétale). Les huiles essentielles extraites sont identifiées par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS), 35 composants ont été identifiés. La caractérisation par (GC-MS) a démontré que l'extraction par hydrodistillation donnait un meilleur résultat qui se caractérisait par la présence d' $\alpha$ -pinène (37,163 %), de sabinène (12,829 %) et de

*limonène* (5,795 %) comme principaux constituants chimiques. La méthode d'extraction a démontré qu'elle avait une influence significative sur la composition de l'huile essentielle. L'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* a montré une forte activité antioxydante. L'activité des huiles obtenues par hydrodistillation était plus élevée que celle obtenue par entraînement à la vapeur (IC<sub>50</sub> = 120 mg .ml<sup>-1</sup> et IC<sub>50</sub> = 160 mg.ml<sup>-1</sup>) pour les tests de blanchiment DPPH et β-carotène, respectivement. Les huiles essentielles de *J. oxycedrus* pourraient donc représenter un bon composant à utiliser comme agent antioxydant. L'huile (HD) est le meilleur antifongique à une concentration minimale (20mg/ml), et l'huile (EVD) à un effet inhibiteur plus élevé dans le test antibactérien à une concentration minimale (10mg/ml). L'huile essentielle de *juniperus oxycedrus* à une bonne activité antifongique et antibactérienne et constitue une source importante en pharmacologie.

**Mots clés :** extraction – huile essentielle – hydrodistillation – caractérisation – *juniperus oxycedrus* – antifongique.

### **Summary:**

In recent decades, the use of essential oils has increased significantly to affect various aspects of human daily life (cosmetics, pharmaceuticals, pesticides and the food industry). The present work aims to study and demonstrate the influence of the extraction method on the chemical composition of essential oil from *juniperus oxycedrus* stems and leaves extracted from north-western Algeria (Mostaganem). The essential oil was extracted using three processes: steam distillation (EVD) (0.08%), hydrodistillation (HD) (0.14%) and SOXHLET. And the study of extraction kinetics, with the aim of explaining the extraction phenomenon. The comparative study highlighted the influence of various parameters on the yield of essential oils (drying, extraction time, mass of plant material). Extracted essential oils were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and 35 components were identified. Characterization by GC-MS showed that extraction by hydrodistillation gave a better result, characterized by the presence of *α-pinene* (37.163%), *sabinene* (12.829%) and *limonene* (5.795%) as the main chemical constituents. The extraction method has been shown to have a significant influence on the composition of the essential oil. *Juniperus oxycedrus* essential oil showed high antioxidant activity. The activity of oils obtained by hydrodistillation was higher than that obtained by steam stripping (IC<sub>50</sub> = 120 mg .ml<sup>-1</sup> and IC<sub>50</sub> = 160 mg.ml<sup>-1</sup>) for the DPPH and β-

carotene bleaching tests, respectively. *J. oxycedrus* essential oils could therefore represent a good component for use as an antioxidant agent. Oil (HD) is the best antifungal agent at minimal concentration (20mg/ml), and oil (EVD) has a higher inhibitory effect in the antibacterial test at minimal concentration (10mg/ml). *Juniperus oxycedrus* essential oil has good antifungal and antibacterial activity and is an important source in pharmacology.

**Key words:** extraction –essentielle oil – hydrodistillation – caractérisation – *juniperus oxycedrus* – antifungal.

## Listes des abréviations

Symbole	Signification
$d^{20}$	Densité a 20°C
HD	Hydrodistillation
EVD	Entrainement a la vapeur d'eau
HE	Huiles essentielles
$M_{HE}$	Masse en huiles essentielles en gramme
$M_{MV}$	Masse en matière végétale en gramme
$M_c$	Masse en concrète
V	Volume
$R_{HE}$	Rendement en huiles essentielles
$R_c$	Rendement en concrètes
GC-SM	Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
K	Constante de la cinétique du premier ordre du rendement d'extraction
$I_a$	Indice d'acidité
IR	Indice de réfraction
$I_c$	Le pourcentage d'inhibition par rapport à la concentration

## Table Des Matières

Introduction.....	1
CHAPITRE I : Synthèse Bibliographique.....	5
I.1. les plantes et la médecine :.....	5
I.1.1 Historique :.....	5
I.1.2. Les plantes : .....	6
I.1.2.1.Les plantes aromatiques : .....	6
I.1.2.2.Les plantes médicinales :.....	6
I.1.2. Domaines d'application des plantes médicinales : .....	6
I.2. Séchage et conservation des plantes médicinales :.....	9
I.3.Les huiles essentielles : .....	10
I.3.1. Définition :.....	10
I.3.2. Répartition, localisation, composition biochimique et fonction des huiles essentielles :.....	11
I.3.3. Critères de qualité : .....	16
I.3.4. Conservation des huiles essentielles :.....	17
I.3.5. Réglementation :.....	18
I.3.6. Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles :.....	18
I.3.6.1. Chromatographie en phase gazeuse monodimensionnelle :.....	18
I.3.6.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG/O) : .....	19
I.3.6.3. Chromatographie à deux dimensions heart-cutting CPG/SM : .....	19
I.3.6.4. Chromatographie totale CPG-2D : .....	20
I.3.7. Les principales propriétés des huiles essentielles :.....	21
I.3.7.1. Anti-infectieuses :.....	21
I.3.7.2. Anti-inflammatoires :.....	22
I.3.7.3. Régulatrices du système nerveux :.....	22
I.3.7.4. Drainantes respiratoires :.....	22
I.3.7.5. Digestives : .....	23
I.3.7.6. Cicatrisantes : .....	23
I.3.8. Les principales voies d'utilisation des huiles essentielles : .....	23
I.3.8.1. La diffusion atmosphérique :.....	23



I.3.8.2. La voie interne : .....	24
I.3.8.3. La voie externe : .....	24
I.3.9. Mélange des huiles essentielles : .....	25
I.4. Activités biologiques : .....	25
I.4.1. Généralités : .....	25
I.4.2. Activités antioxydantes des huiles essentielles : .....	26
I.4.3. Huiles essentielles comme agents antimicrobiens : .....	27
I.4.3.1. Généralités : .....	27
I.4.3.2. Mode d'action contre les bactéries : .....	28
I.4.3.3. Activités antifongiques des huiles essentielles : .....	29
<b>CHAPITRE II : Les Procédés D'extraction</b> .....	<b>31</b>
II.1. Bref historique de l'extraction : .....	31
II.2. Les techniques d'extraction des huiles essentielles : .....	32
II.2.1. Entraînement à la vapeur d'eau : .....	32
II.2.2. L'hydrodistillation : .....	33
II.2.3. Technique de l'extraction par les solvants : .....	34
II.2.4. Technique de l'extraction assistée par micro-ondes : .....	36
II-3.1. Mécanisme de l'extraction : .....	40
II-3.1.1. La mise en solution des solutés : .....	41
II-3.1.2. Transfert de l'extrait de la surface de la matière végétale vers l'extérieur : .....	42
II-3.1.3. Les transferts par diffusion au sein de la matière végétale : .....	43
II-3.2. Facteurs influençant les performances de l'extraction : .....	43
II-3.2.1 Temps d'extraction : .....	43
II-3.2.2. Solide : .....	44
II-3.2.3. Solvant : .....	44
II-3.2.4. Température : .....	45
II-3.2.5. L'agitation : .....	45
II-3.2.6. L'humidité : .....	45
II-3.3. Modèle de diffusion dans la particule solide : .....	46
II-3.4. Travaux antérieurs sur la cinétique d'extraction : .....	47

<b>CHAPITRE III. La Matière Végétale :</b>	50
III-1- Description du Genévrier :	50
III.2. Aspect botanique de <i>juniperus oxycedrus</i> :	51
III.3. Origine:	52
III.4. Position systématique:	52
III.6. Morphologie et phénologie :	53
III.6.1 Appareil végétatif :	54
III.6.2. Appareil reproducteur :	55
III.6.3. Evolution phénologique :	57
III.7. Ecologie du genévrier oxycède :	57
III.7.1 Altitude :	57
III.7.2. Caractères édaphiques :	57
III.7.3. Caractères climatiques :	57
III.8. Utilisation :	57

<b>CHAPITRE IV : Extraction Des Concretes Et Des Huiles Essentielles (Optimisation, Modelisation)</b>	60
IV.1.Matière première végétale :	60
Origine :	61
IV.2.Optimisation des paramètres d'extraction :	61
IV.2.1Extraction par hydrodistillation :	61
IV.2.1.1.Description de l'appareillage :	61
IV.2.1.2.Influence de la charge de matière végétale traitée (Matière végétale sèche) : ....	62
IV.2.1.3.Influence du temps d'extraction sur le rendement en huiles essentielles (Matière végétale fraîche).....	63
IV.2.1.4. Influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle (Matière végétale sèche):.....	64
IV.2.1.5.Influence de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle :	65
IV.2.2.Extraction par entrainement à la vapeur d'eau :	66
IV.2.2.1.Description de l'appareillage :	66
IV.2.2.2.Influence de la charge de matière végétale (Etat sec) :	67
IV.2.2.3.Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huiles essentielles (Matière végétale fraîche) :	68

IV.2.2.4. Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huiles essentielles (Matière végétale sèche) .....	69
IV.2.3.1. Influence de la masse de la matière végétale sèche sur le rendement en oléorésine.....	72
IV.2.3.2. Evolution du rendement en concrètes avec la durée d'extraction : .....	73
IV.2.3.3. Influence de la nature du solvant sur le rendement en concrètes : .....	74
IV.2.3.4. Influence du volume du solvant sur le rendement en concrètes : .....	75
IV.3.1. Modélisation de la cinétique d'extraction des huiles essentielles de <i>juniperus oxycedrus</i> par HD et EVD : .....	77
IV.3.2. Modélisation de la cinétique d'extraction des concrètes de <i>juniperus oxycedrus</i> par SOXHLET : .....	81
<b>CHAPITRE V : Etude Analytique Et Biologique</b> .....	84
V.1. étude analytique de l'huile essentielle : .....	84
V.1.1. propriétés organoleptique de l'essence: .....	84
V.1.2. détermination des propriétés physico-chimique: .....	84
V.1.3. analyse chromatographie GC/SM : .....	85
V.2. étude biologique : .....	89
V.2.1. évaluation des activité antifongique et antibactérienne : .....	89
V.2.2. Activité antioxydante : .....	91
<b>Conclusion générale</b> .....	96
<b>Référence bibliographique</b> .....	100
<b>Les annexes</b>	
Annexe 1 .....	111
Annexe 2 .....	112
Annexe 3 .....	113
Annexe 4 .....	116
Annexe 5 .....	118

## Liste des figures

<b>Figure I.01 :</b> Quelques organes sécréteurs d'huiles essentielles.....	12
<b>Figure I.02 :</b> Composition biochimique d'huile essentielle.....	13
<b>Figure I.03:</b> Séparation par une chromatographie en phase gazeuse à deux dimensions CPG-CPG.....	20
<b>Figure II.01:</b> Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur.....	33
<b>Figure II.02.:</b> Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.....	34
<b>Figure II.03:</b> Extraction des huiles essentielles par solvant.....	36
<b>Figure II.04.:</b> Schéma d'extraction par solvant assistée par micro-ondes.....	37
<b>Figure II.05.:</b> Schéma du montage d'extraction selon le principe « VMHD ».....	38
<b>Figure II.06:</b> Schéma d'extraction selon le principe SFME .....	39
<b>Figure II.07. :</b> Schéma des processus de transfert dans l'extraction par entraînement à la vapeur.....	48
<b>Figure III.01 :</b> les espèces de juniperus trouvent dans la région méditerranéenne.....	51
<b>Figure III.02 :</b> Arbre de juniperus oxycedrus.....	54
<b>Figure III.03 :</b> Feuilles de <i>Juniperus oxycedrus</i> Rameaux : souples, étalés et anguleux....	55
<b>Figure III.04:</b> Rameaux de <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	55
<b>Figure III.05:</b> Pied mâle .....	56
<b>Figure III.06:</b> Pied femelle.....	56
<b>Figure III.07:</b> Baies de <i>Juniperus oxycedrus</i> .....	56
<b>Figure IV.01 :</b> Montage De Hydro distillation (type Clevenger).....	62
<b>Figure IV.02:</b> Evolution du rendement en huiles essentielles extraites par hydro distillation en fonction de la masse de la matière végétale.....	63
<b>Figure IV.03:</b> Evolution du rendement en huiles essentielles de <i>juniperus oxycedrus</i> frais extraites par hydrodistillation en fonction du temps d'extraction.....	64
<b>Figure IV.04:</b> Evolution du rendement en huiles essentielles de <i>juniperus oxycedrus</i> secs extraites par hydrodistillation en fonction de temps d'extraction.....	65
<b>Figure IV.05 :</b> Influence de la période de récolte sur le rendement en huiles essentielles de <i>juniperus oxycedrus</i> secs.....	66
<b>Figure IV.06 :</b> Montage D'entraînement a la vapeur d'eau (type Alambic).....	67
<b>Figure IV.07:</b> Impact de la masse de la matière végétale sur le rendement en huiles essentielles de <i>juniperus oxycedrus</i> sec extraite par entraînement à la vapeur d'eau.....	68
<b>Figure IV.08:</b> Evolution du rendement en huiles essentielles de <i>juniperus oxycedrus</i> frais extraite par entraînement à la vapeur d'eau avec la durée d'extraction.....	69
<b>Figure IV.09:</b> Evolution du rendement en huiles essentielles de <i>juniperus oxycedrus</i> sec extraite par entraînement à la vapeur d'eau en fonction de la durée d'extraction.....	70

<b>Figure IV.10 :</b> Montage D'extraction par solvant volatil (soxhlet).....	71
<b>Figure IV.11 :</b> Influence de la masse de la matière végétale sèche sur le rendement en oléorésine.....	72
<b>Figure IV.12 :</b> Evolution du rendement en concrètes en fonction de la durée d'extraction.....	74
<b>Figure IV.13 :</b> Influence de la nature du solvant sur le rendement en concrètes.....	75
<b>Figure IV.14 :</b> Influence du volume du solvant sur le rendement en concrètes.....	76
<b>Figure IV.15:</b> Allure de la courbe $\alpha = \alpha(t)$ propre à la cinétique d'extraction d'huiles essentielles de <i>juniperus oxycedrus</i> frais obtenues par HD.....	78
<b>Figure IV.16 :</b> Modélisation de la cinétique d'extraction des huiles essentielles de <i>juniperus oxycedrus</i> sec obtenues par HD.....	79
<b>Figure IV.17:</b> Allure de la courbe $\alpha = \alpha(t)$ propre à la cinétique d'extraction d'huiles essentielles de <i>juniperus oxycedrus</i> frais obtenues par EVD.....	79
<b>Figure IV.18:</b> Allure de la courbe $\alpha = \alpha(t)$ propre à la cinétique d'extraction des l'huile essentielle de <i>juniperus oxycedrus</i> sec obtenu par EVD.....	80
<b>Figure IV.19 :</b> Allure de la courbe $\alpha = \alpha(t)$ propre à la cinétique d'extraction de concrètes de <i>juniperus oxycedrus</i> sec par soxhlet.....	82
<b>Figure V.1 :</b> Activité anti-radicalaire de l'huile essentielle de <i>J. oxycedrus</i> et de l'huile de baies en utilisant le test DPPH. Chaque point de donnée représente la moyenne.....	92
<b>Figure V.2 :</b> changement d'absorbance du $\beta$ -carotène à 490 nm en présence des extrait du <i>juniperus oxycedrus</i> , BHT et le contrôle négatif.....	93
<b>Figure V.3:</b> activité antioxydante relative des extraits du <i>juniperus oxycedrus</i> , BHT et le contrôle négatif.....	93

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.01</b> : Activités biologiques de certains composés terpéniques.....	14
<b>Tableau IV.1</b> : Variation de $\alpha = \alpha(t)$ pour analyse de la cinétique d'extraction d'huiles essentielles de <i>juniperus oxycedrus</i> obtenues par HD et EVD.....	77
<b>Tableau IV.2</b> : Valeurs des constantes de vitesse $K_i$ pour les différentes techniques d'extraction d'huiles essentielles.....	81
<b>Tableau IV.3</b> : Valeurs des constantes de vitesse $K_i$ pour l'extraction des concrètes de <i>juniperus oxycedrus sec</i> par soxhlet.....	81
<b>Tableau IV.4</b> : Constantes de la cinétique d'extraction de concrètes par par soxhlet.....	82
<b>Tableau V.01</b> : propriétés organoleptiques de l'huiles essentielles.....	84
<b>Tableau V.02</b> : propriétés physico-chimique d'essence de <i>juniperus oxycedrus</i> .....	84
<b>Tableau V.3</b> : composition chimique des huiles essentielle de <i>juniperus oxycedrus</i> secs.....	85
<b>Tableau V.4</b> : composition chimique des huiles essentielle de <i>juniperus oxycedrus</i> frais.....	87
<b>Tableau V.5</b> : l'activité antifongique et antibactérienne des huiles essentielles extraites des feuilles et tiges de <i>Juniperus Oxycedrus</i> .....	90

# Introduction

## ***Introduction***

La nature cache de nombreuses merveilles qui passent souvent inaperçues. Depuis des milliers d'années, le vaste monde végétal fournit aux humains les éléments dont ils ont besoin pour survivre. En fait, cela lui a fourni de la nourriture, un abri et, surtout, des médicaments, en raison de leurs propriétés médicinales. Parmi cette végétation de plus en plus rare, on trouve le genévrier. C'est un conifère à feuilles persistantes du genre *Juniper* de la famille des Cupressaceae. Il en existe une soixantaine d'espèces dans le monde, dont quatre au Méditerrané. Il s'agit du *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus communis*, *Juniperus phoenicea* et *Juniperus thurifera*.

Le statut systématique du genévrier oxycède ne pose pas autant de problèmes que celui de ses cousins (genévrier commun et nain, genévrier sulfureux, genévrier phénicien). Trois sous-espèces ont été décrites pour des raisons géographiques et morphologiques : le taxon type *Juniperus oxycedrus* L. *oxycedrus*, avec de petites vésicules biliaires, trouvé dans le nord de la Méditerranée, et la grande sous-espèce « fruitée », *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball se trouve en milieu côtier dans les forêts du bassin méditerranéen, et en Afrique du Nord, où la troisième entité : *J. oxycedrus* ssp. *rufescens* (Lien) Deb. - possède également de petits fruits - responsables des populations "internes", notamment en zone montagneuse (Maimi, Flora of North Africa, 1952), les huiles essentielles (H.E.) constituent une de ces merveilles naturelles.

Les huiles essentielles sont connues et utilisées depuis plus de 7 000 ans et ont joué un rôle important dans la vie quotidienne des gens, les utilisant pour créer des parfums, aromatiser des aliments et même à des fins thérapeutiques. Ils proviennent et sont créés par la nature et sont entièrement constitués de molécules odorantes volatiles contenues dans les organes productifs des plantes aromatiques et des arbres, qui se situent au niveau des feuilles et des fleurs, mais comprennent également les graines, les racines et l'écorce. Chacune de ces parties crée une molécule différente des autres parties. L'utilisation des plantes et de leurs extraits a été largement étudiée dans les écrits des apothicaires au cours des derniers siècles. En revanche, surtout depuis les deux dernières décennies du XXe siècle, la naturopathie n'a cessé de se développer : la médecine naturelle est devenue de plus en plus crédible aux yeux de la communauté médicale.



La situation géographique de l'Algérie la favorise et lui offre une végétation variée et riche, qui contient une variété de plantes médicinales aromatiques trouvées dans la nature et poussant spontanément, contenant des huiles essentielles bénéfiques dans le traitement des infections fongiques, une qualité qui lui a conféré cela suscite un intérêt croissant depuis deux ans.

Suivant les mérites de la flore algérienne et dans le cadre de sa valorisation, nos recherches portent sur les espèces de Cupressacées, une des familles végétales utilisées mondialement comme épices et extraits, aux fortes capacités antimicrobiennes. La plante objet de cette étude est une espèce de genévrier (*Juniperus oxycedrus*), une plante abondante de la région du sud de Mostaganem (Ben Abdelmalek Ramdan), largement utilisée mais peu étudiée.

Dans cet étude l'extraction des HE est destiné pour la production des produits médicinaux est de prévoir la possibilité de développer cette culture que nous proposons par une perspective à développer à un autre secteur des forêts à travers d'autres recherches dans la spécialité, Par conséquent création d'emploi

Ceci nous a amené à nous pencher sur l'étude des activités antifongique, antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Juniperus oxycedrus* locale. Notre étude sera donc répartie en cinq chapitres initiés par une recherche bibliographique

Dans le premier chapitre de cette thèse, nous présentons un bilan bibliographique des connaissances sur l'histoire de l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales au cours des siècles, ainsi nous évoquons les huiles essentielles.

Le second chapitre est consacré à différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles.

Le troisième chapitre, un rappel théorique sur la description botanique de la plante.

Le quatrième chapitre sera consacré à une première approche expérimentale de l'extraction par divers procédés et l'étude de l'influence des principaux facteurs impliqués dans ces procédés d'extraction (séchage, saison de récolte, la masse de la matière végétale...) et la deuxième partie de ce chapitre l'étude de la cinétique d'extraction des huiles essentielles et de concrète de *Juniperus oxycedrus*. Le dernier chapitre élucide la composition chimique des huiles essentielles, les activités biologiques (antifongique, antibactérienne) et antioxydants donnent leurs relations avec les radicaux libres de deux

groupes importants des métabolites secondaires produit par cette plante et qui sont les huiles essentielles et les extraits.

Sur la base de ces connaissances, des comparaisons qualitatives et quantitatives des huiles essentielles obtenues par les trois méthodes peuvent être effectuées.

Nous terminons par une conclusion et quelques recommandations.

# Première Partie

## Etude théorique

# Chapitre I

## CHAPITRE I : Synthèse Bibliographique

### I.1. les plantes et la médecine :

#### I.1.1 Historique :

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, non seulement à des fins domestiques et alimentaires, mais ont également été utilisées pendant des siècles comme médicaments pour traiter les maladies humaines car elles contiennent des composants à valeur thérapeutique. Plus récemment, l'acceptation de la médecine traditionnelle comme une forme alternative de santé et le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles ont incité les auteurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales [Adams, 1998], et en raison de la prise de conscience croissante que de nombreux médicaments modernes rechercher une thérapie normale avec des effets secondaires, et bien sûr le coût élevé de la médecine conventionnelle (**Adams, 2004**).

Les grands médecins grecs, notamment Hippocrate (Ve siècle av. J.-C.), utilisaient des anesthésiques, des laxatifs ou des émétiques. Théophraste (370-285 av. J.-C.) dans son *historia plantarum* (**montagne ; 1999**)

A l'apogée de l'empire arabe, dont les frontières s'étendaient de l'Inde à l'Espagne, tous les documents écrits étaient concentrés dans ce qui était alors la plus grande bibliothèque de Bagdad (VIIe-IXe siècles). Les Arabes avaient aussi leur spécialiste en médecine et en pharmacie : Abu Bakr al-Razi ou Rhazé (865-925), l'un des plus grands médecins de son temps et un pionnier de la psychothérapie. Il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne (980-1037), qui écrivit le "Canon de la Médecine". Ce livre servira de base à l'enseignement médical aux Universités de Louvain et de Montpellier jusque vers 1650. Ibn al baytar (1197-1248) a écrit un bref résumé très complet : le livre contient une liste de 1400 préparations et plantes médicinales dont un millier étaient connues des auteurs grecs (**Montagne, 1999**)

Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs

nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux **(Tchamdja, 1995)**.

Il était donc bien normale que, avec la nécessité d'instaurer de nouveaux rapports entre l'homme et le monde qui l'entoure, les produits naturels reviennent à la mode, aussi bien les aliments que les plantes médicinales, les « simples » des premiers temps de la médecine. Et le nombre même d'ouvrages consacrés à ces plantes, publiés au cours de ces dernières années, est une preuve certaine qu'il s'agit bien là d'un besoin réel de l'homme moderne.

### **I.1.2. Les plantes :**

#### **I.1.2.1. Les plantes aromatiques :**

Ils appartiennent à la fois au domaine des plantes médicinales et aux matières premières industrielles d'origine végétale, source de substances naturelles complexes. Elles sont conçues pour conférer des propriétés organoleptiques spécifiques aux aliments, les plantes aromatiques fraîches, séchées ou conservées peuvent être utilisées pour aromatiser les plats et peuvent également être produites sous forme de préparations botaniques spécifiques telles que des extraits de plantes, des huiles essentielles ou des oléorésines **(Belaib, 2012)**.

#### **I.1.2.2. Les plantes médicinales :**

On appelle plantes médicinales ou pharmaceutiques celles qui, après avoir été séchées ou traitées, interviennent dans la préparation des médicaments. On appelle aussi plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces peuvent avoir des actions très différentes suivant leur préparation **(Shawenberg, 1977)**.

### **I.1.2. Domaines d'application des plantes médicinales :**

Les substances naturelles extraites des plantes sont utilisées dans diverses industries : alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Parmi ces composés, nous avons largement retrouvé des métabolites secondaires qui ont été spécifiés en thérapeutique.

Les pharmacies utilisent encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale, la recherche pour découvrir de nouvelles molécules actives dans les plantes, ou des matières premières pour l'hémi-synthèse. **(Bhorun, 1997)**.

Bien que les Égyptiens et les Chinois aient eu une connaissance des plantes, l'aromathérapie ne s'est vraiment développée qu'au siècle dernier, et principalement en France, où Gatte Ditch a publié un livre intitulé Aromathérapie en 1931, Il décrit ses expériences et ses découvertes. Il a également été le premier à montrer la relation entre la structure et l'activité des composants des arômes et à codifier les principales propriétés des arômes naturels (antitoxique, antiseptique, conditionnant, stimulant, sédatif).

Le Docteur Jean Valnet est à l'origine de la nouvelle vague d'intérêt du grand public pour l'aromathérapie, mais ses travaux - très intéressants lors de leur sortie - ont depuis été approfondis par Franchomme. On compte environ 800 000 espèces botaniques mais toutes ces espèces ne seront pas utilisées en aromathérapie.

- **On distingue parmi ces espèces :**

➤ Les plantes aromatiques, c'est-à-dire les plantes riches en molécules aromatiques. Seules 200 à 300 espèces seront utilisées car beaucoup sont encore mal connues et leurs attributs mal définis.

- Plantes aromatiques inexploitées : du fait de leur toxicité :
- en raison d'un manque de connaissance aromatologique des propriétés spécifiques • Parce que lorsque les molécules aromatiques des plantes peuvent être extraites par distillation à la vapeur, il y a très peu de parfum contenu. Ces plantes seront utilisées dans les industries de la parfumerie (des centaines) et de l'agroalimentaire sous forme de fragrances non biologiques. Les molécules seront extraites à l'aide de solvants organiques ou de supports lipidiques (méthode d'enfleurage).

➤ Les plantes sans fragrance particulière à l'état naturel. Le parfum peut parfois se révéler lors d'une transformation enzymatique : *Betula lenta* (bouleau) ou *Brassica nigra* (moutarde noire) avec des molécules aromatiques très spécifiques rendant leur utilisation difficile. **[web]**

**A- Utilisation en médecines en tant que médicament pour l'homme :**

- En urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatif, sommeil et désordres nerveux [Svoboda et Hampson, 1999].

- Système cardiovasculaire, par exemple Flavoce est un médicament flavonoïde non substitué utilisé en association avec la rutine et l'isoquercétine pour le traitement de l'athérosclérose [Narayana et al., 2001].

- Drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires (*Melaleuca alternifolia*, *Echinacea angustifolia*, *Chrysanthemum parthenium*, *Achillea millefolium*,...etc.) (Svoboda et al, 1999) ; (Pedneault et al., 2001) ; (Amjad Hossain,2005).

- Contre le diabète (*Azadirachta indica*) (Amjad, 2005).

- Troubles de stress, activité antioxydante, par exemple le thé noir, le thé vert et le cacao sont riches en composés phénoliques dont les théaflavines, le resvératrol, les proanthocyanidines galliques et Le rôle des agents préventifs a été largement étudié (Lee et al., 2005). Il a été démontré que les huiles essentielles de romarin, sauge, thym, origan, sarriette, clou de girofle, gingembre et curcuma ont d'excellentes capacités à inhiber les réactions d'oxydation (Cuvelier et al 1990, 1996).

- Activités antibactériennes, antivirales, antiparasitaires : Les produits naturels des plantes depuis l'Antiquité se sont avérés utiles dans la découverte du "*Cinchona*" qui a été utilisé avec succès dans le traitement du paludisme (Dastidar et al., 2004), *Melaleuca alternifolia* Connu pour ses propriétés : antibactérienne, anti-infectieuse, antifongique, antivirale (Svoboda et al, 1999), également antivirale (*neem*, *aloe vera*, *andrographis paniculata*, *morelle*, *astragale*, *curcuma*...etc.) (Amjad, 2005) ; Mais aucune des plantes n'était aussi efficace que les antirétroviraux pour prévenir la réplication du VIH (Lyons et Nambiar, 2005), antibactérien ( *Azadirachta indica*), antifongique (*Adenocalym alleaceum*, *Allium ampeloprasum*, *Allium ramosum*, *Allium sativum*, *Tulbaghia violacea*, *Capsicum annum*, *Capsicum chinense*, *capsicum frutescens*) (Wilson et al.,1997).

## B- L'utilisation en agriculture :

Par exemple, *L'arbre Azadirachta indica*, que l'on trouve dans tout le sous-continent indien et qui est l'une des plantes médicinales les plus importantes du



Bangladesh, atteint une hauteur de 12 à 18 mètres et une circonférence de 1,8 à 2,4 mètres. L'huile de cet arbre est utilisée en agriculture pour lutter contre divers insectes et nématodes (parasites) **(Amjad, 2005)**.

#### C- L'utilisation en alimentation :

Arômes, boissons, composés colorants et aromatisants **(Smallfield, 2001)**. Les épices et les herbes aromatiques ont été et sont toujours étroitement associées à leurs propriétés organoleptiques. **(Svoboda et al, 1999) ; (Porter, 2001)** Le concept de saveur des épices et des herbes englobe celui qui provient d'une grande variété de composés organiques, dont certains sont volatils et constituent ce que l'on appelle communément les huiles essentielles, et d'autres qui sont non volatils et sont responsables, entre autres, de saveur et couleur. **(Richard et Multon, 1992) ;( Takeoka, 1998) ; (Belitz et Grosch, 1999)**.

#### D- L'utilisation en cosmétique :

les extraits de plantes médicinales ou les huiles essentielles dans les produits cosmétiques commercialisés. Tous les extraits de plantes médicinales peuvent être utilisés dans les produits cosmétiques (Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène), tant qu'ils répondent aux exigences de la Règlementation commune pour tous les ingrédients à usage cosmétique. **(Porter, 2001)**.

## I.2. Séchage et conservation des plantes médicinales :

Le séchage et le stockage de la drogue nécessitent les mêmes soins que la récolte si la drogue ne perd pas ses qualités médicinales **(Thuzova, 1981)**.

Les propriétés médicinales des plantes dépendent du terrain, du climat, de l'altitude et éventuellement de nombreux autres facteurs. Nous privilégierons les plantes de certains pays ou régions connues pour leurs propriétés médicinales.

Pour les conserver, ils sont séchés au soleil, au four, au four, au sèche-linge ou dans un grenier ventilé selon les cas. Ils enlèvent les corps étrangers, les parties mortes ou altérées avant de sécher les plantes.

