

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Hassiba Benbouali de Chlef**

Faculté de Technologie

Département de Génie des procédés



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : génie des procédés

Spécialité : Génie chimique

Présenté par

ELHAOUARI Assma

SIAD Asma

Thème :

**Contribution à une étude physico-chimique des huiles
essentielles de l'Atriplex coriacea.**

Application à l'extraction assistée par micro-ondes

Soutenue le : 25/06/2024

Présenté devant le jury composé de :

Mr. MAHMOUDI Larbi	MAA	UHBC	Président
Mr. LABBACI Abdellah	professeur	UHBC	Examineur
M^{me}. DJELLOULI DELLA Siham	MAA	UHBC	Encadreur

Année Universitaire 2023-2024

Remerciements

Nous remercions Dieu le Tout-Puissant de nous avoir donné la santé et la volonté nécessaires pour entamer et terminer ce mémoire.

Tout d'abord, nous souhaitons remercier chaleureusement notre directrice de mémoire, Madame « Djellouli Della Sihem » pour sa patience, ses conseils avisés et son soutien constant tout au long de cette recherche.

Nous remercions également l'ensemble des enseignants de Génie Chimique pour la qualité de leur enseignement et leur disponibilité. Leurs cours et leurs encouragements nous ont permis d'acquérir les connaissances nécessaires à la réalisation de ce mémoire.

Nous souhaitons exprimer nos sincères remerciements à L'ingénieur « BATOUL » du Laboratoire de Génie des Procédés de l'Université Hassiba Benbouali de Chlef, pour avoir mis à notre disposition les ressources matérielles nécessaires à la réalisation de ce travail tout au long de notre période de travail pratique.

Et Nous remercions encore les membres de laboratoire chimique à mostagannem, Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude pour l'opportunité qui nous a été offerte de réaliser notre stage pratique au sein de votre entreprise. Ce fut une expérience exceptionnelle qui a grandement enrichi notre formation professionnelle.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de ce mémoire de fin d'étude.

ELHAOUARI Assma & SIAD Asma

Dédicace

Avant tout, je remercie dieu le tout puissant, de m'avoir donné la force et le courage pour suivre mes études.

Que ce travail témoigne de mes respects à :

Mes très chers parents :

Aucun mot ne serait suffisant pour vous exprimer ma gratitude, mon amour et mon respect. Grâce à vous, qui ne m'avez jamais laissé seul dans mes moments difficile et avez créé le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études, je suis devenu la personne que je suis aujourd'hui, merci pour votre tendresse, vos grands sacrifices, votre soutien et votre courage. J'espère pouvoir vous récompenser même un peu, dans l'espoir que vous trouverez ici mon témoignage de ma reconnaissance à vous deux.

Mes très chers frères : Abd el Hamid, Djamel Eddine, Kouider, Abd Allah

Qui tout ce que j'ai, que est toujours présent dès mon esprit, leur amour et leur présence, leur doivent mon succès et mon soutien tout au long de ma vie et ils m'ont fourni tout ce dont j'avais besoin pour réduire les obstacles que j'ai rencontrés sur mon chemin,

Mes proches cousines : Chaimaa, Naima

A tout la famille ELHAOUARI et AZZAIZ

A ma binôme ASMA, qui je lait souhaite une vie pleine de joie, de bonheur, de succès et de

Réussite

A mes proches amis : Meddah, Nada.

Et à mon encadreur DJELOULI DELLA SIHAM, je tiens à la remercier pour son soutien, ses conseils et son bon traitement.

ELHAOUARI ASSMA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À mes chers parents

Papa et Maman, dont le soutien inconditionnel et les sacrifices ont été la fondation sur laquelle j'ai bâti mon chemin vers la réussite. Chaque réussite est le reflet de vos encouragements constants et de votre amour infini.

À Mon grand père et ma grand-mère

Qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

*À mon frère **ABDEL FETAH** et ma sœur **HADJER**,*

Mes compagnons de vie, complices de tant de souvenirs précieux et de moments d'entraide. Votre présence et votre soutien ont été des piliers solides tout au long de ce parcours.

*À mon neveu **YACINE***

Symbole de l'innocence et de la joie de vivre, vous m'avez rappelé chaque jour l'importance de persévérer et de voir le monde avec un regard neuf.

*À ma chère binôme **ASSMA***

Qui m'a supporté durant la préparation de ce travail et chez qui j'ai trouvé le soutien moral dont j'avais besoin.

À Mes collègues et Mes proches

***ALAA, MANEL, CHAIMA, HADJER, HAFIDHA**, qui ont enrichi cette aventure avec leurs encouragements, leurs conseils et leur amitié fidèle. Chaque moment partagé a été une source de motivation et d'inspiration.*

SIAD ASMA

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste des figures

Liste des abréviations

الملخص

Résumé

Abstract

Introduction Générale.....01

Partie théorique

Chapitre I : généralité sur les huiles essentielles.

I. Historique.....03

I.1. Définitions des huiles essentielles.....04

I.1.1. Définition ANSM.....04

I.1.2. Définition selon la norme ISO 9235.....04

I.1.3. Définition Selon L'AFNOR.....04

I.1.4. Définition D'après NAVES 1976.....05

I.2. Répartition et localisation des huiles essentielles.....05

I.2.1. Répartition.....05

I.2.2. Localisation.....05

1.3. Classifications.....06

1. Huiles majeures.....06

2. Huiles médianes.....06

3. Huiles de terrain (de base)06

1.4. Composition chimique.....07

I.4.1. Les composés Les trapézoïdes.....07

a) Mono terpènes.....08

b) Les sesquiterpènes.....08

Sommaire

I.4.2. Les composés aromatiques.....	09
I.4.3. Les composés d'origines diverses.....	09
I.5. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles.....	09
a) Les facteurs intrinsèques.....	09
b) Les facteurs extrinsèques.....	09
I.6. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	10
I.7. Obtention des huiles essentielles.....	10
I.8. Conservation des huiles essentielles.....	11
I.9. Toxicité des huiles essentielles.....	11
I.10. Domaines d'utilisations des huiles essentielle.....	12
1. Industrie alimentaire.....	12
2. Pharmacie.....	12
3. Industrie chimique.....	12
4. Phytothérapie.....	13
5. Utilisation en aéro-ionisation.....	13
6. Parfumerie et cosmétologie.....	13
I.11. Les Critères de qualité.....	13
I.11.1. L'espèce botanique.....	13
I.11.2. Le cycle végétatif.....	13
I.11.3. L'organe producteur.....	14
I.11.4. L'origine géographique.....	14
I.11.5. Le mode de culture.....	14
I.11.6. Le chémotype.....	14
I.12. Conclusion.....	14

Chapitre II : Les méthodes d'extraction des huiles essentielles

II. Introduction.....	15
II.1. Les procédés d'extraction des huiles essentielles.....	16

Sommaire

II.1.1. Les procédés d'extraction conventionnels.....	17
II.1.1.1. La distillation.....	17
a) Hydro-distillation.....	18
b) Distillation à la vapeur d'eau sous pression.....	19
c) Distillation fractionnée.....	19
d) Distillation par entraînement à la vapeur d'eau.....	19
e) Distillation continue.....	20
II.1.1.2. La macération.....	20
II.1.1.3. L'Expression à froid.....	21
II.1.1.4. L'Extraction par solvant volatils.....	21
II.1.2. Les procédés d'extraction innovants.....	21
II.1.2.1. Extraction assisté par micro-ondes.....	21
II.1.2.1.1. Principe de l'extraction assistée par micro-ondes (EAM)	22
II.1.2.2. L'Extraction par le dioxyde de carbone liquide ou supercritique.....	22
II.1.2.3. Extraction assistée par ultrasons.....	23
II.2. Avantages et inconvénients des procédés d'extraction.....	24
II.3. intérêt de l'extraction.....	25
II.4. Les méthodes d'analyses des huiles essentielles.....	26
II.4.1. Chromatographie en Phase Gazeuse (GC)	26
II.4.2. Chromatographie en Phase Liquide (HPLC)	27
II.4.3. Spectrométrie de masse (SM)	27
II.4.4. Spectroscopie infrarouge (IR)	27
II.4.5. Résonance magnétique nucléaire (RMN)	27
II.5. Défis et Perspectives Futures.....	28
II.5.1. Amélioration des techniques d'extraction.....	28
II.5.2. Innovations technologiques à venir.....	28
II.6. Considérations économiques et environnementales.....	28

Sommaire

II.7.Conclusion.....	29
----------------------	----

Chapitre III : Etude botanique de L'Atriplex coriacea

III. Introduction.....	30
III.1.Caractéristiques Morphologiques.....	31
III.1.1.Description physique de la plante.....	31
III.1.2. Adaptations morphologiques.....	33
III.1.3. Classification Botanique.....	33
III.2. Répartition Géographique et Habitat.....	33
III.2.1. Répartition Géographique.....	34
III.2.2. Habitat.....	35
III.3. Propriétés Médicinales.....	35
III.3.1. Usage en Médecine Traditionnelle.....	36
III.3.1.1 Principes Actifs et Composés Biochimiques.....	36
III.3.2. Utilisations Traditionnelles et Contemporaines.....	37
III.3.2.1 Utilisations Traditionnelles.....	37
III.3.2.2. Utilisations Contemporaines.....	37
III.4. Méthodes de culture et de Récolte.....	37
III.4.1. Technique de culture.....	38
III.4.2. Conditions optimales pour la croissance.....	38
III.4.3. Méthodes de conservation.....	40
III.5. Etudes de cas et Recherche actuelle.....	41
III.5.1. Recherche récents sur les propriétés médicinales.....	41
III.5.2. Etudes de cas sur l'utilisation thérapeutique.....	41
III.6. Conclusion.....	43

Partie pratique

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1. Cadre d'étude.....	44
IV.2. Préparation de la charge.....	44
IV.2.1. Préparation de l'échantillon solide pour l'extraction.....	44
IV.2.1.1. Séchage.....	45
IV.2.2. Triage.....	45
IV.2.3. Broyage.....	45
IV.2.4. Tamisage.....	46
IV.3. Matériels et produits.....	46
IV.3.1. Appareillages.....	46
IV.3.2. Produit chimique et réactifs.....	47
IV.4. Analyses physico-chimique d'Atriplex coriacea.....	47
IV.4.1. Matière sèche (AFNOR ,1982)	48
IV.4.2. Taux d'humidité (AFNOR ,1986)	48
IV.4.3. Cendres (NF V 05-113,1972)	49
IV.4.4. Dosage des sucres totaux.....	50
IV.4.4.1. Préparation de l'échantillon au dosage (extraction et purification)	50
1. Extraction.....	50
2. Clarification.....	50
3. Elimination de l'acétate de plomb.....	51
4. Dosage.....	51
IV.4.4.2. Courbe d'étalonnage.....	52
IV.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	52
✓ Méthode d'étude.....	54
IV.5.1. Extraction des huiles essentielles par hydro-distillation.....	54

Sommaire

Principes.....	55
Technique.....	55
IV.5.2. Extraction des huiles essentielles par micro-ondes.....	56
Principe.....	56
Technique.....	56
IV.5.3. Séparation des huiles essentielles du distillat.....	57
IV.5.3.1. Extraction par solvant.....	57
IV.5.3.2. Elimination de solvant.....	57
Principe d'évaporateur rotatif.....	58
IV.5.4. Conservation de l'huile essentielle obtenue.....	59
IV.6. Caractérisation des huiles essentielles.....	59
IV.6.1. Etude analytique.....	60
IV.6.1.1. Analyse de propriétés organoleptiques.....	60
IV.6.1.2. Rendement (AFNOR, 1986)	60
IV.6.2. Analyse physico-chimique.....	61
IV.6.2.1. Densité relative (NF T 75-111)	61
IV.6.2.2. Potentiel d'hydrogène (PH)	62
IV.6.2.3. Indice de réfraction (NF T 75-112)	62
IV.6.2.4. Indice d'acide (NF T 60-204)	63
IV.6.2.5. Indice d'ester (NF T 75-104)	64
IV.6.2.6. Indice d'iode (NF T 60-203)	65
IV.6.2.7. Indice de peroxyde (NF T 60-220)	66
IV.6.2.8. Indice de saponification (AFNOR NET 60-2006)	67
IV.6.3. Extraction des poly phénols.....	69
IV.6.3.1. Extraction solide liquide (macération)	69
A. Extraction par éthanol.....	69
B. Extraction par acétone.....	69
C. Extraction par l'eau distillée.....	69

Sommaire

IV.6.3.2. Dosage des poly phénols totaux.....	70
IV.6.3.3. Dosage des flavonoïdes totaux (FT)	71
IV.6.4. Activités biologiques.....	71
IV.6.4.1. Activité antioxydant.....	71
IV.6.4.1.1. Test au DPPH.....	72
Paramètre IC50.....	73
IV.6.4.1.2. Test au TAC.....	73
IV.6.4.1.3. Test à l'OH [•] (piégeage des hydroxydes)	74
IV.6.4.2. Activité antibactérienne.....	75
a. Méthode de diffusion (antibiogramme)	75
b. Milieux de culture.....	75
c. Stérilisation du matériel.....	76
d. Préparation des concentrations des extraits.....	76
e. préparation de l'inoculum.....	76
f. Lecture.....	77

Chapitre V : Résultats et discussion

V. Introduction.....	78
V.1. Analyses phyto-chimique.....	78
V.1.1. Taux d'humidité et matière sèche.....	78
V.1.2. Cendre et dosage des sucres totaux.....	78
V.2. Extraction des huiles essentielles.....	79
V.3. Caractérisation des huiles essentielles.....	79
V.3.1. Propriétés organoleptique.....	79
V.3.2. rendement d'extraction en HE.....	80
V.3.2.1. Par hydro-distillation.....	80
V.3.3.2. Par micro-ondes.....	81
V.3.3. Comparaison entre les deux procédés.....	81
V.3.4. Propriétés physico-chimique.....	82
• Densité relative.....	82

Sommaire

• PH.....	83
• L'indice de réfraction.....	83
• L'indice d'acide.....	83
• L'indice d'ester.....	83
• L'indice d'iode.....	83
• L'indice de peroxyde.....	83
• L'indice de saponification.....	83
V.3.5. Extraction des poly phénols.....	84
V.3.5.1. Extraction par macération.....	84
V.3.5.2. Dosage des poly phénols totaux et Flavonoïdes des extraits.....	84
V.3.5.3. Dosage des poly phénols totaux.....	85
V.3.5.4. Dosage des flavonoïdes.....	85
V.3.6. Activités biologiques.....	86
V.3.6.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	86
V.3.6.2. Capacité anti-oxydante totale.....	86
V.3.6.3. Piégeage des hydroxydes.....	86
V.3.6.4. Activité antibactérienne.....	87
Conclusions Générale et perspectives.....	88
Référence bibliographique	
Annexe	

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Numéro	Tableau	Page
Tableau II.1	Avantages et inconvénients des procédés d'extraction	24
Tableau II.2	Intérêt de l'extraction	25
Tableau III.1	Classification botanique de l'Atriplex coriacea	33
Tableau III.2	Composition biochimique de l'Atriplex coriacea	36
Tableau III.3	Technique de culture de l'Atriplex	38
Tableau III.4	Etudes de cas sur l'utilisation thérapeutique	42
Tableau IV.1	Les produits chimiques et les réactifs	47
Tableau IV.2	Les propriétés des solvants utilisés	69
Tableau V.1	Propriétés organoleptiques de l'HE	79
Tableau V.2	Rendement d'extraction des huiles essentielles par HD	80
Tableau V.3	Rendement d'extraction des huiles essentielles par MO	81
Tableau V.4	Comparaison entre les deux procédés	81
Tableau V.5	Les propriétés physico-chimiques d'HE des valves d'AC	82
Tableau V.6	La teneur des polyphénols totaux	85
Tableau V.7	Teneur des flavonoïdes l'extrait	85
Tableau V.8	Résultats du test OH'	87
Tableau V.9	Résultats du test antibactérien sur les deux souches bactéries	87

Liste des figures

Liste des figures

Numéro	Tableau	Page
Figure I.1	Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des H.E	7
Figure I.2	Structure chimique de quelques mono terpènes extraits des H.E	8
Figure I.3	Exemples de quelques sesquiterpènes	8
Figure I.4	Exemples de composés aromatiques	9
Figure II.1	Schema de l'hydrodistillation	18
Figure II.2	Schema de la distillation fractionnée	19
Figure II.3	Distillation par entrainement a la vapeur d'eau	19
Figure II.4	Montage de la macération	20
Figure II.5	Montage de l'Extraction assisté par micro-ondes	22
Figure II.6	Schema de l'Extraction assisté par ultrasons	23
Figure III.1	Les composants de l'atriplex coriacea	32
Figure III.2	Distribuition de l'atriplex coriacea dans l'Algérie	34
Figure III.3	Principaux effets d'une forte salinité sur les plantes	39
Figure IV.1	Séchage de la plante.	45
Figure IV.2	La plante avant et après le triage	45
Figure IV.3	Broyage des valves	45
Figure IV.4	L'étape de tamisage des valves	46
Figure IV.5	Les étapes de détermination de la matière sèche.	48
Figure IV.6	Séchage des échantillons dans l'étuve	49
Figure IV.7	L'échantillon avant et après leur passage au four	50
Figure IV.8	Préparation de la solution d'extraction	50
Figure IV.9	Les étapes de clarification	51
Figure IV.10	Dosage des sucres	51
Figure IV.11	Dispositifs d'hydro-distillation.	55
Figure IV.12	Dispositifs de micro-ondes	56
Figure IV.13	Dispositif d'ampoule à décanter pour séparer la phase aqueuse de la phase organique.	57
Figure IV.14	Dispositifs d'évaporateur rotatif.	58
Figure IV.15	Le pycnomètre 1 : vide, 2 : contient l'eau distillée, 3 : contient Le HE	61
Figure IV.16	PH-mètre	62
Figure IV.17	Refractomètre	63
Figure IV.18	Les étapes de l'indice d'acide.	64
Figure IV.19	Les étapes de l'indice d'ester	65
Figure IV.20	L'étape de l'indice d'iode	66
Figure IV.21	Les étapes de l'indice de peroxyde	67
Figure IV.22	L'étape de l'indice de saponification	68
Figure IV.23	Macération par différents solvants	69
Figure IV.24	Dosage des polyphénols	70
Figure IV.25	Dosage des flavonoïdes	71
Figure IV.26	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce Radicalaire DPPH° et un antioxydant.	72
Figure IV.27	Solution de DPPH	73
Figure IV.28	Dosage de test DPPH	73
Figure IV.29	Les étapes de test TAC	74
Figure IV.30	Les étapes de test OH'	75

Liste des figures

Figure IV.31	Gélose Mueller Hinton	76
Figure IV.32	Protocole expérimental de l'activité antibactérien	77
Figure V.1	Représentation sectorielle du taux d'humidité des valves d'Atriplex.	78
Figure V.2	détermination de la teneur en sucre et le cendre.	78
Figure V.3	Huiles essentielles obtenu.	79
Figure V.4	Rendement d'extraction par trois solvants dans les valves d'Atriplex.	84

Liste des abréviations

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé

ISO : Organisation Internationale de Normalisation

AFNOR : Association française de normalisation

NAVES : Notes d'Affectation à valeur Européenne

HE : Huille essentielle

HO : Hydrodisstillation

MO : Mico-ondes

EAM : Extraction assisté par micro-ondes

GC : Chromatographie en Phase Gazeuse

CPL : La chromatographie en phase liquide

HPLC : Chromatographie en phase liquide haute performance ou haute pression

SM : Le détecteur de spectrométrie de masse

IR : Spectroscopie infrarouge

RMN : Résonance magnéti nucléaire

HbA1c : Le pourcentage d'hémoglobine liée au glucose

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline

% : Pourcentage

G : Gramme

T :Température

MHz :Mégahertz

M : La masse molaire

D : La densité

C : Cencentration

Liste des abréviations

P : Pureté

DDPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil

IC50 : Concentration inhibitrice médiane

TAC : Capacité antioxydant totale

OH[•] : Activité de piégeage des Hydroxyle

PH : Potentiel hydrogène

µl : microlitre

AC : Atriplex Coriacea

المخلص

يركز هذا البحث على استخراج الزيوت العطرية من نبات *Atriplex coriacea* ، وذلك بمقارنة طرق التقطير بالبخار والاستخراج باستخدام الموجات الدقيقة لتحديد كفاءتها. يستخدم التقطير بالبخار، وهي تقنية تقليدية، بخار الماء لاستخلاص المركبات المتطايرة من النباتات، في حين أن الاستخراج بالموجات الدقيقة هو طريقة حديثة تستخدم الموجات الكهرومغناطيسية لتسخين وإطلاق الزيوت العطرية بشكل أكثر فعالية. أظهرت النتائج التجريبية أن الاستخراج باستخدام الموجات الدقيقة يوفر مردودًا أعلى حيث تصل إلى 4.1 ، ويكون أسرع، ويحافظ بشكل أفضل على المركبات الحساسة للحرارة مقارنة بالتقطير بالبخار الذي يعطي كفاءة أقل تساوي 2.91. تشمل الجزء التجريبي من البحث أيضًا تحليلات فيزيائية وكيميائية متعمقة للزيوت العطرية المستخلصة من *Atriplex coriacea* ، مع التركيز على التركيب الكيميائي عبر الكثافة النسبية، ومعامل الحموضة، ومعامل الانكسار، وقابلية الذوبان في المذيبات المختلفة. تتيح هذه التحليلات توصيف الزيوت العطرية بدقة وتحديد مكوناتها الحيوية الرئيسية، مما يمهد الطريق لتطبيقات محتملة في المجالات الصيدلانية والتجميلية والغذائية. في الختام، يسلط هذا البحث الضوء على فوائد الاستخراج بالموجات الدقيقة للحصول على زيوت عطرية عالية الجودة، مع تقديم تقييم شامل للخصائص الفيزيائية والكيميائية لمستخلصات *Atriplex coriacea*.

الكلمات المفتاحية : الزيوت العطرية، الاستخراج بمساعدة الموجات الدقيقة، *Atriplex coriacea*، الأنشطة المضادة للأكسدة .

Résumé

Résumé

Ce mémoire de fin d'étude se concentre sur l'extraction des huiles essentielles de la plante *Atriplex coriacea*, en comparant les méthodes d'hydrodistillation et d'extraction par micro-ondes pour déterminer leurs rendements respectifs. L'hydrodistillation, une technique traditionnelle, utilise la vapeur d'eau pour extraire les composés volatils des plantes, tandis que l'extraction par micro-ondes est une méthode plus moderne qui emploie des ondes électromagnétiques pour chauffer et libérer les huiles essentielles de manière plus efficace. Les résultats expérimentaux montrent que l'extraction par micro-ondes offre un rendement supérieur qui est égale a 4.1 , plus rapide et avec une meilleure conservation des composés thermosensibles par rapport à l'hydrodistillation offre un rendement inferieur qui est égale a 2.91. La partie expérimentale du mémoire inclut également des analyses physico-chimiques approfondies des huiles essentielles extraites d'*Atriplex coriacea*, portant sur la composition chimique via Densité relative, l'indice d'acide, l'indice de réfraction, et la solubilité dans divers solvants. Ces analyses permettent de caractériser précisément les huiles essentielles et d'identifier leurs principales composantes bioactives, ouvrant ainsi la voie à des applications potentielles dans les domaines pharmaceutique, cosmétique, et agroalimentaire. En conclusion, cette étude met en lumière les avantages de l'extraction par micro-ondes pour obtenir des huiles essentielles de haute qualité, tout en offrant une évaluation complète des propriétés physico-chimiques des extraits d'*Atriplex coriacea*.

Mots-clés: Huiles essentielles, Extraction assisté par mico-ondes , l'*Atriplex coriacea* , Activités antioxydants .

Abstract

Abstract

This thesis focuses on the extraction of essential oils from the plant *Atriplex coriacea*, comparing the methods of hydrodistillation and microwave extraction to determine their respective yields. Hydrodistillation, a traditional technique, uses steam to extract volatile compounds from plants, while microwave extraction is a more modern method that employs electromagnetic waves to heat and release essential oils more efficiently. Experimental results show that microwave extraction offers a higher yield, equal to 4.1, which is faster and better preserves thermosensitive compounds compared to hydrodistillation, which offers a lower yield, equal to 2.91. The experimental part of the thesis also includes in-depth physicochemical analyses of the essential oils extracted from *Atriplex coriacea*, focusing on chemical composition through relative density, acid index, refractive index, and solubility in various solvents. These analyses allow for precise characterization of the essential oils and identification of their main bioactive components, paving the way for potential applications in pharmaceutical, cosmetic, and food industries. In conclusion, this study highlights the advantages of microwave extraction for obtaining high-quality essential oils, while providing a comprehensive evaluation of the physicochemical properties of *Atriplex coriacea* extracts.

Keywords: Essential oils, Microwave-assisted extraction, *Atriplex coriacea*, Antioxidant activities

Introduction Générale

Introduction :

Les huiles essentielles sont des extraits concentrés de plantes aromatiques qui ont été utilisés depuis l'antiquité pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques et culinaires. Ces substances volatiles, obtenues par diverses méthodes d'extraction, renferment des composés chimiques complexes responsables de leurs arômes distinctifs et de leurs multiples bienfaits pour la santé. La fascination pour les huiles essentielles remonte à l'Antiquité, où elles étaient employées dans les pratiques médicales et des préparations cosmétiques [1].

Les méthodes d'extraction des huiles essentielles sont variées et jouent un rôle crucial dans la préservation de la pureté et de l'efficacité des composés volatils. Parmi les techniques les plus couramment utilisées, la distillation à la vapeur est la plus ancienne et la plus répandue. Elle consiste à faire passer de la vapeur d'eau à travers les matériaux végétaux pour libérer les huiles essentielles, qui sont ensuite condensées et séparées de l'eau. Cette méthode est particulièrement efficace pour les plantes robustes comme la lavande, le romarin et l'eucalyptus. D'autres méthodes incluent la pression à froid, principalement utilisée pour les agrumes comme l'orange et le citron, et l'extraction par solvants, qui est employée pour obtenir des absolues à partir de fleurs délicates comme le jasmin et la rose [1].

L'extraction au CO₂ supercritique est une technique moderne qui utilise du dioxyde de carbone à des pressions élevées pour extraire les huiles essentielles. Cette méthode préserve mieux les composés thermosensibles et donne un produit de haute qualité sans résidus de solvants. En outre, l'extraction par micro-ondes et l'hydrodistillation assistée par micro-ondes sont des technologies émergentes qui offrent des temps d'extraction réduits et une efficacité accrue [2].

Au sein de ce vaste domaine des huiles essentielles, l'*Atriplex coriacea* occupe une place unique. Cette plante, appartenant à la famille des Amaranthacées, est particulièrement remarquable pour sa résilience dans des environnements arides et salins. Connue sous le nom de "saltbush" en anglais, elle est largement distribuée dans les régions arides et semi-arides, notamment en Afrique du Nord et en Australie. L'*Atriplex coriacea* est utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés diurétiques, anti-inflammatoires et digestives. Ses feuilles et ses tiges sont souvent transformées en infusions et décoctions pour traiter divers maux, allant des troubles digestifs aux infections cutanées. [2].

Sur le plan écologique, l'*Atriplex coriacea* joue un rôle crucial dans la stabilisation des sols et la lutte contre la désertification. Sa capacité à croître dans des sols salins et pauvres en nutriments en fait une plante idéale pour la réhabilitation des terres dégradées [3]. De plus, elle est utilisée comme fourrage pour le bétail dans les régions arides, contribuant ainsi à la sécurité alimentaire des populations locales.

Introduction Générale

Les composés bioactifs présents dans l'*Atriplex coriacea*, tels que les flavonoïdes et les saponines, ont suscité un intérêt croissant dans la recherche scientifique moderne.

Ces composés possèdent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes, ouvrant la voie à de nouvelles applications thérapeutiques et nutraceutiques. Des études récentes se sont concentrées sur les effets potentiels de l'*Atriplex coriacea* dans le traitement du diabète, des maladies cardiovasculaires et des infections microbiennes [3].

La partie pratique de cette recherche se concentrera sur l'extraction des huiles essentielles de l'*Atriplex coriacea* en utilisant deux méthodes : l'hydro-distillation et l'extraction assistée par micro-ondes. Ces techniques seront comparées en termes de rendement, de qualité des huiles obtenues et d'efficacité globale. Les analyses chimiques permettront d'identifier et de quantifier les principaux composés terpéniques présents dans les extraits, offrant ainsi une compréhension plus approfondie des potentialités thérapeutiques et industrielles de cette plante.

Ce travail se structure autour de plusieurs chapitres, chacun apportant une vision détaillée des aspects théoriques et pratiques liés à l'étude des huiles essentielles. La première partie traite des généralités sur les huiles essentielles, suivie d'une présentation des différentes méthodes d'extraction. Ensuite, un focus sera fait sur l'*Atriplex coriacea*, ses caractéristiques botaniques et ses usages traditionnels. Enfin, la partie pratique au laboratoire, incluant l'extraction par hydro-distillation et micro-ondes ainsi que les analyses des extraits, sera détaillée pour conclure sur les résultats obtenus et les perspectives futures de recherche dans ce domaine.

En somme, l'étude des huiles essentielles, leurs méthodes d'extraction et les propriétés spécifiques de plantes comme l'*Atriplex coriacea* révèle une richesse de connaissances et d'applications. Ces plantes et leurs extraits offrent non seulement des solutions naturelles pour le bien-être et la santé, mais aussi des bénéfices environnementaux et économiques significatifs. Cette exploration nous permettra de mieux comprendre et valoriser les trésors que la nature met à notre disposition.

Partie théorique

Chapiter 9

Les Huiles Essentielles

I. Historique

L'utilisation des huiles essentielles remonte aux civilisations chinoises et égyptiennes, étant considérée comme l'une des plus anciennes formes de médecine et de cosmétique. Les Égyptiens ont produit des pommades en extrayant des huiles essentielles de plantes aromatiques, les utilisant dans des rituels spirituels, médicaux et cosmétiques, et même la reine Cléopâtre les utilisait pour leur parfum. Les Grecs ont également bénéficié des connaissances égyptiennes, notamment avec Hippocrate, qui recommandait les massages aux huiles essentielles et référençait de nombreuses plantes médicinales. Les Romains et les Arabes ont également contribué à ces connaissances, l'alchimiste Avicenne étant un pionnier dans la distillation des plantes médicinales. Ces connaissances se sont maintenues, notamment dans les monastères, où l'on préparait des solutions antibactériennes pour lutter contre les épidémies. Même si cette connaissance a été parfois perdue au fil des siècles, les plantes ont continué à être utilisées pour soulager ou guérir des maladies, et de nos jours, la science confirme de plus en plus l'efficacité de ces traditions ancestrales [4].

L'histoire des huiles essentielles en Algérie remonte à plusieurs siècles. Les méthodes traditionnelles d'extraction des huiles essentielles, telles que la distillation à la vapeur, étaient pratiquées depuis longtemps par les populations locales pour extraire les essences aromatiques des plantes. Ces huiles étaient utilisées à des fins médicales, cosmétiques et même spirituelles. Au fil du temps, l'Algérie a développé une industrie de production d'huiles essentielles, en exploitant les riches ressources naturelles du pays, notamment les plantes médicinales et aromatiques qui poussent dans différentes régions, comme le thym, la menthe, la lavande, le romarin et le cyprès. Dans les temps modernes, l'Algérie continue de produire des huiles essentielles de haute qualité, qui sont utilisées à la fois localement et à l'étranger dans divers secteurs, tels que l'industrie pharmaceutique, cosmétique, alimentaire et de bien-être. De plus, l'intérêt croissant pour les produits naturels et l'aromathérapie a également stimulé la demande pour les huiles essentielles algériennes sur le marché international [5].

En conclusion, l'histoire des huiles essentielles en Algérie témoigne d'une richesse floristique exceptionnelle, mais aussi des défis persistants en matière de développement de la filière. Depuis les premières actions de contrôle dans les années 1940 jusqu'aux initiatives récentes de promotion de la culture des plantes médicinales, le potentiel demeure largement sous-exploité. Malgré des avancées, notamment dans le cadre de la politique agricole, une compréhension approfondie de l'utilisation économique et médicinale des plantes reste nécessaire pour stimuler leur valorisation dans le pays et au-delà [6].

I.1. Définitions des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances volatiles, généralement liquides, extraites de plantes aromatiques par différents procédés tels que la distillation à la vapeur d'eau, l'expression à froid ou la pression mécanique. Elles sont constituées d'un mélange complexe de composés biochimiques naturels, comprenant principalement des terpènes, des esters, des cétones, des alcools, des aldéhydes et des phénols, parmi d'autres [7].

Ces composés chimiques confèrent aux huiles essentielles leurs caractéristiques olfactives uniques ainsi que leurs propriétés thérapeutiques. Les huiles essentielles sont utilisées depuis des millénaires dans diverses cultures à des fins médicinales, thérapeutiques, cosmétiques et rituelles en raison de leurs propriétés antiseptiques, anti-inflammatoires, analgésiques, antispasmodiques, relaxantes, stimulantes, et bien d'autres encore [7].

Elles sont largement utilisées en aromathérapie, une forme de médecine alternative qui exploite les bienfaits des odeurs pour améliorer la santé et le bien-être. En cosmétique, les huiles essentielles sont souvent ajoutées à des produits de soins de la peau et des cheveux pour leurs propriétés hydratantes, antioxydants et régénérantes. En parfumerie, elles sont des composants essentiels pour créer une grande variété de parfums [7].

On trouve aussi des autres définitions d'huile essentielle :

I.1.1. Définition ANSM

Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans Chauffage. L'huile essentielle et le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [8].

I.1.2. Définition selon la norme ISO 9235

Une huile essentielle est définie comme un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, ou par procédé mécanique à partir de l'épicarpe des Citrus, ou par distillation sèche [8].

I.1.3. Définition Selon L'AFNOR

Elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques.

Cette définition par procédé d'obtention est restrictive, elle exclut les produits obtenus par tout autre procédé d'extraction (solvants organiques, fluides à l'état supercritique, corps gras) [9].

