

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Constantine 3
Faculté de Génie des Procédés
Département de Génie Pharmaceutique



N° d'ordre :

N° de série :

THESE

**POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT LMD
EN GENIE DES PROCEDES**

Option : Génie Pharmaceutique

Présentée par :

OUZZAR Mohammed Laid

**Etude Expérimentale et Modélisation de l'Hydrodistillation
appliquée aux systèmes pharmaceutiques**

Devant le jury :

Président	MENIAI Abdeslam-Hassen	Professeur	Université Constantine 3
Rapporteur	LOUAER Wahida	MCA	Université Constantine 3
Examineur	ZERMANE Ahmed	MCA	Université Laarbi Ben Mhidi
Examinatrice	BOUKHALFA Nora	MCA	Université Hedj Lakhdar
Examinatrice	BELAIB Fouzia	MCA	Université Constantine 3

Soutenue à Constantine le : 28/01/2017

قُلْ إِنَّ صَلَاتِي وَنُسُكِي وَمَحْيَايَ وَمَمَاتِي
لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ ﴿١٦٢﴾

Remerciements

*Ma gratitude sincère et mon profond respect vont d'abord à madame **Wahida LOUAER**, maitre de conférences à l'université 3 de Constantine, pour sa patience en premier lieu, son dévouement, ses précieux conseils et sa confiance, toute au long des années de ma formation.*

Le travail sous votre direction bienveillante est un honneur pour moi. Soyez vivement remerciée.

*Ma profonde reconnaissance et mon grand respect vont à mon maitre, monsieur **Abdeslam-Hassen MENIAI**, Professeur à l'université 3 de Constantine, qui me fait l'honneur en présidant le jury de soutenance. Ses conseils éclairés et ses encouragements constants m'ont guidé dans mes études et aussi dans mon comportement quotidien. Qu'il soit remercié chaleureusement.*

*Ma considération et mes remerciements vont également aux membres du jury : Monsieur **Ahmed ZERMANE**, maitre de conférences à l'université Laarbi ben Mhidi d'Oum El Bouaghi, Madame **Nora BOUKHELFA**, maitre de conférences à l'université Hedj Lakhdar de Batna et madame **Fouzia BELAIB**, maitre de conférences à l'université de Constantine 3 qui se sont donnés la peine de venir assister au développement de ma thèse. Ils m'ont honoré en acceptant de me consacrer une partie de leur temps pour examiner mon travail.*

*Je remercie Dr. **Nardjes BOUNEB** pour son aide dans l'exécution du programme de calcul.*

*Je profite de cette occasion pour envoyer mes remerciements aux professeurs **Marek ROGALSKI** et **Amadou DICKO** qui m'ont accueilli aimablement au sein de leurs laboratoires situés à l'université Paul Verlaine de Metz. Ma gratitude va en particulier à madame **Cristel Gilquin** qui m'a été d'un grand secours pour la réalisation d'une grande partie de mon travail expérimental.*

*De même je remercie Pr. **Kacem Chaouche** et son équipe de laboratoire de biologie de l'université Mentouri de Constantine, en particulier Dr. **Youcef-ali** et Dr. **Kara-ali** pour leur sincère collaboration scientifique.*

*Je n'oublie pas, par la même occasion, de remercier monsieur **Abdeslam**, ingénieur au secteur forestier de la ville d'El Kala qui m'a, énormément, aidé dans la cueillette des plantes étudiées.*

En fin et pour terminer, je remercie toutes les personnes qui m'ont aidé, de près ou de loin, dans mon travail.

Dédicace

A ma famille qui m'a soutenu tout au long de mes études

Mon père. Sans lui rien ne serait possible

Ma mère. La source de la vie

Sidra. La fleur de la maison

Mes frères et sœurs

*A mes amis : les deux Mouh, Foufa, Dahma, Kada, Lyes, Minou, bilbel et seyf
Merci de m'avoir entouré lors de ce travail*

A la mémoire de Souad Metarfi

*Etudier, c'est comme ramer à contre courant,
si vous n'avancez pas
vous reculez.*

Proverbe Chinois

Nomenclature

L. : Carle von **Linné**, naturaliste suédois qui a fondé les bases du système moderne de la nomenclature binomiale des plantes.

w/w : weight/weight (poids/poids). [**g/g**]

AFNOR : Association Française de normalisation.

GC/MS : Gas chromatography/Mass spectrometry.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

D_{eff} : Coefficient de diffusion effectif. [**m²/s**]

C_∞ : Quantité maximale extractible de l'huile essentielle.

T_{eau} : Teneur en eau par la matière végétale.

M_f : Masse de la matière végétale fraîche. [**g**]

M_s : Masse de la matière végétale sèche. [**g**]

R : Rendement en huile essentielle. [%]

M_{extrait} : Masse de l'extrait. [**g**]

M_{mv} : Masse de la matière végétale. [**g**]

C_A : Concentration de l'huile essentielle.

V_x : vitesse suivant la direction x. [**m/s**]

D_{AB} : Coefficient de diffusion de l'huile essentielle dans la particule végétale. [**m²/s**]

t : Le temps. [**s**]

L : Epaisseur de la feuille végétale. [**m**]

m_A : Masse de A cumulée en fonction du temps. [**g**]

A : Surface d'échange. [**m²**]

C_{A0} : Concentration initiale de l'huile essentielle dans le végétal.

m_{A0} : Masse initiale de l'huile essentielle dans le végétal. [**g**]

e : Degré d'extraction.

m_{A(∞)} : Masse maximale extractible de l'huile essentielle. [**g**]

e_{exp} : Degré d'extraction expérimental.

Liste des figures

Figure I. 1: Coupe transversale et micrographie de la feuille de Laurier noble.	23
Figure I. 2 : Coupe transversale et micrographie de la feuille de Romarin.	24
Figure I. 3 : Structure de l'époxyde mono-terpénique, le 1.8-Cinéole.	26
Figure I. 4 : Structures de certains constituants de l'essence de feuilles de laurier.	27
Figure II. 1 : Schéma du dispositif de l'hydrodistillation du type Clevenger utilisé.	43
Figure II. 2 : Schéma du principe de fonctionnement du dispositif de l'extraction	44
Figure II. 3 : Schéma de l'installation d'extraction dynamique.	53
Figure II. 4 : Teneur en huile essentielle des différents organes de Laurier.	58
Figure II. 5 : Composés majoritaires des essences des feuilles, fleurs et tiges.	60
Figure II. 6 : Effet du séchage sur la perte en eau des deux plantes.	61
Figure II. 7 : Effet du séchage sur la teneur en huile essentielle des deux plantes	62
Figure II. 8 : Effet du séchage sur le taux des composés majoritaires de l'essence de Laurier.	64
Figure II. 9 : Effet du séchage sur le taux des composés majoritaires de l'essence de la sauge.	65
Figure II. 10 : Evolution du rendement en huile essentielle des feuilles de Laurier noble.	69
Figure II. 11 : Influence du temps d'extraction sur le taux des composés majoritaires de l'essence de Laurier noble.	70
Figure II. 12 : Effet du débit de condensation sur le rendement de l'hydrodistillation.	71
Figure II. 13 : Influence du débit de condensation sur le taux des composés majoritaires de l'huile essentielle de Laurier Noble.	73
Figure II. 14 : Effet de la taille de particule sur le rendement de l'extraction.	75
Figure II. 15 : Influence de la taille de particule sur le taux des composés majoritaires de l'essence de Laurier noble.	78
Figure II. 16 : Influence de la taille de particule sur le taux des composés majoritaires de l'essence du Romarin.	80
Figure II. 17 : Influence du rapport de masse sur le rendement de l'hydrodistillation.	81
Figure II. 18 : Effet du rapport de masse sur le taux des composés majoritaires de l'essence de Laurier.	83
Figure II. 19 : Variation de la masse cumulée d'huile essentielle en fonction du temps extraite par hydrodistillation et CO ₂ supercritique pour les différentes tailles de particule.	84
Figure II. 20 : Taux des composés majoritaires de l'huile essentielle de Romarin, extraite par hydrodistillation et CO ₂ supercritique.	86
Figure II. 21 : Effet antibactérien des huiles essentielles, exemple des zones d'inhibitions des essences de Laurier noble et la Sauge.	89
Figure II. 22 : Effet du temps d'hydrodistillation sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.	90
Figure III. 1 : L'élément de volume de la feuille végétale.	95
Figure III. 2 : Variation du degré d'extraction Expérimental et Théorique en fonction du temps.	101

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Composition de l'essence de feuilles de Laurier extraite par hydrodistillation.	25
Tableau II.1 : Conditions opératoires concernant le choix de l'organe végétatif.	45
Tableau II.2 : Conditions opératoires concernant l'étude de la perte en eau.	45
Tableau II.3 : matrice d'expériences.	47
Tableau II.4 : Niveaux des variables.	48
Tableau II.5 : Différentes possibilités de combinaisons des paramètres d'hydrodistillation.	52
Tableau II.6 : Conditions opératoires de l'extraction par Hydrodistillation.	54
Tableau II.7 : Conditions opératoires de l'extraction par CO ₂ Supercritique.	54
Tableau II.8 : Composition des huiles essentielles des feuilles, fleurs et tiges.	59
Tableau II.9 : Effet du séchage sur la teneur en eau et en essence des deux plantes.	61
Tableau II.10 : Effet du séchage sur la composition de l'essence de Laurier.	63
Tableau II.11 : Effet du séchage sur la composition de l'essence de la Sauge.	63
Tableau II.12 : Matrice des effets	66
Tableau II.13 : Matrice des expériences au centre	67
Tableau II.14 : Calcul de l'erreur	67
Tableau II.15 : Influence du temps d'extraction sur la composition de l'essence de Laurier.	70
Tableau II.16 : Effet du débit de condensation sur la composition de l'essence de Laurier.	72
Tableau II.17 : Différentes valeurs du diamètre de particule	74
Tableau II.18 : Influence de la granulométrie sur la composition de l'essence de Laurier.	77
Tableau II.19 : Influence de la granulométrie sur la composition de l'essence du Romarin.	79
Tableau II.20 : Influence du rapport de masse sur la composition de l'essence de Laurier.	82
Tableau II.21 : Composition de l'essence du Romarin extraite par hydrodistillation et CO ₂ supercritique.	85
Tableau II. 22 : Activité antibactérienne des huiles essentielles des trois plantes	87
Tableau II. 23 : Variation du pouvoir antibactérien en fonction du taux de 1.8-Cinéol	87
Tableau II. 24 : Signification des symboles	88
Tableau III. 1 : Valeurs du coefficient de diffusion de quelques plantes	100

TABLE DES MATIERES

Introduction Générale	1
Partie I : Etude bibliographique	
Matériel végétal	4
I. Laurus nobilis	4
II. Salvia officinalis	5
III. Rosmarinus officinalis	5
Chapitre I : Extraction par Hydrodistillation	6
1. Généralités	6
2. Définition de l'hydrodistillation	6
3. Facteurs influençant l'hydrodistillation	7
3.1 Séchage et perte en eau	7
3.2 Broyage et structure histologique	9
3.3 Débit de condensation et température	10
3.4 Rapport de masse	11
3.5 Temps de l'hydrodistillation	12
4. Optimisation de l'hydrodistillation et plans d'expériences	13
4.1 Généralités	13
4.2 Coordonnées centrées réduites	14
4.3 Plan factoriel complet à deux niveaux	14
4.4 Criblage ou screening	14
4.5 Optimisation de l'hydrodistillation	15
5. Performance de l'hydrodistillation	16
Chapitre II : Huile essentielle de Laurus nobilis L.	18
1. Généralités sur les huiles essentielles	18
1.1 Définitions	18
1.2 Rôles des huiles essentielles chez les végétaux	19
1.3 Localisation dans les plantes	19
1.3.1 Poils sécréteurs ou trichomes	20
1.3.2 Cellules épidermiques	20
1.3.3 Cellules sécrétrices internes	20
1.3.4 Poches sécrétrices	20
1.3.5 Canaux sécréteurs	20
1.4 Composition chimique des huiles essentielles	21
1.4.1 Terpènes	21
1.4.2 Composés aromatiques	21
1.5 Huiles essentielles en Algérie	21
2. Huile essentielle de Laurus nobilis	22
2.1 Localisation dans la plante	22
2.1.1 Feuilles de Laurus nobilis	22
2.1.2 Feuilles de Rosmarinus officinalis	23
2.2 Composition chimique de l'huile essentielle de Laurus nobilis	24
3. Propriétés biologiques et thérapeutiques	28
3.1 Activité antibactérienne et antibiofilm	28
3.1.1 Techniques d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles	29
3.2 Activité antifongique	30
3.3 Activité antioxydante	31
3.4 Effet insecticide et bio-pesticide	32
3.5 Effet anti-inflammatoire et antalgique	33

3.6 Effet cicatrisant	33
3.7 Activité hypoglycémique	34
3.8 Effet anticonvulsivant et antiépileptique	34
3.9 Effet gastro-protectif	35
Chapitre III : Modélisation de l'Hydrodistillation	36
1. Généralités	36
2. Modèles mathématiques	36
2.1 Modèle d'extraction avec réaction chimique	37
2.2 Modèle de Sovova	37
2.3 Modèle diffusionnel	38
Conclusion Bibliographique	40
Partie II : Etude expérimentale	
Chapitre I : Matériels et méthodes	41
1. Matière première	41
1.1 Laurus nobilis L.	41
1.2 Salvia officinalis L.	42
1.3 Rosmarinus officinalis L.	42
1.4 Détermination du taux d'humidité	42
2. Hydrodistillation	42
2.1 Description du montage	42
2.2 Principe de l'extraction	43
2.3 Stockage des extraits	44
2.4 Rendement en huile essentielle	44
3. Choix de l'organe végétatif	45
4. Perte en eau par la matière végétale	45
5. Plan factoriel complet à deux niveaux 2 ³ et criblage	46
5.1 Paramètres d'étude	46
5.2 Modèle mathématique	47
5.3 Estimation de l'erreur expérimentale	48
6. Choix des conditions opératoires	48
6.1 Temps d'extraction	49
6.2 Débit de condensation	49
6.3 Facteur de division de la matière végétale ou granulométrie	49
6.4 Rapport de masse matière végétale/eau	50
7. Analyses des huiles essentielles	50
7.1 Préparation des échantillons	50
7.2 Analyse GC/MS	51
8. Expériences	51
9. Evaluation de la performance de l'hydrodistillation	52
9.1 Extraction par CO ₂ supercritique	53
9.2 Conditions opératoires	54
10. Activité antibactérienne	54
10.1 Diffusion sur gélose	54
10.2 Choix des souches	55
10.3 Milieu de culture	55
10.4 Réactivation des souches et préparation de l'inoculum	55
10.5 Activité antibactérienne	55
Chapitre II : Résultats expérimentaux et discussions	57
1. Choix de l'organe végétatif	57
1.1 Teneur en huile essentielle des organes végétatifs de Laurier	58

1.2 Composition chimiques des essences en fonction des différents organes	59
2. Effet de la perte en eau par la matière végétale	61
2.1 Influence de la perte en eau sur la teneur en huile essentielle	61
2.2 Influence de la perte en eau sur la composition des huiles essentielles	63
3. Plan factoriel complet 2 ³	66
3.1 Fonction de réponse	66
3.2 Validation du modèle	67
3.3 Conclusion	67
4. Effet du temps d'hydrodistillation	68
4.1 Effet du temps sur le rendement d'extraction	68
4.2 Effet du temps sur la composition chimique de l'huile essentielle	70
5. Effet du débit de condensation	71
5.1 Effet du débit de condensation sur le rendement d'extraction	71
5.2 Effet du débit de condensation sur la composition de l'huile essentielle	72
6. Effet de la taille des particules	74
6.1 Effet de la granulométrie sur le rendement d'extraction	74
6.2 Effet de la granulométrie sur la composition des huiles essentielles	77
7. Effet du rapport de masse	80
7.1 Effet du rapport de masse sur le rendement de l'extraction	81
7.2 Effet du rapport de masse sur la composition de l'huile essentielle	82
8. Evaluation de la performance de l'hydrodistillation	83
8.1 Rendement en huile essentielle	83
8.2 Composition chimique de l'huile essentielle	85
9. Activité antibactérienne	87
Conclusion Expérimentale	91
Partie III : Modélisation	
I. Modèle Mathématique	93
I.1. Introduction	93
I.2. Hypothèses	93
I.3. Modèle de diffusion dans la particule solide	94
I.4. Equation de continuité	95
II. Résultats numériques et discussions	100
II.1. Estimation du coefficient de diffusion D	100
II.2. Estimation du degré d'extraction	101
3. Conclusion	102
Conclusion Générale	103
Références Bibliographiques	
Annexes	

Introduction Générale

Le monde végétal qui est très vaste offre, depuis l'antiquité, les éléments nécessaires à la survie de l'espèce humaine. En effet, il lui fournit sa nourriture, de quoi s'abriter et le plus important, de quoi se soigner. L'homme a découvert que certaines plantes, qui ont attiré son attention soit par leur couleur, odeur ou forme, avaient le pouvoir de soulager des douleurs et même de guérir certaines maladies. D'autres plantes étaient utilisées à cause de leurs propriétés aromatiques pour la préparation des parfums et des produits destinés à l'utilisation dans l'esthétique du corps humain.

L'utilisation de ces plantes était faite généralement de manière rudimentaire (nature, infusion, cataplasme) sans transformation et traitement significatifs. Par contre, c'est surtout depuis les deux dernières décennies du XXe siècle à nos jours, que les traitements naturels connaissent un essor, effectivement la crédibilité de la médecine naturelle aux yeux du corps médical s'est accrue.

L'évolution de la science a démontré que ces plantes contiennent des substances ou des huiles essentielles qui sont responsables de leurs propriétés aromatiques et thérapeutiques. Elles sont constituées exclusivement de molécules odorantes volatiles contenues dans les organes producteurs des plantes et des arbres aromatiques, situés au niveau des feuilles et des fleurs, mais aussi des semences, des racines et des écorces. Chacune de ces parties produit des molécules différentes des autres. La proportion de ces huiles varie d'une plante à une autre et d'un organe végétatif à un autre (feuille, fleurs, tiges...).

Contrairement à la pensée populaire, les techniques d'analyse modernes ont montré que les huiles essentielles ne sont pas constituées d'un seul constituant, mais de plusieurs composés chimiques différents. Ces composés sont principalement des terpènes avec des structures de 10 à 15 carbones agencées selon une séquence précise.

Afin d'obtenir ces huiles, différentes méthodes d'extraction sont utilisées avec des succès divers, anciennes améliorées comme l'hydrodistillation ou récentes comme l'extraction par fluides supercritiques, les ultrasons et les microondes.

L'hydrodistillation à pression atmosphérique est une technique d'extraction solide-liquide, c'est la plus ancienne et la plus pratique. Elle consiste à transférer des huiles essentielles du substrat végétal vers l'eau ou la vapeur d'eau. Cette opération est basée généralement sur le phénomène de transfert de matière entre la phase solide (substrat végétal) et la phase fluide.

L'évolution de la technique d'extraction par hydrodistillation est motivée par l'optimisation des paramètres opératoires du procédé. Ces paramètres peuvent être liés au procédé lui-même ou au substrat végétal utilisé dans l'extraction.

La préparation du matériel végétal est une opération importante qu'il faut mener avec soin, avant de procéder à une opération qui vise à recueillir l'huile essentielle comme l'hydrodistillation. Car la gestion du procédé d'extraction et la qualité de l'extrait obtenu seront largement tributaires de cette préparation.

D'autre part, la description et la modélisation des phénomènes de transfert du soluté au cours de l'hydrodistillation répondent à deux objectifs : l'établissement d'un modèle représentatif des processus observés à l'échelle de la paillasse et l'intégration des connaissances acquises dans un modèle global pour constituer un outil complet de simulation du procédé. La modélisation du transfert de matière lors de l'extraction par hydrodistillation à partir de la matrice végétale est une opération complexe en raison de la nature même du substrat. Les résistances au transfert de matière dues à la structure végétale et la localisation des composés recherchés peuvent être déterminantes.

Le retour vers la nature en substituant les produits pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires synthétisés industriellement par des produits naturels (bios) obtenus à base des plantes et surtout des extraits et des huiles essentielles est le défi du siècle, car les produits synthétisés présentent des inconvénients qui concernent essentiellement leur potentiel impact sur la santé et l'environnement. Une nouvelle vague s'est mise en mouvement parmi les spécialistes à l'échelle mondiale, dans des laboratoires académiques comme dans l'industrie, qui ont répondu présent afin de relever le défi de trouver une alternative aux produits synthétisés ; tout cela sans perdre de vue l'objectif de développer des procédés respectueux de l'environnement.

De par sa géographie particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée dont on peut exploiter pour enrichir l'économie nationale et passer aux produits alternatifs.

L'objectif de cette étude est l'optimisation de l'extraction de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble algérien par hydrodistillation et l'interprétation des résultats obtenus par un modèle permettant la simulation de la cinétique de l'extraction par hydrodistillation d'une part, et l'estimation du coefficient de diffusion de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble algérien d'autre part.

Ce manuscrit est composé de trois parties :

La première partie est une revue bibliographique dans laquelle on présente un bref aperçu sur la matière végétale utilisée, essentiellement Laurier noble, ainsi qu'un résumé concernant les travaux réalisés dans ce même axe. Le résumé commence par l'extraction par hydrodistillation puis les propriétés de Laurier noble et il se termine par les travaux réalisés sur la modélisation.

La deuxième partie concerne le travail expérimental, elle commence par l'application d'un plan d'expériences pour le criblage des paramètres du procédé d'extraction après avoir auparavant déterminer l'organe végétatif le plus riche en essence et l'étude de l'influence du séchage sur sa teneur en huile essentielle , puis elle continue par l'exploration des effets des paramètres opératoires d'hydrodistillation sur le rendement d'extraction d'une part et sur la composition chimique des essences extraites d'autre part. Elle se termine par la comparaison du rendement de l'hydrodistillation avec celui du CO₂ supercritique dans le but d'évaluer la performance de l'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles et l'évaluation de l'activité antibactérienne des essences extraites. Cette partie de l'étude a pour but d'optimiser quantitativement et qualitativement l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

La dernière partie est consacrée à la modélisation du transfert de matière lors de l'extraction par hydrodistillation en employant un modèle diffusionnel, elle focalise sur l'estimation du coefficient de diffusion de l'huile essentielle de Laurier noble pour simuler la cinétique de l'extraction.

Matériel Végétal

I. Laurus nobilis L.

Histoire et traditions

En Grèce ancienne, l'oracle de Delphes utilisait le laurier dans ses rituels de divination. A Rome, on croyait que le dessèchement de l'arbuste annonçait un désastre. A la même époque, les feuilles de laurier étaient à la fois un médicament et une épice. Pendant les saturnales, des fêtes célébrées au mois de décembre, le feuillage était tressé en guirlandes. Le laurier était consacré à Apollon et à Esculape, respectivement dieux de la Santé et de la Médecine. En infusion, ses feuilles étaient consommées pour leurs effets révulsifs et toniques sur l'estomac et la vessie ; sous forme de cataplasme, elles passaient pour soulager les piqûres de guêpe ou d'abeille. Au I^e siècle de l'ère chrétienne, le médecin grec Dioscoride notait que l'écorce de laurier «*brise les pierres dans les reins et soulage les affections du foie*». [1]

Laurier noble, Laurier d'Apollon, Laurier commun, Laurier Franc ou Laurier à Jambon sont tous des noms communs de l'espèce appelée *Laurus nobilis* L. Ses noms vernaculaires en Algérie sont : Rend, Erend, Tasselt et Habb'rar pour ses fruits. [2] Arbuste ou arbre aromatique appartient à la famille des Lauracées, de 3 à 6 mètres de hauteur à feuilles entières et persistantes, vert foncé, de 8 à 12 cm de longueur, à petites fleurs mâles et femelles jaunes, qui apparaissent à partir du mois de Mars. Les fleurs mâles ont de 8 à 12 étamines, les fleurs femelles ont un ovaire uniloculaire, un style et un stigmate. Les baies de cette plante sont noires vernissées ressemblant à une petite olive, leur odeur est très aromatique, sa saveur est acre et légèrement amère. Originaire du bassin méditerranéen, le Laurier noble pousse dans des lieux humides et ombragés, mais également dans des jardins, où on le cultive comme condiment [1]. En Algérie, cette plante pousse spontanément dans le Tell, elle est aussi cultivée dans de nombreux foyers. C'est une des plantes les plus populaires en Algérie. Elle est en permanence verte, ses feuilles sont récoltées toute l'année, et sont l'organe le plus utilisé de la plante [2]. Plus qu'il fait partie de la cuisine à travers plusieurs pays au monde, le Laurier est principalement utilisé pour soigner les troubles de l'appareil digestif supérieur et les douleurs arthritiques. En outre, il stimule l'appétit et la sécrétion des suc gastriques. Utilisées comme condiment, les feuilles facilitent la digestion et l'assimilation des aliments. Le Laurier favorise l'apparition des règles.

Les feuilles trempées dans une huile neutre, sont employées sous forme d'onguent pour frictionner les muscles et les articulations douloureuses. Ajoutée à l'eau du bain, la décoction des feuilles apaise les membres douloureux. [1]

II. Salvia officinalis L.

Sauge officinale, Grande Sauge, Herbe Sacrée, Thé d'Europe ou Sauge Franche sont des noms communs de l'espèce appelée *Salvia officinalis* L. Ses noms vernaculaires en Algérie sont : Souaq ennebi, Kheyet ledjah, Naama et Tazzourt. Plante de la famille des Lamiacées, à racines ramifiées et ligneuses, à tige quadrangulaire dressée, blanche, peut atteindre de 20 à 60 cm de hauteur. Ses feuilles de 3 à 10 cm de longueur et de 1 à 5 cm de largeur sont opposées, ovales, et allongées, gris verdâtre, feutrées. La récolte des feuilles se fait généralement en été. Les fleurs de cette plante sont bleu ciel à bleu violet, ont 2 à 3 cm de longueur et groupées par 4 à 8 verticilles. Originaires des pourtours de la méditerranée, la Sauge affectionne les lieux ensoleillés, elle pousse en Algérie sur les terrains secs, ne se rencontre cependant que rarement à l'état spontané, elle est très cultivée et il en existe plusieurs variétés. [2]

III. Rosmarinus officinalis L.

Romarin, Rosemarie, Encensier et Herbe aux Couronnes sont tous des noms communs de l'espèce appelée *Rosmarinus officinalis* L. Ses noms vernaculaires en Algérie sont : Klil, Hatssa louban, Hassalban, Lazir, Aklel et Touzala. Arbrisseau appartient à la famille des Lamiacées, commun à tout le bassin méditerranéen, dont l'Algérie où on le trouve sur les coteaux arides et les collines. Il pousse dans des lieux secs et chauds et se multiplie facilement au printemps ou à l'automne. Cet arbrisseau d'environ 1 à 2 m de hauteur est toujours vert, ses fleurs sont d'un bleu pâle, maculées intérieurement de violet. Le Romarin dégage une odeur forte, analogue à celle de l'encens ; sa saveur est camphrée, légèrement amère. [2]

Chapitre I**Extraction par Hydrodistillation****1. Généralités**

Dans un premier temps, l'extraction des huiles essentielles s'est faite en plongeant la matière première dans l'eau qu'on porte ensuite à ébullition, c'est l'hydrodistillation. Par la suite, la matière première et l'eau ont été séparées : soit l'eau est placée au fond de la cuve avant d'être portée à ébullition pour qu'un courant de vapeur d'eau traverse la matière première étalée sur un plateau perforé, c'est l'entraînement à la vapeur; soit la vapeur d'eau est générée dans une chaudière à l'extérieur, technique dite vapo-distillation. Dans ces divers cas, la vapeur d'eau chargée d'huile essentielle est dirigée vers un condenseur, dans lequel circule de l'eau fraîche. Une fois condensées, eau et huile essentielle sont acheminées vers un essencier où on obtient deux liquides, plus ou moins non miscibles, eau et huile essentielle. Dans la plupart des cas, ces deux liquides se séparent par décantation. [3]

La grande majorité des huiles essentielles sont extraites du matériel végétal où elles sont produites par les différentes techniques de distillation. [4]

2. Définition de l'hydrodistillation

La distillation à l'eau ou l'hydrodistillation à pression atmosphérique est la technique la plus ancienne, la plus pratique et également la plus utilisée. Dans cette technique la matière végétale est submergée, elle est en contact direct avec l'eau bouillante. Le dispositif le plus souvent utilisé pour l'hydrodistillation est celui publié par Cleverger en 1928 ; il a subi plus tard plusieurs modifications. Un des appareils obtenus de ces modifications est décrit par Cocking et Middleton en 1935, il a été ensuite introduit dans la pharmacopée européenne et plusieurs autres pharmacopées. Ce dispositif est composé d'un ballon à fond rond dans lequel la matière végétale et l'eau sont placées, le ballon est relié à un condenseur vertical qui se termine par un tube gradué, pour la décantation et la détermination volumétrique de l'huile. Dans la partie inférieure du tube, une vanne à trois voies permet de diriger l'eau vers le ballon, pour construire un circuit fermé, car le système peut fonctionner en continu, ou diriger l'eau vers l'extérieur, pour séparer et récupérer l'huile essentielle à la fin du processus de distillation. [4]

L'opération peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le principe de recyclage est communément appelé cohobage, et le système est dénommé cohobe. [5]

L'extraction par hydrodistillation est très utilisée dans les laboratoires de recherche, principalement pour récupérer des petites quantités d'essence volatile, d'un matériel végétal, destinées à l'analyse ou l'identification et encore pour la détermination de la teneur en huile essentielle des plantes aromatiques et médicinales avant de les utiliser à grande échelle [4]. L'application industrielle de cette technique est faite d'une manière traditionnelle. Les industriels n'accordent encore que peu d'importance au contrôle et à l'optimisation du procédé. [6]

L'hydrodistillation ne cesse d'être utilisée comme moyen d'obtention des substances volatiles, elle est utilisée également avec un montage de type Clevenger pour l'extraction des huiles essentielles de plusieurs espèces végétales, dont on peut citer quelques exemples comme : *Ocimum americanum* [7], *Clausena anisata* [8], *Salvia officinalis* [9,10], *Rosmarinus officinalis* [11,12], *Laurus nobilis* [13], *Lavandula* [14], *Ocimum basilicum* [15] et *Foeniculum vulgare* [16].