En principe, les racines doivent être séchées à l'air sec et stockées à l'abri de l'humidité. Les racines charnues sont finement tranchées, brochées et séchées au four. Les racines de vase sont séchées au four.

L'écorce et le bois sèchent au soleil ou au four, à l'abri de l'humidité..

Les fleurs, les feuilles et les semences doivent être séchées à l'ombre dans un grenier ou une pièce à atmosphère sèche. On les étendra sur des claies ou on les suspendra en petits paquets isolés et on les conserve dans des boîtes en bois, en carton ou dans des sachets de papier, dans un endroit sec (**valnet1983**).

### I.3.Les huiles essentielles :

#### I.3.1. Définition :

L'huile essentielle est un extrait obtenu par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, de plantes entières ou de parties de plantes aromatiques, et constituée exclusivement (ou presque) de molécules huileuses, volatiles et odorantes. L'huile essentielle est donc l'essence distillée. Elle est liposoluble, c'est-à-dire qu'elle se mélange avec des corps gras et de l'alcool.

L'AFNOR définit l'huile essentielle comme :«Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau soit par des procédés mécaniques, l'huile est ensuite séparée de phase aqueuse par des procédés physiques» (**AFNOR 2000, 1986**).

L'essence aromatique est un produit localisé dans la vésicule aromatique des plantes :

- Obtenu par incision : le tronc de l'arbre ou de la plante est lésé. Le produit de sécrétion est recueilli, puis distillé.
- Obtenu par expression végétative : les écorces d'agrumes sont (essentiellement) broyées ou passées au râpe. Récupérez les jus colorés qui contiennent des arômes et autres produits. L'essence sera séparée des autres produits car on sait que certains pigments peuvent rester pour colorer l'essence. Les hydrolats aromatiques (HA) ou hydrolats sont obtenus en distillant des plantes entières ou des parties de plantes sous basse pression avec de la vapeur d'eau pendant une durée déterminée. C'est une solution

naturelle de molécules aromatiques solubles dans l'eau. Les hydrolats sont utilisés comme produits d'hygiène, comme compléments alimentaires pour corriger la topographie. Dans cette optique, il se prend par voie orale à raison de 1 à 4 cuillères à soupe par jour. La durée peut se faire sur de longues périodes ininterrompues, ou renouvelée deux fois par an sous forme de cures d'un à deux mois. Il n'y a aucun danger de dépasser cette dose pendant une courte période de temps. ([www.info-senior.com](http://www.info-senior.com))

### I.3.2. Répartition, localisation, composition biochimique et fonction des huiles essentielles :

#### ➤ Répartition

Les huiles essentielles sont situées dans de minuscules glandes dans différentes parties des plantes aromatiques :

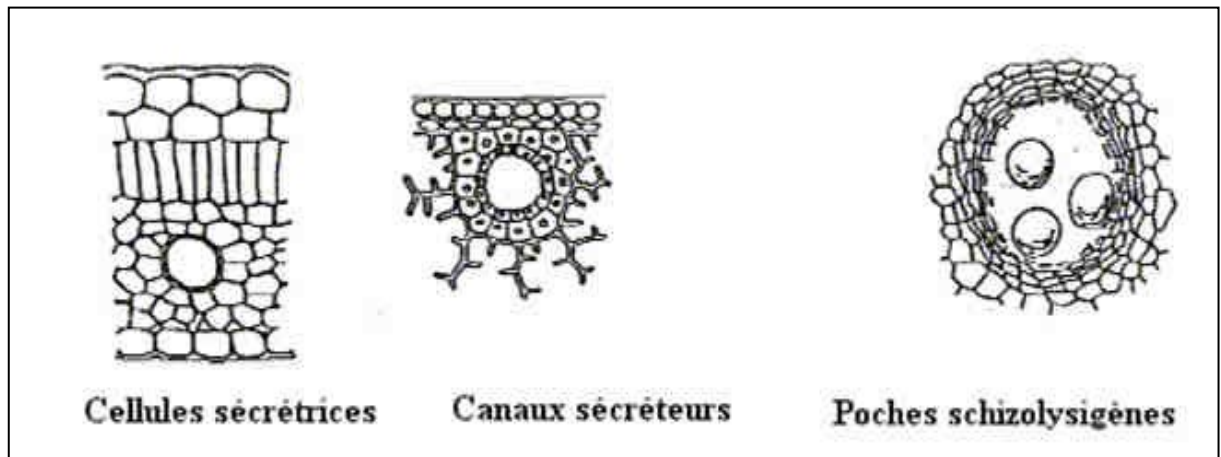
- ✓ Dans les feuilles comme pour le basilic
- ✓ Dans les fleurs comme chez la rose.
- ✓ Dans le fruit comme chez le citron
- ✓ Dans les graines comme pour la coriandre
- ✓ Dans l'écorce comme pour la cannelle
- ✓ Et pour certaines plantes c'est dans les racines

Si tous les organes d'une même espèce contiennent une huile essentielle, la composition de cette dernière varie selon sa localisation. (**Amri, 2001**).

#### ➤ Localisation

Les huiles essentielles sont situées dans le cytoplasme de certaines cellules végétales sécrétrices situées dans un ou plusieurs organes de la plante, souvent à/ou près de la surface. Ces structures peuvent être (**Mainebau, 1994**).

- ✓ Conduits sécrétoires (conifères).
- ✓ Peut être des cellules sécrétoires épidermiques ou internes isolées. Poils sécrétoires externes (labiales, géranium) ou internes (eucalyptus). Ils varient en taille, mur ou contenu, et sont parfois caractéristiques d'une maison particulière. Ils jouent un rôle important dans la détermination des conditions d'extraction des produits volatils qu'ils contiennent. (**Paris et Moyses, 1967**).



**Figure I.01 :** Quelques organes sécréteurs d'huiles essentielles

### ➤ Composition biochimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents, Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes (**Bakkalif et al., 2008**). Seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, y sont rencontrés soit, les monoterpènes (myrcène,  $\alpha$ -pinène,  $\gamma$ -terpinène, sabinene, etc.) et les sesquiterpènes ( $\beta$ -caryophyllène,  $\alpha$ -humulène,  $\beta$ -bisabolène, etc.) fig 3

Rappelons ici que les terpènes sont des composés issus du couplage de plusieurs unités « isopréniques » ( $C_5H_8$ ), soit deux unités pour les monoterpènes ( $C_{10}H_{16}$ ) et trois unités pour les sesquiterpènes ( $C_{15}H_{24}$ ). Ils ont la même origine métabolique. Ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques des huiles essentielles (**Bekhechi et al., Kloustian et al., Rota et al., 2008**).

Exceptionnellement, quelques diterpènes ( $C_{20}H_{32}$ ) peuvent se retrouver dans les huiles essentielles (**Bakkalif et al., 2008**) ; (**Lahlou., 2004**) ; (**Lee et al., 2005**). La réactivité des cations intermédiaires obtenus lors du processus biosynthétique des mono- et sesquiterpènes explique l'existence d'un grand nombre de molécules dérivées fonctionnalisées telles que des alcools (*géraniol,  $\alpha$ -bisabolol*), des cétones (*menthone, carvone, verbénone,  $\beta$ -vétivone*), des aldéhydes (*citrinelle, sinensal*), des esters (acétate d' $\alpha$ -terpinyle, acétate de cédryle), des phénols (*thymol*), etc.

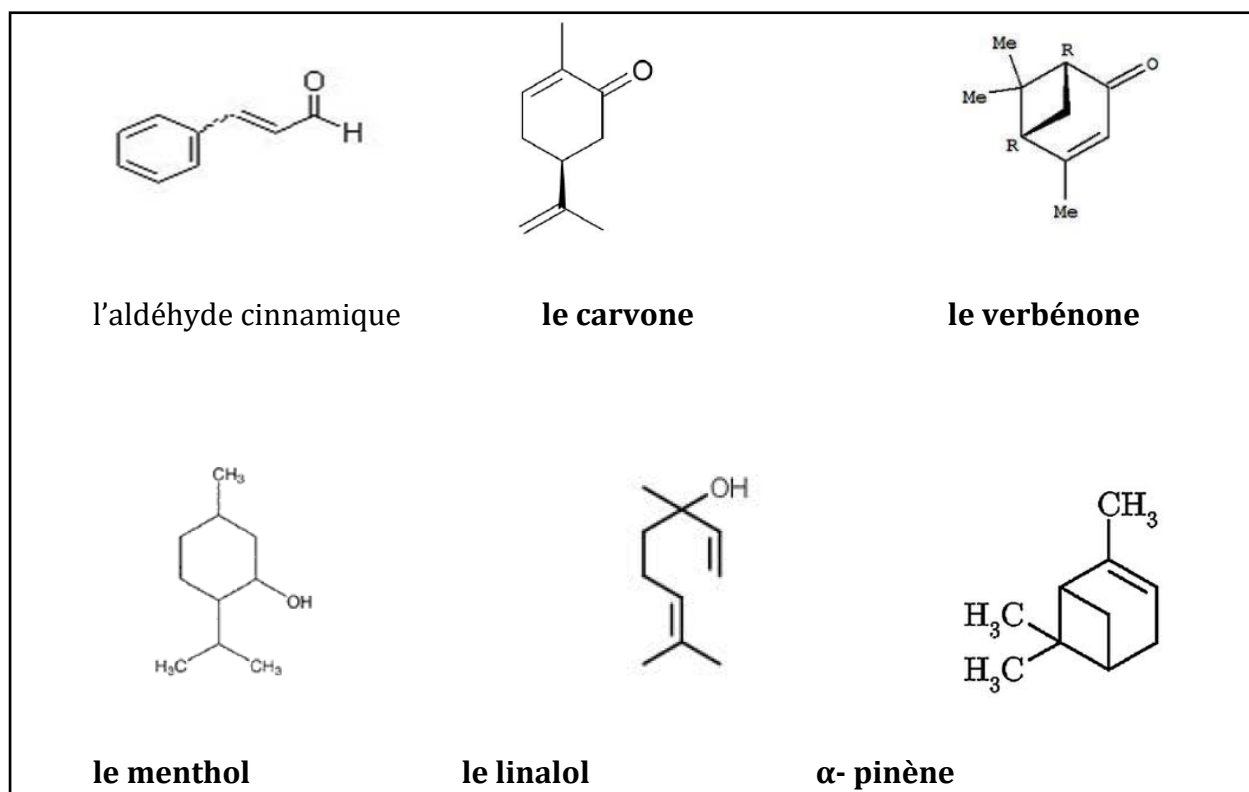


Figure I.02 : Composition biochimique d'huile essentielle

Plus de 22.00 composés isopréniques ont été répertoriés, mais seul un petit pourcentage d'entre eux a été étudié dans la perspective d'évaluer leurs rôles fonctionnels (**Vandermoten et al., 2008**).

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du *phénylpropane*, qui empruntent une voie biosynthétique différente de celle des terpènes (**Bakkalif et al., 2008**). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la *vanilline*, *l'eugénol*, *l'anéthole*, *l'estragole*, et bien d'autres. Ils sont caractéristique de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, etc. (**Bakkalif et al., 2008 ; Bruneton, 1999**).

Les dérivés *phénylpropanoïques* et les *terpénoides* sont associés en nombre et en proportions très variables de telle sorte que le produit est hétérogène et complexe sur le plan chimique. Ils sont biosynthétisés au des mêmes organes sécréteurs ou ils forment l'essence naturelle (**Bakkalif et al., 2008**).

Enfin, existe un nombre non négligeable de composés volatils issus de la dégradation, de terpènes non volatils ( c'est le cas par exemple des ionones qui

proviennent de l'auto-oxydation des carotènes) et d'acides gras (les petites odorantes, comme par exemple le (3Z)-hexén-1-ol ou le décanal, qui sont obtenues à partir des acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique) (Mebarki, 2010).

Ces substances sont dotées de certaines activités résumées dans le tableau1

**Tableau I.01 : Activités biologiques de certains composés terpéniques**

Familles	Exemples	Propriétés	Références
<b>Hydrocarbure aliphatique Monoterpènes</b>	Limonene (carvi, pin). A et $\beta$ -pinène (sapin)	Fongistatique Bacterostatique Insecticide Nematicide Antimutagenique Herbicide Stimulation générale	<b>(Gherman et al., 2000)</b>
<b>Sesquiterpènes</b>	Bisabolème, alpha-humulème, bita-caryophyllène (pin)	Calmants Anti-inflammatoire Anti-allergique Antibactériens et antifongique	<b>(Dorman et Deans, 2000)</b>
<b>Phénols</b>	Thymol (thym), carvacrol (origan), eugénol (clou de girofle)	Antioxydant Stimulantes Toniques Antiseptiques Bactéricides Fongicides Anti-virale Antiparasitaires Irritantes	<b>(Loziene et al., 2007)</b> <b>(Lee et al., 2005)</b> <b>(Schwammle et al., 2001)</b> <b>(Tepe et al 2001)</b> <b>(Michiels et al., 2007)</b>

			(Botelho et al 2007)
<b>Alcool monoterpéniques</b>	Linalol (bois de rose), géraniol (palmarosa), menthol (menthe poivrée), citronellol (citronelle	Antiseptiques Bactéricides Fongicides Anti-virale Anti-allergique Immunostimulants Neurotoniques	(bagamboula et al 2004)  (Gherman et al 2000) (Dorman et Deans 2000 )
<b>Alcool sesquiterpéniques</b>	Bisabolol (matricaire), viridiflorol (niaouli), cadrol (cyprés)	Toniques et stimulants généraux Décongestionnants veineux et lymphatiques	(Dorman et Deans 2000 )
<b>Aldehydes terpénique</b>	Ciral (mélisse citronnée), citronellal (citronelle, eucalyptus citronne) géraniale (verveine citronnée)	Anti-fongique Sporicidas Insecticide Antihypertensifs Anti-inflammatoire	(Dorman et Deans, 2000 )
<b>Cétones</b>	Carvone (carvi), menthone (menthe poivrée), camphre (romarin), thuyone (sauge)	Calmantes Antivirales Antifongiques Neurotoxiques Anti-épileptiques Dépresseurs à dose élevées	(Lahlou, 2004)

### I.3.3. Critères de qualité :

L'huile essentielle utilisée en thérapeutique doit posséder de nombreux critères de qualité (Baudoux et Zhiri, 2009) :

**- L'espèce botanique :**

La certification botanique doit apparaître selon la nomenclature internationale sous son nom latin précisant le genre, l'espèce et la sous-espèce. Il existe par exemple deux espèces de sauge : la sauge officinale (*Salvia officinalis*) et la sauge sclérée (*Salvia sclarea*), qui peuvent être vendue toutes les deux sous l'appellation d'essence de sauge. La première, riche en cétones neurotoxiques, peut provoquer des crises d'épilepsie, alors que la seconde possède des esters aromatiques anti-épileptisants (AF.SSA.P.S).

**-L'organe producteur :**

Selon la partie de la plante (feuilles, fleurs...) distillée (ou exprimée pour les zestes de Citrus), il peut exister plusieurs huiles essentielles pour la même plante avec des compositions chimiques et des activités différentes. Par exemple, pour la cannelle de Ceylan, l'huile essentielle peut être extraite de ses feuilles et de son écorce. Ainsi, l'huile essentielle provenant de l'écorce a des propriétés plus marquées que celle extraite des feuilles.

**-L'origine géographique :**

Cela permet de connaître l'environnement dans lequel grandit la plante et de caractériser ainsi l'huile essentielle obtenue. Il y a des différences de composition chimique selon le pays d'origine.

Une même plante grandissant dans des lieux différents avec changement de situation géographique (altitude et latitude), avec variation de la nature du sol, peut produire des huiles essentielles différentes. Par exemple, le thym vulgaire à géraniol ne produit cette molécule de géraniol qu'en hiver alors que l'acétate de géranyle la remplacera en été. (Franchomme et al., 2001 ; AF.SSA.P.S)

**- Le mode de culture :**

Il définit si la plante est cultivée ou sauvage. Il est souvent représenté par un label si la plante provient d'une culture biologique. Les seuls labels autorisés sont ceux délivrés par le Ministère de l'Agriculture.

Il en existe plusieurs :



-le label BIO garantie une huile essentielle certifiée par l'organisme Ecocert afin de garantir l'origine biologique de l'huile essentielle.

-une huile essentielle possédant un label ECOCERT est une huile essentielle soumise au contrôle régulier d'un organisme de certification agréé par les pouvoirs publics.

-le label H.E.B.B.D. c'est-à-dire Huile Essentielle Botaniquement et Biochimiquement Définie signifie que l'huile essentielle possède un bulletin d'analyse établi avec le C.N.R.S. C'est un label de qualité des huiles essentielles.

- le label A.B. correspondant à Agriculture Biologique, certifie que l'huile essentielle possède au minimum 95% d'ingrédients issus de l'agriculture biologique, c'est-à-dire cultivée sans engrais, ni pesticides, et ne contenant pas d'O.G.M.

- **Le chémotype :**

Il définit la molécule aromatique révélatrice des principales propriétés thérapeutiques de l'huile essentielle. Une plante de même variété botanique peut produire des huiles essentielles de compositions chimiques différentes selon son origine, son pays, son climat, son sol. Une huile essentielle peut contenir de 25-100 molécules biochimiques différentes. Ce qui explique la polyvalence d'action des huiles essentielles. **(Baudoux et Zhiri, 2009)**

#### **I.3.4. Conservation des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans pour les H.E.C.T par exemple. Seules les essences de Citrus se gardent un peu moins longtemps (trois ans).

Les huiles essentielles sont volatiles, Les flacons sont en verre coloré ou en aluminium et sont bien fermés par un bouchon étanche ne permettant pas l'évaporation. Les huiles se conservent entre 5 et 35 °C, à l'abri de la lumière.

Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles **(norme AFNOR NF T 75-001, 1996)** ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HE **(norme NF 75-002, 1996)**.

### I.3.5. Réglementation :

L'Afssaps a publié des « Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles » **(A.F.SSA.P.S)**.

De celles-ci il en ressort que les médicaments à base d'huiles essentielles n'ont pas de réglementation spécifique mais doivent être conformes à la réglementation des médicaments à base de plantes. « Les médicaments à base de plantes sont des médicaments dont les principes actifs sont exclusivement des drogues végétales et/ou des préparations à base de drogue(s) végétale(s) ».

Certaines huiles essentielles ne peuvent être vendues en l'état et le Code de la Santé Publique de France précise dans l'article L.4211-1 6° que « la vente au détail et toute dispensation des huiles essentielles dont la liste est fixée par décret, ainsi que leurs dilutions et préparations ne constituant ni des produits cosmétiques, ni des produits à usage ménager, ni des denrées ou boissons alimentaires appartiennent au monopôle pharmaceutique. » (annexe1)

Il existe seize huiles essentielles ne pouvant être vendues que par les pharmaciens du fait de leur toxicité comme les huiles essentielles d'armoise ou d'absinthe.

### I.3.6. Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles :

Une fois l'extrait le plus représentatif obtenu, l'analyse permet d'identifier et de quantifier les produits qui le composent. Les progrès des méthodes analytiques permettent d'identifier rapidement un très grand nombre de constituants.

#### I.3.6.1. Chromatographie en phase gazeuse monodimensionnelle :

La séparation et l'identification des constituants volatils d'un extrait présente bien moins d'alternatives que sa préparation. En effet, la CPG est la méthode de référence dans l'analyse des huiles essentielles et des COVs **(Lehotay et al., 2002)** ; elle permet l'analyse de mélanges, qui peuvent être très complexes, de nature et de volatilité très variées **(Arpino et al.,1995)**.

### I.3.6.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG/O) :

Les huiles essentielles obtenues renferment très souvent des centaines de composés volatils. Le couplage CPG/O combine la séparation des composés volatils par CPG avec l'évaluation olfactive. En sortie de colonne, une partie des composés élués est envoyée vers un cône de détection nasale qui permet l'évaluation olfactive en même temps que l'enregistrement du chromatogramme. Tous les types de détecteurs peuvent être utilisés en parallèle au port d'olfaction, mais ce sont les détecteurs FID ou de masse qui sont les plus fréquemment utilisés.

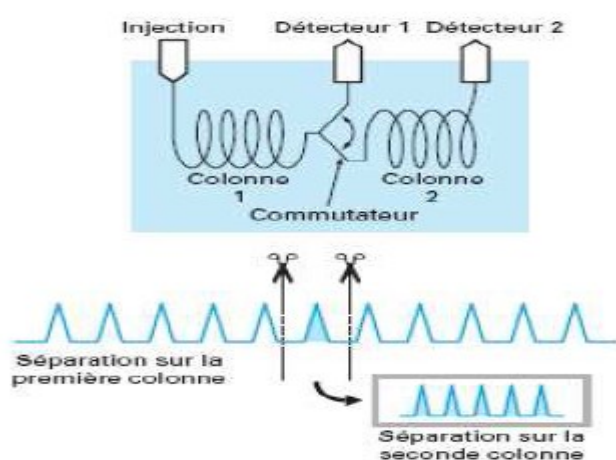
Afin d'éviter l'inconfort dû aux effluents chauds et la déshydratation de la muqueuse nasale qui conduit à une perte de sensibilité, de l'air humide est ajouté en sortie de cône (**Hanaoka et al., 2000**). L'opérateur enregistre ses données olfactives grâce à divers dispositifs de saisie (bouton presseur, curseur, enregistrement vocal) reliés à un ordinateur. La CPG/O trouve de nombreuses applications tant en Recherche et Développement qu'en Contrôle Qualité.

En effet, un certain nombre de composés à odeurs négatives (off flavour) ne sont pas détectés par les instruments classiques. Dans ce cas, la CPG/O est un moyen très efficace pour les mettre en évidence grâce au faible seuil de perception du nez humain. Deux types de données peuvent être obtenus lors d'une analyse CPG/O. Tout d'abord la sensation perçue par l'évaluateur qui est décrite à l'aide d'un descripteur et l'intensité de la perception. Chromatographie en phase gazeuse à deux dimensions La chromatographie bidimensionnelle consiste à coupler deux colonnes de polarités différentes pour avoir une séparation parfaite. Cette méthode est appliquée aux mélanges complexes présentant de nombreuses co-élutions. Parmi les méthodes de chromatographie à deux dimensions, on distingue la méthode dite par piégeage « heart-cutting », notée CPGCPG (**Dunn et al., 2004**), de la chromatographie totale, notée GC×GC (**Dugo et al., 2005**)

### I.3.6.3. Chromatographie à deux dimensions heart-cutting CPG/SM :

La CPG-CPG était la première méthode de chromatographie bidimensionnelle (**Dunn et al., 2004**). Cette méthode consiste à sélectionner une fraction du chromatogramme qui est mal résolu sur la première colonne pour la séparer sur la seconde colonne. Cette méthode consiste à utiliser deux colonnes, deux détecteurs et

un système de piégeage (figure 8). Le plus souvent, la première colonne est une colonne apolaire (PDMS) de dimensions classiques. La seconde colonne est alors polaire (PEG), mais bien plus courte et de plus faible diamètre pour permettre une élution rapide. Il est également fréquent d'utiliser une colonne chirale comme seconde colonne (**Marriott et al., 2003**). Les deux colonnes peuvent être placées dans le même four ou non. Le piégeage d'une fraction à la sortie de la première colonne se fait le plus souvent à l'aide d'une trappe cryogénique. Elle permet de stocker les composés élués de la fraction jusqu'à ce que la seconde colonne soit disponible pour l'analyse.



**Figure I.03:** Séparation par une chromatographie en phase gazeuse à deux dimensions CPG-CPG

#### I.3.6.4. Chromatographie totale CPG-2D :

La chromatographie totale, ou Chromatographie compréhensive GC×GC, permet d'étudier tous les composés élués de la première colonne sur la seconde, non pas comme la CPG-CPG où une fraction subit une séparation sur la deuxième colonne. Elle a pour principe l'injection continue de petites fractions éluées de la première colonne dans la seconde (**Beens et al., 2005**). Tout comme dans la CPG-CPG, on utilise deux colonnes de polarités différentes, la seconde ayant une dimension beaucoup plus faible (0,5 à 1,5 m, diamètre interne compris entre 0,1 et 0,25 mm, épaisseur de film de 0,1  $\mu\text{m}$ ) (**Dalluge et al., 2003**). Par conséquent, différentes fractions ont été analysées, chacune donnant un petit chromatogramme. Tous les chromatogrammes enregistrés lors de l'analyse sont représentés dans un tracé bidimensionnel, souvent

appelé tracé de contour, dans lequel l'abondance des composés détectés est représentée par des couleurs variables. À l'heure actuelle, le seul détecteur de masse parfaitement adapté au couplage à la CPG-2D est le détecteur de masse à temps de vol (GC×GC/TOF-MS). Ce spectromètre possède la vitesse d'acquisition des spectres (> 500 Hz), autorisant l'enregistrement de 10 à 20 spectres par pic, nécessaire au couplage à la CPG-2D.

### I.3.7. Les principales propriétés des huiles essentielles :

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés. (**Purchon, 2005 ; Willem 2002**)

#### 1.3.7.1. Anti-infectieuses :

##### - Antibactériennes :

Les molécules aromatiques possédant l'activité antibactérienne la plus importante sont les phénols contenus par exemple dans l'huile essentielle de clou de girofle.

##### -Antivirales :

Les virus sont très sensibles aux phénols et aux huiles essentielles *monoterpénol*. Plus d'une douzaine d'huiles essentielles ont des propriétés antivirales. On peut citer l'huile essentielle de *Ravintsara*, l'huile essentielle de Bois de Hô ou encore l'huile essentielle de Cannelle de Ceylan.

##### -Antifongiques :

Les huiles essentielles utilisées pour leurs propriétés antifongiques sont les mêmes que celles citées précédemment cependant la durée du traitement sera plus longue. Par exemple, les huiles essentielles de Cannelle, de Clou de girofle ou de Niaouli sont des antifongiques.

##### - Antiparasitaires :

Les molécules aromatiques contenant des phénols ont un fort effet sur les parasites. Les Huiles Essentielles de Linalol, de Thym et de Montagne sont d'excellentes huiles essentielles antiparasitaires.

##### - Antiseptiques :

Les propriétés antiseptiques et désinfectantes sont souvent retrouvées dans les huiles essentielles possédant des fonctions aldéhydes ou des terpènes comme l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*.

**- Insecticides :**

Certaines huiles essentielles sont insectifuges ou insecticides, comme celles à fonctions aldéhydiques, comme l'eucalyptus citronné ou le citronellal présent dans la citronnelle.

**-antioxydant:**

Un antioxydant, comme son nom l'indique, est une substance chimique synthétique ou naturelle qui empêche ou inhibe l'oxydation de type radicalaire des corps gras.

**I.3.7.2. Anti-inflammatoires :**

Les huiles essentielles possédant des aldéhydes ont des propriétés actives contre l'inflammation par voie interne comme l'huile essentielle de Gingembre.

**I.3.7.3. Régulatrices du système nerveux :**

**-Antispasmodiques :**

Les huiles essentielles possédant des esters ou des éthers possèdent une action sur les spasmes des muscles lisses ou striés comme l'huile essentielle d'Hélichryse.

**-Calmantes, anxiolytiques :**

Les aldéhydes type citrals contenu par exemple dans l'huile essentielle de Mélisse ou celle de Verveine citronnée favorisent la détente et le sommeil.

**- Analgésiques, antalgiques :**

Les huiles essentielles les plus connues pour leur action antalgiques sont les huiles Essentielles d'*Eucalyptus citronné*, de Gingembre, de Lavande vraie.

**I.3.7.4. Drainantes respiratoires :**

**-Expectorantes :**

Les huiles essentielles riches en composés oxygénés (1,8 cinéole), comme l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* ou de *Romarin*, agissent sur les glandes bronchiques et les cils de la muqueuse bronchique.

### - Fluidifiantes :

Les huiles essentielles qui contiennent des cétones, comme la *verbénone* contenue dans l'huile essentielle de romarin, sont des mucolytiques qui dissolvent les sécrétions accumulées dans les muqueuses.

#### I.3.7.5. Digestives :

Les huiles essentielles comme le cumin (avec la molécule de *cuminal*), la badiane ou l'estragon ont des vertus digestives et appétissantes. Ils stimulent la sécrétion des sucs digestifs. L'huile essentielle de menthe poivrée soulage les nausées.

#### I.3.7.6. Cicatrisantes :

Les huiles essentielles curatives sont celles de *Cistus ladaniferus*, *Lavandula vera*, *Helichrysum italicum*, *Commiphora myrrha*. Un mélange de plusieurs huiles essentielles thérapeutiques est souvent utilisé avec des huiles végétales comme l'huile d'amande douce.

### I.3.8. Les principales voies d'utilisation des huiles essentielles :

#### I.3.8.1. La diffusion atmosphérique :

Lors de la diffusion atmosphérique, il faut veiller à sélectionner des huiles essentielles labellisées bio, pures et adaptogènes pour éviter les allergies et contre-indications. Certaines huiles essentielles peuvent irriter les muqueuses des voies respiratoires. Évitez de jouer en continu toute la nuit dans une pièce fermée en présence d'une personne endormie, et jouez plutôt environ 15 minutes, 1 à 3 fois par jour. Le diffuseur doit être positionné de manière à ne pas se répandre directement sur le visage ou les yeux.

Vous devez utiliser un diffuseur qui ne chauffe pas les huiles essentielles afin qu'elles ne s'oxydent pas. Cette voie d'administration est privilégiée dans certaines indications, par exemple les huiles essentielles telles que l'eucalyptus, le pin pour les indications respiratoires. **(Boudoux et Zhiri, 2009 ; Willem, 2002)**

### I.3.8.2. La voie interne :

La voie interne peut être utilisée avec beaucoup de précautions.

#### - La voie orale :

Ils ne doivent jamais être ingérés purs : ils doivent toujours être dilués avec de l'huile végétale ou, par exemple, du miel, car ils sont insolubles dans l'eau et fondent sous la langue. Des gélules à avaler à base d'huile végétale sont facilement disponibles. Il est préférable de ne pas prendre plus de trois gouttes de la même huile essentielle plus de trois fois par jour.

#### -La voie rectale :

Par voie rectale, l'utilisation de suppositoires est le mode d'emploi recommandé en cas d'infection broncho-pulmonaire. Cette voie permet une absorption rapide et efficace des principes actifs des huiles essentielles en contournant le circuit digestif.

#### -La voie gynécologique :

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

### I.3.8.3. La voie externe :

#### - La voie cutanée :

La voie cutanée peut commencer par l'effleurage dès l'âge de trois ans. Il est largement utilisé en aromathérapie. Les huiles essentielles peuvent être utilisées pures ou mélangées à des huiles végétales, et s'appliquent de préférence sur les poignets ou le plexus solaire.

#### - Le bain :

Vous pouvez également ajouter quelques gouttes d'huiles essentielles à votre bain. De même, une dilution avec des huiles végétales hydrosolubles est recommandée pour éviter tout risque de réactions cutanées du fait de leur insolubilité, elles entrent donc en contact avec la peau à une concentration trop élevée. Les huiles essentielles sont invariablement insolubles dans l'eau, il faut donc utiliser un dispersant quatre fois supérieur à la quantité d'huiles essentielles pour tout disperser dans le bain.



### I.3.9. Mélange des huiles essentielles :

Les effets antimicrobiens des combinaisons d'huiles essentielles, comme les combinaisons d'antibiotiques, ont été définis selon quatre interactions possibles (**Boudoux et Zhiri, 2009**):

**Indifférence** : activité indépendante de la présence d'une autre huile ;

**Additionnel** : effet égal à la somme des effets de chaque huile ;

**Antagonisme** : l'association diminue l'activité de l'une ou l'autre des huiles ;

**Synergie** : effet significativement supérieur à la somme de chaque l'huile.

Actuellement, la connaissance des effets de ces mélanges est encore empirique, et il est concevable que les gens puissent avoir des risques pour la santé s'ils utilisent activement des mélanges d'huiles incompatibles. (**Boudoux et Zhiri, 2009**).