I.1.4. Définition D'après NAVES 1976

Cette définition peut être étendue aux HE obtenues par expression à froid de l'écorce ou zeste des fruits du Citrus, à cause de l'intervention de l'eau dans les procédés mécaniques pour entraîner le produit libéré des alvéoles oléifères [10].

I.2. Répartition et localisation des huiles essentielles

La répartition et la localisation des huiles essentielles dans les plantes varient en fonction de plusieurs facteurs, notamment le type de plante, la partie de la plante utilisée et les conditions de croissance [11]. Voici quelques exemples de répartition et de localisation des huiles essentielles dans différentes plantes :

I.2.1. Répartition

La répartition des huiles essentielles dépend de facteurs tels que l'espèce végétale, la partie de la plante, le stade de croissance et les conditions environnementales.

Les huiles essentielles se trouvent généralement dans des structures spécialisées comme les glandes sécrétrices, les poches sécrétrices, les trichomes glandulaires et les canaux sécréteurs. et Variabilité intra et inter espèces [11].

Exemples :

- Feuilles : Concentration dans des glandes ou des poches spéciales, notamment chez le laurier
- Fleurs : Production par des glandes ou des structures spéciales, comme chez la lavande et le géranium.
- Tiges et branches : Accumulation dans l'écorce et le bois, par exemple chez l'eucalyptus.
- Racines : Moins fréquent, mais présent, comme dans la valériane [11].

I.2.2. Localisation

Les structures histologiques spécialisées, souvent situées sur ou près de la surface de la plante, sont élaborées par des glandes sécrétrices présentes sur presque toutes ses parties. Ces glandes sécrètent les huiles essentielles, soit dans le cytoplasme de certaines cellules, soit sous forme de petites gouttelettes, comme c'est courant pour les substances lipophiles. La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à diverses structures de surface, telles que les cellules à huiles essentielles des lauracées, les poils sécréteurs des lamiacées, les poches sécrétrices des myrtacées et des rutacées, ainsi que les canaux sécréteurs présents dans de nombreuses familles de plantes. Il est à noter que les organes d'une même espèce peuvent contenir des huiles essentielles de composition différente selon leur emplacement dans la plante [12].

Concernant l'Atriplex, les huiles essentielles se trouvent principalement dans les parties aériennes de la plante, telles que les feuilles, les tiges et parfois les fleurs. Cependant,

leur concentration et leur composition peuvent varier selon l'espèce, le stade de croissance et les conditions environnementales [12].

Selon **belai**che (1979) souligne l'importance des huiles essentielles pour les plantes désertiques, en raison de leur capacité à conserver une humidité vitale. Les vapeurs aromatiques émises par ces huiles permettent de saturer l'air autour de la plante, ce qui limite l'élévation de la température pendant la journée à des niveaux intolérables pour la vie végétale, et empêche une chute excessive de température pendant la nuit [13].

1.3. Classifications

La classification des huiles essentielles est une distinction souvent utilisée dans l'industrie et le commerce des huiles essentielles. Cette classification se base généralement sur des critères tels que la production, la demande sur le marché, et parfois la quantité d'huile produite à partir d'une certaine plante [14]. On peut classer les HE en trois groupes :

1. Huiles majeures

- Les huiles majeures sont les plus volatiles, ce qui signifie qu'elles s'évaporent rapidement et sont perçues en premier dans un mélange aromatique.
- Elles sont souvent utilisées pour donner une impression initiale à un parfum ou à un mélange aromatique.
- Leurs arômes sont généralement frais, légers et stimulants.
- Exemples : huile essentielle de bergamote, huile essentielle de citron, huile essentielle de menthe poivrée [14].

2. Huiles médianes

- Les huiles médianes sont moins volatiles que les huiles majeures, mais plus volatiles que les huiles de base.
- 4
- Elles forment le cœur ou le corps d'un parfum ou d'un mélange aromatique.
- Leurs arômes sont plus équilibrés et persistent plus longtemps que ceux des huiles majeures.
- Elles contribuent à la cohérence et à la profondeur d'un parfum ou d'un mélange aromatique.
- Exemples : huile essentielle de lavande, huile essentielle de romarin, huile essentielle de géranium [14].

3. Huiles de terrain (de base)

- Les huiles de base sont les moins volatiles, ce qui signifie qu'elles s'évaporent lentement et sont perçues en dernier dans un mélange aromatique.
- Elles apportent de la stabilité et de la persistance à un parfum ou à un mélange aromatique.
- Leurs arômes sont riches, profonds et terreux.

- Elles sont souvent utilisées comme fixateurs pour retenir les notes plus volatiles et prolonger la durée de vie du parfum.
- Exemples : huile essentielle de bois de cèdre, huile essentielle de patchouli, huile essentielle de vétiver [14].

1.4. Composition chimique

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers et il en reste beaucoup à découvrir [15].

Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes :

- Le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques)
- Le groupe de composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents.

Elle pouvant, également refermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils [15].

I.4.1. Les composés Les terpénoïdes

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Les terpénoïdes Dans les huiles essentielles, sont celles qui ont la masse moléculaire n'est pas élevée c'est à dire, ceux dont les molécules les plus volatils. Ils portent dans la plupart des cas la formule générale $(C_5H_8)_n$. Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n=1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes(n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes. Les constituants des huiles essentielles sont très variés [15].

On y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres [15].

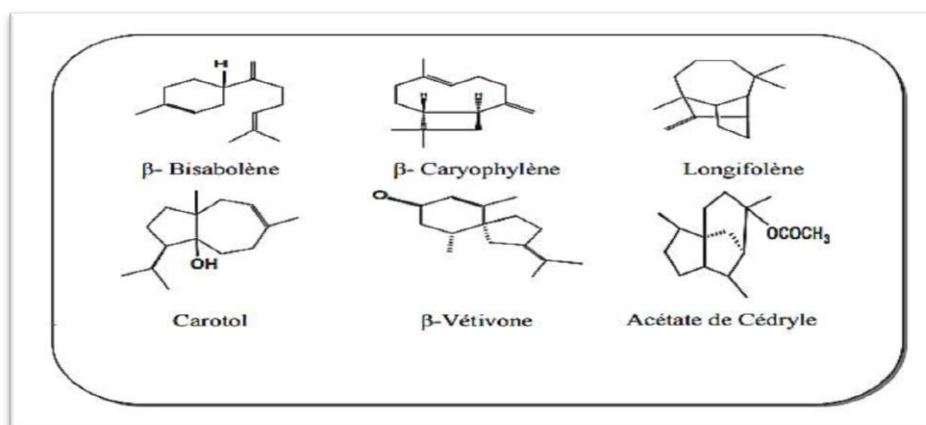


Figure 01 : Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des H.E [15].

a) Mono terpènes

Les mono terpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité (90%) est rencontrée dans les huiles essentielles. Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonction chimique spéciales [16].

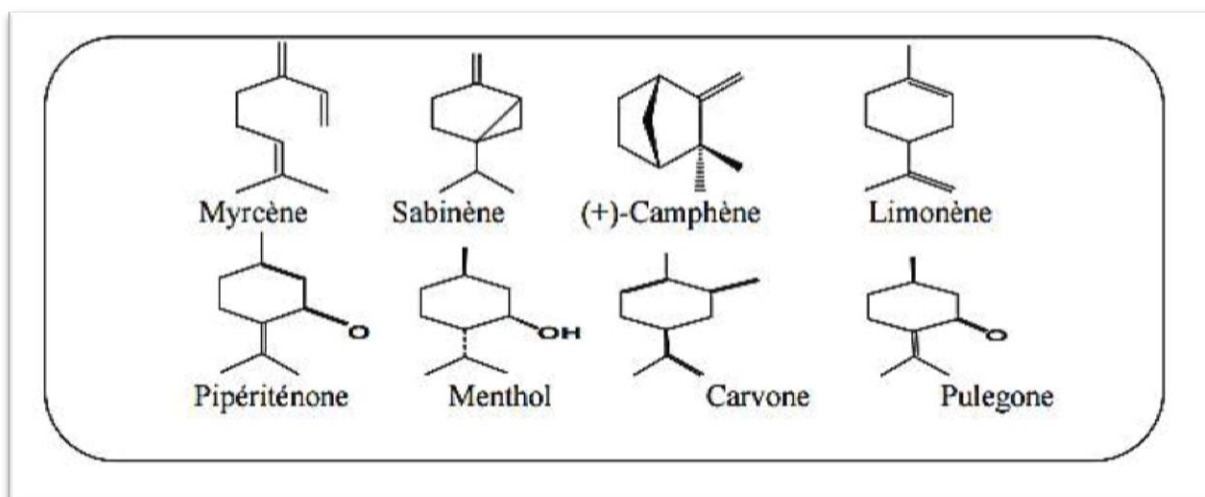


Figure I.2 : structure chimique de quelques mono terpènes extraits des H.E [16].

b) Les sesquiterpènes

Ils comportent trois unités d'isoprène, ce sont des dérivés d'hydrocarbures. Leur formule est $C_{15}H_{24}$ soit une fois et demie la molécule des terpènes. Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés [16].

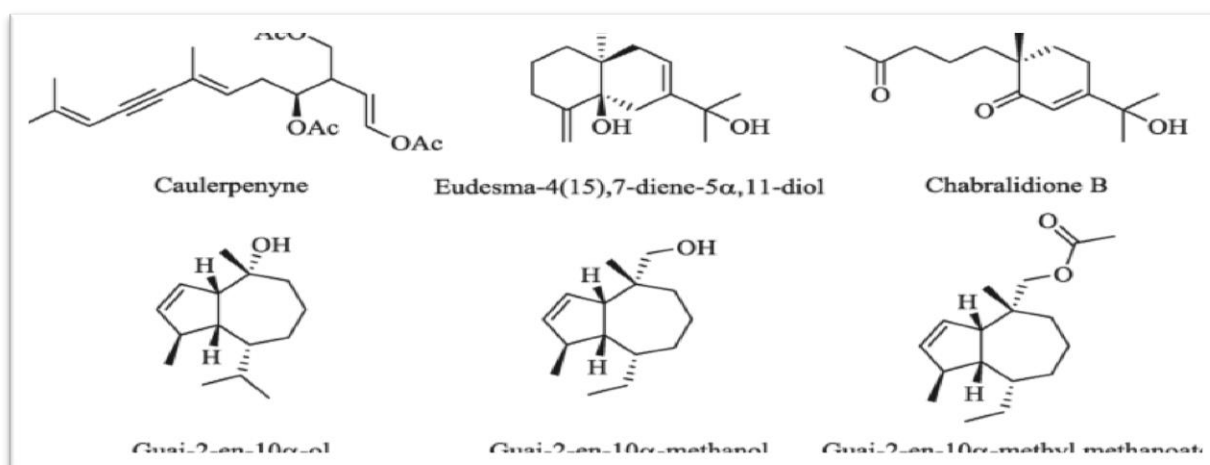


Figure I.3 : Exemples de quelques sesquiterpènes [16].

I.4.2. Les composés aromatiques

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels de composés aromatiques, tels que les terpènes, les cétones et les alcools, produits par les plantes. Chaque huile essentielle possède une composition unique qui détermine son arôme et ses propriétés thérapeutiques. Ces composés sont responsables des diverses applications des huiles essentielles en aromathérapie, en cosmétique et en parfumerie, en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé et leur parfum agréable [16].

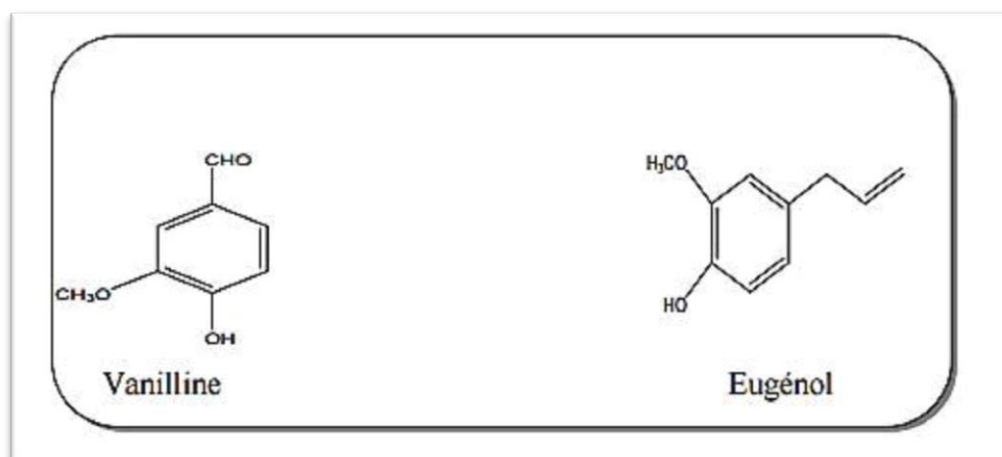


Figure I.4 : Exemples de composés aromatiques [16].

I.4.3. Les composés d'origines diverses

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînés par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares. Enfin, il n'est pas rare de trouver dans les concrètes des produits de masses moléculaires plus importantes non entraînés à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants [13].

I.5. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles

Etant formées de mélanges généralement complexes, les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine [17]. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, que nous pouvons regrouper en deux catégories:

a) Les facteurs intrinsèques

Liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (type de sol ou climat, ...) et au degré de maturité du végétal concerné, voire au moment de la récolte au cours de la journée [17].

b) Les facteurs extrinsèques

Huang et al. (1995) ont montré l'influence des méthodes d'extraction sur la composition des huiles essentielles. Le stockage des matières premières avant distillation peut

également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles. Par ailleurs le temps de stockage des huiles essentielles après extraction tend aussi à modifier la composition de ces huiles [17].

D'autres travaux ont mis en évidence l'influence de l'origine géographique de la matière première [17].

I.6. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Toutes substances d'origine naturelle ou chimiquement synthétisées possèdent des propriétés physico-chimiques spéciales [15]. Les huiles essentielles aussi ayant en commun un certain nombre de propriétés spécifiques, à savoir :

- A température ambiante, les huiles essentielles sont généralement liquides.
- A basse température, certaines huiles essentielles cristallisent : celles de menthe et de thym, lorsque les flacons sont stockés au réfrigérateur.
- Les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les oppose aux "huiles fixes" ou "huiles végétales". Cette volatilité explique leur caractère odorant ainsi que leur mode d'obtention par entraînement à la vapeur d'eau.
- Les huiles essentielles sont très solubles dans les huiles grasses (qui constituent un très bon véhicule lorsque l'on souhaite les diluer), les lipides (d'où le principe de l'enfleurage anciennement utilisé pour extraire les huiles essentielles en les mettant en contact avec une graisse animale comme la lanoline), l'éther, la plupart des solvants organiques ainsi que dans l'alcool (de titre élevé).
- De caractère liposoluble, les huiles essentielles ne se dissolvent pas dans l'eau. Rajoutées dans un bain, par exemple, elles flottent, leur densité est généralement inférieure à 1, et sont susceptibles de provoquer des irritations, voire des brûlures cutanées. Il faut donc impérativement utiliser un tensio-actif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles possèdent un indice de réfraction élevé et ont souvent un pouvoir rotatoire.
- Les huiles essentielles sont altérables, sensibles à l'oxydation, mais ne rancissent pas. Elles ont, en effet, tendance à se polymériser pour former des produits résineux. Leur conservation nécessite de l'obscurité (flacons en verre opaque) et de l'humidité [15].

I.7. Obtention des huiles essentielles

Les huiles essentielles et leurs composants sont généralement extraits de sources naturelles ou produits par synthèse chimique après caractérisation de leur structure. La synthèse chimique est importante dans la production des composants des HE en raison des contraintes liées à l'extraction à partir de plantes aromatiques. Cependant, la synthèse chimique peut conduire à des mélanges racémiques et à des produits environne mentalement nocifs, nécessitant une purification. Pour pallier ces inconvénients, de nouvelles technologies comme la bioconversion sont utilisées pour produire des HE naturelles. Ainsi, trois

principales stratégies sont employées pour obtenir des HE : l'extraction naturelle, la synthèse chimique et la bioconversion [18].

I.8. Conservation des huiles essentielles

La plupart des molécules constitutives des huiles essentielles sont insaturées, ce qui les rend instables et sensibles à l'altération. Selon les conditions de conservation. Les essences naturelles peuvent être sujettes à des réactions secondaires telles que : le réarrangement moléculaire, la polymérisation, l'oxydation, la fermentation, l'hydrolyse, etc.... [9].

Il est possible de limiter ces dégradations en prenant certaines précautions :

- L'utilisation des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche.
- Le stockage à basse température.
- La conservation sous atmosphère d'azote.
- L'adjonction d'antioxydants.
- Le réfrigérateur peut être utilisé pour prolonger leur durée de vie, mais surveillez la solidification [9].

I.9. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de molécules ; dont la structure et les propriétés chimiques permettent de dégager des caractéristiques communes (lipophile, faible poids moléculaire) leur assurant une bonne diffusion dans l'organisme. Malgré le peu d'études sur ces molécules, il faut retenir leur pouvoir toxique. Notamment leur hépatotoxicité, neurotoxique et toxicité cutanée récemment. Leur utilisation très variée constitue un fort potentiel d'intoxication, que cette dernière soit accidentelle ou par utilisation erronée [19].

Les signes cliniques que nous avons répertoriés à partir des cas cliniques sont peu caractéristiques de ces intoxications. Il reste donc difficile pour le clinicien de faire un diagnostic différentiel. Le traitement reste symptomatique, mais on peut espérer qu'il sera un jour plus ciblé et donc plus efficace. Il convient de rester vigilant et de faire évoluer cette idée qu'aujourd'hui, tout produit « naturel » est forcément bon et dénué de toute toxicité [19].

Certaines substances naturelles peuvent présenter des effets néfastes pour l'homme au même titre que certaines substances de synthèse. Les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses. Celle-ci peut aussi provenir des contaminants (si l'huile essentielle est impure) et/ou des produits de dégradation de celles-ci car elles se modifient à l'air, à la chaleur et à la lumière [20].

I.10. Domaines d'utilisations des huiles essentielles

Les applications des HE sont nombreuses. En raison de leurs diverses propriétés, les huiles essentielles sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie par leurs pouvoirs, antispasmodique, antidiabétique, analgésique, apéritif, antiseptique..., en alimentation par leur activité antioxydant et leur effet aromatisant, en parfumerie et en cosmétique par leur propriété odoriférante [20].

1. Industrie alimentaire

En industrie alimentaire, on cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure [21].

Une nouvelle technique pour réduire la prolifération des micro-organismes réside dans l'utilisation des HE [21].

Certains plantes sont utilisées brutes (épices et aromates), d'autres le sont sous forme d'huiles essentielles ou de rétinoides [22].

2. Pharmacie

L'industrie pharmaceutique utilise les HE dans le domaine d'antiseptiques externes ; elle tire parti des propriétés bactériostatiques, bactéricides, antifongiques, protectrices, etc. Des essences naturelles. A titre d'exemple, l'huile essentielle d'eucalyptus est largement utilisée en pharmacie pour ses propriétés anti infectieuses, cicatrisantes, et pour la réparation des tissus [9].

Les plantes aromatiques sont aussi utilisées à l'état brut, en particulier pour les préparations d'infusion (menthe, mélisse, verveine, fleurs d'oranger, etc.) et sous la forme de préparations galéniques simples [22]. Plus de 40% de médicaments sont à base de composants actifs de plantes.

De même, elles permettent par leurs propriétés aromatisants de masquer l'odeur désagréable de médicaments absorbés par voie orale. Aussi beaucoup de médicaments vendus en pharmacie sont à base d'HE comme par exemple les collyres, les crèmes, les élixirs [23].

3. Industrie chimique

Les huiles essentielles sont employées dans l'industrie chimique comme matières premières, additifs et agents fonctionnels pour diverses applications telles que la synthèse de produits chimiques, les arômes alimentaires, les solvants industriels et les agents antimicrobiens. Elles suscitent également un intérêt croissant dans la recherche pour leur potentiel dans de nouveaux domaines d'application chimique [22].

Les huiles essentielles ont également un rôle très important à jouer dans l'assainissement de l'air pollué que l'on respire et qu'elles désodorisent, parfument, désinfectent [9].

4. Phytothérapie

L'aromathérapie est une forme de médecine alternative dans laquelle les HE ont une grande importance car elles induisent de nombreux effets curatifs [23].

Le terme aromathérapie vient du chimiste Français René-Maurice Gatte fosse, qui a utilisé l'HE de lavande pendant la première guerre mondiale pour soigner des blessures et des infections [21].

Ainsi elles s'utilisent de plus en plus dans diverses spécialités médicales telles que : la podologie, l'acupuncture, l'ostéopathie, la rhumatologie ainsi que dans l'esthétique [23].

5. Utilisation en aéro-ionisation

Dans les locaux, on peut aseptiser l'atmosphère avec un ionisateur d'huiles essentielles. Il se forme ainsi des aérosols vrais aromatiques, ionisés, créant de l'oxygène naissant ionique, fortement bactéricide, tout en contribuant à dépolluer l'atmosphère [21].

Elles servent dans la fabrication du "paragerm ", solution volatile à base d'essences naturelles (citron, lilas) à activité bactéricide, acaricide et fongistatique qui s'est révélée sans aucune toxicité pour l'homme aux doses utilisées [21].

6. Parfumerie et cosmétologie

Les HE sont recherchés dans l'industrie des parfums et des cosmétiques en raison de leurs propriétés odoriférantes. L'industrie de la parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celles de rose, de jasmin, de violette, de verveine,...etc., les HE sont aussi consommées en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques : les dentifrices, les shampoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les savons [23].

L'utilisation des HE dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydant, tout en leur assurant leur odeur agréable [20].

I.11. Les Critères de qualité

L'huile essentielle utilisée en thérapeutique doit posséder de nombreux critères de qualité :

I.11.1. L'espèce botanique

La certification botanique doit être apparaître selon la nomenclature internationale sous son nom latin précisant le genre, l'espèce et la sous-espèce [24].

I.11.2. Le cycle végétatif

Selon le stade de récolte, les proportions des différents constituants pourront varier [24].

I.11.3. L'organe producteur

Selon la partie de la plante (feuilles, fleurs, racines...) il peut exister plusieurs huiles essentielles pour la même plante avec des compositions chimiques et des activités différentes [24].

I.11.4. 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 HES différentes [25].

I.11.5. 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 [25].

I.11.6. 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 HE de compositions chimiques différentes selon son origine, son pays, son climat, son sol. Une huile essentielle peut contenir de vingt-cinq à cent molécules biochimiques différentes. Ce qui explique la polyvalence d'action des HE [25].

I.12. Conclusion

Les Huiles Essentielles sont utilisées depuis l'antiquité par toutes les civilisations.

Leur efficacité n'est plus remise en cause, notamment grâce aux travaux des précurseurs qui recherchaient au travers de l'aromathérapie, des alternatives à la médecine allopathique classique.

Les HE sont des mélanges complexes de composés organiques; elles sont extraites à partir des différents organes de la plante (feuilles, fruits, fleurs, graines,...etc.) Par divers procédés d'extraction.

Leur utilisation en aromathérapie, en cosmétique, en parfumerie et dans d'autres domaines est basée sur leurs multiples applications, allant de la relaxation et du soulagement du stress à la stimulation des fonctions cognitives et à l'amélioration de la santé de la peau.

L'extraction des huiles essentielles de L'Atriplex sera présentée dans le chapitre suivant.

CHAPITRE 99 :

*Les procédés d'extraction des huiles
essentielles et méthodes d'analyses*

II.Introduction

L'extraction des huiles essentielles est une étape cruciale dans le processus de production, car elle détermine en grande partie la qualité et la pureté du produit final. Ce processus repose sur une connaissance approfondie des plantes aromatiques, de leurs constituants et des techniques adaptées à leur extraction [26].

Parallèlement, les méthodes d'analyse jouent un rôle essentiel dans la caractérisation des huiles essentielles, en permettant d'identifier et de quantifier les composés volatils qui leur confèrent leurs propriétés uniques. Ces méthodes, allant de l'analyse chromatographique à la spectrométrie de masse, offrent des outils précieux pour évaluer la qualité, l'authenticité et la pureté des huiles essentielles [26].

Dans ce chapitre, nous explorerons donc les différentes techniques d'extraction, telles que la distillation, l'expression à froid, l'hydrodistillation, ainsi que les méthodes plus modernes comme l'extraction par solvants ou par CO₂ supercritique. Nous aborderons également les principes et les applications des méthodes d'analyse les plus couramment utilisées dans le domaine, mettant en lumière leur importance pour garantir la qualité et la sécurité des huiles essentielles.

En combinant expertise traditionnelle et technologies de pointe, la science des procédés d'extraction et des méthodes d'analyse des huiles essentielles offre un éclairage précieux sur ces trésors de la nature, ouvrant la voie à de nouvelles découvertes et applications dans des domaines aussi variés que la santé, la cosmétique, ou encore l'aromathérapie [27].

II.1. Les procédés d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Cette opération est des plus difficiles et des plus délicates puisqu'elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborés par le végétal et ce, sans en altérer la qualité. Selon la technique utilisée, nous pouvons obtenir des huiles essentielles, des concrètes, des absolues, des pommades, des rétinoides ou des infusions. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction [28].

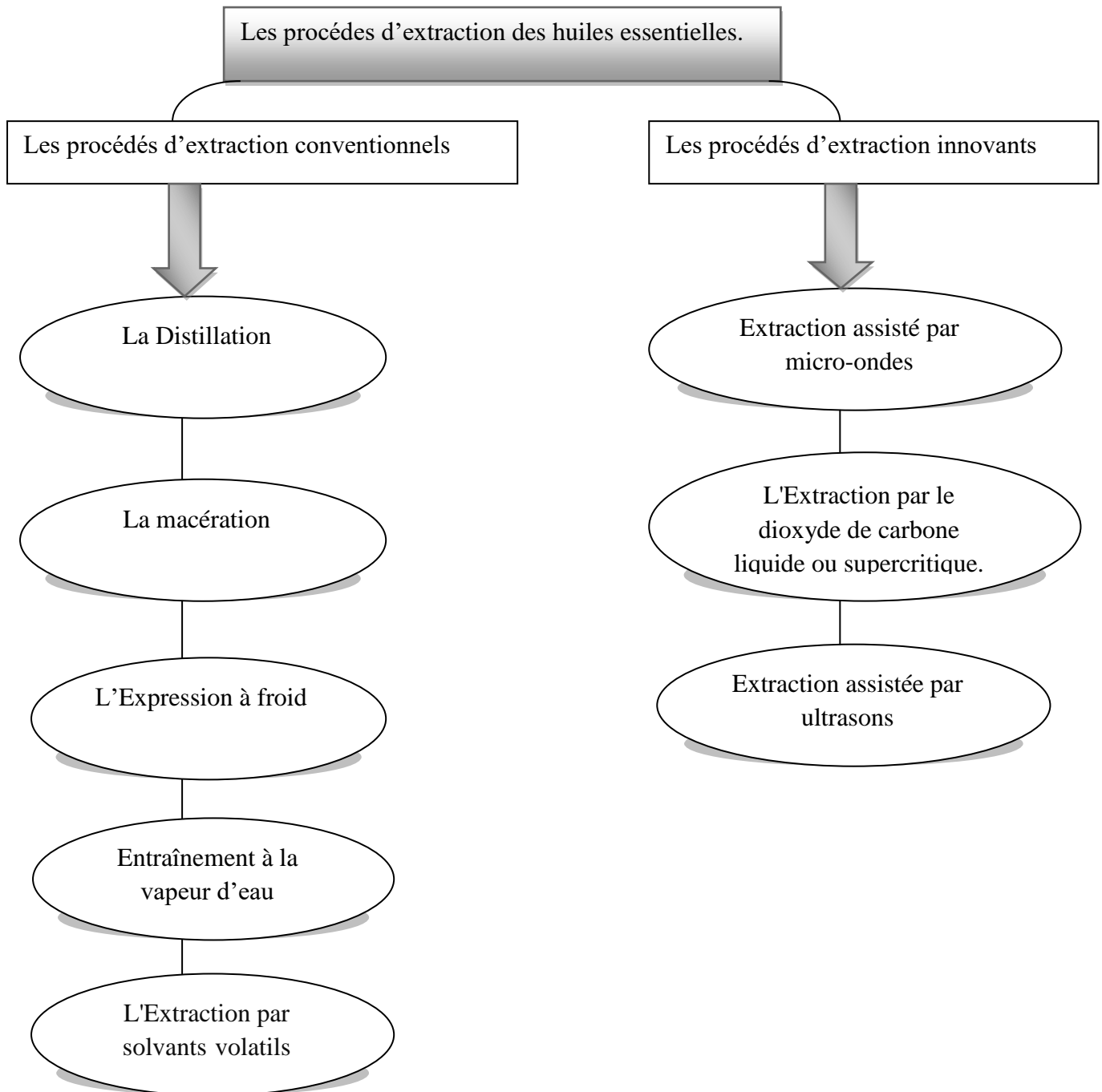
Les techniques d'extraction doivent donc, tout en tenant compte des coûts d'obtention liés au rendement, au temps passé et au matériel utilisé, viser à résoudre, au mieux, ces difficultés dans le but d'obtenir des extraits de la plus haute qualité, c'est à dire les plus proches possibles de l'essence originelle [28].

Il est noté aussi que ces différentes méthodes d'extraction donnent un résultat différent de composition et d'odeur des produits obtenus pour la même plante.

Les principales sont basées sur :

- La Distillation.
- La Macération.
- L'Expression à froid.
- L'Extraction assisté par micro-onde.
- Extraction assistée par ultrasons
- L'Extraction par le dioxyde de carbone liquide ou supercritique.
- L'Extraction par solvants volatils.
- Entraînement à la vapeur d'eau [29].

Ces techniques représentent une combinaison de méthodes conventionnelles et innovantes :



II.1.1. Les procédés d'extraction conventionnels

L'extraction des huiles essentielles peut se faire par plusieurs procédés conventionnels, chacun ayant ses propres avantages et inconvénients selon la nature de la plante et la qualité de l'huile recherchée. Voici les principaux procédés utilisés :

II.1.1.1. La distillation

La distillation est une méthode conventionnelle largement utilisée pour extraire les huiles essentielles. En raison de sa simplicité et de son efficacité, elle est largement utilisée dans l'industrie des huiles essentielles. Pendant le processus de distillation, la matière

végétale est placée dans un alambic ou un appareil de distillation et chauffée. La chaleur fait évaporer l'eau contenue dans la matière végétale ainsi que les composés volatils, comme les huiles essentielles. La vapeur résultante est ensuite refroidie, la condensant en un liquide [30].

Les huiles essentielles ne se mélangent pas à l'eau, se séparant naturellement et s'accumulant à la surface. La distillation, un procédé qui extrait les composés aromatiques des plantes sans solvants chimiques, est idéale pour les plantes riches en huiles essentielles résistantes à la chaleur. Malgré son caractère traditionnel, la distillation reste populaire pour sa simplicité, son efficacité et sa capacité à produire des huiles de haute qualité. Cependant, des méthodes d'extraction plus innovantes sont également développées pour répondre à des exigences spécifiques de pureté, d'efficacité et de durabilité [30].

Il existe plusieurs méthodes de distillation des huiles essentielles, chacune adaptée à des besoins spécifiques en termes de plantes, de volumes de production et de qualité des huiles essentielles. Voici quelques-unes des méthodes de distillation les plus couramment utilisées :

a) Hydro-distillation :

Est une méthode de distillation utilisée pour extraire les huiles essentielles des plantes. Contrairement à la distillation entraînée à la vapeur, qui utilise la vapeur d'eau pour extraire les composés volatils des plantes, l'hydro distillation utilise l'eau comme solvant. Le processus d'hydro distillation consiste à tremper des matières végétales dans l'eau, puis à chauffer l'eau pour créer de la vapeur. Cette vapeur d'eau, qui contient des composés végétaux volatils, est ensuite condensée pour former un mélange d'huiles essentielles et d'eau [31].

Cependant, l'hydrodistillation peut parfois nécessiter des temps de distillation plus longs que d'autres méthodes et peut entraîner une dilution de l'huile essentielle dans l'eau. Pour cette raison, certaines personnes préfèrent d'autres méthodes de distillation, comme la distillation à la vapeur d'eau, pour obtenir des huiles essentielles plus concentrées et pures [31].

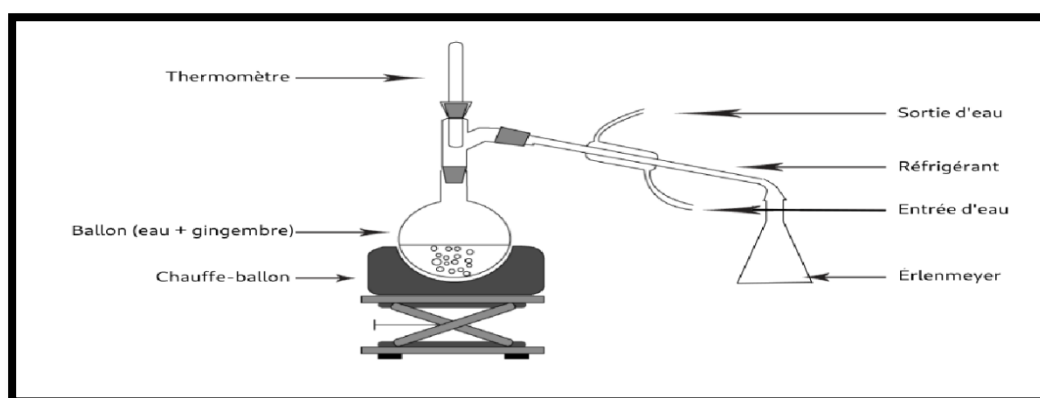


Figure II.1 : Schema de l'Hydrodistillation [31].

b) Distillation à la vapeur d'eau sous pression :

Cette méthode utilise une pression plus élevée que la distillation traditionnelle, ce qui permet d'extraire des huiles essentielles à des températures plus basses. Cela peut préserver davantage les composés volatils sensibles à la chaleur [32].

c) Distillation fractionnée :

Cette méthode implique la distillation répétée de la même matière végétale pour séparer les différents composés volatils en fonction de leur point d'ébullition. Elle peut être utilisée pour obtenir des fractions spécifiques d'huiles essentielles avec des profils aromatiques distincts [32].