3. Facteurs influençant l'hydrodistillation

Le rendement en huile essentielle de l'hydrodistillation est affecté par les paramètres caractérisant la matière végétale, ainsi que par les conditions opératoires du procédé. Le séchage et le broyage sont des opérations importantes qui dépendent essentiellement de la nature et la structure de la matière végétale.

Les conditions opératoires de l'hydrodistillation à pression atmosphérique sont : le débit de condensation, le ratio plante/eau et le temps de l'extraction.

Tous ces paramètres, qui sont liés au végétal ou au procédé, doivent être menés avec soin, car la qualité et la quantité du produit final de l'hydrodistillation sont largement dépendantes de ces facteurs.

3.1 Séchage et perte en eau

Le réglage de l'activité de la récolte de la matière végétale, d'une manière exacte, sur la capacité journalière de l'extraction par hydrodistillation au laboratoire est généralement difficile, spécialement pour les espèces végétales qui poussent dans des zones loin de l'expérimentateur qui va procéder à un stockage de la plante dans le laboratoire pour faciliter le travail.

A l'échelle industrielle, le traitement de la matière végétale au fur et à mesure, de sa récolte n'est pas pratique. Le stockage de la matière végétale est très important, dans la mesure où cette dernière n'est disponible qu'à des périodes particulières de l'année (cas des fleurs, fruits et même de certaines feuilles), on parle alors des cycles végétatifs de la plante.

Au cours du stockage, quelle que soit sa raison, la plante se dessèche et cette perte en eau par la matière végétale peut avoir un effet sur le rendement de l'extraction et même sur la composition des essences extraites.

Hamrouni et al [17] ont étudié l'effet de quatre différents types de séchage, tel que : le séchage à l'air libre, à l'étuve, par les micro-ondes et par infrarouge, sur le rendement de l'hydrodistillation et la composition chimique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*. Les résultats ont montré que le séchage à l'air libre à température ambiante et le séchage par infrarouge à 45°C présentent les rendements les plus élevés. Ainsi, le taux des composés majoritaires augmente avec le séchage à l'air libre.

Rahimmalek et al [18] ont aussi comparé l'effet de cinq différents modes de séchage, tel que : le séchage à l'ombre et au soleil, le séchage à l'étuve, le séchage par les micro-ondes et le séchage par la lyophilisation, sur le rendement de l'hydrodistillation des feuilles de *Thymus*. Le rendement le plus élevé en huile essentielle est obtenu à partir des feuilles séchées par lyophilisation. Le séchage à l'ombre et par les micro-ondes ont un effet négatif sur la réponse de l'extraction, le rendement diminue de 1.04 % à 0.91 % et 0.89 % pour une matière végétale séchée à l'ombre et par les micro-ondes respectivement.

Zrira et al [19] ont étudié l'effet du séchage des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* à l'air libre pendant une semaine ; le mode de séchage choisi a augmenté le rendement de l'extraction sans aucune modification dans la composition des huiles essentielles extraites.

L'étude faite par Bourkhiss et al [20] a montré que la teneur en huile essentielle des feuilles de *Thuya de berberie* augmente significativement avec le séchage à l'ombre et au soleil pendant respectivement 6 et 9 jours. Par contre, dans les mêmes conditions, la composition chimique des essences n'est pas affectée.

Misharina [21] a trouvé que l'huile essentielle de *Laurus nobilis* garde la même composition chimique pendant 12 mois de stockage à l'obscurité et à la lumière.

L'augmentation de la concentration en huile essentielle pendant les premiers jours de séchage, à l'air libre, à l'ombre ou au soleil, peut être expliquée par une activité biologique. La biosynthèse des huiles essentielles continue et s'accélère après la récolte de la plante en répondant au stress hydrique. Après une certaine durée de séchage, toutes les activités de biosynthèse s'arrêtent suite à une forte déshydratation qui provoque la mort définitive de la plante. La perte des composés volatils de l'huile essentielle par évaporation n'est plus donc compensée, ce qui explique la baisse des rendements des extractions. [19,20]

Le séchage naturel à l'air libre, à l'ombre ou au soleil, est un mode de séchage gratuit, respectueux de l'environnement et efficace pour la conservation et le stockage de la matière végétale. [20]

Même si le séchage paraît commun à de nombreuses espèces aromatiques, il faut, cependant, éviter une généralisation trop hâtive. Des exceptions peuvent exister, comme pour le cas du Ciste Ladanifère, la teneur en huile essentielle reste constante pendant plusieurs semaines. Ainsi pour le cas de certains conifères, le séchage n'a que peu d'importance sur la quantité et la qualité de l'huile recueillie. [22]

3.2 Broyage et Structure histologique

La localisation des structures d'élaboration ou de stockage des huiles essentielles qui peut être superficielle ou interne dans le substrat végétal a une influence sur le déroulement de l'hydrodistillation, c'est-à-dire sur les mécanismes successifs mis en jeu au cours de l'opération.

Pour les structures superficielles, la membrane externe ou la cuticule qui constitue la seule barrière à la libération de l'essence est vite rompue à l'ébullition, les composés volatils sont aussitôt évaporés.

Lorsque les huiles essentielles sont sous-cutanées, elles doivent d'abord diffuser à travers le tissu végétal avant d'entrer en contact avec l'eau ou sa vapeur [5] ; alors, pour améliorer le contact il faut que la matière végétale subisse un broyage rompant l'obstacle formé par les tissus végétaux.

Les cellules contenant l'huile essentielle d'une plante se trouvent dans le substrat végétal avec des types différents de structure histologique [23]. La nature de ces structures et la localisation des cellules sécrétrices de l'huile essentielle jouent un rôle important dans la classification des plantes, elles permettent l'affiliation de ces dernières à des familles botaniques bien déterminées. [24]

L'hydrodistillation est une technique d'extraction qui exige un broyage au préalable de la matière végétale avant qu'elle soit mise à l'opération. Ce broyage, bien qu'il facilite le remplissage du

ballon et le chargement mécanique des alambics à l'échelle industrielle, il améliore aussi, dans la plus part des cas, le rendement de l'extraction. Cette amélioration vient par l'augmentation de la surface d'échange entre le substrat végétal et l'eau, et la destruction des tissus végétaux et des cuticules qui constituent des obstacles devant la libération du soluté, ce qui diminue automatiquement les résistances internes au transfert de matière.

Par ailleurs, un broyage, s'il n'est pas bien étudié, peut avoir des retombées négatives sur le rendement de l'extraction. Un broyage trop fin peut engendrer une perte de composants volatils lors de l'opération et il peut aussi réduire le contact solide-fluide nécessaire pour un transfert de matière. [25]

La vitesse de vaporisation des composés volatils d'un matériel végétal durant l'hydrodistillation est connue par la variation de leur concentration en fonction de la résistance interne à la diffusion dans les tissus végétaux. [26]

Haj Ammar [27] a trouvé que la granulométrie a un effet négligeable sur le rendement de l'extraction de l'huile essentielle de *Myrtus communis* par hydrodistillation.

Les expérimentations concernant l'effet de la granulométrie sur le rendement de l'extraction par CO₂ supercritique [25] et par solvant organique [28] ont montré que le rendement en huile essentielle augmente avec la diminution de la taille de particule. Cependant, pour les particules les plus fines, le rendement diminue ; cette diminution est probablement due à la perte de certains composés volatils sur les couteaux du broyeur lors du broyage plus intense nécessaire pour obtenir les plus petites particules. [28]

3.3 Débit de condensation et Température

Le débit de condensation est la quantité de vapeur chargée en huile essentielle condensée en fonction du temps ; il dépend essentiellement de deux facteurs : le flux de vapeur sortant du ballon et la température de la colonne de condensation. Cette température est généralement contrôlée dans les installations d'hydrodistillation à l'échelle industrielle.

Le flux de vapeur sortant du ballon chauffé est lié à la température fournie par le chauffe-ballon. Celle-ci est contrôlée par le régulateur de puissance intégré dans l'équipement de chauffage. Par conséquent, le débit de condensation dépend directement de la puissance de chauffe.

L'étude de l'effet du débit de condensation sur la réponse de l'hydrodistillation est faite par plusieurs chercheurs dans l'intérêt d'optimiser ce paramètre. Cette optimisation a pour but de

réduire la consommation de l'énergie et minimiser le coût de l'opération tout en améliorant le rendement en huile essentielle et la qualité du produit final, car l'élévation de la température du chauffage peut engendrer des risques de dégradation thermique du soluté [29].

Dans le but de minimiser les dépenses en énergie, Herzi [28] a testé l'effet de quatre puissances de chauffage pour l'hydrodistillation de *T. Articulata* ; il a trouvé que l'extraction avec un faible débit de condensation (<0.02 ml/s) donne un rendement d'extraction faible. Ainsi, un flux de vapeur élevé permet d'augmenter la capacité du système à extraire les huiles essentielles. Il a expliqué aussi les baisses dans le rendement en utilisant un débit de plus de 0.045 ml/s par la diminution du temps de séjour du condensat dans le décanteur, ce débit ne laisse pas le temps aux huiles essentielles pour se séparer du liquide. [28]

Svetomir et al [30] ont étudié aussi l'effet du débit de condensation (de 0.13 ml/min à 12 ml/min) sur l'extraction des fruits de *Juniperus communis*. Ils ont trouvé que le rendement de l'extraction augmente avec le débit et que le flux de vapeur a un effet sur la composition chimique de l'huile essentielle. Le taux du α -Pinène diminue et celui du Myrcène augmente. Cette variation dans la composition est peut être due à la transformation du Myrcène en α -Pinène provoquée par le chauffage.

Rouatbi [31] a trouvé que le rendement de l'extraction augmente avec le débit de condensation. Par contre, les huiles essentielles extraites à 100°C et 175°C sont de qualité meilleure que celles obtenues à température supérieure à 250°C à cause de la dégradation des composants de l'huile essentielle par le sur-chauffage.

L'augmentation progressive du débit de condensation au cours de l'extraction a permis d'obtenir un rendement optimal comparé à ceux obtenus avec un débit élevé et constant tout au long de l'opération. Le démarrage de l'hydrodistillation avec un débit faible donne un meilleur rendement en huile essentielle. [32]

3.4 Rapport de masse

Ce paramètre a été étudié par plusieurs chercheurs dans le but de ne pas gaspiller l'eau et d'optimiser le rendement de l'hydrodistillation. Dans ce contexte, les travaux ont porté sur l'identification du volume d'eau minimal nécessaire pour que toute la surface extérieure de la matière végétale soit en contact avec l'eau, autrement dit, la matière végétale doit être totalement submergée pour obtenir un système d'ébullition solide-liquide efficace. La forme de la matière

végétale joue aussi un rôle très important dans l'obtention de ce système. Donc, la quantité d'eau dépend d'une manière ou d'une autre de la forme du solide végétal.

Herzi [28] a trouvé qu'une quantité élevée d'eau est néfaste pour le rendement, il a expliqué ce résultat par la perte des solutés hydrosolubles dans les volumes les plus importants d'eau.

Hazwan et al [33] ont étudié l'effet du rapport de masse sur l'extraction de l'huile essentielle de Citronella dans une unité d'hydrodistillation à l'échelle pilote. Les résultats ont montré aussi que le rendement de l'extraction devient plus important en diminuant la quantité de l'eau. Néanmoins, la diminution de la quantité de l'eau au dessous d'une certaine valeur a un effet négatif sur la réponse de l'hydrodistillation. Cette diminution en rendement est peut être due à la réduction du contact solide-liquide. [33]

La chute dans le rendement en huile essentielle de *Juniperus communis* remarquée en augmentant la quantité d'eau (1/10.w/w) peut être attribuée à la dissolution et/ou la transformation hydrolytique des composés de l'essence, qui peuvent être provoquées par l'élévation du taux de solvant. [30]

3.5 Temps de l'hydrodistillation

La durée optimale d'une opération d'hydrodistillation est le temps nécessaire pour extraire la totalité de l'huile essentielle contenue dans une plante. Cette durée varie selon la vitesse de l'extraction qui dépend des autres paramètres de l'hydrodistillation comme la granulométrie, le débit de condensation ou le ratio soluté/solvant. [30]

L'épuisement total en huile essentielle d'un matériel végétal traité par hydrodistillation demande une durée trop longue ; en pratique, pour optimiser ce paramètre, on ne procède pas jusqu'à l'épuisement de la plante, mais on distille tant que le coût de la poursuite de l'opération est justifié par le rendement, car le débit de récupération de l'essence baisse rapidement mais le coût de l'hydrodistillation reste constant.

Concernant la qualité de l'huile essentielle, la composition chimique n'est pas forcément constante pendant toute la durée de l'hydrodistillation. La diffusion des composés du soluté à travers les tissus végétaux où il est stocké varie d'un composé à un autre. Ces mêmes composés peuvent être situés dans des structures différentes dans le substrat végétal, ils n'ont pas la même trajectoire de diffusion intra-particulaire. Il ne faut pas négliger aussi l'effet de la durée de l'ébullition sur la

plante, l'eau bouillante peut provoquer des transformations à la matière végétale au cours de l'extraction.

Le temps nécessaire pour extraire la même quantité de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par hydrodistillation assistée par les micro-ondes est beaucoup plus court que celui pris par hydrodistillation classique. L'analyse microscopique des échantillons du substrat végétal pris au cours de l'extraction par les deux méthodes a montré que les micro-ondes provoquent une rupture rapide des parois des glandes sécrétrices, ce qui diminue, d'une manière importante, le temps optimal de l'extraction. [34]

Herzi [28] a suivi le rendement de l'extraction de l'huile essentielle de *T. Articulata* en fonction de la durée de l'hydrodistillation. Il a divisé la cinétique de l'extraction en deux étapes : La première, rapide, correspond à l'extraction du soluté situé à la surface du solide. La deuxième, moins rapide, correspond à l'extraction du soluté situé au cœur du solide.

L'activité antioxydante ainsi que la composition chimique de l'huile essentielle des grains d'*Anethum graveolens* ont été également influencées par la durée de l'hydrodistillation. Les huiles essentielles extraites à deux et à sept minutes ont présenté un taux élevé en D-Limonène et P-Cymène. Ainsi, l'échantillon de l'essence obtenu après deux minutes d'extraction a présenté un pouvoir antioxydant supérieur aux autres échantillons. Le temps d'extraction peut être utilisé comme facteur pour obtenir une huile essentielle avec une composition chimique désirée qui peut être utilisée à des fins thérapeutiques spécifiques. [35]

4. Optimisation de l'hydrodistillation et Plan d'expériences

4.1 Généralités

Le grand nombre des paramètres influençant une expérimentation ou un procédé de fabrication est devenu un problème complexe dans la recherche de la réponse optimale du procédé, car cette recherche nécessite l'utilisation maximale des données de ces paramètres pour avoir un maximum d'informations sur la réponse. Les plans d'expériences servent à résoudre cette problématique d'optimisation et permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Leur application consiste à trouver le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt ou réponse (y) et les variables (x_i) qui ont une influence sur cette grandeur. Ce lien peut être mis sous la forme mathématique $y = f(x_i)$. Le succès de la démarche des plans d'expériences réside dans la possibilité d'interprétation des résultats expérimentaux avec un effort minimal sur le plan expérimental : la minimisation du nombre nécessaire d'expériences permet un

gain en temps et en coût financier. Le choix des essais est fondamental pour l'obtention d'une meilleure précision du plan d'expériences. [36]

4.2 Coordonnées centrées réduites

Lorsqu'on attribue la valeur (-1) au niveau bas et la valeur (+1) au niveau haut des facteurs influençant la réponse, on effectue deux modifications importantes. On change l'unité de mesure par une nouvelle unité appelée « pas » et on déplace l'origine des mesures par une nouvelle origine, notée zéro, différente de l'origine exprimée en unités courantes des facteurs. Ces deux modifications entraînent l'introduction de nouvelles variables qu'on appelle variables centrées réduites. L'intérêt des variables centrées réduites est de pouvoir présenter les plans d'expériences de la même manière quels que soient les domaines expérimentaux retenus et quels que soient les facteurs, ce qui donne une grande généralité de présentation à la théorie des plans d'expériences. Le passage des variables d'origine A aux variables centrées réduites X, est donné par la formule suivante (A_0 étant la valeur centrale en unités courantes) [37] :

$$X = (A - A_0)/pas \quad (I.1)$$

4.3 Plan factoriel complet à deux niveaux

Les plans factoriels complets à deux niveaux sont les plus simples, ils sont aussi les plus utiles car ils forment la base de tous les débuts d'étude. Les premiers résultats obtenus grâce à ces plans peuvent toujours être complétés par de nouvelles expériences permettant d'atteindre le degré de précision et d'information recherchés. Les plans factoriels complets à deux niveau et avec k facteurs sont notés 2^k . Le numéro 2 signifie que chaque facteur prend deux niveaux, le niveau haut (+1) et le niveau bas (-1), la lettre k représente le nombre des facteurs choisis dans le plan, et qui ont une influence sur la réponse (y) et la notation 2^k représente le nombre des essais. La fonction de réponse (y) est un polynôme du premier degré prenant en compte la moyenne, les effets de chaque facteur et toutes les interactions entre les facteurs [37] :

$$y = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j + \sum a_{ijl} x_i x_j x_l + \dots + a_{ij \dots k} x_i x_j \dots x_k \quad (I.2)$$

4.4 Criblage ou screening

Les expérimentateurs proposent d'abord d'effectuer une étude de criblage des paramètres opératoires par la méthodologie des plans d'expériences, afin de déterminer leurs niveaux optimaux et aussi d'éliminer ceux qui ont peu d'influence [93].

La technique du criblage ou screening, permet d'avancer dans la compréhension de tout procédé parce qu'elle permet la détection et la détermination des facteurs qui ont ou non, une influence significative sur le procédé étudié.

Généralement pour l'étude de screening on utilise des plans factoriels complets à deux niveaux tant que le nombre des facteurs n'est pas très grand, mais il est toujours possible d'utiliser le plan le mieux adapté à la problématique étudiée.

De plus, le screening permet de choisir le ou les niveaux les plus favorables de certains facteurs, ou d'éliminer du domaine d'étude les niveaux sans intérêt. [94]

4.5 Optimisation de l'hydrodistillation

Plusieurs travaux ont été réalisés dans le contexte de l'optimisation de l'extraction par hydrodistillation en utilisant la notion des plans d'expériences.

L'hydrodistillation de *Cymbopogon citratus* a été optimisée selon un plan factoriel complet 2^3 . Trois paramètres ont été étudiés tels que : le séchage, le débit de condensation et la granulométrie. Ce modèle nécessite huit expériences, il a conduit à un polynôme du premier degré qui a permis de calculer la réponse moyenne de l'hydrodistillation, les effets des paramètres et les interactions entre facteurs. [38]

L'utilisation avec succès d'un plan factoriel complet dans l'optimisation du processus d'hydrodistillation a été évoquée aussi par Haj Ammar et al [27] pour l'extraction de l'huile essentielle de *Myrtus communis*. Ils ont étudié l'effet de quatre paramètres du procédé tels que : la durée de l'extraction, le débit de condensation, le ratio plante/eau et la granulométrie.

Grâce aux plans d'expériences, et plus précisément à la méthodologie de surface de réponse, Fadil et al [39] ont pu modéliser et optimiser le processus d'hydrodistillation de l'espèce de *Rosmarinus officinalis*. Après un choix approprié de quatre variables, 27 expériences ont conduit à un modèle mathématique du second degré reliant la réponse (rendement en huiles essentielles) aux facteurs tels que : le temps, le séchage, le ratio plante/eau et le débit de condensation, et permettant une bonne maîtrise du processus d'extraction.

Fadil [40] a aussi évalué l'effet de la durée de l'hydrodistillation, la période de récolte, le ratio plante/eau, le séchage et le débit de condensation sur la réponse de l'extraction de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* en appliquant un plan de Plackett et Burman.

5. Performance de l'hydrodistillation

Des recherches antérieures indiquent que le contenu et la composition de la fraction volatile dans les plantes peuvent être également influencés par les facteurs génétiques et environnementaux, comme par les phases de développement de la plante. En outre, cette fraction volatile peut varier aussi selon les méthodes d'extraction. [41]

Avec l'augmentation de la consommation d'énergie, et la recherche pour améliorer les procédés d'extraction des huiles essentielles, les industries et les institutions de recherche sont mises au défi de trouver des moyens qui peuvent simplifier le processus de fonctionnement, répondre aux exigences de faible coût et obtenir une bonne qualité du produit. [41]

L'hydrodistillation est la technique la plus ancienne et la plus traditionnelle, elle est placée en question par plusieurs chercheurs pour répondre aux exigences pratiques de l'extraction, avec le développement de nouvelles méthodes d'extraction. Plusieurs travaux ont porté sur la comparaison des performances de l'hydrodistillation avec les autres techniques de l'extraction.

En dehors des techniques classiques d'extraction telles que : l'extraction par solvant organique, l'expression à froid, les ultrasons et les micro-ondes, l'hydrodistillation a été comparée aussi avec de nouvelles méthodes comme l'extraction par fluide supercritique.

Bien que l'extraction par CO₂ supercritique a été largement acceptée par de nombreux chercheurs qui la compare favorablement avec l'hydrodistillation, elle fournit une méthode rapide et quantitative pour extraire des huiles essentielles à partir des plantes [42]. L'extraction par CO₂ supercritique trouve difficilement des applications commerciales en raison de l'utilisation d'un équipement sophistiqué et coûteux qui fonctionne à haute pression et qui nécessite une haute technologie. [43] Les principaux inconvénients de l'extraction supercritique concernent principalement l'aspect économique, car ce procédé est considéré comme le plus coûteux en investissement comparé à la méthode conventionnelle d'extraction ; il nécessite une consommation d'énergie non négligeable pour établir les pressions et les températures à travers les différentes étapes de l'extraction. [44]

L'extraction par solvant organique est similaire à l'hydrodistillation, mais avec un solvant d'extraction organique. Elle est utilisée principalement dans l'extraction de la fraction volatile du végétal riche en matière grasse [41]. Les inconvénients les plus significatifs de cette méthode sont : la durée importante de l'extraction et la grande quantité de solvant consommée ; ce qui conduit non seulement à des pertes économiques, mais aussi à des problèmes sur le plan environnemental [45]. L'extrait obtenu par cette méthode contient généralement des traces de solvant difficiles à éliminer. [41]

Comparées à l'hydrodistillation, les techniques qui utilisent les ultrasons et les micro-ondes [14,34] offrent une durée d'extraction optimale, mais le nombre de leurs applications à l'échelle industrielle reste faible à cause du matériel complexe utilisé dans ces deux méthodes.

L'expression à froid est utilisée principalement pour extraire les composés facilement dégradables par l'effet de température. Ce procédé ne s'applique généralement qu'à un seul type de plante : les agrumes.

L'hydrodistillation garde toujours sa place parmi les nombreuses techniques d'extraction ; elle est considérée comme l'une des meilleures méthodes d'extraction de l'huile essentielle de *Lonicera macranthoides*, une des plantes de Chine. [41]

De tous les procédés mentionnés précédemment, l'hydrodistillation est le procédé le plus employé à l'échelle industrielle. Les principales raisons de cette préférence sont liées à la facilité de mise en œuvre du procédé, sa sélectivité et donc la qualité des produits obtenus. Elle permet une obtention directe, c'est à dire en une seule opération, du produit désiré : l'huile essentielle. En effet, les installations d'hydrodistillation sont relativement simples et ne nécessitent pas de dispositifs particuliers de sécurité. [5]

Chapitre II

Huile essentielle de *Laurus nobilis* L.

1. Généralités sur les huiles essentielles

1.1 Définitions

Appelées aussi : essences des plantes, essences aromatiques ou essences végétales.

Pour la 8^{ème} édition de la pharmacopée française, la définition officielle des huiles essentielles est :
« *Produits de composition généralement assez complexe renferment les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales ; celui par distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essence ou de certains de leurs organes, et celui par expression* ».

AFNOR, Association Française de Normalisation, proposait une autre définition :

« *Produits obtenus à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition...* ».

Ces définitions paraissent restrictives car elles excluent de nombreux procédés d'extraction très utilisés sur les marchés de la pharmacie, de l'industrie cosmétique et agroalimentaire. Une définition encore plus large a donc été donnée :

« Nom générique pour tous les produits lipophiles, volatils, préexistant dans une plante ou une drogue végétale. Une huile essentielle est constituée de nombreuses substances chimiques peu solubles dans l'eau. Dans la plante, ces substances résultent, pour la plupart, du métabolisme des terpènes et de composés en C6-C3. L'huile essentielle est obtenue par distillation à la vapeur, par hydrodistillation ou encore dans des cas particuliers, par pression mécanique, par dissolution dans des lipides et plus fréquemment maintenant dans des gaz supercritiques (dioxyde de carbone). L'extraction par dissolution dans des solvants fournit une fraction chargée de divers constituants liposolubles (cires, hydrocarbures...) ; après élimination du solvant ou du dioxyde de carbone, on obtient une « concrète » que l'on prive des constituants indésirables par refroidissement à la température de congélation (glaçage), suivi de la décantation et de filtration ». [46]

Les huiles essentielles sont définies aussi comme des mélanges complexes de composés volatils produits par les organismes végétaux vivants et isolés par des moyens physiques comme le pressage et la distillation, provenant d'une plante entière ou partie de la plante. Les principaux composés des essences proviennent principalement de trois voies de biosynthèse : la voie du mévalonate menant aux sesquiterpènes, celle du méthylérythritol menant aux mono- et di-terpènes et celle de l'acide shikimique mène aux dérivés du phénylpropane. Néanmoins, il y a un nombre presque incalculable de substances simples et une énorme variation dans la composition des huiles essentielles. Beaucoup de ces substances volatiles ont des diverses fonctions écologiques. Elles peuvent agir comme messagers internes, comme des substances défensives contre les herbivores ou attractantes des insectes pollinisateurs à leur hôte. [47]

1.2 Rôles des huiles essentielles chez les végétaux

Les végétaux supérieurs peuvent produire deux sortes de métabolites: les métabolites primaires comme les protéines, polysaccharides..., nécessaires à la croissance et au développement de l'organisme ; et les métabolites secondaires dont les huiles essentielles en font partie. [48]

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et à assurer leur défense. En effet, étant fixées au sol elles n'ont que les composés issus du métabolisme secondaire, stockés à l'endroit où ils seront le plus utiles comme arme de défense contre les parasites et les prédateurs. [49]

Les huiles essentielles jouent divers rôles fonctionnels dans la plante. Dans le domaine des interactions végétales comme dans le domaine des interactions végétal-animal, les huiles essentielles ont un effet attractif favorisant la pollinisation et la dispersion des grains de pollen. Aussi, elles ont un effet répulsif pour la protection contre les herbivores. Toutefois, les terpènes pourraient constituer des supports à une communication par le transfert de messages biologiques et sélectifs, et peuvent avoir d'autres fonctions potentielles, comme dans la stabilisation et la protection des membranes de la plante contre les hautes températures. Certains terpènes peuvent avoir une fonction énergétique. [46]

1.3 Localisation dans les plantes

Les huiles essentielles sont produites dans les cellules sécrétrices puis accumulées dans la cavité qui se forme entre les cellules sécrétrices et la cuticule qui les recouvre. Elles sont synthétisées et accumulées dans des structures histologiquement spécialisées. Souvent localisées sur ou à

proximité de la surface extérieure de la plante dans tous les organes végétaux. On peut distinguer des tissus à sécrétion externe, interne ou intracellulaire. [50]

1.3.1 Poils sécréteurs ou trichomes

Sont des éléments du trichome spécialisés dans la sécrétion ; la cellule terminale élabore une substance qui est accumulée entre cette cellule et la cuticule. Ils peuvent se présenter sous quatre formes et se composer de plusieurs cellules sécrétrices, associées pour constituer un plateau porté par un pédicelle court : poils peltés, poils capités à pieds court ou long ou bosselé. Les poils sécréteurs peuvent être externes ou bien internes, comme dans les divers eucalyptus.

1.3.2 Cellules épidermiques

Il s'agit de cellules plus petites que les autres cellules épidermiques. Elles sont davantage perméables car leur paroi ne contient pas de cutine. Ce type de cellules se rencontre généralement dans les pétales de fleurs.

1.3.3 Cellules sécrétrices internes

Elles sont plus grandes et plus épaisses que les autres cellules. Elles peuvent se situer dans différents tissus, comme le phloème ou le xylème.

1.3.4 Poches sécrétrices

La genèse des poches sécrétrices débute par la division d'une cellule parenchymateuse en quatre cellules, qui forment en leur centre une poche. Dès lors il existe deux voies d'évolution pour cette poche :

Soit les cellules, qui entourent la poche, continuent à se diviser tout en formant une seule rangée tout autour, la poche est qualifiée de schizogène.

Soit les cellules, entourant la poche, vont se diviser et s'organiser pour constituer des rangées successives autour de la poche, avec un phénomène de lyse pour les cellules de la rangée la plus interne, ce qui forme alors une poche schizolysigène. [3]

1.3.5 Canaux sécréteurs

Sont des petits canaux qui s'étendent parfois sur toute la longueur de la plante et dont les parois sont formées d'une assise de cellules sécrétrices. On en trouve chez les Apiaceae telles que le Persil, l'Anis et la Carotte. [50]

1.4 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes et variables, formées de constituants qui appartiennent à deux groupes de molécules: le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part. [46]

1.4.1 Terpènes

Les huiles essentielles sont constituées d'un certain nombre de composés terpéniques, généralement les plus volatils dont la masse moléculaire n'est pas élevée. Ces constituants proviennent de l'isoprène (méthyl-2-butadiène) répondant à la formule générale $(C_5H_8)_n$, ils sont également nommés isoprénoïdes ou terpénoïdes. Le terme « terpénoïde » définit l'ensemble des terpènes oxygénés et non oxygénés, alors que le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence d'oxygène.

Ainsi, le squelette des terpènes peut être cyclique ou acyclique, on distingue selon le nombre de carbone: les hémiterpènes (C 5), les monoterpènes (C 10), les sesquiterpènes (C 15), et moins fréquemment les diterpènes (C 20), les triterpènes (C 30) et les tétraterpènes (C 40). Certains composés terpéniques peuvent être toxiques, répulsifs ou attractifs pour d'autres organismes, d'où leurs rôles dans les interactions entre les plantes elles mêmes ou plantes et le milieu extérieur. [48]

1.4.2 Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3), ou composés phénoliques s'agissant le plus fréquemment d'allyl ou propénylphébols, et/ou aldéhydes. La biosynthèse par voie phenylpropanoïdes débute par des aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine, Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle. Egalement, la synthèse de ces constituants nécessite une série d'acides dont l'acide shikimique et l'acide cinnamique. Les phénylpropanoïdes sont moins répondu dans l'huile essentielle que les terpènes, [48]

1.5 Huiles essentielles en Algérie

L'Algérie durant la période coloniale et après l'indépendance comptait parmi les pays producteurs des huiles essentielles, l'exportation de ces dernières a généré des capitaux d'environ 8000 dollars, Faisant d'elle le dixième pays exportateur dans ce domaine à l'échelle internationale, à la fin des années 70. Ces huiles essentielles provenant soit des cultures familiales ou des plantes spontanées tels que : la menthe, le jasmin, le rosier, le géranium, la lavande, le romarin, l'origan, le thym, la sauge...