## I.4. Activités biologiques :

### I.4.1. Généralités :

Les plantes aromatiques et les épices sont utilisées dans la préparation des aliments depuis des siècles, non seulement pour la saveur qu'elles procurent, mais aussi pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques. L'origan, le thym, la sauge, le romarin et le clou de girofle sont autant de plantes aromatiques souvent utilisées comme ingrédients alimentaires. Les huiles essentielles de ces plantes ont toutes une caractéristique commune : elles sont riches en composés phénoliques tels que *l'eugénol*, *le thymol* et *le carvacrol*. Ces composés ont une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif. Il est considéré comme non toxique et est utilisé comme conservateur et arôme alimentaire dans les boissons, confiseries et autres préparations. Le thymol est l'ingrédient actif des bains de bouche et l'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires et dentaires. Ces trois composés sont antimicrobiens contre un large spectre de bactéries : *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Clostridium jejuni*, *Lactobacillus sake*, *Staphylococcus aureus* et *Helicobacter pylori* (**Rota et al, 2008; Tchamdja., 1995**). D'autres familles de composés présentent aussi des propriétés antibactériennes intéressantes: certains alcools, aldéhydes et cétones monoterpéniques (*géraniol*, *linalol*, *menthol*, *terpinéol*, *thujanol*, *myrcénol*, *citronelâi*, *néral*, *thujone*, *camphre*, *carvone*, etc.), des phénylpropanes

(*cinnamaldéhyde*) et des monoterpènes (*terpinène*, *p-cymène*). Les propriétés de ces composés sont d'un grand intérêt pour les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques, notamment parce qu'il s'agit d'agents aromatisants naturels. Par conséquent, de nombreux chercheurs du monde entier étudient leur potentiel en tant que conservateurs [Burt, 2004]. La plupart de ces composés sont également de très bons agents antifongiques. Le thymol, le carvacrol et l'eugénol étaient à nouveau les composés les plus actifs ici. Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre divers champignons : *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum*, et bien d'autres (Wilson et al., 1997).

Avec l'émergence de micro-organismes pathogènes résistants aux antibiotiques, les huiles essentielles antimicrobiennes sont devenues une alternative importante aux antibiotiques dans la lutte contre les maladies infectieuses. Par exemple, un certain nombre de groupes de recherche ont étudié les effets de l'huile essentielle de *melaleuca* sur des souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. («methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*» ou MRSA). [Dryden, 2004, Chan et al., 1998, Carson et al., 1995.]. Cette huile, dont le composé majoritaire est le *terpinèn-4-ol*, a montré de très bons résultats in vitro contre la prolifération de MRSA. Toutefois, son efficacité en milieu clinique demeure contestée (Bagamboula et al , 2004).

#### I.4.2. Activités antioxydantes des huiles essentielles :

L'oxydation des lipides est un processus impliquant de multiples réactions, de multiples intermédiaires chimiques et de multiples facteurs. Cependant, il existe plusieurs façons de contrôler l'oxydation. En termes de protection et de conservation des aliments, l'industrie recherche diverses mesures pour contrôler et réduire l'oxydation des lipides. Cela implique le remplacement des acides gras polyinsaturés par des lipides plus monoinsaturés et stables ; l'hydrogénation partielle des lipides polyinsaturés, le contrôle des paramètres de stockage tels que la limitation de l'aération, la minimisation des métaux traces et des conditions de stockage appropriées (Decker, 1998 ; Frankel, 1998). Cependant, il est pratiquement impossible de contrôler tous les facteurs qui provoquent l'oxydation. Cependant, l'ajout d'antioxydants peut empêcher ou ralentir le processus d'oxydation. Les antioxydants sont des agents réducteurs, mais les agents réducteurs ne sont pas nécessairement des antioxydants (Prior et al., 1999). Le terme « antioxydant » est exprimé comme « une substance qui, en présence d'un substrat

oxydable, ralentit ou empêche sensiblement, à de faibles concentrations, l'oxydation d'un substrat matériel » (**Halliwell, 1995**). Un "antioxydant alimentaire" est spécifiquement formulé comme "une substance qui, en petites quantités, est responsable du ralentissement de l'oxydation des composés facilement oxydables tels que les acides gras." (**Frankel et al., 2000**). Un phénomène très complexe est l'oxydation- antioxydant.. Les antioxydants exercent leurs effets protecteurs par différents mécanismes à différents stades de l'oxydation des lipides. En termes de cinétique de réaction, il convient de distinguer la protection antioxydante à court terme et à long terme (**Antolovich et al., 2002**). La classification de tous les antioxydants connus est difficile et ils sont généralement classés par mécanisme d'action ou propriétés chimiques.

### I.4.3. Huiles essentielles comme agents antimicrobiens :

#### I.4.3.1. Généralités :

Les extraits de plantes aromatiques sont utilisés dans différentes formulations telles que les médicaments et les parfums depuis l'Antiquité (Heath, 1981). Les huiles essentielles sont considérées comme les antimicrobiens les plus puissants de ces plantes. Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'Antiquité. Cependant, ce n'est qu'au début du XXe siècle que les scientifiques s'y sont intéressés. Ces propriétés antibactériennes sont dues aux composants des huiles essentielles contenues dans la plante. Aujourd'hui, il existe environ 3 000 huiles, dont environ 300 sont actuellement commercialisées, principalement pour une utilisation dans l'industrie des arômes et des parfums. Mais la tendance actuelle des consommateurs à la recherche d'une alimentation plus naturelle a conduit à un regain d'intérêt scientifique pour ces substances (**Essawi et al., 2000**). Depuis deux décennies, les gens recherchent le développement de nouvelles applications et le développement des propriétés naturelles des huiles essentielles dans le secteur alimentaire. Les effets antimicrobiens de différents types d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et sont utilisés pour prolonger la durée de conservation des aliments. Par conséquent, les huiles essentielles actuellement utilisées comme arômes alimentaires sont également considérées comme ayant une activité antimicrobienne et pourraient donc être utilisées comme conservateurs alimentaires, d'autant plus qu'elles sont largement classées comme "généralement considérées comme saines". (Généralement reconnu comme sûr (GRAS),

ou approuvé par la Food and Drug Administration des États-Unis en tant qu'additif alimentaire, aucune autorisation n'est donc requise pour une utilisation dans les aliments ; cependant, des études préliminaires sont nécessaires pour mieux comprendre leur activité antimicrobienne. Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Sipailiene et al., 2006**). Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines. Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production des pseudomycéliums alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures.

#### I.4.3.2. Mode d'action contre les bactéries :

❖ L'activité antimicrobienne des huiles essentielles a fait l'objet de nombreuses publications à l'échelle internationale. Cependant, la plupart des travaux cités dans ces publications s'arrêtent au niveau de la démonstration de l'activité antibactérienne de ces HE. La recherche sur le mécanisme d'action de cette activité est négligeable. Jusqu'à présent, aucune recherche ne nous a donné une compréhension claire et précise du fonctionnement des huiles essentielles. Compte tenu de la complexité de leur composition chimique, tout indique un mode d'action complexe difficile à identifier moléculairement. Il est probable que chaque ingrédient HE ait son propre mécanisme d'action. En général, leurs actions se déroulent en trois phases : attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.

❖ acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.

❖ destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

### I.4.3.3. Activités antifongiques des huiles essentielles :

Les antifongiques sont des substances capables de détruire sélectivement ou non les différents champignons rencontrés en mycologie. Ils s'administrent par voie locale ou générale (**O'fel A, 1982**).

# Chapitre II

**CHAPITRE II : Les procédés d'extraction****II.1. Bref historique de l'extraction :**

Si la bibliographie issue du mot-clé « extraction » fait apparaître un grand nombre d'ouvrages, aucun d'entre eux ne traite directement de notre méthode d'extraction assistée de matières végétales par induction directe, et peu d'entre eux traitent plus spécifiquement du domaine des réactions de synthèse assistée appartenant au même processus. En fait, la plupart du temps, l'extraction est un processus de séparation où les matériaux peuvent être traités par différentes méthodes. Dans le cas particulier des huiles essentielles, l'extraction se fait généralement par distillation à la vapeur. Cette méthode est un processus de séparation après condensation basé sur la différence de composition entre l'eau et la vapeur générée lors de l'exécution des opérations unitaires. **(Lawrencet, 2000)**. Historiquement, le développement des procédés d'extraction remonte à "l'Antiquité". Par exemple, les colorants ont toujours joué un rôle très important dans la vie humaine. Des fragments de tissus teints à la garance datant de 3500 av. J.-C. ont été retrouvés dans les ruines de certaines civilisations indiennes **(Cristea, 2003)**. Le bleu maya a été découvert en 1931 sur une peinture murale à Chichen Itza, Yucatan, Mexique **(Tourbe, 1996)**.

Plus tard, au XVIII<sup>e</sup> siècle, des solvants pétrochimiques ont été utilisés pour extraire des matériaux naturels. En 1855, E. Deiss fait breveter en France une méthode d'extraction de la graisse des os, des os et du bois utilisant le disulfite de carbone comme solvant. Un an plus tard, les mêmes auteurs mettent au point une méthode d'extraction de l'huile des graines et implantent une usine de production d'huile d'olive à Marseille **(Johnson et Lusas, 1983)**.

En 1870, l'extraction discontinue par solvant a été mise en place comme procédé industriel en Europe ; cette innovation industrielle s'est développée en France et en Italie. De plus, le disulfite de carbone, le naphta, le trichloroéthylène et l'éthanol sont commercialisés depuis longtemps comme solvants pour l'extraction de l'huile de graines.

Entre 1905 et vers 1910, le naphta et le diesel sont devenus des produits recherchés. Pendant et après la Première Guerre mondiale, les graisses et les huiles ont été stockées

en Europe pour la nourriture, la production d'explosifs et d'autres utilisations industrielles.

Likens et Nickerson ont inventé un procédé de distillation pour l'industrie de la bière en 1964 - l'extraction simultanée. Leurs travaux serviront de base à d'innombrables études pour améliorer la qualité des produits et réduire les temps d'extraction.

L'analyse de Johnson et Lusas en 1983 a montré qu'avant 1920, Bollman et Hildebrandt en Allemagne pratiquaient une extraction continue à contre-courant du soja. À partir des années 1940, l'industrie de l'extraction pétrolière exige des produits sans solvant. Ensuite, le produit est bouilli et distillé pour une meilleure pureté.

Le domaine de l'industrie agro-alimentaire est toujours à la recherche d'une meilleure qualité des produits et de la rentabilité du processus d'extraction, il existe différentes méthodes pour le traitement des plantes aromatiques, y compris le pressage à froid, l'extraction par solvant organique volatil, l'extraction de gaz liquéfié, fluide par état supercritique, par micro-ondes, par ultrasons, distillation à la vapeur et enfin distillation à l'eau **[Richard Et Peyron 1992, Narayanan Et Sankarikutty1993, Stramans Et Nijhuis 1996, Martini Et Seiller 1999, Wang Et Al 2006]**

## **II.2. Les techniques d'extraction des huiles essentielles :**

### **II.2.1. Entraînement à la vapeur d'eau :**

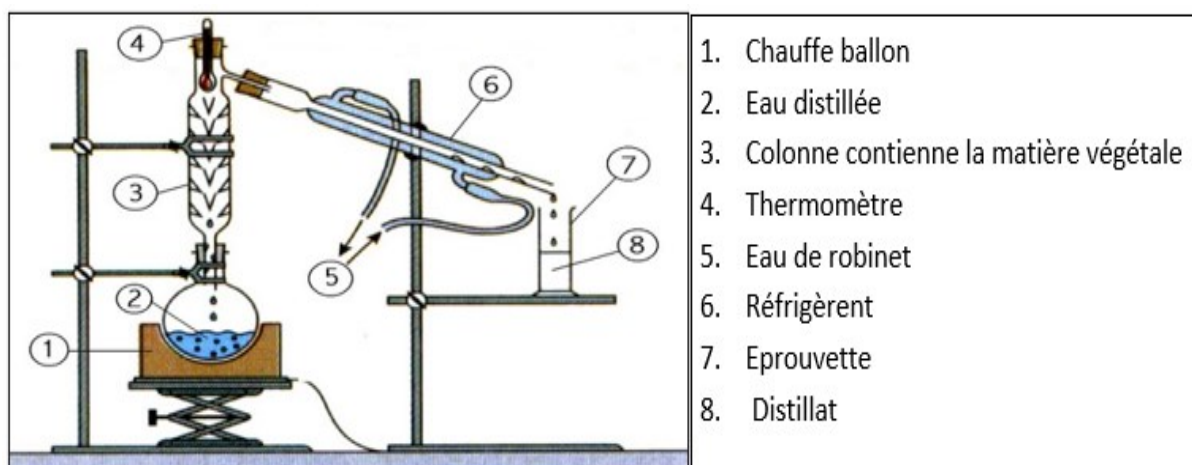
La distillation à la vapeur est l'une des méthodes officielles d'obtention des huiles essentielles. Contrairement à l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau fournie par la chaudière traverse la matière végétale située au-dessus de la grille. Au fur et à mesure que la vapeur traverse le matériau, les cellules se rompent et libèrent l'huile essentielle qui s'évapore sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ».

Le mélange est ensuite envoyé vers un condenseur et un parfumeur avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : les huiles essentielles. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale et entre l'eau et les molécules d'arôme



évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation qui pourraient affecter la qualité de l'huile.

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur (Figure 5). Dans le cas de la diffusion d'eau, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Par conséquent, cette technologie utilise l'effet de perméation de la vapeur d'eau. Le principe de la méthode est d'utiliser la gravité pour libérer et condenser le mélange « vapeur d'eau-huile essentielle »<sup>1</sup> dispersé dans la matière végétale. Comme pour la distillation à la vapeur, L'hydrodiffusion a l'avantage de ne pas exposer le matériel végétal à l'eau. De plus, L'hydrodiffusion permet d'économiser de l'énergie grâce à une durée de distillation réduite ainsi qu'à une consommation de vapeur réduite.. (MARIE\_LUCCHESI ;2006)



**Figure II.01: Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur**

### II.2.2 .L'hydrodistillation :

Dans cette méthode, la matière végétale à extraire est mise en contact direct avec de l'eau bouillante. Des fragments de plantes plus ou moins hachés sont complètement immergés dans l'eau et flottent même à la surface de l'eau, ce qui est fonction de la densité des feuilles et de la quantité de matière par charge. [Francine Belleau, 1990] Faire bouillir l'eau d'entraînement par chauffage direct Dans une unité d'hydrodistillation utilisée au laboratoire, le mélange eau végétale est chauffé par un générateur de vapeur à proximité de la cuve centrale contenant le matériel à entraîner [guenther, Ernest; 1984]

. Le ballon central contenant la matière végétale à extraire et l'eau bouillante est relié à un refroidisseur qui condense le distillat. Ces derniers peuvent être collectés par des systèmes de collecte de solvants, où un mélange de saumure et de solvant organique (généralement du pentane ou parfois de l'hexane) agit comme un piège pour l'huile sortant du refroidisseur. L'huile essentielle est ensuite concentrée dans la phase organique. La solution organique d'huile essentielle ainsi obtenue est prête pour analyse ou tout autre traitement. Cependant, il arrive parfois que les huiles essentielles soient collectées directement après recondensations. Dans ce cas, le système de solvant du ballon est remplacé par un système de cylindre gradué, permettant d'évacuer l'excès d'eau produit lors de la distillation à la vapeur.

L'hydrodistillation telle que décrite précédemment a été la principale méthode utilisée pour extraire l'huile essentielle de *Ledum groenlandicum* au cours de cette étude. [Francine Belleau,1990].

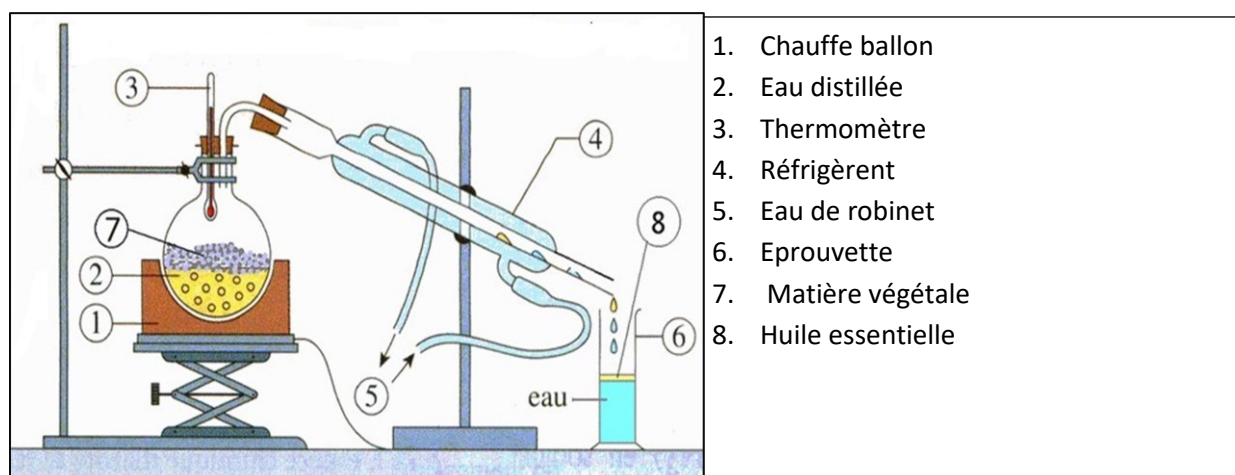


Figure II.02.: Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

### II.2.3. Technique de l'extraction par les solvants :

Les métabolites secondaires des plantes peuvent également être obtenus par extraction liquide-liquide avec des solvants organiques (éthanol, pentane, hexane, acétate d'éthyle, dichlorométhane, oxyde de diéthyle, etc.). Il est à noter que l'utilisation de solvants chlorés diminue de façon spectaculaire, généralement au profit de l'acétate d'éthyle qui a des propriétés d'extraction assez similaires. La mise en oeuvre de cette

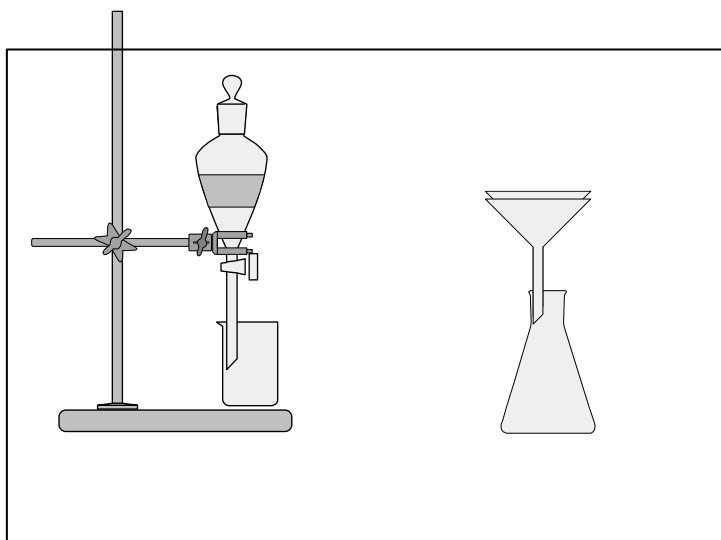
technique est nécessaire lorsque le composé ne peut pas être extrait par stripage en raison de sa faible volatilité ou lorsque son rendement est trop faible. L'extraction récupère non seulement les composés présents dans l'huile essentielle, mais également des composés "lourds" qui présentent un intérêt particulier de par leur structure moléculaire. (flavonoïdes, triterpènes etc.). Les industries cosmétiques et alimentaires différencient les extraits en fonction du type de solvant utilisé, du type de matière première, etc. **[Bruneton, 1993]**.

- Béton : produit obtenu à partir de matières premières fraîches d'origine végétale par extraction à l'aide de solvants non aqueux. Dans la pratique courante, le vocabulaire utilise le terme « essence concrète », ou, plus simplement, « essence ».

- Résinoïdes : Obtenus à partir de matières premières sèches d'origine naturelle par extraction à l'aide de solvants non aqueux. Il est à noter que le terme "matière première d'origine naturelle" signifie ici : "...d'origine végétale, animale ou microbienne, y compris les produits dérivés de ces matières premières obtenus par voie enzymatique", selon les critères AFNOR.

- Pommade florale : corps gras parfumé obtenu à partir de fleurs soit par « enfleurage à froid » où des constituants odorants des fleurs diffusent dans le corps gras, soit par « enfleurage à chaud » où il y a immersion des fleurs dans le corps gras fondu **[Sutour , 2010]**.

- Absolue : obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par 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.



**Figure II.03: Extraction des huiles essentielles par solvant**

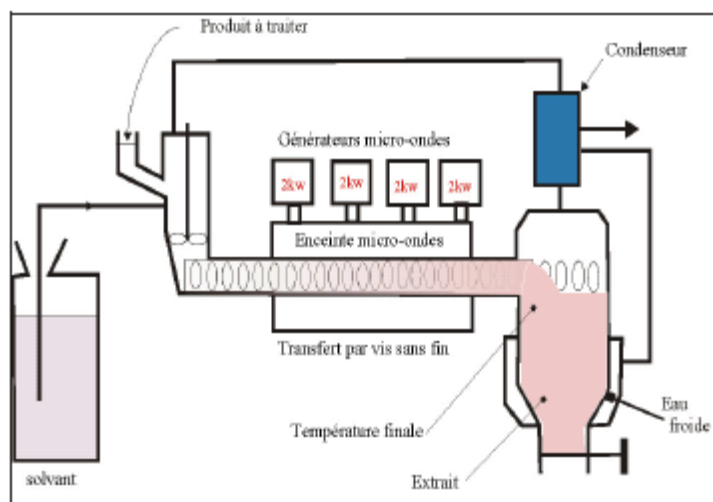
#### II.2.4. Technique de l'extraction assistée par micro-ondes :

En 1986, Ganzler et al ont d'abord proposé l'extraction par solvant assistée par micro-ondes pour l'analyse chromatographique. Par rapport aux méthodes traditionnelles, cette technologie permet de réduire le temps d'extraction et donc de réduire la consommation d'énergie. En 1990, Paré et al déposent le premier brevet européen sur le thème « Extraction assistée par micro-ondes de produits naturels ». Ils ont suggéré d'irradier le matériel végétal en présence d'un solvant transparent aux micro-ondes de type hexane. Par conséquent, les micro-ondes atteindront directement les glandes et le système vasculaire de la plante. Depuis, diverses techniques d'extraction par micro-ondes ont été développées et plusieurs brevets déposés :

- Le processus de "distillation d'eau par micro-ondes" est entièrement basé sur le principe de la distillation d'eau traditionnelle. Par conséquent, placez le matériel végétal dans un ballon placé dans une enceinte à micro-ondes en présence d'une quantité d'eau suffisante. Le système de réfrigération et la section de récupération des arômes sont situés à l'extérieur du four. Par rapport à la distillation traditionnelle de l'eau, l'avantage est qu'elle est rapide et que la composition de l'huile est similaire.

- Extraction par solvant assistée par micro-ondes. MAE (Microwave Assisted Extraction) et MAP™ (Microwave Assisted Process). Cette méthode est la plus utilisée. Si la rapidité de sa mise en œuvre en fait la technique d'extraction de choix, notamment des

composés aromatiques d'origine botanique, le produit obtenu ne peut légalement être considéré comme une huile essentielle. De plus, l'utilisation de solvants organiques présente également certains inconvénients : le produit fini est contaminé, et l'élimination complète des problèmes existants. Rappelons que l'industrie agro-alimentaire applique des lois très strictes quant à l'origine des produits utilisés. [Sutour , 2010].



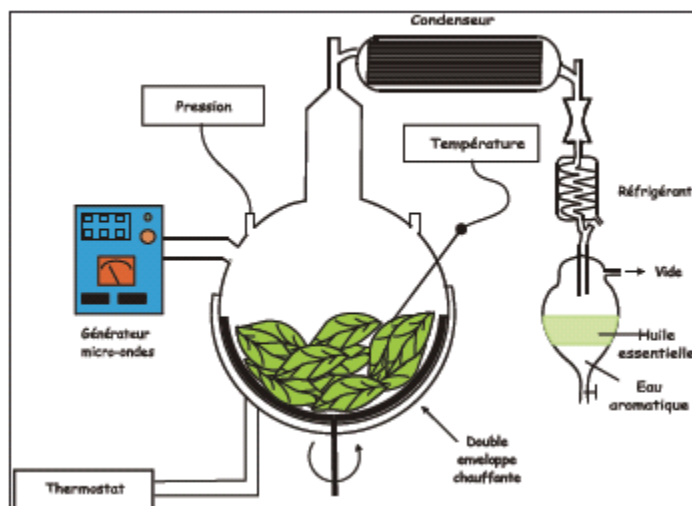
**Figure II.04.:** Schéma d'extraction par solvant assistée par micro-ondes.

[Lucchesi, 2007].

- « VMHD » (Vacuum Microwave Hydrodistillation) ou Hydrodistillation assistée par micro-ondes sous vide poussé. Cette technique d'extraction trouve son origine dans la distillation classique de l'eau et repose sur l'utilisation combinée des micro-ondes et du vide poussé. Selon les concepteurs de VMHD, la vitesse d'extraction est dix fois plus rapide que la distillation de l'eau avec le même rendement et la même composition de l'extract. Contrairement à la distillation traditionnelle de l'eau, les composés responsables des arômes "bruts" les plus sensibles à la chaleur semblent être conservés après extraction via VMHD.

SFME (Solvent-Free Extraction Microwave Extraction) est la dernière méthode d'extraction, développée par le groupe Chemat-Smadja de l'Université de la Réunion. La technologie, rebaptisée "Dry-Dist" et commercialisée dans le monde entier par Milestone,

combine fours à micro-ondes et distillation sèche. L'extraction est réalisée à pression atmosphérique en l'absence de solvant et avec addition d'eau. Les principaux avantages de cette technologie sont l'amélioration de la cinétique d'extraction et son caractère plus respectueux de l'environnement (sans solvant), qui est un exemple de chimie verte.

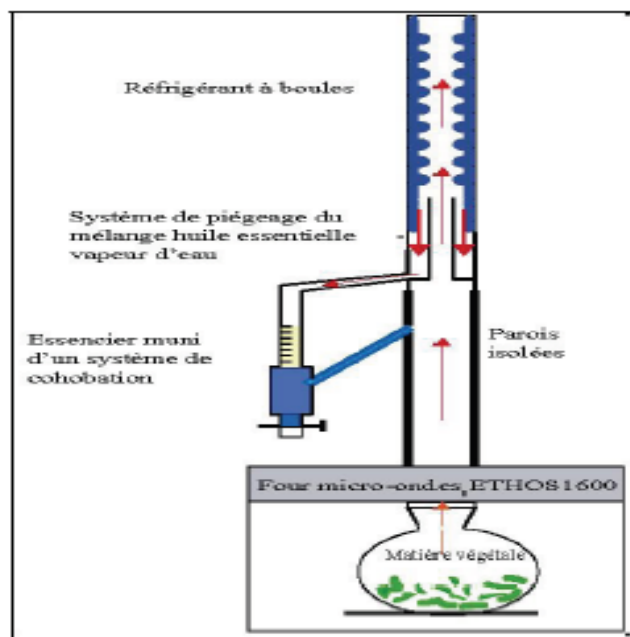


**Figure II.05.:** Schéma du montage d'extraction selon le principe « VMHD »  
[Lucchesi, 2007].

Le mécanisme de chauffage par micro-ondes est basé sur le fait que certaines molécules, comme l'eau, ont des charges en excès et en défaut dues à la différence d'électronégativité entre les atomes d'oxygène et d'hydrogène. Ces molécules polaires présentent alors un dipôle ou moment dipolaire. Lorsque les dipôles sont soumis à un champ électrique, ils peuvent s'orienter, ce qui crée alors un moment dipolaire induit. Sous l'action d'un champ électrique alternatif, les dipôles s'orientent dans la direction du champ électrique, puis se désorientent lorsque le champ électrique est supprimé, et enfin se réorientent dans une autre direction. C'est la rotation dipolaire.

Cependant, l'alignement des dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par l'existence de liaisons hydrogène et de liaisons de Van der Waals qui freinent la libre rotation et conduisent à un dégagement de chaleur. L'énergie cinétique est alors transformée partiellement en chaleur. Le chauffage de l'eau de la plante peut provoquer la rupture des glandes qui contiennent les huiles essentielles. Les huiles essentielles ainsi libérées sont entraînées par la vapeur d'eau également contenue dans la matière végétale.

Un essencier de type Clévenger permet de condenser le distillat et de récupérer l'huile essentielle par simple décantation en tenant compte la différence de densité.



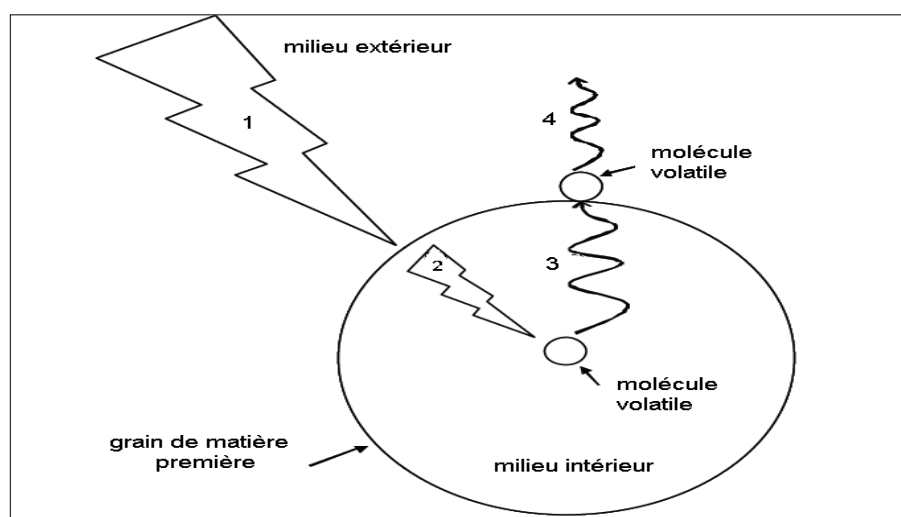
**Figure II.06.** : Schéma d'extraction selon le principe SFME (Solvant Free Extraction Microwave) [ Lucchesi, 2007]

Bien que des parfums de type Clévenger aient été utilisés pour condenser et refroidir les vapeurs produites par les plantes chauffées aux micro-ondes, les échantillons obtenus par SFME ne pouvaient pas être considérés à proprement parler comme des huiles essentielles. En effet, il est nécessaire d'utiliser les principes de l'hydrodistillation, de l'entraînement à la vapeur ou de l'expression à froid pour décrire l'huile essentielle. Bien que les deux modes d'extraction soient voisins, la nature du chauffage diffère. La solubilité des composés organiques dans l'eau est cruciale lors d'une hydrodistillation ou d'un entraînement à la vapeur. Dans la plupart des cas, les performances de l'extraction par micro-ondes sont similaires voire supérieures à celles de l'hydrodistillation, tandis que le temps d'extraction est plus court, d'environ 30 minutes, tandis qu'une hydrodistillation nécessite généralement au moins trois heures. La proportion de composés oxygénés dans les extraits obtenus par SFME a augmenté à un rendement équivalent. (Fehrat et al., 2006 ; Lucchesi et al., 2007). Plusieurs explications sont avancées pour expliquer ces différences :

- Les différences en termes d'altération des glandes à huile essentielle sont observées dans les végétaux à l'aide de la microscopie électronique à balayage. Les micro-ondes semblent les détruire complètement.
- Les composés oxygénés plus polaires et plus solubles dans l'eau seraient distillés plus tôt que les hydrocarbures terpéniques dont la température d'ébullition est plus faible.
  - Les composés oxygénés ont une plus grande affinité que les hydrocarbures pour la phase aqueuse dans une huile essentielle obtenue par hydrodistillation, ce qui donne lieu à l'hydrolat. Étant donné le faible volume de la phase aqueuse lors d'une extraction micro-onde, il est ainsi possible que les composés oxygénés, qui sont souvent assez solubles dans l'eau, demeurent dans l'extrait obtenu par SFME.