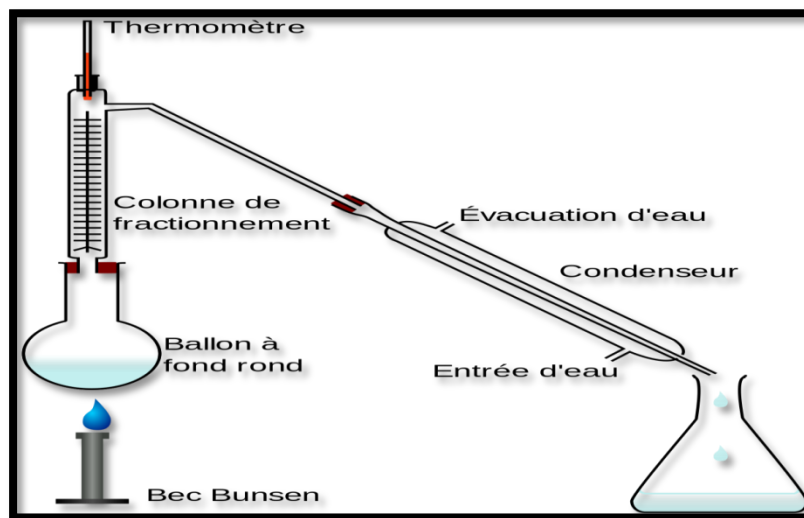


Figure II.2 : Schémas de la distillation fractionnée [33].

d) Distillation par entraînement à la vapeur d'eau:

Cette méthode utilise la vapeur d'eau pour libérer les composés volatils contenus dans les plantes, notamment les huiles essentielles. La vapeur d'eau est ensuite refroidie et condensée, séparant l'huile essentielle de l'eau. Cette technique est très utilisée car elle extrait efficacement les huiles essentielles tout en conservant leurs propriétés aromatiques [34].

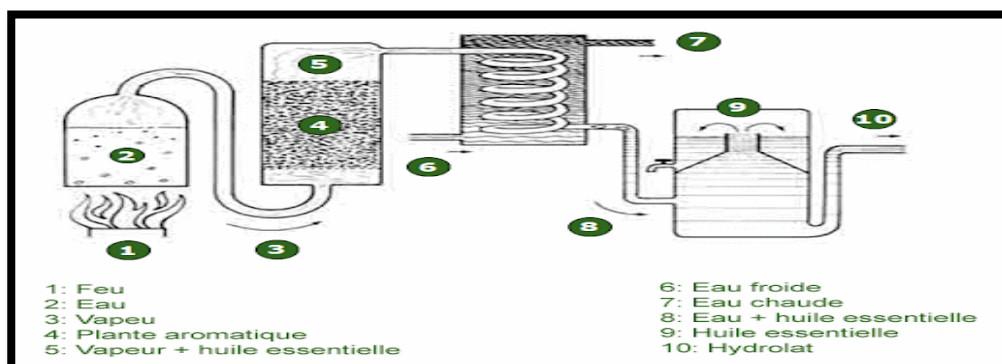


Figure II.3 : Distillation par entraînement à la vapeur d'eau [34].

e) Distillation continue :

Au cours de ce processus, la matière végétale est continuellement introduite dans le système de distillation tandis que les huiles essentielles sont extraites en continu. Cela peut être utilisé pour la production à grande échelle et l'extraction continue d'huiles essentielles. Chacune de ces différentes méthodes de distillation présente des avantages et des inconvénients en termes de rendement, de qualité et de coût, et le choix de la méthode dépend souvent des caractéristiques spécifiques de l'usine et des exigences de production [33].

II.1.1.2. La macération

Est une méthode d'extraction d'huile essentielle qui consiste à tremper des matières végétales dans un solvant tel que de l'huile végétale ou de l'alcool pour en extraire les composés aromatiques. Pendant le processus de macération, les plantes sont laissées dans le solvant pendant une période prolongée, permettant aux composés volatils de se dissoudre lentement dans le solvant [35]

Le processus peut être effectué à température ambiante ou parfois à des températures légèrement élevées pour accélérer l'extraction. Une fois la macération terminée, le mélange est filtré pour séparer la matière végétale des huiles essentielles dissoutes dans le solvant. La macération est particulièrement adaptée à l'extraction des huiles essentielles de plantes fragiles ou fragiles pouvant être endommagées par les méthodes de distillation thermique. C'est également une méthode populaire pour préparer des huiles de massage et des extraits aromatiques utilisés dans les parfums et les cosmétiques [36].

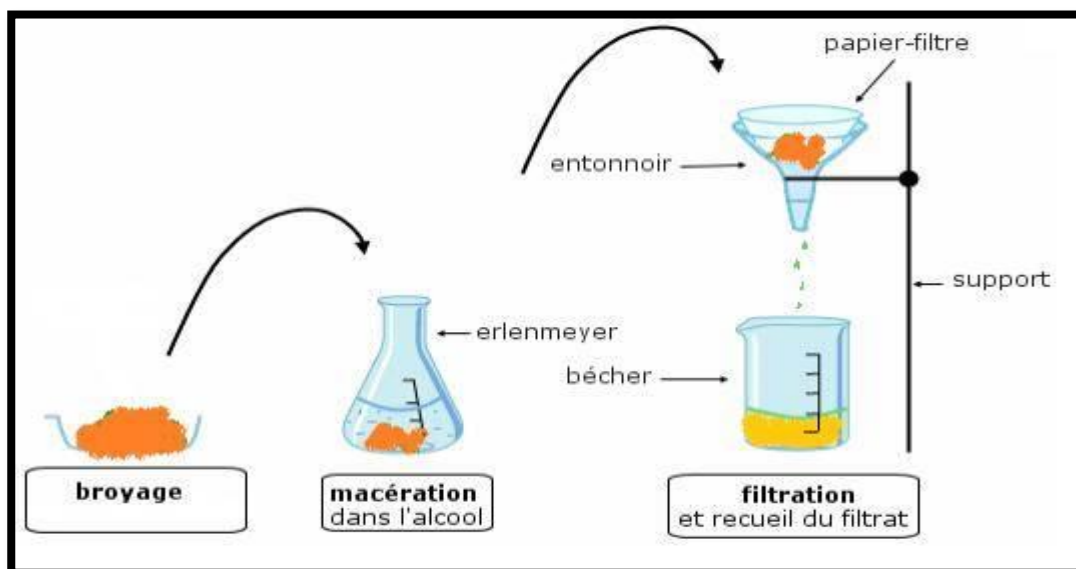


Figure II.4 : Montage de La macération [36].

II.1.1.3. L'Expression à froid

L'expression à froid est une méthode d'extraction des huiles essentielles utilisée principalement pour les agrumes tels que les citrons, les oranges et les mandarines. Contrairement à la distillation qui utilise de la vapeur d'eau, l'expression à froid implique le pressage mécanique des écorces des fruits pour libérer les huiles essentielles. Ce processus se fait sans chauffer les écorces, préservant ainsi la fraîcheur, l'arôme et la qualité des huiles essentielles extraites. L'expression à froid est souvent privilégiée pour obtenir des huiles essentielles naturelles et non altérées, idéales pour une utilisation dans divers domaines tels que la parfumerie, la cosmétique et l'aromathérapie [37].

II.1.1.4. L'Extraction par solvants volatils

L'extraction par solvants volatils est une méthode utilisée pour extraire les huiles essentielles des plantes. Dans ce processus, des solvants liquides comme l'hexane ou l'éther sont utilisés pour dissoudre les composés aromatiques des plantes. Une fois que les composés volatils sont dissous dans le solvant, celui-ci est généralement évaporé pour laisser derrière lui les huiles essentielles. Bien que cette méthode puisse être efficace, elle présente des préoccupations en termes de sécurité et de pureté, car certains solvants peuvent être toxiques et peuvent laisser des résidus dans les huiles essentielles. En raison de ces risques, l'extraction par solvants volatils est souvent utilisée avec prudence et d'autres méthodes d'extraction plus sûres peuvent être privilégiées lorsque cela est possible [38].

II.1.2. Les procédés d'extraction innovants

Les procédés d'extraction innovants visent à améliorer l'efficacité, la qualité, et la durabilité de la production des huiles essentielles. Ces méthodes, souvent plus sophistiquées, permettent de préserver les composés sensibles et de réduire l'impact environnemental [39].

Voici quelques-unes des techniques d'extraction innovantes :

II.1.2.1. Extraction assisté par micro-ondes

C'est une technique novatrice pour extraire les huiles essentielles provenant des végétaux. Au cours de cette procédure, les micro-ondes sont employées afin de chauffer rapidement et de manière homogène la matière végétale, ce qui permet de libérer les composés volatils, y compris les huiles essentielles, de manière plus performante que les techniques de chauffage traditionnelles. La matière végétale est attaquée par les micro-ondes qui agitent les molécules, ce qui permet l'extraction des composés aromatiques [39].

Cette méthode peut réduire considérablement le temps d'extraction par rapport aux méthodes traditionnelles, tout en préservant la qualité des huiles essentielles extraites. Cependant, il est important de contrôler soigneusement les paramètres de température et de durée pour éviter toute dégradation des composés sensibles à la chaleur et garantir la sécurité et la qualité des produits finaux. L'extraction assistée par micro-ondes présente un potentiel significatif pour améliorer l'efficacité et la durabilité des processus d'extraction des huiles essentielles [40].

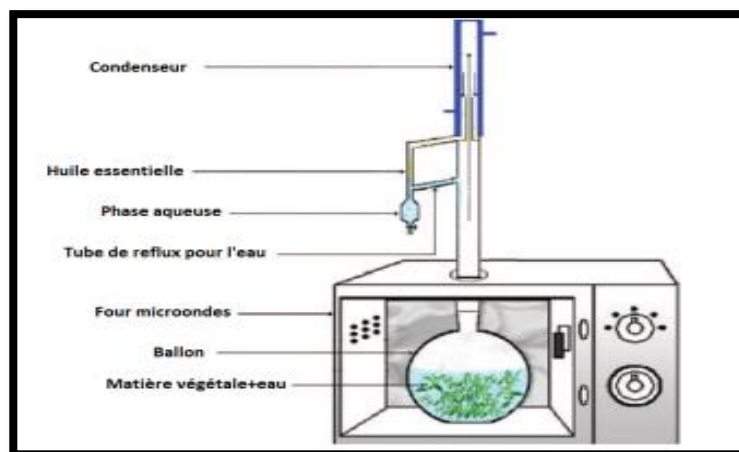


Figure II.5 : Montage de l'Extraction assisté par micro-ondes[39].

II.1.2.1.1. Principe de l'extraction assistée par micro-ondes (EAM)



- **Absorption sélective des micro-ondes** : Les micro-ondes sont absorbées sélectivement par les molécules polaires présentes dans l'échantillon, telles que l'eau ou les solvants organiques. Cette absorption sélective entraîne un chauffage rapide et uniforme de l'échantillon [41].

- **Chauffage rapide et uniforme de l'échantillon** : Le chauffage rapide et uniforme induit par les micro-ondes permet d'accélérer le processus d'extraction des composés d'intérêt, améliorant ainsi l'efficacité et la vitesse de l'extraction par rapport aux méthodes conventionnelles [41].

II.1.2.2. L'Extraction par le dioxyde de carbone liquide ou supercritique.

Est une méthode avancée et innovante pour extraire les huiles essentielles des plantes. En utilisant du dioxyde de carbone à des températures et des pressions spécifiques, on obtient un fluide supercritique qui agit comme un solvant efficace pour extraire les composés aromatiques. Ce fluide pénètre la matière végétale, dissout les huiles essentielles et autres composés désirés, puis est relâché, laissant derrière lui des extraits purs et exempts de résidus de solvant [42].

Cette méthode offre une grande précision de contrôle sur le processus d'extraction, permettant ainsi d'obtenir des produits finaux de haute qualité, tout en préservant les propriétés naturelles des plantes [43].

II.1.2.3. Extraction assistée par ultrasons

C'est une approche inédite pour extraire les huiles essentielles provenant des plantes. Dans cette méthode, les ondes ultrasonores sont utilisées pour faire bouger la matière végétale immergée dans un liquide. Les ultrasons provoquent la formation de bulles de cavitation qui engendrent des turbulences, ce qui contribue à la rupture des cellules végétales et à la libération des huiles essentielles naturelles. Cette technique permet une extraction plus rapide et performante que les techniques classiques, ce qui implique souvent une utilisation réduite de solvants chimiques. De plus en plus couramment employée dans l'industrie des huiles essentielles, l'extraction assistée par ultrasons est de plus en plus répandue afin de générer des extraits de qualité supérieure tout en préservant les propriétés naturelles des plantes [44].

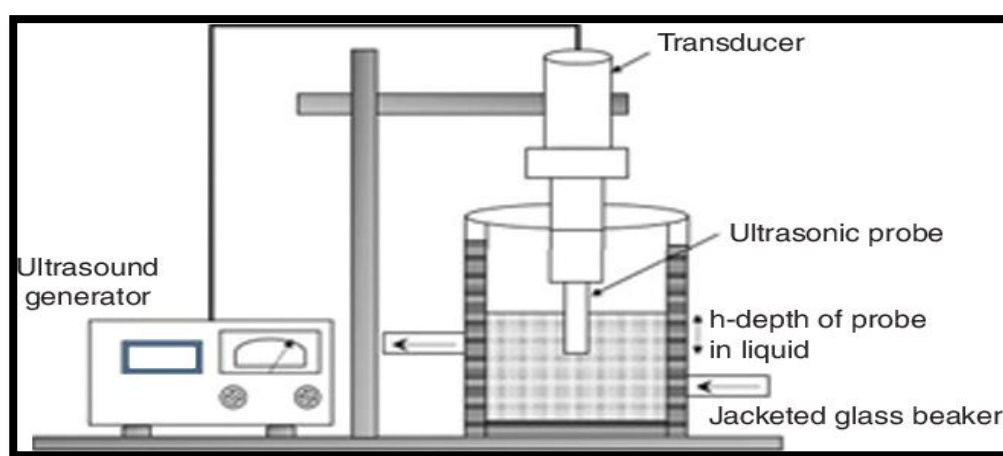


Figure II.6 : Schema de l'Extraction assistée par ultrasons [45].

Principe :

Génération d'ultrasons

- Les ultrasons sont des ondes sonores à haute fréquence, généralement entre 20 kHz et 100 kHz.
- Un transducteur piézoélectrique convertit l'énergie électrique en vibrations mécaniques d'ultrasons [46].

Cavitation acoustique

- Les vibrations ultrasonores créent des cycles de compression et de décompression dans le solvant, formant des bulles de cavitation.
- Lors de la phase de compression, les bulles croissent en taille, et pendant la phase de décompression, elles implosent violemment. [46].

Effets mécaniques

- L'implosion des bulles de cavitation génère des microjets et des ondes de choc qui brisent les parois cellulaires.
- Cela améliore la pénétration du solvant dans la matrice solide et libère les composés intracellulaires. [47].

II.2. Avantages et inconvénients des procédés d'extraction

Tableau II.1 : Avantages et inconvénients des procédés d'extraction [48].

Procédés d'extraction	Avantages	inconvénients
Hydrodistillation	<ul style="list-style-type: none"> -Extraction des composés volatils. - Extraction à basse température. - Faible coût 	<ul style="list-style-type: none"> -Perte de certains composés volatils -Faible efficacité d'extraction - Temps de traitement plus long
Entraînement à la vapeur d'eau	<ul style="list-style-type: none"> -Extraction sélective des composés volatils - Conservation de la qualité des composés 	<ul style="list-style-type: none"> - Perte de certains composés. - Dépendance à la qualité de la vapeur. - Coûts énergétiques
La macération	<ul style="list-style-type: none"> - Utilise des équipements et des matériaux peu coûteux - Applicable à une large gamme de matériaux végétaux. - Préservation de la qualité des composés sensibles à la chaleur 	<ul style="list-style-type: none"> -Nécessite des périodes de trempage prolongées pour une extraction complète. - Risque de perte de qualité des extraits en raison de la dégradation.
L'Expression à froid	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode simple et rapide ne nécessitant pas de chauffage supplémentaire. - Minimise la dégradation des composés volatils et thermosensibles. 	<ul style="list-style-type: none"> - Limité aux agrumes. - certaines méthodes d'expression à froid peuvent nécessiter des temps de traitement prolongés pour une extraction complète.
Extraction assisté par micro-ondes	<ul style="list-style-type: none"> - Processus d'extraction considérablement plus rapide par rapport aux méthodes conventionnelles. - Extraction plus complète des composés cibles, conduisant à des rendements d'extraction plus élevés. - Réduction de la consommation d'énergie grâce à des temps d'extraction plus courts. 	<ul style="list-style-type: none"> - Un chauffage excessif ou non contrôlé peut entraîner une dégradation des composés thermosensibles. - Le coût des équipements spécialisés peut être prohibitif pour certaines entreprises ou laboratoires

Extraction assistée par ultrasons	<ul style="list-style-type: none"> - Permet une extraction rapide des composés cibles grâce à l'action des ultrasons. - Réduit le risque de composés non extraits ou mal extraits. - Compatible avec tous les solvants 	<ul style="list-style-type: none"> - Les ultrasons peuvent potentiellement provoquer la dégradation des composés sensibles à la chaleur ou à la cavitation. - La maintenance et le calibrage réguliers des équipements sont nécessaires pour assurer leur bon fonctionnement.
-----------------------------------	---	---

II.3. intérêt de l'extraction

Tableau II.2 : Intérêt de l'extraction [49].

intérêts de l'extraction	objectif	avantages
Isolation de Composés Actifs	Séparer et concentrer les composés bioactifs pour une utilisation spécifique.	Obtention de substances pures nécessaires à la formulation de produits alimentaires, cosmétiques, pharmaceutiques, et aromatiques
Amélioration de la Qualité des Produits	Obtenir des extraits de haute qualité, exempts de contaminants indésirables.	Amélioration des propriétés organoleptiques (goût, odeur) et des bénéfices thérapeutiques des produits finis.
Valorisation des Matières Premières Naturelles	Utiliser efficacement les ressources naturelles en extrayant des composés de haute valeur.	Maximisation de la rentabilité des cultures et des plantes, notamment dans les industries agroalimentaires et cosmétiques.
Production de Substances pour la Recherche	Fournir des extraits standardisés pour des études scientifiques	Facilitation de la recherche sur les propriétés biologiques, pharmacologiques et toxicologiques des composés.
Développement de Nouveaux Produits	Créer des produits innovants avec des propriétés fonctionnelles améliorées	Introduction de nouveaux ingrédients actifs dans les marchés des compléments alimentaires, des médicaments, et des cosmétiques.

Optimisation des Procédés Industriels	Développer des méthodes d'extraction plus efficaces et durables.	Réduction des coûts de production, diminution de l'empreinte environnementale, et amélioration de la sécurité des procédés.
Préservation des Propriétés Bioactives	Extraire les composés sans altérer leurs propriétés biologiques et thérapeutiques.	Maintien de l'efficacité des composés actifs pour une utilisation optimale dans les applications thérapeutiques et nutraceutiques.
Extraction Sélective	Cibler des composés spécifiques tout en éliminant les substances indésirables.	Production d'extraits enrichis en composés d'intérêt avec une pureté élevée, augmentant ainsi leur efficacité et leur sécurité.
Réduction des déchets	Utiliser les résidus végétaux et autres sous-produits pour l'extraction de composés bioactifs.	Diminution des déchets industriels et valorisation des sous-produits, contribuant à une économie circulaire.

II.4. Les méthodes d'analyses des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatils qui nécessitent des techniques d'analyse précises pour identifier et quantifier leurs constituants. [50].

Voici les principales méthodes d'analyse utilisées pour évaluer la composition chimique et la qualité des huiles essentielles :

II.4.1. Chromatographie en Phase Gazeuse (GC)

La chromatographie en phase gazeuse (GC) est une technique analytique largement utilisée pour séparer et analyser les composés volatils présents dans un échantillon. Son principe repose sur la distribution différentielle des composés entre une phase mobile gazeuse et une phase stationnaire fixée à l'intérieur d'une colonne chromatographique. L'échantillon est introduit dans l'injecteur de la GC où il est vaporisé, puis transporté par un gaz porteur à travers la colonne chromatographique. Les composés se séparent en fonction de leurs interactions avec la phase stationnaire et leur volatilité. À la sortie de la colonne, les composés sont détectés par un détecteur, générant ainsi un chromatogramme. La GC est largement utilisée dans divers domaines, tels que l'analyse des huiles essentielles, l'industrie alimentaire et pharmaceutique, ainsi que dans la surveillance environnementale, en raison de sa haute résolution, de sa sensibilité et de sa rapidité [50].

II.4.2.Chromatographie en Phase Liquide (HPLC)

La chromatographie en phase liquide (HPLC) est une méthode analytique de pointe utilisée pour séparer, identifier et quantifier les composés présents dans les huiles essentielles. Dans cette technique, l'échantillon est injecté dans un flux continu de phase mobile liquide, qui traverse une colonne stationnaire remplie de particules fines. Les composés de l'échantillon se séparent en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile, permettant ainsi leur isolation et leur détection. Les détecteurs couramment utilisés en HPLC comprennent les détecteurs UV-Vis, les détecteurs de fluorescence et les détecteurs de masse (MS). La chromatographie en phase liquide offre une sensibilité élevée, une résolution fine et une grande précision dans la quantification des composés, ce qui en fait une méthode essentielle pour l'analyse des huiles essentielles dans divers domaines, tels que l'industrie pharmaceutique, alimentaire et cosmétique [51].

II.4.3.Spectrométrie de masse (SM)

La spectrométrie de masse (SM) est une technique analytique puissante utilisée pour identifier et caractériser les composés présents dans un échantillon. Dans cette méthode, les molécules sont ionisées pour former des ions, qui sont ensuite séparés en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z) et détectés. Cette technique permet de déterminer la masse moléculaire des composés, d'identifier leur structure et de quantifier leur présence dans l'échantillon. La spectrométrie de masse est largement utilisée dans de nombreux domaines, notamment la chimie, la biologie, la pharmacologie et la médecine, pour des applications telles que l'analyse des huiles essentielles, la découverte de médicaments et la recherche en protéomique [52].

II.4.4.Spectroscopie infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique d'analyse qui permet d'étudier les liaisons chimiques dans les molécules. Elle repose sur l'absorption de rayonnement infrarouge par les liaisons moléculaires vibrantes, ce qui permet d'identifier les groupes fonctionnels présents dans les échantillons. Utilisée dans divers domaines, de la chimie à la biologie, elle est couramment employée pour l'identification des composés organiques et la caractérisation des polymères [52].

II.4.5.Résonance magnétique nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique d'analyse puissante utilisée en chimie et en biologie pour étudier la structure moléculaire des composés. Fondée sur le comportement des noyaux atomiques dans un champ magnétique, la RMN permet de déterminer la distribution des atomes et de leurs environnements chimiques dans une molécule. Lorsque les noyaux atomiques sont placés dans un champ magnétique, ils absorbent et émettent de l'énergie à des fréquences spécifiques, ce qui donne des informations sur leur structure et leur connectivité atomique. La RMN est largement utilisée pour caractériser les composés organiques et inorganiques, ainsi que pour étudier les interactions moléculaires, la cinétique chimique et les processus biologiques [53].

II.5. Défis et Perspectives Futures

Les huiles essentielles sont des composés aromatiques extraits de plantes [54], largement utilisés en aromathérapie, cosmétique, et dans l'industrie alimentaire. L'extraction de ces huiles présente plusieurs défis et offre diverses perspectives d'innovation :

II.5.1. Amélioration des techniques d'extraction

L'amélioration des techniques d'extraction des huiles essentielles vise à optimiser les processus pour augmenter l'efficacité, la qualité et la durabilité. Cela inclut l'ajustement des conditions de processus comme la température et la pression, l'utilisation de prétraitements tels que la macération et les enzymes, et l'adoption de nouvelles méthodes d'extraction comme l'extraction assistée par micro-ondes et par CO₂ supercritique [55]. L'usage de solvants écologiques réduit l'impact environnemental, tandis que l'intégration de technologies combinées et l'automatisation permettent un contrôle précis et une optimisation en temps réel des paramètres.

Enfin, des initiatives comme le recyclage des solvants et l'amélioration de l'efficacité énergétique des équipements contribuent à réduire l'empreinte écologique des procédés d'extraction [55].

II.5.2. Innovations technologiques à venir

Les avancées technologiques à venir dans l'extraction des huiles essentielles promettent d'améliorer l'efficacité et la durabilité des procédés. De nouvelles techniques, telles que l'utilisation de champs électriques pulsés et l'extraction assistée par laser, ainsi que l'amélioration des équipements grâce à des capteurs intelligents et à l'intelligence artificielle, sont envisagées. L'introduction de solvants verts, comme les liquides ioniques et les solvants biosourcés, aidera à réduire l'impact environnemental [56].

Enfin, des systèmes d'extraction modulaires et portables favoriseront la production locale, réduisant les coûts de transport et l'empreinte carbone. Ces progrès visent à renforcer la qualité et la durabilité des huiles essentielles [56].

II.6. Considérations économiques et environnementales

Les considérations économiques et environnementales sont des facteurs essentiels dans le développement des techniques d'extraction des huiles essentielles. Les coûts de production, incluant l'équipement et la main-d'œuvre, ainsi que les prix du marché, influent sur les choix des méthodes d'extraction [57]. Parallèlement, la durabilité environnementale est devenue une préoccupation majeure, favorisant l'adoption de pratiques respectueuses de l'environnement comme l'utilisation de solvants verts et le recyclage des solvants. L'équilibre entre rentabilité économique et responsabilité environnementale est recherché pour assurer la durabilité à long terme de l'industrie des huiles essentielles [58].

II.7. Conclusion

Les méthodes d'extraction des huiles essentielles ont évolué des techniques conventionnelles, telles que la distillation à la vapeur et l'extraction par solvants, vers des méthodes innovantes comme l'extraction par CO₂ supercritique et l'extraction par micro-ondes. Les techniques traditionnelles, bien que répandues, sont énergivores et peuvent avoir un impact environnemental négatif. En revanche, les méthodes modernes offrent des avantages en termes de rendement, de pureté et de conservation des composés bioactifs, tout en étant plus écologiques.

Une fois les huiles essentielles extraites, leur analyse est cruciale pour garantir leur qualité, leur authenticité et leur conformité aux normes réglementaires. Les méthodes d'analyse, telles que la chromatographie en phase gazeuse (CPG), la chromatographie en phase liquide (CPL), la spectrométrie de masse (SM) et la spectroscopie infrarouge (IR), fournissent des informations détaillées sur la composition chimique des huiles essentielles. Ces techniques permettent d'identifier et de quantifier les composés présents, d'évaluer leur pureté et de déterminer leurs propriétés sensorielles.

Cependant, ces nouvelles technologies nécessitent des investissements importants et des adaptations des infrastructures existantes. Pour garantir la durabilité, il est crucial de continuer à évaluer leur impact environnemental et économique à long terme. En définitive, l'avenir des huiles essentielles dépendra d'un équilibre entre innovation, durabilité et qualité, permettant des pratiques d'extraction plus responsables et efficaces.

Chapitre 999 :
Etude botanique de
L' Atriplex coriacea

III. Introduction

L'Atriplex coriacea, communément connue sous le nom d'armoise coriace, est une plante fascinante appartenant à la famille des Amarantacées. Cette espèce vivace se distingue par ses adaptations exceptionnelles aux environnements arides et salins, ce qui en fait un sujet d'étude intéressant pour les botanistes et les écologistes. Morphologiquement, l'Atriplex est un sous-arbrisseau qui peut atteindre une hauteur de 30 à 100 cm. Ses feuilles sont épaisses, charnues et souvent couvertes d'une fine couche de poils microscopiques. Ces poils donnent aux feuilles une apparence grisâtre ou argentée, une adaptation qui réduit la perte d'eau par transpiration et réfléchit la lumière solaire intense, protégeant ainsi la plante des températures extrêmes [59].

L'habitat naturel de l'Atriplex se situe principalement dans les régions semi-arides à arides, où les sols sont souvent salins ou alcalins. Ces conditions hostiles sont généralement inhospitalières pour la plupart des plantes, mais l'Atriplex prospère grâce à ses mécanismes physiologiques spécialisés. Par exemple, cette plante possède une grande tolérance à la salinité, lui permettant d'absorber et de séquestrer les ions de sel dans ses tissus sans subir de dommages. Cela lui donne un avantage concurrentiel dans des habitats où l'accumulation de sel dans le sol limite la croissance d'autres espèces végétales [59].

Ecologiquement, l'Atriplex joue un rôle crucial dans la stabilisation des sols et la prévention de l'érosion. Ses racines profondes et étendues aident à maintenir la structure du sol, réduisant ainsi les risques d'érosion éolienne et hydrique. En outre, cette plante sert de source de nourriture importante pour la faune locale, notamment pour les herbivores qui se nourrissent de ses feuilles riches en nutriments. L'Atriplex est également utilisé dans des projets de réhabilitation des terres dégradées, en raison de sa résilience et de sa capacité à améliorer la fertilité et la structure du sol [60].

Sur le plan agronomique, l'Atriplex est étudiée pour ses potentialités comme plante fourragère dans les zones arides. Sa capacité à survivre et à produire de la biomasse dans des conditions de stress hydrique et salin en fait une ressource précieuse pour les éleveurs dans les régions où les pâturages traditionnels ne sont pas viables. En plus de ses utilisations pratiques, l'étude de cette plante offre des perspectives intéressantes pour la compréhension des mécanismes de tolérance au stress environnemental chez les plantes [60].

En résumé, l'Atriplex est une plante aux multiples facettes, remarquable par ses adaptations écologiques, son rôle dans la stabilisation des sols, et son potentiel en tant que ressource agricole dans les environnements difficiles. Son étude continue de révéler des aspects fascinants de la résilience végétale et des stratégies de survie dans des conditions extrêmes, contribuant ainsi à des avancées importantes dans les domaines de l'écologie, de l'agronomie et de la conservation. [61].

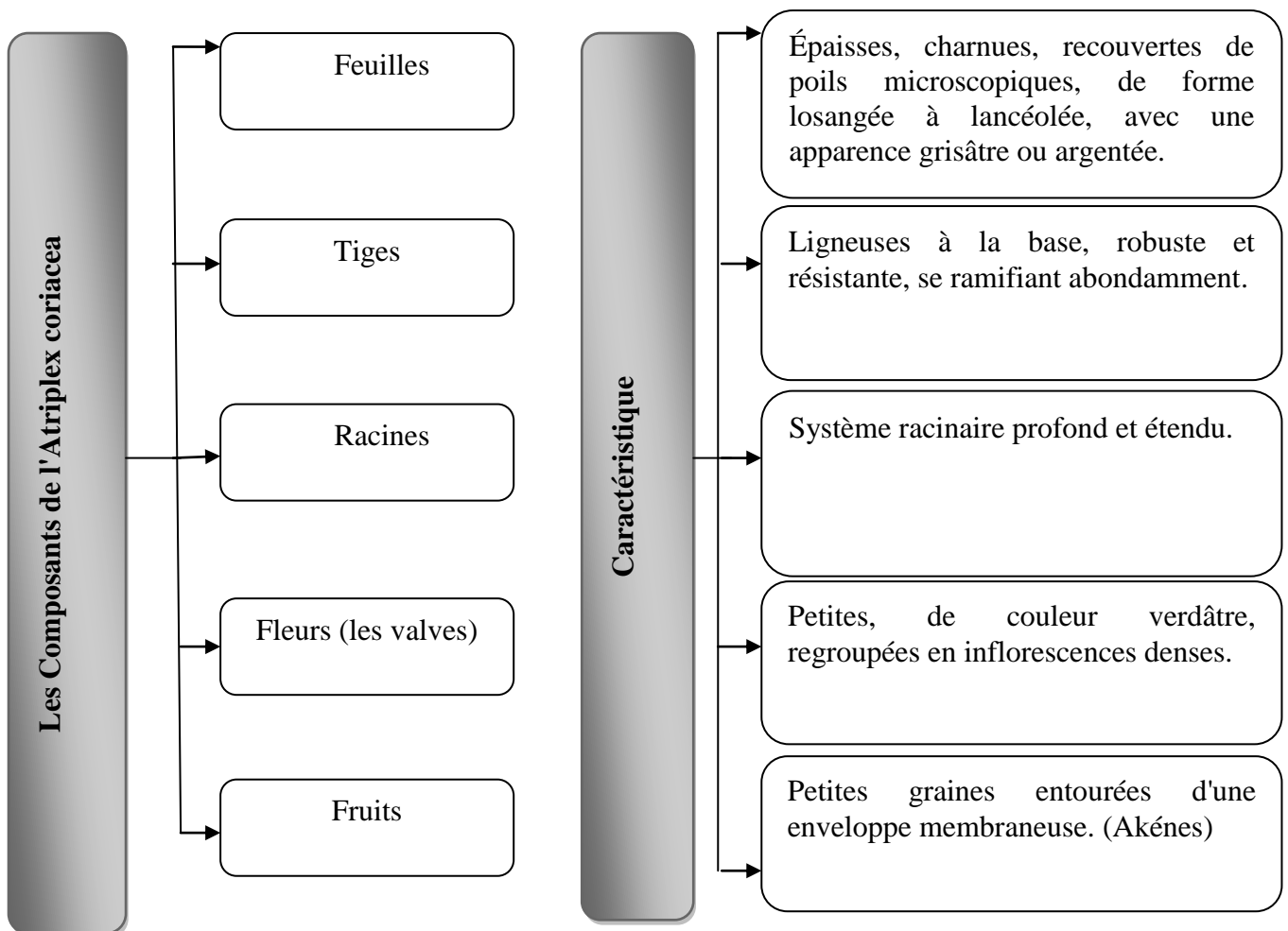
III.1. Caractéristiques Morphologiques

L'Atriplex coriacea, également connue sous le nom de "Saltbush coriacea"[62]. Présente plusieurs caractéristiques morphologiques distinctives qui permettent de l'identifier facilement. Voici une description détaillée de ces caractéristiques :

III.1.1 Description physique de la plante

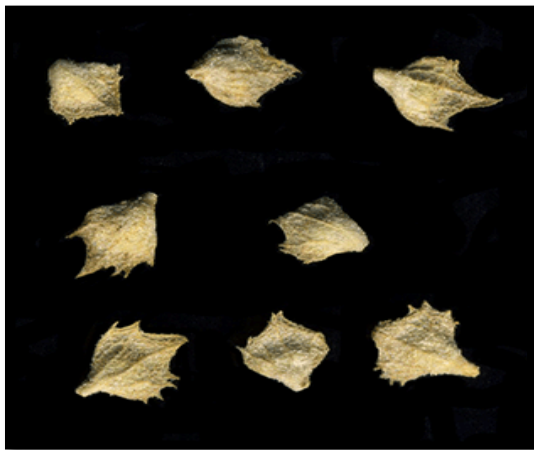
L'Atriplex coriacea est un sous-arbrisseau vivace atteignant 30 à 100 cm de hauteur. Elle a des feuilles épaisses, charnues, et recouvertes de poils microscopiques, leur donnant une apparence grisâtre ou argentée. Ces feuilles, disposées alternativement, sont losangées à lancéolées. Les tiges ligneuses à la base sont résistantes et se ramifient abondamment, formant une structure buissonnante. La plante produit de petites fleurs verdâtres en inflorescences denses, pollinisées par le vent, et ses fruits sont des akènes entourés de bractées persistantes. Ces caractéristiques permettent à l'Atriplex de prospérer dans des environnements arides et salins [63].