Dès la fin des années soixante dix où sa dernière exportation était d'environ 2 tonnes, la production des huiles essentielles est devenue quasiment inexistante. Elle est limitée à quelques producteurs privés artisanaux, qui ne subvient pas au besoin du marché national. De ce fait, l'Algérie a eu recours aux importations de cette matière pour couvrir ses besoins. [46]

Actuellement, la cueillette de plantes aromatiques et médicinales pour en extraire des huiles essentielles destinées à la fabrication de produits cosmétiques et pharmaceutiques ainsi que des arômes pour les produits alimentaires n'est pas très répandue en Algérie. Malgré que, ce pays dispose d'une vaste étendue de forêts et de champs où l'on peut s'approvisionner d'une bonne variété de plantes, l'intérêt est peu manifesté y compris de la part des connaisseurs. Pourtant, leurs bienfaits sont nombreux, notamment sur la santé (antiseptique, bactéricide, immunostimulante, décongestionnante, etc.) *

2. Huile essentielle de *Laurus nobilis*

Les feuilles de *Laurus nobilis* renferment plusieurs substances actives dont les huiles essentielles. Ces dernières représentent 1 à 3 % du poids sec de la matière végétale [48]. L'essence extraite des feuilles est d'aspect liquide mobile limpide, de couleur jaune très pâle à jaune, d'odeur aromatique, épicée, avec un fond d'eucalyptus. Cette huile essentielle est potentiellement allergisante car elle concentre des composés (monoterpénols et phénols) qui peuvent être irritants pour la peau [51]. L'hydrodistillation des feuilles fournit une huile riche en 1.8-Cinéole. Elle en contient en moyenne de 25 à 50 % mais sa teneur peut varier de 12 à 71 %. [52]

2.1 Localisation dans la plante

2.1.1 Feuilles de *Laurus nobilis*

Taleb-Toudert [49] a réalisé des coupes anatomiques des feuilles fraîches de Laurier. Ces coupes ont été observées au microscope optique et au microscope électronique à balayage (MEB). Les observations des coupes réalisées par les deux types de microscopie ont permis de visualiser les différents tissus foliaires et de localiser avec précision les différentes structures sécrétrices caractéristiques des feuilles de cette espèce végétale (Figure I. 1).

Chez *Laurus nobilis*, des canaux sécréteurs sont visualisés sous le parenchyme palissadique de la feuille, cette plante est très riche en canaux sécréteurs qui se présentent sous forme de cellules isolées comme dans le cas de toutes les Lauracées. Ils sont très nombreux, de forme arrondie et

* <http://www.algerielle.com/beaute/esthetique/1209-huiles-essentielles-pas-tres-en-vogue-en-algerie.html>

entourés par une assise de cellules sécrétrices. Les stomates ne sont présents que sur la face abaxiale des feuilles. Elles sont donc hypo-stomatiques. L'épiderme supérieur est formé de grosses cellules recouvertes d'une cuticule, caractérisée par une absence complète de poils.

Le parenchyme qui fait suite est formé de cellules ovalaires, allongées, se retrouvant aussi dans le parenchyme lacuneux ; ces cellules ont comme caractère particulier la présence de glandes unicellulaires, volumineuses, remplies d'huile essentielle.

L'épiderme inférieur n'a rien de particulier, il est comme le précédent.

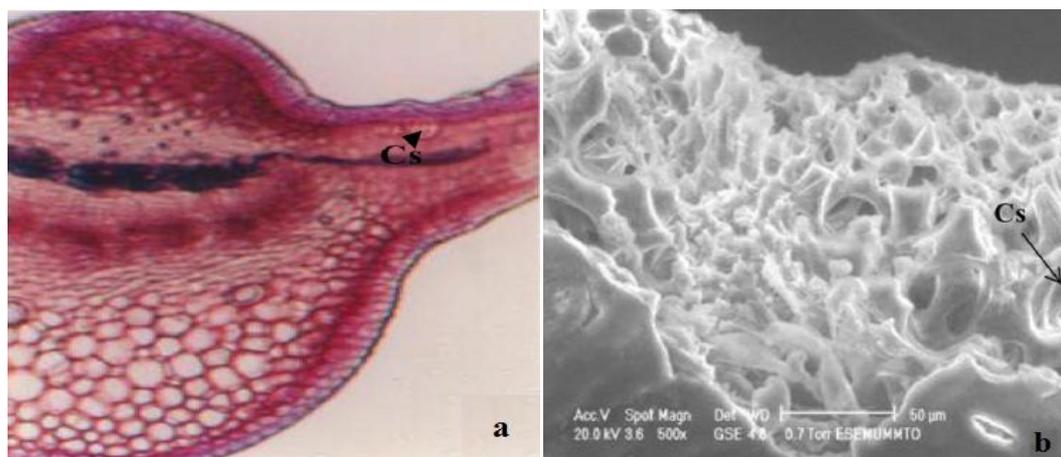


Figure I. 1: Coupe transversale et micrographie de la feuille de *Laurus nobilis* montrant des canaux sécréteurs. Observées : (a) au microscope optique x400 et (b) au MEB x500

2.1.2 Feuilles de *Rosmarinus officinalis*

Chez le romarin l'épiderme émerge des poils tecteurs pluricellulaires et ramifiés ainsi que des poils sécréteurs uni, bi et pluricellulaires. Leur rôle est d'assurer la protection de la plante en diminuant l'évapotranspiration. Cependant, uniquement les poils sécréteurs (trichomes glandulaires) peuvent synthétiser et contenir l'huile essentielle. Deux types sont cités : les trichomes peltés et les trichomes capités ou poils glandulaires sont retrouvés sur la surface adaxiale et abaxiale de la feuille de cette plante. Ils sont plus nombreux que les trichomes peltés (Figure I. 2). Les cellules sécrètent l'huile bio-synthétisée sous la cuticule protectrice. La récupération de son contenu en huile essentielle ne se fera que par rupture de la cuticule. [53]

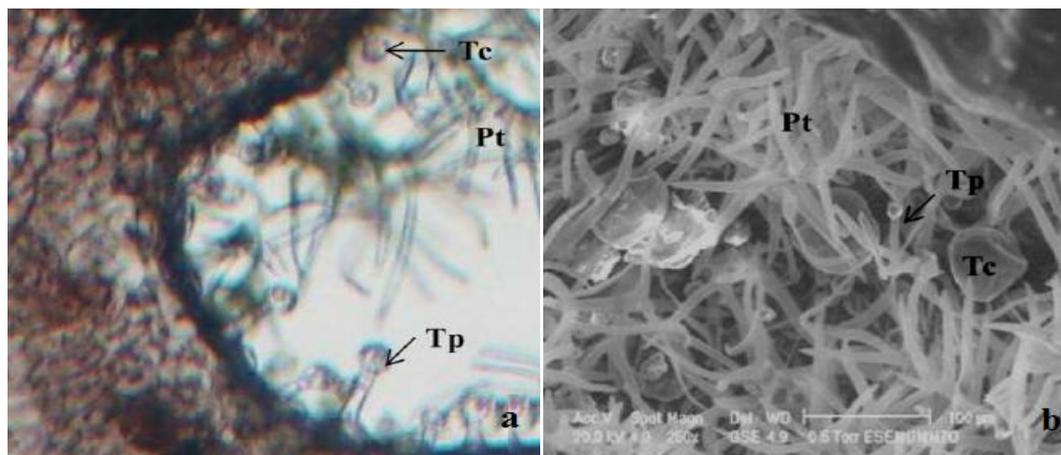


Figure I. 2 : Coupe transversale et micrographie de la feuille de *Rosmarinus officinalis* montrant des poils tecteurs (Pt), des trichomes peltés (Tp) et des trichomes capités (Tc). Observées : (a) au microscope optique x400 et (b) au MEB x250. [49]

2.2 Composition chimique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*

De nombreux travaux de recherche ont été effectués sur la composition chimique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* et surtout de l'essence des feuilles de cette plante. Les études faites sur la composition chimique de l'huile essentielle de cette plante ont été principalement réalisées par des méthodes d'analyse chromatographiques modernes essentiellement la GC/MS. Ces méthodes ont rendu possible l'isolement et la caractérisation d'une manière précise et efficace d'un certain nombre de composés. [54]

L'analyse chromatographique (GC/MS) de l'huile essentielle des feuilles, obtenue par hydrodistillation a permis d'identifier plusieurs composés. Les principaux composants sont : le 1,8-Cinéole (comme composé majoritaire), le Linalool, le Sabinène, le Terpinyl-acétate et le Méthyl-eugénol ; alors que d'autres tels que : le α -Pinène, le β -Pinène, le Limonène, le 4-Terpnénol et le α -Terpinéol sont considérés comme composants secondaires. L'analyse a montré aussi que l'huile essentielle des feuilles de Laurier est riche en monoterpènes et ne contient qu'une petite fraction de sesquiterpènes. [55.56]

Comme vu précédemment, la composition chimique des extraits dépend largement de l'influence des paramètres opératoires du procédé d'extraction et du prétraitement de la matière végétale mise à l'extraction.

Les études effectuées sur l'huile essentielle de Laurier indiquent aussi l'influence de l'origine géographique et de la variété sur la composition chimique de l'essence. [54.57]

Cette composition varie encore selon l'organe végétatif étudié de la plante. La composition chimique de l'huile essentielle des fleurs est très différente des autres parties de la plante, à savoir : la feuille, l'écorce et la tige. [54]

Par contre, Leo Lira [55] n'a pas observé de changement dans la composition de l'huile essentielle de Laurier argentin récolté durant une année. Les résultats ont montré que la période de récolte n'a pas d'influence significative sur la composition chimique des essences.

Tableau I. 1 : Composition de l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* extraite par hydrodistillation. [52.56]

MONOTERPENES (77.8 %)	Hydrocarbures monoterpéniques	α -Pinène Sabinène β -Pinène
	Monoterpénols	Linalool α -Terpinéol 4-Terpinéol
	Epoxydes monoterpéniques	1.8-Cinéole
SESQUITERPENES (5.98 %)		Caryophyllène Humulène Germacrène Spathuléol Oxyde de Caryophyllène
Dérivés du PHENYLPROPANE (1.24 %)		Eugénol Méthyle-eugénol
ESTERS	Ester de monoterpène	Terpinyl-acétate Bornyl acétate Asarone

- **1.8-Cinéole**

Le 1,8-Cinéole, appelé encore eucalyptol, est très utilisé dans l'industrie pharmaceutique comme décongestionnant et antitussif. Il est notamment utilisé dans le traitement des bronchites et des sinusites mais également comme un catalyseur de la pénétration cutanée d'autres substances. Ce monoterpène révèle aussi des propriétés intéressantes en rhumatologie [52]. De plus, La présence de ce composé en quantités appréciables rend l'huile de feuilles de laurier un élément important dans la parfumerie. [54]

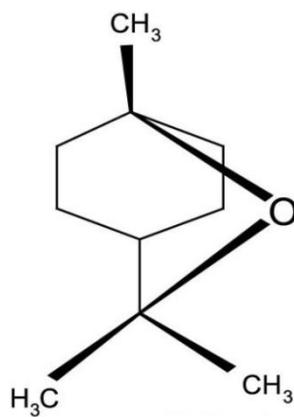


Figure I. 3 : Structure de l'époxyde mono-terpénique, le 1.8-Cinéole.

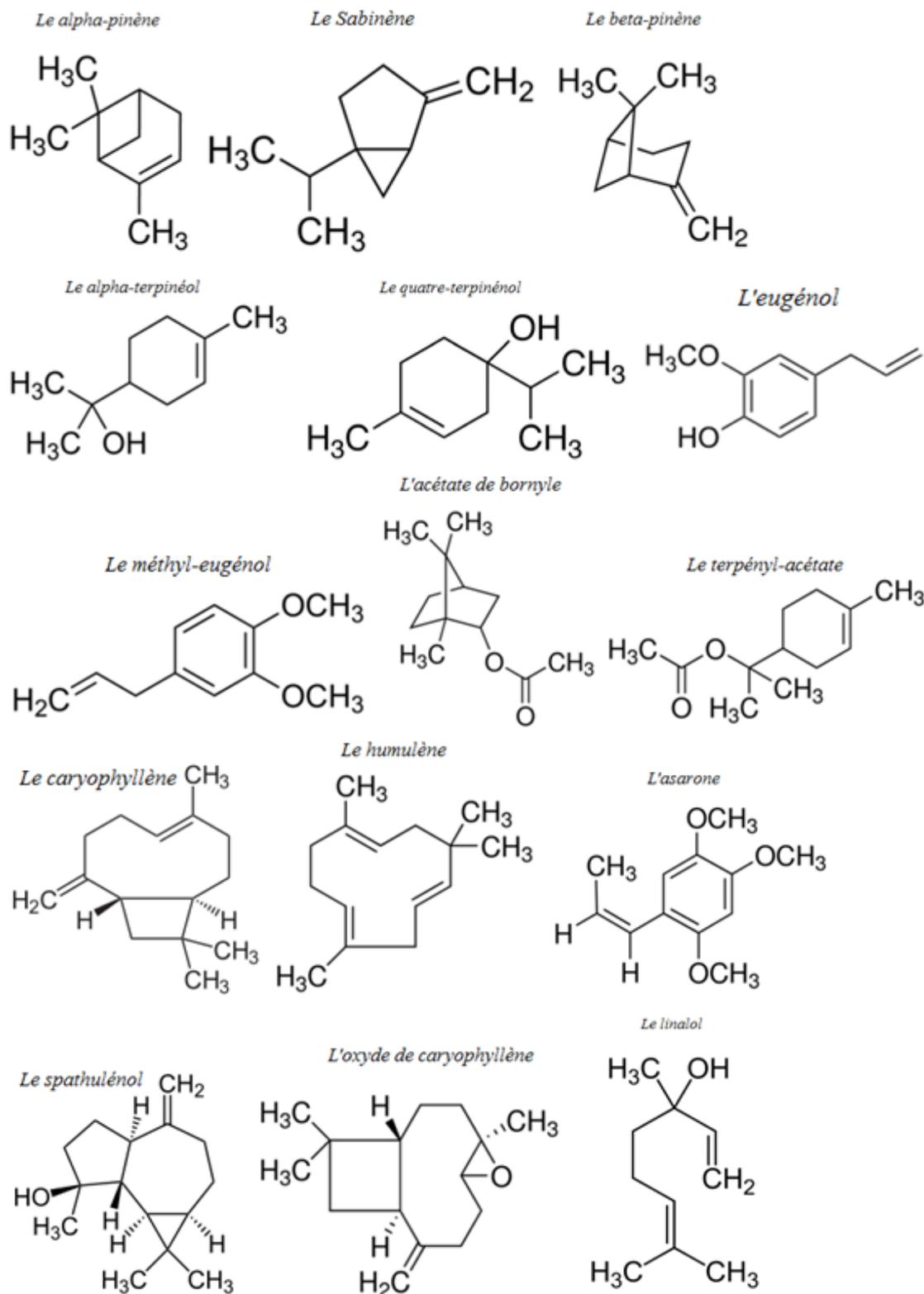


Figure I. 4 : Structure de certains constituants chimiques de l'huile essentielle de feuilles de laurier.

3. Propriétés biologiques et thérapeutiques

Laurus nobilis est une plante qui a une grande importance dans le secteur industriel. Bien qu'il est utilisé depuis longtemps comme remède en aromathérapie et phytothérapie, il est utilisé aussi comme matière première dans de nombreux domaines tels que : la parfumerie, la nutrition, le cosmétique et le domaine pharmaceutique. Grâce à cette large utilisation de Laurier et de son huile essentielle surtout, il a été largement étudié.

3.1 Activité antibactérienne et antibiofilm

L'une des premières mises en évidence in vitro de l'activité antibactérienne des huiles essentielles date de la fin du XIX^{ème} siècle, lorsque Buchholtz a étudié la croissance des propriétés inhibitrices de l'huile des graines de carvi et de l'huile de thym en 1875. Néanmoins, le mécanisme d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes et fongiques reste difficile à cerner, compte tenu de la composition complexe des huiles volatiles. La diversité des constituants des huiles suggère qu'elles agissent sur plusieurs sites d'action dans les micro-organismes, étant donné que chaque composé possède son propre mode d'action. [48]

Les caractéristiques des huiles essentielles sont attribuées aux dérivés terpénoïdes et phénylpropanoïdes dont elles sont constituées. Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction. Encore, la synthèse de l'ADN, de l'ARN, de protéines et de polysaccharides peut être inhibée par les huiles essentielles. [48]

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* a été étudiée par de nombreux chercheurs sur plusieurs souches bactériennes, et les résultats ont montré une activité bactéricide très efficace.

Pour évaluer les activités antibactérienne et antibiofilm de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* libanais, Chmit et al [58] ont testé l'essence obtenue de l'hydrodistillation des feuilles de cette plante par un dispositif d'extraction de type Clevenger, sur trois bactéries à Gram positif telles que : *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus epidermidis*, deux bactéries à Gram négatif telles que : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et le biofilm produit par la *Staphylococcus epidermidis*. Les résultats ont montré que l'huile essentielle des feuilles de Laurier a présenté une bonne activité antibactérienne contre les cinq souches de bactéries, contrairement à l'activité antibiofilm.

Silveira et al [59] ont étudié l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* brésilien sur des bactéries pathogènes d'origine alimentaire. Les résultats de leur étude ont démontré que l'ajout de l'essence obtenue de l'entraînement à la vapeur des feuilles dans des saucisses fraîches à des concentrations de 0.05 et 0.1 g/100g pourrait fournir une protection supplémentaire à ce produit contre la croissance microbienne, augmentant ainsi sa durée de conservation. De plus, l'huile peut réduire la contamination par les coliformes, offrant une meilleure qualité microbiologique du produit.

Merghni et al [60] ont tenté aussi de tester l'effet antibactérien et antibiofilm de l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* tunisien contre des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* isolées à partir de la cavité buccale. L'étude a démontré que l'essence extraite par hydrodistillation est capable d'inhiber les souches de *S. aureus* avec une importante activité antibiofilm. Cette huile pourrait donc avoir un rôle prometteur dans la prévention des infections buccodentaires.

3.1.1 Techniques d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles a une grande influence sur les résultats. A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne in vitro d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide.

Les méthodes d'évaluation les plus utilisées sont la méthode de diffusion sur l'Agar ou gélose et la méthode de dilution. Dans la première méthode les huiles essentielles sont déposées sur des disques de papier ou dans des puits creusés dans la gélose. Dans la seconde méthode, les huiles essentielles sont incorporées dans le bouillon de culture ou d'autres liquides dans lesquels les bactéries sont présentes.

➤ Méthode de l'aromatogramme

Elle est appelée aussi technique des disques. Dans cette méthode, on utilise des disques de papier filtre de 10 mm de diamètre, imprégnés d'huile essentielle et déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé en surface à l'aide d'une suspension bactérienne. Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition en mm. [87]

➤ Méthode des puits

Elle est appelée aussi technique des cylindres. Elle consiste à découper un tronc circulaire vertical ou puits dans la gélose et d'y verser une solution d'huile essentielle de concentration connue. L'essence diffusant radialement créant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne ou fongique, la lecture des résultats se fait toujours par la mesure du diamètre d'inhibition en mm.

Ces deux méthodes sont des techniques en milieu solide, leur principe est la migration de l'huile essentielle par diffusion dans la gélose sous l'effet du gradient de concentration, en créant une zone d'inhibition. [87]

3.2 Activité antifongique

Plusieurs études ont été effectuées sur l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*, l'évaluation de cette activité a montré que la variation d'inhibition des champignons est liée à plusieurs facteurs, notamment la concentration de l'essence et la souche fongique étudiée.

Hassiotis et al [61] ont examiné l'effet antifongique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* grec sur le développement de deux espèces des champignons Mycorhiziens telles que : *Glomus deserticola* et *Glomus intraradices*. L'essence obtenue de l'hydrodistillation des feuilles a présenté un degré élevé d'inhibition des deux espèces de champignons étudiées.

Santamarina et al [62] ont comparé l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* avec celle de *S. aromaticum* contre cinq champignons phyto-pathogènes isolés à partir des grains de riz méditerranéen tels que : *A. alternata*, *B. oryzae*, *F. graminearum*, *F. equiseti* et *F. verticillioides*. L'étude a montré que l'échantillon commercialisé en Espagne de l'huile essentielle de Laurier n'a pas d'effet antifongique significatif sur les cinq espèces de champignons isolées du riz.

L'étude faite par Corato et al [63] a démontré que l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* italien extraite par CO₂ supercritique est un agent antifongique potentiel et prometteur qui pourrait être utilisé comme fongicide botanique dans le traitement curatif et à la protection post-récolte de Pêches et de Kiwis contre deux espèces de champignons testées telles que : *M. laxa* et *B. cinerea*.

Durant les expérimentations, *M. laxa* a été totalement inhibée par l'application de l'essence de Laurier à la plus faible concentration, *B. cinerea* a été complètement inhibée à la concentration la plus élevée et une action fongistatique a été observée pour les deux champignons. Toutefois,

l'espèce *P. digitatum* n'a été que partiellement inhibée à toutes les gammes de concentration en huile essentielle.

En outre, l'utilisation de l'huile essentielle de Laurier noble comme fongicide présente deux caractéristiques principales : la première est son origine naturelle, ce qui signifie plus de sécurité pour le consommateur et l'environnement, et la deuxième, est le faible risque de développement d'une résistance par les champignons pathogènes envers ce fongicide. En fait, il est très difficile pour les champignons de développer une résistance à un tel mélange des composants de l'huile essentielle avec différents mécanismes d'activité antimicrobienne. [63]

3.3 Activité antioxydante

L'exploitation de la matière végétale pour obtenir des antioxydants naturels, peut être considérée comme une source alternative prometteuse aux antioxydants synthétiques. L'utilisation de ces derniers est restreinte en raison de leurs effets secondaires, ce qui rend les antioxydants naturels particulièrement attractifs pour les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques.

Les résultats préliminaires trouvés par Simic et al [64], ont confirmé que l'utilisation traditionnelle de *Laurus nobilis* dans l'industrie alimentaire est non seulement liée à l'odeur et l'arôme agréables, mais aussi à la capacité de conservation des substances présentes dans les feuilles et les autres organes de la plante ; car l'extrait des feuilles de Laurier serbe obtenu de l'extraction par solvant organique possède une activité antioxydante.

De plus, le travail fait par Marquez [65] sur l'extraction par ultrasons des composés phénoliques des feuilles de *Laurus nobilis* mexicain, a montré que cette plante a une forte capacité antioxydante et peut être considérée comme une bonne source d'antioxydants naturels.

L'étude réalisée par Ouchikh [66] a prouvé aussi que les organes végétatifs de *Laurus nobilis* tunisien peuvent être une source des antioxydants naturels pour une potentielle utilisation dans l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et de celui obtenu par infusion des feuilles de *Laurus nobilis* portugais a été étudiée par Dias et al [57]. Les deux techniques d'extraction ont abouti à un produit qui possède une activité antioxydante. En général, l'extrait obtenu de l'infusion a révélé l'activité antioxydante la plus élevée.

Boulila et al [67] ont trouvé que les huiles essentielles des feuilles de *Laurus nobilis* tunisien extraites par hydrodistillation simple et par hydrodistillation assistée par des enzymes sont moins

efficaces d'une manière notable, que l'antioxydant synthétique de référence Trolox. Cependant, l'essence obtenue par hydrodistillation assistée par des enzymes a présenté une activité antioxydante plus élevée que celle de l'essence obtenue de l'hydrodistillation simple.

Le potentiel antioxydant de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* est généralement modéré. [52]

3.4 Effet insecticide et bio-pesticide

Les huiles essentielles sont les pesticides verts du futur, ce sont des mélanges complexes de nombreux composés organiques naturels prédominés par des terpènes. Selon Chiasson [68], les bio-pesticides à base d'huiles essentielles présentent plusieurs caractéristiques d'intérêt : plusieurs sont aussi efficaces que les produits de synthèse. Ils ont en général une efficacité à large spectre, mais avec une spécificité pour certaines classes ou ordres d'insectes. Ils sont très peu rémanents, ils peuvent être appliqués jusqu'au moment de la récolte ; cette faible rémanence permet également aux travailleurs de retourner au champ ou dans une serre dans un court délai après le traitement. En plus, leurs formulations sont stables à la température ambiante et peuvent être entreposés pendant plusieurs années. Ces bio-pesticides à base d'huiles essentielles peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement inciter le développement de la résistance chez les ravageurs à cause des mécanismes d'action particuliers de ces substances.

L'huile essentielle obtenue de l'hydrodistillation des feuilles de *Laurus nobilis* récolté de la région de Tizi ouzou en Algérie a présenté un effet biocide important dans les essais par contact. Elle a diminué la durée de vie des adultes de *C. maculatus* de sept jours à une heure, avec une dose de 16 µl, elle a aussi empêché les femelles de cet insecte de pondre ; l'huile essentielle de Laurier inhibe complètement les pontes de *C. maculatus*, à la plus faible dose testée de 4µl. [49]

L'huile essentielle des feuilles de Laurier portugais obtenue par hydrodistillation a montré aussi une activité répulsive contre la ponte de *C. capitata*. Par contre, les tests de toxicité de l'essence par contact sur cet insecte ont révélé un degré modéré de mortalité. [69]

Une étude similaire a été réalisée par Erler et al [70], où l'huile essentielle extraite par entraînement à la vapeur à partir des feuilles fraîches de *Laurus nobilis* turque a été examinée pour son activité répulsive contre les femelles adultes de *Culex pipiens*. L'essence de Laurier a montré un degré de répulsion intéressant contre cette espèce de moustique vecteur de plusieurs maladies.

Les huiles essentielles de *Laurus nobilis* récolté en Tunisie, en Algérie et au Maroc, extraites par hydrodistillation des feuilles de cette plante ont présenté un effet répulsif et une toxicité

importante pour les adultes de *R. dominica* et *T. castaneum*, ces propriétés dépendent fortement de l'espèce d'insecte et de l'origine de la plante. [13] Généralement, les huiles essentielles extraites de Laurier méditerranéen ont un grand intérêt au vu de leur efficacité. Elles peuvent être utilisées à la fois comme des insecticides et des répulsifs contre les ravageurs des produits entreposés. [13]

3.5 Effet anti-inflammatoire et antalgique

Les aromathérapeutes utilisent l'huile essentielle de *Laurus nobilis* pour ses propriétés anti-inflammatoires et fortement antalgiques, elle est indiquée dans les arthrites et polyarthrites, dans les rhumatismes ostéomusculaires et les entorses. [71]

L'analyse et l'identification de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* faites par Fang et al [72] ont révélé que les composés de cette essence possèdent différentes propriétés pharmacologiques y compris l'effet anti-inflammatoire et antalgique.

L'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* Iranien, lors de son test fait in vivo sur des souris et des rats, a présenté une action analgésique aussi puissante que la morphine, et un effet anti-inflammatoire comparable à celui présenté par l'anti-inflammatoire non-stéroïdien de référence : le Piroxicam. [73]

Le 1,8-Cinéole, ce monoterpène, peut être responsable de ces effets. C'est un inhibiteur du métabolisme de l'acide arachidonique. C'est aussi un puissant inhibiteur de la sécrétion de certaines cytokines en diminuant leur chimiotactisme. [74]

3.6 Effet cicatrisant

L'objectif de l'étude faite par Nayak et al [75] était l'évaluation in vivo de l'effet cicatrisant des plaies de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* de Trinité chez les rats. Les données de cette étude ont indiqué que l'extrait des feuilles de cette plante possède une activité de cicatrisation et il peut être utilisé pour traiter différents types de plaies et de blessures.

Aussi, l'extrait de *Laurus nobilis* jordanien obtenu de l'extraction par solvant organique des grains a présenté un effet cicatrisant des plaies lors du test in vivo fait par Khalil et al [76] de cet extrait sur des souris. Le potentiel de cicatrisation pour Laurier noble était évident après 16 jours de traitement, ce potentiel a été confirmé dans l'évaluation histologique des plaies faites dans le secteur dorsal des souris.

3.7 Activité hypoglycémique

Les feuilles de Laurier potentialisent l'action de l'insuline dans le métabolisme du glucose et réduit le transport de ce dernier. L'administration de l'extrait éthanolique des feuilles de cette plante avec des doses de 200 et 600 mg/kg a produit une diminution significative des niveaux de glycémie chez les lapins diabétiques. [54]

L'étude faite par Aljamal [77] sur 55 personnes qui ont le diabète de type 1 a démontré que la consommation de 3 g/j des feuilles de *Laurus nobilis* pendant 30 jours, diminue de manière significative, chez tous les patients, la glycémie (27%) et le cholestérol total (21%). Les feuilles de Laurier peuvent être bénéfiques pour les personnes ayant le diabète de type 1.

Khan [78] a aussi étudié l'effet de la consommation des feuilles de *Laurus nobilis* sur 40 patients de diabète de type 2. Les résultats ont montré une diminution dans les niveaux de glycémie et du cholestérol total après 30 jours de traitement. La consommation des feuilles de cette plante diminue les facteurs de risque pour le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires.

3.8 Effet anticonvulsivant et antiépileptique

L'étude préliminaire faite par Sayyah et al [79] sur l'effet anticonvulsivant de l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* qui a été utilisé comme un remède antiépileptique dans la médecine traditionnelle iranienne a démontré que l'essence de cette plante possède une activité anticonvulsivante. Cette activité a été évaluée contre des crises expérimentales. Les résultats ont révélé que l'huile essentielle des feuilles de Laurier extraite par hydrodistillation protège les souris contre les convulsions toniques induites par des chocs électriques et spécialement celles provoquées par des doses élevées de Pentylènetétrazole qui est utilisé comme stimulant circulatoire et respiratoire. Sayyah a observé aussi que les doses anticonvulsivantes de cette essence ont causé une sédation et une déficience motrice chez les souris.