### II-3.1. Mécanisme de l'extraction :

Les huiles essentielles sont extraites le plus souvent par entraînement à la vapeur. Ainsi, ce processus implique l'interaction d'un solide, d'un liquide, d'un gaz et de la chaleur. Nous assistons systématiquement à une transformation de phase lors de cette opération : les molécules volatiles, qui étaient au départ à l'état liquide, passent à l'état vapeur. Quatre principaux processus interviennent successivement dans la réalisation de cette opération, qui peuvent être schématisés comme suit :



**Figure II.07. :** Schéma des processus de transfert dans l'extraction par entraînement à la vapeur.



Dans le contexte actuel, nous avons choisi de désigner les opérations d'intensification du processus comme étant réellement limitantes. En conséquence, nous suggérons d'analyser les principaux processus impliqués dans l'opération selon l'ordre suivant :

1. La mise en solution des extraits, uniformisation.
2. Le transfert par convection ou diffusion de l'extrait, de la surface de la matrice solide dans le milieu extérieur.
3. diffusion du solvant liquide dans la matrice végétale solide, puis des molécules extraites du solvant de l'intérieur vers la surface

L'extraction, souvent considérée comme une opération unifiée au plan phénoménologique, peut être analysée en termes de cinétique et de rendement total.

La cinétique de ces différents processus intervenant d'une façon successive change en fonction des conditions opératoires, telles que la nature du solvant, la température à laquelle se déroule l'opération, les molécules à extraire, la structure de la matière solide, l'agitation et le type des ressources mécaniques et/ou thermiques (micro-ondes) **(Teggar, 2012)**.

La concentration du soluté (extrait) dans le solide par unité de temps ( $dx/dt$ ) est le moyen le plus courant d'exprimer la cinétique.

La nature séquentielle de ces transformations fait que l'opération globale d'extraction est déterminée par le processus dont la vitesse est la plus lente, qualifiée alors du processus limitant du procédé.

#### **II-3.1.1. La mise en solution des solutés :**

Selon Schwartzberg et Chao **(Benamor, 2008)**, la mise en solution consiste à dissoudre un ou plusieurs composés du tissu végétal dans le solvant dans le but d'atteindre l'équilibre thermodynamique en termes de concentration. La mise en solution des molécules à extraire pendant l'opération d'extraction peut facilement être un processus limitant ; il suffirait d'avoir choisi un mauvais solvant et une mauvaise

température. Dans une telle situation, qui est caractérisée par une très faible solubilisation du soluté dans le solvant liquide, le solvant entrerait assez facilement dans la matrice solide. Le gradient de concentration du soluté dans la matrice solide et dans le milieu extérieur finira par être zéro, ce qui signifie que le processus d'extraction serait entièrement régi par la solubilisation du soluté dans le solvant. **(Benamor, 2008)**.

Le choix approprié du solvant et de la température de l'opération est nécessaire pour intensifier une telle situation ; cette dernière devrait souvent être la plus élevée possible tout en étant en dessous de la température d'ébullition et du domaine de dégradation des molécules à extraire. En fonction des solutés visés et de la nature de la plante, le choix du solvant et de la température d'extraction est généralement effectué afin d'assurer une bonne mise en solution en termes de cinétique et de quantité dissoute **(Ferhat, 2010)**.

Le processus de solubilisation du principe actif recherché n'est généralement pas limitant et peut souvent être considéré comme très rapide. **(Benamor, 2008)**.

### **II-3.1.2. Transfert de l'extrait de la surface de la matière végétale vers l'extérieur :**

La diffusion et la convection peuvent être utilisées pour transférer la soluté dans un environnement extérieur. Par exemple, en l'absence de tout phénomène d'agitation, le transfert du soluté de la surface du solide vers le solvant extérieur peut être le processus limitant de l'opération d'extraction. Dans une telle situation, le solvant pénètre rapidement dans la matrice solide et dissout le soluté, ce qui garantit une concentration homogène du soluté dans le solide. Dans ce cas, l'extraction se déroulerait à la vitesse à laquelle le soluté se déplacerait de la surface externe du solide vers le solvant environnant.

Pour pallier à ce problème et opérer une intensification adéquate, il faudrait modifier la nature du transfert du soluté dans le milieu extérieur pour qu'il ne soit plus de type diffusionnel mais plutôt convectif ; il suffit alors de réaliser une bonne agitation du milieu **(Benamor, 2008)**, et dans ces conditions, on est assuré que ce passage ne constitue jamais une étape limitante **(LEYBROS 1984)**.

### II-3.1.3. Les transferts par diffusion au sein de la matière végétale :

En effet, la convection ou la diffusion sont deux méthodes courantes pour effectuer le transfert de masse. Le mouvement aléatoire des molécules pendant l'opération de diffusion garantit le transfert en utilisant le gradient de concentration comme élément moteur. Les changements thermiques ou mécaniques externes ne peuvent pas accélérer ces processus au sein de la matrice solide.

La microstructure naturelle des végétaux rend la diffusion interne des liquides difficile. La structure de la matière et la vitesse d'extraction sont alors liées.

Les phénomènes de diffusion interne comprennent la diffusion du solvant liquide dans la matrice solide et la diffusion de l'extrait dissous dans le solvant de la matrice solide vers la surface.

Les étapes limitantes de la diffusion sont généralement ces deux processus. Cependant, il est difficile de quantifier séparément les deux phénomènes en raison de leur implication simultanée et de leur forte dépendance à la structure et à la température. Notons cependant que la diffusivité du solvant dans la matrice solide immobile est généralement beaucoup plus faible que celle des solutés dans le solvant. **(Benamor, 2008)**.

### II-3.2. Facteurs influençant les performances de l'extraction :

Plusieurs facteurs caractérisant la matière solide, le soluté et le solvant, ainsi que les conditions opératoires, ont un impact sur les phénomènes de transfert de soluté dans le solide, en particulier dans la matière végétale.

#### II-3.2.1 Temps d'extraction :

Pour la majorité des plantes étudiées, le paramètre le plus valorisable est incontestablement le temps d'extraction. La rapidité d'extraction paraît être le principal atout dans l'extraction des huiles essentielles par micro-ondes. La littérature montre que, pour des rendements similaires en extraction des huiles essentielles, l'emploi de chauffage par microondes permet une réduction significative du temps d'extraction en comparaison avec la méthode classique **(Ferhat, 2010)**.

**II-3.2.2. Solide :**

Le transfert de matière est influencé à la fois par la taille et la structure du solide.

Le processus, contrôlé par le transfert interne, dépend de la taille du substrat. La taille des particules réduit la durée de diffusion du solvant et des solutés. Cependant, il peut y avoir des problèmes d'imperméabilité du lit d'extraction si les particules sont trop petites. La microstructure complexe de la matière végétale est constituée de cellules, d'espaces intercellulaires, de capillaires et de pores. **(Rachel , 2007)**.

**II-3.2.3. Solvant :**

Un solvant est une substance capable de former une solution homogène avec d'autres substances **(Gerin, 2002)**.

A. La tension superficielle et la viscosité de la matière affectent la capacité de pénétration.

B. La solubilisation en relation avec la polarité est expliquée par les paramètres de solubilité, qui sont liés à la densité et à la masse moléculaire des solvants **(HERNANDELO, 2005)**.

Les propriétés recherchées pour les solvants d'extraction sont principalement **(HERNANDELO;2005)**:

- une forte solubilité de l'huile essentielle .
- une faible solubilité de l'eau .
- une faible toxicité pour des applications alimentaires.

L'hexane, le toluène, le tétrachlorure de carbone, le dichlorométhane et l'éthanol sont les solvants les plus couramment utilisés en extraction par micro-ondes. Le type de chauffage, le mécanisme d'extraction et la composition du produit final seront déterminés par le choix du solvant **(Ferhat, 2007)**.

Dans l'industrie alimentaire ou pharmaceutique, le choix du solvant est très important. Les normes et les règles d'hygiène et de sécurité sont très strictes. Il ne doit

pas en rester dans les produits finaux ou bien les traces doivent être suffisamment insignifiantes pour être inoffensives (**LEYBROS J, 1984**).

#### **II-3.2.4. Température :**

- Il est difficile de mesurer précisément l'impact de la température sur l'extraction. Les gammes de température élevées sont généralement bénéfiques pour le rendement d'extraction pour quatre principales raisons (**Benamor, 2008**):
  - La chaleur facilite l'extraction en dénaturant les parois cellulaires.
  - La variété de hautes températures typiques augmente la solubilité des matières à extraire et augmente les coefficients de diffusion
    - Enfin, elle réduit la viscosité des solvants d'extraction, ce qui facilite le passage du solvant à travers la masse du substrat solide et les procédures de séparation ultérieures.

La limite supérieure de la température est imposée par le point d'ébullition du solvant, par les risques de:

- dégradation thermique du soluté;
- risques d'extraire des composés nuisibles (**Benamor, 2008**).

#### **II-3.2.5. L'agitation :**

Une agitation mécanique des particules dans le solvant permet le maintien en suspension de celles-ci et l'homogénéisation du milieu. Elle a donc une grande influence sur le transfert de matière à l'interface solide-liquide (**Rachel, 2007**).

#### **II-3.2.6. L'humidité :**

Les matières végétales sont généralement séchées pour faciliter leur conditionnement et surtout leur stockage. Ainsi, un excès d'humidité peut détériorer le substrat. De plus, la diffusivité des solvants hydrophobes est inversement proportionnelle à la teneur en eau du solide. (**LEYBROS ;1984**).

### II-3.3. Modèle de diffusion dans la particule solide :

La notion de vitesse de diffusion dans une matrice solide est difficile à étudier. Dans les situations pratiques, les conditions sont non stationnaires et la concentration de soluté varie selon la position et le temps dans la particule. La deuxième loi de Fick décrit généralement cette dispersion.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -D_x \nabla^2 X \quad (\text{II.1})$$

Où X est la fraction de soluté dans le solide et  $D_x$  le coefficient de diffusion moléculaire du soluté dans la solution

Sous la condition que la structure soit considérée comme quasi homogène et macroscopiquement isotrope, cette équation est valide pour la diffusion d'un soluté dans un corps poreux rigide.

Lorsque le transfert est supposé monodirectionnel et que le coefficient de diffusion est constant, une résolution analytique serait accessible. Cependant, il est nécessaire d'utiliser des techniques de résolution numérique si les paramètres du modèle sont fonction de t et de x. **(Rachel, 2007)**.

Bichel (1979), Udaya-Sankar et al. (1983), Spiro et Selwood (1984) et Hulbert et al. (1998) ont examiné la diffusion de la caféine dans les grains de café. Le modèle suivant a été développé par ces auteurs. **[Espinoza et al., 2006]** :

$$\ln \left( \frac{C_{ye}}{C_{ye} - C_y} \right) = \frac{\left( 1 + \frac{\rho_x V_x}{\rho_y K V_y} \right)}{1} \frac{1}{\left( \frac{R}{D_x} + \frac{1}{K_1} + \frac{\delta}{K D_y} \right)} \quad (\text{II.2})$$

Avec :

$C_{ye}$  : La concentration de la caféine dans le solvant à l'équilibre (g/m<sup>3</sup>)

$\rho_x, \rho_y$  : La masse volumique de la caféine dans le solide et dans le solvant respectivement (Kg/m<sup>3</sup>)

$V_x, V_y$  : Volume du solvant et du solide respectivement ( $m^3$ )

$K$  : constante de distribution

$R$ : Rayon du solide (m)

$D_x, D_y$ : Coefficient de diffusion dans le solide et dans le solvant ( $m^2/s$ )

$\delta$ : L'épaisseur de la couche limite (m)

$K_1$ : Constantes de vitesse du premier ordre

### II-3.4.Travaux antérieurs sur la cinétique d'extraction :

Les recherches sur la vitesse de distillation ont commencé au 19ème siècle. En 1851, lors du traitement du carvi, Zeller a découvert que la fraction oxygénée la moins volatile est collectée avant les hydrocarbures. Cependant, il ne peut trouver une explication suffisante pour ce phénomène. Ce n'est qu'en 1910, Von Rechenberg (**Benbouali, 2003**) a fourni une explication importante sur la distillation des huiles essentielles, quelques décennies plus tard. Il obtient des résultats similaires à ceux de Zeller avec le girofle et quelques ombelliféracées et considère que la température d'ébullition des constituants ne permet pas d'expliquer l'ordre de distillation en accord avec leur polarité, mais que la température correspond à une inversion de leur volatilité. De plus, il précise que ce processus ne se produit que lorsque les organes de la plante sont intacts, c'est-à-dire qu'ils n'ont pas subi de dommages (concassage, broyage), sinon l'ordre de distillation des composés est basé sur leur volatilité jusqu'à ce que la fraction d'essence directement exposée à la vapeur soit épuisée. (**Rivera, 2006**).

En 2004, des études ont été menées pour comparer qualitativement les extraits obtenus à l'aide de différentes méthodes d'extraction. L'hydrodistillation conventionnelle, l'hydrodistillation par solvant, l'hydrodistillation assistée par micro ondes et l'hydrodistillation par fluide supercritique sont les différentes méthodes utilisées pour extraire les métabolites secondaires de *Lippia alba* et *Xylopia aromatica*. Il a été démontré que l'extraction par solvant (ES) est la méthode la plus efficace pour obtenir du monoterpène hydrocarboné, suivie de l'extraction par micro ondes (EMO), de

l'hydrodistillation conventionnelle (EH) et de l'extraction par fluide à l'état supercritique (EFS). Cependant, EFS, ES, EH et EMO ont produit l'extrait le plus riche en monoterpènes oxygénés. La concentration la plus élevée en sesquiterpènes hydrocarbonés a été obtenue par EFS, suivie de ES, EMO et EH. L'ordre est le même pour les sesquiterpènes oxygénés, sauf que le rendement de l'extraction par solvant était le plus faible. **(Rivera, 2006)**.



# Chapitre III

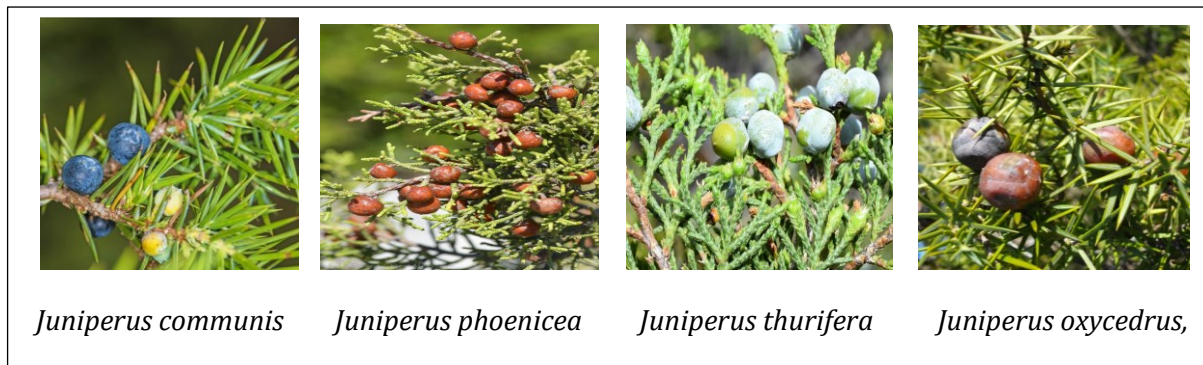
## CHAPITRE III. La Matière Végétale (*Juniperus oxycedrus*)

### III-1- Description du Genévrier :

Le *Juniperus* appartient à la famille des Cupressaceae et est étroitement apparenté au genre Cypress (**Seigue ; 1985**). Il comprend environ 60 espèces réparties dans l'hémisphère nord dont quatre se trouvent dans la région méditerranéenne : *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus communis*, *Juniperus phoenicea* et *Juniperus thurifera* (**rezzi et al, 1999**). Le genre Juniper est divisé en trois parties : Caryocedrus (une espèce : *J. drupacea Labille*), *Juniperus oxycedrus* (neuf ou dix espèces) et Sabine (environ 50 espèces) (Adams, 1998). C'est un arbre ou un arbuste atteignant 5 à 10 m de haut (Huguette, 2008), aux feuilles persistantes, étroites, linéaires, épineuses et en forme d'aiguilles (Fig. 5). Ses fleurs portent des fruits décrits à tort comme bai, globuleux et charnus (**Bruneton, 2009**)

Le genévrier pousse à l'état sauvage dans les terres sèches et rocheuses d'Asie, d'Amérique du Nord, d'Europe et de la Méditerranée. Il est très rustique et est cultivé dans tous les pays tempérés. (**Huguette, 2008**).

Les feuilles et les fruits de plusieurs plantes du genre Genévrier sont utilisés en médecine traditionnelle et leurs composés sont incorporés dans des préparations médicinales particulièrement antiseptiques en raison de la présence d'huiles essentielles (**Medini et al., 2007**). L'HE de Genévrier possède des propriétés diurétiques et stimulantes gastro-intestinales.. La teneur en HE dans la gamme de baie est de 0,5 à 2,5 (v/m) et ses principaux composants sont des hydrocarbures monoterpène tels : Pinène - Myrcène - Sabinène --Thuyone - Limonène,....etc. l'HE contient aussi des sesquiterpènes tels : *Caryophyllène - Cadinène et Elemène* (**Pierangeli et al., 2009**). Bien que les HEs des espèces *juniperus*, contiennent des composés phénoliques, ces derniers ne sont pas des constituants majeurs des huiles.



**Figure III.01** : les espèces de juniperus trouvent dans la région méditerranéenne

### III.2. Aspect botanique de *Juniperus oxycedrus* :

Le genévrier (*Juniperus oxycedrus*) est une espèce qui peut atteindre une hauteur de 14 m, mais se présente généralement sous la forme d'un arbuste de 1 à 2 m (parfois plus petit). Les feuilles persistantes sont vertes et en forme d'aiguilles. Les aiguilles sont disposées en trois rangées (spiraux) au même niveau dont la face supérieure est décorée de deux bandes blanches. Cette dernière a un goût délicat et épicé. L'écorce est plutôt rugueuse et de couleur grise ou rougeâtre (Chaouche et al, 2015).

Le genévrier préfère les sites secs et rocheux, les sols calcaires ou acides. On le rencontre souvent avec le chêne vert et le chêne rouge. C'est une plante caractéristique des maquis méditerranéens et des buissons de maqui. Il existe en dessous de 1 500 m d'altitude.

Le genévrier oxycède est une espèce dioïque. La floraison a généralement lieu entre avril, mais sur des plants différents (mâles et femelles). Les fleurs mâles sont de couleur jaune tandis que les fleurs femelles sont petites. Le pollen est propagé par le vent (anémochorie). Le fruit est une petite boule qui devient rouge orangé ou brun violet à maturité et ressemble à une baie (animal).

Cette espèce est la plus commune dans le bassin méditerranéen. On le trouve partout en Méditerranée et jusqu'au Moyen-Orient. En France, on le trouve de la côte sud sèche jusqu'à la Drôme, l'Aveyron, les Pyrénées centrales et la Corse. (Klimko et al, 2007)

Les forêts algériennes font partie intégrante de la région méditerranéenne et possèdent une grande richesse naturelle Mais souvent sous-estimé. Parmi les espèces forestières L'espèce d'arbre typique présente dans le pays est le *Juniperus oxycedrus* endémique de la région méditerranéenne, représentant Un élément avant-gardiste très dynamique, surtout au milieu forêt dégradée. Cette essence est capable de Se développe

très nativement dans les bioclimats semi-arides, tolérant à la sécheresse, peu exigeant, Et par la plasticité des propriétés et la fertilité du sol. Subdivision *Juniperus oxycedrus* Divisé en quatre sous-espèces : subsp. (Sibth. & Sm.) Ball, sous-espèce *Badia* (H.Gay) De Box, Sous-espèce *Transtagana* (Franco). De ces quatre sous-espèces, Genévrier *oxycedrus* subsp. *oxycedrus* (photo 1) est l'espèce Le plus riche d'Algérie **(Chaouche et al ,2015)**

### III.3. Origine:

Le genévrier oxycède est une espèce originaire de la région méditerranéenne **(Marongiu et al., 2003)**.

On distingue généralement trois sous-espèces : - subsp. *oxycedrus*, dressée, avec des feuilles très étroites et de petits fruits ; - sous-espèce *macrocarpa*, plus touffue, avec de gros fruits, commune sur toute la côte, **(Quezel et al .,1962)** ; - sous-espèce. *rufescens*, le fruit est petit et de couleur brun rougeâtre. ont noté que cette pathologie était courante dans toute l'Algérie.

Une forme transitionnelle existe entre les deux dernières sous-espèces.

A noter cependant que dans une monographie récente (2004) consacrée au genre *Juniperus* Adams, il est proposé de traiter *Macrocarpa* comme une espèce à part entière (*J. macrocarpa*) et de diviser la sous-espèce *oxycedrus* en deux : *J. oxycedrus* (bassin méditerranéen occidental ) et le genévrier triangulaire (*Juniperus deltoides*) (bassin oriental). **(Quezel et al .,1962)**

### III.4. Position systématique:

La position systématique de *Juniperus oxycedrus* est défini comme suit:

Embranchement: Spermaphytes

S. Embranchement: Gymnospermes

Classe: Conifères

Ordre: Coniférales

Sous ordre: Taxales

Famille: Cuprécées

Genre: *Juniperus*

Espèce: *Juniperus oxycedrus* L.,1753

Nom français: oxycède, genévrier, cade, cadier, petit cèdre, petit cèdre d'Espagne

Nom vernaculaire: Aar aar (Arabe)

Taga (Berbère)

### III.5. Répartition:

L'oxycèdre est commun dans les zones côtières de la mer Méditerranée (du Maroc à l'Iran), où il est l'une des plantes caractéristiques des maquis et des maqui. C'est le genévrier méditerranéen le plus répandu, présent dans tout le bassin méditerranéen. Il vit dans les régions du sud de l'Europe (Espagne, France). C'est une espèce méditerranéenne qui pousse dans les pays du Moyen-Orient. En France, il est commun dans toute sa partie méditerranéenne, mais devient assez rare jusqu'en Aveyron, Lozère, Ardèche et Drôme (**Gaston, 1990**).

En Algérie (**Quezel et al., 1962**), il est mentionné que le genévrier est commun dans les hauts plateaux (Oranaes, Algérie et Constantinos) et dans l'Atlas saharien. Ils rapportent que *Juniperus oxycedrus* subsp *macrocarpa* est commun sur toute la côte, tandis que *Juniperus oxycedrus* subsp *rufescens* est également commun dans toute l'Algérie. Klaus., (1991) mentionne que cette espèce est répandue dans toute l'Afrique du Nord, notamment dans les zones montagneuses

### III.6. Morphologie et phénologie :

*Juniperus oxycedrus* est un arbuste ou arbuste vert glauque pouvant atteindre 14 m, bien que sa taille soit généralement beaucoup plus petite (1 à 9 m, parfois plus petite). L'écorce grise ou rougeâtre est plutôt rugueuse. Le genévrier est un arbuste dioïque (fleurs mâles et femelles formant de petits cônes. Cônes frais comestibles. Les cônes femelles prennent progressivement l'apparence de baies dont les écailles sont reliées entre elles. Ces cônes mûrissent au bout d'environ deux ans. Les feuilles sont persistantes, toutes constituées d'aiguilles épineuses, en verticilles de 3, disposées en 6 rangées le long de la tige. Ils ont un peu de givre, ce qui rend les arbustes gris. Ils présentent 2 bandes blanches sur la face supérieure (une seule bande chez le genévrier) de part et d'autre de la nervure principale. C'est un arbuste dioïque qui fleurit d'avril à mai. 3, 4 feuilles verticillées de genévrier Cade. 3 feuilles par verticille, 2 verticilles consécutifs décalés à 60° : les feuilles sont insérées sur la tige sur 6 rangs. 1 pied en bois de genévrier mâle, 2 branches femelles en bois de genévrier remplies de galbules. Les fleurs des plantes mâles sont de petits cônes jaunes, chacun étant une fleur mâle qui libère une abondance de pollen. Sur les pieds femelles, les petits cônes globuleux sont des inflorescences le long desquelles sont disposées quelques écailles charnues dont les plus hautes portent à leur face supérieure, un seul ovule nu. Ils ont la taille d'un pois chiche et sont vert-rose la

première année et brun rougeâtre la deuxième année: ce sont les galbules. Elles contiennent de 1 à 6 graines au tégument osseux et bosselés. Les fruits sont bruns rouges à maturité, de 6 à 9 mm. La pollinisation est anémogame. La floraison et a lieu au printemps.



**Figure III.02 :** Arbre de *Juniperus oxycedrus*

### III.6.1 Appareil végétatif :

**a-** Racine (propagation) : Elle prend beaucoup de temps pour le semis et la reproduction, et elle se multiplie également avec du chaume en été

**b-** Feuilles: 3 aiguilles réunies autour des branches, plus longues que le genévrier, épineuses ; il y a deux bandes blanches sur la face supérieure (**Riou-Nivert., 2001**).



**Figure III.03 :** Feuilles de *Juniperus oxycedrus* -Elian (2010).  
Rameaux : souples, étalés et anguleux (Riou-Nivert.,2001).



**Figure III.04:** Rameaux de *Juniperus oxycedrus* (H.Gay, 1894)

### III.6.2. Appareil reproducteur :

#### a-Fleurs :

Le genévrier Cade est dioïque. Les fleurs mâles et femelles forment un cône, les fleurs mâles sont jaunâtres, petites, ovoïdes ; visibles en mai, constituées de plusieurs écailles, fusionnées à maturité.



Figure III.05: Pied mâle  
Ménard,(2011)



Figure III.06: Pied femelle  
Ménard,(2011)

**b-Fruit :**

Chaque fruit contient 3graines triangulaires de 2 à 3 mm logées dans la partie charnue de la galbule.



Figure III.07: Baies de *Juniperus oxycedrus* (Saule ;2002).



### III.6.3. Evolution phénologique :

L'oxy-cèdre est une espèce de climat subhumide et semi-aride frais à froid, communément associée au pin d'Alep et au chêne vert..

### III.7. Ecologie du genévrier oxycède :

#### III.7.1 Altitude :

Le cade s'étend de 0 m d'altitude, sur les dunes littorales et peut s'élever dans les montagnes jusqu'à 1200 m (**Gaston,1990**).

#### III.7.2. Caractères édaphiques :

Il est indifférent au sol. Il affectionne les terrains secs, rocailleux, calcaires ou acides, où il est souvent associé aux chênes verts et comas. Il aime les sols bien drainés, même calcaires ou secs. Les sols calcaires, mi-calcaire et marneux lui conviennent particulièrement, (**Lucienne,1961**). La germination de ces graines réclame un sol humifère.

#### III.7.3. Caractères climatiques :

Le cade est une espèce solaire qui ne se développe pleinement qu'en pleine lumière. Peut résister à une sécheresse sévère (sécheresse) et résister aux embruns salés. Il est très résistant aux aérosols (embruns marins) riches en chlorure de sodium. C'est une espèce de climats frais à froids, subhumides et semi-arides. C'est une espèce d'arbre continentale souvent associée au pin d'Alep et au chêne vert. En Algérie, elle est commune dans les régions semi-arides et arides.

### III.8. Utilisation :

Le bois fauve, uniforme et à grain fin, est facile à polir et est utilisé pour les ébénisteries, les placages et les crayons. Solide et incassable, le bois de genévrier est apprécié des locaux pour ses poteaux droits, et ils l'utilisent largement pour leurs maisons. Elle fournit un bon combustible et fournit du goudron végétal : l'huile de genévrier, utilisée en médecine, est extraite par distillation du bois des vieux arbres, notamment des racines. (**Garnier et al. 1961**)

En médecine traditionnelle, cette plante est utilisée pour traiter diverses maladies telles que l'hyperglycémie, l'obésité, la tuberculose, la bronchite et la pneumonie;. Les feuilles et les baies du genévrier sont diurétiques, stimulantes et anthelminthiques **(Sanchez et al., 1994)**.

ont recommandé l'huile de genévrier pour un usage interne comme répulsif contre les insectes et contre la lithiase biliaire, la néphrite chronique et la pyélite. Cette baie de genièvre est surtout connue pour l'huile obtenue par distillation de son bois, appelée huile de genièvre, **(Marongiu et al. 2003)**. L'huile est utilisée depuis longtemps comme remède topique pour de nombreuses affections cutanées : eczéma sec chronique, acné, psoriasis et lichen. De plus, Leung et Foster (1996) ont rapporté que l'huile de genièvre avait des propriétés kératolytiques et antiprurigineuses ainsi qu'une activité antibactérienne *in vitro*. Il est utilisé depuis longtemps comme antiseptique et parasiticide, ainsi que dans les onguents pour traiter certaines affections cutanées (dont la gale). Aujourd'hui, cette huile essentielle est également recommandée pour les soins des animaux de compagnie, la dermatologie, les affections du cuir chevelu et les répulsifs contre les insectes. **(Garnier et al. 1961)**

# Deuxième Partie

## Etude expérimentale

# Chapitre IV

## **CHAPITRE IV : Extraction Des Concrètes Et Des Huiles Essentielles (Optimisation, Modélisation)**

Cette étude a pour but, l'extraction des huiles essentielles et des extraits contenus dans les feuilles et les tiges de *juniperus oxycedrus* par trois techniques : hydro-distillation, entraînement à la vapeur d'eau, SOXHLET, afin de déterminer les conditions optimales (Quantité de matière végétale, durée d'extraction) permettant d'améliorer le rendement d'extraction. Cette partie de l'étude sera consacrée à une comparaison entre les rendements obtenus par les trois techniques d'extraction.

Donc ce travail sera consacré à une étude comparative entre les trois techniques d'extraction ci-dessous :

- l'optimisation des paramètres d'extraction tels que la masse, la durée d'extraction de *juniperus oxycedrus* et de la nature du solvant utilisé en termes de rendement et de cinétique d'extraction afin de caractériser la composition chimique des huiles essentielles et l'évaluation des propriétés physico-chimiques des extraits obtenus. par les deux techniques d'extractions.

Pour mieux comprendre les phénomènes mis en jeu lors de l'extraction, un modèle cinétique a été appliqué pour expliquer les résultats obtenus. L'étude des propriétés antioxydant, antifongique et antibactérienne des huiles essentielles à partir des feuilles et des tiges de cette espèce, qui est abondante en Algérie, permet la valorisation des plantes aromatiques et médicinales en général.

### **IV.1. Matière première végétale :**

Le choix de la matière première est basé sur la présence des métabolites secondaires précédemment caractérisés afin d'établir les bonnes conditions d'extraction en vue de l'obtention des huiles essentielles. Les feuilles et les tiges de *juniperus oxycedrus* ont été choisies pour l'extraction des huiles.