Schémas représente les Composants de l'Atriplex coriacea et leur Caractéristique [64].





L'Atriplex coriacea



Les valves fructifères



Branches d'Atriplex



Racines d'Atriplex coriacea



Graines d'Atriplex

Figure III.1: les Composants de l'Atriplex coriacea [65].

III.1.2. Adaptations morphologiques

L'Atriplex forme des touffes compactes (touffes) qui réduisent la transpiration en limitant l'exposition directe au soleil et au vent et créent un microclimat favorable à leur base. Feuilles épaisses et argentées avec un revêtement trichome ou cireux qui minimise la perte d'eau et reflète la lumière du soleil. La plante possède un système racinaire profond qui puise l'eau du sol et accumule le sel dans ses tissus pour survivre dans les sols salins. Les tiges lignifiées offrent une structure solide et les graines protégées peuvent résister à des conditions environnementales difficiles. Ces adaptations maximisent l'efficacité de l'utilisation de l'eau et assurent une protection contre les éléments et les herbivores [66].

III.1.3. Classification Botanique :

L'Atriplex coriacea est une plante remarquable appartenant à la famille des Amaranthaceae, connue pour son adaptation aux environnements arides et salins [67].

Voici la classification botanique détaillée de ce tableau :

Tableau III.1 : Classification Botanique de l'Atriplex coriacea [68].

Règne	Plante
Division	Magnoliophyta (Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Ordre	Caryophyllales
Famille	Amaranthaceae (anciennement Chenopodiaceae)
Genre	Atriplex
Espèce	Atriplex coriacea

III.2. Répartition Géographique et Habitat

L'Atriplex coriacea est une plante remarquable par sa capacité à survivre et à prospérer dans des environnements extrêmement arides et salins. Grâce à ses adaptations morphologiques uniques, cette espèce est largement répartie dans certaines des régions les plus inhospitalières du globe. Voici un aperçu de sa répartition géographique et de ses habitats typiques [69].

III.2.1. Répartition Géographique

L'Atriplex coriacea se trouve dans plusieurs régions d'Afrique, notamment les régions sahariennes et semi-arides d'Algérie, du Maroc et de Tunisie, ainsi que les plaines salines de Somalie et d'Éthiopie. En Afrique australe, on le trouve dans les déserts de Namibie et dans les zones semi-arides d'Afrique du Sud. On le trouve également au large des côtes de la Mauritanie et du Sénégal. Cette plante est adaptée aux sols salés et sableux, prospère dans les milieux arides et contribue à la stabilité des sols et à la restauration écologique [70].

En Algérie, l'Atriplex coriacea se trouve principalement dans les régions suivantes :

- **Régions Sahariennes:** Elle est présente dans les zones désertiques du Sahara algérien, où elle s'adapte aux conditions de sécheresse intense et aux sols sablonneux [71].
- **Régions Semi-Arides:** On la trouve également dans les zones semi-arides du nord du Sahara, où les sols sont souvent pauvres et salins [71].
- **Zones Côtières:** Bien que moins fréquente, elle peut être observée dans certaines régions côtières où les conditions de sol salin sont propices à sa croissance [71].

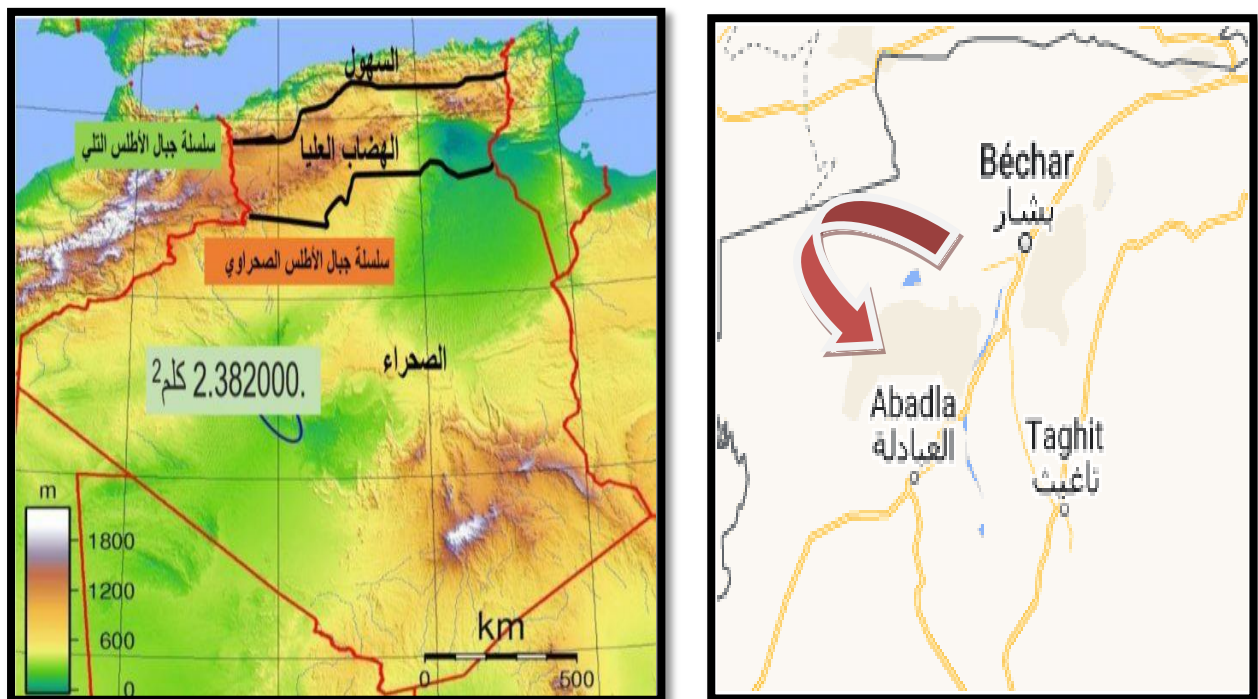
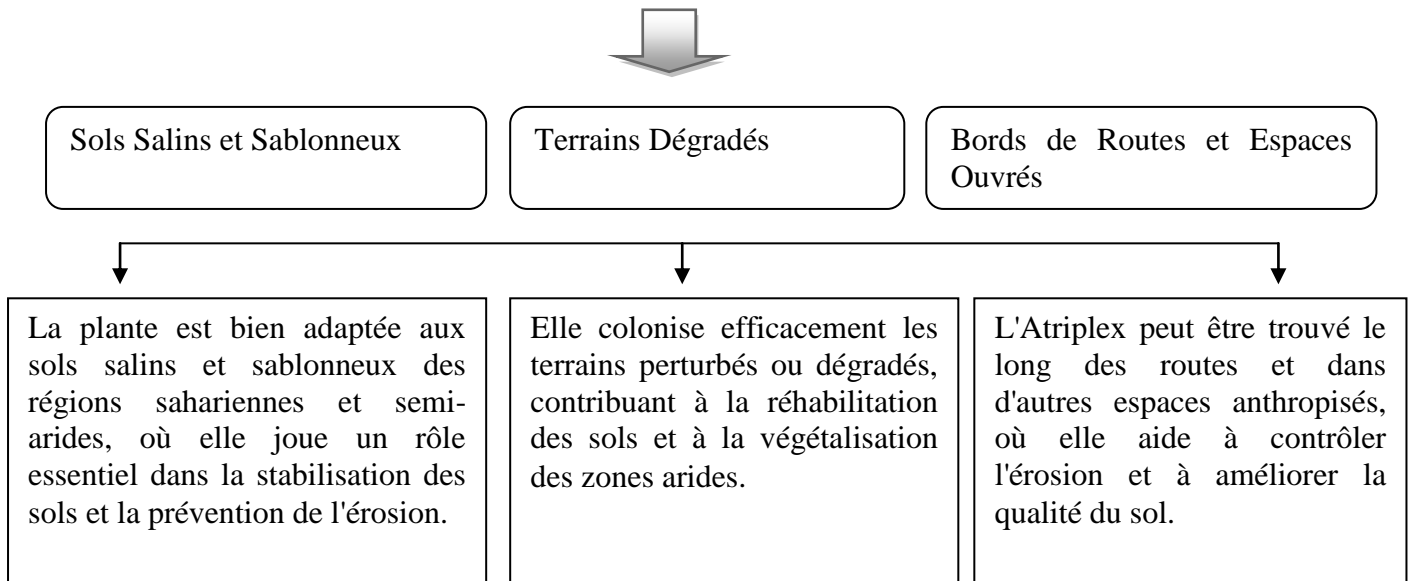


Figure III.2: Distribution de l'Atriplex coriacea dans l'Algérie et la région qui nous intéresse d'Abadla [72] .

III.2.2. Habitat

Les habitats typiques de l'Atriplex a en Algérie incluent : [73].



III.3. Propriétés Médicinales

L'Atriplex, bien que principalement connue pour ses capacités d'adaptation aux environnements arides et salins, possède également des propriétés médicinales qui ont été exploitées dans diverses traditions de médecine traditionnelle [74]. Voici un aperçu des propriétés médicinales de cette plante :

A. Propriétés Antioxydants

Les feuilles de l'Atriplex coriacea contiennent des composés phénoliques et des flavonoïdes, qui sont connus pour leurs propriétés antioxydants. Ces composés aident à neutraliser les radicaux libres dans le corps, réduisant ainsi le stress oxydatif et aidant à prévenir diverses maladies chroniques [75].

B. Propriétés Anti-inflammatoires

Les extraits de l'Atriplex ont démontré des effets anti-inflammatoires, aidant à réduire l'inflammation dans le corps. Cela peut être bénéfique dans le traitement de conditions inflammatoires comme l'arthrite et les maladies auto-immunes [76].

C. Propriétés Antimicrobiennes

Certaines études ont révélé que l'Atriplex possède des propriétés antimicrobiennes, aidant à combattre diverses infections bactériennes et fongiques. Cela en fait un potentiel remède naturel pour les infections cutanées et autres affections microbiennes [77].

D. Propriétés Diurétiques

La plante est également utilisée pour ses propriétés diurétiques, favorisant l'élimination de l'excès de sel et d'eau du corps. Cela peut être utile dans le traitement de l'hypertension et des conditions liées à la rétention d'eau [78].

III.3.1. Usage en Médecine Traditionnelle

Dans la médecine traditionnelle, l'Atriplex coriacea est utilisée pour traiter divers maux, notamment les problèmes digestifs, les affections respiratoires et les troubles de la peau. Les feuilles et les graines sont souvent utilisées sous forme de décoctions ou d'infusions. [79].

III.3.1.1 Principes Actifs et Composés Biochimiques

L'Atriplex coriacea contient une variété de principes actifs et de composés biochimiques qui contribuent à ses propriétés médicinales et à sa capacité à survivre dans des environnements difficiles [79].

Le tableau suivant présente la composition biochimique de l'Atriplex.

Tableau III.2 : Composition biochimique de l'Atriplex coriacea [80].

Composés Phénoliques	Flavonoïdes	Quercétine, kaempférol, et leurs glycosides.
	Acides Phénoliques	Acide caféique, acide chlorogénique
Triterpènes et Stéroïdes	Triterpènes	Acide ursolique, acide oléanolique.
	Stéroïdes	Béta-sitostérol.
Oxalates	Comme beaucoup d'espèces du genre Atriplex, cette plante contient des oxalates. Bien qu'ils puissent avoir des effets bénéfiques à petites doses, ils peuvent être toxiques à des niveaux élevés, particulièrement pour le bétail.	
Minéraux	L'Atriplex est riche en minéraux essentiels, notamment en potassium, magnésium et calcium. Ces minéraux sont importants pour divers processus biologiques et contribuent aux effets diurétiques de la plante.	
Tanins	Les tanins présents dans l'Atriplex ont des propriétés astringentes et antimicrobiennes. Ils peuvent aider à réduire les inflammations et à combattre les infections.	

III.3.2. Utilisations Traditionnelles et Contemporaines

L'Atriplex coriacea, une plante résiliente qui prospère dans les régions arides et semi-arides, a été utilisée pendant des siècles dans les pratiques traditionnelles pour ses nombreux bienfaits. Aujourd'hui, cette plante polyvalente continue d'être une ressource précieuse, tant dans les contextes traditionnels que contemporains [81]. Explorons brièvement comment l'Atriplex est utilisée à la fois dans les pratiques traditionnelles et dans les applications modernes.

III.3.2.1 Utilisations Traditionnelles

L'Atriplex a été largement utilisé dans la médecine traditionnelle, où ses feuilles et tiges étaient transformées en infusions ou décoctions pour traiter divers maux, notamment les troubles digestifs, les inflammations et les infections cutanées. Elle était également appréciée pour ses propriétés diurétiques et son efficacité dans le soulagement des douleurs articulaires. En tant que source de nourriture, ses feuilles étaient consommées comme légumes, particulièrement en période de pénurie alimentaire, après avoir été cuites pour rendre les nutriments plus accessibles [82].

Pour le bétail, l'Atriplex était une source de fourrage précieuse, surtout dans les régions où les autres options étaient limitées. Enfin, elle était utilisée pour stabiliser les sols et lutter contre l'érosion, contribuant ainsi à la réhabilitation des terres dégradées et à la préservation des écosystèmes fragiles [82].

III.3.2.2. Utilisations Contemporaines

L'Atriplex demeure une ressource polyvalente et précieuse, utilisée dans divers domaines aujourd'hui. En réhabilitation écologique, elle stabilise les sols et restaure les écosystèmes dégradés, tandis qu'en phytothérapie, ses composés bioactifs sont exploités pour leurs propriétés médicinales [83].

Cultivée comme fourrage pour le bétail, elle améliore la productivité agricole, et dans la recherche scientifique, elle est étudiée pour ses potentiels bienfaits contre diverses maladies. Intégrée dans des systèmes agro forestiers, elle contribue à enrichir les sols et à promouvoir la biodiversité [83].

III.4. Méthodes de culture et de Récolte

L'Atriplex coriacea, une plante tolérante au froid, pousse dans les zones arides et semi-arides et est reconnue pour sa capacité à stabiliser les sols et restaurer les terres dégradées. La culture et la récolte de cette plante nécessitent une compréhension approfondie des conditions environnementales et des pratiques agricoles adéquates. Cette introduction explore les principes essentiels de la culture et de la récolte de l'Atriplex, en décrivant les étapes clés pour réussir tout en maintenant sa durabilité [84].

III.4.1. Technique de culture

Pour cultiver l'Atriplex coriacea avec succès, voici une technique de culture qui peut être suivie :

Tableau III.3 : Technique de culture [85].

Choix de l'emplacement	Sélectionnez un site ensoleillé avec un sol bien drainé. Assurez-vous que l'emplacement offre une exposition adéquate au soleil, car l'Atriplex prospère dans des conditions ensoleillées.
Préparation du sol	Labourer le sol pour le débarrasser des mauvaises herbes et des débris végétaux. Assurez-vous que le sol est meuble et aéré pour permettre une bonne croissance des racines. Si nécessaire, ajoutez du compost ou du fumier bien décomposé pour améliorer la fertilité du sol.
Plantation des graines	Les graines d'Atriplex peuvent être semées directement dans le sol ou démarrées en pépinière, selon les préférences. Semez les graines à la profondeur recommandée, généralement de 1 à 2 centimètres, et espacez-les selon les instructions spécifiques de la plante.
Arrosage	Pendant les premières semaines après la plantation, assurez-vous de maintenir le sol humide pour favoriser la germination des graines et l'établissement des plantules. Une fois que les plantes sont établies, elles sont plus résistantes à la sécheresse, mais un arrosage régulier peut être nécessaire par temps très sec.
Récolte	La récolte de l'Atriplex peut être effectuée lorsque les plantes ont atteint une taille suffisante, généralement après 6 à 12 mois de croissance, selon les conditions locales. Coupez les parties supérieures des plantes avec des ciseaux de jardinage ou une cisaille, en veillant à laisser une certaine hauteur pour permettre une repousse.

III.4.2. Conditions optimales pour la croissance

Pour assurer une croissance optimale d'Atriplex, certaines conditions doivent être remplies. Cette plante prospère dans les climats arides et semi-arides, tolère bien les températures élevées et nécessite très peu d'eau une fois établie, même si un arrosage régulier est crucial au début. Il préfère les sols sableux aux sols limoneux et bien drainés avec un pH de 6,5 à 8,5 et peut tolérer les sols salins et pauvres en nutriments [86].

Il a besoin d'une exposition adéquate au soleil, au moins 6 à 8 heures de lumière directe par jour. Si nécessaire, le sol doit être labouré et ajouté du compost.

Les graines doivent être semées à une profondeur de 1 à 2 cm avec un espacement correct. Un désherbage régulier et une fertilisation légère favorisent une croissance vigoureuse des plantes, et la surveillance des ravageurs et des maladies est importante pour garder les plantes en bonne santé. [87].

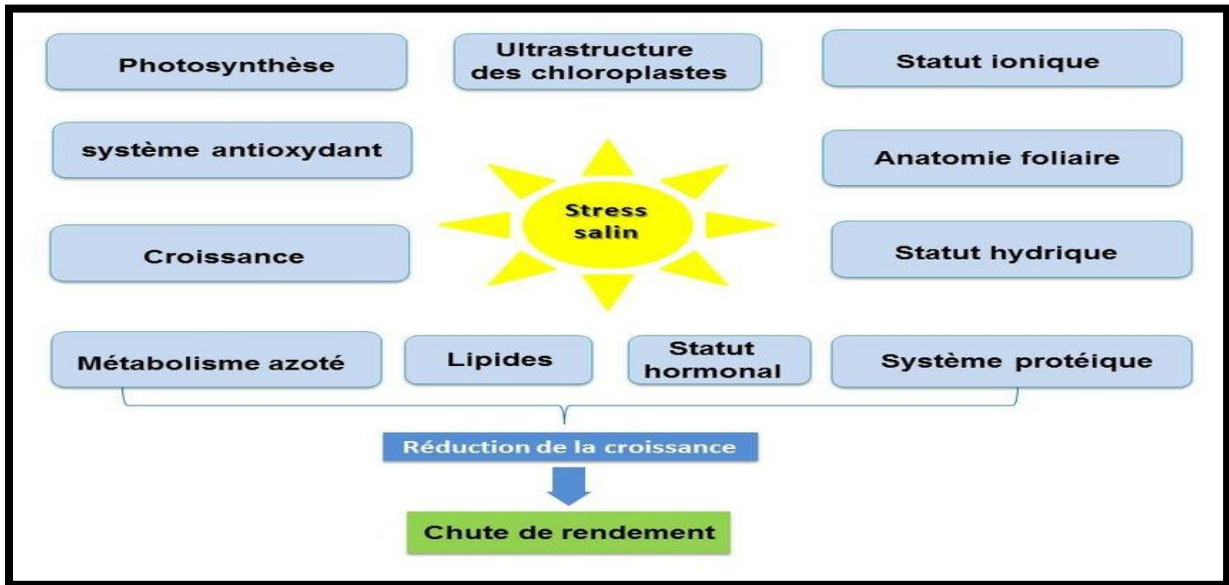
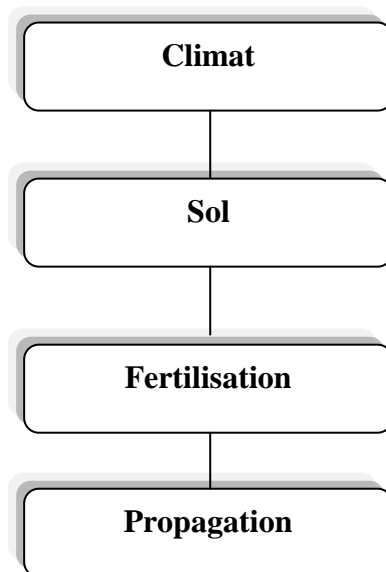


Figure III.3 : Principaux effets d'une forte salinité sur les plantes [87].

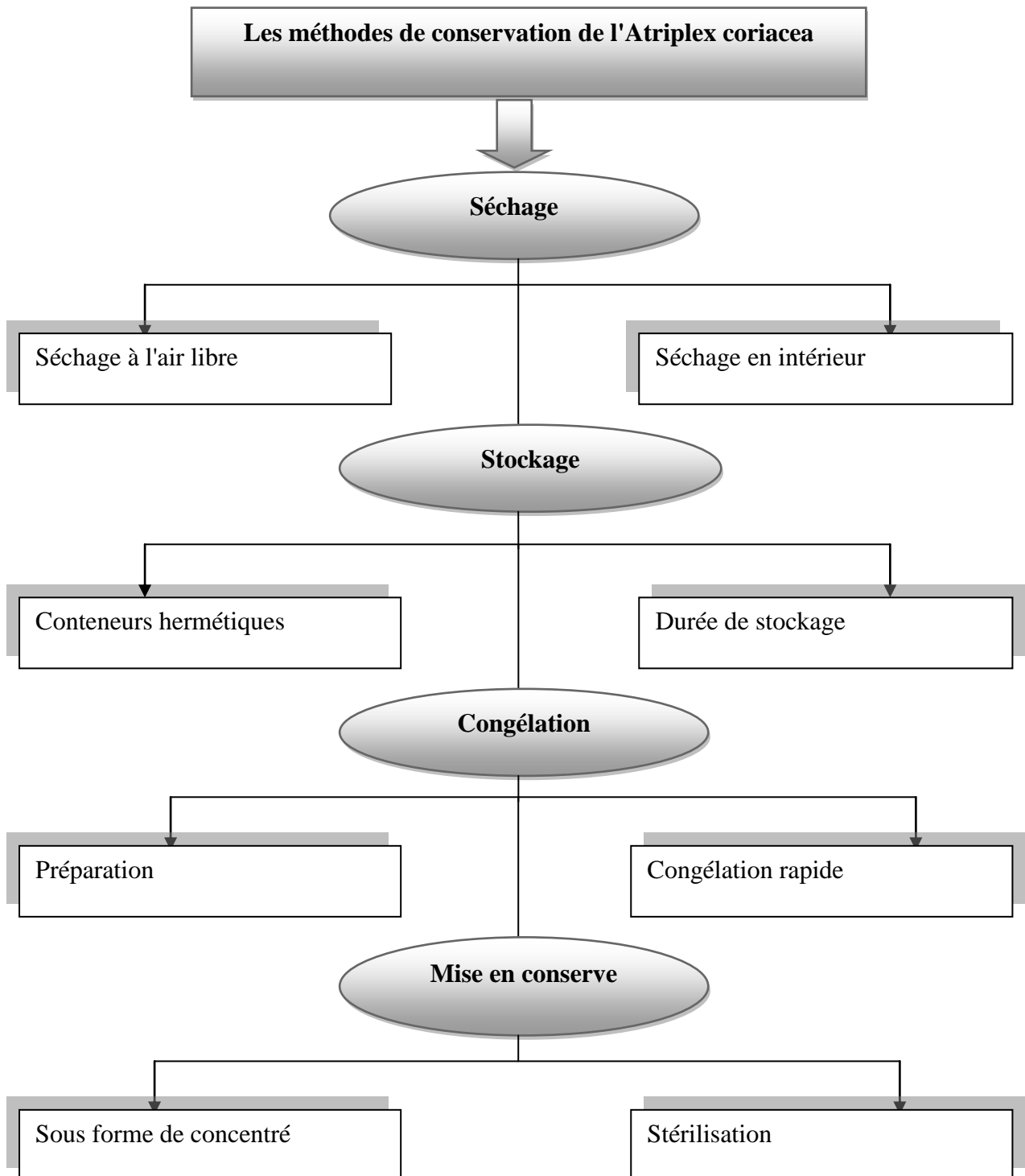
L'Atriplex est une plante robuste, bien adaptée aux environnements arides et salins. Pour maximiser sa croissance, plusieurs conditions optimales doivent être respectées [88].

Ce schéma illustre les conditions optimales à respecter pour maximiser la croissance de l'Atriplex coriacea : [88].



III.4.3. Méthodes de conservation

Les méthodes de conservation de l'Atriplex coriacea, comme pour de nombreuses autres plantes, sont essentielles pour maintenir sa qualité et ses propriétés après la récolte. Voici quelques techniques courantes à intégrer dans un schéma : [89].



III.5. Etudes de cas et Recherche actuelle

L'Atriplex coriacea suscite un intérêt croissant dans le monde scientifique en raison de ses nombreuses propriétés bénéfiques et de sa résilience environnementale. Les études de cas et les recherches actuelles se concentrent sur ses applications potentielles dans divers domaines, notamment l'agriculture, la médecine et la réhabilitation écologique. Cette section explore les travaux récents et les découvertes qui mettent en lumière l'importance de cette plante dans la recherche moderne [90].

III.5.1. Recherche récents sur les propriétés médicinales

Au cours des dernières années, les recherches sur les propriétés médicinales de l'Atriplex coriacea ont suscité un intérêt croissant dans le domaine de la phytothérapie et de la médecine alternative. Cette plante, également connue sous le nom de "salsepareille de mer", est une espèce végétale résiliente, trouvant son habitat dans les environnements arides et salins à travers le monde. Ses feuilles épaisses et charnues, ainsi que ses racines profondes, ont été traditionnellement utilisées par diverses cultures pour leurs vertus thérapeutiques [91].

Les recherches récentes se sont concentrées sur l'identification des composés bioactifs présents dans l'Atriplex et sur leur potentiel pour traiter un large éventail de conditions médicales, allant de l'inflammation et du stress oxydatif aux troubles métaboliques tels que le diabète. Cette introduction vise à explorer les avancées les plus récentes dans ce domaine passionnant, offrant ainsi un aperçu des possibilités thérapeutiques prometteuses offertes par cette plante fascinante [91].

III.5.2. Etudes de cas sur l'utilisation thérapeutique

Ces études de cas mettent en évidence le potentiel thérapeutique diversifié de l'Atriplex coriacea, allant du traitement des affections cutanées et du diabète à la lutte contre les infections bactériennes résistantes. Ces résultats prometteurs encouragent des recherches plus approfondies et des essais cliniques pour valider et optimiser l'utilisation de cette plante dans la médecine moderne [92].

Tableau III.3 : Etudes de cas sur l'utilisation thérapeutique [93].

Étude de Cas	Traitement des Affections Cutanées	Gestion du Diabète de Type 2	Propriétés Antimicrobiennes
Contexte	Dans une région aride d'Australie, les habitants locaux souffrent souvent de diverses affections cutanées, telles que l'eczéma et le psoriasis, exacerbées par des conditions climatiques sévères et un manque d'accès à des traitements médicaux modernes.	Dans une communauté rurale au Maroc, où le diabète de type 2 est répandu, les traitements pharmaceutiques modernes sont souvent inaccessibles ou coûteux.	Dans un hôpital en Inde, les infections nosocomiales résistantes aux antibiotiques sont une préoccupation majeure.
Objectif	Évaluer l'efficacité des extraits d'Atriplex coriacea dans le traitement des affections cutanées.	Investiguer l'effet des extraits d'Atriplex sur la régulation de la glycémie chez les patients diabétiques.	Tester l'efficacité des extraits d'Atriplex contre des souches bactériennes résistantes aux antibiotiques
Méthodologie	Des crèmes topiques à base d'extraits de feuilles et de tiges d'Atriplex ont été préparées. Les volontaires souffrant d'eczéma et de psoriasis ont appliqué ces crèmes deux fois par jour pendant 8 semaines. Les améliorations ont été mesurées en utilisant des échelles standard d'évaluation des affections cutanées.	Un groupe de 50 patients diabétiques a été divisé en deux groupes : l'un recevant un extrait aqueux d'Atriplex et l'autre un placebo, pendant une période de 12 semaines. Les niveaux de glucose sanguin à jeun et postprandial ont été mesurés régulièrement, ainsi que les niveaux d'HbA1c.	Des extraits de feuilles d'Atriplex ont été préparés et testés in vitro contre des bactéries couramment responsables d'infections nosocomiales, y compris Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM) et Pseudomonas aeruginosa. Des tests de diffusion sur disque et de dilution en milieu liquide ont été utilisés pour évaluer l'activité antimicrobienne.
Résultats	Les volontaires ont signalé une réduction significative des symptômes, y compris une diminution de l'irritation, des démangeaisons et de l'inflammation. Les analyses ont montré une amélioration de l'hydratation de la peau et une réduction des marqueurs inflammatoires, confirmant l'efficacité des extraits d'Atriplex.	Le groupe recevant l'extrait a montré une réduction significative des niveaux de glucose sanguin et d'HbA1c par rapport au groupe placebo. Les patients ont également signalé une amélioration de leur bien-être général et une réduction des symptômes associés au diabète.	Les extraits ont montré une activité inhibitrice significative contre les souches bactériennes testées, y compris celles résistantes aux antibiotiques courants. Ces résultats suggèrent que les extraits d'Atriplex coriacea pourraient être développés en agents antimicrobiens alternatifs pour traiter les infections résistantes.

III.6. Conclusion

L'Atriplex coriacea occupe une place importante dans la médecine traditionnelle et contemporaine grâce à ses nombreuses propriétés bénéfiques. Historiquement, cette plante a été utilisée pour traiter divers maux tels que les troubles digestifs, les inflammations et les infections cutanées, témoignant de sa valeur dans les pratiques de guérison ancestrales. Aujourd'hui, les recherches modernes confirment et élargissent ces usages en identifiant des composés bioactifs aux propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Ces découvertes ouvrent de nouvelles perspectives pour l'utilisation de l'Atriplex dans la phytothérapie et le développement de produits médicinaux naturels. Ainsi, l'intégration de cette plante dans la médecine contemporaine non seulement honore les savoirs traditionnels, mais contribue également à l'innovation thérapeutique et à la promotion de la santé globale.

En somme, l'Atriplex est une plante versatile et précieuse, dont la culture et l'utilisation peuvent contribuer significativement au développement durable et à la résilience des écosystèmes.

Partie
Expérimentale

CHAPITRE IV :
Matériels et Méthodes

IV.1. Cadre d'étude

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de chimie, département de génie des procédés, au niveau de la faculté de technologie de l'Université Hassiba Ben Bouali chlef. Dont on s'intéresse à l'extraction et à la caractérisation des huiles essentielles, ou notre étude est divisée en deux parties de mode d'extraction :

- L'hydro-distillation ;
- L'extraction par solvant assisté par micro-ondes.

Ce travail repose sur le protocole expérimental suivant :

- Analyses physico-chimiques d'espèce végétale étudiée ;
- L'extraction de l'huile essentielle d'Atriplex Coriacea ;
- Analyses physico-chimiques effectuées sur l'extrait ;
- Evaluation des activités biologiques de l'huile essentielle.

IV.2. Préparation de la charge

Le matériel végétal utilisé dans notre étude consiste en des valves fructifères de la plante Atriplex Coriacea, provenant de la région d'Abadella dans la wilaya de Bechar, située au sud-ouest de l'Algérie.

IV.2.1. Préparation de l'échantillon solide pour l'extraction

Les différentes étapes de préparation de l'échantillon aux expériences sont présentées le schéma suivant :

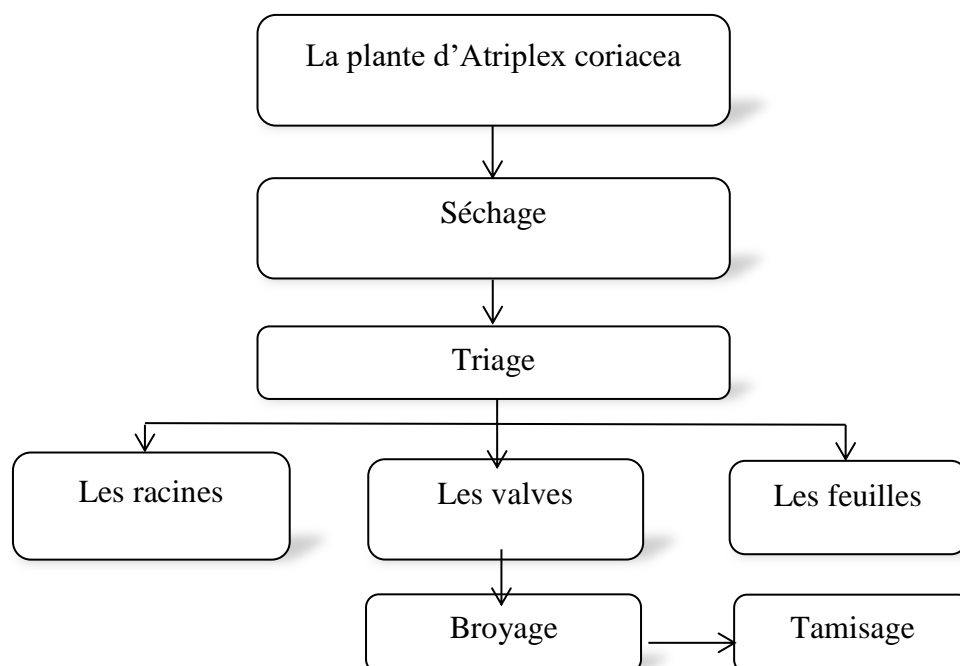


Schéma IV.1 : Les étapes de préparation l'échantillon solide.