Le Cinéole, le méthyleugénol, l'eugénol et le pinène peuvent être les composés responsables de cet effet anticonvulsivant. [79]

3.9 Effet gastro-protectif

Les feuilles de Laurier sont traditionnellement utilisées pour traiter des névralgies, des crampes intestinales et encore pour leur effet bénéfique sur le système digestif.

Afifi [80] a testé l'éventuelle activité antiulcérogène des grains de *Laurus nobilis* jordanien sur l'ulcère gastrique induit chez des rats par éthanol absolu. Les études pharmacologiques et histologiques ont clairement montré que l'extrait aqueux des grains de cette plante, donné oralement, a significativement protégé l'estomac des rats contre ce modèle d'ulcère.

Chapitre III**Modélisation de l'Hydrodistillation****1. Généralités**

Le processus d'hydrodistillation est comme celui de l'extraction solide liquide, c'est un processus de transfert d'un ou de plusieurs solutés d'un solide vers un fluide qui correspond au solvant de l'extraction.

La mise en œuvre du procédé nécessite la résolution de quelques problèmes délicats tels que la modélisation et la détermination de certains paramètres souvent inexistant dans les banques de données, car le modèle est un outil permettant le développement du procédé par l'extrapolation des résultats expérimentaux obtenus à l'échelle pilote pour l'utilisation à grande échelle (industrielle).

Les relations utilisées pour la description du transfert de matière dans les particules solides durant l'extraction par hydrodistillation ne peuvent pas être appliquées pour la description de toutes les espèces végétales. La géométrie des particules n'est pas généralement uniforme et leur structure interne est loin d'être homogène. La modélisation nécessite ainsi un certain nombre d'hypothèses simplificatrices qui ne sont pas complètement justifiables a priori et qui sont dans certains cas difficiles à vérifier et ne reflètent pas fidèlement l'expérience et leur utilisation peut conduire à des modèles mathématiques imprécis. Donc, pour que le modèle soit précis, et ne soit pas simplement un outil mathématique, il doit refléter une parfaite connaissance des phénomènes et des processus physiques qui interviennent pendant l'extraction à partir de la connaissance des structures du système et également à partir des observations expérimentales.

2. Modèles mathématiques

De nombreux modèles ont été proposés avec des succès divers dans le contexte de simuler le processus de transfert de matière lors de l'extraction par hydrodistillation ou entraînement à la vapeur dont les plus importants sont revus brièvement :

2.1 Modèle d'extraction avec réaction chimique

L'extraction solide-liquide est souvent couplée avec une réaction chimique ou biochimique. La concentration est représentée par le bilan de matière suivant :

$$\frac{\partial C(t,x)}{\partial t} = D_{eff} \frac{1}{x} \frac{\partial^2 C(t,x)}{\partial x^2} + r(t) \quad (I.3)$$

Où $r(t)$ est le terme de cinétique réactionnel, exprimé par :

$$r(t) = -\frac{dC_s(t)}{dt} = k_r [C_s(t)] \quad (I.4)$$

Où k_r représente la pseudo-constante de vitesse.

Le système en prenant en compte les conditions initiales et limites peut être résolu numériquement.

Benyoussef et al [85] ont proposé dans leur article un modèle qui décrit le phénomène de diffusion-réaction. Ils ont supposé que certains constituants de l'huile essentielle des fruits de Coriandre se trouvent chimiquement liés dans le substrat végétal et leur présence dans l'essence serait le résultat d'une réaction chimique accompagnant le processus d'hydrodistillation, en se basant sur cette supposition, ils ont développé deux modèles : Le premier, cinétique, la libération du soluté ainsi que sa diffusion sont toutes les deux prises en compte. Le second, diffusionnel, négligeant l'effet de la réaction chimique sur le processus de transfert de matière. Les concentrations en soluté libre et lié chimiquement ne dépendent que de la variable spatiale et du temps. La comparaison des résultats expérimentaux traduisant l'évolution du rendement en huile essentielle en fonction de la durée d'hydrodistillation avec les résultats simulés par les deux modèles montre que le modèle cinétique simule très bien l'extraction de l'huile essentielle des fruits de Coriandre par hydrodistillation.

2.2 Modèle de Sovova

Sovova et al [82] ont proposé un modèle dans lequel, il est considéré que le soluté est divisé en deux fractions ; une fraction (r) de l'huile essentielle localisée dans les cellules à parois cassées, facilement accessible et une fraction ($1-r$) de l'huile essentielle difficilement accessible renfermée dans les cellules à parois intactes.

La solution proposée est de la forme :

$$C(t) = C_{\infty} \left[1 - f \exp\left(-\frac{t}{T_1}\right) - (1 - f) \exp\left(-\frac{t}{T_2}\right) \right] \quad (I.5)$$

La solution analytique des équations du modèle contient T_1 et T_2 , qui sont les deux constantes de temps, caractéristiques des deux phénomènes de diffusion du soluté, à savoir la diffusion à partir des cellules cassées facilement réalisable et la diffusion à partir des cellules intactes, la plus difficiles et la plus lente $T_2 > T_1$. (f) Est un paramètre fonction de la fraction (r) de soluté localisé dans les cellules à parois cassées. Le modèle a été appliqué à l'hydrodistillation des feuilles de Thym grimpant et les grains de Coriandre [84] ; les résultats peuvent être expliqués par la présence de deux flux diffusifs qui auront lieux au même temps avec des vitesses différentes, l'un étant beaucoup plus lent que l'autre.

En se basant sur ce modèle, Romdhane et al [81] ont modélisé la cinétique de l'extraction de l'huile essentielle des grains d'Anis par entraînement à la vapeur à l'échelle pilote et Xavier et al [83] ont formulé un modèle pour l'extraction par entraînement à la vapeur de trois espèces de Baccharis.

2.3 Modèle diffusionnel

Le concept de vitesse de diffusion à l'intérieur d'une matrice solide est difficile à étudier. Dans les situations pratiques, on a des conditions non stationnaires, avec une concentration du soluté qui varie selon le temps et la position dans la particule. Cette diffusion est généralement décrite par la seconde loi de Fick :

$$\frac{\partial X}{\partial t} = -D_x \nabla^2 X \quad (I.6)$$

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

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

Une résolution analytique est accessible lorsque le transfert est supposé monodirectionnel et le coefficient de diffusion constant. Par contre dans le cas où celui-ci est variable, on doit avoir recours à des résolutions numériques. [86]

Selon Milojevic et al [30], le transport de masse d'huile essentielle à travers des particules végétales durant l'hydrodistillation se produit comme la diffusion en régime non-permanent. Le processus est pratiquement le même que la diffusion des substances extractives à travers des particules végétales au cours de l'extraction par solvant. Pour l'hydrodistillation en discontinu et en absence de la réaction chimique le processus de transfert de matière peut être décrit par la seconde loi de Fick.

Cassel et al ont travaillé sur la modélisation du transfert de matière lors de l'extraction par entraînement à la vapeur des huiles essentielles de Citronnelle [88], Romarin, Basilique et Lavande [89]. En gardant à l'esprit que le processus de transfert de matière pendant l'extraction est contrôlé par la diffusion du soluté dans la particule. Ils ont simulé le processus d'entraînement à la vapeur en utilisant un modèle diffusionnel basé sur la loi de Fick et qu'il ne nécessite qu'un seul paramètre ajustable D (le coefficient de diffusion) en supposant que, dans le début du processus la concentration en huile essentielle est homogène et constante dans toute la particule et négligeable aux interfaces à cause de l'entraînement instantané de l'huile au niveau de la surface. Le modèle diffusionnel développé a bien corrélé les données expérimentales du rendement en huile essentielle des quatre plantes ; ainsi que celui développé par Hadj Ammar et al [6] pour l'hydrodistillation de l'huile essentielle de trois plantes tunisiennes à savoir le Romarin, le Myrte et le Bigaradier.

Conclusion bibliographique

Cette partie du travail a bien permis de comprendre le principe de l'hydrodistillation classique, ainsi que les facteurs influençant le rendement de ce procédé d'extraction.

D'une manière générale, les facteurs caractérisant la matière végétale et les conditions opératoires de l'hydrodistillation engendrent conjointement des variations quantitatives et qualitatives des huiles essentielles. Il convient donc de maîtriser d'une part le traitement de la matière végétale, et d'autre part le processus d'extraction par hydrodistillation.

Cet aperçu bibliographique a montré encore l'intérêt des plans d'expériences dans l'optimisation de cette technique d'extraction et il a mis en valeur cette dernière parmi les autres méthodes de récupération des huiles essentielles.

Le deuxième chapitre de cette revue focalise sur les huiles essentielles, et en particulier, celle de *Laurus nobilis*. Elle est formée également de constituants qui appartiennent à deux groupes de molécules : le groupe des terpènes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

En plus, l'étude histologique, a mis en évidence, que selon les espèces végétales, différentes structures plus ou moins complexes sont responsables de la biosynthèse, du stockage et de l'émission des huiles essentielles. Les canaux sécréteurs et les trichomes glandulaires ont été observés, respectivement dans les feuilles de *Laurus nobilis* et *Rosmarinus officinalis*.

La revue bibliographique a permis aussi la constatation de l'importance de *Laurus nobilis* dans le secteur industriel grâce aux bienfaits et aux propriétés biologiques et thérapeutiques de l'huile essentielle de cette plante.

A partir de l'analyse bibliographique concernant les travaux réalisés sur la modélisation, il apparaît que le transfert de matière au cours de l'extraction par hydrodistillation est gouverné en général par des processus de diffusion dont les cinétiques dépendent de la nature et la disposition des sites renfermant le soluté au sein de la particule.

Chapitre I

Matériels et méthodes

L'application du procédé d'hydrodistillation à l'extraction de l'huile essentielle d'un matériel végétal, Laurier noble est l'objectif de ce chapitre.

La première partie de l'étude expérimentale décrit le montage d'hydrodistillation utilisé et focalise essentiellement sur la présentation de la matière botanique : origine, prétraitement, choix de l'organe végétatif et description du processus de séchage.

La seconde partie a trait à l'optimisation du procédé d'extraction de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble en appliquant un plan factoriel complet, puis par l'étude de l'influence des paramètres opératoires d'hydrodistillation tels que : le temps, le débit de condensation, la granulométrie et le rapport de masse sur le rendement de l'extraction d'un côté, et sur la composition chimique des essences de l'autre côté.

Le travail expérimental continue par la comparaison du rendement de l'hydrodistillation avec celui obtenu par CO₂ supercritique pour plusieurs valeurs de diamètre de particule des feuilles de Romarin, dans le but d'évaluer la performance de l'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles.

Ce travail sera clôturé par l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des trois plantes utilisées dans cette étude à savoir : le Laurier noble, la Sauge et le Romarin.

1. Matière première

1.1 *Laurus nobilis* L.

Laurier noble utilisé dans cette étude a été récolté dans la région d'El Kala wilaya d'El Tarf (Nord-est de l'Algérie) en mars 2013 sur quatre arbres en floraison, pris au hasard. Les différents organes végétatifs de la plante ont été séparés, feuilles, fleurs et tiges et nettoyés, puis soumis au séchage dans le laboratoire à température ambiante jusqu'à la stabilisation de leurs poids.

1.2 *Salvia officinalis* L.

La Saugue officinale utilisée dans cette étude a été récoltée dans la région de Constantine (Est de l'Algérie) en septembre 2013 sur trois arbres pris au hasard. Les feuilles de cette plante sont séparées et nettoyées puis soumises au séchage dans le laboratoire à température ambiante jusqu'à la stabilisation de leurs poids.

1.3 *Rosmarinus officinalis* L.

Le Romarin utilisé est ramené de Constantine (Est de l'Algérie), préalablement nettoyé pour ne garder que les feuilles, ces dernières ont été soumises au séchage jusqu'à la stabilisation de leurs poids.

1.4 Détermination du taux d'humidité

Afin de déterminer la teneur en eau (taux d'humidité) des feuilles de chaque plante, une quantité de feuilles fraîches (M_f) a été séchée dans une étuve à 105°C pendant 48 h, jusqu'à un poids constant (M_s), la teneur en eau (H_{eau}) est donnée par la formule ci-dessous :

$$H_{eau} = \frac{M_f - M_s}{M_f} * 100 \quad (II.1)$$

Les teneurs en eau des feuilles de Laurier noble, de la Saugue officinale et du Romarin sont 25.5 %, 64.5 % et 5.92 % respectivement.

2. Hydrodistillation

2.1 Description du montage

Le dispositif expérimental utilisé est de type Clevenger (Figure II. 1). Il se compose d'un ballon de deux litres de capacité et une colonne de condensation à laquelle est adapté un réfrigérant. Le système fonctionne à la pression atmosphérique et équipé d'une colonne de décantation qui permet de mesurer directement la quantité d'huile essentielle extraite ; liée à une conduite de retour de l'eau condensée qui permet de maintenir le rapport masse de la matière végétale/masse d'eau à son niveau initial et de décanter la phase huileuse. Ce dispositif est chauffé en utilisant un chauffe ballon équipé d'un régulateur de puissance (la puissance maximale fournit une température de 450°C).

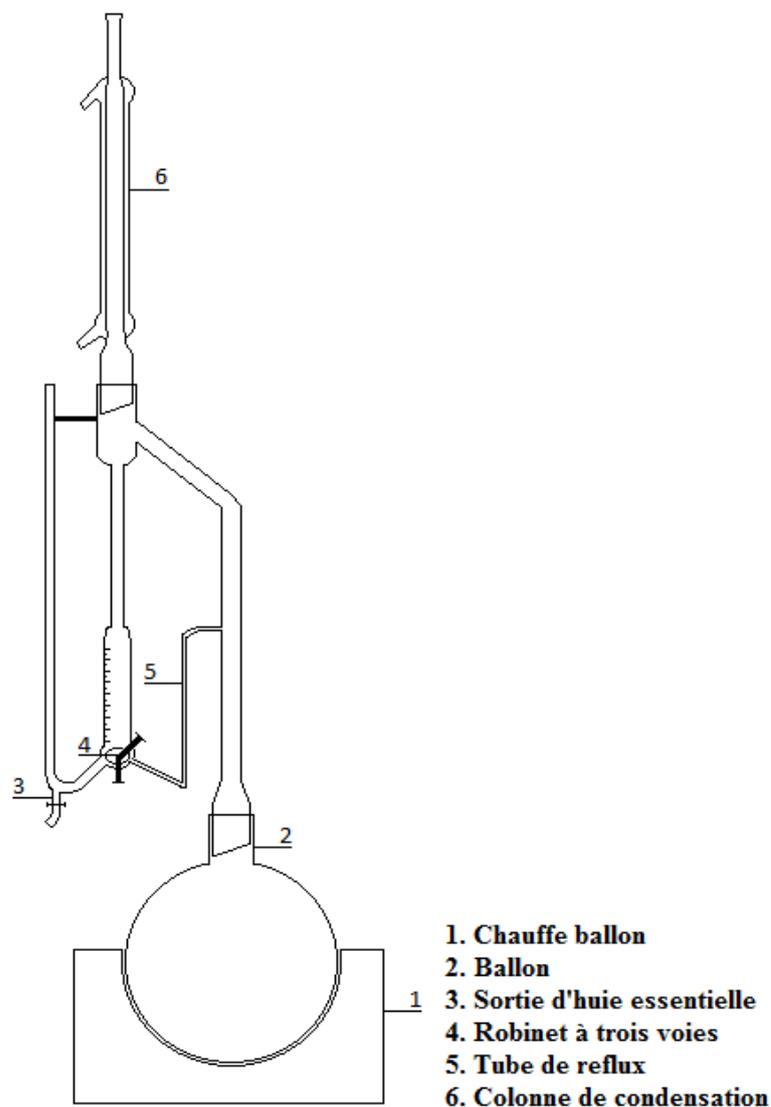


Figure II. 1 : Schéma du dispositif de l'hydrodistillation du type Clevenger utilisé.

2.2 Principe de l'extraction

Dans chaque expérience, la matière végétale et l'eau sont placées dans le ballon dans des proportions précises, le mélange est porté à l'ébullition. La vapeur chargée d'huile essentielle produite sort du condenseur à l'état liquide. Le liquide passe par la colonne de décantation, se qui permet d'obtenir deux phases plus ou moins immiscibles : l'hydrolat (eau aromatique) et l'huile essentielle. Cette dernière se distingue de l'hydrolat par sa différence de densité et de couleur. L'eau aromatique condensée est retournée vers le ballon. A la fin de chaque extraction, l'huile essentielle est récupérée grâce à un robinet à trois voies (Figure II. 2).

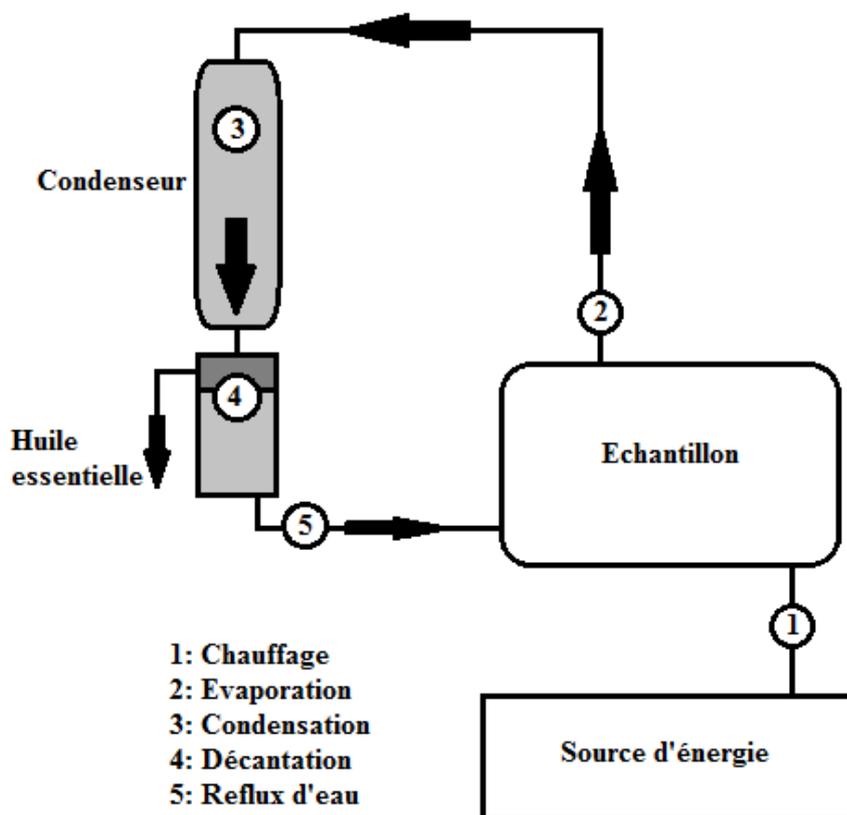


Figure II. 2 : Schéma du principe de fonctionnement du dispositif de l'extraction

2.3 Stockage des extraits

Les huiles essentielles récupérées sont pesées et conservées dans des vials couverts avec du papier aluminium, hermétiquement fermés puis stockés dans un réfrigérateur réglé à une température de 6°C jusqu'à leur utilisation.

2.4 Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est estimé par le rapport de masses de l'huile essentielle et de la matière végétale ; il est exprimé en pourcentage et donné par la formule suivante :

$$R = \frac{M_{\text{extrait}}}{M_{mv}^*} \times 100 \quad (\text{II.2})$$

* pour la perte en eau, le rendement est toujours calculé en utilisant le poids de matière végétale fraîche, le jour de la récolte (100g).

3. Choix de l'organe végétatif

Laurier noble utilisé dans cette étude est récolté en floraison. Ses organes végétatifs ont été séparés et traités puis répartis dans des échantillons de 100g, feuilles, fleurs et tiges, et soumis à l'hydrodistillation dans les conditions opératoires présentées dans le tableau (II. 1)

Tableau II. 1 : Conditions opératoires concernant le choix de l'organe végétatif.

Organe végétatif	Débit de condensation (ml/min)	Rapport de masse	Granulométrie (mm)	Temps d'extraction (min)
Feuille	4.0	1/10	≤ 2.0	150
Fleur	4.0	1/10	≤ 2.0	150
Tige	4.0	1/10	≤ 2.0	150

4. Perte en eau par la matière végétale

Pour étudier l'influence de la perte en eau sur la réponse d'extraction, la matière végétale subit un séchage. Le séchage a été effectué à l'ombre, à l'air ambiant et à la lumière du jour dans le laboratoire. La température varie de 15°C à 28°C.

Les feuilles de Laurier noble ont été coupées en utilisant une paire de ciseaux dans des formes de tailles approximativement identiques (6mm de diamètre équivalent) ; les feuilles coupées ont été réparties dans des échantillons de 100g, chaque échantillon est étalé en fine couche sur une surface de 0.1m². La première extraction est faite en utilisant des feuilles fraîches le jour de la récolte ensuite l'opération est répétée tous les quatre jours durant une période de 28 jours.

Le résultat trouvé pour le séchage des feuilles de Laurier noble est comparé à celui trouvé par l'exposition des feuilles de la Sauge officinale au même mode et durée de séchage.

Tableau II. 2 : Conditions opératoires concernant l'étude de la perte en eau.

Temps de séchage (jr)	Débit de condensation (ml/min)	Rapport de masse	Granulométrie (mm)	Temps d'extraction (min)
0	4.0	1/10	6.0	150
4	4.0	1/10	6.0	150
8	4.0	1/10	6.0	150
12	4.0	1/10	6.0	150
16	4.0	1/10	6.0	150
20	4.0	1/10	6.0	150
24	4.0	1/10	6.0	150
28	4.0	1/10	6.0	150

5. Plan factoriel complet à deux niveaux 2^3 et Criblage

Les plans factoriels complets à deux niveaux sont utilisés aussi en tant que plans de criblage destinés à déterminer quels sont les facteurs les plus influents sur la réponse. Dans ce cas, le but est de rechercher, parmi les facteurs étudiés, ceux qui ont une influence significative sur le rendement de l'hydrodistillation. Ce plan sera abordé donc comme un plan de criblage (screening). L'information recherchée porte d'abord sur les facteurs affectant plutôt que sur la modélisation de la réponse (rendement).

5.1 Paramètres d'étude

Les paramètres qui influent sur le rendement de l'extraction d'huile essentielle par hydrodistillation à pression atmosphérique sont : le temps, le débit de condensation, le facteur de division de la plante, le rapport masse de matière végétale/masse d'eau et la perte en eau par la matière végétale. [38]

Deux paramètres sont maintenus constants :

- ✓ Le temps : fixé à 150 minutes, la quasi-totalité d'huile essentielle est extraite de la matière végétale dans ce temps.
- ✓ La perte en eau par la matière végétale : matière végétale sèche (la différence entre deux pesés du même échantillon dans quelques jours est presque nulle).

Ce qui ramène le problème aux trois autres paramètres.

Donc les paramètres d'étude qui entrent dans le plan factoriel complet sont :

- ✓ Facteur de division de la plante : X_1 , longueur en mm des feuilles de Laurier noble coupées (broyées).
- ✓ Rapport masse de matière végétale/masse d'eau : X_2 , les proportions de la masse de la matière végétale (feuilles de Laurier noble) et la masse d'eau en gramme qui entre dans le mélange de distillation.
- ✓ Débit de condensation : X_3 , la quantité de distillat récupérée par unité de temps.

5.2 Modèle mathématique

La réponse ou le rendement de l'hydrodistillation y (rendement en pourcentage d'huile essentielle extraite de 40g de feuilles) dépend des trois facteurs présentés ci-dessus ce qui se traduit mathématiquement par : $y = f(X_1, X_2, X_3)$

Avec :

f : la fonction de réponse, X_1, X_2, X_3 : les facteurs pris en compte.

La formule générale du nombre (N) d'expériences pour un plan factoriel complet est $N = 2^K$

Où K correspond au nombre de facteurs à étudier. [37]

- **Matrice d'expériences**

Tableau II. 3 : matrice d'expériences

X_1	X_2	X_3
-1	-1	-1
+1	-1	-1
-1	+1	-1
+1	+1	-1
-1	-1	+1
+1	-1	+1
-1	+1	+1
+1	+1	+1

Pour construire la matrice d'expériences ci-dessus on définit :

- Les variables centrées réduites : centrées pour indiquer le changement d'origine et réduites pour signaler la nouvelle unité. Le passage des variables d'origine A aux variables centrées réduites X, et inversement, est donné par la formule suivante :

$$X = A - A_0/pas \quad (\text{II.3})$$

A_0 étant la valeur centrale en unités courantes.

- Les deux niveaux des variables : niveau haut +1 et niveau bas -1

La fonction de réponse correspondante est un polynôme du premier degré par rapport à chacun des facteurs et s'écrit :

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_{12}x_1x_2 + a_{13}x_1x_3 + a_{23}x_2x_3 + a_{123}x_1x_2x_3 \quad (\text{II.4})$$

a_0 : est la moyenne et représente aussi la valeur théorique de la réponse au centre du domaine, a_i effets principaux, a_{ij} et a_{ijk} interactions. [37]

Tableau II. 4 : Niveaux des variables

Variables	Division de la plante X_1	Masse matière végétale/masse d'eau X_2	Débit de condensation X_3
Valeur au centre	[1.65mm-3mm]	1/9	3.15ml/min
Pas de variation	[1.5mm - 2mm]	1/3	2.50ml/min
Niveau haut (+1)	[3.15mm-5mm]	1/12	5.65ml/min
Niveau bas (-1)	[0.15mm-1mm]	1/6	0.65ml/min

- **Calcul des coefficients**

La relation ci-dessous permet de généraliser le processus de calcul de la moyenne théorique, les effets des facteurs et les interactions entre facteurs.

$$a_i = 1/n [\pm y_1 \pm y_2 \pm y_3 \pm y_4 \pm y_5 \pm \dots \pm y_n] \quad (\text{II.5})$$

Cette relation est valable pour tous les plans factoriels complets. [37]

5.3 Estimation de l'erreur expérimentale

Pour estimer l'erreur expérimentale, il faut effectuer plusieurs mesures en un même point tout en contrôlant les mêmes facteurs que ceux du plan. La meilleure solution est de choisir le point central du domaine d'étude à chaque fois que cela est possible. Dans ce cas, si l'on effectue n mesures, l'écart-type est donné par la formule :

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (y_i - y')^2} \quad (\text{II.6})$$

Avec $y' = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i$ moyenne de toutes les mesures effectuées en un même point expérimental. [37,90]

Afin de tester la signification et la pertinence du modèle, il suffit de comparer la valeur de la réponse au centre du domaine y' déterminée à partir des expériences au centre avec a_0 la valeur théorique de la réponse au centre. Si l'écart entre les deux valeurs est inférieur ou égal à l'erreur expérimentale S , le modèle est accepté, s'il est supérieur, le modèle est rejeté. [90]

6. Choix des conditions opératoires

Cette partie de l'étude a pour but d'évaluer l'influence des paramètres répertoriés de la littérature sur l'extraction par hydrodistillation d'huile essentielle de Laurier noble, en utilisant le montage Clevenger présenté ci-dessus.

Le choix des conditions opératoires dépend essentiellement de la nature du procédé d'extraction (Hydrodistillation), le désigne du montage (Clevenger) choisi ainsi que la nature de la matière végétale choisie.

Après le choix de l'organe végétatif possédant la plus grande teneur en huile essentielle dans la plante et l'étude de l'effet du séchage de cet organe sur la réponse de l'extraction, le paramètre qui a une influence sur la réponse d'extraction et sur la composition chimique d'huile essentielle de Laurier noble est le facteur de division de la matière végétale. Ces paramètres sont liés à la nature de la matière première utilisée.

Pour les paramètres liés à la nature du procédé d'extraction et le fonctionnement du montage, on a essayé d'étudier l'influence du temps d'extraction, le débit de condensation et le rapport de masse (masse de la matière végétale/masse d'eau).

L'étude est portée sur l'influence de tous ces paramètres non seulement sur le rendement de l'extraction mais encore sur la composition chimique des huiles essentielles extraites.

6.1 Temps d'extraction

Le temps d'extraction est étalé sur une durée de 150 minutes après l'apparition de la première goutte de condensat.

6.2 Débit de condensation

La quantité de distillat récupérée par unité de temps dépend du flux de vapeur sortant du ballon. Elle est proportionnelle à la puissance de chauffage. L'extraction est effectuée pour 7 valeurs de débit de condensation de 0.2ml/min à 9.2ml/min.

6.3 Facteur de division de la matière végétale ou granulométrie

Les feuilles de Laurier noble, après séchage, ont été soumises à un broyage d'une durée de 30 secondes dans un broyeur de laboratoire Fritsch de type Rotor speed 600 w. Les feuilles broyées ont été passées ensuite dans un tamiseur vibratoire Retsch de type Vibro 430 w pour aboutir à 7 différentes classes de diamètre de particule, de 5mm jusqu'à 0.18mm.

Les feuilles du Romarin ont été soumises au même mode opératoire, puis triées dans 4 différentes classes de diamètre, de 1mm à 0.18mm.

Le résultat trouvé pour Laurier noble est comparé à celui trouvé pour le Romarin dans le but de mieux comprendre l'influence de la granulométrie sur l'extraction par hydrodistillation.

6.4 Rapport de masse matière végétale/eau

C'est le rapport entre la masse des feuilles de Laurier noble et la masse d'eau distillée pris dans chaque expérience.

7. Analyses des huiles essentielles

Pour l'identification d'un composé déjà connu et dont les caractéristiques spectrales sont décrites, le couplage de la chromatographie en phase gazeuse CPG associée à la spectrométrie de masse SM constitue l'équipement de base des laboratoires de contrôle et même de recherche. La technique d'analyse est généralement désignée sous le terme abrégé de GC/MS pour Gas Chromatography/Mass Spectrometry.

Le rôle du chromatographe est de séparer les constituants d'un mélange. La chromatographie en phase gazeuse est réservée à l'analyse des composés relativement volatils et thermiquement stables. Le chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur. Il existe différents types de détecteurs mais le spectromètre de masse tend aujourd'hui à supplanter tous les autres car il est le seul à fournir des informations structurales sur les composés séparés par chromatographie. [49]

7.1 Préparation des échantillons

Les analyses chromatographiques ont été réalisées au laboratoire de Chimie et méthodologie pour l'environnement (LCME), Université de Lorraine, Metz, France.

Les échantillons ont été préparés par dissolution sous agitation d'une goutte d'huile essentielle dans 1ml de solvant : le dichlorométhane. Volume injecté 1µl.