**Origine :**

La plante choisie dans cette étude est la plante médicinale *juniperus oxycédrus* provenant de la région de Ben Abdelmalek Ramdan de la Wilaya de Mostaganem, Algérie. la plante a été identifiée avec l'assistance d'un agent qualifié de la direction des forêts de la wilaya de Mostaganem. L'extraction des huiles essentielles de cette dernière a été faite des feuilles et tiges de cette dernière durant le mois de Septembre 2013 jusqu'au mois de Mai 2014

Pour réaliser l'opération d'extraction, nous avons utilisé une méthode distincte l'hydrodistillation par l'entraînement à la vapeur d'eau et l'extraction par solvant (SOXHLET).

**IV.2. Optimisation des paramètres d'extraction :****IV.2.1 Extraction par hydrodistillation :****IV.2.1.1. Description de l'appareillage :**

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clévenger, réalisée à l'aide d'une chauffe ballon sous pression atmosphérique. Le montage élaboré est présenté par la figure (IV.01). Il est constitué d'un ballon (1) de 2 litres contenant de la matière végétale et de l'eau mise en chauffage. On dispose de l'appareil Clévenger qui se compose d'une pièce de verrerie modifiée (tube vertical combiné avec réfrigérant plus burette a robinet de verre) un tube de retour pour a partie aqueuse du distillat relie l'extrémité inférieure de la burette au tube vertical . (annexe3)



Figure IV.01 : Montage De Hydro distillation (type Clevenger)

La charge de matière végétale à traiter et la durée de l'extraction sont les paramètres à modifier au fil des expériences d'entraînement à la vapeur d'eau, dans le but de déterminer le meilleur compromis entre eux en vue d'augmenter le rendement d'extrait.

L'optimisation de l'extraction est donc basée sur l'obtention du rendement le plus élevé possible. Le rendement d'extraction est la quantité de soluté extraite ( $M_{EX}$ ) dans le solvant normalisé par rapport à l'unité de masse de la matière végétale traitée (g/g de  $M_{MV}$ ). Il est donné par l'expression suivante :

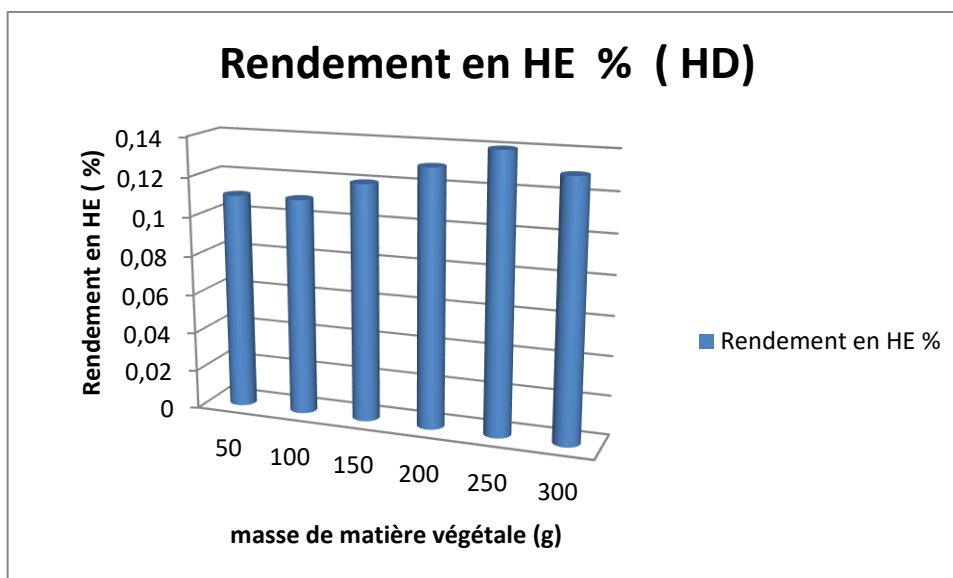
$$R_{HE}\% = 100 \cdot \frac{M_{HE}}{M_{MV}} \quad (IV.1)$$

#### IV.2.1.2. Influence de la charge de matière végétale traitée (Matière végétale sèche) :

Les essais sont effectués dans des conditions opératoires suivantes :

- Durée de l'extraction (3h) ;
- Taux d'humidité 5% (Annexe 2)
- Masse de feuilles et des tiges de *juniperus oxycedrus* sec variable (50g à 300 g)

Les résultats expérimentaux sont illustrés par la figure IV.02.



**Figure IV.02:** Evolution du rendement en huiles essentielles extraites par hydro distillation en fonction de la masse de la matière végétale sec.

On constate que le rendement en huile essentielle croît avec l'augmentation de la masse végétale traitée jusque à 250 g

#### IV.2.1.3. Influence du temps d'extraction sur le rendement en huiles essentielles (Matière végétale fraîche)

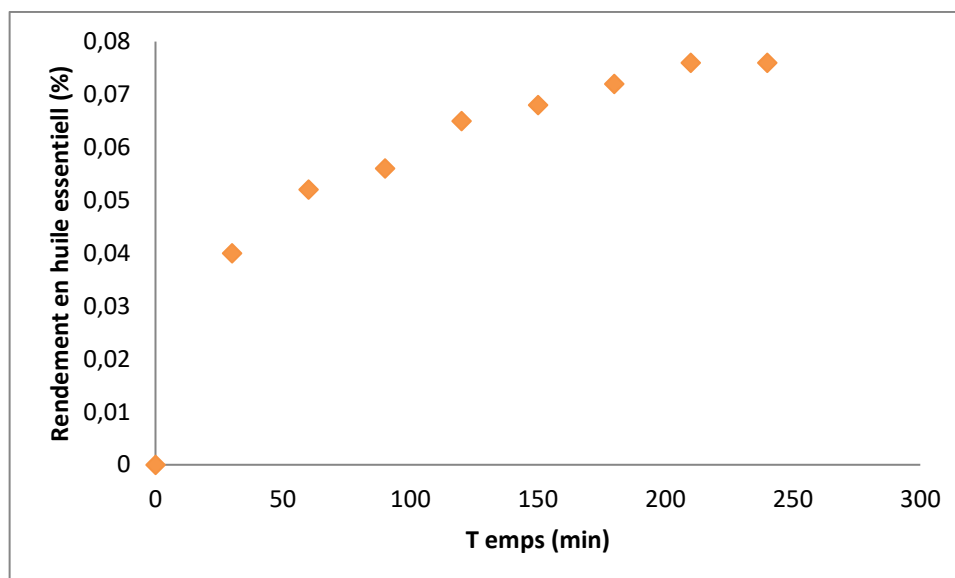
Les essais sont effectués dans les conditions opératoires suivantes :

- Masse de matière végétale : 250g
- Durées d'extraction : variable

Les résultats expérimentaux sont illustrés par la figure IV.03

La durée optimale d'extraction est achevée pratiquement au bout de deux heures; on peut donc supposer qu'au-delà de cette durée, la matière végétale est épuisée en huile essentielle et que le rendement maximal atteint a pour valeur égale à 0.08% après une durée d'extraction de 200 minutes. L'évolution de la vitesse d'extraction au cours de l'hydrodistillation montre la présence de deux périodes :





**Figure IV.03:** Evolution du rendement en huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* frais extraites par hydrodistillation en fonction du temps d'extraction.

▪ Une première période où la vitesse est maximale. Celle-ci correspond à l'extraction de l'huile superficielle. La récupération de l'huile se fait par simple évaporation.

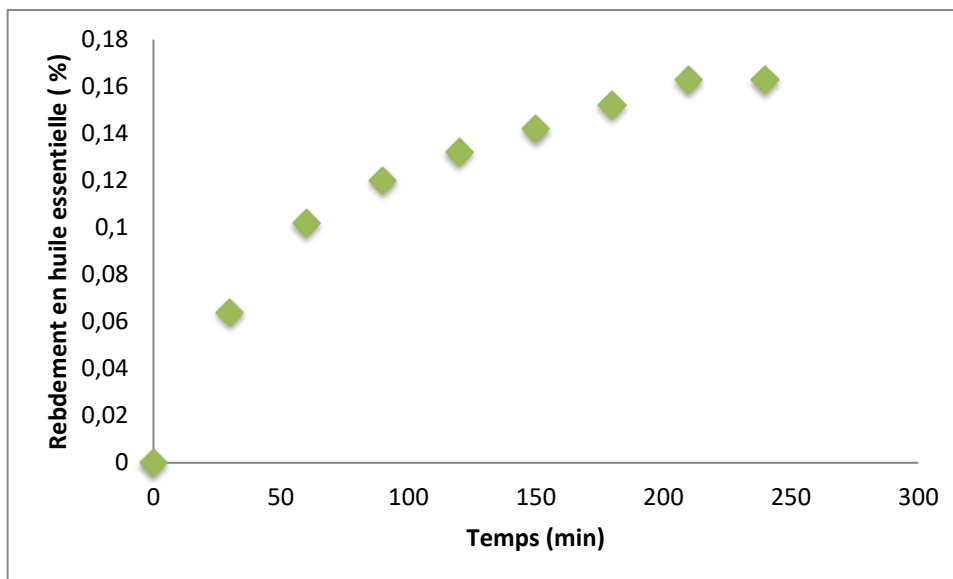
▪ Une seconde période où la vitesse diminue graduellement. Durant cette période, l'extraction de l'huile est limitée par des phénomènes de diffusion. Ainsi, les huiles essentielles emmagasinées dans les sites endogènes de la matière végétale peuvent être récupérées par le transfert de l'intérieur du solide vers la l'interface extérieur qui se fait par diffusion jusqu'à épuisement de la matière végétale.

#### IV.2.1.4. Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huile essentielle (Matière végétale sèche):

Les essais sont effectués dans les conditions opératoires suivantes :

- 250g des feuilles et de tiges de *juniperus oxycedrus* secs.
- durée d'extraction variable.

Les résultats expérimentaux sont illustrés par la figure IV.04.

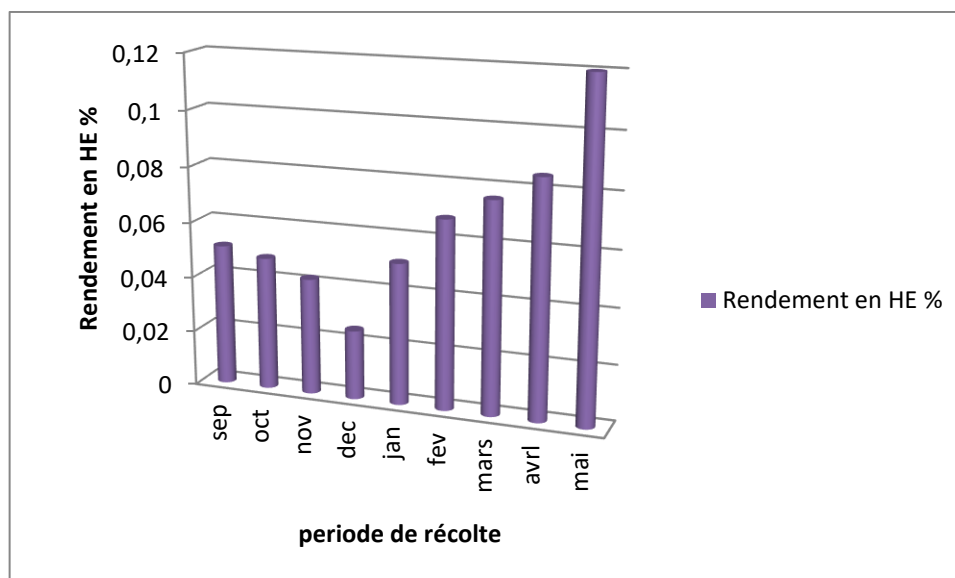


**Figure IV.04:** Evolution du rendement en huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* secs extraites par hydrodistillation en fonction de temps d'extraction

Les résultats obtenus montrent que le rendement en huiles essentielles des feuilles et tiges sèches (0.16%) est supérieur à celui des feuilles et tiges fraîches (0.08%). Selon la littérature (**shobana et al, 2000**), le séchage et la bonne conservation de la matière végétale augmentent considérablement la teneur en huiles essentielles. On suppose comme explication de ces résultats que lorsque la matière végétale est fraîche, l'extraction devienne difficile, puisque la température élevée de l'eau chaude l'hydrodistillation, elle rencontre des barrières et ne peut pas pénétrer facilement dans les sites endogènes où les huiles essentielles sont emmagasinées. De ce fait, le séchage facilite l'extraction des huiles essentielles et élimine les barrières qui entourent les sites endogènes contenant les huiles essentielles.

#### IV.2.1.5. Influence de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle :

Dans cette partie, on se concentre sur l'étude de l'évolution de la période de la récolte sur le rendement en huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation afin de déterminer la meilleure période de récolte en vue de leur exploitation économique. Les échantillons de 100 g de matière végétale sèche, sont récoltés à différentes périodes de végétation, sont introduits dans un ballon de 1 litre contient de l'eau distillé pendant 3 heures. Les résultats expérimentaux sont illustrés par la figure IV.05.



**Figure IV.05 :** Influence de la période de récolte sur

le rendement en huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* secs

On peut dire que le rendement en huiles essentielles des feuilles et tiges de *juniperus oxycedrus* extraites par hydrodistillation augmente en fonction du niveau d'inflorescence (période de floraison) qui atteint une valeur maximale durant le mois de Mai (climat ensoleillé). Dans ce cas, le mois de Mai correspond à la meilleure période de récolte ; ceci est dû au fait que les feuilles de la plante sont plus jeunes, car la plante est en plein état de production et de croissance donc elle produit plus d'huiles essentielles.

La récolte de *juniperus oxycedrus* en vue de l'extraction de leurs huiles essentielles doit se faire pendant une période bien précise de sa végétation selon la qualité recherchée. Dans ce cas, un compromis entre la composition et le rendement en huiles essentielles doit être envisagé.

## IV.2.2. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau :

### IV.2.2.1. Description de l'appareillage :

L'opération d'extraction des huiles essentielles a été effectuée par entrainement à la vapeur d'eau à l'aide d'un appareil de type alambic. Le chauffage est accompli moyennant une plaque chauffante. Le montage ainsi conçu est présenté par la figure IV.06 (annexe 3). Il est constitué principalement d'un bac cylindrique de hauteur de 200 mm et de diamètre de 250mm dont le fond est placé un support perforé de trous afin d'homogénéiser la

vapeur d'eau dans la partie inférieure du bac. Le distillateur se termine à sa partie supérieure par un couvercle, sur lequel, sont fixés un thermomètre et une soupape de sécurité.

La vapeur d'eau qui circule (de bas en haut) à travers la matière végétale en extrait les huiles essentielles puis s'échappe à travers un tube vertical combiné d'un condenseur horizontal et d'un autre disposé verticalement. Ce dernier est équipé d'un tube de séparation qui mesure à l'aide de la burette à robinet de verre et le tube de retour pour la partie aqueuse du distillat qui relie l'extrémité inférieure de la burette au tube vertical qui représente la sortie du bac.

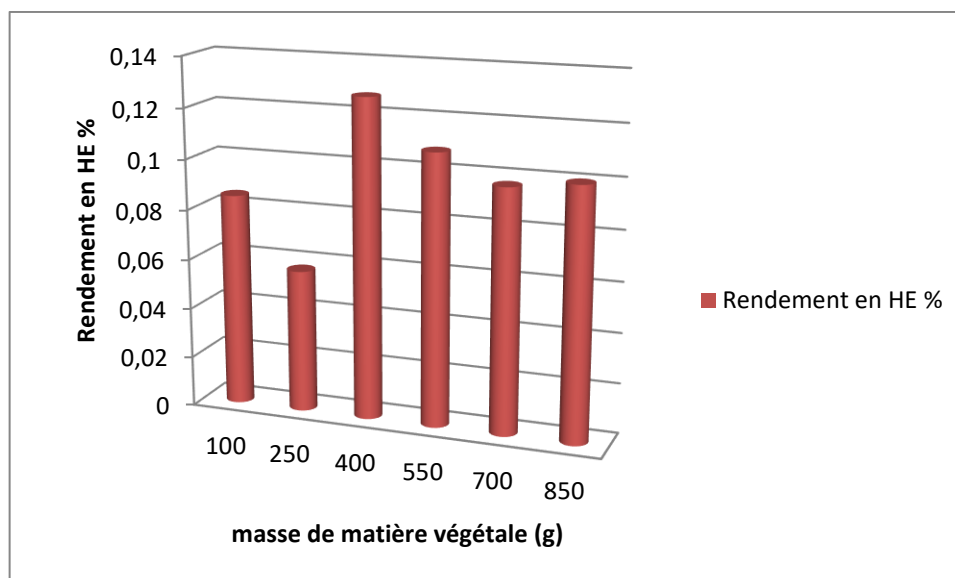


**Figure IV.06 :** Montage D'entraînement a la vapeur d'eau (type Alambic)

#### **IV.2.2.2. Influence de la charge de matière végétale (Etat sec) :**

Les essais sont effectués dans des conditions opératoires telles qu'on fixe la durée d'extraction à 3 heures ; Alors que la masse de feuille et tige de *juniperus oxycedrus* sec a été variable sur l'intervalle de 100 g à 850 g.

Les résultats expérimentaux sont illustrés par la figure IV.07.



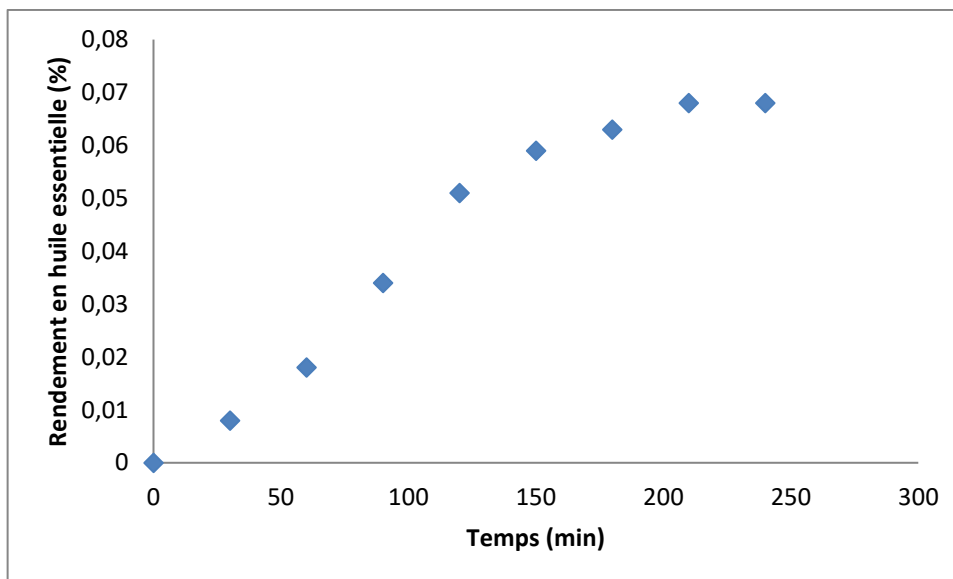
**Figure IV.07:** Impact de la masse de la matière végétale sur le rendement en huiles essentielles de *juniperus oxycedrus sec* extraite par entrainement à la vapeur d'eau.

On remarque que le rendement en huiles essentielles évolue avec la charge de *juniperus oxycedrus* pour atteindre sa valeur maximale pour une masse de 400g. On interprète ce phénomène par profil d'écoulement de la vapeur à travers le lit de matière végétale.

On constate qu'une quantité légèrement faible de *juniperus oxycedrus* avec taux de tassement moyen de ce dernier provoque la création des chemins préférentiels. De ce fait, la vapeur circule librement et rapidement à l'intérieur du lit et les équilibres entre phase fixe et phase mobile ne seront que difficilement atteints ce qui limite conséquemment le rendement d'extraction. Donc, il faut que le chargement soit suffisamment régulier pour éviter les passages préférentiels de la vapeur d'eau d'une part et réduire le taux de colmatage du lit d'autre part.

#### IV.2.2.3. Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huiles essentielles (Matière végétale fraîche) :

Lors de cette étude, 500g de feuille et tige de *juniperus oxycedrus* fraîches ont été introduites dans le distillateur. La durée d'extraction est variable. Les résultats expérimentaux sont illustrés par la figure IV.08.

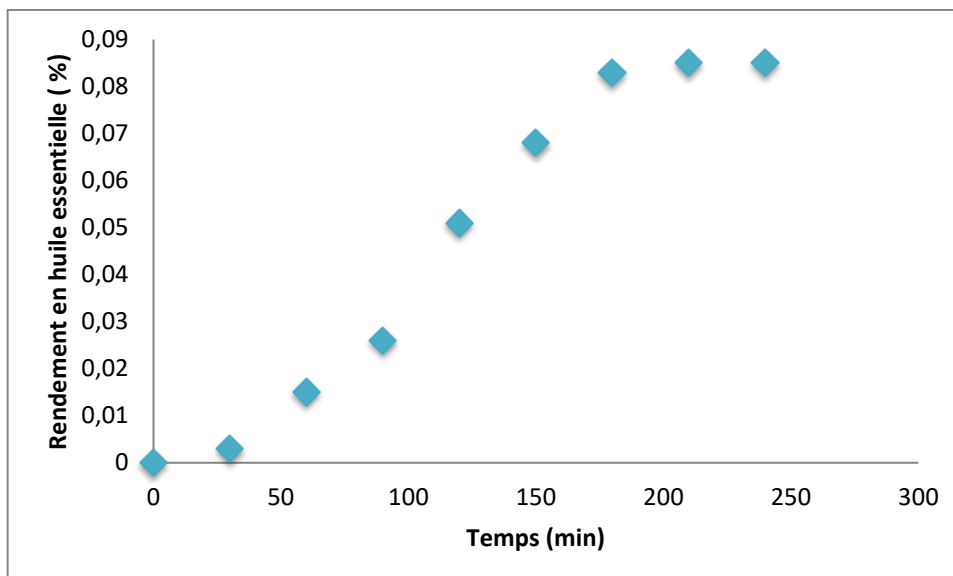


**Figure IV.08:** Evolution du rendement en huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* frais extraite par entraînement à la vapeur d'eau avec la durée d'extraction.

On peut noter que le rendement atteint son maximum après 3h de temps d'entraînement, puis il se stabilise. Après l'écoulement d'une durée de 3heures à l'entraînement à la vapeur d'eau, le rendement atteint un palier où l'augmentation est négligeable, c'est l'épuisement de la matière végétale en matière d'huiles essentielles.

#### IV.2.2.4. Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huiles essentielles (Matière végétale sèche) :

Les essais sont réalisés dans des conditions opératoires identiques aux précédentes soit une masse de 500 g de feuilles et de tiges de *juniperus oxycedrus* sec. Toutefois, la durée d'extraction est variable. Les résultats expérimentaux sont illustrés par la figure IV.09.



**Figure IV.09:** Evolution du rendement en huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* sec extraite par entrainement à la vapeur d'eau en fonction de la durée d'extraction.

On peut remarquer que le rendement atteint un maximum après l'écoulement d'une durée de 180 min pour se stabiliser par la suite. Sur cette courbe, on peut distinguer deux phases :

- La première, qui s'étale la première heure, a rapport avec l'extraction des huiles essentielles situées à la surface de la matière végétale où la vitesse d'extraction est élevée dont la conséquence est l'augmentation progressive du rendement pour atteindre les 0,08%.

- La seconde phase, qui s'enchaîne directement à la première, est caractérisée par une vitesse d'extraction relativement ralentie avec l'apparition d'un pseudo palier.

- En fonction de l'état de la matière végétale, on peut dégager que des résultats fort intéressants ont été obtenus, à savoir :

- La durée d'extraction est de 180 min pour le *juniperus oxycedrus* frais avec un rendement de 0,06 % ;
- La durée d'extraction est de 150 min pour le *juniperus oxycedrus* sec un rendement identique soit de 0,06 % ;

Dans le cadre de nos études, d'autres résultats montrent que le rendement en huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* sec (0.16 %) est plus grand que celle du *juniperus oxycedrus* frais (0.076 %).

La durée d'extraction est un paramètre très important de l'entraînement à la vapeur d'eau. Elle fournit des informations sur la localisation de l'huile essentielle à l'intérieure de la plante. Ainsi, les plantes dans lesquelles l'huile essentielle est située dans les glandes exogènes, auront un temps d'extraction relativement court.

Que les plantes dans lesquelles l'huile essentielle est située dans des glandes endocrines auront un temps d'extraction plus long.

#### **IV.2.3.Extraction par solvant (soxhlet) :**

Le soxhlet comprend essentiellement trois parties à savoir : ballon, extracteur et un réfrigérant. (annexe 3, figure IV.10). Ainsi, le ballon de 500 mL est destiné à recevoir le solvant d'extraction. Dans l'extracteur, on introduit une cartouche, en papier filtre épaisse, dans laquelle est placé l'échantillon de *juniperus oxycedrus*.

Le réfrigérant, situé en haut de réacteur, a pour objectif principal la condensation des vapeurs du solvant acheminées par le tube.



**Figure IV.10 :** Montage D'extraction par solvant volatil (soxhlet)



**Rendement en concrètes :**

On définit le rendement en concrètes,  $R_c$ , comme étant le rapport entre la masse concrète ( $M_c$ ) et la masse de la matière végétale traitée ( $M_{MV}$ ). Le rendement, exprimé en pourcentage, est donné par la relation suivante :

$$R_c\% = 100 \frac{M_c}{M_{MV}} \quad (IV.2)$$

**IV.2.3.1. Influence de la masse de la matière végétale sèche sur le rendement en oléorésine :**

Dans cette partie, on a effectué des essais avec des masses variables de *juniperus oxycedrus* pour le but d'analyser l'effet de ces dernières ainsi que les conditions opératoires suivantes :

Masse de matière végétale : variable

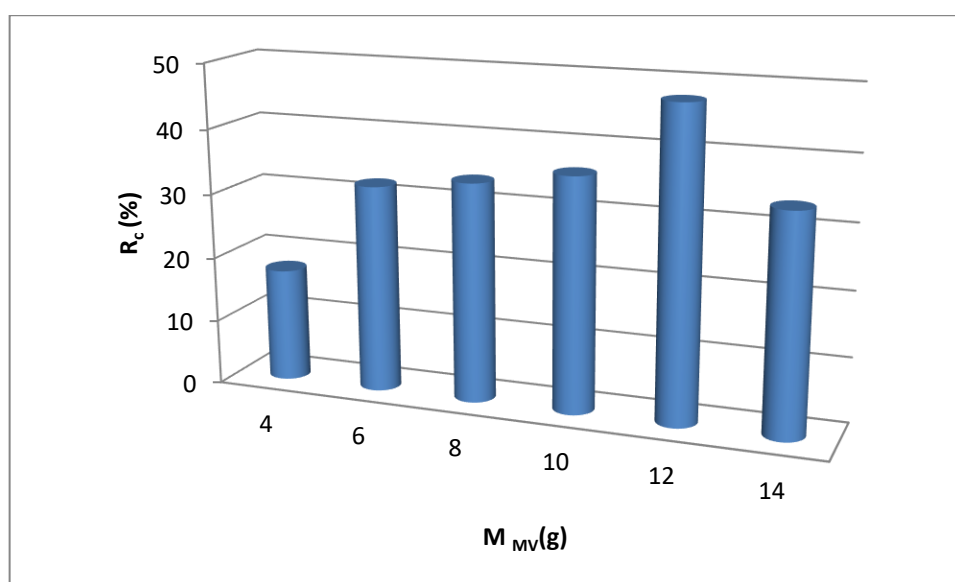
Taux d'humidité : 3 %

Durée d'extraction : 3 heures

Solvant utilisé : méthanol

Volume du solvant :  $v=100$  mL

sur le rendement en concrètes. Les résultats obtenus sont illustrés par la figure IV.11.



**Figure IV.11 :** Influence de la masse de la matière végétale sèche sur le rendement en oléorésine  $R_c$  (%).

On constate que le meilleur rendement est obtenu pour une masse de 12 grammes de *juniperus oxycedrus* sec. En outre, on remarque également que plus on augmente la charge de *juniperus oxycedrus* (état sec) plus le rendement en concrètes croit jusqu'à atteindre 12 grammes, valeur qui correspond à la masse optimale. Au-delà de cette masse, le rendement subit un fléchissement sensible.

Cette masse de matière végétale conduit à un rendement optimal en concrètes puisque le lit des particules est expansé et l'écoulement du solvant rencontre peu d'obstacles sur son chemin pour ainsi faciliter le transfert de matière. Ces conditions offrent un meilleur contact entre le *juniperus oxycedrus* et le solvant pour favoriser ainsi l'augmentation de la quantité extraite.

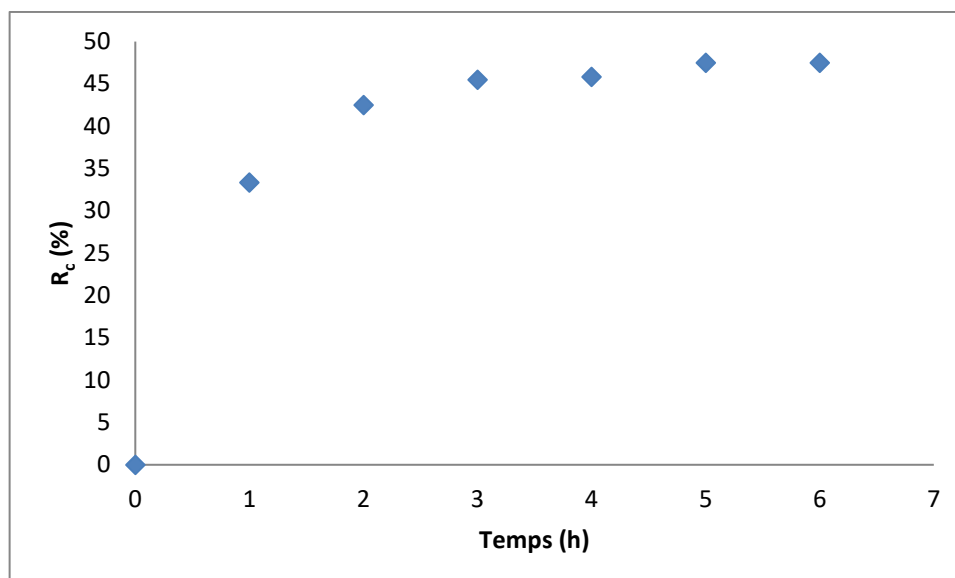
Par contre, au-delà de cette masse optimale, le rendement en concrètes diminue par suite du tassement des particules de *juniperus oxycedrus* à l'intérieur de la cartouche. Comme noté auparavant, le tassement de la matière conduit à l'obstruction des canaux ouverts à la circulation de solvant. Dans ce sens, le tassement de la matière dans l'extracteur est à éviter.

#### **IV.2.3.2. Evolution du rendement en concrètes avec la durée d'extraction :**

On a procédé à l'extraction des concrètes de la matière végétale dans les conditions opératoires suivantes :

1. Masse de matière végétale sèche : 12 g
2. Taux d'humidité : 4%
3. Solvant utilisé : méthanol
4. Volume du solvant :  $v=100$  ml.

Les résultats obtenus sont illustrés graphiquement par la figure IV.12.