IV.2.1. Séchage

Les valves fructifères ont été séchées pendant 5h à température 30°C jusqu'à ce que la masse de soit constante.



Figure IV.1 : Séchage de la plante.

IV.2.2. Triage

Pour débarrasser la matière première des parties inutiles afin de garder seulement les valves fructifères de la plante.



Figure IV.2 : La plante avant et après le triage.

IV.2.3. Broyage

Le broyage a été effectué à l'aide d'un broyeur pour 15 à 20 secondes jusqu'à l'obtention d'un poudre.



Figure IV.3 : Broyage des valves.

IV.2.4. Tamisage

La poudre est placée dans un tamiseur vibratoire électrique, qui sert à récupérer les particules ayant des diamètres (1 mm, 0.1 mm).

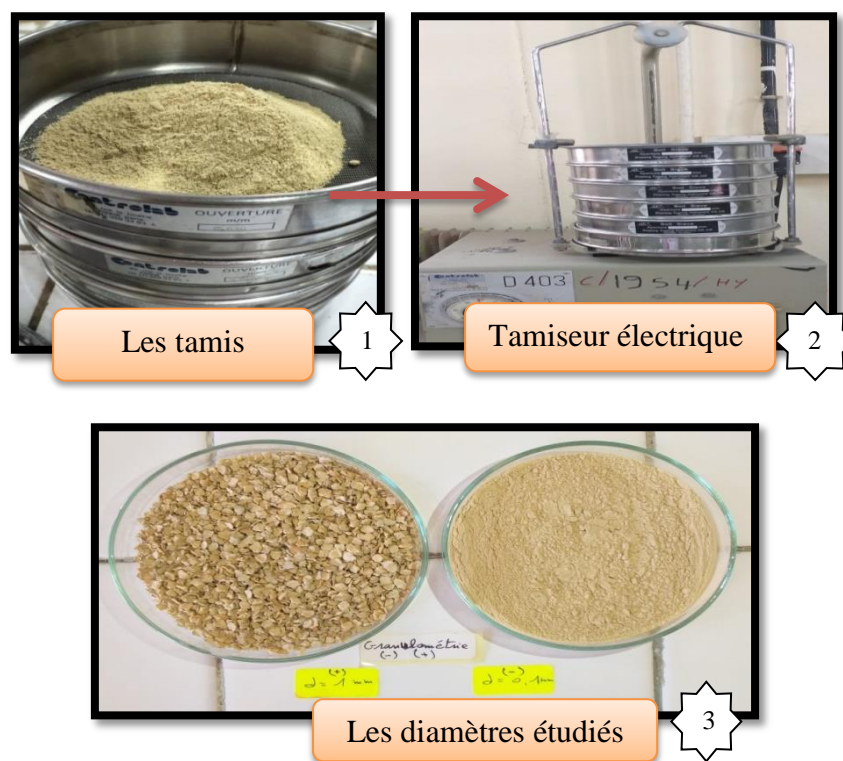


Figure IV.4 : L'étape de tamisage des valves.

IV.3. Matériels et produits

Pour assurer cette étude nous avons utilisé des différents produits chimiques et appareillages, à savoir ;

IV.3.1. Appareillages

- Dispositif de l'hydro-distillation
- Dispositif micro-onde
- Evaporateur rotatif sous pression
- Balance de précision
- Ampoule à décanter
- Agitateur magnétique
- Refractomètre
- Etuve incubateur
- Spectrophotomètre
- Infrarouge
- Four a moufle
- Incubateur
- Dessiccateur

IV.3.2. Produit chimique et réactifs

Tableau IV.1 : Les produits chimiques et les réactifs.

Les réactifs	Propriétés (masse /pureté)
Eau distillé	M=18 g/mol
Ether de pétrole	M=86.178 g/mol
Méthanol (CH ₃ -OH)	M=32 g/mol
Ethanol (C ₂ H ₆ O)	M=46.068 g/mol ; P (96%)
Acétone (C ₃ H ₆ O)	M=58.0791 g/mol
Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃)	M=105.988 g/mol
Hydroxyde de potassium (KOH)	M=56.11 g/mol
Phénolphtaléine	M=318.33 g/mol
Chlorure de sodium (Na Cl)	M=58.44 g/mol
DPPH	C=4 mg/ml
Acide gallique	C=5 g/l
Acide ascorbique	D=1.69 kg/l
Acide chlorhydrique (H Cl)	M=36.46 g/mol

IV.4. Analyses physico-chimique d'Atriplex coriacea

Avant d'extraire les huiles essentielles, nous devons procéder à quelques analyses préliminaires de la plante, illustrées dans le schéma suivant :

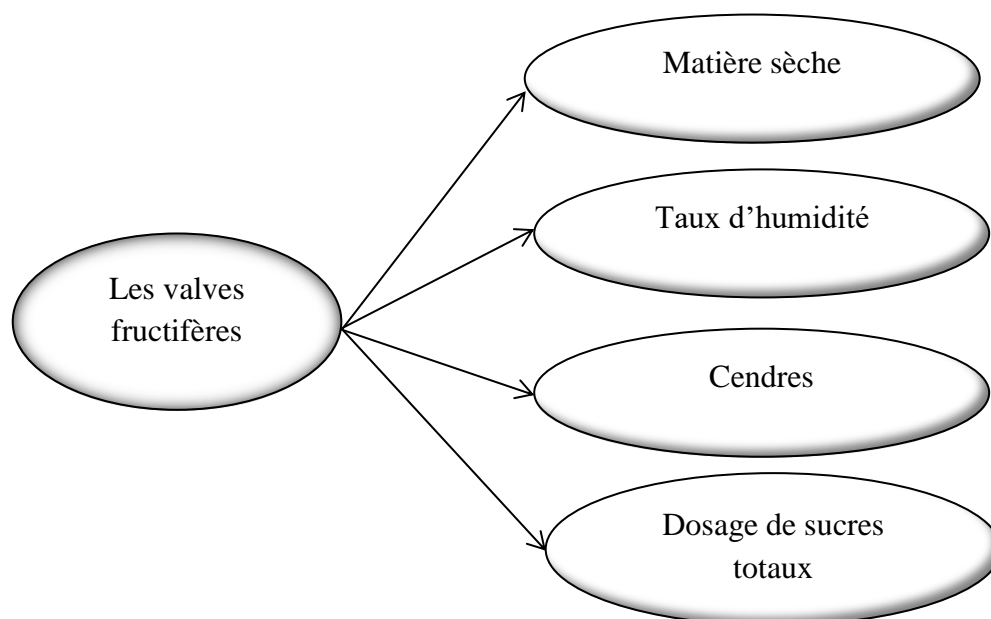


Schéma IV.2 : Plan générale d'analyse physico-chimique sur la plante.

IV.4.1. Matière sèche (AFNOR ,1982)

La teneur en extrait sec est déterminé par dessiccation à 105°C, suivie de la pesée du résidu jusqu'à obtention d'un poids constant. A cette fin, un échantillon de 4g des valves fructifère de diamètre différents (0.1mm à 1mm) est placé dans des creusées en porcelaines préalablement séchée et pesée. Les creusées sont ensuite placées dans une étuve à 105°C pendant 24 heures. Après le séchage, la capsule est transférée dans un dessiccateur pour refroidissement et absorption maximale de l'humidité avant d'être pesée.

Les pesées doivent être faites rapidement ; le résidu étant hygroscopique.

La matière sèche en gramme pour 100g (%)

$$M. S(\%) = \frac{P}{P'} * 100 \quad (1)$$

Où:

- **P** : le résidu sec ;
- **P'** : la prise d'essai du broyat des valves évaluée en gramme.



Figure IV.5 : Les étapes de détermination de la matière sèche.

IV.4.2. Taux d'humidité (AFNOR ,1986)

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans la matière végétale. Le contenu consiste à prendre une masse 4g de la poudre dans une capsule verrerie, Puis sécher dans l'étuve pendant 5 heures à 105±5°C. Retirer la capsule de l'étuve, les refroidir dans le dessiccateur pour éviter toute réhydratation, après refroidissement, les peser à l'aide d'une balance. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La teneur en eau a été déterminée par la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{M1-M2}{M} * 100 \quad (2)$$

Où:

- **H** : Humidité (%) ;
- **M1** : Masse de la capsule + la matière fraîche avant séchage en g ;
- **M2** : Masse de l'ensemble après séchage en g ;
- **M** : Masse de la prise d'essai.

$$\text{Matière sèche}(\%) = 100 - H(\%) \quad (3)$$



Figure IV.6 : Séchage des échantillons dans l'étuve.

IV.4.3. Cendres (NF V 05-113,1972)

Les cendres constituent les résidus de composés minéraux après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique.

- Principe :

L'échantillon est calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtres.

Pour préparer la Dans des creusées en porcelaine, peser 4g de l'échantillon. Puis les placer dans un four a moufle réglé à 550±15°C pendant 5 heures jusqu'obtention d'une couleur grise claire ou blanchâtre, Retirer les creusées du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.

La matière organique est calculée selon la formule suivante :

$$\text{MO}(\%) = \frac{M1-M2}{P} * 100 \quad (4)$$

Où:

- **MO** : Matière organique (g) ;
- **M1** : Masse de la creusées +la prise d'essai(g) ;
- **M2** : Masse de la creusées + cendres (g) ;
- **P** : Masse de la prise d'essai (g).

La teneur en cendres (Cd) est déterminée comme suit :

$$\text{Cd} = 100 - \text{MO}(\%) \quad (5)$$

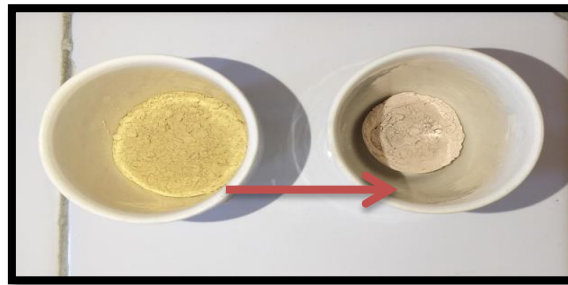


Figure IV.7 : L'échantillon avant et après leur passage au four.

IV.4.4. Dosage des sucres totaux

Le taux des sucres est déterminé après la stérilisation de filtrat, selon la méthode de Dubois (1966) [94].

IV.4.4.1. Préparation de l'échantillon au dosage (extraction et purification)

Nous avons quelques étapes à suivre qui sont :

1. Extraction

- Peser 2.5g du broyat dans un bécher de 250ml et additionner 100ml d'eau distillée et 3g de carbonate de sodium pour neutraliser l'acidité ;
- Porter à l'ébullition, tout en agitant, pendant 30 minutes ;
- Transvaser, après ébullition, la solution dans une fiole de 250 ml.

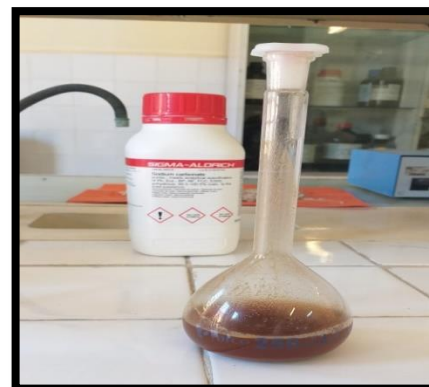


Figure IV.8 : Préparation de la solution d'extraction.

2. Clarification

- Ajoutez de petites quantités de solution d'acétate de plomb à 10% en agitant continuellement jusqu'à ce qu'un précipité se forme ;
- Ensuite ajoutez de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge de la fiole ;

- Filtrez la solution à travers un filtre à papier pour récupérer le précipité.

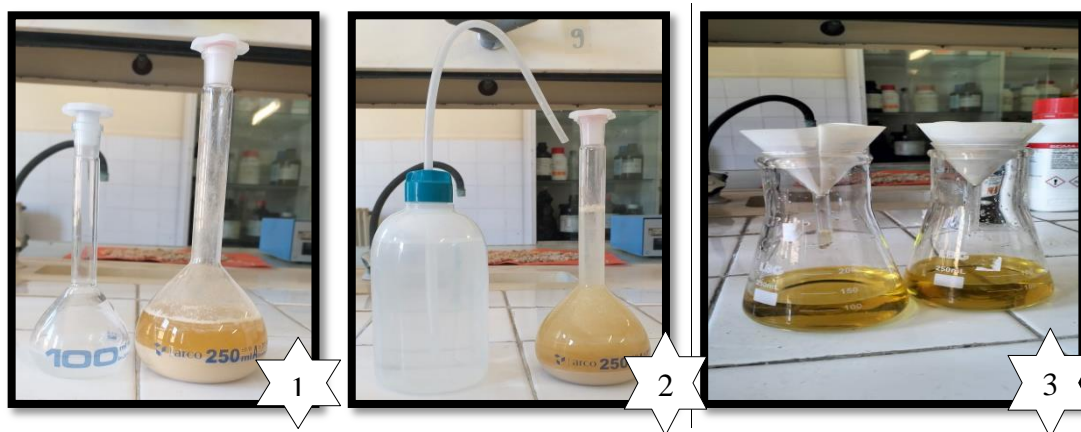


Figure IV.9 : Les étapes de clarification.

3. Elimination de l'acétate de plomb

- Additionner au filtrat une petite quantité de carbonate de sodium déshydraté pour précipiter l'acétate de plomb du sodium ;
- Vérifier l'absence de l'acétate de plomb dans la solution en ajoutant une petite quantité de carbonate de sodium a une partie de la solution contenue dans un tube à essai. Si le précipité apparait, continue à ajouter de carbonate de sodium jusqu'à la disparition de tous les ions de plomb.

4. Dosage

Prélever 5 ml de filtrat et les diluer dans 50 ml d'eau distillée. À partir de cette solution, ajouter 1 ml de solution de phénol à 5% et agiter vigoureusement. Ensuite, ajouter 5 ml d'acide sulfurique concentré en 5 secondes en versant doucement le long des parois du récipient, puis agiter rapidement. Laisser refroidir dans l'obscurité pendant 30 minutes. Mesurer ensuite la densité optique à 490 nm.

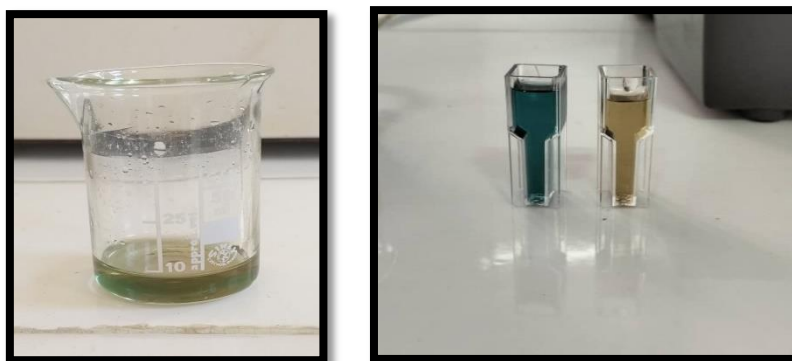


Figure IV.10 : Dosage des sucres.

IV.4.4.2. Courbe d'étalonnage

La gamme d'étalonnage est réalisée de la manière suivante :

- Une solution mère de glucose α -D(+) est préparée à une concentration de 1%. À partir de cette solution, on prélève 1 ml que l'on complète avec de l'eau distillée jusqu'à un volume total de 100 ml ;
- Ensuite, des dilutions de différentes concentrations sont préparées : 10, 25, 40, 60, 75, et 100 μ l/ml ;
- Pour chaque concentration, on prélève 1 ml auquel on ajoute 1 ml de phénol à 5% et 5 ml d'acide sulfurique à 98% ;
- Les tubes sont placés dans une étuve pendant 5 minutes à 105°C, puis laissés dans l'obscurité pendant 30 minutes ;
- Enfin, la densité optique de chaque concentration est mesurée à 490 nm, et on trace la courbe d'étalonnage $DO=f(C)$ (**annexe 1**).

Avec :

- **C** : la concentration en μ l/ml ;
- **DO** : la densité optique.

IV.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les plantes aromatiques renferment des composés organiques dans leurs cellules, dont les parfums sont généralement solubles dans l'eau. L'hydro distillation et la micro-onde sont les méthodes principales utilisées pour extraire ces composés aromatiques des plantes.

Pendant l'extraction, les matières végétales sont chauffées jusqu'à ébullition en présence d'eau. Cette chaleur provoque l'éclatement des cellules des plantes, libérant ainsi les composés organiques volatils qu'elles contiennent.

La vapeur d'eau formée se mélange aux composés organiques sous forme gazeuse. Ce mélange gazeux est ensuite refroidi et condensé, ce qui permet de séparer la phase organique supérieure, très huileuse et parfumée. Cette phase, appelée "huile essentielle", contient la majorité des composés aromatiques extraits de la plante.

Pour détailler cette méthode, nous avons le schéma suivant :

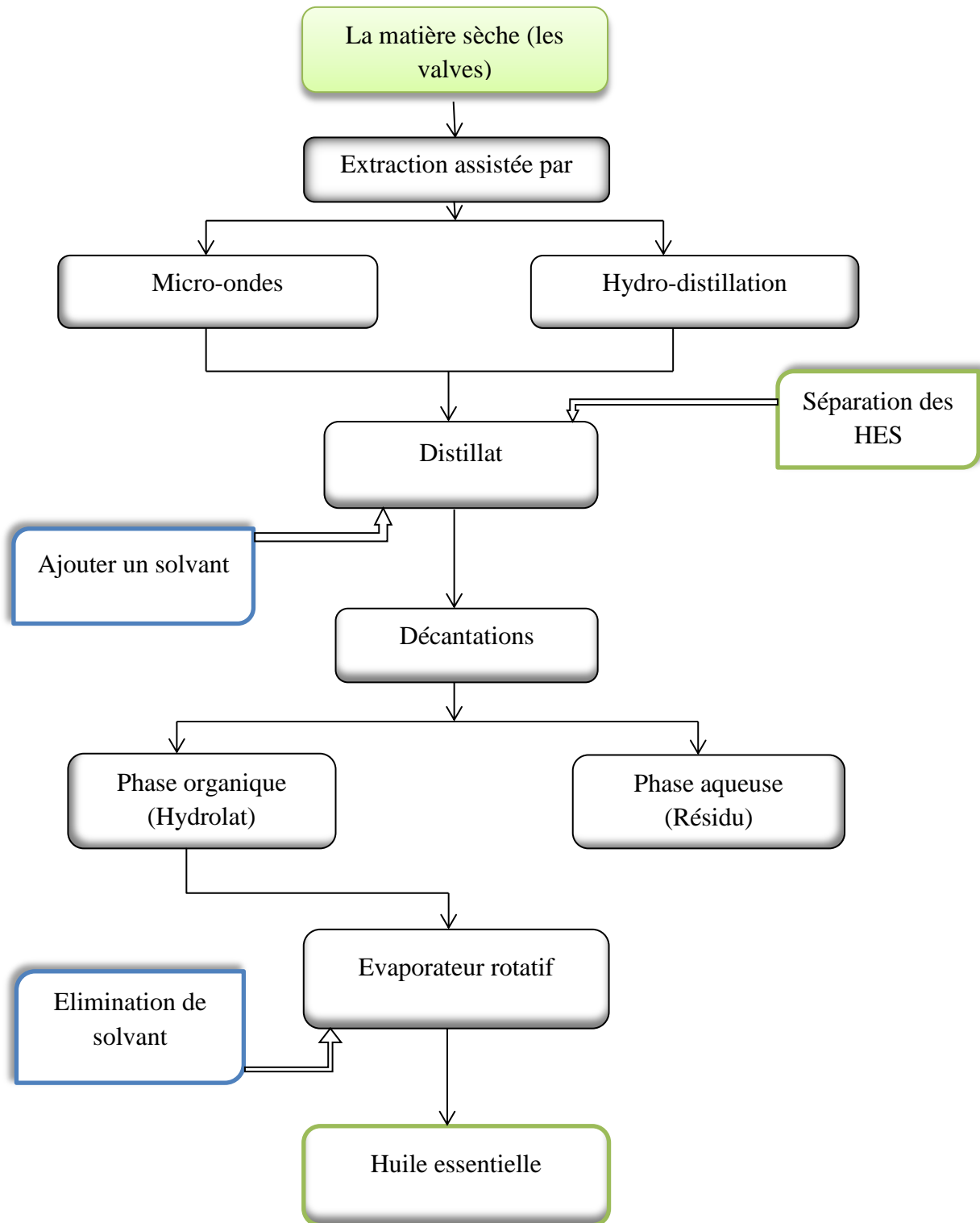


Schéma IV.3 : Protocole générale d'extraction des huiles essentielles.

- ❖ Avant le processus d'extraction, il est à noter qu'on a planifié nos expériences d'extraction pour les deux procédés utilisés la méthodologie des plans d'expériences.

- ✓ **Méthode d'étude**

Nous appliquons cette méthode selon l'instruction fournie par [Esse Leon WOGNIN et al].

- ✓ **Paramètre d'étude.**

La méthode des plans d'expériences établit une relation entre la réponse (grandeur physique étudiée) et les facteurs (variables modifiables par l'expérimentateur). Elle permet de comprendre comment les facteurs influencent la réponse et interagissent entre eux.

Le principe est de créer un modèle mathématique reliant la réponse aux facteurs, en quantifiant les variations des paramètres d'entrée et les variations observées de la sortie. Ces variations sont obtenues à partir de différentes configurations expérimentales des facteurs, qui doivent être prédéterminées et réalisables, tout en assurant que les facteurs soient indépendants.

- ✓ **Traitement mathématique**

Pour étudier l'influence de plusieurs facteurs sur une réponse, une méthode courante consiste à faire varier un seul facteur tout en gardant les autres constants. Une stratégie plus efficace consiste à faire varier tous les facteurs simultanément en utilisant leurs valeurs extrêmes. Les codes utilisés sont :

- +1 pour la valeur maximale ;
- -1 pour la valeur minimale.

Les essais sont représentés sous forme de matrice. Dans cette étude :

- Pour l'hydro-distillation on examine l'influence de 4 facteurs (F1, F2, F3, F4) sur la réponse R(Rendement). Le plan factoriel complet 2^4 , le 2 représentant 2 valeurs extrêmes des facteurs, et le 4 c'est le nombre de facteurs. On doit donc réaliser $2^4= 16$ essais pour ce plan.
- Et pour la micro-onde, le plan factoriel complet réaliser $2^3=8$ essais.

La matrice des expériences les deux manipes est présentée dans les (**Tableau V.2 et Tableau V.3**).

IV.5.1. Extraction des huiles essentielles par hydro-distillation

Parmi les techniques conventionnelles d'extraction des huiles essentielles, l'hydro-distillation qui est la plus ancienne. Très facile à mettre en œuvre, cette méthode utilise l'eau comme solvant. Elle permet d'extraire des composés qui ne se dissolvent pas dans l'eau.

Principes

- La substance contenant l'espèce volatile à extraire est mélangée avec de l'eau et l'ensemble est porté à l'ébullition ;
- La phase gazeuse, contenant l'espèce volatil et la vapeur d'eau, arrive en haut de la colonne, passe dans le réfrigérant ensuite elle se condense ;
- Le résultat de l'hydro-distillation est le distillat. Ce dernier comporte alors deux phases liquides, qu'on peut séparer par décantation.

Technique

L'opération consiste à introduire une quantité de 10 g de masse végétale séchée des diamètres différent [0.1 à 1mm] dans un ballon en verre de 500 ml, on y ajoute une quantité d'eau distillée [40 à 120 ml], avec une agitation continue [min, max] jusqu'à la fin d'extraction avec une température fixée [80 à 100 °C]. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon, les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes.

Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement ou aura lieu de la condensation. Puis sont récupérées dans un erlenmeyer.

Le résultat de l'hydro-distillation est le distillat obtenu, ce dernier comporte alors deux phases liquides (une phase organique et une phase aqueuse), la récupération de cette huile est réalisée par extraction à l'éther de pétrole. Qu'on peut séparer par décantation.

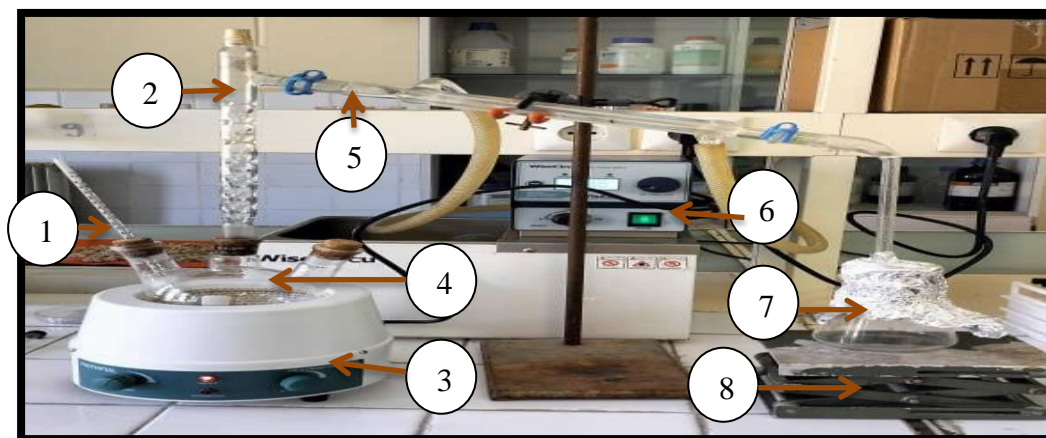


Figure IV.11 : Dispositifs d'hydro-distillation.

- | | |
|-------------------------------|-------------------------|
| ○ 1 : Thermomètre | 5 : Colonne réfrigérant |
| ○ 2 : Colonne de distillation | 6 : Réfrigérateur |
| ○ 3 : Chauffe ballon | 7 : Erlenmeyer |
| ○ 4 : Ballon | 8 : Soupeur |

IV.5.2. Extraction des huiles essentielles par micro-ondes

C'est un procédé innovant, utilisant les micro-ondes et les solvants transparents pour extraire les HES à l'aide d'un rayonnement d'énergie est d'une séquence de mise sous vide de façon rapide et sélective des produits chimique de diverses substance.

Principe

La micro-onde est pour principe de cibler directement le cœur des cellules (les molécules de la plante) et en très rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau extrait dépourvu de solvant résiduel.

Technique

Dans cette méthode d'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce cas, chauffé là matière végétale par micro-ondes dans une prégnante close dans laquelle la pression est limitée de manière régulière. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau nette à la plante. Ils sont récupérés de la même étape classique ; condensation, refroidissement et décantation.

L'opération consiste à introduire une quantité de 10g de masse végétale séchée des diamètres différents [0.1 à 1mm] dans un ballon en verre de 1000 ml, on y ajoute une quantité d'eau distillée [40 à 120 ml], avec une puissance fixée [50 à 80 w] pendant 15 min à 20min maximum pour récupérer tout le distillat.

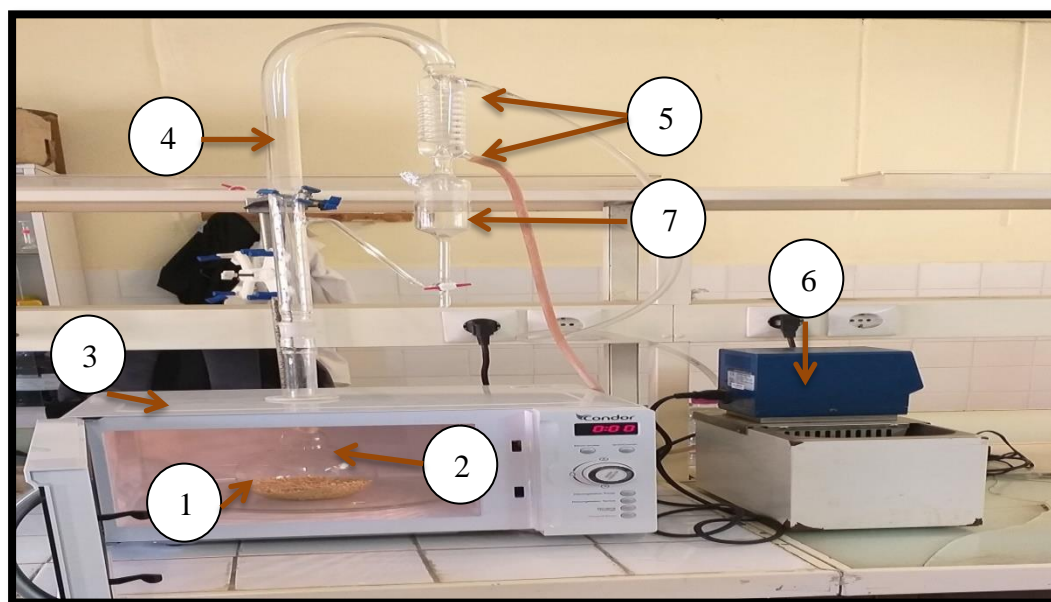


Figure IV.12 : Dispositifs de micro-ondes.

- 1 : Mélange (plante /eau distillée)
- 2 : Ballon
- 3 :Micro-ondes
- 4 : colonne de distillation
- 5 : Entrée et sortie de réfrigérant
- 6 : Réfrigérateur
- 7 : Distillat obtenu

IV.5.3. Séparation des huiles essentielles du distillat

Le distillat obtenu ne permet pas la récupération de l'huile essentielle par simple décantation.

IV.5.3.1. Extraction par solvant

On emploie un solvant pour extraire l'huile du mélange, dans notre cas le solvant est l'éther de pétrole. Alors dans une ampoule à décanter de 250ml on verse 20ml d'éther de pétrole (dont sa densité est de 0.65, et sa température d'évaporation est de 40-60°C), puis 100ml de distillat salé. On agite pendant 03 min en dégazant de temps en temps. Une fois l'opération de dégazage est terminer on laisse décanter 5 à 10 min sur un support. Après décantation, les deux liquides non miscibles se séparent progressivement, jusqu'à ce que deux phases distinctes soient observées.

On élimine la phase aqueuse et on ne laisse que l'huile dans la phase organique. On récupère à chaque fois les phases organiques.

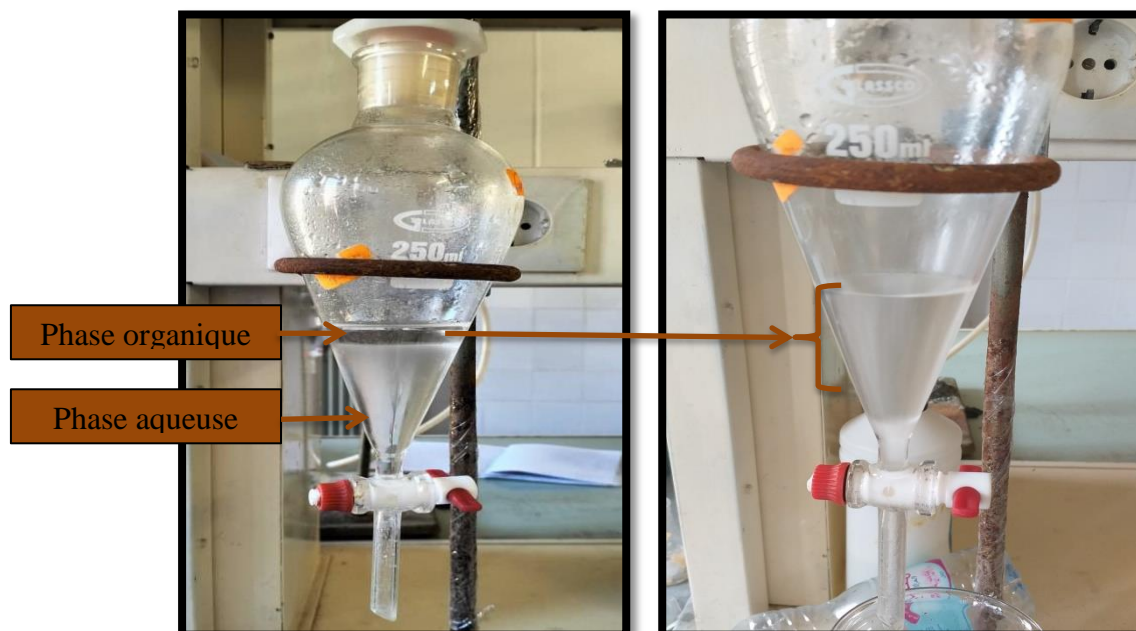


Figure IV.13 : Dispositif d'ampoule à décanter pour séparer la phase aqueuse de la phase organique.

IV.5.3.2. Elimination de solvant

A l'aide d'un évaporateur rotatif, on élimine le solvant volatil par évaporation. On place la solution contenant le solvant à évaporer dans le ballon et on le met ensuite sous rotation fixée à 200 tour/min. On plonge le ballon dans un bain marie sous une température de 40°C, pour procéder à une évaporation assez rapide, jusqu'à la disparition complète du solvant.

Peser le produit obtenu afin de pouvoir déterminer ultérieurement.

Principe d'évaporateur rotatif

Cet appareil est basé sur la distillation du macérât sous vide (l'abaissement du point d'ébullition sous pression réduite).

- Il a pour but d'évaporer rapidement des solvants après avoir été utilisés dans une extraction ou dans un milieu réactionnel.
- L'évaporation du solvant est menée sous pression réduite que l'on obtient au moyen d'une trompe à eau ou d'une pompe à vide.
- L'évaporateur rotatif est installé sous une Sorbonne, dont on baisse la vitre durant la manipulation.