7.2 Analyse GC/MS

Les huiles essentielles extraites par hydrodistillation ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse GC/MS, avec deux appareils Perkin Elmer, un chromatographe en phase gazeuse GC Clarus 500 couplé à un spectromètre de masse MS Clarus 500. La colonne utilisée en chromatographie est une Elite 5MS avec une phase stationnaire composée de 5% Diphenyl / 95% DimethylPolysiloxane, de longueur de 30m, de diamètre intérieur de 0.25mm et d'épaisseur de film de la phase stationnaire de 0.25 μ m. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium avec un débit de 0.75ml/min. L'injecteur est amené à 300°C, le programme débute à 60°C pendant 3 minutes puis la température augmente de 10 °C/min jusqu'à 300°C pendant 3 min. L'acquisition du spectre de masse est effectuée sur une gamme m/Z comprise entre 20 et 400 avec 0,1 scan/s et une énergie d'ionisation des électrons de 70 eV. La température de la source, de la ligne de transfert et du détecteur est de 250°C.

8. Expériences

Le travail expérimental présenté dans cette partie consiste à étudier essentiellement l'influence des paramètres opératoires d'hydrodistillation sur l'extraction d'huile essentielle de Laurier noble.

Le travail a été effectué par la variation du paramètre à étudier, ainsi que par la fixation au préalable des autres paramètres opératoires. Les différentes possibilités de combinaison des conditions opératoires tels que : le temps d'extraction, le débit de condensation, la granulométrie et le rapport de masse sont portées dans le tableau (II. 5) Pour chaque expérience, un paramètre est varié, les autres sont maintenus fixes.

Tableau II. 5 : Différentes combinaisons des paramètres de l'hydrodistillation pour Laurier noble.

N°	Temps d'extraction (min)	Débit de condensation (ml/min)	Granulométrie (mm)	Rapport de masse
1	2	3.87	5	1/12
2	5	3.87	5	1/12
3	10	3.87	5	1/12
4	15	3.87	5	1/12
5	20	3.87	5	1/12
6	25	3.87	5	1/12
7	30	3.87	5	1/12
8	45	3.87	5	1/12
9	60	3.87	5	1/12
10	90	3.87	5	1/12
11	120	3.87	5	1/12
12	150	3.87	5	1/12
13	60	0.20	5	1/12
14	60	0.54	5	1/12
15	60	1.28	5	1/12
16	60	2.22	5	1/12
17	60	3.87	5	1/12
18	60	5.71	5	1/12
19	60	9.23	5	1/12
20	60	3.87	0.18	1/10
21	60	3.87	0.315	1/10
22	60	3.87	0.5	1/10
23	60	3.87	0.9	1/10
24	60	3.87	1.6	1/10
25	60	3.87	3.15	1/10
26	60	3.87	5	1/10
27	60	3.87	5	1/2
28	60	3.87	5	1/4
29	60	3.87	5	1/6
30	60	3.87	5	1/8
31	60	3.87	5	1/10
32	60	3.87	5	1/12

9. Evaluation de la performance de l'hydrodistillation

Cette partie de l'étude expérimentale a pour but d'évaluer la performance de l'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles.

Pour atteindre cet objectif, l'hydrodistillation des feuilles de Romarin a été effectuée pour plusieurs valeurs du diamètre de particules. Les résultats obtenus pour le rendement de l'extraction et la composition chimique des essences extraites sont comparés à ceux trouvés par Zermane et al [25], qui ont travaillé sur l'extraction par CO₂ supercritique de l'huile essentielle de la même plante et pour les mêmes valeurs du diamètre de particules.

9.1 Extraction par CO₂ supercritique

Les expériences de l'extraction supercritique ont été réalisées dans une unité d'extraction dynamique conçue et assemblée au laboratoire des sciences du génie chimique (LSGC, Nancy, France).

L'appareil se compose principalement d'un réservoir de CO₂ et d'un extracteur métallique de forme cylindrique, placé en série avec trois séparateurs, accompagnés d'un bain thermostaté, d'une pompe doseuse, d'un cryostat et d'une instrumentation pour le contrôle de la pression, de la température, du débit et des vannes de collection de l'extrait. La température et la pression opératoires peuvent atteindre jusqu'à 80 °C et 25 MPa respectivement, avec un débit maximal de gaz de 3.2 Kg/h. Le schéma de l'installation est présenté sur la figure (II. 3).

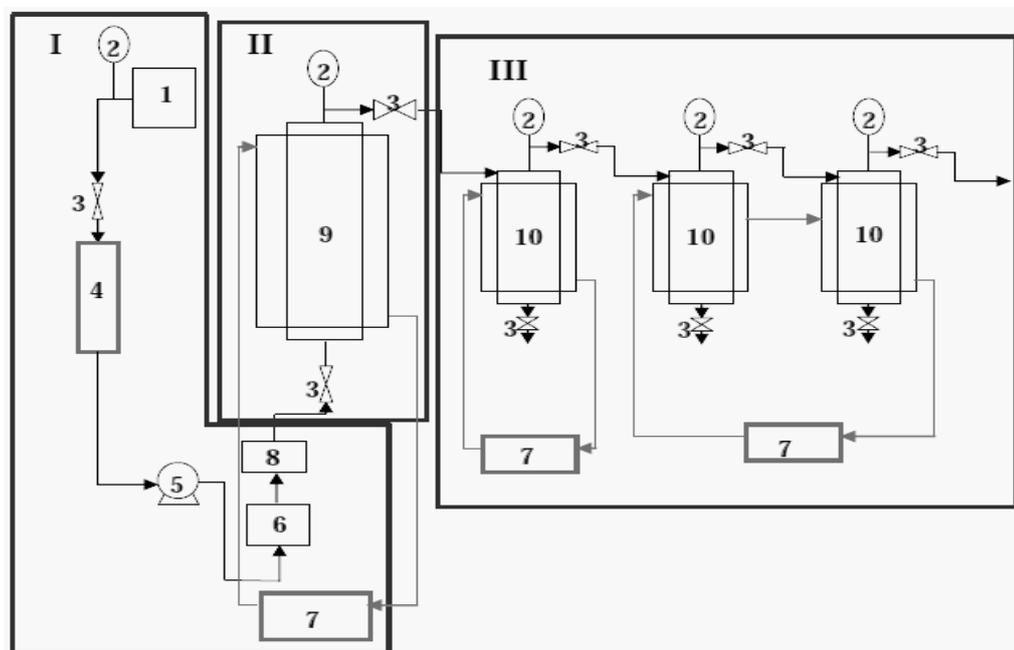


Figure II. 3 : Schéma de l'installation d'extraction dynamique, I : Préparation du CO₂ supercritique, II : Partie d'extraction, III : Récupération des extraits.

1 : Bouteille du CO₂, **2 :** Manomètre, **3 :** Vannes, **4 :** Echangeur froid, **5 :** Pompe, **6 :** Contrôleur de pression, **7 :** bain thermostaté, **8 :** Compteur du CO₂, **9 :** Extracteur, **10 :** Séparateurs. [25]

9.2 Condition opératoires

Les conditions opératoires pour les deux méthodes sont portées dans les tableaux (II. 6) et (II. 7)

Tableau II. 6 : Conditions opératoires de l'extraction par Hydrodistillation.

Débit de condensation (ml/min)	Rapport de masse	Temps d'extraction (h)	Diamètre de particules (mm)
4.5	1/10	3.5	1.00
4.5	1/10	3.5	0.50
4.5	1/10	3.5	0.25
4.5	1/10	3.5	0.18

Tableau II. 7 : Conditions opératoires de l'extraction par CO₂ Supercritique.

température (°C)	Pression (MPa)	Débit du CO ₂ (g/min)	Temps (h)	Diamètre de particules (mm)
40	10	7	3.5	1.00
40	10	7	3.5	0.50
40	10	7	3.5	0.25
40	10	7	3.5	0.18

Dans chaque expérience une quantité de 20 g de Romarin broyé est placée dans le réceptacle avec une quantité d'environ 2 g de laine de verre.

10. Activité antibactérienne

L'objectif de l'étude présentée dans cette partie est d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles des trois plantes utilisées dans le travail expérimental à savoir : le Laurier noble, la Sauge et le Romarin sur quatre souches bactériennes pathogènes à gram positif et négatif et l'examen de l'effet du temps d'hydrodistillation sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble. L'évaluation est effectuée par la méthode de diffusion sur gélose.

Cette étude a été accomplie au niveau du laboratoire de Mycologie, de Biotechnologies et de l'Activité microbienne de la faculté de biologie de l'université des frères Mentouri de Constantine.

10.1 Diffusion sur gélose

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été évaluée par deux différentes techniques de la méthode de diffusion sur gélose :

- Technique des puits.
- Technique des disques (antibiogramme).

10.2 Choix des souches

Les souches bactériennes ont été fournies par le laboratoire de Mycologie, de Biotechnologies et de l'Activité microbienne de la faculté de biologie de Constantine. On a essayé d'élargir la gamme des bactéries testées : à Gram positif et à Gram négatif.

- Bactéries à Gram positif : *Bacillus* sp et *Staphylococcus aureus*.
- Bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

10.3 Milieu de culture

Le milieu de culture utilisé dans cette technique est la gélose Mueller Hinton.

10.4 Réactivation des souches et préparation de l'inoculum

L'activité antibactérienne doit être testée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation est effectuée par repiquage des souches dans des bouillons nutritifs frais contenus dans des tubes à essais stériles puis incubation pendant 24 h.

10.5 Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles a été réalisée par les deux techniques de la méthode de diffusion en milieu gélosé (techniques des disques et des puits). Le principe de ces techniques consiste à tester la sensibilité des souches bactériennes par la diffusion de l'extrait sur le milieu solide dans une boîte à Pétri, avec la création d'un gradient de concentration entre le composé et le microorganisme cible.

L'apparition et l'importance du diamètre de la zone d'inhibition reflètent l'impact des huiles essentielles sur les souches bactériennes ; ainsi, ces dernières seront qualifiées de sensibles, très sensibles ou résistantes à ces substances. Les étapes suivies sont :

- Ensemencement

Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé Mueller Hinton en surfusion a été coulé aseptiquement. Après la solidification, un écouvillon stérile a été imbibé dans la suspension bactérienne et étalé à la surface de la gélose à trois reprises, en tournant la boîte après chaque application dans le but d'avoir une distribution égale et homogène de l'inoculum.

- Application des puits et des disques

Après le séchage, la réalisation des puits consiste à découper un tronc circulaire vertical dans le centre de la gélose et d'y verser un échantillon de 100 µl de l'huile essentielle.

Pour les disques, Le contact se fait par l'intermédiaire du disque de papier imprégné d'huile essentielle et déposé à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose.

Pour les deux techniques, les essences diffusent radialement en créant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose.

- Incubation

L'incubation des boîtes de pétrie dure 24h à 37°C pour *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* et à 30°C pour *Bacillus sp.*

- Lecture

L'évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons des essences est effectuée par la mesure du diamètre des zones d'inhibition lorsqu'elles existent.

Les expériences ont été répétées deux à trois fois afin d'avoir une bonne reproductibilité des résultats. Les résultats expérimentaux obtenus ainsi que leurs interprétations sont montrés dans la section suivante.

Chapitre II

Résultats expérimentaux et discussion

Cette partie de l'étude concerne essentiellement la présentation, la discussion et l'interprétation des résultats expérimentaux obtenus dans le choix de l'organe végétatif de la plante à utiliser, de l'influence du séchage de la matière végétale, du plan d'expériences (Criblage) et successivement de l'effet du temps d'extraction, du débit de condensation, de la granulométrie et du rapport de masse sur le rendement de l'extraction d'une part et sur la composition chimique des huiles essentielles extraites d'autre part. Elle se poursuit par l'évaluation de la performance de l'hydrodistillation, en analysant les résultats de la comparaison de cette dernière avec l'extraction par CO₂ supercritique et se termine par l'exploration de l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites.

La présente investigation a pour but d'optimiser quantitativement et qualitativement l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de Laurier noble.

1. Choix de l'organe végétatif

Afin de distinguer l'organe végétatif qui a la plus grande teneur en huile essentielle, les feuilles, les fleurs et les tiges de Laurier noble ont été soumises à l'hydrodistillation pendant 150 minutes, avec un débit de condensation de 4 ml/min et un rapport de masse de 1/10, pour une granulométrie de 2 mm.

1.1 Teneur en huile essentielle des organes végétatifs de Laurier

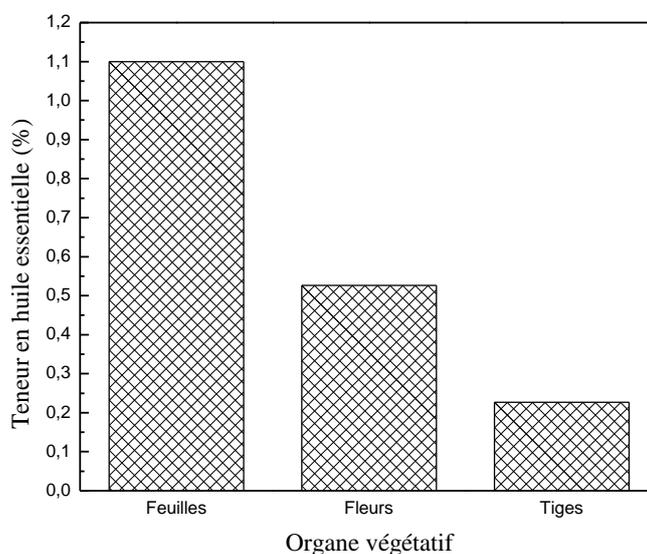


Figure II. 4 : Teneur en huile essentielle des différents organes de Laurier noble.

L'analyse des résultats obtenus met en évidence la présence d'une quantité d'essence dans tous les organes végétatifs de Laurier noble. Cette quantité varie selon la partie distillée de la plante.

La figure (II. 4) présente la teneur en huile essentielle de chaque organe végétatif de Laurier noble : feuilles, fleurs et tiges. L'examen de cette figure montre une variation de la teneur en essence ; elle peut atteindre plus de 1 % du poids des feuilles, ce qui rend ces dernières l'organe le plus riche en huile essentielle.

Le deuxième organe dans l'ordre c'est les fleurs, elles contiennent plus de 0.5 % d'essence, c'est une quantité, à la limite, acceptable. Toutefois, l'inconvénient majeur c'est que les fleurs sont disponibles dans un cycle végétatif bien défini de la plante (floraison).

Avec une quantité de 0.22 %, les tiges présentent la plus faible teneur en huile essentielle.

Vu leur richesse en huile essentielle, leur disponibilité pendant tous les cycles végétatifs de la plante et leur facilité de manipulation, les feuilles de Laurier noble sont l'organe végétatif étudié dans ce travail.

1.2 Composition chimique des essences en fonction des différents organes

Les composés identifiés par analyses GC/MS des échantillons obtenus des feuilles, fleurs et tiges de Laurier noble sont classés en fonction de leur temps de rétention dans le tableau (II. 8).

Tableau II. 8 : Composition des huiles essentielles des feuilles, fleurs et tiges.

Composé	tR (min)	Composition		
		Feuilles	Fleurs	Tiges
α-Pinène	6.34	5.094	7.769	1.218
Camphène	6.69	-	3.009	-
Sabinène	7.07	7.539	5.072	2.168
β -Pinène	7.19	3.824	5.034	1.297
1.8-Cinéole	8.21	47.948	32.171	30.085
Linalool	9.29	10.089	2.204	8.031
4. Terpinéol	10.69	2.467	1.586	3.516
α . Terpinéol	10.86	5.267	1.591	5.156
Bornyl-acétate	12.21	-	3.154	1.248
Terpinyl-acétate	13.06	7.712	8.145	11.197
Eugénol	13.12	1.148	-	-
Méthyle-eugénol	13.73	8.906	5.725	18.435
Caryophyllène	14.16	-	6.202	2.778
α -Caryophyllène	14.63	-	1.667	-
δ -Cadinène	15.34	-	2.090	2.837
Spathuléol	16.13	-	2.503	1.738
Caryophyllène-oxyde	16.23	-	7.026	4.803
β -Eudesmol	17.05	-	5.045	5.486
Somme		99.994	99.993	99.993

9 composés ont été identifiés dans les trois échantillons, avec le 1.8-Cinéole comme composé majoritaire, 5 autres composés ont été identifiés seulement dans l'analyse des essences extraites des fleurs et des tiges, avec l'absence totale de l'Eugénol.

L'identification du Camphène et du α -Caryophyllène est uniquement dans l'extrait des fleurs.

Le tableau (II. 8) montre les différences existantes dans la composition chimique des huiles extraites des différents organes végétatifs de la plante, avec l'identification de 17 constituants pour les fleurs, 15 constituants pour les tiges et 10 constituants pour les feuilles.

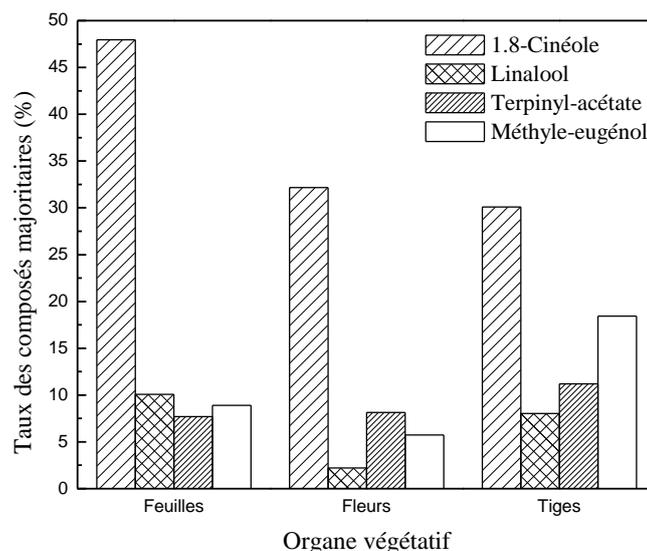


Figure II. 5 : Composés majoritaires des huiles essentielles des feuilles, fleurs et tiges.

La figure (II. 5) traduit les variations des composés majoritaires dans la composition des huiles essentielles extraites des feuilles, des fleurs et des tiges de Laurier noble.

Pour la concentration en 1.8-Cinéole (composé majoritaire dans tous les échantillons), l'huile essentielle extraite des feuilles en contient 47 % et c'est la plus grande concentration comparée à 32 % et 30 % pour respectivement les fleurs et les tiges. Cette figure montre aussi que l'échantillon extrait des feuilles contient plus de Linalool (10 %) et moins de Terpinyl-acétate (7 %) par rapport aux échantillons des huiles essentielles extraites des fleurs et des tiges.

Pour la concentration en Méthyle-eugénol, les tiges contiennent le plus grand pourcentage de ce composé avec 18 % comparé à 8 % et 5 % pour respectivement les feuilles et les fleurs.

Les résultats montrent que la teneur de Laurier noble en huile essentielle, ainsi que la composition chimique de cette dernière varient selon l'organe végétatif utilisé dans l'hydrodistillation. La plus grande teneur (1 %) ainsi que la meilleure composition chimique (47 % de 1.8-Cinéole) sont obtenues de l'extraction des feuilles de cette plante.

2. Effet de la perte en eau par la matière végétale

Dans le but d'examiner l'influence de la perte en eau par la matière végétale sur la teneur et la composition de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation, les feuilles de Laurier noble et la Sauge officinale ont été exposées à un séchage à l'ombre pendant 28 jours.

La première extraction est faite à l'état frais des feuilles le jour de la récolte et les autres sont faites avec un intervalle de 4 jours, avec un débit de condensation de 4 ml/min, un rapport de masse de 1/10, une granulométrie de 5 mm de diamètre et pour une durée d'extraction de 150 min.

2.1 Influence de la perte en eau sur la teneur en huile essentielle

Tableau II. 9 : Effet du séchage sur la teneur en eau et en essence des deux plantes.

Durée du séchage (jr)	Laurier noble		Sauge officinale	
	Perte en eau (%)	Rendement (%)	Perte en eau (%)	Rendement (%)
0	0	1.0956	0	0.5167
4	18	1.1079	35.5	0.5083
8	18.3	1.1037	60.4	0.4996
12	18.4	1.0813	60.7	0.5074
16	18.7	1.0962	61.1	0.5061
20	19.2	1.1103	61.3	0.5133
24	19.2	1.0798	61.6	0.5189
28	19.3	1.0719	61.7	0.5190

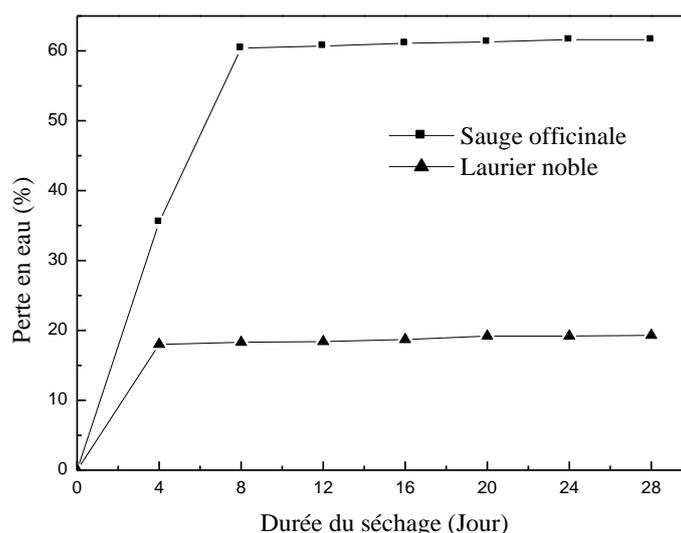


Figure II. 6 : Effet du séchage sur la perte en eau par les feuilles des deux plantes.

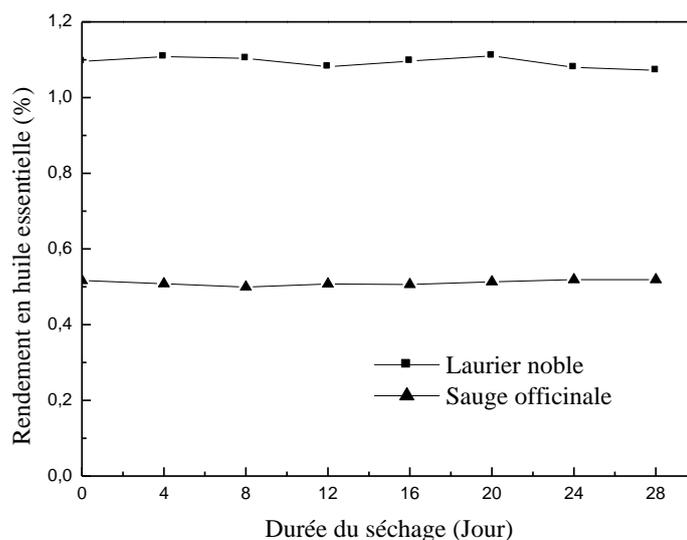


Figure II. 7 : Effet du séchage sur la teneur en huile essentielle des feuilles des deux plantes.

La figure (II. 6) montre qu'au cours du séchage à l'ombre des deux variétés de feuilles, la perte en eau est importante pendant les premiers quatre et huit jours du séchage pour Laurier noble et la Sauge respectivement ; au-delà de cette période la perte en eau augmente progressivement puis elle devient pratiquement constante dans la fin du processus.

La teneur en eau des feuilles passe de 25,5 % à 6,2 % pour Laurier noble et de 64,5 % à 2,9% pour la Sauge officinale.

La figure (II. 7) représente la variation de la teneur en huile essentielle des feuilles de Laurier noble et la Sauge officinale en fonction de la durée du séchage.

Les deux courbes obtenues présentent approximativement la même allure, la concentration en huile essentielle des deux variétés de feuilles reste presque constante pendant toute la durée du séchage.

La teneur en huile essentielle n'est pas affectée par la perte en eau de la matière végétale, le mode et la durée de séchage choisis n'ont pas d'influence sur le rendement d'huile essentielle.

Donc, on peut stocker les feuilles de Laurier noble et la Sauge officinale dans les mêmes conditions du séchage et pour la même période, sans aucun risque de diminution de leur teneur en essence pendant le stockage.

2.2 Influence de la perte en eau sur la composition chimique des huiles essentielles

L'analyse chromatographique a permis de mettre en évidence les résultats montrés sur les tableaux (II. 10) et (II. 11).

Tableau II. 10 : Effet du séchage sur la composition chimique de l'huile essentielle de Laurier noble.

Composé	tR (min)	Durée du séchage (jour)							
		0	4	8	12	16	20	24	28
α -Pinène	6.35	5.094	5.319	5.378	5.102	5.283	5.051	5.718	5.615
Sabinène	7.08	7.539	7.065	7.294	7.267	7.422	7.131	7.447	6.946
β -Pinène	7.17	3.824	3.735	3.898	3.723	3.902	3.723	4.120	4.063
1,8-Cinéole	8.18	47.948	48.262	48.793	48.508	47.091	46.780	46.298	45.421
Linalool	9.27	10.089	10.272	10.266	9.887	9.917	10.036	10.832	12.646
4-Terpinéol	10.65	2.467	2.575	2.412	2.562	2.576	2.563	2.668	2.906
α -Terpinéol	10.86	5.267	4.969	4.861	5.230	5.186	5.280	5.205	5.649
Terpinyl-acétate	13.05	7.712	7.628	7.176	7.564	7.847	8.242	7.617	6.855
Eugénol	13.12	1.148	1.132	1.118	1.193	1.189	1.265	1.140	0.967
Méthyle-eugénol	13.72	8.906	9.038	8.799	8.957	9.582	9.924	8.952	8.927
Somme		99.994	99.995	99.995	99.993	99.995	99.995	99.997	99.995

Pour l'analyse d'essence de Laurier noble (tableau II. 10), 10 constituants ont été identifiés dans tous les échantillons ; les composés majoritaires sont : le Sabinène, le 1.8-Cinéole, le Linalool, le Terpinyl-acétate et le Méthyle-eugénol.

Tableau II. 11 : Effet du séchage sur la composition chimique de l'huile essentielle de la Sauge officinale.

Composé	tR (min)	Durée du séchage (jour)							
		0	4	8	12	16	20	24	
1,8-Cinéole	8.16	12.887	13.355	10.819	11.095	12.411	12.295	8.301	
Linalool	9.29	-	-	-	2.652	1.811	1.872	-	
α-Thujone	9.46	25.342	23.969	23.088	22.733	21.144	20.447	17.763	
Thujone	9.63	4.241	4.112	3.939	3.911	3.537	3.475	3.119	
Camphor	10.18	38.729	37.632	38.005	34.931	35.236	32.853	32.144	
Bornéol	10.54	-	0.294	-	1.760	1.804	2.052	7.537	
Terpinyl-acétate	13.04	-	-	-	2.282	1.348	-	-	
Caryophyllène	14.15	1.829	2.105	2.122	2.074	2.144	2.603	1.797	
α -Caryophyllène	14.62	1.402	1.586	1.694	1.544	1.545	1.904	1.495	
Caryophyllène-oxyde	16.21	1.230	1.380	1.720	1.586	1.549	1.678	2.167	
Lédol	16.36	9.362	10.293	12.437	10.299	11.790	12.699	15.731	
Manool	21.19	4.974	5.269	6.172	5.128	5.676	8.115	9.940	
Somme		99.996	99.996	99.995	99.996	99.995	99.995	99.993	

Pour l'analyse d'essence de la Sauge officinale (tableau II. 11), 9 constituants ont été identifiés dans tous les échantillons ; les composés majoritaires sont : le 1.8-Cinéole, le α -Thujone, le Camphor, le Lédol et le Manool.

On note, l'apparition du Bornéol à partir du 12^{ème} jour, et l'augmentation de sa concentration de 1.76 % à 7.53 % à la fin du séchage. L'apparition du Linalool et du Terpinyl-acétate le 12eme jour, avec des concentrations de 2.65 % et 2.28 % respectivement. Ces concentrations diminuent progressivement jusqu'à leur disparition complète à la fin du séchage.

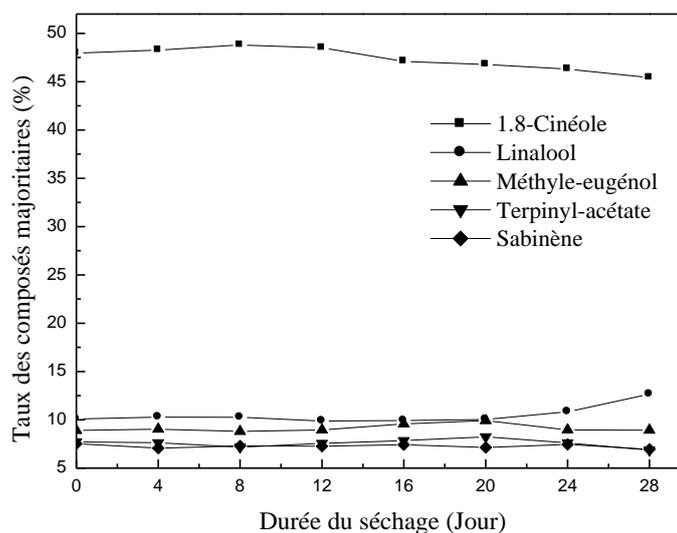


Figure II. 8 : Effet du séchage sur le taux du 1.8-Cinéole et des composés majoritaires dans la composition d'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

L'analyse de la figure (II. 8) montre une augmentation d'environ 1.75 % dans le taux du 1.8-Cinéole jusqu'au 8^{ème} jour du séchage puis une diminution progressive d'environ 6.9 % durant le reste de la période du processus. Ce résultat est similaire à celui trouvé par Kiran Babu et al [91] pour le même composé. Ce dernier a été récupéré avec un taux élevé en utilisant des feuilles fraîches dans l'extraction.

Pour les autres composés majoritaires la perte en eau n'a pas beaucoup influencé sur leurs concentrations.