**Figure IV.12** : Evolution du rendement en concrètes (R<sub>c</sub> (%))

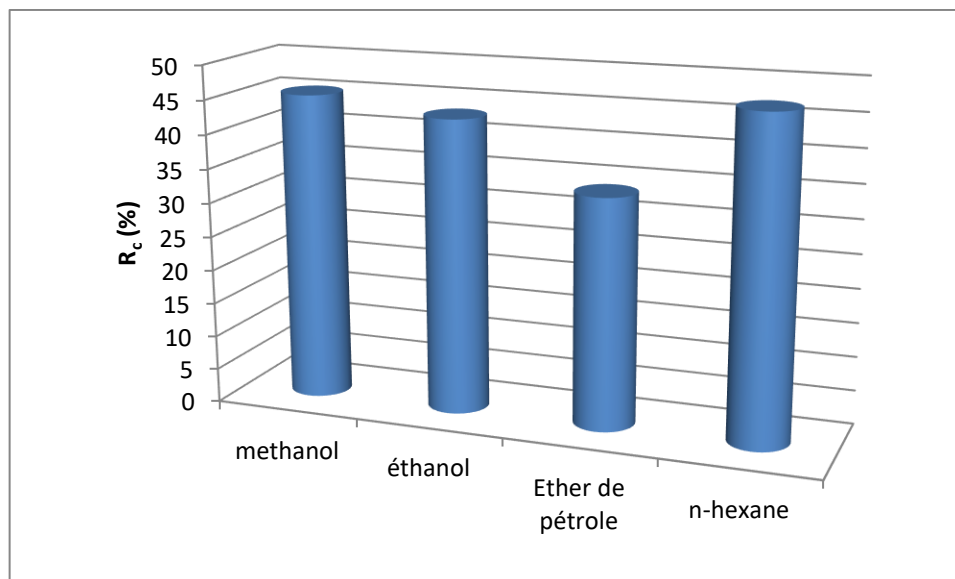
en fonction de la durée d'extraction.

D'après la figure IV.11, on note que le rendement en concrète reste pratiquement constant pour une durée d'extraction supérieure à 210 min, laquelle est retenue comme étant la durée optimale d'extraction. Ainsi, la progression graduelle de la quantité de concrètes extraite à partir de la masse végétale, lors de durée précédant la durée optimale, correspond à la récupération par le solvant des extraits se trouvant concentrés en surface de l'échantillon. Au-delà, on remarque que le rendement obtenu en concrètes reste constant car, à cette phase, le solvant aurait épuisé la matière végétale de ses concrètes.

#### IV.2.3.3. Influence de la nature du solvant sur le rendement en concrètes :

Dans le but d'évaluer l'influence de ce paramètre, des essais ont été menés selon le protocole expérimental précédemment décrit en utilisant les quatre solvants suivants, à savoir : le méthanol, l'éthanol, l'hexane, et l'éther de pétrole. La durée d'extraction est 3 heures.

Ayant antérieurement déterminé quelques conditions opératoires optimales, nous nous sommes guidés pour analyser l'effet du solvant sur le rendement d'extraction en concrètes à partir de la plante *juniperus oxycedrus* sec. Les résultats expérimentaux sont représentés par la figure IV.13.



**Figure IV.13 :** Influence de la nature du solvant sur le rendement en concrètes.

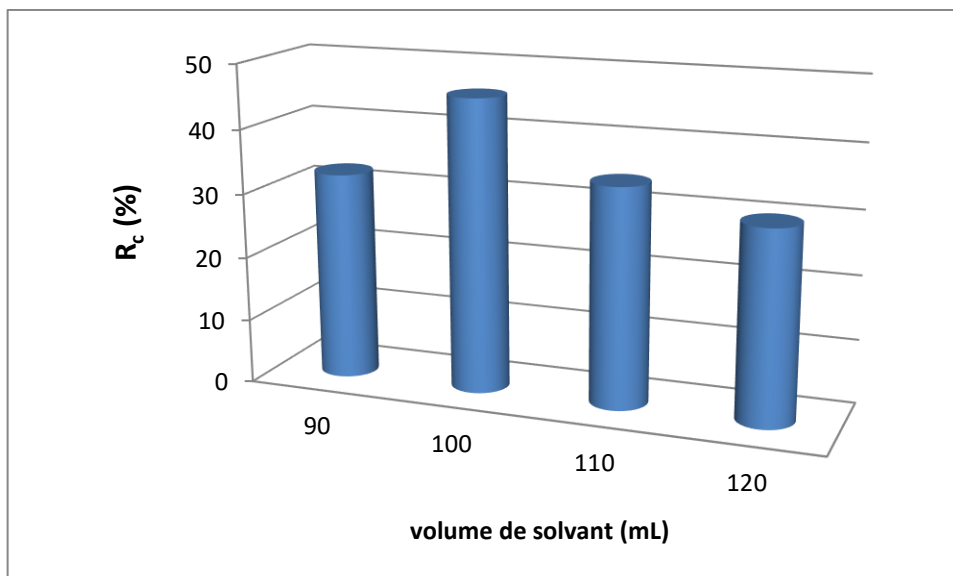
D'après la figure IV.30, on remarque que le n-hexane se présente comme étant le meilleur solvant du point de vue quantitatif, suivi de méthanol, éthanol puis éther de pétrole. Le bon rendement peut être dû en partie à l'effet de la viscosité du solvant d'une part et à sa tension superficielle d'autre part compte tenu de leurs effets négatifs sur le transfert de matière au sein de la matrice végétale. Ces deux propriétés jouent un rôle particulièrement important dans la capacité de pénétration du solvant dans la matrice végétale.

#### IV.2.3.4. Influence du volume du solvant sur le rendement en concrètes :

On a procédé à l'extraction des concrètes de la matière végétale dans les conditions opératoires suivantes :

1. Masse de matière végétale : 12g ;
2. Taux d'humidité : 4 % ;
3. Durée d'extraction : 3heures ;
4. Solvant utilisé : méthanol
5. Volume du solvant : variable

Les résultats obtenus sont illustrés par la figure IV.14.



**Figure IV.14 :** Influence du volume du solvant sur le rendement en concrètes.

Le volume optimal de méthanol, donnant le meilleur rendement en concrètes pour le *juniperus oxycedrus*, est de 100 ml. Comparativement aux différents volumes utilisés, le meilleur rendement obtenu est de 43%. Outre la viscosité, la tension superficielle du solvant, la solubilité des concrètes dans le solvant est un facteur essentiel. Il y a lieu de préciser que les principes actifs se considèrent intéressants pour leur solubilité élevée dans les solvants car la saturation de ces derniers ne serait atteinte qu'après avoir éliminé d'importantes quantités d'extrait. Toutefois, il est utile de noter qu'une augmentation excessive du volume du solvant pourrait prolonger la durée de l'extraction.

### IV.3. Modélisation de la cinétique d'extraction:

D'après les résultats présentés dans les figures IV.03, IV.04, IV.08, IV.09, on remarque une progression constante du rendement dans les premières minutes pour subir un fléchissement au bout de cette phase laquelle coïncide avec l'atteinte des conditions d'équilibre après 3 heures. Pour analyser ce phénomène et élaborer un modèle prédictif, on s'est concentré sur l'établissement d'une loi cinétique régissant le phénomène d'extraction. Dans ce sens, on a proposé un modèle du premier ordre du type (baudoux D 2008, Bruneton J 1999) dont l'expression analytique est:

$$v = \frac{d[R_{HE}(\infty) - R_{HE}(t)]}{dt} = K[R_{HE}(\infty) - R_{HE}(t)] \quad (IV.3)$$

Où  $K$  est une constante de vitesse qui dépend de la température,  $R_{HE}(t)$ , le rendement instantané et  $R_{HE}(\infty)$  le rendement à l'équilibre, soit après une durée de trois heures.. Par intégration de cette équation différentielle on obtient :

$$Kt = -\ln \left[ \frac{R_{HE}(\infty) - R_{HE}(t)}{R_{HE}(\infty)} \right] = \ln \left[ \frac{R_{HE}(\infty)}{R_{HE}(\infty) - R_{HE}(t)} \right] \quad (IV.5)$$

L'équation ci-dessus est issue d'un modèle développé par **spiro et selwood** dans une étude sur le mécanisme d'infusion de la caféine à partir du café (**M.Spiro and R.M.Selwood, 1984**). On remarque qu'à un temps théoriquement infini, l'équilibre est atteint c'est-à-dire que  $R_{HE}(t) = R_{HE}(\infty)$ . Pour mener à bien notre modélisation, on pose :

$$\alpha = \ln \left[ \frac{R_{HE}(\infty)}{R_{HE}(\infty) - R_{HE}(t)} \right]$$

et on trace l'allure de la courbe  $\alpha = \alpha(t)$  pour déterminer la constante de vitesse  $K$  pour les différentes conditions d'extraction.

### IV.3.1. Modélisation de la cinétique d'extraction des huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* par HD et EVD :

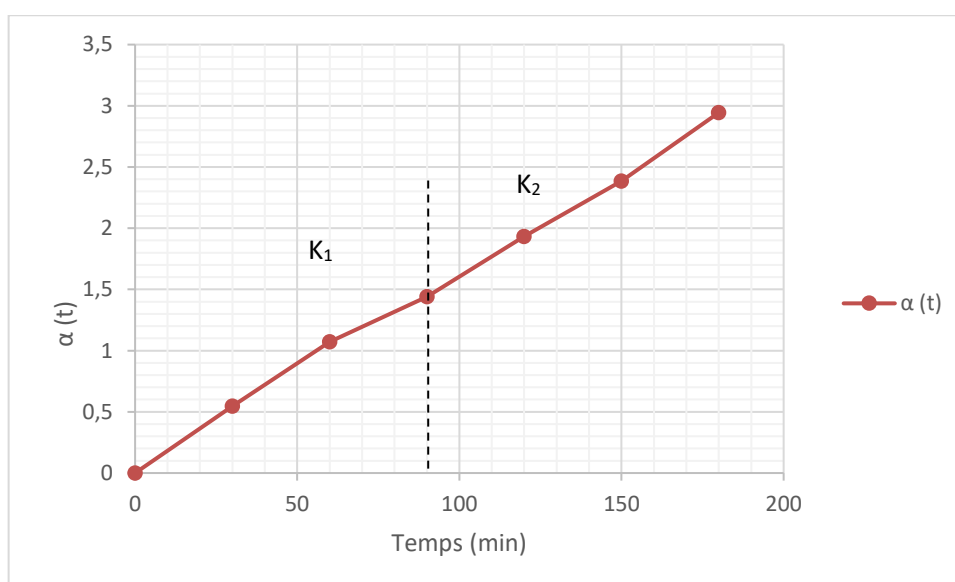
A partir des résultats obtenus dans la partie expérimentale et en supposant que l'équilibre est atteint lorsque le pallier de la courbe est amorcé, c'est-à-dire que  $R_{HE}(\infty)$  correspond à sa valeur limite, lue directement sur le graphe  $R_{HE} = R_{HE}(t)$ . Ainsi, , on le calage des résultats par le modèle retenu permet de dresser les tableaux suivants !

Tableau IV.1 : Variation de  $\alpha = \alpha(t)$  pour analyse de la cinétique d'extraction d'huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* obtenues par HD et EVD

Technique d'extraction	Hydro-distillation (HD)		Entrainement à la vapeur (EVD)	
	Fraiche	sèche	Fraiche	sèche
Matière végétale	Fraiche	sèche	Fraiche	sèche
Temps (min)	$\alpha(t)$ [--]	$\alpha(t)$ [--]	$\alpha(t)$ [--]	$\alpha(t)$ [--]
0	0	0	0	0
30	0.547	0.510	0.125	0.035
60	1.072	0.980	0.369	0.194

90	1.440	1.386	0.693	0.365
120	1.932	1.673	1.386	0.916
150	2.384	2.079	2.022	1.609
180	2.944	2.77	2.610	3.749

Pour l'estimation de la valeur moyenne de la constante cinétique, on trace graphiquement la courbe  $\alpha = \alpha(t)$ . Il est évident que la constante cinétique n'est autre que la pente de cette courbe si son allure est une droite. Pour les matières fraîche et sèche et- pour les deux techniques d'extraction, les courbes  $\alpha = \alpha(t)$  sont illustrées par les figures IV.15 . IV.16, IV.17 et IV.18.



**Figure IV.15:** Allure de la courbe  $\alpha = \alpha(t)$  propre à la cinétique d'extraction des huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* frais obtenues par HD.

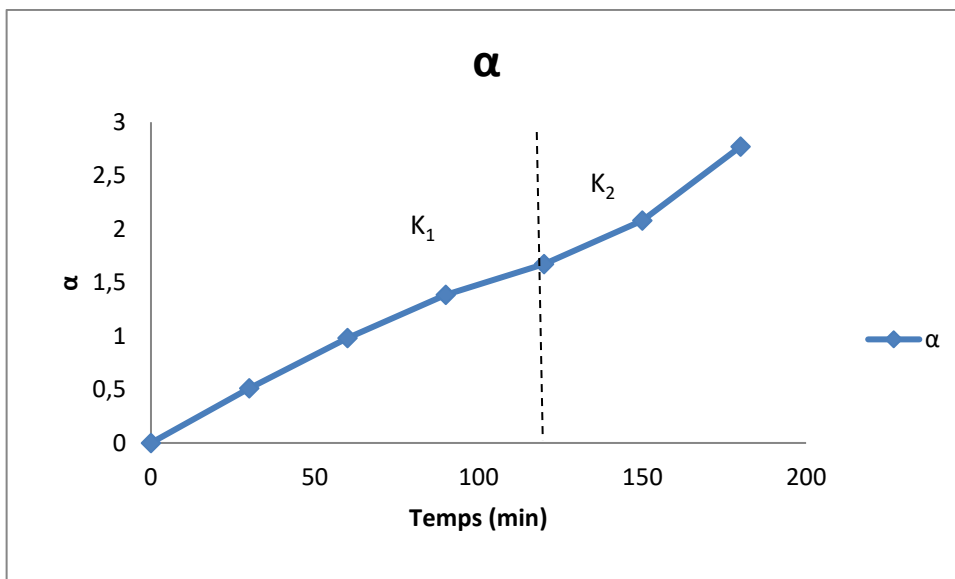


Figure IV.16 : Modélisation de la cinétique d'extraction des huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* sec obtenues par HD

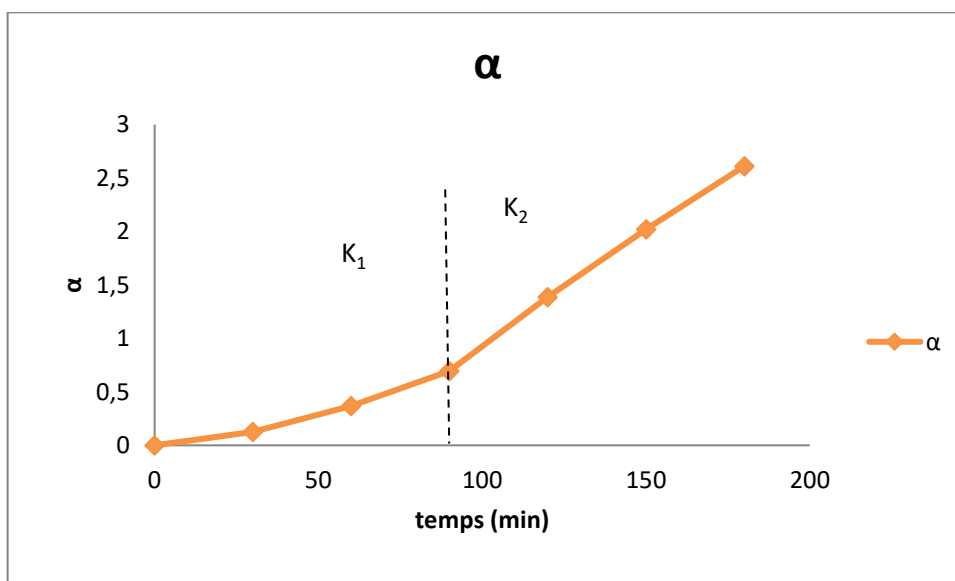
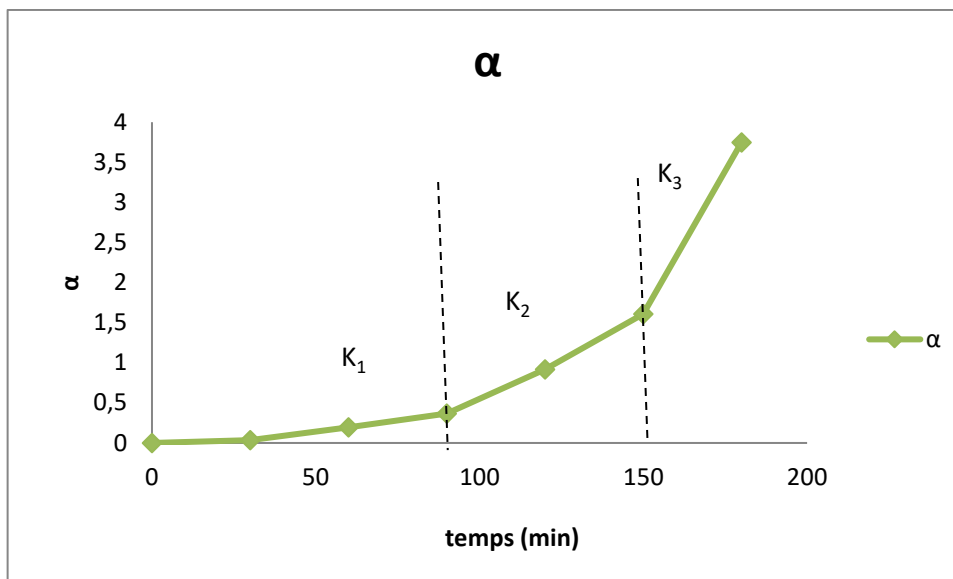


Figure IV.17: Allure de la courbe  $\alpha = \alpha(t)$  propre à la cinétique d'extraction Des huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* frais obtenues par EVD.





**Figure IV.18:** Allure de la courbe  $\alpha = \alpha(t)$  propre à la cinétique d'extraction des huiles essentielles de *juniperus oxycedrus sec* obtenu par EVD.

#### Interprétation des résultats :

Sur la base des résultats de la modélisation de la cinétique d'extraction, donnés sur les 4 figures IV.15 . IV.16, IV.17 et IV.18, on peut avancer que la cinétique d'extraction des huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* change d'allure suivant le phénomène contrôlant le transfert de matière. Pour l' extraction des huiles essentielles de *juniperus oxycedrus*, obtenues par HD, la cinétique suit une loi pratiquement linéaire, alors qu'elle est plus complexe pour l'extraction par EVD où on peut subdiviser l'allure de la courbe  $\alpha = \alpha(t)$  en deux ou trois tronçons, caractérisés par des constantes cinétiques  $K_i$  croissantes. On peut déduire que les quantités d'huiles essentielles croît proportionnellement aux constantes cinétiques  $K_i$ .

Le traitement numérique des données nous a permis de dresser les valeurs de constantes cinétiques  $K_i$  pour les différents procédés d'extraction lesquelles sont regroupées dans le tableau IV.2.

**Tableau IV.2 :** Valeurs des constantes de vitesse  $K_i$  pour les différentes techniques d'extraction d'huiles essentielles..

Constante de vitesse (min <sup>-1</sup> ) Méthodes d'extraction		K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>
		HD	Matière végétale fraîche	0.011
	Matière végétale sèche	0.012	0.018	/
EVD	Matière végétale fraîche	0.009	0.021	/
	Matière végétale sèche	0.0055	0.020	0.071

Comparativement entre résultats des valeurs de  $K_1$ , on peut noter qu'il est plus important à l'extraction par hydro-distillation que par l'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau pour garder une valeur sensiblement constante durant les deux phases distinctes de l'extraction. Par ailleurs, les valeurs de  $K_i$  subissent une croissance très prononcée quant à l'extraction par EVD de la matière végétale sèche. En effet, sa valeur a été triplée en passant de l'étape deux à l'étape trois, c'est-à-dire que  $K_3 \cong 3K_1$ .

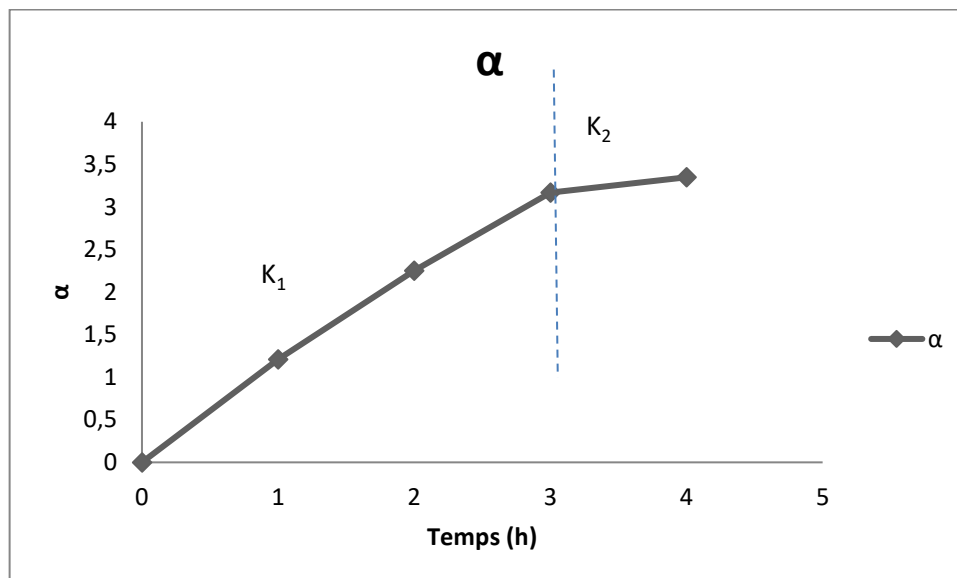
#### **IV.3.2. Modélisation de la cinétique d'extraction des concrètes de *juniperus oxycedrus* par SOXHLET :**

A partir de la figure IV.19, on remarque l'évolution rapide du rendement dans les premières minutes puis une tendance à l'équilibre après 4 heures. Ainsi, on peut relever les valeurs relatives à la variation de  $\alpha = \alpha(t)$ . Elles sont consignées dans le tableau IV.3.

**Tableau IV.3:** Valeurs des constantes de vitesse  $K_i$  pour l'extraction des concrètes de *juniperus oxycedrus sec* par soxhlet.

Temps (min)	60	120	180	240
$\alpha$ [— — —]	1.209	2.251	3.167	3.347

Graphiquement, l'allure de la courbe  $\alpha = \alpha(t)$  est présentée par la figure IV. 36. Globalement, on peut distinguer deux tronçons de droites qui se caractérisent par la valeur des constantes  $K_i$  de la cinétique d'extraction, à savoir  $K_1$  et  $K_2$ .



**Figure IV.19 :** Allure de la courbe  $\alpha = \alpha(t)$  propre à la cinétique d'extraction de concrètes de *juniperus oxycedrus sec* par soxhlet.

Le traitement numérique des données présentées dans le tableau IV.3 par la méthode des moindres carrés, appliquée pour chaque tronçon, nous a permis de dresser les valeurs de constantes cinétiques  $K_i$  pour l'extraction des concrètes de *juniperus oxycedrus sec* par soxhlet. Elles sont données par le tableau IV.4.

**Tableau IV.4 :** Constantes de la cinétique d'extraction de concrètes par soxhlet.

$K_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )
0.978	0.180

On peut établir, à partir des valeurs de  $K_1$  et  $K_2$  qu'une cinétique très accélérée a lieu pendant la première étape suivie d'une étape très décélérée. En effet, la première étape est dix fois plus rapide que dans la seconde étape. Ce constat conduit à affirmer que la quantité de concrètes extraite est plus importante dans la première phase de sorte qu'on puisse considérer celle extraite dans la seconde étape quasi négligeable.

# Chapitre V

## CHAPITRE V : Etude analytique et biologique

### V.1. Etude analytique de l'huile essentielle :

#### V.1.1. Propriétés organoleptique de l'essence:

Les différentes caractéristique organoleptique (aspect, couleur, odeur) des huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* locales sont notées au tableau (V.1) .

Méthode d'extraction	HD		EVD		SOXHLET	
Matière végétale	Fraiche	Sèche	Fraiche	Sèche	Fraiche	Sèche
Aspect	Liquide	liquide	liquide	liquide	pâteux	pâteux
Odeur	Propre a la matière végétale	Propre a la matière végétale	Propre a la matière végétale	Propre a la matière végétale	Propre a la matière végétale	Propre a la matière végétale
Couleur	Jaune clair	Jaune clair	Jaune foncée	Jaune foncée	Vert foncée à noir	Vert foncée à noir

#### V.1.2. Détermination des propriétés physico-chimique:

Les propriétés physico-chimiques des essences des feuilles et tiges de *juniperus oxycedrus* ont été déterminées selon les normes AFNOR sur les huiles essentielles (annexe 3). Les résultats sont regroupés dans le tableau V.2 ci- dessous .

Méthode d'extraction	HD	EVD	SOXHLET
Nature d'extrait	Huile essentielle	Huile essentielle	concrète
Densité à 20°C	0.820	0.875	0.901
Indice d'acidité (I <sub>a</sub> ) (mg/g)	7.480	4.675	3.366
Indice d'ester (I <sub>e</sub> )	12.987	13.021	14.224
Indice de réfraction $\eta_D^{20}$	1.480	1.512	1.519
pH	5.2	5.7	6

A partir des valeurs présentées dans le tableau (V.2) , on constate que :

les densités ont des valeurs relativement proches quel que soit le mode d'extraction.

L'indice de réfraction des extraits obtenus par hydrodistillation est légèrement inférieurs à celui obtenus par entrainement à la vapeur d'eau et ces derniers inférieurs à l'indice de réfraction de concrète.

### V.1.3. Analyse chromatographique GC/SM :

Les analyses chromatographiques ont été réalisées à l'aide d'un Agilent 5973 GC-MS couplé à un Agilent 6800, équipé d'un injecteur split dont le rapport de fuite est (1 /70) à 250 ° C .

Les conditions analytiques ont été fixées comme suit : Agilent HP-5ms colonne capillaire (30 m x 0,25 mm, df = 0,25  $\mu$ m), programme de température: de 60 ° -250 ° C à 2 ° C / min, phase mobile: gaz vecteur était l'hélium à 0,5 ml / min. La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70 eV, la gamme de masse numérisée : 34-450 uma.

Les températures de source et de quadripôles ont été fixées à 230 ° C et 150 ° C, respectivement.

L'identification des composants a été effectué sur la base de la rétention par Chromatographie

Des indices et par comparaison des spectres enregistrés avec des bibliothèques de données calculées (wiley7n.l et NIST02.L). Procédure microbiologique.

Les résultats des analyses par CG et CG/SM des huiles essentielles extraites des rameaux de *Juniperus oxycedrus* (frais, sèches) collectés au nord du l'Algérie sont présentés dans le Tableaux (V.3), (V.4).

N°	KI	Composants	(HD) %	(EVD) %
01	920	<i>Cyclooctadiene</i>	-	0.26
02	929	<i>A-Thurjene</i>	2.27	2.69
03	936	<i>A-Pinene</i>	14.85	14.01
04	947	<i>Camphene</i>	0.11	-
05	973	<i>Sabinene</i>	14.93	18.15
06	993	<i>B-Myrcene</i>	1.05	1.61
07	1010	<i>4-Carene</i>	0.17	1.06
08	1010	$\Delta$ -3 Carène	0.74	-
09	1031	<i>Limonene</i>	2.62	3.98
10	1038	<i>P-Cymene</i>	9.12	12.25

11	1059	<i>Δ-Terpinene</i>	2.71	3.95
12	1060	<i>A- Terpinene</i>	1.13	1.70
13	1087	<i>A- Terpinolene</i>	-	1.31
14	1088	<i>Terpinene-4-Ol</i>	17.48	8.45
15	1122	<i>Cis-P-2-Menthen-1-Ol</i>	1.02	-
16	1127	<i>A -Campholenal</i>	-	0.92
17	1158	<i>Sabina Ketone</i>	1.02	-
18	1188	<i>Verbenol</i>	0.85	-
19	1205	<i>Verbenone</i>	0.54	-
20	1218	<i>Trans-Carveol</i>	0.49	-
21	1283	<i>P-Cymene-7-Ol</i>	0.42	0.15
22	1332	<i>Adamantane</i>	1.38	-
23	1383	<i>B-Bourbonene</i>	-	0.40
24	1422	<i>Coryophyllene</i>	-	1.84
25	1482	<i>Germacrene-D</i>	-	1.37
26	1523	<i>Δ-Cadinene</i>	-	0.32
27	1570	<i>Caryophyllene Oxyde</i>	-	0.90
28	1584	<i>Bicyclo[2.2.2]Oct-2-Ene, 1,2,3,6-Tetramethyl</i>	-	0.24
29	1602	<i>Dodecylacetate</i>	-	1.56
30	1632	<i>Trans-Pinocarveol</i>	0.68	0.16
31	1683	<i>Sabinol</i>	1.75	-
32	1702	<i>Aromadendrene Oxyde</i>	-	0.62
33	1707	<i>Farnesol</i>	-	5.22
34	1824	<i>P-Mentha-1,5-Dien-7-Ol</i>	1.182	0.47
35	1955	<i>Pimaradiene</i>	-	0.25
36		<i>Fenchyl Alcool</i>	0.80	0.83
37		<i>Sekisanin</i>	-	1.280
38		<i>Cis-Piperitol</i>	0.31	-
39		<i>2,5-Diethylfuran</i>	0.27	-
40		<i>7-Hydroxynorbornadiene</i>	0.20	-
41		<i>Benzene, (3-Methyl-2-Butenyl)</i>	-	0.81
42		<i>Tridiconone</i>	-	1.07

La composition des huiles essentielle extraite par hydrodistillation (HD) est différente de la composition extraite du entrainement a la vapeur d'eau (EVD) de *juniperus oxycedrus*, malgré l'utilisation du même échantillon. Par contres on retrouve la ressemblance dans les huiles essentielles extraite des deux méthodes souvent dans les compositions suivantes (*Terpinène, Sabinène, Alpha Pinène*), sauf qu'elles sont différentes pour quelque composantes par exemple, les (*Farnesal*5,22% ; *methyldeoxy-lithofellate*6,43%) se trouvent dans la composition extraite par EVD alors (1-

*Bromoadamantane 1, 38% , Sabinol 1,75%*) qui se trouve dans la composition extraite du HD.