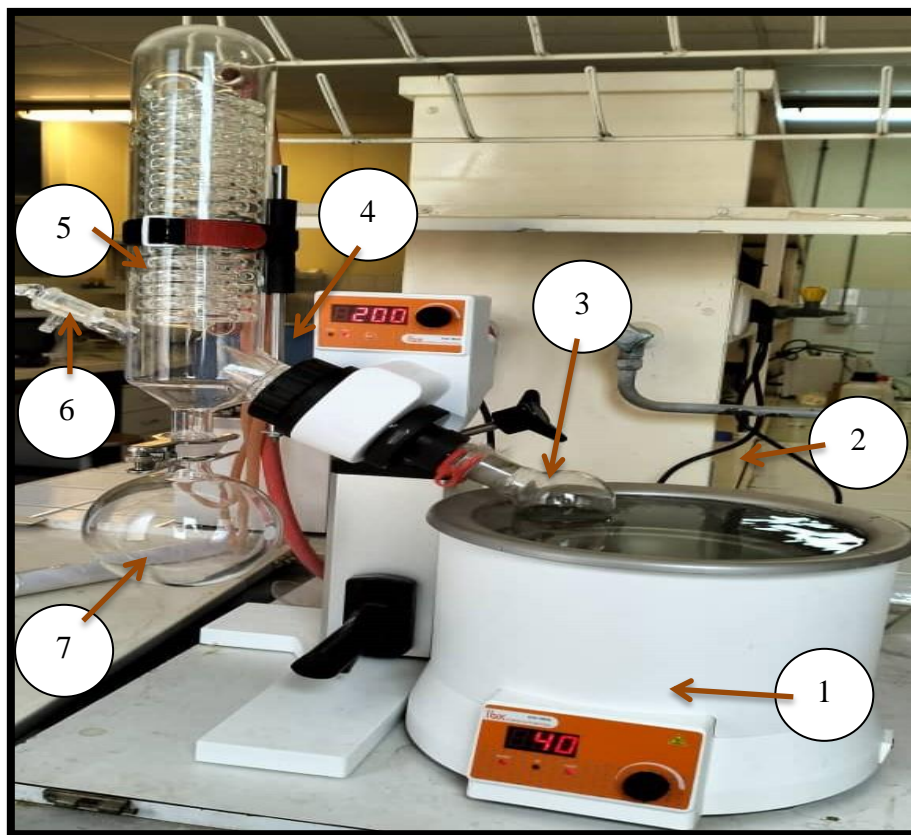


Figure IV.14 : Dispositifs d'évaporateur rotatif.

- | | |
|---|-------------------------------|
| ○ 1 :Bain-marie | 4 : réfrigérateur |
| ○ 2 : pompe sous vide | 5 : condenseur |
| ○ 3 : ballon renfermant le solvant à évaporée | 6 : Robinet de mise sous vide |
| ○ 7 : Ballon de récupération du solvant | |

IV.5.4. Conservation de l'huile essentielle obtenue

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela nous les avons conservées à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre foncé ou flacon couvrant par papier aluminium fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière, et n'oublie pas la fermez bien des bouchons.

IV.6. Caractérisation des huiles essentielles

Les propriétés physiques des huiles sont déterminées par leur qualité et leur degré de purification. Il est important de noter que les huiles, en tant que produits naturels, contiennent de nombreux acides gras. Ce schéma présente toutes les analyses réalisées pour évaluer la qualité d'huile extraite.

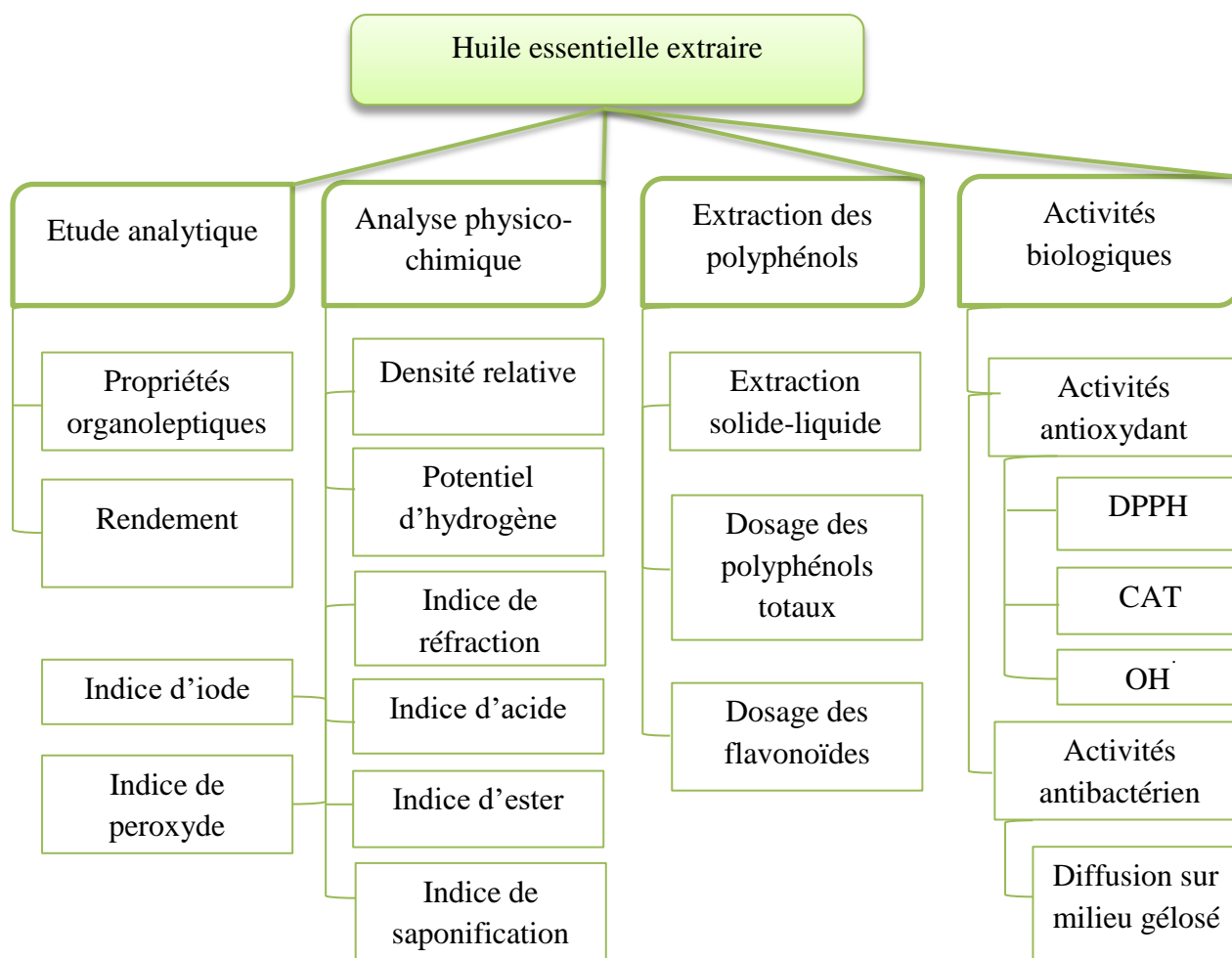


Schéma IV.4 : Plan général sur les analyses de la caractéristique d'HES.

IV.6.1. Etude analytique

L'étude analytique des huiles essentielles c'est une discipline multidimensionnelle qui combine des techniques avancées de chimie analytique et des essais biologiques pour comprendre et exploiter les propriétés de ces composés naturels.

IV.6.1.1. Analyse de propriétés organoleptiques

Les tests organoleptiques sont très subjectifs, mais ce sont toujours une partie très utile et nécessaire de l'évaluation des huiles essentielles.

A. L'odeur

Les parfumeurs possèdent une aptitude particulière à classer et caractériser les substances chimiques par leur odorat. Ce sens chimique extrêmement sensible permet de détecter les produits naturels, avec une perception pouvant atteindre dix millièmes de grammes par litre d'air [AFNOR, 1989].

B. La couleur

La coloration d'une HE dépend des produits qui la constituent [AFNOR, 1989].

C. L'aspect physique

L'aspect physique d'une essence végétale change selon les composés qui la constituent aussi, cette essence peut apparaître sous forme liquide, solide ou semi solide [AFNOR, 1989].

IV.6.1.2. Rendement (AFNOR, 1986)

Le rendement en huile essentielle (RHE) est déterminé par le rapport entre la masse d'huile essentielle extraite (M') et la masse de matière végétale utilisée (M). Exprimé en pourcentage, ce rendement est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{RHE}(\%) = \frac{M'}{M} * 100 \quad (6)$$

OÙ :

- **RHE** : rendement de huile essentielle en (%);
- **M'** : masse d'huile essentielle en (g) ;
- **M** : masse de matériel végétale utilisé en (g).

IV.6.2. Analyse physico-chimique

L'étude analytiques étaient autre fois la seule méthode pour évaluer la qualité des HES, mais elles fournissent des informations limitées. Désormais, des techniques de caractérisation plus précises sont nécessaires. La qualité et la valeur des HES sont définies par des normes basées sur des indices physico-chimiques.

IV.6.2.1. Densité relative (NF T 75-111)

Elle est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20° C, à la masse d'un égal volume d'eau distillée à la même température.

A été calculée à partir de la relation suivante :

$$D20 = \frac{m2-m0}{m1-m0} \quad (7)$$

Où:

- **m0** : la masse du pycnomètre vide en (g);
- **m1** : la masse du pycnomètre empli d'eau en (g) ;
- **m2** : la masse du pycnomètre empli d'huile en (g).

➤ Protocole

La détermination de la densité des essences des plantes étudiées est réalisée à l'aide d'un pycnomètre. Le volume prélevé est de 0.20 ml pour chaque huile, ainsi que pour l'eau. La densité de chaque essence.



Figure IV.15 : Le pycnomètre 1 : vide, 2 : contient l'eau distillée, 3 : contient Le HE

IV.6.2.2. Potentiel d'hydrogène (PH)

Le pH mesure l'activité chimique des ions hydrogènes H⁺ en solution. Le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Cette méthode décrit l'acidité ionique du produit à

analyser, son principe consiste à introduire l'électrode du pH-mètre dans le produit après le réglage de la température d'étalonnage. La lecture se fait directement sur le pH-mètre.

➤ **Protocole**

Dans un bécher en mis de 100 ml d'eau distillée, puis en ajouté une 2 ml de (agent émulsifiant) et 0.5 g de HE avec une agitation jusqu'à le mélange et homogène,

Puis pesé la partie d'appareil qui mesure le pH, après nous attendons quelques secondes pour que la valeur se stabilise.



Figure IV.16 : PH-mètre

IV.6.2.3. Indice de réfraction (NF T 75-112)

L'indice de réfraction d'une substance est le rapport de la vitesse de la lumière dans le vide et dans la substance. Le principe consiste à mesurer l'angle de réfraction de l'échantillon maintenu dans des conditions de transparence et d'isomorphisme. Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un réfractomètre.

➤ **Protocole**

- Nous avons utilisé une liquipipette pour placer l'huile essentielle (HE) dans la cellule de mesure jusqu'au repère indiqué, puis nous avons refermé le couvercle ;
- Après quinze (15) secondes (temps nécessaire pour que l'appareil se stabilise à 20 °C) ;
- Nous avons ajusté les deux boutons jusqu'à ce que le repère soit centré dans la cellule, puis nous avons lu la valeur de l'indice de réfraction sur l'appareil.

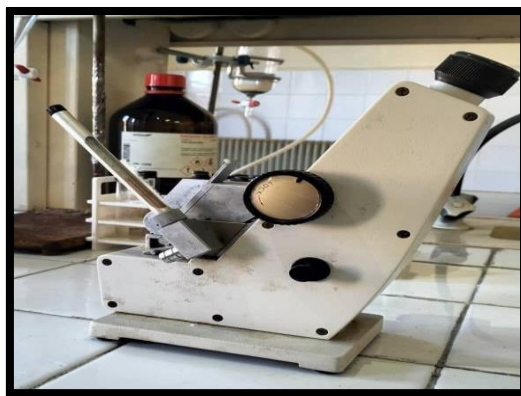


Figure IV.17 : Refractomètre.

IV.6.2.4. Indice d'acide (NF T 60-204)

L'indice d'acide est défini comme étant le nombre de milligrammes de potasse nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans un gramme d'huile. La détermination de l'indice d'acide de l'huile extraite est une mesure qui a souvent une très grande importance commerciale. Elle se fait sur l'huile séchée et pesée.

Le principe consiste à la mise en solution d'une prise d'essai dans un mélange de solvants, puis titrage des acides gras libres présents à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium en présence de phénolphtaléine

IA été calculée à partir la relation suivant :

$$IA = \frac{V \times 56.11 \times N}{P} \quad (8)$$

Où:

- **V** : le volume de potasse employé ;
- **N** : la normalité de la solution ;
- **P** : la masse de la prise d'essai ;
- **IA** : indice d'acide.

- **Protocol**

Neutraliser de l'éthanol (95% à 20 °C) avec une solution d'hydroxyde de potassium (0,1 mol/l) :

1. Placer la solution d'éthanol (C₂H₅O) dans un bécher (le volume n'a pas d'importance) et ajouter quelques gouttes de phénolphtaléine.
2. Titrer l'éthanol avec la solution de potasse jusqu'à ce que la solution devienne rose, indiquant un pH neutre.

3. Pendant la neutralisation de l'éthanol avec l'hydroxyde de potassium, celui-ci agit comme solvant pour les acides gras contenus dans l'huile essentielle et l'hydroxyde de potassium présent dans la phase aqueuse.

Ensuite :

1. Peser 1 g d'huile dans un bécher à l'aide d'une balance analytique.
2. À l'aide d'une éprouvette graduée de 10 ml, ajouter 5 ml d'éthanol neutralisé dans le bécher contenant l'huile, puis ajouter 3 gouttes d'indicateur coloré au mélange réactionnel.
3. Titrer le mélange réactionnel avec l'hydroxyde de potassium, noter le volume au moment du changement de couleur de la solution, indiquant un changement de réactif, et appliquer la formule.



Figure IV.18 : Les étapes de l'indice d'acide.

IV.6.2.5. Indice d'ester (NF T 75-104)

L'indice d'ester correspond à la masse d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans une masse m d'HE, à l'aide du dosage en retour de l'excès de potasse par une solution (initialement titrée) d'acide chlorhydrique.

A été calculée à partir de la relation suivant

$$I_e = \frac{28.05}{m} (V_0 - V_1) - IA \quad (9)$$

Où:

- V_0 : volume de HCL utilisé pour l'essai blanc (ml) ;
- V_1 : volume de HCL utilisé pour la détermination ;
- m : masse de prise d'essai (g) ;
- IA : indice d'acide déterminé ;
- I_e : indice d'ester.

Durant l'expérience on utilisera de la potasse et de l'acide chlorhydrique à 0.5 mol/l.

➤ **Protocol**

1. Dans un ballon de 100 ml, on introduit 1 g d'huile essentielle (H.E) et 25 ml d'une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,5 M à l'aide d'une burette, ainsi que quelques pierres ponce.
2. Le mélange est porté au reflux pendant 1 heure. Après refroidissement de la solution, on ajoute 20 ml d'eau distillée et 5 gouttes de phénolphaléine.
3. L'excès de KOH est titré avec une solution d'acide chlorhydrique (H Cl) 0,5 N jusqu'à la disparition de la couleur rose.
4. Une opération à blanc est réalisée dans les mêmes conditions que précédemment

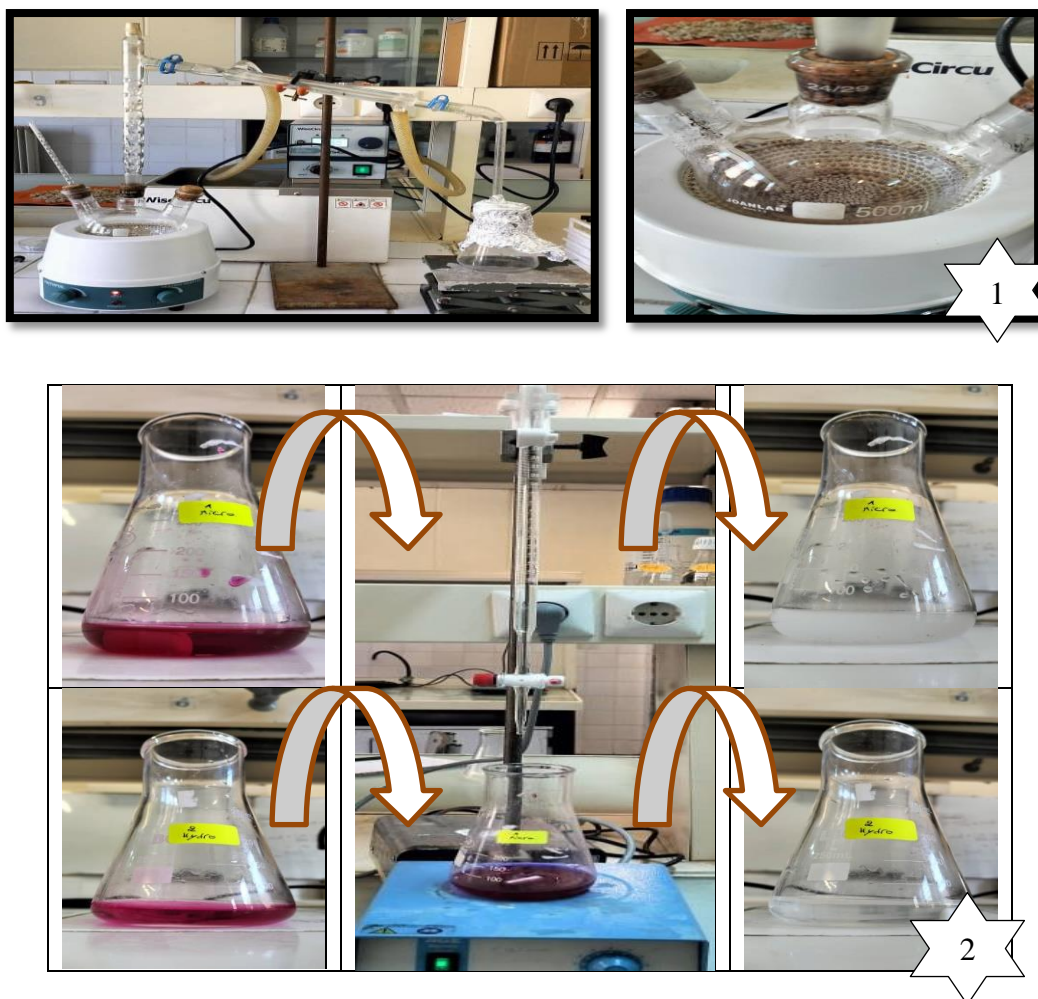


Figure IV.19 : Les étapes de l'indice d'ester.

IV.6.2.6. Indice d'iode (NF T 60-203)

Le principe consiste à additionner, à une prise d'essai en solution dans le chloroforme, un excès d'halogène d'iode ou réactif de wijs, on détermine l'excès d'iode par addition d'iodure de potassium et d'eau distillée, on titre l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium (0.1 N) en présence d'empois d'amidon.

A été calculée à partir de la relation suivant

$$I_i = \frac{12.59 \times C(V_1 - V_2)}{m} \quad (10)$$

Où:

- **C** : concentration en (mol/l) de la solution de thiosulfate de sodium utilisée ;
- **V1** : volume en (ml) de la solution $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ utilisée pour l'essai à blanc ;
- **V2** : volume en (ml) de la solution $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ utilisée pour la détermination ;
- **M** : masse en (g) de la prise d'essai ;
- **Ii** : indice d'iode.

➤ **Protocol**

Tout d'abord, préparer la solution d'iode et la solution de chlorure de potassium. Dans une fiole, dissoudre 0,5 g d'huile essentielle dans 20 ml de solution d'iode et 10 ml de solution de chlorure de potassium. Boucher la fiole et bien agiter pour assurer un mélange homogène. Ensuite, laisser la fiole reposer pendant 30 minutes dans un endroit sombre pour éviter la dégradation par la lumière.

Ajouter ensuite 20 ml de solution d'hydroxyde de sodium et quelques gouttes de solution d'amidon comme indicateur. Effectuer enfin le titrage avec la solution de thiosulfate de sodium jusqu'à la disparition de la couleur bleue.

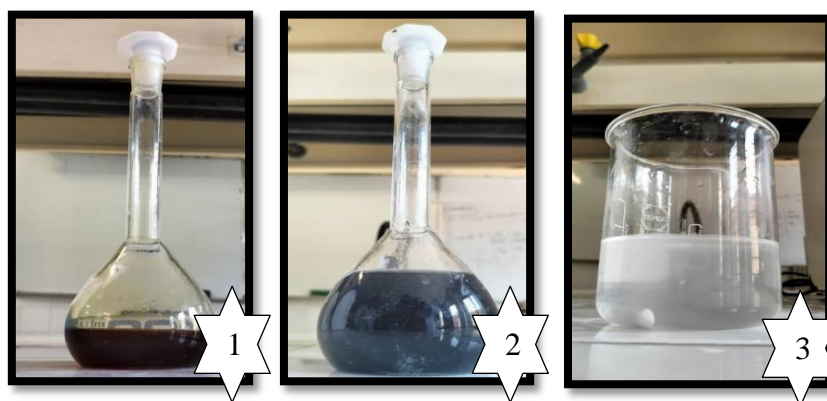


Figure IV.20 : L'étape de l'indice d'iode.

IV.6.2.7. Indice de peroxyde (NF T 60-220)

L'indice de peroxyde représente la quantité des substances de l'échantillon, qui oxydent l'iodure de potassium avec libération d'iode dans les conditions de travail décrites.

Le principe se base sur le traitement du corps gras en solution, dans l'acide acétique et le chloroforme, par une solution d'iodure de potassium, et titrage de l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium.

L'indice de peroxyde (I_p), exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme, est fourni par la formule :

$$I_p = \frac{V \times T \times 8000}{m} \quad (11)$$

Où:

- **V** : nombre de millilitres de solution de thiosulfate de sodium normalisée pour l'essai, corrigée en fonction des résultats de l'essai à blanc ;
- **T** : titre exact de la solution de thiosulfate de sodium utilisée ;
- **m** : masse en (g) de la prise d'essai ;
- **I_p** : indice de peroxyde.

➤ **Protocol**

Tout d'abord, préparer la solution de chloroforme et la solution d'acide acétique dans le même erlenmeyer. Dissoudre 1,5 g d'huile essentielle et agiter doucement la solution. Ajouter ensuite 0,5 g d'iodure de potassium solide et agiter pendant 1 minute pour assurer un mélange homogène. Laisser la solution reposer dans un endroit sombre pendant 1 minute, puis compléter avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre 100 ml pour arrêter la réaction. Effectuer le titrage avec la solution de thiosulfate de sodium jusqu'à la disparition de la couleur jaune.

Enfin, ajouter quelques gouttes de solution d'amidon comme indicateur et poursuivre le titrage jusqu'à la disparition de la couleur bleue.

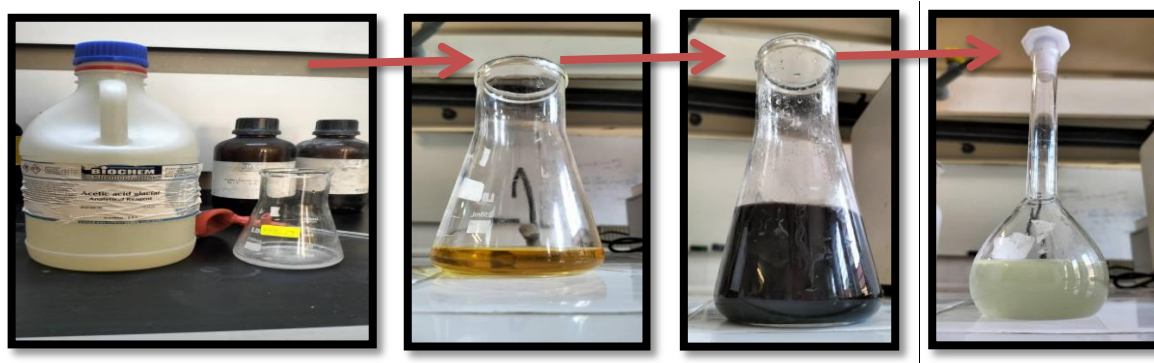


Figure IV.21 : Les étapes de l'indice de peroxyde.

IV.6.2.8. Indice de saponification (AFNOR NET 60-2006)

Le nombre de saponification et le nombre de milligramme de hydroxyde de potassium capable de saponifier un gramme de huile ou de gras, on peut aussi déterminer par le nombre la longueur de la chaîne carbonique des acides gras.

A été calculée à partir de la relation suivant :

$$I_s = \frac{(V_0 - V) \times N \times 56.11}{m} \quad (12)$$

Où:

- **V₀** : volume de KOH en (ml) sans l'utilisation d'huile ;
- **V** : volume de KOH dans la solution saponification ;
- **N** : normalité de KOH ;
- **m** : masse d'huile ;
- **I_s** : indice de saponification.

➤ **Protocol**

Dans un ballon de 100 ml, on met 0.4 g de huile, on l'ajoute 20 ml de KOH, alcoolique 0.2N, on chauffe le mélange jus qu'a l'ébullition avec distillation pendant 30 mn jusqu'à la disparition des goutte de huile ,c'est-à-dire il se transforme en savon, en laisse le mélange quelque minute puis on ajoute 5 goutte de indicateur de phénolphtaléine, donc on dose le mélange de saponification et on calcule le nombre de saponification.

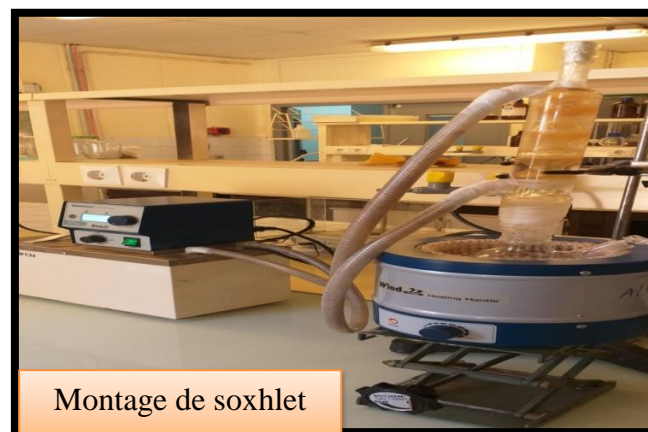


Figure IV.22 : L'étape de l'indice de saponification.

IV.6.3. Extraction des polyphénols

Plusieurs procédés d'extraction peuvent être utilisés, du fait de la diversité des métabolites secondaires en particulier des polyphénols.

Les solvants utilisés sont présentés dans le tableau :

Tableau IV.2 : Les propriétés des solvants utilisés.

Propriétés/ Solvant	Formule brute	Polarité	T°eb
Ethanol	C ₂ H ₆ O	Polaire	79°C
Acétone	C ₃ H ₆ O	Polaire	56°C
Eau distillée	H ₂ O	Polaire	100°C
Méthanol	CH ₃ OH	Polaire	64°C

IV.6.3.1. Extraction solide liquide (macération)

La macération est un procédé qui consiste à laisser séjourner (quelques heures ou jours) un solide dans un liquide froid pour extraire les composés solubles et une infusion dans un solvant à froid. L'opération bien que généralement longue et à rendement souvent médiocre, est la seule méthode utilisable dans le cas de l'extraction d'un ensemble de molécules fragiles [AFNOR, 1982].

A. Extraction par éthanol

On mélange 10g de poudre d'Atriplex avec 100ml d'éthanol dans une erlenmeyer et on le laisse pendant 3 jours (72h) dans un endroit sombre. Après cette période on fait une triple filtration puis on procède à l'évaporation de l'éthanol à 40°C à l'aide d'un rota-vapeur, et on pèse l'extrait.

B. Extraction par acétone

Même étapes précédente, avec l'évaporation de l'acétone à 40°C, et on pèse l'extrait.

C. Extraction par l'eau distillée

Même étapes précédente, avec l'évaporation de l'Ethanol à 40°C, et on pèse l'extrait.

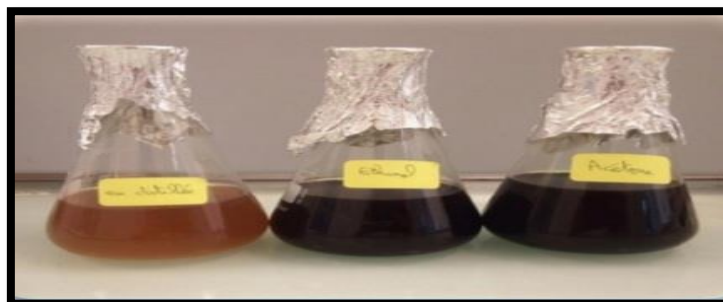


Figure IV.23: Macération par différents solvants.

IV.6.3.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est estimé par la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu est la plus utilisée [94].

La détermination des composés phénoliques totaux dans les échantillons d'OMWW traités a été réalisée par spectrophotométrie en utilisant l'acide gallique comme référence. Une courbe d'étalonnage, détaillée en annexe 1, a été élaborée avec des standards préparés dans des flacons de 4 ml, couvrant des concentrations de 5, 2.5, 1.25, 0.625 g/l.

➤ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}). Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux [95].

➤ Protocole

Un volume de 20 μ L d'extrait, préparé dans le (méthanol ou l'éthanol), a été mélangé avec 3 ml d'eau distillée et 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu à 10 %. Après une agitation manuelle pendant 1 minute à température ambiante, 2 ml de solution aqueuse saturée de carbonate de sodium (6 %) ont été ajoutés. La solution a ensuite été à nouveau agitée et chauffée à 40 °C pendant 30 minutes dans un bain-marie. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée à 765 nm avec un spectrophotomètre UV-visible, en utilisant une solution témoin sans extrait comme référence [94].

Une solution mère aqueuse d'acide gallique à 5 g/L a été utilisée pour préparer les solutions avec précision.



Figure IV.24 : Dosage des polyphénols.

IV.6.3.3. Dosage des flavonoïdes totaux (FT)

La quantification des flavonoïdes a été réalisée en utilisant une méthode basée sur la formation d'un complexe stable entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes [96].

➤ Protocole

La méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) est employée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits. 1000 μL d'extrait dilué sont mélangés avec 1000 μL d'une solution d' AlCl_3 à 2%. Après une incubation de 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière, les absorbances sont mesurées à 430 nm. Un témoin est préparé de la même manière, mais l'extrait est remplacé par 1000 μL de solvant (éthanol ou méthanol) [96].



Figure IV.25 : Dosage des flavonoïdes.

IV.6.4. Activités biologiques

L'étude des activités biologiques de l'huile essentielle d'*Atriplex coriacea* est essentielle pour découvrir ses propriétés thérapeutiques et potentielles applications médicales. Cette analyse permet d'explorer les composés bioactifs présents dans l'huile et d'évaluer leurs effets sur divers systèmes biologiques, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles utilisations en médecine et en pharmacologie.

IV.6.4.1. Activité antioxydant

On peut définir les antioxydants comme des molécules qui empêchent ou diminuent l'oxydation d'autres molécules. Une réaction d'oxydoréduction, dont fait partie l'oxydation, assure le transfert des électrons d'une molécule donnée vers un agent oxydant. De nombreuses méthodes sont utilisées pour de l'activité antioxydant des composés phénoliques purs ou d'extrait. Dans notre étude nous avons utilisé des tests chimiques comme suit :

IV.6.4.1.1. Test au DPPH

L'activité antioxydant des extraits est mesurée par l'utilisation de la méthode de DPPH, qui est un radical libre, stable, et possède une bande d'absorbance à 517 nm.

a) Principe

Le Diphenyle picryl-hydrazyle (DPPH) est un radical libre stable, de couleur violette en solution, avec une absorbance caractéristique à 517 nm. Lorsque le DPPH est réduit en diphenyle picryl-hydrazine par un composé ayant des propriétés anti radicalaires, cette couleur violette disparaît rapidement. La décoloration observée est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [Sachez-Moreno, 2002].

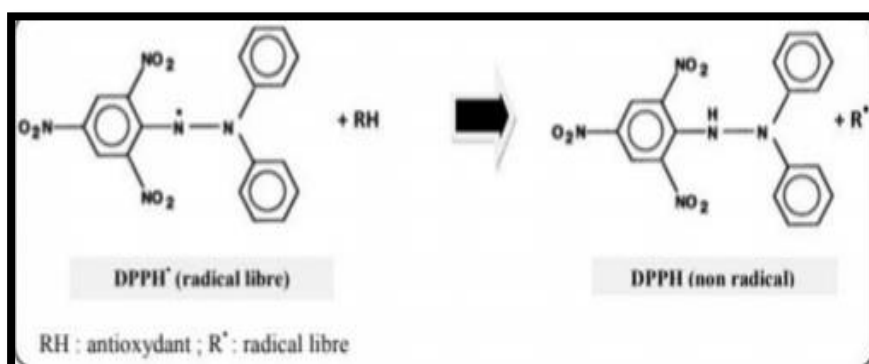


Figure IV.26 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce Radicalaire DPPH° et un antioxydant.

b) Protocole

Le 2 diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) est déterminé par spectrophotométrie en se référant au protocole d'Itaeduok. (2017) modifié, Un volume de 1 ml de chaque extrait à différentes concentrations est ajouté à 1 ml d'une solution méthanoïque de DPPH 0.004% de 4 mg de DPPH dans 100ml de méthanol. Après une incubation 30 min à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance du mélange réactionnelle est mesuré à 517 nm [97].

Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par l'extrait méthanoïque ou aqueux est calculé selon la formule suivante :

$$I\% = [1 - (\text{Abs Echantillon}/\text{Abs Controle})] \times 100 \quad (13)$$

Où :

- **I % :** pourcentage d'inhibition du radical DPPH ;
- **Abs Echantillon :** Absorbance de l'échantillon ;
- **Abs Control :** Absorbance du contrôle.



Figure IV.27 : Solution de DPPH.

➤ **Paramètre IC50**

L'IC50 ou la concentration inhibitrice de 50 % du radical libre DPPH (aussi appelée EC50 pour Efficient Concentration 50%), est définie comme étant la concentration d'antioxydant, requise pour diminuer la concentration initiale du radical DPPH° de 50%. Elle est inversement liée à la capacité antioxydants. Plus la valeur de l'IC50 est basse, plus l'activité antioxydants d'un composé est grande. Les IC50 sont déterminées graphiquement par les régressions linéaires des pourcentages d'inhibition de DPPH° en fonction des différentes concentrations des extraits testés.