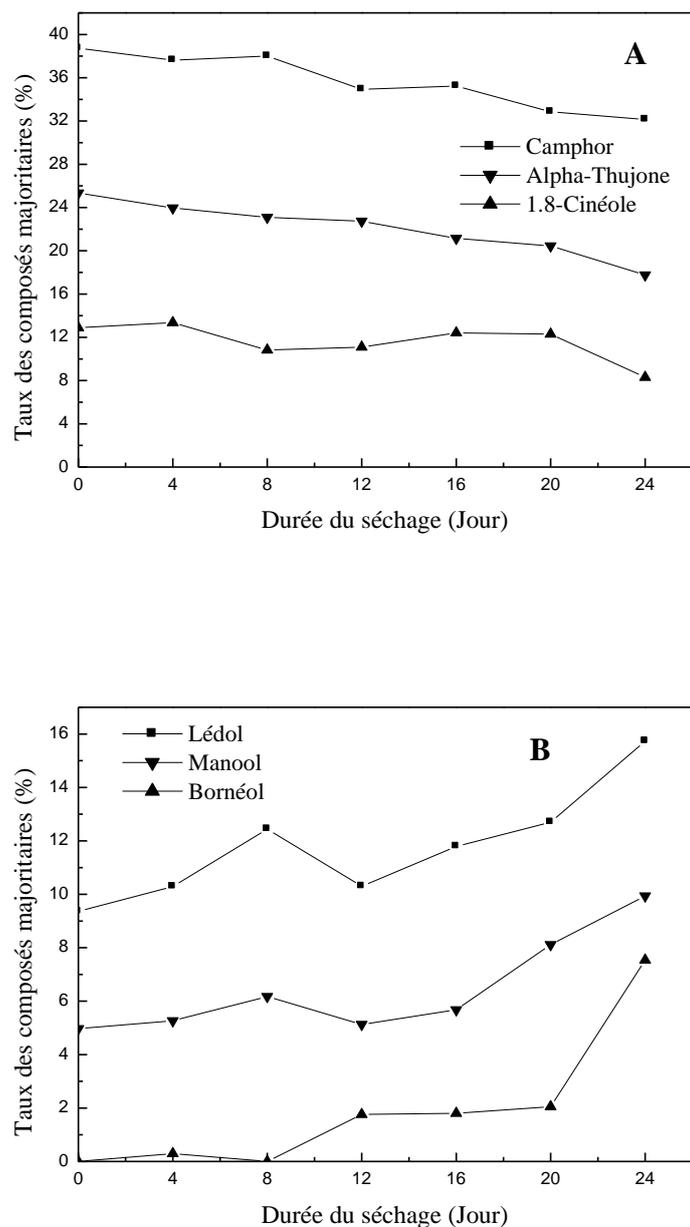


Figure II. 9 : Effet du séchage sur le taux des composés majoritaires dans la composition de l'huile essentielle des feuilles de la Sauge officinale. **(A) :** Diminution, **(B) :** Augmentation.

L'analyse de la figure (II. 9.A) montre des diminutions progressives durant toute la durée du séchage d'environ 35%, 29 % et 17 % dans le taux du 1.8-Cinéole, le α -Thujone et le Camphor respectivement et des augmentations (figure II. 9.B) d'environ 300%, 68 % et 99 % dans le taux du Bornéol, le Lédol et le Manool respectivement.

Les résultats montrent que la perte en eau par la matière végétale n'a pas influencé sur la teneur en huile essentielle mais elle a influencé sur la composition chimique de cette dernière par l'augmentation et la diminution de certains composés même d'une façon mineure comme pour le cas de Laurier noble.

Le degré d'influence de la perte en eau sur la teneur en huile essentielle ainsi que sur la composition chimique de cette dernière est relatif au mode et durée du séchage exercés sur la matière végétale.

3. Plan factoriel complet 2^3

3.1 Fonction de réponse

Tableau II. 12 : Matrice des effets

Essai	Moyenne	Facteur1	Facteur2	Facteur3	Inter12	Inter13	Inter23	Int 123	Rép %
1	+	-	-	-	+	+	+	-	1.0930
2	+	+	-	-	-	-	+	+	1.4325
3	+	-	+	-	-	+	-	+	1.1337
4	+	+	+	-	+	-	-	-	1.3872
5	+	-	-	+	+	-	-	+	1.1865
6	+	+	-	+	-	+	-	-	1.4892
7	+	-	+	+	-	-	+	-	1.2335
8	+	+	+	+	+	+	+	+	1.5367
Diviseur	8	8	8	8	8	8	8	8	
Effets	1.3115	0.1498	0.0112	0.0499	-0.0106	0.0016	0.0123	0.0108	

Le modèle mathématique qui représente le rendement en pourcentage de l'huile essentielle obtenu de l'hydrodistillation des feuilles de Laurier noble est le suivant :

$$y = 1.3115 + 0.1498x_1 + 0.0112x_2 + 0.0499x_3 - 0.0106x_1x_2 + 0.0016x_1x_3 + 0.0123x_2x_3 + 0.0108x_1x_2x_3 \quad (\text{II.7})$$

La quantité moyenne de l'huile essentielle que l'on pouvait extraire est de 1.3115% pour une charge de 40g des feuilles de Laurier noble.

L'optimum dans ce domaine d'étude est atteint dans l'expérience (8) dont les deux facteurs a_1 et a_3 sont à leurs niveaux hauts.

L'influence du facteur de division de la matière végétale est importante sur la réponse avec un effet de $a_1 = 0.1498$, ainsi que l'influence du débit de condensation avec un effet de $a_3 = 0.0499$, par contre, le rapport masse de la matière végétale/masse d'eau a une influence négligeable sur la réponse avec un effet de $a_2 = 0.0112$.

Donc le broyage de la matière végétale en fines particules ne favorise pas l'extraction d'huile essentielle, et le volume de cette dernière augmente avec l'augmentation du débit de condensation (augmentation de l'intensité du chauffage).

3.2 Validation du modèle

Tableau II. 13 : Matrice des expériences au centre

Essai	Moyenne	Facteur1	Facteur2	Facteur3	Rép en %
1	+	0	0	0	1.4947
2	+	0	0	0	1.6017
3	+	0	0	0	1.5572
<i>N</i>	3	3	3	3	/
Moyenne expérimentale	/	/	/	/	1.5512
Moyenne théorique	/	/	/	/	1.3115

Tableau II. 14 : Calcul de l'erreur

réponse	$Y_{\text{centre moy}}$	L'écart-type	$Y_{\text{centre}} - a_0$
Rendement %	1.5512%	0.0537	0.2397

L'écart entre les deux valeurs théorique et expérimentale de la réponse au centre du domaine est supérieur à l'erreur expérimentale, donc le modèle est rejeté.

Cette grande différence entre les deux valeurs théorique et expérimentale est due au mauvais choix des bornes inférieures et supérieures des facteurs a_1 et a_3 qui ont des effets importants sur la réponse.

3.3 Conclusion

Dans cette partie de l'étude, on a commencé par l'évaluation et le criblage des effets des conditions opératoires sur le rendement d'extraction de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble en utilisant un plan d'expérience.

Un plan factoriel complet à deux niveaux 2^3 est appliqué dans ce travail est conduit à un modèle mathématique sous forme d'un polynôme du premier degré qui a permis de calculer la réponse dans n'importe quelle point du domaine d'étude choisi.

On a étudié l'effet des trois facteurs (division de la matière végétale, rapport masse de la matière végétale/masse d'eau et le débit de condensation), qui ont été utilisés comme des variables dans le plan.

Après analyse et criblage, le paramètre qui a un grand effet sur la réponse est le débit de condensation ; par contre, le rapport de masse matière végétale/eau a un effet négligeable. Cependant, la division de la matière végétale en fines particules a provoqué des pertes dans le rendement en huile essentielle.

Le modèle est invalide, car, la différence entre la valeur théorique et expérimentale de la réponse au centre du domaine d'étude est supérieure à l'erreur expérimentale, cette différence est due au mauvais choix des niveaux des variables, spécialement ceux qui ont une grande influence.

Par conséquent, il faut changer les niveaux des paramètres, donc un nouveau domaine d'étude s'impose, et pour cela, une nouvelle série d'expérimentations est nécessaire.

4. Effet du temps d'hydrodistillation

Afin d'étudier l'influence du temps d'hydrodistillation sur la réponse de l'extraction, les feuilles de Laurier noble sont distillées pour plusieurs valeurs de temps, avec un débit de condensation de 3.87 ml/min, un rapport de masse de 1/12 et pour une taille de particule de 5mm de diamètre.

4.1 Effet du temps sur le rendement d'extraction

Théoriquement, le temps optimal d'extraction est la durée nécessaire pour récupérer la totalité de l'essence contenue dans la matière végétale. Dans la pratique, il est difficile de récupérer toute la quantité de l'huile. Ce temps correspond, alors, au moment à partir duquel on n'observe plus d'huile dans le distillat.

La figure (II. 10) représente l'évolution du rendement en huile essentielle en fonction du temps lors de l'hydrodistillation des feuilles de Laurier noble.

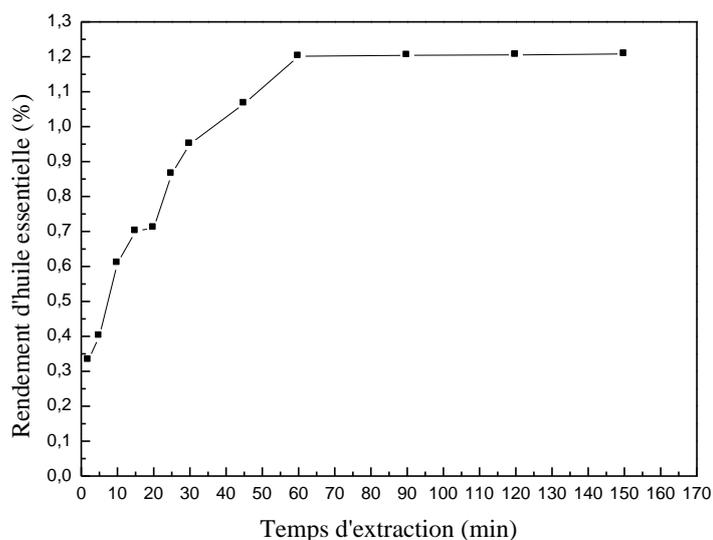


Figure II. 10 : Evolution du rendement en huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

L'analyse des résultats montre que le taux d'extraction augmente progressivement en fonction du temps puis atteint un plateau à environ 60 minutes d'hydrodistillation, au-delà de cette valeur de temps, le taux d'extraction est approximativement constant. Pratiquement environ 99 % de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble est extraite dans la première heure du processus ; prolonger le temps d'extraction au-delà de cette durée n'augmente pas significativement le rendement en huile essentielle. Ce résultat expérimental confirme le principe de la deuxième loi de diffusion de Fick où après un certain temps, la concentration en soluté dans la matrice végétale diminue de sorte qu'un équilibre final est atteint.

Cependant, cette étude a montré que 60 minutes est un temps optimal pour l'extraction de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble par hydrodistillation.

La cinétique d'extraction dépend de la tension de vapeur des constituants de l'essence, la nature du substrat végétal traité, la localisation et la nature des sites producteurs des huiles essentielles. Tous ces facteurs ont une influence sur le phénomène de transfert de matière lors de l'hydrodistillation et par la suite sur le temps total d'extraction. [28]

4.2 Effet du temps d'extraction sur la composition chimique de l'huile essentielle

Les résultats de l'analyse chromatographique concernant l'influence du temps de l'hydrodistillation sur la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble sont montrés dans le tableau (II. 15).

Tableau II. 15 : Influence du temps de l'hydrodistillation sur la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble

Composé	tR (min)	Temps d'hydrodistillation										
		5	10	15	20	25	30	45	60	90	120	150
α -Pinène	6.20	0.937	2.318	2.325	2.652	2.890	3.207	4.100	4.880	5.920	5.409	6.550
Sabinène	6.93	3.259	4.334	4.363	4.211	4.598	4.778	5.805	6.157	5.910	6.335	6.524
β -Pinène	7.05	1.449	2.207	2.234	2.363	2.538	2.758	3.719	4.019	4.718	4.606	5.378
1.8-Cinéole	8.08	69.572	65.763	63.912	59.189	58.775	60.249	48.554	47.601	43.618	40.147	39.177
Linalool	9.18	14.540	14.480	14.700	15.630	14.610	13.650	15.590	14.830	13.94	15.03	13.95
4-Terpinéol	10.55	1.660	1.830	2.030	2.460	2.560	2.230	3.350	3.310	3.21	4.00	3.78
α -Terpinéol	10.76	2.802	3.123	3.559	4.475	4.669	4.094	5.933	5.750	5.935	6.925	6.590
Bornyl-acétate	12.09	0.521	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Terpinyl-acétate	12.94	3.078	3.400	3.717	4.795	4.925	4.759	6.703	6.917	8.338	8.858	8.851
Méthyle-eugéol	13.61	2.181	2.544	3.159	4.224	4.433	4.274	6.245	6.533	8.409	8.686	9.199
Somme		99.999	99.999	99.999	99.999	99.998	99.999	99.999	99.997	99.998	99.996	99.999

9 constituants présentant 99 % de la composition d'essence des feuilles de Laurier noble ont été identifiés dans tous les échantillons. Les composés majoritaires de cette essence sont : le 1.8-Cinéole, le Linalool, le Méthyle-eugéol, le Terpinyl-acétate et le Sabinène.

Le Bornyl-acétate apparait uniquement dans l'échantillon obtenu après 5 minutes.

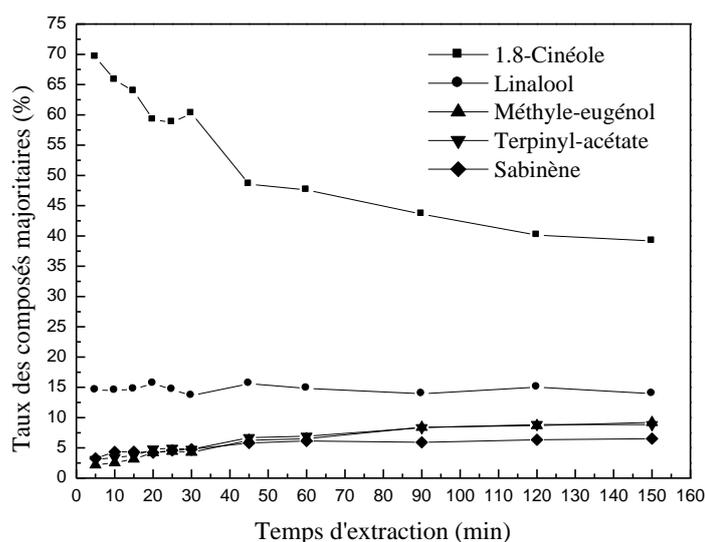


Figure II. 11 : Influence du temps d'extraction sur le taux du 1.8-Cinéole et des composés majoritaires dans la composition de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

L'analyse de la figure (II. 11) montre, d'un côté une diminution progressive en fonction du temps, d'environ 43 % et 4 % dans le taux du 1.8-Cinéole et du Linalool respectivement et de l'autre côté une augmentation progressive en fonction du temps d'environ 50 %, 65 % et 76 % dans le taux du Sabinène, Terpinyl-acétate et du Méthyle-eugénol respectivement.

Les résultats montrent encore que le 1.8-Cinéole est récupéré avec un taux élevé (69.572 %) dans l'échantillon obtenu après 5 minutes d'hydrodistillation contrairement aux autres constituants de l'huile et que la totalité de ce constituant est extraite dans les premières 60 minutes du processus d'hydrodistillation.

L'investigation de l'influence du temps d'extraction a montré que 60 minutes est le temps optimal d'un point de vue qualitatif et quantitatif pour l'hydrodistillation de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

5. Effet du débit de condensation

Dans le but d'examiner l'effet du débit de condensation sur le rendement d'extraction et la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble, ces dernières ont été distillées pour plusieurs valeurs du débit de condensation, avec un rapport de masse de 1/12, une granulométrie de 5 mm de diamètre et pour un temps d'extraction de 60 minutes.

5.1 Effet du débit de condensation sur le rendement d'extraction

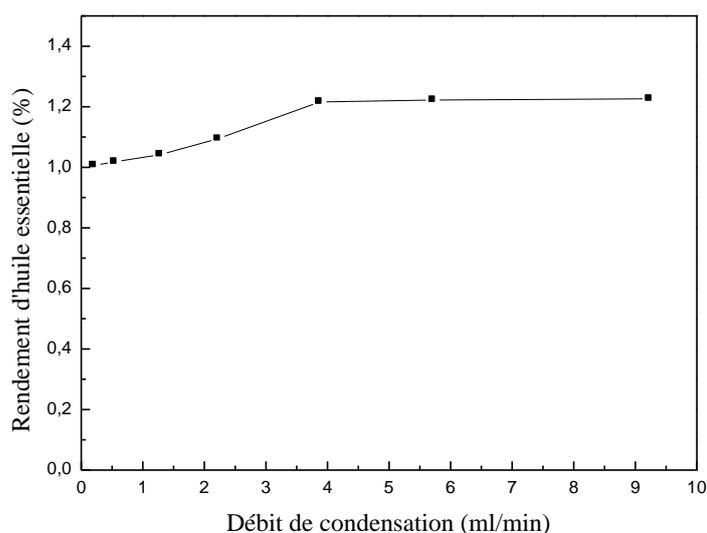


Figure II. 12 : Effet du débit de condensation sur le rendement de l'hydrodistillation.

La figure (II. 12) représente l'effet du débit de condensation sur le rendement de l'hydrodistillation. L'analyse de la figure montre que le rendement d'extraction augmente progressivement en fonction du débit de condensation puis atteint un plateau à un débit de 5.71 ml/min, au-delà de cette valeur de débit, le rendement d'extraction est approximativement constant.

L'extraction avec un faible flux de vapeur (débit de condensation <3.87 ml/min) donne un rendement d'extraction faible, car la cinétique d'extraction est ralentie. En outre, un flux de vapeur élevé permet d'augmenter la capacité d'extraction du système, il permet de libérer les huiles essentielles et de les forcer à diffuser à travers le solide végétal. Ceci engendre une augmentation du taux d'extraction et du rendement global en essence.

En effet, à un faible débit de condensation, pour obtenir le même rendement, plus de temps serait nécessaire.

Cependant, les résultats ont montré que 3.87 ml/min est un débit optimal d'un point de vue économique pour l'extraction de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble par hydrodistillation, 99 % de l'essence est récupérée avec un débit de 3.87 ml/min, ce qui présente une faible consommation d'énergie, comparée à celle consommée par les autres valeurs de débit (5.71 ml/min et 9.23 ml/min).

5.2 Effet du débit de condensation sur la composition chimique d'huile essentielle

Tableau II. 16 : Effet du débit de condensation sur la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

Composé	tR (min)	Débit de condensation (ml/min)				
		0.2	0.54	3.87	5.71	9.23
α -Pinène	6.34	1.801	5.240	5.492	5.437	2.431
Sabinène	7.10	2.994	6.880	7.071	7.244	4.820
β -Pinène	7.19	1.682	3.892	4.015	4.051	2.303
1.8-Cinéole	8.21	43.496	49.121	47.955	44.769	42.146
Linalool	9.29	18.127	12.319	13.410	12.444	14.185
4-Terpinéol	10.69	3.849	2.776	0.274	2.572	2.712
α -Terpinéol	10.86	7.490	5.188	5.665	5.323	6.041
Bornyl-acétate	12.20	1.275	-	-	-	1.223
Terpinyl-acétate	13.06	8.708	7.128	7.622	8.681	10.879
Eugénol	13.13	1.139	-	-	-	1.369
Méthyle-eugénol	13.73	9.434	7.452	8.492	9.474	11.886
Somme		99.995	99.996	99.996	99.995	99.995

Les résultats de l'analyse chromatographique concernant l'effet du débit de condensation sur la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble sont inscrits sur le tableau (II. 16).

11 constituants présentant 99 % de la composition de l'essence des feuilles de Laurier noble ont été identifiés.

Les composés majoritaires de cette essence sont : le 1.8-Cinéole, le Linalool, le Méthyle-eugénol, le Terpinyl-acétate et le Sabinène.

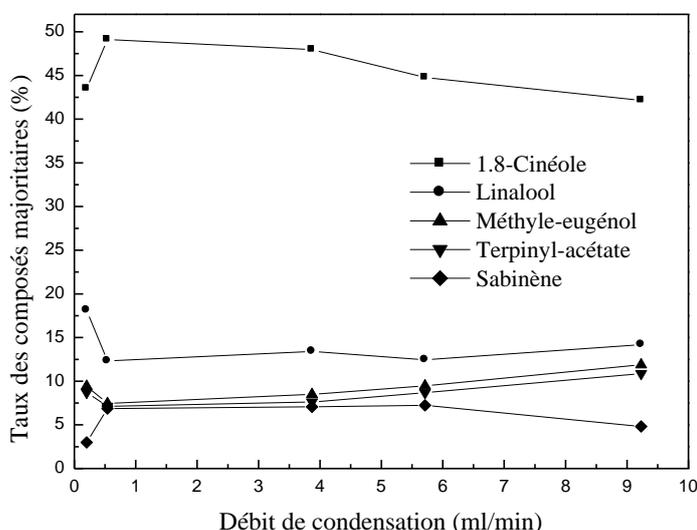


Figure II. 13 : Influence du débit de condensation sur le taux du 1.8-Cinéole et des composés majoritaires dans la composition de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

L'examen de la figure (II.13) montre que le taux du 1.8-Cinéole augmente d'environ 11 % en augmentant le débit de condensation de 0.2 ml/min à 0.54 ml/min puis diminue progressivement d'environ 14 % en passant de 0.54 ml/min à 9.2 ml/min.

La concentration du Sabinène augmente progressivement avec environ 58 % en augmentant le débit de 0.2 ml/min à 5.71 ml/min, puis diminue avec environ 33 % en passant à 9.2 ml/min.

Le taux du Linalool diminue d'environ 21 % et ceux du Terpinyl-acétate et du Méthyle-eugénol augmentent d'environ 19 % et 20 % respectivement en passant de 0.2ml/min à 9.23 ml/min.

Ces changements dans la composition chimique de l'essence de Laurier noble peuvent être expliqués de la manière suivante : certains composés volatils ont été détruits ou dégradés par

l'augmentation de l'intensité du chauffage ce qui augmente automatiquement le débit de condensation et cette destruction des composés par le chauffage explique la diminution des taux de certains composés. En outre, il existe certaines grosses molécules dans le matériel végétal, avec une faible volatilité, ce qui nécessite l'élévation de l'intensité du chauffage pour les forcer à diffuser à travers la matrice solide et les extraire, ce qui explique l'augmentation des concentrations de certains composés avec l'augmentation du débit de condensation.

6. Effet de la taille de particules

L'effet de la taille de particules des feuilles de Laurier noble, sur le rendement d'extraction et la composition chimique de l'huile essentielle extraite, est étudié dans cette partie, en vue de son importance dans les phénomènes de transfert de matière. Les expériences ont été effectuées avec un débit de condensation de 3.87 ml/min, un rapport de masse de 1/10 et pour un temps d'hydrodistillation de 60 minutes.

6.1 Effet de la granulométrie sur le rendement d'extraction

L'influence de la taille de particules du matériel végétal sur le rendement d'extraction par hydrodistillation a été étudiée pour les feuilles de Laurier noble et le Romarin. Différentes valeurs de diamètre de particules ont été choisies pour les feuilles des deux plantes (tableau II. 17)

Tableau II. 17 : Différentes valeurs du diamètre de particules.

Plante	Diamètre (mm)						
Laurier noble	0.180	0.315	0.500	0.900	1.600	3.150	5.000
Romarin	0.180	0.250	0.500	1.000	-	-	-

La figure (II. 14) représente l'effet de la taille de particules sur le rendement de l'extraction des feuilles de Laurier noble et le Romarin.

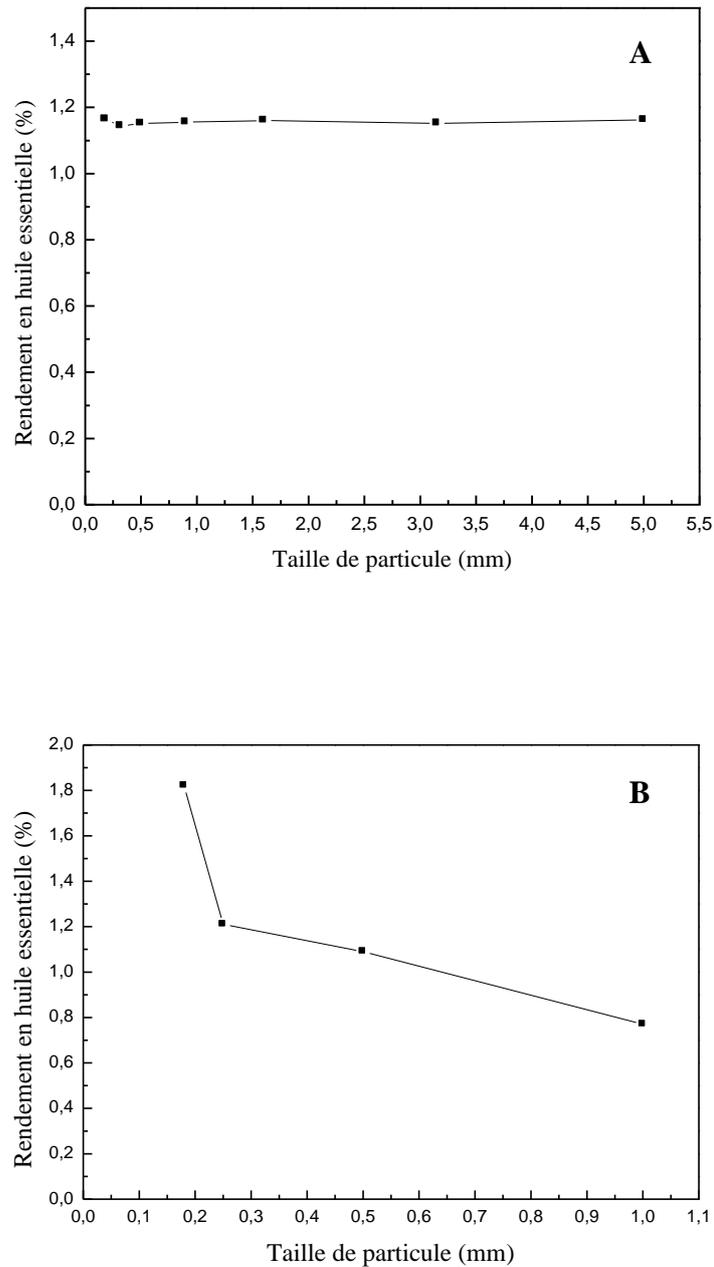


Figure II. 14 : Effet de la taille de particules sur le rendement de l'extraction.

(A) : Laurier noble, (B) : Romarin.

Les résultats montrent que la variation de la taille de particules des feuilles de Laurier noble a un effet négligeable sur la réponse d'hydrodistillation, le rendement de l'extraction est pratiquement constant en passant d'une taille de 0.18 mm à 5 mm, il est complètement indépendant de l'effet de la granulométrie dans cet intervalle de diamètre.

Pour les feuilles du Romarin, une augmentation dans le rendement en huile essentielle, est constatée, avec la diminution des dimensions des particules : de 0.77 % à 1.82 % en passant d'une taille de particule de 1mm à 0.18mm. Cette diminution favorise le transfert de matière, ceci peut être dû à l'augmentation des aires des surfaces d'échange du végétal.

Par contre, on peut parler d'une perte dans le rendement en huile essentielle des feuilles de Laurier noble obtenu avec la fine particule, par exemple, environ 2 % pour un diamètre de 0.315 mm, ce qui pourrait être expliqué par le fait que, durant le broyage, la température du broyeur augmente, ce qui provoque une évaporation de certains composés volatils ou un endommagement du matériel végétal. Ainsi, lors du broyage plus intense nécessaire pour obtenir les plus petites particules, certaines molécules ont été perdues sur les couteaux du broyeur.

Cette perte dans le rendement peut être provoquée aussi par le tamisage. Certains échantillons contiennent plus de nervures de feuilles que de limbes, cette non-homogénéité des échantillons de la matière végétale broyée peut provoquer une perturbation dans le rendement d'extraction.

Par conséquent, le choix inapproprié du type de broyeur, du temps de broyage, ainsi que la mauvaise manipulation des tamiseurs, peuvent influencer sur la teneur de la matière végétale en huile essentielle et donc sur le rendement de l'hydrodistillation.

La structure microscopique du matériel végétal a aussi une grande influence sur le rendement d'extraction. Rappelons que l'huile essentielle d'une plante est issue du métabolisme secondaire et se retrouve dans différents types de structures histologiques : Les cellules sécrétrices isolées chez les Lauracées et les poils glandulaires épidermiques chez les Lamiacées [49]. La nature de la cuticule qui entoure les cellules sécrétrices ainsi que leur emplacement dans les feuilles ont un effet apparent sur le processus de transfert de matière ; les glandes sécrétrices peuvent être à l'intérieur des feuilles sous une cuticule protectrice isolante, ce qui nécessite un broyage pour améliorer le contact avec le fluide et donc favoriser le transfert de matière, comme dans le cas des feuilles de Romarin. Elles peuvent aussi être à la surface extérieure des feuilles, en contact direct avec le fluide et par conséquent le broyage n'aura pas de grande influence sur le processus de transfert de matière, comme dans le cas des feuilles de Laurier noble.

Ce résultat est consolidé par K. Taleb-Toudert et al [49], qui ont étudié la structure microscopique de Laurier noble et celle du Romarin par le microscope électronique à balayage ; ils ont trouvé que ces deux plantes qui appartiennent à des familles différentes (Lauracées et Lamiacées) ont des structures histologiques totalement différentes.

Chez le Romarin, les cellules sécrètent l'huile bio-synthétisée sous la cuticule protectrice. La récupération de son contenu en huile essentielle ne se fera que par rupture de cette cuticule.

Chez Laurier noble, des canaux sécréteurs sont visualisés sous forme de cellules isolées. Ils sont très nombreux et entourés par une assise de cellules sécrétrices.

6.2 Effet de la granulométrie sur la composition chimique des huiles essentielles

Les résultats de l'analyse chromatographique concernant l'influence de la taille de particules sur la composition chimique des huiles essentielles des feuilles de Laurier noble et du Romarin sont montrés dans les tableaux (II. 18) et (II. 19)

Tableau II. 18 : Influence de la taille de particule sur la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

Composé	tR (min)	Granulométrie (mm)						
		0.18	0.315	0.5	0.9	1.6	3.15	5
α -Pinène	6.35	1.383	2.653	3.282	4.109	4.262	4.200	3.350
Sabinène	7.08	3.132	4.488	5.016	5.971	6.460	6.666	5.751
β -Pinène	7.17	1.635	2.403	2.670	3.122	3.286	3.295	2.732
1.8-Cinéole	8.18	33.009	37.934	38.107	41.298	44.132	47.080	50.945
Linalool	9.27	15.275	13.949	14.507	13.396	12.474	13.027	12.892
4-Terpinéol	10.65	2.554	2.521	2.621	2.406	2.393	2.528	2.474
α -Terpinéol	10.86	7.212	6.168	6.638	5.889	5.712	5.875	5.959
Bornyl-acétate	12.2	1.057	1.044	1.103	0.964	0.852	0.838	0.825
Terpinyl acétate	13.05	10.762	9.655	9.743	8.516	7.930	6.942	5.947
Eugénol	13.12	1.259	1.082	1.140	1.075	1.001	0.969	0.947
Methyl-eugénol	13.72	14.417	11.996	11.061	10.029	9.118	8.574	8.174
Caryophyllène	14.17	4.332	2.192	1.361	0.864	0.490	-	-
Humulène	14.62	1.368	0.740	-	-	-	-	-
Germacrène D	14.93	1.170	-	-	-	-	-	-
Asarone	15.55	1.428	1.023	0.693	0.589	0.495	-	-
Spathuléol	16.13	-	0.997	0.964	0.855	0.689	-	-
Caryophyllène-oxyde	16.22	-	1.146	1.086	0.909	0.698	-	-
Somme		99.993	99.991	99.992	99.992	99.992	99.994	99.996

11 constituants ont été identifiés dans tous les échantillons, les composés majoritaires par ordre décroissant sont : le 1.8-Cinéole, le Linalool, le Méthyle-eugénol, le Terpinyl-acétate et le Sabinène.