**Tableau V.4:** Composition chimique des huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* frais

N°	KI	Composants	(HD) %	(EVD) %
1.	926	<i>Tricyclene</i>	–	0.166
2.	930	<i>α-thujene</i>	0.880	–
3.	939	<i>α-penene</i>	23.579	37.163
4.	954	<i>Camphene</i>	0.251	0.628
5.	967	<i>Verbenene</i>	0.113	0.532
6.	975	<i>Sabinene</i>	10.804	12.829
7.	993	<i>β-myrcene</i>	1.885	3.388
8.	1011	<i>delta-3-carene</i>	1.370	1.168
9.	1017	<i>α-terpinene</i>	0.811	1.251
10.	1020	<i>p-cymene</i>	–	8.781
11.	1029	<i>limonene</i>	6.555	5.795
12.	1050	<i>trans-ocimene</i>	0.306	0.415
13.	1059	<i>γ-terpinene</i>	1.147	0.831
14.	1088	<i>α-terpinolene</i>	0.863	2.045
15.	1114	<i>β-thujone</i>	–	0.159
16.	1126	<i>α-campholenal</i>	1.494	–
17.	1126	<i>γ-alpha campholenol</i>	–	2.050
18.	1139	<i>trans-pinocarveol</i>	1.223	1.300
19.	1141	<i>cis-verbenol</i>	1.171	0.477
20.	1159	<i>sabina ketone</i>	0.451	–
21.	1164	<i>Pinocarvone</i>	–	0.423
22.	1170	<i>α-phellandren-8-ol</i>	0.269	–
23.	1174	<i>4-terpinenol</i>	7.251	4.477
24.	1197	<i>Verbanol</i>	1.995	–
25.	1195	<i>Myrtenol</i>	–	0.472
26.	1205	<i>Verbenone</i>	0.485	0.374
27.	1216	<i>trans-(+)-carveol</i>	0.495	0.385
28.	1225	<i>citronellol</i>	0.194	0.366
29.	1241	<i>cuminol</i>	0.218	0.251
30.	1259	<i>(Z)-4-decen-1-ol</i>	–	0.167
31.	1275	<i>Phellandranal</i>	–	0.215
32.	1298	<i>geraniol formate</i>	0.094	–
33.	1388	<i>β-bourbonene</i>	0.199	0.303
34.	1408	<i>caryophyllene (Z)</i>	0.396	0.66
35.	1482	<i>germacrene-D</i>	2.888	0.869
36.	1484	<i>α-amorphene</i>	–	0.089



37.	1490	<i>β-selinene</i>	0.364	0.206
38.	1496	<i>-tridecanone</i>	0.465	0.304
39.	1523	<i>δ-cadinene</i>	0.313	0.165
40.	1583	<i>caryophyllene oxide</i>	1.236	0.549
41.	1594	<i>salvial-4(14)-en-1-one</i>	–	0.175
42.	1641	<i>aromadendrenepoxide-(Ii)</i>	0.363	–
43.	1651	<i>vulgarone B</i>	0.866	0.327
44.	1673	<i>5-iso-cedranal</i>	0.897	–
45.	1446	<i>citronellyl propanoate</i>	0.856	–
46.	1723	<i>Farnesol</i>	8.486	2.124
47.	1741	<i>Farnesal</i>	0.808	0.272
48.	1896	<i>Rimuene</i>	0.228	–
49.	1938	<i>Cembrene</i>	0.158	–
50.	1969	<i>sandaracopimaradiene</i>	0.302	–
51.	2010	<i>epimanol Oxide</i>	11.45	4.527
		<i>Total identifieur</i>	93.313	96.678

La composition des huiles essentielles extraites par hydrodistillation diffère de celle extraite par entraînement à la vapeur d'eau pour le même échantillon de feuilles et de tiges fraîches de *Juniperus oxycedrus*. En revanche, pour les huiles extraites par distillation à la vapeur d'eau, on constate, pour les deux méthodes d'extraction, une certaine similitude dans la composition des huiles extraites, notamment pour les constituants suivants (*alpha pinène, Sabinène, Limonène*).

Par contre, les composants obtenus par hydrodistillation tels que (*alpha-campholenal 1,494%* ; *epimanol oxide 11,45%* ; *Verbanol 1,995%*) et les composants (*P-Cymene 8,761%*; *beta thujone 0,159%*; *Beta-Bourbonene 0,303%*) ont des compositions chimiques différentes.

La composition de l'huile essentielle trouvée dans les feuilles et les tiges fraîches (Tableau V.4) de la *juniperus oxycedrus*, est différente de celle obtenue pour la matière végétale sèche (Tableau V.3) (Willis Mostaganem Algérie)

La composition de l'huile essentielle qui se trouve dans les feuilles et les tiges du *juniperus oxycedrus*, cueillis dans la forêt de Ben Abdelmalak Ramdan dans la wilaya de Mostaganem (Algérie), est différente à celle obtenue précédemment du *Juniperus oxycedrus* et à celle obtenue par (Mansouri et Al, 2010) -Atlas Maroc étudiées par (Velasco Nene Gueruela,2003).

Les résultats obtenus concernent : la méthode entreprise pour l'extraction des huiles, et la position géographique de prélèvement de l'échantillon. La composition des huiles essentielle extraite par hydrodistillation est différente de la composition extraite par entraînement à la vapeur d'eau de *juniperus oxycedrus*, malgré l'utilisation du même échantillon. Par contre on retrouve la ressemblance dans les huiles essentielles extraite des deux méthodes souvent dans les compositions suivantes (*Terpinène, Sabinène, Alpha Pinène*), sauf qu'elles sont différentes dans quelques composants par exemple (*Farnesal 5,22% ; methyl-desoxy-lithofellate 6,43%*) qui se trouve dans la composition extraite par EVD et dans (*1-Bromoadamantane 1,38% , Sabinol 1,75%*) qui se trouve dans la composition extraite du HD.

La composition de l'huile essentielle qui se trouve dans les feuilles et les tiges du JO, cueillis dans la forêt de Ben Abdelmalak Ramdan, wilaya de Mostaganem (Algérie), est différente à celle obtenue précédemment du JO et à celle obtenue par **N. Mansouri et Al** -Atlas Maroc étudiées par **Velasco Nene Gueruela**.

## V.2. Etude biologique :

### V.2.1. Evaluation des activités antifongique et antibactérienne :

Nous avons utilisé la technique de dispersion des huiles essentielles dans l'agar-agar à 0,2 % (**Remmal et al, 1993 ; satrani et al , 2001**) et en utilisant le méthanol pour la dilution des extraits.

Les concentrations finales en huiles essentielles sont : 5,10,20,40,80 (mg/ml).

Des témoins, constitués du milieu de culture plus la solution d'agar-agar à 0,2 % seule, sont également préparés. 2 ml de chaque concentration ont été ajoutées aux tubes à essais contenant la gélose nutritive pour les bactéries et le PDA pour les moisissures. Ils sont ensuite été stérilisés à l'autoclave (20 minutes à 121 °C), puis refroidis à 45 °C.

Les mélanges sont coulés sur des boîtes de Pétri. Après, les disques de mycélium de chaque moisissure de 5mm de diamètre coupé du périphérique d'une culture de 7 jours sont inoculés au centre des boîtes puis incubées à 25°C ± 2 pendant sept jours. La température d'incubation est de 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries, Chaque essai est répété trois fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

Les résultats de l'activité antifongique et antibactérienne des huiles essentielles extraites des feuilles et tiges de *Juniperus Oxycedrus* au niveau de la wilaya de Mostaganem sont regroupés dans le Tableau V.5:

**Tableau V.5 :** l'activité antifongique et antibactérienne des huiles essentielles extraites des feuilles et tiges de *Juniperus Oxycedrus*

Concentrations (mg/mL)		5		10		20		40		80	
Échantillons		HE EVD	HE HD	HE EVD	HE HD	HE EVD	HE HD	HE EVD	HE HD	HE EVD	HE HD
Les Moisissures	• <i>Botritice cineria</i>	+	+	+	+	+	--	--	--	--	--
	• <i>Fusarium oxysporum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	--	+
	• <i>Aspergillus Barasilians</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	--
	• <i>Ascochyta rabiei</i>	+	+	+	+	+	+	--	+	--	+
Les bactéries	<i>Escherichia coli</i>	+	+	--	+	--	+	+	--	--	--
	Staphylococcus aureus	+	+	+	--	--	--	-	--	--	--
(+) = croissance / Développement ; (-) = inhibition											

Les huiles essentielles extraites à l'aide du procédé EVD ont été plus actives à inhiber la moisissure (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus Barasilian*) à un taux de concentration de 80mg/ml, ce résultat ne s'applique pas par le deuxième procédé car il n'était pas actif pour ces deux moisissures.

La moisissure la plus sensible était *Botritice cineria*, dont la croissance d'inhibition est à 20mg/ml d'huiles essentielles extraites à l'aide d'un procédé HD et à 40mg/ml de l'huile essentielle extraite à l'aide d'un procédé EVD, On note aussi qu'*Ascochyta rabiei* a inhibé à 40mg/ml de l'huile essentielle extraite à l'aide d'un procédé EVD, et à 80mg/ml de l'huile essentielle extraite à l'aide d'un procédé HD.

Cette activité antimicrobienne observée pour les huiles essentielles a été rapportée que l' $\alpha$ -pinène, qui est le composé majoritaire de *Juniperus oxycedrus*, présente plusieurs

activités biologiques : il est antibactérien, anti-inflammatoire, antiviral, expectorant, sédatif, herbicide et insectifuge. On note que l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus*, a montré qu'elle présente une bonne activité inhibitrice contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* suivant une étude réalisée par **(Mansouri et al, 2011)**.

On peut remarquer que l'impact de l'huile essentielle extraite de la plante sur les moisissures et les bactéries, diffère selon la méthode entreprise dans l'extraction des huiles essentielle, ce qui implique que chaque bactérie est sensible seulement à quelque composante de l'huile. Cette différence est en relation avec la méthode de l'extraction et au taux de sa présence dans la plante.

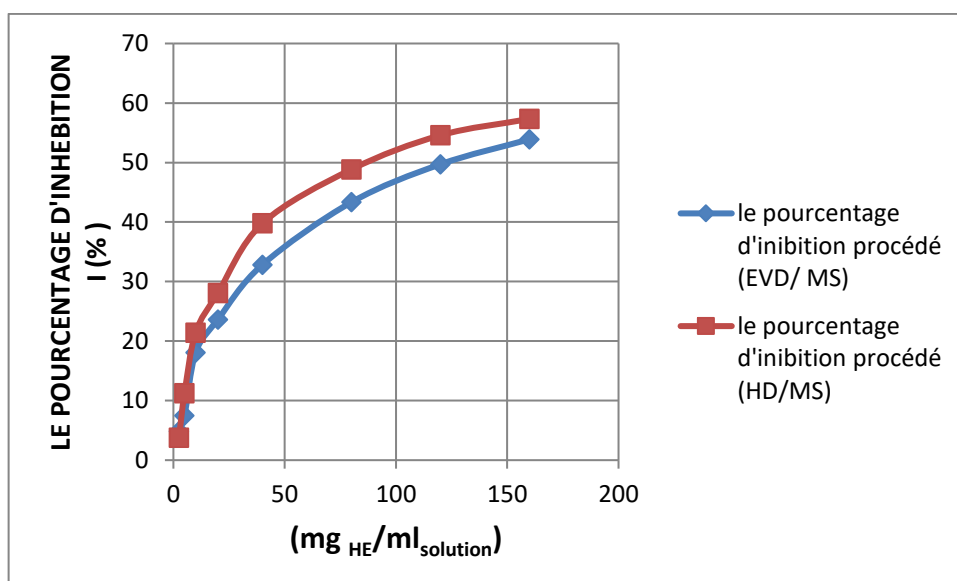
### V.2.2. Activité antioxydante :

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer les activités antioxydantes des extraits volatils des plantes aromatiques. Pour évaluer les activités anti-radicalaires et antioxydantes, nous avons utilisé la méthode du DPPH **(MANSOURI et al 2005)**, et au b-carotène

#### V.2.2.1. test DPPH :

Pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites antioxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire. La forme réduite (*diphényl picryl -hydrazine* : de couleur jaune) n'absorbe plus à 515 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance **(SANCHEZ-MORENO, 2002)**.

Selon le protocole décrit par **(MANSOURI et al, 2005)**. La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol ( $6 \times 10^{-5}$  M). 25  $\mu$ l des solutions d'extraits ou standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 975  $\mu$ l DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min



**Figure V.1 :** Activité anti-radicalaire de l'huile essentielle de *J. oxycedrus* et de l'huile de baies en utilisant le test DPPH. Chaque point de donnée représente la moyenne

Le pourcentage d'inhibition par rapport à la concentration est montré sur la figure (V.1). L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation a montré une activité intéressante avec  $I_{c50}$  85 mg/ml, tandis que l'huile obtenue par EVD présentait une valeur  $I_{c50}$  de 120 mg/ml.

#### V.2.2.1. test de blanchissement du $\beta$ -carotène :

Dans cette analyse la capacité anti-oxydante est déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydro-péroxydes conjugués diène résultant de l'oxydation de l'acide linoléique (Tepe et al, 2005). Brièvement 2mg de  $\beta$ -carotène ont été dissous dans 1 ml de chloroforme. La solution obtenue a été introduite dans un ballon contenant 2mg d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Après évaporation du chloroforme, 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène ont été ajoutés avec agitation vigoureuse. De cette nouvelle solution 2.5 ml sont transférés dans des tubes, et 350  $\mu$ l de chaque extrait (2g/l) et du témoin BHT sont ajoutés. L'absorbance a été immédiatement mesurée pour le BHT à 490nm.

D'autres lectures sont faites à différents intervalles de temps (2h, 4h, 6h, 12h, et 48h) (Tepe et al., 2005). L'activité anti-oxydante relative après 48 heures est calculée selon la relation suivante :  $AAR = (\text{Abs échantillon} / \text{Abs BHT}) \times 100$  ou :

AAR : activité anti-oxydante relative

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon après 48 heures

Abs BHT : absorbance de BHT après 48 heures

Les résultats sont illustrés par les figures (V.2) et (V.3)

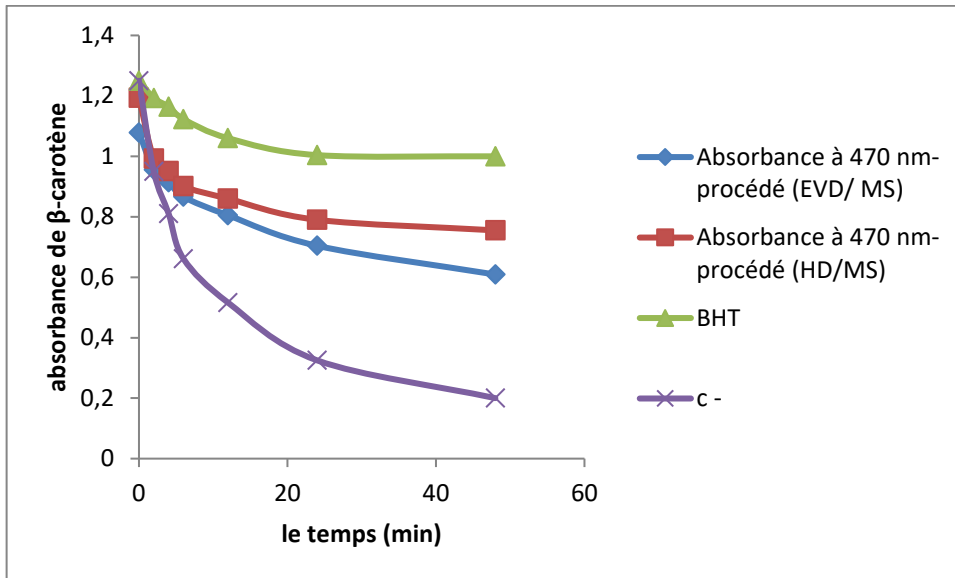


Figure V.2 : variation de l'absorbance du  $\beta$ -carotène à 490 nm en présence des extraits du *juniperus oxycedrus*, BHT et le contrôle négatif.

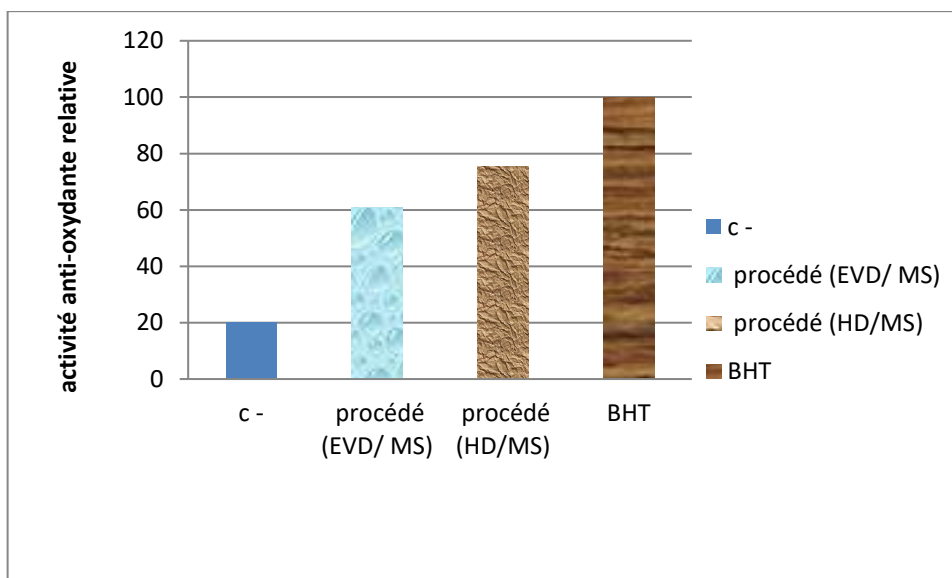


Figure V.3: activité antioxydante relative des extraits du *juniperus oxycedrus*, BHT et le contrôle négatif.

La variation de l'absorbance à différents intervalles de temps du  $\beta$ -carotène a montré que l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation semble être bien meilleur inhibiteur d'oxydation de l'acide linoléique.

Les huiles essentielles des deux procédés ainsi que le BHT l'inhibent d'une manière significative. L'inhibition la plus élevée a été fournie par l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation (75%) suivie par l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau (60%), ce dernier reste significativement inférieur au contrôle positif BHT.

Les résultats obtenus révèlent que toutes les huiles essentielles de *juniperus oxycedrus* des deux procédés ont des activités antioxydantes faibles que celle du BHT et présentent un effet acceptable dans l'inhibition de cette oxydation. Elles montrent un effet antioxydant plus important dans cette technique au contraire du DPPH.

# Conclusion



## Conclusion Générale

---

Dans le cadre de ce travail nous avons étudié la caractérisation de la composition chimique des huiles essentielles dans les feuilles et les tiges d'une espèce d'origine algérienne qui est le *juniperus oxyderus*, et de démontrer leurs activités antifongique, antibactérienne et antioxydante.

Cette étude s'intègre dans le contexte global de l'étude d'un produit local qui peut améliorer l'utilisation de cette plante aromatique et médicinale.

L'extraction des huiles essentielles de la plante (*Juniperus oxyderus*) est réalisé à l'aide de divers procédés :

- Extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau (huiles essentielles).
- Extraction par l'hydrodistillation (huiles essentielles).
- Extraction par solvants volatils SOXHLET (concrète).

Au terme de cette étude et après avoir identifié plusieurs paramètres nous avons constaté que Les résultats obtenus montrent que:

- le rendement en huiles essentielles est influencé par : la masse végétale, la saison de récolte végétale, la durée du séchage et par la méthode de distillation. (0.11% en huile essentielle pour 50 g de matière végétale et 0.13% de 300g )
- Le rendement en concrètes obtenu par la méthode (SOXHLET) montre qu'il est influencé par la nature du solvant (45.3% pour methanol, 33.8% pour l'éther de pétrole) et de son volume (45.7% pour 100mL du solvant, 32.5% pour 90 mL du solvant). On a constaté que le rendement est différent d'un solvant à l'autre (hexane, éthanol, méthanol, éther de pétrole), Par contre, le meilleur extracteur est l'hexane. (17.5% en concrète pour 4 g de matière végétale et 36% pour 10g)

En outre nous avons établi une étude analytique par la méthode GC/MS pour déterminer la composition chimique des huiles essentielles obtenues. Nous avons constaté que cette dernière est influencée par la méthode de la distillation, car les composants majoritaires du (*juniperus oxyderus*) était *terpinene4-ol* (17,48%), *sabinene* (14,93%), *alpha pinene* (14,85%) obtenues par la méthode de l'hydrodistillation, et de

*Sabinene*(18.15%) *alpha pinene* (14.09%) , *p-Cymene* (12.25%) obtenue par la méthode de l'entraînement à la vapeur .

Une étude de la cinétique d'extraction montre que la cinétique accélérée se produit dans la première phase, suivie d'une phase très décélétratrice. En fait, la première étape est dix fois plus rapide que la deuxième. En comparant les résultats de la valeur  $K_1$ , on peut voir que l'extraction par hydrodistillation est plus importante que l'extraction par distillation à la vapeur pour maintenir la valeur essentiellement constante dans les deux étapes.

Et pour confirmer, cette variation de résultats, nous avons établi une étude biologique sur les fractions des huiles de la même masse végétale *juniperus oxycedrus*, par l'activité antifongique, antibactérienne, et antioxydante.

Nous avons utilisé le test DPPH et le B-carotène, nous sommes parvenus à constater que l'huile essentielle de *juniperus oxycedrus* est un antioxydant efficace pour le B-carotène que pour le DPPH. Les huiles essentielles des deux procédés ainsi que le BHT l'inhibent d'une manière significative. L'inhibition la plus élevée a été fournie par l'huile essentielle obtenue par l'hydrodistillation (75%) suivie par l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau (60%), ces derniers restent significativement inférieurs au contrôle positif BHT au test DPPH. L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation a montré une activité intéressante avec  $IC_{50}$  de 85 mg/ml, tandis que l'huile obtenue par EVD présentait une valeur  $IC_{50}$  de 120mg/ml.

D'autre part, pour l'étude de son influence sur les bactéries et les champignons, nous avons utilisé plusieurs échantillons, nous avons constaté que les bactéries sont plus sensibles à cette huile essentielle que les champignons. Ce qui nous ramène à démontrer que les huiles essentielles du *juniperus oxycedrus* est un bon antibactérien. La moisissure la plus sensible était *Botrytis cinerea*, dont la croissance d'inhibition est à 20mg/ml de l'huiles essentielles extraites à l'aide d'un procédé HD et à 40mg/ml de l'huile essentielle extraite à l'aide d'un procédé EVD. On note aussi qu'*Ascochyta rabiei* a inhibé à 40mg/ml de l'huile essentielle extraite l'aide d'un procédé EVD, et à 80mg/ml de l'huile essentielle extraite à l'aide d'un procédé HD.

Loin d'avoir apporté les réponses à toutes les questions, cette étude a levé néanmoins le voile sur nos espèces (*juniperus oxycedrus*).

Ce travail ouvre de larges perspectives de recherches plus étendues aussi bien dans le domaine des connaissances fondamentales que dans les sciences appliquées avec pour objectif la valorisation économique de la flore spontanée de notre pays.

Comme nous recommandons l'utilisation de l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau à l'échelle pilote.

# **Références bibliographiques**

- ADAMS R.P., 2004, Juniperus of The world: The Genus juniperus, Trafford Publishing Co, Vancouver.
- ADMSR.P., 1998 , The leaf essential oils and chemotaxonomy of juniperus, Biochem. System. And ecology, 26, -637 – 645.
- AF. SSA.P.S. *afssops. Santé. Fr: Recommandations huiles essentielles.*
- AFNOR, 1986. Recueil des Normes francaises «huiles essentielles»AFNOR Paris. 57P.
- AFNOR, 2000. Recueil. De normes. Les huiles essentielles. Tome 1. Echantillonnage et methodes d'analyse. AFNOR Paris, 440P.
- Amjad hossain S.R et lytle,M., 2005.les antioxydants . traducteur : alain boutilier. Catie.feuillet d'informations.5P.
- Amri.H, 2001.«optimisation d'un équipement d'extraction des huiles essentielles de *mentha rotundifolia* par l'entraînement à la vapeur d'eau à l'échelle semi-pilote».mémoire de magister, Université de Blida.
- Antolovich. M, Prenzler .P.D, Patsalides, E, Mc Donald.S et Robards,K, 2002, Methods for testing antioxidant activity. Analyst, 127: 183-198.
- Arpino P, Prévôt A, Serpinet J, Tranchant J, Vergnol A, Wittier P. 1995. - Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Masson, Paris.
- Bagamboula C. F. Uyttendaele M, Debevere J,2004,-Inhibitory effect of tyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and P-cymene towards shigella sonnei and. S. Flexneri-Food mircobiology; Vol 21; PP33-42.
- Bahorun T. 1997,Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research. Conseil Mauritus, Amas.
- Bakhechi C, Atik-Bekkara F, Abdelouahid D.E-,2008. Composition et activité antibacterienne des huiles essentielles d'origanum glandulosum d'Algerie-phytothérapie, Vol6 ; PP153-159.
- Bakkalif, Averbek S, Averbek D,2008. Review MI-Biological effects of essential oils-A review Food and chemical Taxicology, Vol 46,PP 446-475.
- Baudaux.D, Zhiri.A. huiles chemotypées et leurs syneries édition Inspir, 2009.

- Baudoux Dominique, 2008. «Guide pratique d'aromathérapie familiale et scientifique», , Amyris.
- Beens. J, Janssen H.G, 2005, Régime d'écoulement à la pression ambiante de sortie et son influence dans la chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle complète, Journal de chromatographie A, Vol1086, N 1 et 2, p141-150.
- Belaib Net Saidi. S, 2012, Etude physico – Chimique et microbiologique des huiles essentielles de fenouil. Thèse de Master, université de khemis-Miliana.
- Belitz H.D et guasch w. 1999. Food chemistry. second edition. spriger-verlag Berlin Heidelberg.
- Benamor. B, 2008. Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée DIC. Thèse de doctorat. Univ de rochelle.
- Benbouali.M ,2003. Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales. Thèse de magister. U de hassiba benbouali de chlef
- Botelho M.A, Nogueira N.A; Bastos G.M, Fonseca S.G.C, leomos T.L.G, matos F.G.A, Montenegro D, Heuquelbach G, Rao, V.S, Brito G.A.C-, 2007. antimicrobial activity of the essential oil from *lippie sidoides*, carbacrol and thymol agains oral pathogens-brasilian journal of medical and biological research; vol 40, PP. 349-356.
- Boudy P.. 1950. Economie forestière Nord-africaine - Tome 2 : monographies et traitements des essences forestières. Paris : E. larose, 878 p.
- Bruneton J. 1999. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 3e Ed : Lavoisier ; Paris. P.1120 .
- Bruneton J. 2009. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4e Ed : Lavoisier ; Paris. P.1269
- Chaouche T. M., Haddouchi F., Atik-Bekara F., Ksouri R., Azzi R., Boucherit Z., et al., 2015. Antioxidant, haemolytic activities and HPLCDAD-ESI-MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp *oxycedrus*. Industrial Crops and Products, 64: 182-187.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.051>
- Clevenger JF. «Apparatus for volatile oil determination, Description of New type». American perfumer & essential oil Review? 1928, 467 – 503.

- Cristea D.2003. Caractérisation physico-chimique de néo-pigments : étude de la fixation de colorants végétaux sur des supports minéraux pour des applications dans l'industrie des peintures. Thèse de doctorat N°2035. Institut National polytechnique de Toulouse.
- Cuvelier M-E., Richard H., et Berset C., 1996. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *J.am.oil Chem. Soc.* 73, 645-652
- Cuvelier. M.E., Berset. C et Richard. H., 1990. Use of new test for determining comparative antioxidant activity of BHA, BHT  $\alpha$  and  $\gamma$ - tocophérol and from rosemary and sage. *Sci. Aliments.* 10 :797-806.
- Dalluge. J, Beens. J, Brunkman. A.T, 2003, Chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle complète : un outil d'analyse puissant et polyvalent, *Journal de chromatographie A* ,Vol 1000, N 1 et 2, p 69-108
- Dastidar S.G., Manna A., Kumar K A., Mazumdar K., Dutta N.K., Chakrabarty A.N., Motohashi N., Et Shirataki Y., 2004. Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 23, 99-102
- Decker, E.A, 1998, antioxidant mechanisms, *Food lipids. Chemistry, Nutrition, and biotechnology* : 398-423
- Dorman H.J.D, et Deans S.G,2000, Antimicrobial agents from plants, antibacterial activity of plant volatile oils-*Journal of Applied Microbiology*, Vol, 88 ;N°2,PP 308-316.
- Dugo P., Lo Presti M., Öhman M., Fazio A., Dugo G., Mondello L.2005, Détermination des flavonoïdes dans les jus d'agrumes par micro-HPLC-ESI/MS, *Journal of Separation Science*, 28, p. 1149-1156
- Dunn.G.P, Old.I.J, Schreiber.R.D, 2005. The Three Es of Cancer Immunoediting *Annu. Rev. Immunol.*, 22 , pp. 329-360
- Essawi .T et Srour .M. 2000, screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 70: 343-349.
- Ferhat MA, Meklati BY, Smadja J, Chemat F. 2006. An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *J Chromatogr A*, 1112 : 121-126.
- Ferhat. A,2010. Vapo-diffusion assisté par micro-ondes : en sciences de l'université d'avignon & école nationale d'ingénieurs de gabés.

- Ferhat. M. A. 2007, extraction sans solvant assistée par micro-ondes des huiles essentielles des citrus d'algérie : compréhension, application et valorisation thèse de doctorat. USTHB. N° D'ordre 02/20076D/CH.
- Franchomme,P; Jollois,R, Penoeld, 2001. L'aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles.
- Francine. B,1999. Analyse de l'huile essentielle du *Ledum Groenlandicum* Retzius. Univ Québec à Chicoutimi.
- Frankel,E.N et Meyer , A.S, 2000, The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. Journal of science of food and agriculture, 80: 1925-1941.
- Frankel,E.N, 1998, "lipid oxidation" The oily press,1 st Edition.
- G.Deysson, 1976. Organisation et classification des plantes vasculaires, Tome II : Organisation Soc.d4Ed. et ens, sup.paris
- Garnier. G, Bézanger . L and Debraux .G. 1961.Ressources médicinales de la flore française. Tome 1.Vigot Frères. Éditeurs, Paris, 124-133
- Gaston, K. J. 1990. Patterns in the geographic ranges of species. Biological Reviews 65, 105–129.
- Gerin, 2002. Solvants industriels ; santé, sécurité, substitution. Collection médecine du travail. Med : Masson, Paris.
- Gherman. C, Culea. M, cozar. O comparative analysis of some active principale of. Herb plants by GC/MS-Talanta; Vol.53, PP 253-262.2000.
- Guenther. Ernest ; 1948. The essential oils, Volume I history – origin in plants production – analysis; Litton educational publishing, INC; 427 P.
- Halliwell, B, 1995, Antioxydant characterization. Methodology and mechanism, 49:1341-1348.
- Hanaoka.K, Qian.F, Boletta.A,Bhunia.A.K, Piontek.K, L. Tsiokas,. Sukhatme.V.P, Guggino .W.B, Germino.G.G, 2000. Le co-assemblage de polycystine-1 et -2 produit des courants perméables aux cations uniques Nature, 408, p. 990-994
- HERNANDELO. L. R, 2005. substitution de solvants et matières actives de synthèses par une combine solvant actif d'origine végétale. Thèse de doctorat. L'institu national polytechnique de toulouse.  
<https://doi.org/10.1016/j.flora.2006.03.006>



- Huguet M. 2008 la route des épices, aromatisants, condiments et mélanges d'épices. Ed : sang de la terre, paris, p 190.
- Johnson L.A, Lusis E.W. 1983. Comparaison of alternative solvents for oils extraction. JAOCS, 60(2): 229-242.
- Jouault, Solène, 2012. La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité sur leur Toxicité.
- Klimko M., Boratyńska K., Montserrat J. M., Didukh Y., Romo A., Gómez D., et al., 2007. Morphological variation of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* (Cupressaceae) in the Mediterranean region. Flora – Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 202 (2): 133- 147.
- Kloustian J, Chevalier J, Mikail C, Martina M, Aboul, Vergnes MF, 2008. étude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne-phytothérapie ; Vol 6, pp 160-164.
- Kumar. P, Bhatt. R.P., Singh. L., Chandra. HS and Prasad.. R., 2010, Identification of phytochemical content and antibacterial activity of *Juniperus communis* leaves, International Journal of Biotechnology and biochemistry, 6, 87-91.
- Lahlou M, 2004. Méthodes to Study the Phytochemistry and bioactivity of The essential oils- phytotherapy research; Vol 18; PP 435-448.
- Lawrencet Brian M. 2000. essential oils : from agriculture to chemistry. The International journal of Aromatherapy; 10:82-98.
- Lee S.J, Umamo K, Shibamoto T, Lee K.G, 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum Basilicum* L) and thyme leaves (*Thymus Vulgaris* L) and Their antioxidant properties-Food. Chemistry, Vol.91; PP131-137.
- Lehotay, J, Hajslova. J, 2002, Application of gas chromatography in food analysis TrAC Trends in analytical chemistry; Vol 21, pp 686-697
- Leung, A.Y., & Foster, S. 1996, encyclopedia of common natural ingredients. New York: Wiley
- Leybros. J, Fremaux. P. 1984, extraction Solide-liquide – Aspects Théoriques. Techniques de l'ingénieur, J 2780.
- Loziene K, Venskutonis P.R, Sipailiene A, Labocas G. 2007, Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from, different *thymus pulegioides* L. chemotypes-food chemistry; vol.103; PP.546-559.