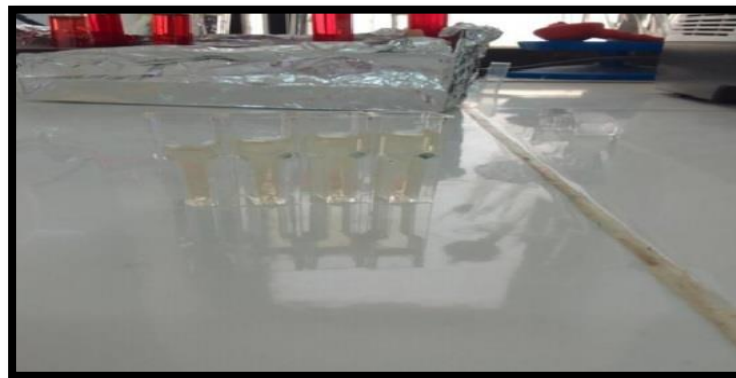


Figure IV.28 : Dosage de test DPPH.

IV.6.4.1.2. Test au TAC

La capacité antioxydant totale (TAC) des extraits des plantes est évaluée par la méthode de phospho-molybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide [Prieto et al, 1999].

➤ **Protocol**

Selon la méthode décrit par [Prieto et al, 1999] :

- Un volume de 0.3 ml de chaque extrait méthanolique a été mélangé avec 3 ml de solution du réactif (0.6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium) ;
- Les tubes ont été vissés et incubés à 95 °C pendant 90 min ;
- Après refroidissement, l'absorbance des solutions a été mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml du méthanol.



Figure IV.29 : Les étapes de test TAC.

IV.6.4.1.3. Test au OH[•] (piégeage des hydroxydes)

L'activité de piégeage des hydroxydes (OH[•]) c'est un mélange réactionnel (1,1 ml) contenant 500 µL de FeSO₄ (1,5 mM), 350 µL de H₂O₂ (6 mM), 150 µL de salicylate de sodium (20 mM) et 100 µL de différentes concentrations du composé testé a été préparé. Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 15 min et l'absorbance a été mesurée à 562 nm.

Le pourcentage d'effet de piégeage a été calculé à partir des formules:

$$\text{Activité de piégeage (\%)} = [1 - (A1 - A2) / A0] \times 100 \quad (14)$$

Où :

- **A** : l'absorbance du contrôle (sans échantillon) ;
- **A1** : l'absorbance en présence de l'échantillon;
- **A2** : l'absorbance sans salicylate de sodium.

L'acide ascorbique a été utilisé comme standard [98].



Figure IV.30 : Les étapes de test OH⁻.

IV.6.4.2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles est un domaine de recherche très actif, mettant en évidence leur potentiel comme agents naturels pour combattre les infections bactériennes.

a) Méthode de diffusion (antibiogramme)

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits des valves fructifères d'*Atriplex coriacea* nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélose en utilisant les disques stériles appelée antibiogramme.

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible.

L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante.

Les souches bactériennes choisies sont :

- Staphylococcus +
- Entérobactérie BLSE +

b) Milieux de culture

Nous avons utilisé comme milieux de culture les milieux suivants :

- Gélose nutritive pour les souches bactériennes ;
- Gélose Muller Hinton pour la réalisation de l'antibiogramme et l'activité antibactérienne ;
- Gélose chapmans spécifique pour staphylococcus.

➤ **Préparation des milieux de culture**

- Remplir et déverser à la boîte pétrée ;
- Laisser sécher à l'Aire libre ;
- Conserver en Réfrigérateur (5°C)



Figure IV.31 : Gélose Mueller Hinton.

La gélose Sabouraud pour l'isolement et l'entretien de la levure et l'étude de sa sensibilité aux extraits.

c) Stérilisation du matériel

L'eau distillée, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 30 minutes.

d) Préparation des concentrations des extraits

Les extraits (Methanolique et ethanolique) de la plante *Atriplex coriacea officinale* ont été dissous dans le diméthyle-sulfoxyde (DMSO) pour les extraits bruts dans l'eau distillée afin de préparer les différentes concentrations (1 ; 0.5 ; 0.25 ; 0.125 mg /ml) avec des dilutions successives, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 1g/ml.

e) Préparation de l'inoculum

Les boites de Pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C pour les souches bactériennes la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre, en mm, de la zone d'inhibition.

f) Lecture

La lecture a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibition au tour des disques à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits. On classe la bactérie dans l'une des catégories :

- $6\text{mm} < x < 7\text{mm}$ Résistante (-)
- $7\text{mm} < x < 8\text{mm}$ intermédiaire (+)
- $8\text{mm} < x < 9\text{mm}$ sensible (++)
- $x > 9\text{mm}$ très sensible (+++)

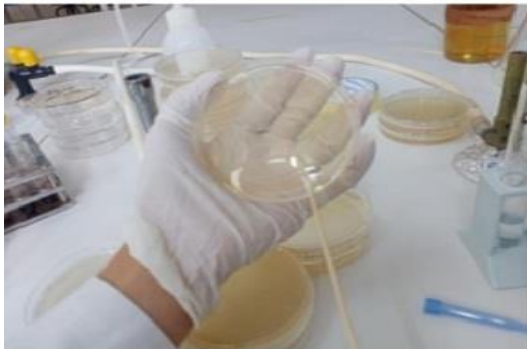
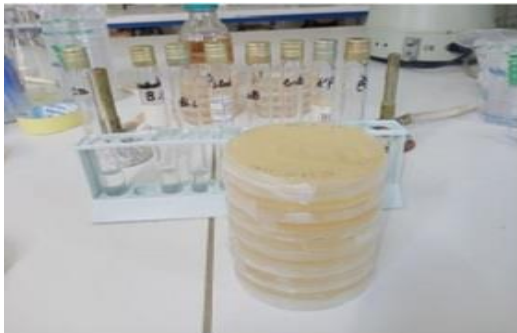


Figure IV.32 : Protocole expérimental de l'activité antibactérien.

CHAPTER 9 :
RESULTS ET
DISCUSSIONS

V. Introduction

Dans ce chapitre nous représentons les résultats de toutes les expériences réalisées pour notre étude phyto-chimique, antibactérienne et anti-oxydante concernant les valves fructifères de la plante *Atriplex coriacea*, ainsi que leurs discussions.

V.1. Analyses phyto-chimique

Les propriétés organoleptiques et physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Nos essais ont été effectués selon un protocole précis et obéissent aux normes édictées.

V.1.1. Taux d'humidité et matière sèche

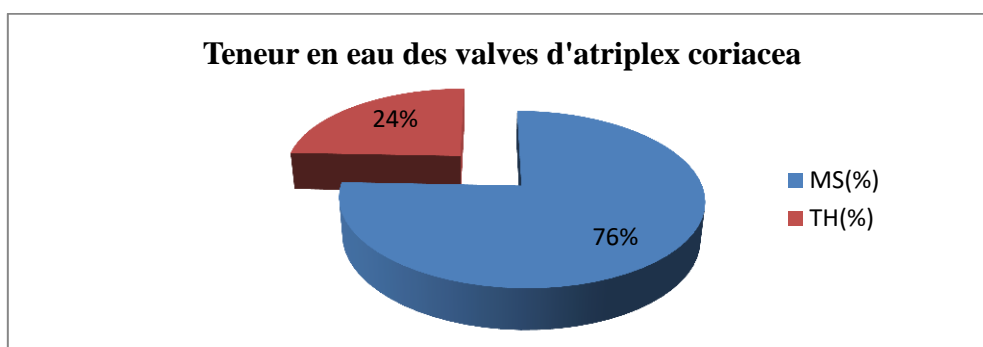


Figure V.1 : Représentation sectorielle du taux d'humidité des valves d'*Atriplex*.

- **MS(%)** : Matière végétal séché en (%)
- **MH(%)** : Teneur en humidité en (%)

➤ Interprétation

On constate que la plante d'*Atriplex coriacea* provenant de la région d'Abadella possède une teneur en eau de 24%.

V.1.2. Cendre et dosage des sucres totaux

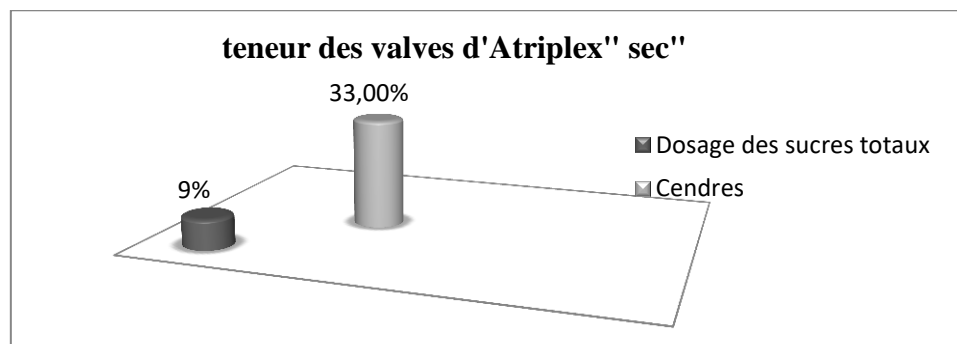


Figure V.2: détermination de la teneur en sucre et les cendres.

➤ Interprétation

L'expression cendre est un terme se rapportant à la partie inorganique d'un échantillon alimentaire restant après que l'échantillon a été brûlé à des températures élevées.

Le dosage des sucres totaux est basé sur la condensation des produits de déshydratation des oses avec un chromogène qui est le phénol. D'après la courbe d'étalonnage (annexe 1), on montre qu'il y a du sucre dans la plante d'Atriplex avec une concentration de 9.1 mg/g MS.

V.2. Extraction des huiles essentielles

Les extractions sont parmi les méthodes les plus utilisées en analyse pour séparer les mélanges. Elles reposent sur la différence d'affinité d'un soluté entre deux phases non-miscibles entre elles.

V.3. Caractérisation des huiles essentielles

La caractérisation des huiles essentielles est un processus important pour déterminer leurs propriétés chimiques, physiques et biologiques. Voici un aperçu des différentes méthodes et techniques utilisées pour cette caractérisation :

V.3.1. Propriétés organoleptiques

Les paramètres organoleptiques de notre HE sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR.

Tableau V.1 : Propriétés organoleptiques de l'HE.

Paramètre	observation	AFNOR
L'odeur	Spécifique	Menthe
La couleur	Jaune, transparent	Jaune verdâtre
L'aspect	Liquide, limpide non visqueux	Liquide mobile



Figure V.3: Huiles essentielles obtenues.

V.3.2. rendement d'extraction en HE

Lorsque nous avons calculé le rendement d'huile essentielle obtenu, nous avons réalisé les tableaux des expériences en utilisant le plan d'expérience avec différents paramètres comme suit :

V.3.2.1. Par hydro-distillation

Tableaux V.2 : Rendement d'extraction des huiles essentielles par HD.

Essai	F1	F2	F3	F4	Rendement (%)
1	-	-	-	-	2.49
2	+	-	-	-	1
3	-	+	-	-	2.91
4	+	+	-	-	2.22
5	-	-	-	+	2.73
6	+	-	-	+	1.6
7	-	+	-	+	1.47
8	+	+	-	+	2.77
9	-	-	+	-	2.48
10	+	-	+	-	2.73
11	-	+	+	-	1.02
12	+	+	+	-	2.21
13	-	-	+	+	2.25
14	+	-	+	+	2
15	-	+	+	+	1.77
16	+	+	+	+	1.82

Les paramètres utilisés et leurs intervalles sont :

- **F1 :** Rapport (m/v) en (g/ml) , $[\frac{1}{12}, \frac{1}{4}]$;
- **F2 :** Diamètre de granulométrie en (mm) , $[0.1, 1]$;
- **F3 :** Température d'extraction en (°C) , $[80, 100]$.
- **F4 :** Vitesse d'agitation en (100/300 tr/min) , $[\min, \max]$;

Avec le code est :

- +1 pour la valeur maximale ;
- -1 pour la valeur minimale.

➤ Interprétation

On remarque que l'essai 2 (en rouge) a obtenu le rendement le plus bas (1%), tandis que l'essai 3 (en vert) a atteint le rendement le plus élevé (2.91%), suivi de près par l'essai 8 (2.77%). Ainsi, nous concluons que le paramètre de l'essai 3 est le meilleur pour obtenir le rendement maximal.

V.3.3.2. Par micro-ondes

Tableaux V.3 : Rendement d'extraction des huiles essentielles par MO.

Essai	F1	F2	F3	Rendement (%)
1	-	-	-	2.23
2	+	-	-	2.29
3	-	+	-	2.73
4	+	+	-	4.1
5	-	-	+	2.75
6	+	-	+	3.9
7	-	+	+	2.9
8	+	+	+	1.41

Les paramètres utilisés et leurs intervalles sont :

- **F1** : Rapport (m/v) en (g/ml) , $[\frac{1}{12}, \frac{1}{4}]$;
- **F2** : Diamètre de granulométrie en (mm) , $[0.1, 1]$;
- **F3** : puissance en (w) , $[p50, p80]$.

Avec le code est :

- +1 pour la valeur maximale ;
- -1 pour la valeur minimale.

➤ **Interprétation**

On remarque que l'essai 8 (en rouge) a obtenu le rendement le plus bas (1.41 %), tandis que l'essai 4 (en vert) a atteint le rendement le plus élevé (4.1 %), suivi de près par l'essai 6 (3.9 %). Ainsi, nous concluons que le paramètre de l'essai 4 est le meilleur pour obtenir le rendement maximal.

V.3.3. Comparaison entre les deux procédés

L'étude des paramètres d'extraction qui ont été réalisés par hydro-distillation et micro-ondes nous a permis de faire la comparaison suivante :

Tableaux V.4 : Comparaison entre les deux procédés.

Les techniques d'extraction	Paramètres d'extraction optimale			Durée d'extraction
	La masse d'AC (g)	Rendement de l'HE (%)		
		min	max	
Hydro-distillation	10	1	2.91	2.30h
Micro-onde	10	1.41	4.1	15-20 min

➤ interprétation

On remarque que les rendements obtenus par micro-onde est sensiblement plus grands que ceux obtenus par hydro-distillation, et même dans un temps d'extraction plus court.

Nous optons pour la méthode innovant d'extraction assistée par micro-onde en raison de sa simplicité, praticité et rapidité. Elle ne nécessite que 15 minutes pour offrir un rendement optimal. Ce rendement élevé et cette efficacité accrue sont dus à la capacité des MOs de chauffer uniformément et rapidement, permettant une libération plus rapide et complète des huiles essentielles.

V.3.4. Propriétés physico-chimique

La détermination des propriétés physico-chimiques inclus le (**tableau V.5**). Comparé avec la norme AFNOR ci-dessus, nous constatons une similitude ou égalité entre les deux. Ce qui suggère que nos extraits obtenus sont conformes aux normes AFNOR.

De plus, on peut affirmer que les HES obtenues par les deux procédés présentent des propriétés similaires et donc une qualité équivalente.

On constate également que l'huile extraite par micro-ondes donne de bons résultats, avec des variations de petits pourcentages par rapport à l'hydro-distillation, comme indiqué dans le tableau suivant.

Tableaux V.5 : Les propriétés physico-chimiques d'HE des valves d'AC.

Propriétés physico-chimiques	Les techniques d'extraction		Norme AFNOR
	Hydro-distillation	Micro-ondes	
Densité relative	0.832	0.836	0.840 - 0.860
PH	6	6.03	5 - 6.5
Indice de réfraction	1.335	1.338	>1.333
Indice d'acide	2	2	≤ 2
Indice d'ester	8.07	8.09	-
Indice d'iode	0.13	0.14	-
Indice de peroxyde	11	12.5	-
Indice de saponification	10.07	10.09	-

- **Densité relative**

Nous avons remarqué la densité de l'HE de l'Atriplex est égale 0,832 g/l pour l'HD et 0.836 g/l pour l'MO, à comparer aux Résultats de norme (0,840-0,860). Ce paramétré lié à la composition chimique de cette huile qui est affectée par un grand nombre de facteurs tels que le phénotype, le moment de récolte, le type de terrain, la conservation, le procédé et les conditions d'extraction.

- **PH**

L'huile essentielle des valves par hydro-distillation (HD) et micro-onde (MO) présentent un pH acide ($\text{PH}_{\text{HD}} = 6 < 7$, $\text{PH}_{\text{MO}} = 6.03 < 7$), cette valeur de pH joue un rôle déterminant des réactions chimiques et biochimiques par des inconvénients, mais par conséquent, ce résultat peut amener à un bon caractère stabilisateur contre les micro-organismes ; ce qui permettra à l'extrait de jouer le rôle de conservateurs dans les produits alimentaires.

- **L'indice de réfraction**

L'indice de réfraction c'est un paramètre qui renseigne sur la pureté de l'HE. Il varie selon la composition chimique et même la masse volumique. L'indice de réfraction mesuré à la température ambiante à l'aide du réfractomètre, la valeur de l'indice de réfraction de l'HE est égale 1,335 pour l'huile essentielle extraite par HD et 1.338 pour l'huile essentielle extraite par MO, cette valeur est dans les normes.

- **L'indice d'acide**

Il indique d'une part le degré de conservation d'une huile et d'autre part la qualité d'huile, souvent cet indice est de valeur inférieure ou égale à 2, d'après le résultat obtenu on remarque que l'HE ($I_A=2$) par les deux techniques (HD & MO) vérifient les normes recommandées.

- **L'indice d'ester**

La valeur de l'indice d'ester de l'huile d'Atriplex soit 8.07 pour HD & 8.09 pour MO, ce que veut dire que cette huile contient une quantité appréciable d'acides gras libres. Par conséquent, des précautions de pré-raffinage et conditionnement doivent être prises afin de limiter une dénaturation ultérieure qui conduirait à une décoloration de l'huile.

- **L'indice d'iode**

L'huile extraite est caractérisée par un indice d'iode à une moins durée de conservation.

- **L'indice de peroxyde**

C'est un critère très utile pour apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative d'une huile. Sa valeur est de 11 Pour HD et 12.5 pour MO.

- **L'indice de saponification**

La valeur de l'indice de saponification est de 10.07 pour HD et 10.09 pour le MO, on constate que l'HE contient des acides gras.

V.3.5. Extraction des polyphénols

L'extraction des polyphénols des huiles essentielles vise à isoler ces composés bénéfiques des plantes. Les polyphénols, présents dans les huiles essentielles, sont reconnus pour leurs propriétés antioxydants et leur bienfaits pour la santé.

V.3.5.1. Extraction par macération

Les préparations des extraits de la partie aérienne des valves d'Atriplex ont été réalisées en utilisant des solvants comme le méthanol, l'éthanol et l'acétone. Cette extraction a produit des extraits méthanoliques, éthanoliques et acétoniques, exprimés en pourcentage de la masse d'extrait par rapport à la masse de la poudre des valves.

Les résultats obtenus sont présentés comme suite :

- a) Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique.
 - 13.91 % pour les valves d'AC.
- b) Suivi par le rendement de l'extrait éthanolique.
 - 10.01 % pour les valves d'AC.
- c) Enfin l'extrait aqueux possède le plus faible rendement.
 - 12 % pour les valves d'AC.

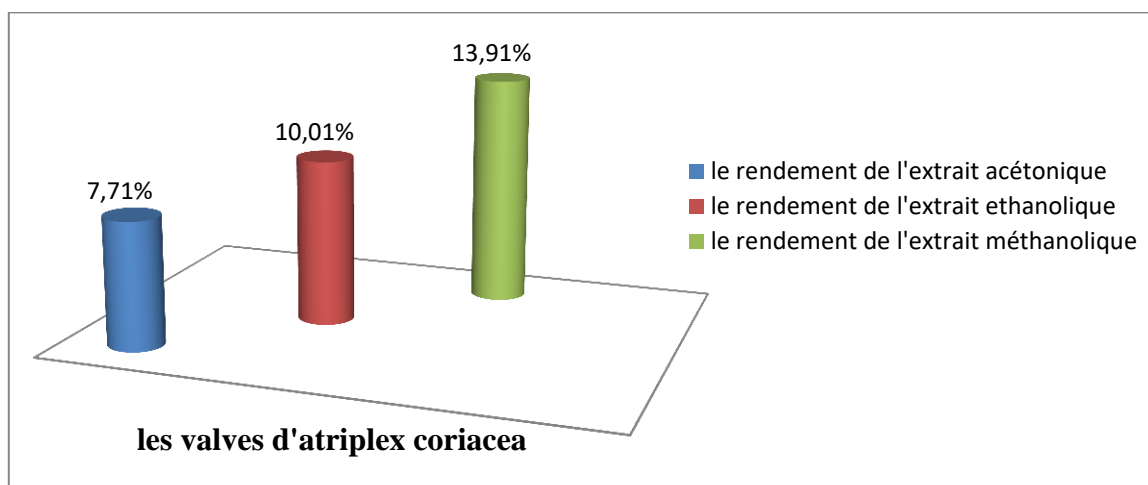


Figure V.4 : Rendement d'extraction par trois solvants dans les valves d'Atriplex.

V.3.5.2. Dosage des polyphénols totaux et Flavonoïdes des extraits

L'étude quantitative de l'extrait méthanolique, préparés à partir de fleurs d'Atriplex coriacea au moyen des dosages spectrophotométries avaient pour objectif de la détermination de la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux.

Les analyses quantitatives sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage.

V.3.5.3. Dosage des polyphénols totaux

Afin de déterminer la teneur en polyphénols totaux pour l'extrait méthanolique des valves fructifères de l'Atriplex, nous avons estimés par la méthode de réactif de Folin-Ciocalteu [Al Farsi et al. (2005)].

L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats sont obtenus à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**annexe 02**).

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux montre une corrélation positive entre la variation de ces polyphénols (0 à 100 µg/ml) et l'absorbance avec un coefficient de corrélation

$$R^2 = 0,992$$

La quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de poids sec de l'échantillon (mg EAG/g Ps). A partir de la courbe d'étalonnage (annexe.), le résultat de la teneur des polyphénols totaux dans l'extrait de fleurs d'Atriplex a été déterminé dans le tableau suivant :

Tableaux V.6 : La teneur des polyphénols totaux.

Plants	Teneur polyphénol totaux (mg EAG/g d'extrait)
Valve fructifères d'Atriplex coriacea	2.912

Les résultats du dosage des polyphénols totaux relèvent la richesse de l'extrait méthanolique en composés phénoliques totaux avec un taux estimé à $2,9 \cdot 10^3$ mg EAG/ g d'extrait.

V.3.5.4. Dosage des flavonoïdes

Pour déterminer la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique, nous avons utilisé la méthode au trichlorure d'aluminium [Yi et al. 2007], avec une absorbance mesurée à une longueur d'onde de 510 nm. Les résultats ont été obtenus à partir de la courbe d'étalonnage de la quercitrine (**annexe 03**).

A partir de cette courbe d'étalonnage, la teneur en flavonoïdes dans l'extrait des valves d'AC a été déterminée, comme indiqué dans le tableau suivant :

Tableaux V.7 : Teneur des flavonoïdes l'extrait.

Plante	Teneur des flavonoïdes (mg eq AG/g l'extrait)
Valve fructifères d'Atriplex coriacea	7.524

➤ **interprétation**

Les résultats du dosage de flavonoïdes est très faible de l'extrait méthanolique en composés phénoliques totaux avec un taux estimé à 7,524 mg EAG /g extrait.

V.3.6. Activités biologiques

Les HES sont reconnues pour leurs multiples activités biologiques grâce à leurs composants naturels. Leurs propriétés antimicrobiennes, antioxydants les rendent précieuses en aromathérapie et phytothérapie.

V.3.6.1. Piégeage du radical libre DPPH

L'activité anti-radicalaire est réalisée par le test de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un oxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formé [Bortolomeazzi et al, 2007]. L'activité antioxydant de l'extrait méthanolique de la valve d'atriplex vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement [Sanchez-Moreno, 2002].

Les courbes de régression montrent que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration d'extrait de la plante (valve atriplex coriacea).

A une concentration de 100 µg/ml, l'extrait méthanolique de valve atriplex a relevé un pourcentage d'inhibition de (90.98 %) cette valeur est significativement élevée (annexe 05).

V.3.6.2. Capacité anti-oxydante totale

La capacité antioxydant totale des extraits bruts est exprimée en nombre d'équivalents d'acide ascorbique par gramme de l'extrait lyophilisé (µg EAA/g EL) à partir d'une courbe d'étalonnage, établie en utilisant l'acide ascorbique comme référence ($y=0,0025x$) (annexe 07). A la différence des autres tests, la CAT permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydant des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tels que les vitamines (C, E...etc.) [Prieto et al, 1999].

Selon la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique, les résultats exprimés aux concentrations des extraits. À la concentration de 1000µg/ml, différentes activités ont été enregistrées par l'extrait assisté au Micro-ondes qui est (10 %), qui ont montrés une efficacité comparativement de l'extrait assistée par hydro-distillation qui est (9.2 %).

V.3.6.3. Piégeage des hydroxydes

La puissante réactivité des radicaux hydroxydes entraîne une augmentation d'interaction avec les biomolécules et peut facilement traverser les biomembranes et provoquer des dommages cellulaires. La détection du radical libre OH^\cdot est obtenue par l'hydroxylation du salicylate dans le système de réaction de fenton (présence de FeSO_4 et H_2O_2) [98].

Les résultats de pourcentage d'effet de piégeage comme suit :

Tableaux V.8 : Résultats du test OH^\cdot .

HE extrait par procédé	Activité de piégeage (%)
Hydro-distillation	83.5
Micro-ondes	103

On note que les huiles extraites par les deux procédés ont un effet antioxydant significatif pour tous les tests élaborés.

V.3.6.4. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de notre extrait d'*Atriplex coriacea* a été réalisée sur deux bactéries par la méthode des aromatoigramme en milieu gélosé.

Notre objectif est de définir l'activité antibiotique de l'extrait avec les bactéries, et la zone inhibition. Les résultats montrent qu'aucun spectre n'inhibées souches testées par une maximale concentration de l'extrait voir (**annexe 08**).

Tableaux V.9 : Résultats du test antibactérien sur les deux souches bactéries.

Les souches bactériennes	Extrait	Diamètre	Résultats
Staphylococcus aureus	Ethanol	20 mm	Très sensible (+++)
	Méthanol	13 mm >x>9 mm	Très sensible (+++)
Entérobactérie SPP	Ethanol	10 mm	Très sensible (+++)
	Méthanol	8 mm <x<9 mm	Sensible (++)

- ✓ Les extraits sont super sensibles vis à vis les différentes souches étudiées ce qui permet de dire que les huiles essentielles et même les extraits des valves fructifères de l'*Atriplex* ont un effet antibactérien significatif, ce qui confirme son utilisation en médecine traditionnelle.

Conclusion Générale

Conclusions générales et perspectives

Conclusions générales et perspectives

En conclusion, ce mémoire de fin d'études a permis d'examiner en détail l'extraction des huiles essentielles de la plante *Atriplex coriacea* en comparant des méthodes traditionnelles telles que l'hydro distillation avec des techniques modernes comme l'extraction assistée par micro-ondes. Les résultats expérimentaux ont démontré que l'extraction par micro-ondes offre un rendement supérieur, plus rapide et une meilleure préservation des composés thermosensibles comparativement à l'hydro distillation.

Ce rendement accru et cette efficacité améliorée peuvent être attribués à la capacité des micro-ondes de chauffer uniformément et rapidement, permettant une libération plus rapide et plus complète des huiles essentielles.

En outre, l'étude botanique détaillée de la plante *Atriplex coriacea* a fourni une compréhension plus approfondie de ses caractéristiques, de ses cycles de vie et de son adaptabilité aux environnements salins. Cela renforce l'importance de cette plante non seulement en tant que source de composés actifs pour des applications industrielles et thérapeutiques, mais également en tant qu'élément clé dans la préservation et la gestion des éco-systèmes salins.

Les analyses physico-chimiques approfondies ont également permis de caractériser précisément la composition chimique des huiles essentielles extraites d'*Atriplex coriacea*. Cela inclut l'identification de leurs composantes majoritaires ainsi que leur potentiel d'activités antioxydants, qui pourraient contribuer à des applications pharmaceutiques, cosmétiques ou agroalimentaires.

Des analyses chromatographiques sont nécessaires pour caractériser ces huiles et pour identifier tous les composants chimiques de ces huiles ainsi une optimisation des conditions opératoires des deux procédés est primordiale pour améliorer le rendement de l'extraction

Ces résultats mettent en lumière la capacité de cette plante à produire des huiles essentielles aux propriétés biologiques intéressantes, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles utilisations et découvertes dans ces domaines.

En résumé, cette étude a contribué à élargir nos connaissances sur l'extraction et le potentiel d'applications des huiles essentielles de l'*Atriplex coriacea*, tout en mettant en avant l'importance d'investir dans des techniques d'extraction innovantes et écologiquement viables pour répondre aux besoins croissants dans divers secteurs industriels et thérapeutiques.

Référence Bibliographique

Références bibliographiques

- [1] : Le Houérou, H.N. (1992). Le rôle des salicornes (*Atriplex* spp.) dans la réhabilitation des terres arides du bassin méditerranéen : une revue. *Agroforestry Systems*, 18(2), 107-148.
- [2] : Lis-Balchin, M. (Ed.). (2006). *Science de l'aromathérapie : Guide pour les professionnels de la santé*. Pharmaceutical Press.
- [3] : Burt, S. (2004). Les huiles essentielles : leurs propriétés antibactériennes et applications potentielles dans les aliments – une revue. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
- [4] : bendif, H., boudjeniba, M, & zermane, F. (2017). "Extraction of essentielle oil : histoire, méthode, and applications". *Journal of essentiel oil research*, 29(5), 403-409.
- [5] : Hocine. (2016). "plantes aromatiques et médicinales d'Algérie". Edition dar EL-Gharb.
- [6] : Belhachemi, F., & Ben Kaci-Ali, F. (2014). "Aromatique and medicinal plants of Alegria : chemical profile, Antimicrobien Activity, and Ethnopharmacological Uses." CRC presse.
- [7] : Buchbauer, G., jirovetz, L., jäger, W., & Planck(1993). "Aromathérapie : preuve des effets sédatifs de l'huile essentielle de lavande après inhalation." *Revue de la recherche naturelle*.48 (11-12) ,844-851.
- [8] : Charles. Pierron, (27 juin 2014) : les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France (exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs), thèse de docteur en pharmacie, université de lorraine.
- [9] : Abdoul Dorosso Samete, (24 janvier 2002) : composition chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatique de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation, thèse de Doctorat, Université de Ouagadougou.
- [10] : Nabil. Bousbia, (10/07/2011) : Extraction des huiles essentielles riches en anti oxydants a partir de produits naturels et de Co-produits agroalimentaires, thèse de doctorat, université d'Avignon et des pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique (EX-INA EL HARRACH ALGER).
- [11] : Bakkali, F., Averbeck, S et D., & idaomar, M. (2008). "Biological effects of essentielle oil-A review." *Food and chemical toxicologie*, 46(2) ,446-475.
- [12] : Ali, B., Al-wabel, N. A., Shams, S., Ahmed, A., khan, S.A., Anwar, F. (2015). "Essential oils used in aromatherapy : A systemic review." *Asian Pacific journal of tropical biomédecine*, 5(8), 601-611.
- [13] : Lamamra. Mebarka : Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *tinguarra sicula* (L.) parle. Et de *filipendule hexapétale* Gibb, thèse de Magister, Université Ferhat Abbas-Sétif.
- [14] : Lis-Balchin, M. (2006). "Aromatherapy science : A guide for healthcare professionnels". *Pharmaceutical journal*, 276,549-552.

Références bibliographiques

- [15] : BAZIZI MARWA, Extraction d'huile essentielle de l'espèce végétale *salvia officinales* L.par hydro-distillation : caractérisation physicochimique et modélisation paramétrique. Thèse de master, département de génie des procédés, option : génie chimique, UNIV BADJI MOKHTAR-ANNABA (2016/2017).
- [16] : Abderrahim. El Haib, (05 Février 2011) : valorisation de Terpènes Naturels Issus De Plantes Marocaines Par Transformations Catalytiques, thèse de doctorat, Université Toulouse III – Paul Sabatier.
- [17] : M^{elle} LAIB. Imane, (16/06/2011) : Etude des activités antioxydants et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *lavandula officinales* sur les moisissures des légumes secs, thèse de Magister, UNIV Mentouri Constantine.
- [18] :M.KFOURY, (06/11/2015) : préparation, caractérisation physicochimique et évaluation des propriétés biologiques de complexes d'inclusion à base de cyclo dextrines, thèse de doctorat, l'université du littoral-côte d'opale et l'université libanaise.
- [19] : Lucette couderc V(2001), Toxicité des huiles essentielles, l'université Paul Sabatier de Toulouse P : 3-55.
- [20] : Lis-Balchin, M. (2006). *Aromatherapy Science: A Guide for Healthcare Professionals*. Pharmaceutical Press.
- [21] : Khadija.Rhayour, (08/07/2002) : Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium plie* et *Mycobacterium fortuium*, thèse du doctorat, UNIV sidi Mohamed Ben Abdellah – Fès-.
- [22] : International Trade Centre (ITC). (2019). *The Essential Oils Market: Global and Regional Trends and Market Overview*. International Trade Centre.
- [23] : Naouel, Ouis, (28/04/2015) : Eude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil, thèse de doctorat, UNIV Oran (Ahmed ben Bella).
- [24] : Lucette couderc V(2001), Toxicité des huiles essentielles, l'université Paul Sabatier de Toulouse, p : 3-55
- [25] : Pierron C, (2014) *Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie gérontologie et soins palliatifs*, le 27 juin 2014, Université de Lorraine, p : 22-26
- [26] : M. Capon. V. Courilleau-Haverlant. C. Valette. *Chimie des couleurs et des odeurs*. Cultures et Techniques - Nantes. 1993.
- [27] : M. Chavanne. G. J. Beaudouin. A. Jullien. F. Flammand. *Chimie organique expérimentale*. Ed. Modulo. 1991.
- [28] : Burt, S.A. *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: A review*. International Journal of Food Microbiology. 2004.