La diminution de la taille de particule de 5 mm à 3.15 mm n'a pas d'effet notable sur la composition chimique de l'essence, cependant, pour un diamètre inférieur ou égal à 1.6 mm, une apparition de 6 nouveaux constituants est observée, mais avec des faibles concentrations (1.42% le taux le plus élevé), ces nouveaux composés sont : le Caryophyllène, le Humulène, le Germacrène D, l'Asarone, le Spathuléol et l'oxyde de Caryophyllène.

Le taux du Caryophyllène, de l'Asarone, du Spathuléol et d'oxyde de Caryophyllène diminue progressivement avec l'augmentation de la granulométrie, jusqu'à la disparition totale de ces constituants à un diamètre de 3.15 mm.

Le Germacrène D apparaît seulement à une taille de particule de 0.18 mm.

Le Humulène apparaît dans l'analyse des essences extraites avec la granulométrie la plus fine, à des diamètres de 0.18 mm et de 0.315 mm.

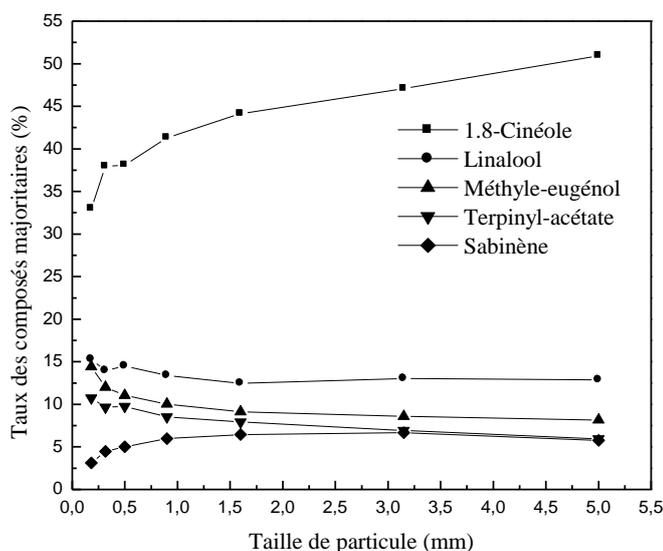


Figure II. 15 : Influence de la taille de particules sur le taux du 1.8-Cinéole et des composés majoritaires dans la composition de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

Les résultats montrent que le taux du 1.8-Cinéole et du Sabinène augmente progressivement d'environ 35 % et 45 % respectivement avec l'augmentation de la taille de particule, par contre, on observe une diminution dans le taux du Linalool, du Terpinyl-acétate et du Méthyle-eugénol d'environ 15 %, 44 % et 43 % respectivement en fonction de la granulométrie, en passant d'un diamètre de 0.18 mm à 5 mm.

Ces changements dans la composition chimique des huiles essentielles en fonction de la granulométrie peuvent être dus à l'augmentation des surfaces d'échange entre la phase solide (le matériel végétal) et le fluide (l'eau) avec la diminution de la taille des particules, ce qui augmente le transfert de matière, cela explique l'augmentation de la concentration de certains composés et l'apparition de nouveaux constituants avec des granulométries plus fines, ou à l'endommagement et

au chauffage de la matière végétale (feuilles de Laurier noble) provoqués par le mode et la durée du broyage, se qui explique la diminution du taux de certains composés.

La diminution de la taille des particules fait apparaître six nouveaux constituants dans l'analyse chromatographique ; ces constituants sont des sesquiterpènes, se sont des molécules plus grandes que les héli et les mono-terpènes avec 15 atomes de carbone dans leur composition et comme ces molécules se trouvent en petites quantités (5% environ) dans le végétal, comparées aux mono-terpènes (77% environ), leur apparition avec la fine granulométrie n'a pas affecté d'une manière significative le rendement de l'hydrodistillation.

Tableau II. 19 : Influence de la taille de particule sur la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles du Romarin.

Composé	tR (min)	Granulométrie (mm)			
		0.18	0.25	0.50	1.00
α-pinène	6.32	20.54	17.21	17.08	18.89
Camphène	6.65	19.05	18.85	19.09	20.00
P-Cymène	7.99	1.99	2.48	2.46	2.38
Limonène	8.09	3.14	3.24	3.03	3.27
1,8-Cinéole	10.16	7.86	9.20	9.21	9.03
Camphre	16.18	39.45	42.20	42.87	41.54
Bornéol	17.53	1.83	2.40	2.45	1.75
4-Terpinénol	17.65	0.82	1.07	1.08	0.86
α -Terpinéol	18.86	1.11	1.52	1.48	1.16
β -Caryophyllène	36.16	1.85	-	-	-
δ -Cadinène	39.34	0.85	-	-	-
α -Bisabolol	49.28	1.46	1.77	1.21	1.08
Somme		99.96	99.95	99.94	99.96

10 constituants ont été identifiés dans tous les échantillons, les composés majoritaires sont : le Camphre, le Camphène, le α -pinène et le 1,8-Cinéole.

La diminution de la taille de particule de 1mm à 0.25mm n'a pas d'effet notable sur la composition chimique de l'essence du Romarin, néanmoins, pour un diamètre inférieur ou égal à 0.18mm, on a observé l'apparition de nouveaux constituants, les deux sesquiterpènes : le β -Caryophyllène et le δ -Cadinène avec des faibles concentrations de 1.85 % et 0.85 % respectivement.

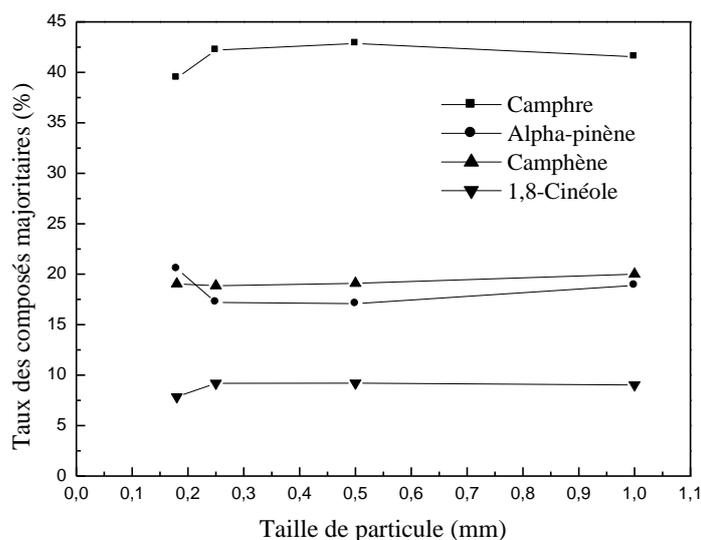


Figure II. 16 : Influence de la taille de particules sur le taux du Camphre et des composés majoritaires dans la composition de l'huile essentielle des feuilles de Romarin.

Les résultats montrent que la variation de la taille de particule des feuilles de 0,18 mm à 1 mm a un effet négligeable sur le taux du Camphre et des composés majoritaires.

L'investigation de l'influence de la granulométrie sur l'hydrodistillation de l'huile essentielle des feuilles de Romarin a montré, d'une part, que la diminution de la taille de particule de 1 mm à 0,18 mm favorise le transfert de matière par la destruction de la cuticule qui entoure les cellules sécrétrices et l'augmentation des aires des surfaces d'échange, ce qui augmente le rendement de l'extraction et, d'autre part, cette même diminution n'a pas d'effet notable sur la concentration des composés majoritaires de l'essence du Romarin, donc la perméabilité de la cuticule protectrice est la même pour tous ces constituants de l'huile (cuticule à perméabilité non sélective). De plus, la fine particule favorise l'apparition des sesquiterpènes.

7. Effet du rapport de masses

Dans le but d'étudier l'influence du rapport de masses entre la matière végétale et l'eau sur la réponse d'hydrodistillation, les feuilles de Laurier noble et l'eau sont placées dans le ballon avec plusieurs proportions, pour un temps d'extraction de 60 minutes, un débit de condensation de 3,87 ml/min et une taille de particule de 5 mm de diamètre.

7.1 Effet du rapport de masses sur le rendement de l'extraction

La figure (II. 17) représente l'influence du rapport de masses (masse de matière végétale/masse d'eau) sur le rendement d'extraction.

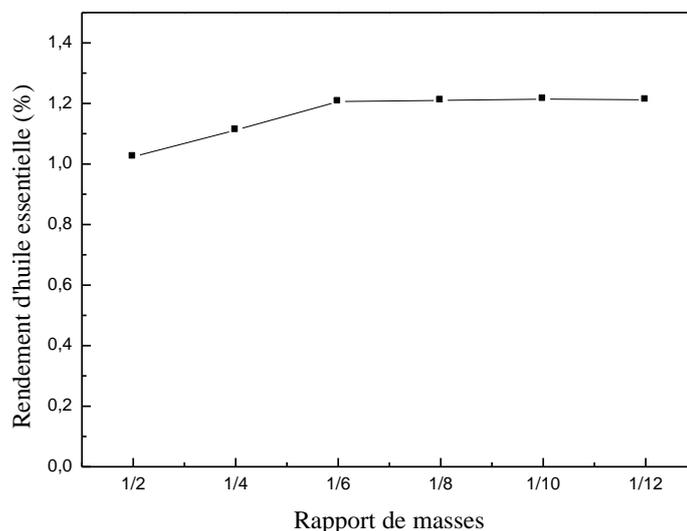


Figure II. 17 : Influence du rapport de masses sur le rendement de l'hydrodistillation.

L'analyse de la figure (II. 17) montre que le rendement de l'extraction augmente parallèlement avec l'augmentation de la quantité d'eau dans le ballon. Il devient approximativement constant au-delà d'un rapport de masses de 1/6.

Les petites quantités d'eau ont montré des difficultés dans l'extraction, dues aux brûlures de la matière végétale qui n'est pas submergée dans l'eau sur les côtés du ballon. Cette diminution en rendement est peut être due aussi à la réduction du contact solide-liquide. [33]

En effet, un minimum d'eau, où la totalité de la matière végétale est submergée, est nécessaire pour obtenir un système d'ébullition solide-liquide efficace ; ainsi, une quantité élevée d'eau n'a pas d'effet néfaste sur le rendement de l'hydrodistillation, contrairement au résultat trouvé par Herzi [28] pour l'huile essentielle de *T. Articulata*. Donc pour le cas de Laurier noble les grandes quantités d'eau ne provoquent ni la dissolution, ni la transformation hydrolytique des constituants de l'essence.

Par conséquent, pour améliorer le rendement d'extraction par hydrodistillation, le solide doit être complètement submergé dans le liquide. Cependant, les résultats ont montré que 1/10 est le rapport de masse optimal pour l'hydrodistillation d'huile essentielle des feuilles de Laurier noble, avec une taille de particule de 5 mm.

7.2 Effet du rapport de masses sur la composition chimique de l'huile essentielle

Les résultats de l'analyse chromatographique concernant l'influence du rapport de masses sur la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble sont montrés dans le tableau (II. 20).

Tableau II. 20 : Influence du rapport de masses sur la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

Composé	tR (min)	Rapport de masses	
		1/2	1/12
α -Pinène	6.34	2.134	2.329
Sabinène	7.10	4.286	4.879
β -Pinène	7.19	1.991	2.206
1.8-Cinéole	8.21	44.362	45.617
Linalool	9.29	15.229	13.908
4-Terpinéol	10.69	2.857	2.578
α -Terpinéol	10.86	6.749	6.026
Bornyl-acétate	12.20	0.874	0.925
Terpinyl-acétate	13.06	7.351	7.650
Eugénol	13.13	1.489	1.290
Méthyle-eugénol	13.73	10.199	10.097
Asarone	15.57	0.855	0.683
Oxyde de Caryophyllène	16.23	0.616	0.750
Somme		98.992	98.938

A travers l'analyse de deux échantillons des essences extraites avec deux différentes valeurs de rapport de masses, 1/2 et 1/12 (quantité minimale et maximale d'eau), 13 constituants présentent plus de 98 % de la composition ont été identifiés.

Les composés majoritaires d'essence sont : le 1.8-Cinéole, le Linalool, le Méthyle-eugénol, le Terpinyl-acétate et le Sabinène.

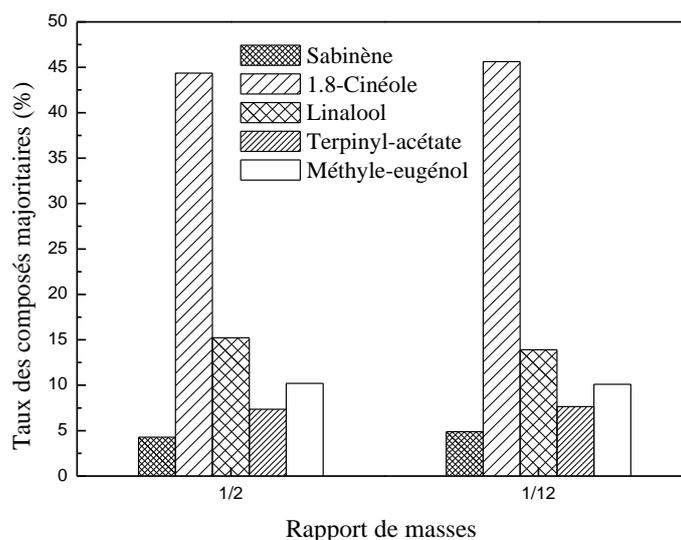


Figure II. 18 : Effet du rapport de masses sur le taux des composés majoritaires de l'essence des feuilles de Laurier noble.

Comme on peut le voir à partir de l'analyse (Figure II. 18), la variation du rapport de masses a un effet négligeable sur la composition chimique de l'huile essentielle de Laurier noble, les concentrations du Sabinène, du Terpinyl-acétate et du Méthyle-eugénol restent les mêmes.

Le taux du Linalool augmente de 8 % et celui du 1.8-Cinéole diminue d'environ 2.75 % à un rapport de masses de 1/2. Cette diminution est peut être due à la brûlure de la matière végétale durant l'hydrodistillation, donc il faut s'assurer que toute la surface extérieure de la matière végétale soit en contact direct avec l'eau.

8. Evaluation de la performance de l'hydrodistillation

8.1 Rendement en huile essentielle

La variation de la masse de l'huile essentielle cumulée en fonction du temps obtenu avec l'hydrodistillation et l'extraction par CO₂ supercritique des feuilles de Romarin pour les différentes tailles de particules est montrée sur la figure (II. 19).

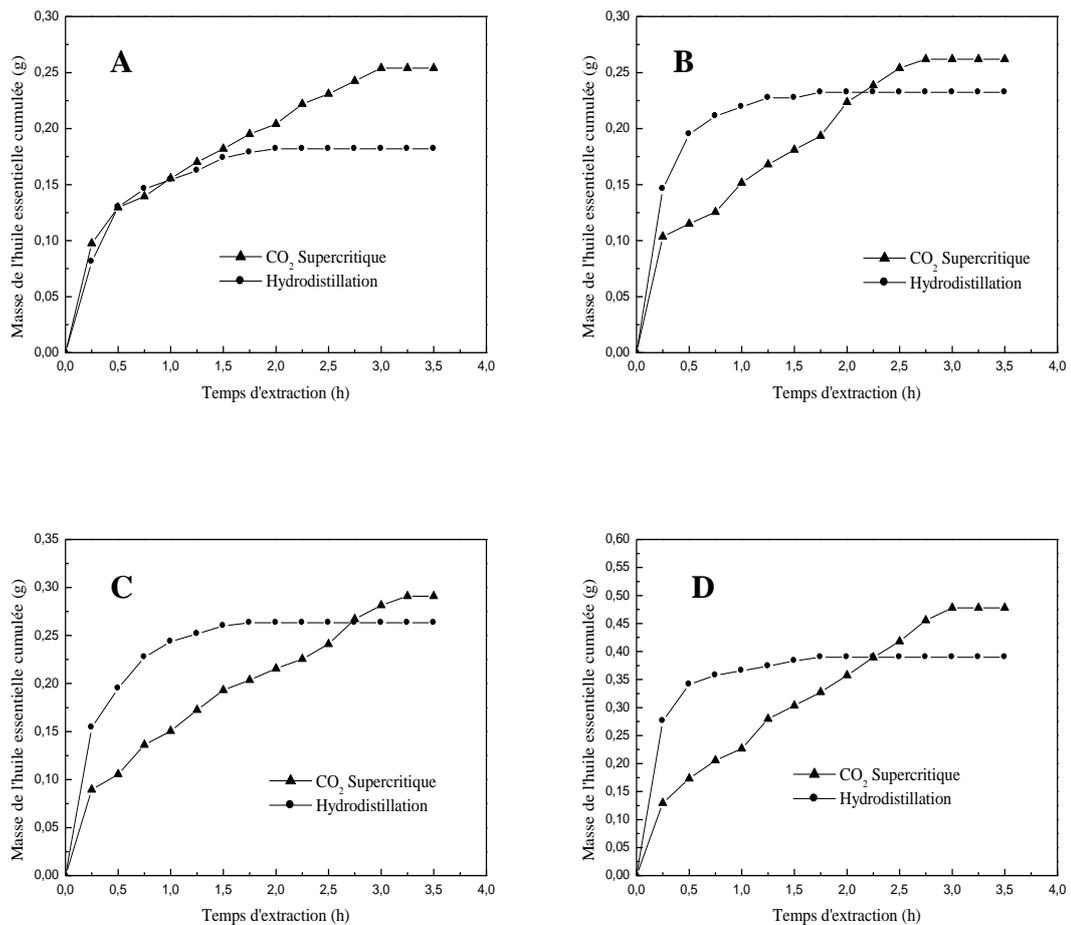


Figure II. 19 : Variation de la masse cumulée de l'huile essentielle en fonction du temps extraite par hydrodistillation et CO₂ supercritique pour les différentes tailles de particules : **(A)** 1 mm, **(B)** 0.5 mm, **(C)** 0.25 mm, **(D)** 0.18 mm.

L'analyse de la figure (II. 19) montre que la masse d'huile essentielle cumulée augmente progressivement en fonction du temps puis atteint un plateau à environ 2 h et 3 h pour respectivement l'hydrodistillation et le CO₂ supercritique, quel que soit le diamètre de la particule.

Il est clair d'après la figure ci-dessus que pour une taille de particule fixe et pour une durée d'extraction de plus de 2 h, la quantité d'huile essentielle cumulée de l'extraction par le CO₂ supercritique est supérieure, dans tous les cas, à celle obtenue par hydrodistillation. Toutefois, pour une quantité bien déterminée de l'essence extraite, le processus d'hydrodistillation a montré une courte durée d'extraction par rapport au CO₂ supercritique, tel que représenté sur la figure (II. 19) (B, C et D), contrairement à la figure (II. 19. A), où les deux processus d'extraction ont pris approximativement le même temps.

Les résultats montrent aussi que le temps nécessaire pour extraire la totalité de l'huile essentielle est beaucoup plus court pour l'hydrodistillation que pour le CO₂ supercritique, environ 2 h pour l'hydrodistillation et 3 h pour le CO₂ supercritique pour le même degré d'extraction. La diminution de la taille de particules a augmenté le rendement d'extraction.

L'extraction de l'huile essentielle des feuilles de Romarin par hydrodistillation et CO₂ supercritique, avec des différentes tailles de particules a mis en évidence les résultats suivants :

- Le processus d'extraction par fluide supercritique est plus performant que l'hydrodistillation du point de vue rendement (2.54 % vs 1.94 %).
- L'extraction par hydrodistillation est plus rapide que l'extraction par CO₂ supercritique du point de vue degré d'extraction.
- La diminution de la taille de particule favorise le transfert de matière pour les deux processus d'extraction. [95]

8.2 Composition chimique de l'huile essentielle

Tableau II. 21 : Composition de l'huile essentielle du Romarin extraite par hydrodistillation et CO₂ supercritique.

Composé	tR (min)	Méthode d'extraction	
		Hydrodistillation	CO ₂ Supercritique
α-Pinène	6.43	20.54	6.05
Camphène	6.76	19.05	7.55
β-Pinène	7.84	-	0.51
Limonène	8.09	3.14	-
Myrcène	8.35	-	0.31
α-Phellandrène	8.62	-	0.26
α-Terpinène	8.95	-	0.18
p-Cymène	9.82	1.99	0.42
1,8-Cinéole	10.59	7.86	9.65
4-Terpinéol	10.65	0.82	-
α-Terpinéol	10.86	1.11	1.78
γ-Terpinène	11.83	-	0.08
δ-Cadinène	15.34	0.85	-
Camphre	16.37	39.45	52.12
Bornéol	17.64	1.83	3.52
Verbénone	19.49	-	1.97
Bornyl-acétate	24.79	-	0.42
Copaène	30.34	-	1.07
Aromadendrène	33.18	-	2.11
β-Caryophyllène	36.25	1.85	0.79
α-Caryophyllène	39.78	-	1.71
α-Bisabolol	49.79	1.46	0.97
Somme		99.95	91.47

Les résultats de l'analyse chromatographique des huiles essentielles des feuilles du Romarin extraites par hydrodistillation et CO₂ supercritique sont montrés dans le tableau (II. 21).

12 constituants présentent plus de 99 % de la composition ont été identifiés dans l'échantillon obtenu par hydrodistillation.

19 constituants présentent plus de 91 % de la composition ont été identifiés dans l'échantillon obtenu par CO₂ supercritique.

Les composés majoritaires pour les deux échantillons sont : le Camphre (39.45 % - 52.12 %), le α -Pinène (20.54 % - 6.05 %), le Camphène (19.05 % - 7.55 %) et le 1.8-Cinéole (7.86 % - 9.65 %).

Le tableau a montré des petites différences dans la composition des essences extraites, celles-ci peuvent être provoquées par le changement de l'appareil d'analyse GC/MS.

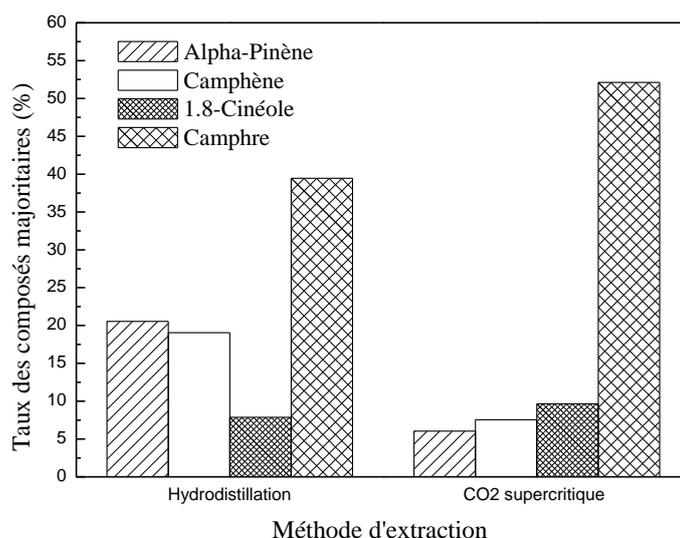


Figure II. 20 : Taux des composés majoritaires dans la composition de l'huile essentielle du Romarin, extraite par hydrodistillation et CO₂ supercritique.

La figure (II. 20) traduit les variations des concentrations des constituants majoritaires dans la composition des huiles essentielles extraites par hydrodistillation et CO₂ supercritique.

L'examen de la figure montre que l'huile essentielle extraite par CO₂ supercritique est riche en Camphre et en 1.8-Cinéole et pauvre en α -Pinène et en Camphène par rapport à l'échantillon extrait par hydrodistillation.

Le taux du Camphre est de 52.12 % pour le CO₂ supercritique par rapport à 39.45 % pour l'hydrodistillation.

Le meilleur rendement en Camphre est obtenu par CO₂ supercritique, par conséquent, le processus d'extraction par CO₂ supercritique est plus sélectif pour le Camphre, le constituant majoritaire, que le processus d'extraction par hydrodistillation.

9. Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles de Laurier noble, de la Sauge officinale et du Romarin a été testée par les deux techniques de la méthode de diffusion sur gélose. La sensibilité des souches se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des puits et des disques. Rappelons que chaque disque et puits contiennent une quantité d'essence. L'effet du temps d'extraction sur l'activité antibactérienne de l'essence des feuilles de Laurier noble a été évalué aussi par la même méthode en utilisant des échantillons des essences extraites à des différents temps d'hydrodistillation.

Le potentiel antibactérien des huiles essentielles a été évalué sur 4 souches bactériennes, dont 2 à Gram (-) et 2 à Gram (+) ; par contre, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble obtenue avec différents temps d'extraction a été testée sur 2 bactéries une à Gram (-) et une à Gram (+). Toutes ces souches proviennent de la collection du laboratoire de Mycologie, de Biotechnologies et de l'Activité microbienne de la faculté de biologie de Constantine. Les résultats de cette étude sont regroupés dans les tableaux (II. 22), (II. 23) et (II. 24).

Tableau II. 22 : Activité antibactérienne des huiles essentielles des trois plantes

Souche bactérienne	Gram	Huile essentielle		
		Laurier noble	Sauge officinale	Romarin
Escherichia coli	(-)	++	+	-
Klebsiella pneumoniae	(-)	+	+	-
Bacillus sp	(+)	+++	+++	++
Staphylococcus aureus	(+)	+++	+	+

Tableau II. 23 : Variation du pouvoir antibactérien en fonction du taux de 1.8-Cinéole

Bactérie	Gram	1.8-Cinéole (%)				
		69.572	63.912	58.775	47.601	40.147
Bacillus sp	(+)	++	++	++	++	+
Escherichia coli	(-)	++	++	+	+	+

Tableau II. 24 : Signification des symboles

Symbole	Diamètre (mm)	Effet
–	≤ 1	Pas d'effet ou effet négligeable
+	2 - 6	Moins important
++	7 - 10	Important
+++	11 - 20	Très important

D'après les résultats obtenus (tableau II. 22), la totalité des souches bactériennes testées ont montré une sensibilité envers l'essence de Laurier noble. Les zones d'inhibition varient entre 6 et 20 mm. Les micro-organismes les plus sensibles sont les bactéries à Gram positif : *Bacillus* sp et *Staphylococcus aureus*, suivies des bactéries à Gram négatif, plus résistantes, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

L'huile essentielle des feuilles de Laurier noble a présenté un effet antibactérien très important contre les souches bactériennes à Gram positif, par contre, pour les bactéries à Gram négatif, l'essence a présenté un effet important contre *Escherichia coli* et moins important contre *Klebsiella pneumoniae*.

Concernant l'essence de la Sauge officinale, tel que présenté sur le même tableau (II. 22), toutes les souches bactériennes à Gram positif et négatif ont montré aussi une sensibilité : *Bacillus* sp est le micro-organisme le plus sensible et les trois autres souches restantes ont présenté la même sensibilité avec plus de résistance.

L'étude a montré que l'huile essentielle des feuilles de la Sauge a présenté un effet antibactérien très important contre *Bacillus* sp, par contre, elle a présenté un effet modéré, moins important contre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*.

Pour l'essence du Romarin, les bactéries les plus résistantes sont les souches à Gram négatif. Concernant les bactéries à Gram positif, les *Bacillus* sp ont présenté plus de sensibilité par rapport aux *Staphylococcus aureus*.

L'essence des feuilles du Romarin a révélé une activité antibactérienne modérée contre les souches à Gram positif, avec un effet important contre *Bacillus* sp et moins important contre *Staphylococcus aureus*. Pour les souches à Gram négatif, l'huile essentielle n'a présenté aucun effet contre *Klebsiella pneumoniae* et elle a présenté un effet négligeable contre *Escherichia coli*.

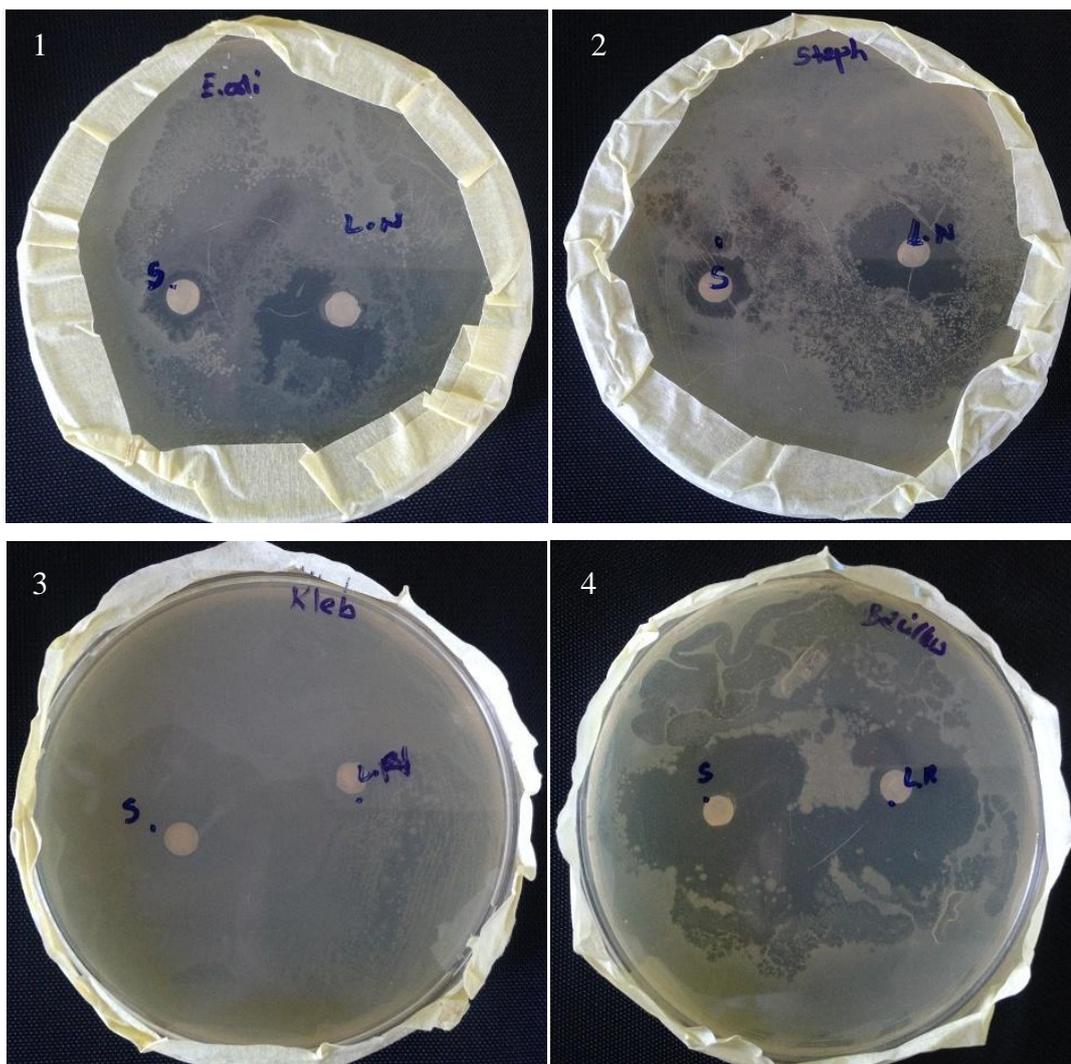


Figure II. 21 : Effet antibactérien des huiles essentielles, exemple des zones d’inhibitions des essences de Laurier noble (**LR**) et la Saugé (**S**) testées sur (1) *Escherichia coli*, (2) *Staphylococcus aureus*, (3) *Klebsiella pneumoniae* et (4) *Bacillus sp* (technique des disques).