- Lucchesi ME, Samdja J, Bradshaw S, Louw W, Chemat F. 2007. Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: a multivariate study of a new chemotype for the extraction of essential oil. *J. Food Eng.* 79 : 1079-1086.
- Lucchisi. M. E.2006, extraction sans solvant Assistée par Micro-ondes conception et Application a l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Univ de la Reunion.
- Lucienne, 1961, Saule, 2002, Dupont et Guignard, 2007 in Belkacem Zeyneb., 2015. Contribution à l'étude du cortège floristique de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (Cuprécacées) dans la région de Tlemcen, Mémoire master2, en Ecologie Végétale et Environnement . Université Abou Bekr Belkaid p 11 ,12-17
- Lyons L. et nanbiar D., 2005. Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes Vivants avec le VIH. CATIE. 60 P.
- Mainebau. P, «la nouvelle Aromathérapie», 2<sup>ème</sup> édition jakin, paris, 1994,28-9
- Marie E.L, 2005, Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat, Uvde la Reunion. P 16-22.
- Marongiu B, Porcedda S, Caredda A, De Gioannis B, Vargiu L, La Colla, P 2003: Extraction of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* essential oil by supercritical carbon dioxide: Influence of some process parameters and biological activity. *Flavour Frag J* 18: 390–397.
- Marriott. J, Sovensen. E, 2003, Une approche générale de la modélisation des modules membranaires, Sciences du génie chimique, Vol 58, N 22, p 4975-4990
- Martini MC, Seiller. M ,1999. Actifs et additifs en cosmologie procédés d'extraction des huiles essentielles. Editions Tec & Doc, éditions médicales internationales. P563.
- Mebarki.N, 2010. «extraction de l'huile essentielle de *Tymus fontanesu* et application a la formulation d'une forme médicamenteuse- antimicrobienne» mémoire de magister ,U Boumerdes.
- Medini H., Elaissi A., Chraief I., Bannour F., Farhat F., Ben Salah M., Khoudja M. and Chemli R. 2007. Composition and variability of the essential oils of the leaves from *Juniperus phoenicea* L. from Tunisia. *Revue des régions arides.* 1: 185-189
- Ménard Thierry, 2011, plantes des montagnes très faciles a reconnaitres, RANDO pratique.

- Michiels J, Missotten J, Fremaut D, De Smet S, Dierick N, 2007. In Vitro dose-response of carvacrol, Thymol, eugenol and. Trans-Cinnamol dehyde and interaction of combinations for the antimicrobial activity against the pig gut. *Flora-livestock science*; Vol 109; pp157-160.
- Montagne, P, 1999. *The concise larousse gastronomique* -London, UK: Hamlyn, P. 691.
- Narayana.K, R, Redd YM ;S, chaluvadi M.R et Krishna D.R et Krishna D. 2001.
- Narayananc.S. Sankarikutty B.1993 :Isolation and production encyclop a edia of food science, Food Technology and Nutrition. Academic press. 2185-2189.
- O'fel A.1982, parasitologie, Mycologie : Maladies parasitaires et fongique. Association des professeurs de parasitologie. 3<sup>e</sup> édition. Paris : E. Crouan et Roques. P.349
- Paris. R.R et Moyse. H,1967. *Matière médicale TomeI. Et II.* Masson, Paris .
- Pedneault. K, Leonharts.A, Gosselin. A, Ramputh. A et J.T. Arnason, 2001 . Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux. Texte de conférence. Canada. pp: 1-5.
- Pelt J.M, 2001. *Les nouveaux actifs naturels*, Marabout Paris.
- Pierangeli, G., Vital, G. and Windell, R. 2009. Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L. f). King and Robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. Extracts. *J. Medicinal Plants Res.* 3(7) : 511-518
- Porter N., 2001. *essential oils and their Production crop and food research number* 39.
- Purchon.N, 2005. *la bible de l'aromathérapie* édition marabout.
- Quezel, P. and Santa, S. 1962, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.* 2 tomes. Ed. C.N.R.S. Paris, 1170 p
- Rachel poirot. 2007, *Méthodologie pour le passage en continue d'extraction de soluté à partir de matière végétale.* Le titre de docteur de l'institut national polytechnique de toulous.
- Rezzi S., cavaleiro C., Salgueiro L., Bighelli A., Casanova J., and Proença da Cunha A. 1999. Intraspecific Chemical Variability of The Leaf Essential Oil of *Juniperus phoenicea* subs . *turbinata* from Corsica. *Biochemical systematics and Ecology* .29: 179- 188.

- Richard. H., Multon J.L. 1992, les Aromes alimentaires. Tec&doc lavoisier, Paris. 438 P.
- Rivera.L, 2006, étude de l'extraction de métabolites secondaires de différents matières végétales en réacteur chauffent par induction thermomagnétique directe.
- Rota.M.C, Herrera A, Martinez R.M, Sotomayor J A, JordanM.J. 2008, Antimicrobial activity and chemical Composition of *Tymus vulgaris*, *Tymus Zygis* and *Tymus hyemalis* essential oils- Food control; vol19; PP 681-687.
- Sanchez, J.C., R. Gimenez, A. Schneider, W.D. Fessner, L. Baldoma, J. Aguilar, J. Badia 1994. L'activation d'un gène cryptique codant pour une kinase pour le L-xylulose ouvre une nouvelle voie pour l'utilisation de la L-lyxose par *Escherichia coli*. J.Biol.Chem. 269:29665-
- Schwammle B, Winkelhausen E, Kuzmanova S. 2001, Steiner WW- Isolation of carvacrol assimilating microorganisms-Food Technol.Biotechnol; Vol 39; N°; PP 1-345.
- Seigue A. 1985. La foret circum méditerranéenne et ses problèmes. Ed: G.P Maisonneuve et Larose. P- 216.
- Shawenberg, P. et paris, F. 1977, Guide des plante Médicinales, de la chaux et niestlé.
- Shobana S,2000. Naidu KA. Antioxidant activity of selected Indian spices. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.
- Sipalieene. A, Venskutonis, P.R, Barananskiene. R et Sarkinas. A, 2006, Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. Journal of essential oil research, 18: 698-703.
- Smallfield. B. 2001, Introduction to growing herbs for essential oils,medicinal and culinary purposes crop and food research number 45. 4P.
- Spiro, M.; Selwood, R. M. 1984. the kinetics and mechanism of caffeine infusion from coffee: the effect of particle size. J. Sci. Food Agric, 35, 915-924.
- Spiro. M and Selwood.R.M,1984. The Kinetics of and mechanism of caffeine infusion from coffee: The effect of particle size. J. Sci Food Agric, 35, 915.
- Stramans DA.J et Nijhus 1996: extraction of seconday metabolites from plant material.A review. Trend in food science&technology 7:191-197.

- Sutour .S,2010. étude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de Menthes de Corse et de Kumquats ; Thèse de Doctorat, univ de Corse Pascal Paoli.
- Svoboda.K.P et Hampson J.1999. Bioactivity of essential oils selected Temperate aromatic plants : antibacterial, antioxidant, anti inflammatory and other related pharmacal- ogical activites. Plant biology department SAC auchincuruivie, ayr, scoltant, UK, KA65HW.
- Takeoka G, 1998. Flavor chemistry of vegetables. In flavor chemistry. Thirty years of progress. Tranishi R et al. (Ed). Cluwer Academic / Plenum Publishers, NewYork. 287- 304.
- Tchamdja. K.M.1995, etude de performance. D'un extracteur artisanal. Pour la production d'essence de citronnelle, Mémoire d'indénieur des Travaux biologiques, ESTBA, UB, 95P.
- Teggat. H,2012. Optimisation et comparaison des cinétiques d'extraction des extraits aromatiques par procédés classiques et par micro-ondes. Thèse de Magister. UHBC.
- Tepe B, Sokmen M, Akpulat H.A, Daferera D, Palissiou M, Sokmen A,2005. Antioxydative activity of essential oils of *thymus Sipyleus* Subsp. Sipyleus Var, sipyleus and *Tymus Sipyleus* Subsp. Sipyleus Var. Rosulans-Journal of food engineering ; Vol. 66 ; PP 447-454.
- Thurzova.L, 1981. «les plantes-santé». Bordas. PP7.
- Tourbe. C.1996. le Secret du bleu Maya. Science et avenir : 90
- Valnet:: H, 1983. «phytothérapie, traitement des maladies par les plantes». 5<sup>ème</sup> édition Maloin S.A.
- Vandermoten S, Custon M, Francis F, Haubruge E ,2008 la biosynthèse des isoprénoides chez les pucerons: une cible potentielle de vouneaux bio-insecticides-Biotechnol; Agron. Soc. Environ ; Vol.12 ; N°4 ;PP451-460.
- Willem. J. P, 2008. le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé éditions LMV.
- Wilson C. L, salar J.M., EL Ghaouth A. et Wisniewski M.E. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. Plant Dis.81, 204-210.

Web <https://www.info-senior.com/generalites-huiles-essentielles.html>

<http://www.huiles-essnetielles.Pro/generaliles-huiles-essentielles.html>

# Annexes

**Annexe 1 : Liste des huiles essentielles régissant à une réglementation particulière**

Le décret N°2007-1221 du 3 août 2007 relatif au monopole pharmaceutique (art. D.4211-13 du Code de la Santé Publique) énumère une quinzaine d'HE dont il précise les noms

vernaculaires et les dénominations botaniques des plantes :

- grande absinthe (*Artemisia absinthium*)
- petite absinthe (*Artemisia pontica*)
- armoise commune (*Artemisia vulgaris*)
- armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso)
- armoise arborescente (*Artemisia arborescens*)
- chénopode vermifuge (*Chenopodium ambrosioides*)
- hysope (*Hyssopus officinalis*)
- moutarde jonciforme (*Brassica juncea*)
- rue officinale (*Ruta graveolens*)
- genévrier sabine (*Juniperus sabina*)
- sassafras (*Sassafras albidum*)
- sauge officinale (*Salvia officinalis*)
- tanaïsie commune (*Tanacetum vulgare*)
- thuya ou cèdre de l'ouest (*Thuja plicata*)
- thuya du Canada ou cèdre blanc (*Thuja occidentalis*)
- cèdre de Corée (*Thuja Koraenensis*), dits "cèdre feuille".



### **Annexe 2** : Détermination du taux d'humidité de la matière végétale

Pour la détermination de l'humidité, on a pris un échantillon de masse bien déterminée  $M_0$ , puis on la laisse à l'air libre pour sécher, on le pèse chaque jour et on note la masse  $M_i$ . On continue la même opération après chaque jour, jusqu'à l'obtention d'une masse constante  $M$ .

La différence entre  $M_0$  et  $M$  sera la quantité d'eau contenue dans la matière végétale.

Le calcul de taux d'humidité est calculé comme suit:

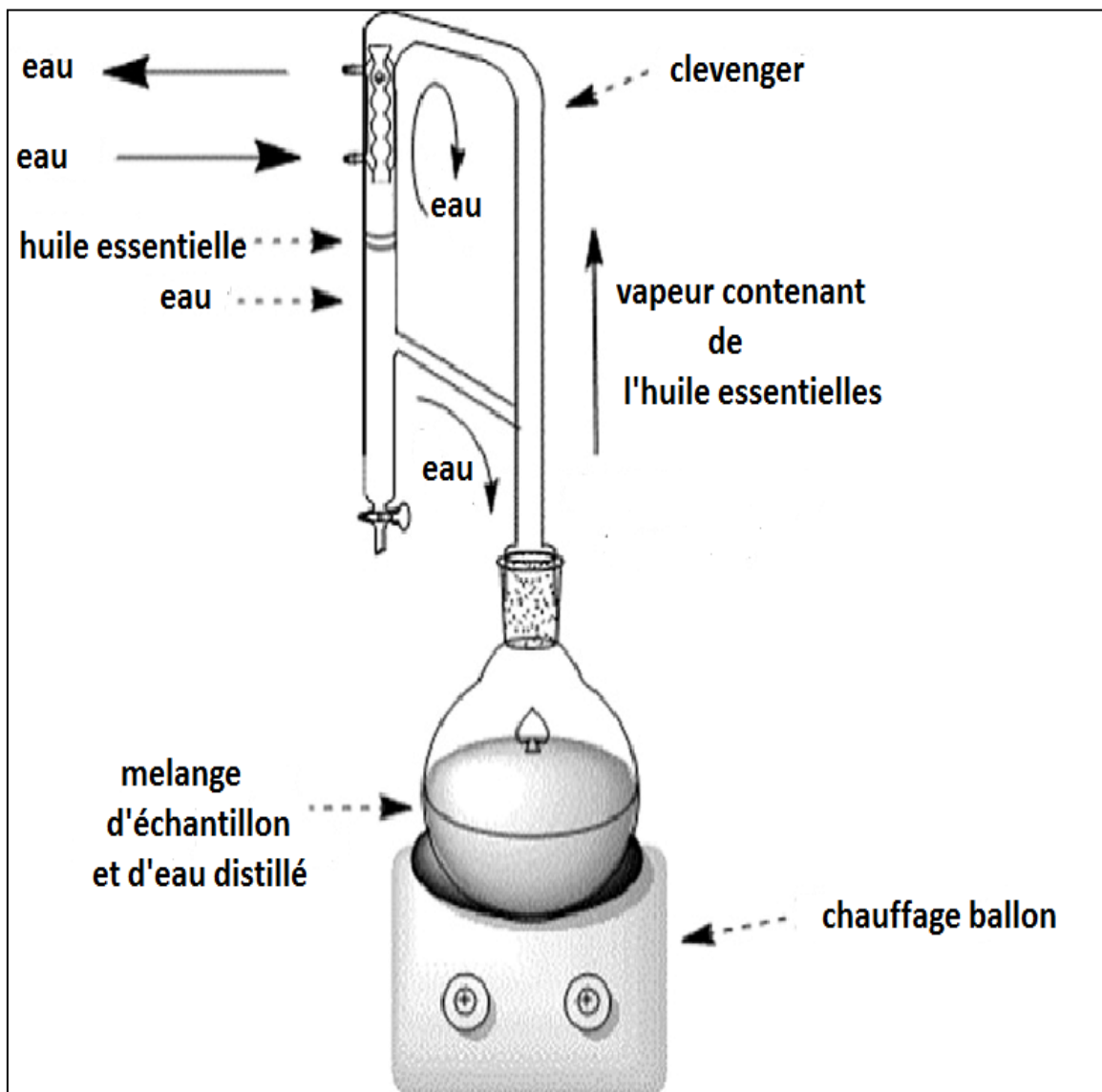
$$H(\%) = \frac{M_i}{M_0} \cdot 100$$

On note que :

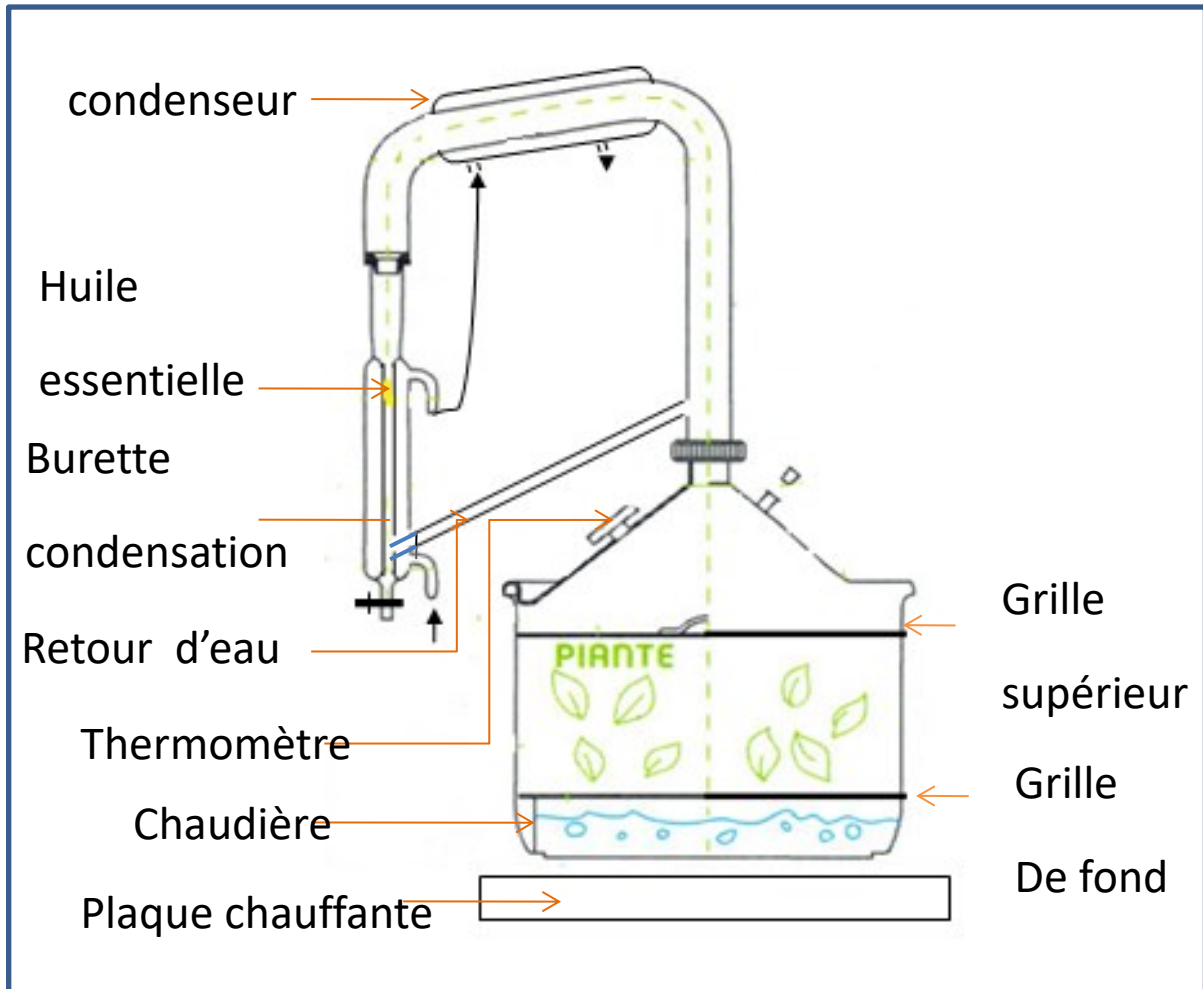
$M_i$  : la masse végétale mesurée chaque jour.

$M_0$  : la masse de matière végétale fraîche.

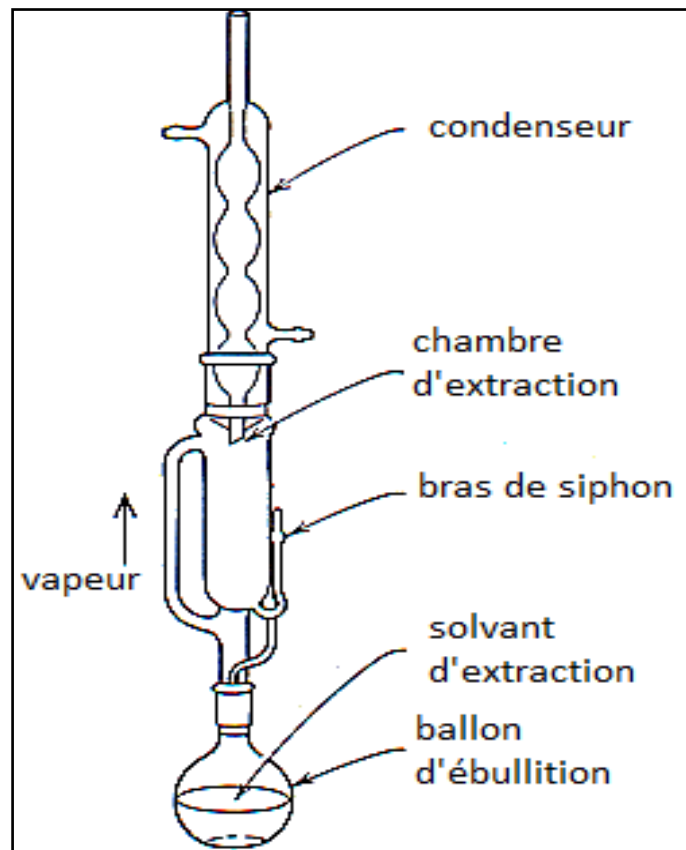
Annexe 3 : les procédés d'extractions



Montage De Hydro distillation (type Clevenger) .



Montage D'entrainement a la vapeur d'eau (type Alambic)



Montage D'extraction par solvant volatil (soxhlet)

### **Annexe 4 : Les méthodes de détermination des constantes physico chimiques :**

#### **1. La densité :**

C'est le rapport du poids d'un certain volume d'huile essentielle au poids du même volume d'eau distillée à la température 20°C.

On pèse 2 ml de chaque huile étudiée à l'aide un pycnomètre taré, puis on calcule la densité par la formule suivante :

$$d_{20} = \frac{m_1 - m}{m_2 - m}$$

$m_1$  : Masse du pycnomètre avec l'huile essentielle.

$m_2$  : Masse du pycnomètre avec l'eau distillée.

$m$  : Masse du pycnomètre à vide.

#### **2.L'indice de réfraction:**

Il s'agit du rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide et celle dans le milieu étudié.

Ainsi l'indice de réfraction est une fonction de la longueur d'onde de la lumière incidente de la température.

L'appareil qui sert à mesurer l'indice de réfraction des liquides est le réfractomètre qui un usage assez recommandé.

Pour calculer l'indice de réfraction  $n_D$ , on applique la formule suivante :

$$n_D^{20} = n_D^{\theta} + (\theta - 20)0,00045$$

$n_D^{20}$  : L'indice de réfraction .

$\theta$  : la température à la quelle la substance soit liquide (°C).

$D$  : la raie de sodium (de longueur d'onde 589,6nm).

0,00045 : la variation d'indice de réfraction quand la température varie de 1°C.

#### **3. L'indice d'acidité :**

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme d'huile essentielle.

Mode opératoire:

A 0,5 g d'huile essentielle sont ajoutés 2ml d'éthanol et 2 à 3 gouttes de phénophtaléine.

La solution ainsi obtenue est titrée par une solution de KOH (0,1N) dans l'éthanol

jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle. L'indice d'acide est calculé par la formule suivante :

$$I_a = \frac{5,61 \cdot V}{m}$$

V : le volume en millilitre de la solution de KOH utilisé.

m : la masse en gramme de la prise d'essai.

$I_a$  : Indice d'acidité déterminé

#### 4.L'indice d'ester :

- C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans un gramme de l'huile essentielle.

Mode opératoire:

- Introduire dans un ballon 0,5g d'huile essentielle.
- A jouter à l'aide d'une burette 6,5 ml, de KOH (0,5N) et des fragments de pierre ponce ou de porcelaine.
- Adapter le réfrigérant et placer le ballon sur le bain d'eau bouillante et le laisser pendant une durée précise.
- Laisser refroidir démonter le réfrigérant et ajouter 0,5 ml d'eau puis 3 goutte de la solution phénophtaléine.

Titrer l'excès de KOH avec HCl (0,5N).

Parallèlement, effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions et utiliser les mêmes réactifs.

L'indice d'ester est donné par la formule suivante :

$$I_e = \frac{28,05}{m} (V_0 - V_1)$$

$V_1$ : Volume de HCl utilisé pour la détermination.

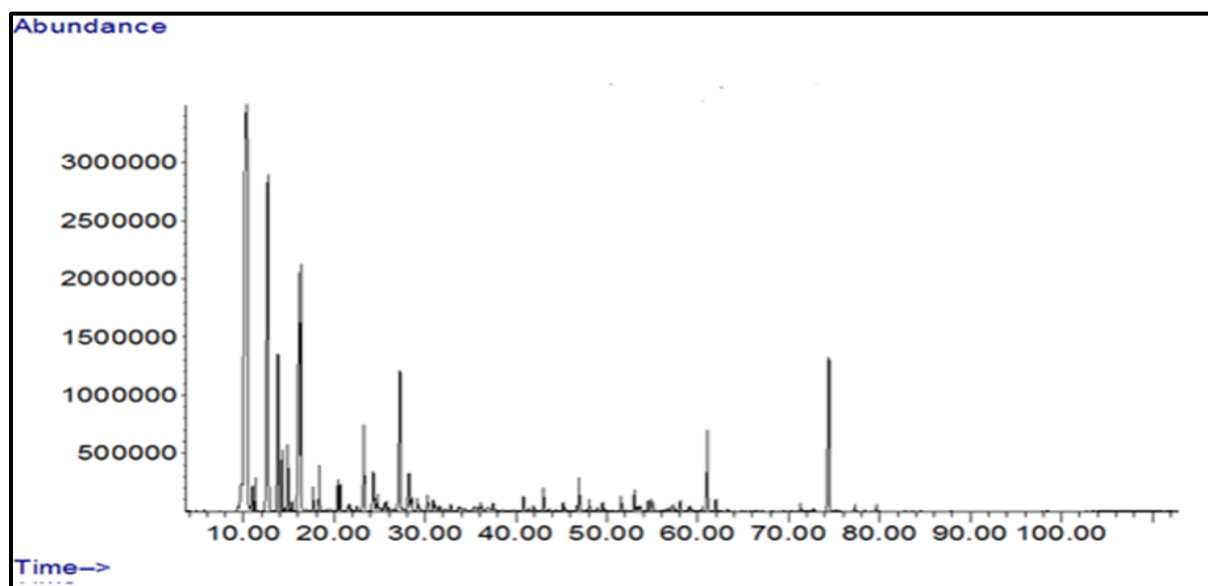
$V_0$ : Volume de HCl utilisé pour l'essai à blanc (ml).

m : la masse en gramme de la prise d'essai.

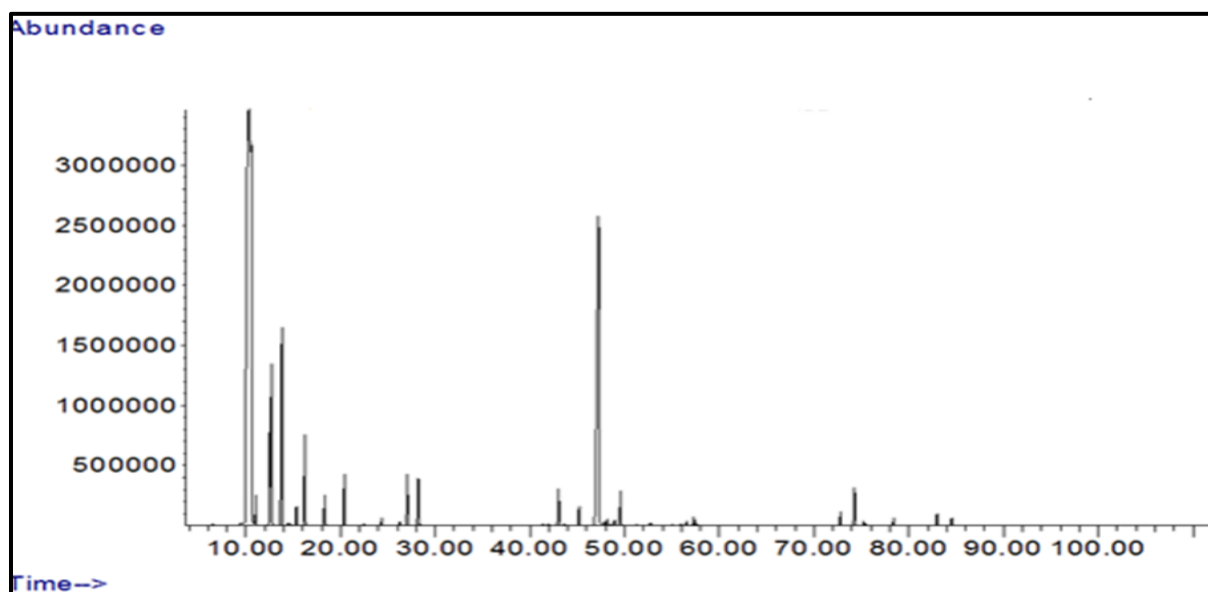
$I_e$  : Indice d'acide déterminé.

### Annexe 5 : chromatographie des huiles essentielles

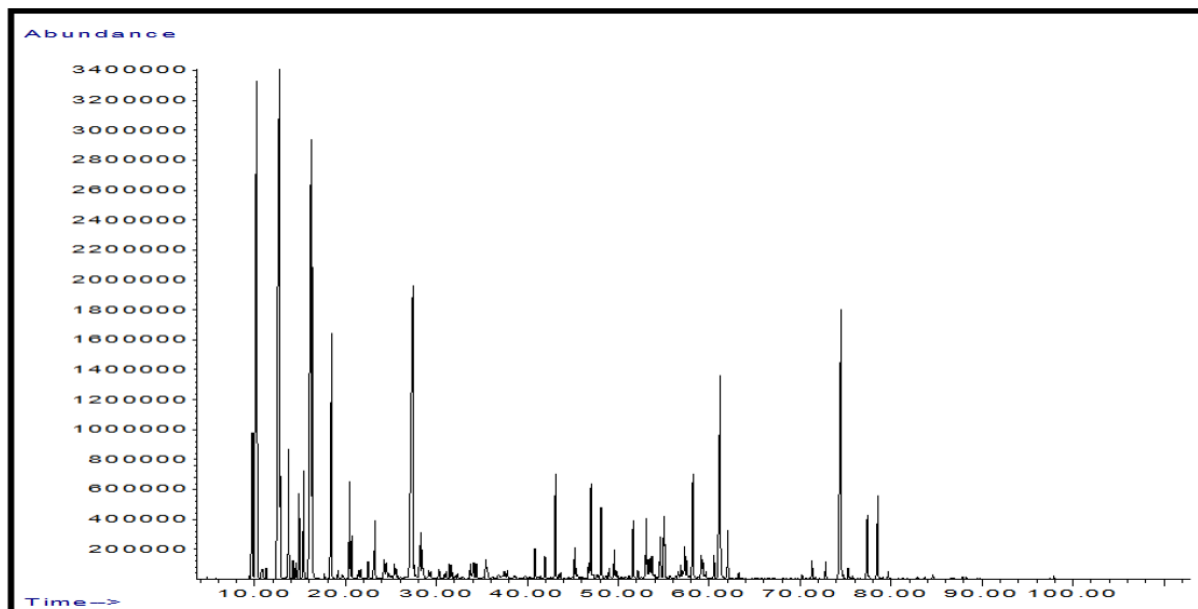
Chromatographie des huiles essentielles des *Juniperus oxycedrus* frais extraites par entraînement a la vapeur d'eau



Chromatographie des huiles essentielles des *Juniperus oxycedrus* frais extraites par Hydrodistillation



Chromatographie des huiles essentielles des *Juniperus oxycedrus* sec extraites par entraînement à la vapeur d'eau



Chromatographie des huiles essentielles des *Juniperus oxycedrus* sec extraites par Hydrodistillation