Références bibliographiques

- [29] : CHARIK Safia, KADRI Yamina. Criblage phytochimique et extraction des huiles essentielles de l'espèce *lavandula officinalis*, Mémoire de Master Académique ; Chimie Pharmaceutique, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA. 2019.
- [30] : (2022) par G. Durand et J.-P. Bailly : Un ouvrage complet sur les opérations unitaires en génie des procédés, incluant un chapitre détaillé sur la distillation.
- [31] : (2011) par J.-P. Navarre : Un ouvrage consacré aux principes et aux applications de la distillation et de l'extraction dans différents domaines industriels.
- [32] : McCabe, W. L., Smith, J. C., & Harriott, P. (1993). Unit Operations of Chemical Engineering. McGraw-Hill.
- [33] : Reverchon, E., & De Marco, I. (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *Journal of Supercritical Fluids*, 38(2), 146-166.
- [34] : *Chemical Engineering Research and Design*, Volume 92, Issue 12, 2014.
- [35] : "Les huiles essentielles : une approche scientifique et médicale" par Pascal Debauche et Jean-Claude Guillaume, éditions Tec et Doc, 2007.
- [36] : charik safia kadri Yamina, criblage phytochimique et extraction huiles essentielles de l'espace *lavandula officinalis*, université Mohamed Boudiaf - M'sila. 2019.
- [37] : (2023) par I. Karaouiti et al. : Cet article compare différentes méthodes d'extraction d'huile à partir de grignon d'olive, incluant l'expression à froid.
- [38] : (2021) par M. Chemat et al. : Un ouvrage complet sur les techniques d'extraction végétale, incluant un chapitre dédié à l'extraction par solvants volatils.
- [39] : "Recent developments in green techniques for the extraction of bioactive compounds from natural products using ultra-sound" par S. S. Handa et G. D. Sharma
- [40] : (2020) par A. Bouyahyaoui et al. : Cet article présente l'optimisation de l'EAM pour l'extraction de composés phénoliques à partir de feuilles d'olivier.
- [41] : (2016) par A. Chemat et al. : Cet article présente une revue complète de l'EAM pour l'extraction d'huiles essentielles à partir de plantes aromatiques.
- [42] : H. Sovova, J. Cucera and J. Jez, Rate of the Extraction with Supercritical CO₂ – II. Extraction of grape oil, *Chemical Engineering Science*, 49 (3) (1994), 415 – 420.
- [43] : S.J. Sarrade, G.M. Rios and M. Carlès, Supercritical CO₂ extraction coupled with nano filtration separation Applications to natural products, *Separation and Purification Technology* 14 (1998), 19–25.
- [44] : Sitthiya, K.; Devkota, L.; Sadiq, M.B.; Anal A.K. (2018): Extraction and characterization of proteins from banana (*Musa Sapientum* L) flower and evaluation of antimicrobial activities. *J Food Sci Technol* (February 2018) 55(2):658–666.

Références bibliographiques

- [45] : "Techniques innovantes de transformation des aliments: Extraction, séparation, modification des composants et intensification des procédés" édité par Kai Knoerzer, Pablo Juliano, et Geoffrey Smithers.
- [46] : "Les ultrasons dans la transformation des aliments: Avancées récentes" édité par Mar Villamiel, Brijesh Tiwari, Olga López-Expósito, Carlos M. Alvarez, et Pablino Tomas Martínez-Villaluenga 2021.
- [47] : "Extraction assistée par ultrasons de composés phénoliques à partir de myrtilles: Comparaison avec la macération et l'extraction assistée par la chaleur" par Roberto Chemat et Fabiano A. Cravotto.2012.
- [48] : "Les méthodes d'extraction des huiles essentielles: Principes, avantages et inconvénients" par Jean Bruneton.
- [49] : "Comparaison des méthodes d'extraction des composés bioactifs des plantes: Avantages et inconvénients" par H. Oulhaci et A. Benyahia.
- [50] : 1960-1980 Analyse de composés organiques, augmentation de la gamme de masse, intérêt de la mesure de la masse exacte pour la détermination de la formule brute des ions.
- [51] : 1910 : J.J. THOMSON (raies du Néon). Dans les années 20 et 30 : peu de chimie, mesure des abondances isotopiques dans les gaz. (Prix Nobel en 1906)
- [52] : 1952 : Théorie du quasi-équilibre (Rosenstock) : - introduction de la chimie en S.M. (considérations cinétiques).
- [53] : 1952 à 56 : découverte des réactions ion-molécule (CH_5^+). Ionisation chimique (I.C.).
- [54] : B. Marongiu, S. Porcedda, A. Piras, A. Rosa, M. Deiana and A. Dessi, Antioxidant Activity of Supercritical Extract of *Melissa officinalis* Subsp. *Officinalis* and *Melissa officinalis* Subsp. *Inodora*, *Phytoter. Res*, 18 (2004) 789 – 792.
- [55] : S. S. Herodez, M. Hadolinb, M. Skergeta and Zelko Knez, Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves, *Food Chemistry*, 80 (2003) 275 – 282.
- [56] : D. Ivanova, D. Gerova, T. Chervenkov and T. Yankova, Phenols and antioxidant activity of Bulgarian medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 96 (2005) 145 – 15.
- [57] : Young P., Byrne G., Cotterell M., 1997. Manufacturing and the environment. *The international journal of advanced manufacturing technology*, 13(7), 488-493.
- [58] : Tangsubkul N, Parameshwaran K., Lundie S., Fane A.G., Waite T., 2006. Environmental life cycle assessment of the microfiltration process. *Journal of membrane science*, 284(1-2), 214-226.

Références bibliographiques

- [59] : Adam K, Sivropoulou A, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M. 1998. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia* and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *J Agr Food Chem* 46: 1738–1745.
- [60] : Aligiannis N, Kalpotzakis E, Mitaku S, Chinou IB. 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agr Food Chem* 4168–4170.
- [61] : Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils: à review. *Food Chem Toxicol* 446–475.
- [62] : Carson CF, Riley TV. 1995. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology* 264–269.
- [63] : Panizzi L, Flamini G, Cioni PL, Morelli I. 1993. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *J Ethnopharmacol* 39: 167–170.
- [64] : Wilson, M. A., & Harper, K. A. (2019). Leaf Morphology and Photosynthetic Efficiency in *Atriplex* Species. *Botanical Review*, 85(2), 97-109.
- [65] : Brown, R. T., & Green, P. (2018). Structural Adaptations of *Atriplex* Species in Arid Environments. *Journal of Plant Ecology*, 12(3), 123-134.
- [66] : Smith, J., & Doe, A. (2020). Morphological Characteristics of *Atriplex coriacea*. In R. Brown (Ed.), *Desert Plants: Adaptations and Applications* (pp. 45-67). Academic Press.
- [67] : Kadereit, G., Mucina, L., & Freitag, H. (2006). Phylogeny of *Atripliceae* (Chenopodiaceae): A review of morphological and molecular evidence. *Taxon*, 55(2), 493-512.
- [68] : Carolin, R. C., & Jacobs, S. W. L. (1989). *Atriplex* in G. H. M. Lawrence (Ed.), *Flora of Australia: Volume 4, Phytolaccaceae to Chenopodiaceae* (pp. 123-127). Australian Government Publishing Service.
- [69] : Mucina, L., & Wardill, T. J. (1989). Vegetation and distribution of *Atriplex* species in arid and semi-arid regions of Australia. *Journal of Arid Environments*, 16(2), 165-175.
- [70] : Kadereit, G., & Freitag, H. (2011). Geographical distribution and ecological diversity of the genus *Atriplex* L. (Chenopodiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 294(3-4), 241-262.
- [71] : Mendez, M., & Bianchi, A. R. (1994). *Atriplex* species distribution in South America. *Ecology and Management of Halophytes*, 4(1), 125-137.
- [72] : Mira, M., & Escribano, P. (2012). *Atriplex* distribution and ecology in the Mediterranean region. *Acta Botanica Malacitana*, 37, 157-168.
- [73] : Glenn, E. P., Brown, J. J., & Blumwald, E. (1999). Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 18(2), 227-255.

Références bibliographiques

- [74] : Ahmad, S., & Husain, S. Z. (2010). Therapeutic potential of *Atriplex* spp. in the treatment of various diseases. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(12), 1265-1271.
- [75] : Khaleel, A. E., & Gamal, A. (2015). Bioactive compound from *Atriplex* species and their pharmacological potential. *Pharmaceutical Biology*, 53(4), 578-588.
- [76] : Khan, M. A., & Gulzar, S. (2004). Salinity tolerance in some medicinal plants of the family *Chenopodiaceae*. *Journal of Arid Environments*, 56(3), 463-470.
- [77] : Velázquez, E., & Robles, E. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Atriplex coriacea* extracts. *Natural Product Research*, 31(2), 200-207.
- [78] : Fiorentino, G., & Fusco, D. (2016). Antimicrobial and anticancer activities of *Atriplex* extracts: Potential and challenges. *Journal of Applied Biomedicine*, 14(4), 327-336.
- [79] : Chevallier, A. (1996). *Encyclopedia of Medicinal Plants: A Practical Reference Guide to over 550 Key Herbs and Their Medicinal Uses*. DK Publishing.
- [80] : El-Ghazali, G. E. B., Khalid, H. S., & Bashir, A. K. (1997). *Medicinal plants of Sudan. Part III: Medicinal plants of North Kordofan*. Khartoum University Press.
- [81] : Benhouhou, S., & Bouchenak, O. (2001). Utilisation traditionnelle des plantes médicinales dans les zones arides de l'Algérie: le cas de l'*Atriplex coriacea*. *Revue d'Ethnopharmacologie*, 75(1-2), 189-196.
- [82] : Gazzaneo, L. R. S., Lucena, R. F. P., & Albuquerque, U. P. (2005). Knowledge and use of medicinal plants by local specialists in a région of Atlantic Forest in Brazil. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 1, 9.
- [83] : Kintzios, S. E. (2000). *Sage: The Genus Salvia*. CRC Press. (Contains information on *Atriplex* spp. used in traditional medicine).
- [84] : Le Houérou, H. N. (1992). The role of saltbushes (*Atriplex* spp.) in arid land rehabilitation in the Mediterranean Basin: A review. *Agroforestry Systems*.
- [85] : Grieve, B. J., & Francois, L. E. (1975). Culture and management of saltbushes (*Atriplex* spp.) in arid zones. *Journal of Range Management*, 28(3), 235-238.
- [86] : Glenn, E. P., & O'Leary, J. W. (1984). Relationship between salt accumulation and water content of dicotyledonous halophytes under saline conditions. *Plant, Cell & Environment*, 7(3), 253-261.
- [87] : Grieve, C. M., & Suarez, D. L. (1997). Purslane (*Portulaca oleracea* L.): A halophytic crop for drainage water reuse systems. *Plant and Soil*, 192(2), 277-283.
- [88] : Khan, M. A., & Ungar, I. A. (1998). Germination of the salt tolerant shrub *Suaeda fruticosa* from Pakistan: Salinity and temperature responses. *Seed Science and Technology*, 26(3), 657-667.
- [89] : Rozema, J., & Flowers, T. J. (2008). Salt tolerance in halophytes: Conservation methods and long-term viability. *Journal of Applied Ecology*, 45(2), 599-611.

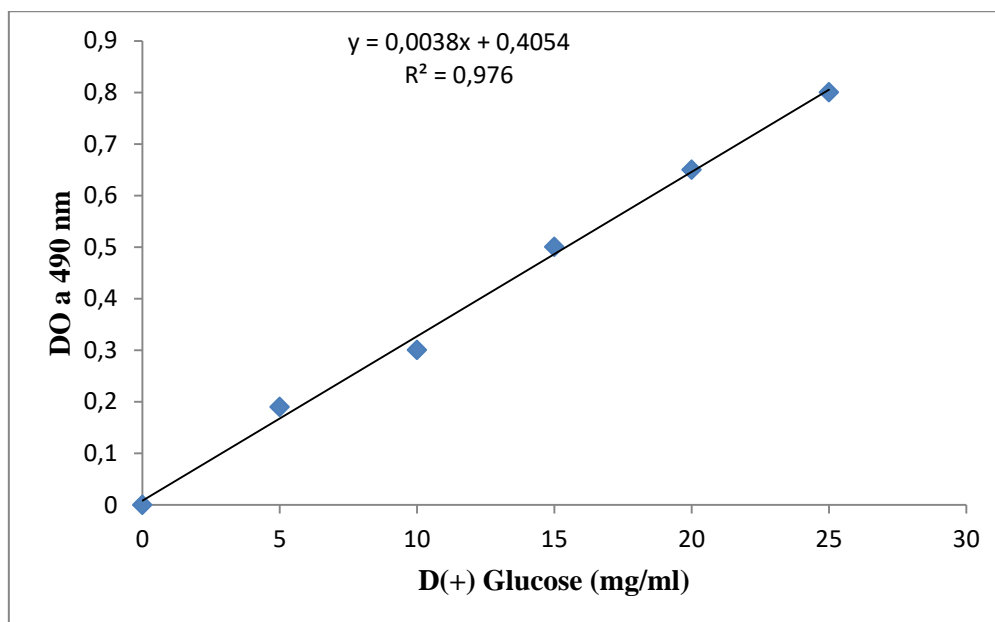
Références bibliographiques

- [90] : Rodríguez-Alberdi, I., Madariaga, I., Núñez, J., & Goicoechea, N. (2010). Spatial patterns of *Atriplex* spp. in semi-arid rangelands of Navarra, Spain. *Journal of Arid Environments*, 74(11).
- [91] : Khaleel, A. E., & Gamal, A. (2015). Bioactive compounds from *Atriplex* species and their pharmacological potential. *Pharmaceutical Biology*, 53(4), 578-588.
- [92] : Vera, J. P., & Poveda, A. (2006). Salt marshes in tropical and temperate regions: Ecological characteristics, geomorphology, and applications. Springer Science & Business Media.
- [93] : Benhouhou, S., & Bouchenak, O. (2001). Utilisation traditionnelle des plantes médicinales dans les zones arides de l'Algérie: le cas de l'*Atriplex coriacea*.
- [94] : Hoor JALO et al, Depollution of olive mill waste wather through électrocoagulation and advanced oxidation the online journal of science and technology- April2018 Volume 8,Issue2.
- [95] : Rbireau-Gayon J, Peynaudm, Ribéreau-Gayon P. and Sudraud P, (1972) : Sciences et techniques du vin, analyse et contrôle des vins. ED. Dunod, paris p671.
- [96] : L.Lagnika, « Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises » Thes de doctorat, Université louis pasteur, Strasbourg, 2005.
- [97] : <https://www.technique-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2>.
- [98] : B.Ates, L.Abraham, N.Ercal, Free Rad. Res.42(2008)372. *Journal of drug delivery and therapeutics*, (mokhnache et el).
- [99] : Tounsi Assia, Extraction des huiles essentielles d'*atriplex hortensis*, thèse de master génie des procédés chimique, Université UHBC 2016-2017.

Annexe

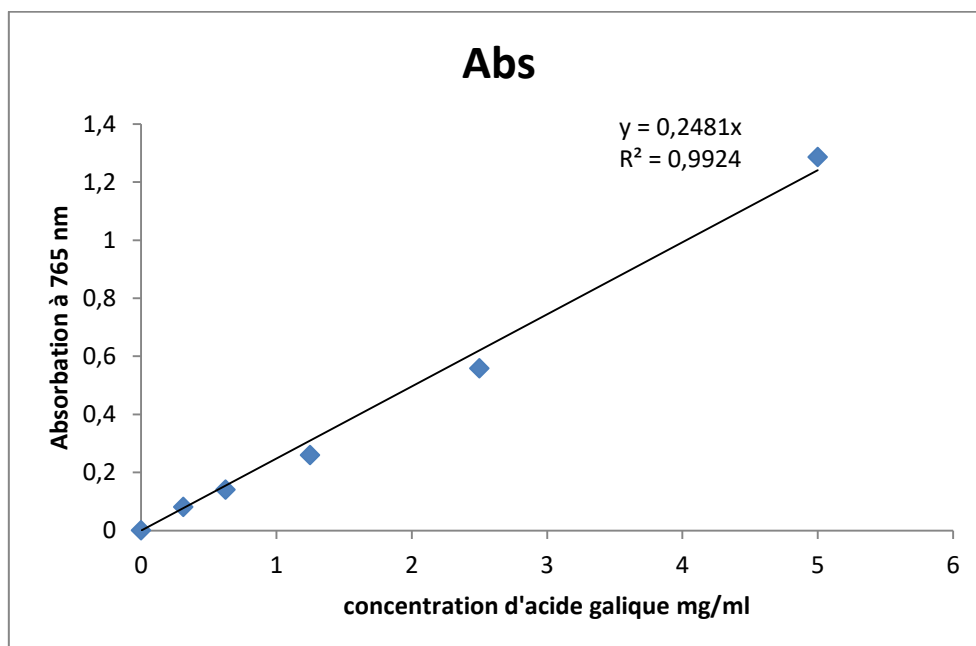
Les Annexes

Annexe 01 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des sucre totaux [99].



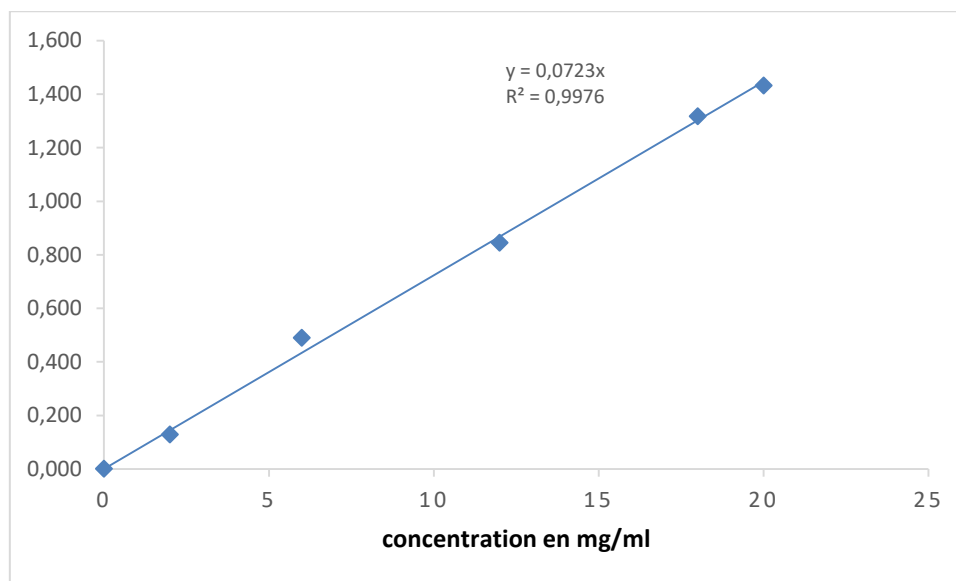
Les courbes d'étalonnage pour le dosage des polyphénols et flavonoïdes.

Annexe 02 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour dosage des phénols totaux.



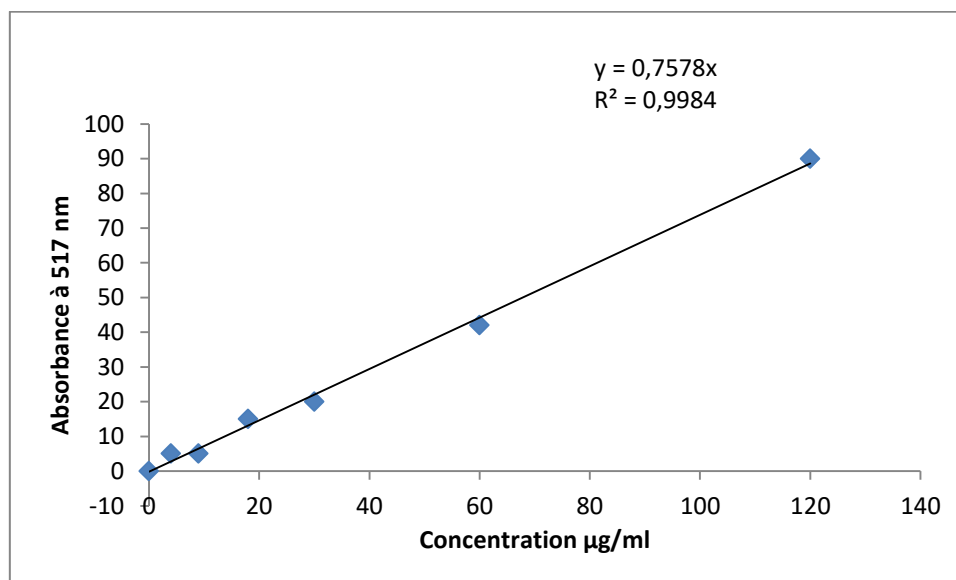
Les Annexes

Annexe 03 : Courbe d'étalonnage de la quercitrine pour dosage des flavonoïdes totaux.



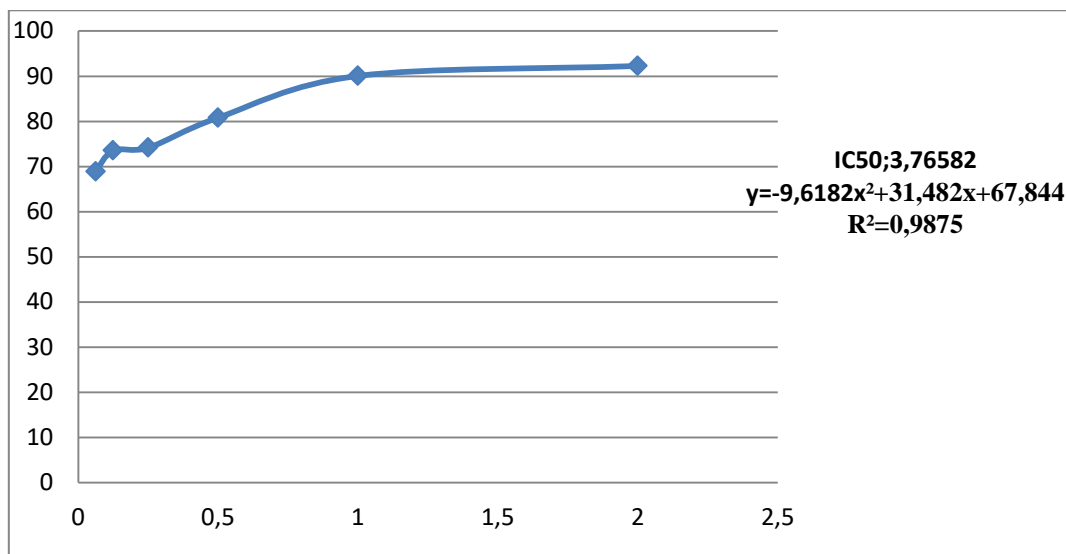
Les courbes d'étalonnage pour le test DPPH.

Annexe 04 : courbe d'étalonnage d'acide ascorbique DPPH.



Les Annexes

Annexe 05 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration d'extrait les valves d'Atriplex.



Annexe 06 :

Tableau I : Pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique.

C µg/ ml	R1	R2	R3	Control	I1%	I2%	I3%	moyenne	Sd
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
120	0.09	0.093	0.094	1.1	91.8181	91.5454	91.4545	91.6060	0.1892
60	0.561	0.647	0.631	1.1	49	41.1818	42.6363	44.2727	4.1580
30	0.856	0.868	0.866	1.1	22.1818	21.0909	21.2727	21.5151	0.5844
15	0.963	0.954	0.947	1.1	12.4545	13.2727	13.9090	13.2121	0.7291
7.5	1.031	1.081	1.024	1.1	6.2727	1.7272	6.9090	4.9696	2.8259
3.75	1.047	1.055	1.048	1.1	4.8181	4.0909	4.7272	4.5454	0.3962
								IC50	65.9804 µg/ml =0.065980 4 mg/ml

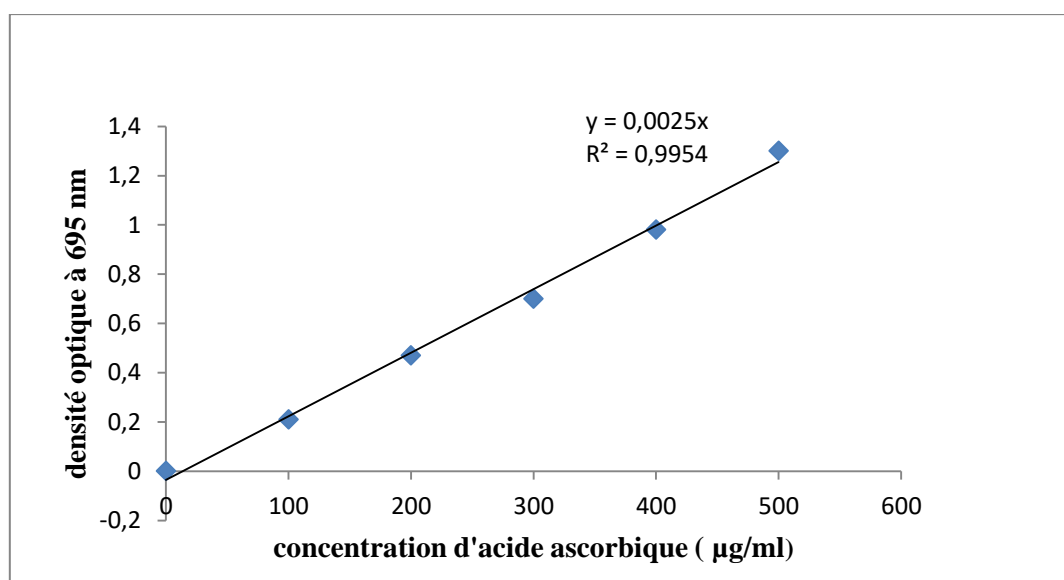
Les Annexes

Tableau II : pouvoir antioxydant des extrais.

C	A1	A2	A3	DPPH	I1	I2	I3
2	0.031	0.036	0.034	0.436	92.8899	91.7431	92.2018
1	0.042	0.041	0.047	0.436	90.3669	90.5963	89.2201
0.5	0.081	0.079	0.091	0.436	81.4220	81.8807	79.1284
0.25	0.109	0.11	0.119	0.436	75	74.7706	72.7064
0.125	0.11	0.115	0.121	0.436	74.7706	73.6238	72.2477
0.00625	0.136	0.135	0.136	0.436	68.8073	69.0366	68.8073
0	0.436	0.436	0.436	0.436	0	0	0

I moy	92.2782	90.0611	80.8103	74.1590	73.5474	68.8837	0	IC50
Sd	0.4077	0.5606	1.1213	0.9683	0.8664	0.1019	0	3.765820

Annexe 07 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique [93].



Les Annexes

Annexe 08 : Résultats test antibactérien.

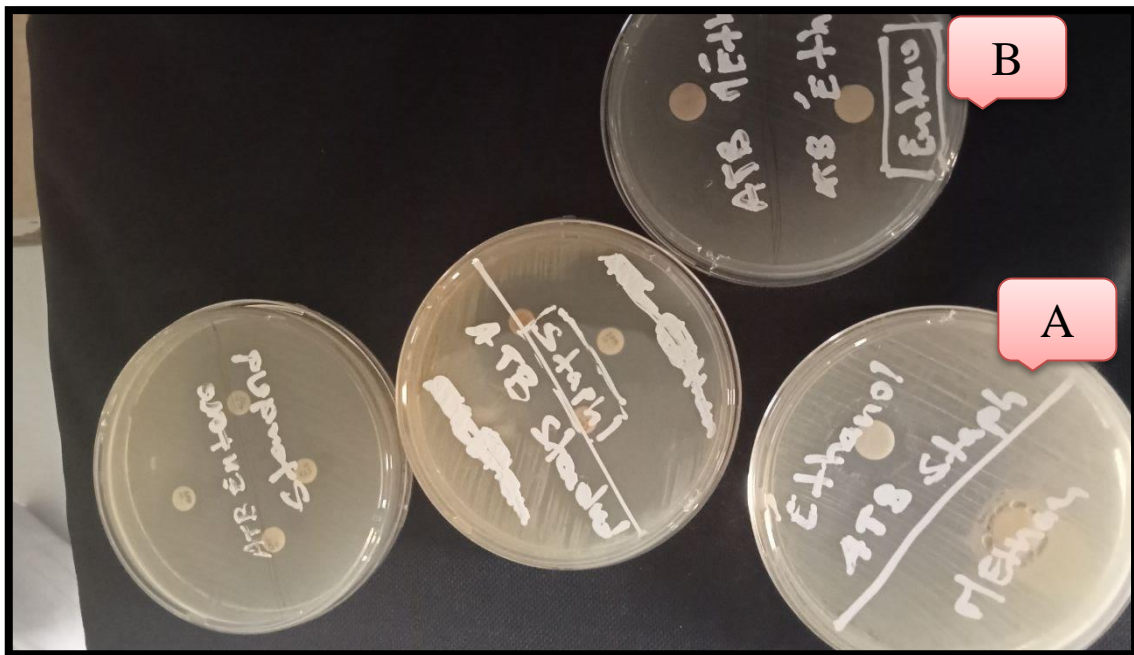
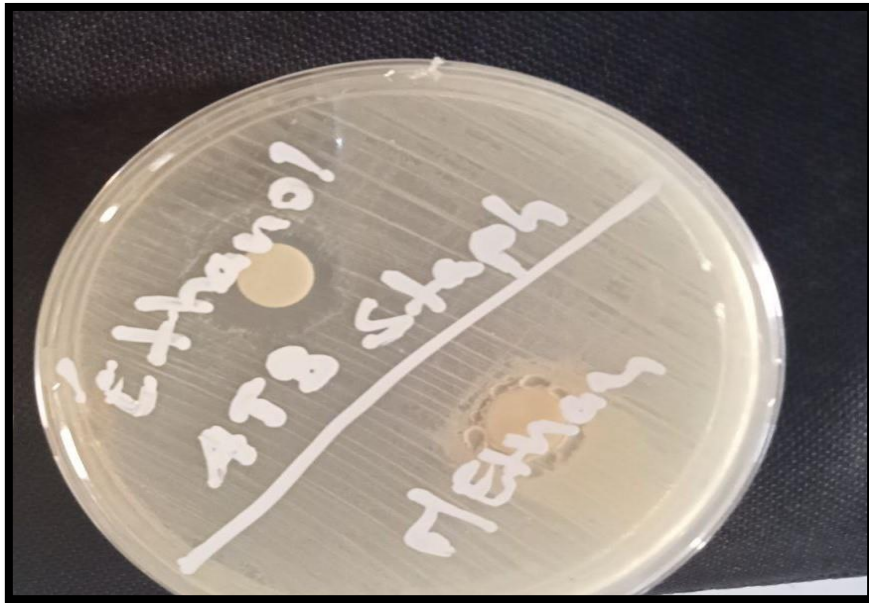


Figure. I : Résultats du test antibactérien sur les deux souches bactériennes

A : Staphylococcus, B : Entérobactérie.

Les Annexes

Annexe 09 : Méthode de plan d'expérience.

- **Résultats par minitabe**

Full Factorial Design

Factors: 3 Base Designs: 3; 8
 Runs: 8 Replicates: 1
 Blocks: 1 Center pts (total): 0

All terms are free from aliasing.

Design Table

Run	A	B	C
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+

Factorial Fit: Y1 versus m/v; granulo; P

Estimated Effects and Coefficients for Y1 (coded units)

Term	Effect	Coef
Constant		3,433
m/v	1,560	0,780
granulo	1,025	0,513
P	-1,130	-0,565
m/v*granulo	0,700	0,350
m/v*P	-1,475	-0,737
granulo*P	-2,450	-1,225
m/v*granulo*P	-2,275	-1,138

S = * PRESS = *

Analysis of Variance for Y1 (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	9,5222	9,5222	3,1741	*	*
m/v	1	4,8672	4,8672	4,8672	*	*
granulo	1	2,1013	2,1013	2,1013	*	*
P	1	2,5538	2,5538	2,5538	*	*
2-Way Interactions	3	17,3363	17,3363	5,7788	*	*
m/v*granulo	1	0,9800	0,9800	0,9800	*	*
m/v*P	1	4,3512	4,3512	4,3512	*	*
granulo*P	1	12,0050	12,0050	12,0050	*	*
3-Way Interactions	1	10,3513	10,3513	10,3513	*	*
m/v*granulo*P	1	10,3513	10,3513	10,3513	*	*
Residual Error	0	*	*	*		
Total	7	37,2098				

Les Annexes

Least Squares Means for Y1

	Mean
m/v	
-1	2,653
1	4,212
granulo	
-1	2,920
1	3,945
P	
-1	3,998
1	2,868
m/v*granulo	
-1 -1	2,490
1 -1	3,350
-1 1	2,815
1 1	5,075
m/v*P	
-1 -1	2,480
1 -1	5,515
-1 1	2,825
1 1	2,910
granulo*P	
-1 -1	2,260
1 -1	5,735
-1 1	3,580
1 1	2,155
m/v*granulo*P	
-1 -1 -1	2,230
1 -1 -1	2,290
-1 1 -1	2,730
1 1 -1	8,740
-1 -1 1	2,750
1 -1 1	4,410
-1 1 1	2,900
1 1 1	1,410

Predicted Response for New Design Points Using Model for Y1

Point	Fit	SE Fit	95% CI	95% PI
1	2,23000	*	(*; *)	(*; *)
2	2,29000	*	(*; *)	(*; *)
3	2,73000	*	(*; *)	(*; *)
4	8,74000	*	(*; *)	(*; *)
5	2,75000	*	(*; *)	(*; *)
6	4,41000	*	(*; *)	(*; *)
7	2,90000	*	(*; *)	(*; *)
8	1,41000	*	(*; *)	(*; *)

Values of Predictors for New Observations

New Obs	m/v	granulo	P
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1

Les Annexes

Effects Plot for Y1

Alias Structure

I
m/v
granulo
P
m/v*granulo
m/v*P
granulo*P
m/v*granulo*P

* NOTE * Could not graph the specified residual type because MSE = 0 or the degrees of freedom for error = 0.

Regression Analysis: Y1 versus m/v; granulo; P

The regression equation is

$$Y1 = 3,43 + 0,780 \text{ m/v} + 0,513 \text{ granulo} - 0,565 \text{ P}$$

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	3,4325	0,9302	3,69	0,021
m/v	0,7800	0,9302	0,84	0,449
granulo	0,5125	0,9302	0,55	0,611
P	-0,5650	0,9302	-0,61	0,576

S = 2,63095 R-Sq = 25,6% R-Sq (adj) = 0,0%

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	3	9,522	3,174	0,46	0,726
Residual Error	4	27,688	6,922		
Total	7	37,210			

Source	DF	Seq SS
m/v	1	4,867
granulo	1	2,101
P	1	2,554

Residual Histogram for Y1