Concernant l’effet du temps d’hydrodistillation sur l’activité antibactérienne de l’essence de Laurier noble, les résultats présentés sur le tableau (II. 23) ont montré que l’échantillon d’huile essentielle obtenu après 120 min d’extraction a présenté un effet antibactérien moins important par rapport aux autres échantillons contre la bactérie à Gram positif : *Bacillus sp*. Par contre, pour la souche à Gram négatif : *Escherichia coli*, l’effet antibactérien devient moins important après 25 minutes d’extraction.

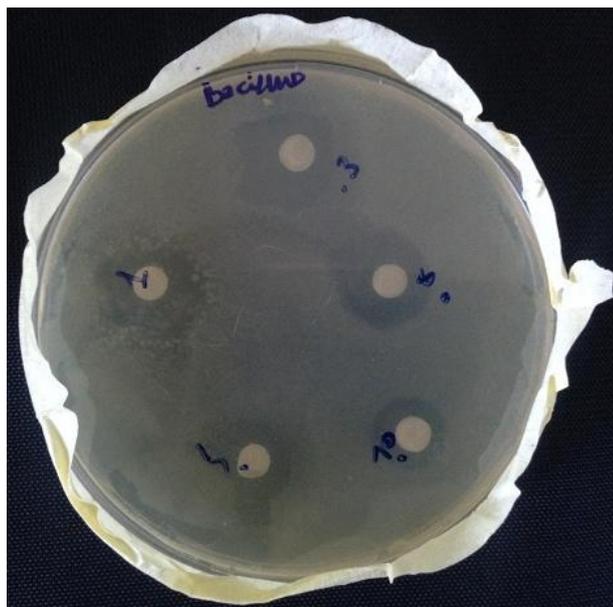


Figure II. 22 : Effet du temps d'hydrodistillation sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble, testée sur la souche *Bacillus* sp. (1) 5 minutes, (3) 15 minutes, (5) 25 minutes, (8) 60 minutes et (10) 120 minutes (technique des disques).

Les trois huiles essentielles testées ont présenté un pouvoir antibactérien ; agissant sur les bactéries à Gram positif plus que sur les bactéries à Gram négatif. Néanmoins, les diamètres des zones d'inhibition des trois essences n'ont pas dépassé 20 mm. Notons que l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble s'est révélée plus importante que celles des deux autres plantes de la famille des Lamiacées.

La souche de *Klebsiella pneumoniae* a présenté une grande résistance vis-à-vis les essences de Laurier, de Sauge et du Romarin. Contrairement à la souche de *Bacillus* sp qui a manifesté une grande sensibilité aux trois huiles essentielles testées.

L'huile essentielle des feuilles de Laurier noble a montré la meilleure capacité antibactérienne par rapport aux deux autres plantes, cette grande capacité peut être attribuée à la présence du 1.8-Cinéole, le composé majoritaire dans cette essence, ce qui explique la diminution du pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de Laurier en testant des échantillons qui contiennent moins de 1.8-Cinéole dans leur composition et qui sont obtenus en prolongeant le temps d'extraction.

On note aussi que les trois huiles essentielles étudiées contiennent le 1.8-Cinéole dans leur composition à des différentes teneurs, et grâce à sa forte teneur en 1.8-Cinéole, l'essence de Laurier est la plus performante des trois huiles contre les bactéries étudiées. Les résultats obtenus de cette étude sont similaires aux résultats trouvés par plusieurs autres chercheurs. [48] [58] [59] [60]

Conclusion Expérimentale

Dans cette partie expérimentale on a travaillé sur la méthode conventionnelle la plus utilisée dans le domaine d'extraction des plantes aromatiques et médicinales dans le monde : l'hydrodistillation (Clevenger). On a déterminé les conditions opératoires optimales pour cette technique. En suite, on l'a comparé avec une méthode innovante qui est l'extraction par CO₂ supercritique. Dans la fin, on a évalué l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites.

La teneur en huile essentielle et la composition de cette dernière varient d'un organe végétatif à un autre dans la même plante. Les feuilles de Laurier noble sont le meilleur organe végétatif en terme quantitatif (plus de 1% d'essence) et en terme qualitatif (47% de 1.8-Cinéole).

Le stockage des feuilles de Laurier noble et la Sauge officinale à l'ombre à une température ambiante pendant 28 jours, n'a aucun effet sur leur teneur en essence ; par contre il a eu des retombées sur la composition chimique des extraits, même d'une façon mineure comme pour l'extrait de Laurier noble.

L'utilisation des plans d'expériences en tant que plan de screening a permis de cribler trois paramètres de l'hydrodistillation tels que : la granulométrie, le débit de condensation et le rapport de masse. Les résultats ont montré que le débit de condensation est le paramètre le plus influençant sur la réponse.

L'étude de l'effet de la granulométrie et le résultat du plan d'expériences ont montré que le choix inapproprié du type de broyeur, du temps de broyage ainsi que la mauvaise manipulation des tamisiers peuvent influencer négativement sur la teneur de la matière végétale en huile essentielle et donc sur le rendement de l'hydrodistillation. Ainsi, la comparaison de l'effet de la granulométrie sur le rendement de l'extraction de l'essence des feuilles de Laurier noble et du Romarin a permis de constater que la structure histologique du végétal a la plus grande influence sur la réponse de l'extraction. La nature de la cuticule qui entoure les cellules sécrétrices ainsi que leur emplacement dans les feuilles ont un effet apparent sur le processus de transfert de matière ; car selon les espèces, différentes structures plus ou moins complexes sont responsables de la biosynthèse, du stockage et de l'émission des huiles essentielles.

Une quantité, d'environ 99% de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble, est extraite dans la première heure du processus d'hydrodistillation. Il est important de noter que le 1.8-Cinéole est récupéré avec un taux élevé dans les premières minutes d'extraction.

Un débit de condensation élevé permet d'augmenter la capacité d'extraction du système ; 99% de l'essence est récupérée avec un débit de 3.87 ml/min se qui rend ce dernier le flux de vapeur optimal d'un point de vue économique vu sa faible consommation d'énergie comparée à celles consommées par les autres valeurs de débit.

Il faut s'assurer de l'efficacité du système d'ébullition solide-liquide pour aboutir à un rendement optimal tout en gardant un œil sur la préservation de la quantité d'eau.

Le processus d'extraction par fluide supercritique est plus performant que l'hydrodistillation du point de vue rendement (2.54 % vs 1.94 %) ; par contre, l'hydrodistillation est plus rapide du point de vue degré d'extraction.

Le meilleur rendement en Camphre est obtenu par CO₂ supercritique, par conséquent, ce processus d'extraction est plus sélectif pour le Camphre, le constituant majoritaire, que le processus d'extraction par hydrodistillation.

L'huile essentielle des feuilles de Laurier noble a présenté une activité antibactérienne très importante par rapport aux extraits des feuilles de la Sauge officinale et du Romarin. Ce pouvoir est dû principalement à sa forte teneur en 1.8-Cinéole.

Enfin, les conditions optimales d'extraction de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble par hydrodistillation ont été estimées à une durée d'extraction de 1 heure, un débit de condensation de 3.87 ml/min, un rapport de masses de 1/10 pour une division des feuilles de 5mm avec une matière végétale sèche.

I. Modèle Mathématique

I.1. Introduction

Ce chapitre concerne la modélisation du transfert de matière au cours de l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle à partir d'un solide d'origine végétale : Les feuilles de Laurier noble.

Cette partie de l'étude a pour but de modéliser les résultats expérimentaux obtenus dans la section précédente et les interprétés dans un modèle numérique.

La démarche consiste, dans une première étape, à comprendre les mécanismes de transfert de matière et de diffusion moléculaire qui peuvent se produire au cours de l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble en se basant sur les données expérimentales discutées précédemment et les nombreux modèles établis dans la littérature, pour aboutir à des hypothèses simplificatrices qui décrivent les phénomènes qui auront lieux dans le processus d'extraction et qui dépendent essentiellement de la nature des résistances aux transfert de matière dans la matrice solide (matière végétale) et la distribution du soluté dans cette dernière. Ensuite, dans une seconde étape, la démarche consiste à l'établissement d'un modèle permettant de simuler la cinétique de l'extraction par le processus d'hydrodistillation et d'estimer le coefficient de diffusion de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble, en appliquant les hypothèses simplificatrices adéquates.

La comparaison des résultats simulés traduisant l'évolution du degré d'extraction en fonction du temps d'hydrodistillation avec les mesures expérimentales obtenues du chapitre précédent est détaillée à la fin de cette section.

I.2. Hypothèses

Dans le but de décrire le processus de diffusion de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble contenue dans la matière végétale vers l'extérieur, on a utilisé les hypothèses simplificatrices suivantes :

- L'hydrodistillation des constituants volatils, d'un substrat végétal, est un processus de transfert entre la particule solide et la phase fluide (eau).
- Le système se comporte comme un lit fluidisé, les particules solides sont en suspension dans le liquide, à trois phases, solide, liquide et vapeur.

- Si le soluté est localisé en surface du solide, généralement poreux, sa vitesse de transfert est très dépendante de la vitesse de diffusion. [29]
- L'étape déterminante du transfert de matière est la diffusion, le processus est purement diffusionnel et le terme relatif à la réaction chimique est nul.
- L'huile essentielle est considérée comme un soluté unique ayant des propriétés physiques et diffusionnelles moyennes
- La répartition initiale du soluté est considérée homogène et constante pour toutes les particules.
- Les particules sont isotropiques, de dimensions égales, de formes géométriques rectangulaires plates et ne changent pas de forme et de taille durant l'extraction.
- La diffusion du solvant dans les particules est négligeable.
- Il n'y a aucune résistance au transfert de l'huile essentielle au niveau des surfaces externes de la plante.
- Le coefficient effectif de diffusion est constant.
- La diffusion est unidimensionnelle car l'épaisseur est négligeable devant la longueur des particules.
- La concentration en soluté ne dépend que de la variable spatiale (x) et du temps (t).
- La concentration de l'huile aux interfaces est négligeable à cause de l'entraînement instantané de l'huile au niveau de la surface.

I.3. Modèle de diffusion dans la particule solide

La diffusion des constituants de l'huile essentielle vers la surface extérieure du substrat végétal joue un rôle également important dans la cinétique du transfert de matière. La vitesse de diffusion, mesurée par le flux de matière transférée par unité de temps et par unité de surface, dépend directement des écarts à l'équilibre exprimés par la différence entre la concentration du soluté dans la particule et sa concentration à l'interface.

Le concept de la diffusion à l'intérieur d'une matrice solide, avec une concentration du soluté qui varie selon le temps et la position dans la particule est généralement décrit par la deuxième loi de Fick. Cette équation différentielle qui décrit le processus de diffusion de l'huile essentielle est obtenue en utilisant l'approche des bilans de matière différentiels. Il est nécessaire d'établir un

bilan de matière sur un élément de volume en prenant en considération les équilibres entre phases et les conditions limites et initiale, en se basant sur les hypothèses faites sur les différents phénomènes qui auront lieu au cours de l'extraction, ainsi sur la structure, la nature et la géométrie des particules végétales.

L'écriture des conditions limites et initiale est basée sur l'hypothèse décrite précédemment, la concentration en huile essentielle est homogène et constante dans toute la particule et négligeable aux interfaces à cause de l'entraînement instantané de l'huile essentielle au niveau de la surface.

I.4. Equation de continuité

L'équation de continuité est basée sur le principe de conservation de la masse, elle est obtenue à travers un bilan de matière effectué sur un élément de volume par rapport au constituant A.

$$\left[\begin{array}{l} \text{Quantité de A entrante} \\ \text{l'élément de volume} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{l} \text{Quantité de A sortante} \\ \text{de l'élément de volume} \end{array} \right] + /- \left[\begin{array}{l} \text{Apparition ou} \\ \text{disparition de A} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{l} \text{Accumulation de} \\ \text{A dans l'élément} \end{array} \right]$$

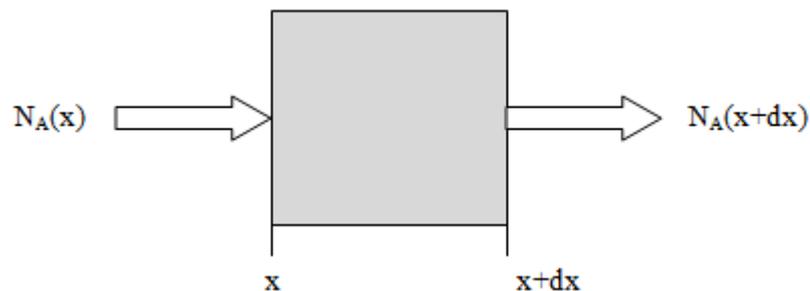


Figure III. 1 : Élément de volume dans la feuille végétale.

On considère l'élément de volume montré sur la figure (III. 1) en coordonnées cartésiennes, pour le cas unidimensionnel.

- $N_{Ax}|_x$: Quantité de A entrante l'élément de volume.
- $N_{Ax}|_{x+dx}$: Quantité de A sortante de l'élément de volume.
- $R_A \Delta x = 0$: pas de réaction chimique.
- $\frac{\partial C_A}{\partial t} \Delta x$: Accumulation de A.

Le modèle mathématique est basé sur la résolution de la seconde loi de Fick. L'équation différentielle qui décrit le processus de diffusion de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble à température et pression constantes est obtenue à partir du bilan de matière sur un élément de volume de géométrie rectangulaire (cartésienne), pour le cas unidimensionnel et en absence de la réaction chimique.

$$-\frac{\partial N_{Ax}}{\partial x} = \frac{\partial C_A}{\partial t} \quad (\text{III.1})$$

Le flux total est la somme d'un flux diffusif et un flux convectif :

$$N_{Ax} = J_{Ax} + C_A V_x$$

$$\text{Sachant que : } J_{Ax} = -D_{AB} \frac{\partial C_A}{\partial x} \Rightarrow \frac{\partial J_{Ax}}{\partial x} = -D_{AB} \frac{\partial^2 C_A}{\partial x^2} \quad (D_{AB} \text{ est constant}).$$

Avec :

D_{AB} : Coefficient de diffusion de l'huile essentielle dans le milieu [m^2/s].

V_x : La vitesse suivant la direction x [m/s].

En absence du terme convectif, l'équation (III.1) se réduit à la deuxième loi de Fick

$$D_{AB} \frac{\partial^2 C_A}{\partial x^2} = \frac{\partial C_A}{\partial t} \quad (\text{III.2})$$

L'équation (III.2) s'écrit comme suit :

$$\frac{\partial^2 C_A}{\partial x^2} = \frac{1}{D} \frac{\partial C_A}{\partial t} \quad 0 \leq x \leq L \quad (\text{III.3})$$

Avec L : Epaisseur de la particule (la même épaisseur que la feuille végétale. Mesure voir Annexe II).

L'équation (III.3) donne la distribution de A (huile essentielle) dans le système. Lorsqu'on intègre l'équation différentielle obtenue, des constantes d'intégration apparaissent et seront déterminées en utilisant la condition initiale et les conditions aux limites qui dépendent de la concentration de l'huile essentielle sur la surface.

- Condition initiale

$$\text{À } t = 0, C_A = C_{A0} \quad (\text{III.4})$$

Cette concentration initiale est assimilée à la quantité maximale extractible.

- Conditions aux limites

$$\text{À } x = 0, C_A = 0 \quad (\text{III.5})$$

$$\text{À } x = L, C_A = 0 \quad (\text{III.6})$$

Les équations (III.3) à (III.6) constituent le problème de **Sturm Liouville**. Pour résoudre ce problème on utilise la technique de séparation des variables. [92] (voir Annexe III)

La solution finale du problème est donnée par :

$$C_A(x, t) = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{4C_{A0}}{n\pi} \cdot \sin\left(\frac{n\pi}{L}x\right) \cdot e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t} \quad (\text{III.7})$$

D'autre part, on a

$$\dot{m}_A(t) = \frac{\partial m_A}{\partial t} = -D \cdot A \frac{\partial C_A}{\partial x} \Big|_{x=L} \quad (\text{III.8})$$

Avec m_A : Masse de l'huile essentielle cumulée en fonction du temps (g).

A : Surface d'échange (m^2).

En intégrant l'équation (III.7), on obtient

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_A}{\partial x} &= \sum_{n=1}^{\infty} \frac{4C_{A0}}{n\pi} e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t} \cdot \frac{\partial}{\partial x} \left[\sin \frac{n\pi}{L} x \right] \\ \frac{\partial C_A}{\partial x} &= \sum_{n=1}^{\infty} \frac{4C_{A0}}{n\pi} e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t} \cdot \left(\frac{n\pi}{L}\right) \left[\cos \frac{n\pi}{L} x \right] \\ \frac{\partial C_A}{\partial x} &= \sum_{n=1}^{\infty} \frac{4C_{A0}}{L} e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t} \cdot \left[\cos \frac{n\pi}{L} x \right] \end{aligned} \quad (\text{III.9})$$

En remplaçant l'équation (III.8) dans l'équation (III.9), on obtient

$$\dot{m}_A(t) = -DA \sum_{n=1}^{\infty} \frac{4C_{A0}}{L} e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t} \cdot \left[\cos \frac{n\pi}{L} x \right]_{x=L} \quad (\text{III.10})$$

À $x = L$, on obtient

$$\dot{m}_A(t) = -\frac{4C_{A0}DA}{L} \sum_{n=1}^{\infty} e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t} \cdot \cos(n\pi) \quad (\text{III.11})$$

Pour les n impairs ($n = 2m + 1$), l'équation (III.11) devient

$$\dot{m}_A(t) = \frac{4C_{A0}DA}{L} \sum_{n=1}^{\infty} e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t} \quad (\text{III.12})$$

La masse extraite de l'huile essentielle peut être obtenue par l'intégration de l'équation (III.12) par rapport au temps (t)

$$\frac{\partial m_A}{\partial t} = \frac{4C_{A0}DA}{L} \sum_{n=1}^{\infty} e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t}$$

$$\int_0^m \partial m_A = \frac{4C_{A0}DA}{L} \sum_{n=1}^{\infty} \int_0^t e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t} \partial t$$

$$m_A(t) = \frac{4C_{A0}DA}{L} \sum_{n=1}^{\infty} -\left[\frac{L^2}{D(n\pi)^2}\right] e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t}$$

$$m_A(t) = \frac{4C_{A0}AL}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} -\frac{1}{n^2} \left[e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t} - 1 \right]$$

$$m_A(t) = \frac{4C_{A0}AL}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \left[\frac{1 - e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t}}{n^2} \right] \quad (\text{III.13})$$

De plus, on a : $m_{A0} = C_{A0} \cdot V = C_{A0} \cdot A \cdot L$,

En remplaçant m_{A0} dans l'équation (III.13), on obtient

$$m_A(t) = \frac{4m_{A0}}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \left[\frac{1 - e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t}}{n^2} \right] \quad (\text{III.14})$$

L'équation (III.14) représente la masse de l'huile essentielle récupérée à un temps (t)

Le degré d'extraction est défini par :

$$e(t) = \frac{m_A(t)}{m_A(\infty)} \quad (\text{III.15})$$

Avec $m_A(t)$: Masse de l'huile essentielle extraite à un temps (t)

$m_A(\infty)$: Masse maximale extractible de l'huile essentielle.

En remplaçant $m_A(t)$ et $m_A(\infty)$ par leurs expressions dans l'équation (III.15), on aboutit à :

$$e(t) = \frac{\sum_{m=0}^{\infty} (1 - e^{-(2m+1)^2 \pi^2 D t / L^2}) / (2m+1)^2}{\sum_{m=0}^{\infty} 1 / (2m+1)^2} \quad (\text{III.16})$$

L'équation (III.16) représente le degré d'extraction de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble par hydrodistillation.

Le coefficient de diffusion a été estimé par la méthode d'optimisation appelée algorithme génétique en minimisant la somme des carrés des erreurs entre les valeurs expérimentales et celles du modèle, en optimisant la fonction objectif suivante :

$$f = \sum_{i=1}^N (e_{\text{modèle}}(i) - e_{\text{exp}}(i))^2 \leq \varepsilon \quad (\text{III.17})$$

Avec : N nombre d'expériences ou nombre des valeurs expérimentales du degré d'extraction.

L'optimisation de cette fonction permet d'estimer la valeur optimale du coefficient de diffusion de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

Les résultats obtenus concernant la valeur du coefficient de diffusion ainsi que les valeurs du degré d'extraction prédites par le modèle de diffusion sont montrés dans la suite de cette partie.

II. Résultats numériques et discussion

Cette partie focalise sur la présentation, la discussion et l'interprétation des résultats obtenus en appliquant le modèle de diffusion dans la particule végétale pour l'hydrodistillation de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

II.1. Estimation du coefficient de diffusion D

Dans le modèle utilisé dans ce travail, le coefficient de diffusion a été estimé en minimisant la somme des carrés des erreurs entre les valeurs expérimentales et théoriques du degré d'extraction par l'optimisation de la fonction (III.17).

L'exécution du programme d'optimisation (Algorithme génétique) a conduit à la valeur du coefficient de diffusion de l'essence des feuilles de Laurier noble :

$$D = 4.091050370462952 \times 10^{-12} \quad (\text{m}^2/\text{s})$$

Avec une valeur de f égale à $1.349679575274335 \times 10^{-2}$

Le coefficient de diffusion de l'huile essentielle de Laurier noble dans l'eau n'étant pas disponible dans la littérature, l'ordre de grandeur de sa valeur a été comparé aux coefficients de diffusion des huiles essentielles d'autres plantes (Tableau III. 1).

Tableau III. 1 : Valeurs du coefficient de diffusion de quelques plantes

Plante	Organe	Coefficient de diffusion (m ² /s)	Origine
Bigaradier	Fleurs	1.50×10^{-11}	Tunis [6]
Myrte	Feuilles	1.25×10^{-11}	
Romarin	Feuilles	4.50×10^{-11}	
Basilique	Feuilles	5.96×10^{-11}	Brésil [88, 89]
Citronnelle de java	Feuilles et tiges	1.23×10^{-11}	
Lavande	Feuilles	3.32×10^{-11}	
Romarin	Feuilles	4.36×10^{-11}	
Coriandre	Grains	1.70×10^{-11}	Algérie [82]

Selon le tableau, la valeur estimée du coefficient de diffusion convient avec les données disponibles dans la littérature en terme d'ordre de grandeur.

II.2. Estimation du degré d'extraction

Rappelons que le degré d'extraction est défini par le rapport de masse de l'huile essentielle extraite à un temps (t) sur la masse maximale d'huile essentielle extractible du végétale. Théoriquement à un temps (t) qui tend vers l'infini.

Pour le degré d'extraction théorique, un programme de calcul, a permis de calculer les valeurs de ce dernier pour chaque instant (t).

La simulation effectuée sur la cinétique d'hydrodistillation à l'aide d'un modèle diffusionnel ainsi que les résultats expérimentaux de cette dernière sont présentés sur la figure (III. 2).

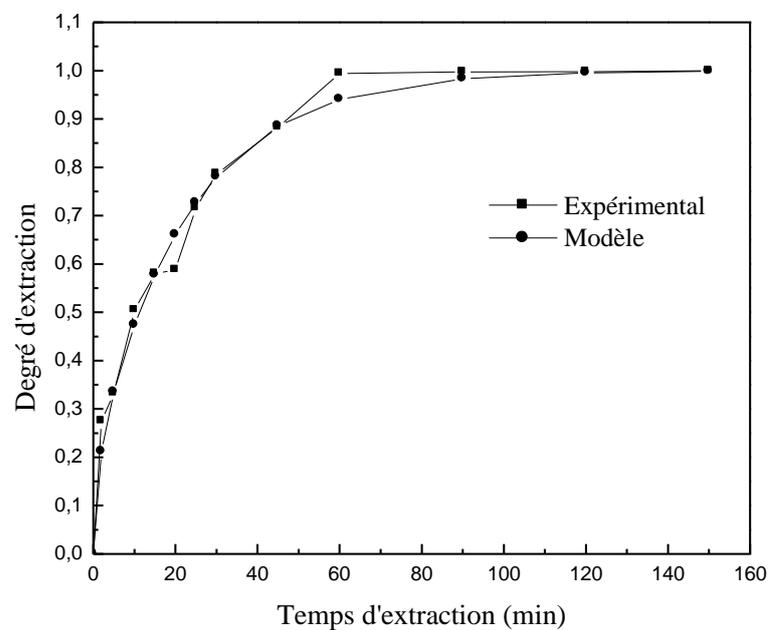


Figure III. 2 : Variation du degré d'extraction Expérimental et Théorique en fonction du temps.

L'examen des deux courbes a permis de constater que le modèle proposé donne une bonne description du comportement du système d'extraction. La courbe relative au modèle est en accord avec la courbe expérimentale, le degré d'extraction augmente progressivement en fonction du temps, il approche de sa valeur limite, donnée par la quantité maximale extractible après un temps d'extraction d'environ 60 minutes, où il atteint une valeur asymptotique.

Il est important de signaler l'écart entre les deux valeurs expérimentale et théorique obtenues à 60 minutes d'hydrodistillation. Pour la même durée, le taux d'extraction enregistré expérimentalement est de 99 % d'huile essentielle, par contre, celui prédit par le modèle est de 94 %. Au-delà de cette période, les deux courbes sont superposées et un degré d'extraction de 100 % est obtenu à la fin du processus.

II.3. Conclusion

L'application d'un modèle diffusionnel basé sur un bilan de matière pour l'extraction de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble par hydrodistillation classique a permis de déterminer le coefficient de diffusion de l'essence de cette plante et de simuler d'une manière appropriée la cinétique de l'extraction par un montage de type Clevenger à l'échelle de laboratoire.

Cependant, le coefficient de diffusion atteint dans ce travail à l'échelle du laboratoire, pourrait être utile lors de la mise à l'échelle du processus d'extraction et / ou pendant les opérations industrielles ou à l'échelle pilote pour évaluer le temps d'extraction nécessaire pour obtenir un rendement donné, tel que confirmé dans cette étude.

Conclusion Générale

La flore algérienne et plus précisément de la région du Nord-est jouit d'une biodiversité considérable, elle possède une multitude de plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des propriétés thérapeutiques et pharmacologiques importantes qui ne demandent qu'à être exploitées. Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources naturelles, trois plantes aromatiques : *Laurus nobilis* L., *Salvia officinalis* L. et *Rosmarinus officinalis* L. ont fait l'objet d'une étude d'optimisation du procédé d'extraction par hydrodistillation pour extraire leurs huiles essentielles, les analyser et évaluer leurs potentiel antibactérien.

Avant d'énumérer les étapes du travail effectué et les résultats obtenus dans cette étude, il faut signaler l'importance de la préservation de ces ressources naturelles, surtout par les industrielles lors des opérations de récolte. N'oublions pas que ces plantes font partie de la flore mondiale considérée comme le poumon de la terre.

Dans un premier temps, le travail est consacré à l'optimisation de l'extraction par hydrodistillation, premièrement par le criblage des paramètres en utilisant un plan d'expériences, puis par l'étude d'influence des conditions opératoires de ce procédé sur le rendement d'extraction et sur la composition chimique des essences extraites et cela après identification de l'organe végétatif le plus riche en huile essentielle et l'investigation de l'effet de séchage sur sa teneur en essence.

Par la suite, on a comparé le rendement de l'extraction par CO₂ supercritique avec celui de l'hydrodistillation dans le but d'évaluer la performance de cette dernière.

Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles des trois plantes utilisées dans cette étude a été évalué.

Le travail mené dans cette thèse est achevé par la modélisation du transfert de masse pour simuler la cinétique d'extraction par hydrodistillation et estimer le coefficient de diffusion de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

Cette étude a permis de mettre en évidence les résultats suivants :

- La teneur en huile essentielle ainsi que la composition chimique de cette dernière varient d'un organe végétatif à un autre dans la même plante. Pour Laurier, la plus grande teneur (1%) ainsi que la meilleure composition (47% 1.8-Cinéole) sont obtenues de l'hydrodistillation des feuilles de cette plante.
- La perte en eau par la matière végétale pendant le stockage des feuilles de Laurier et la Sauge à l'ombre à température ambiante pendant 28 jours n'a pas influencé sur leur teneur en huile essentielle, mais elle a conduit à des modifications dans la composition chimique des extraits.
- Les plans factoriels complets peuvent être utilisés comme des plans de criblage. Le criblage des paramètres d'hydrodistillation tels que : la taille de particules, le débit de condensation et le rapport de masses par un plan factoriel complet 2^3 a montré que le débit de condensation est le paramètre le plus influençant sur la réponse.
- 60 minutes est un temps optimal pour l'hydrodistillation de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble. Par ailleurs, le 1.8-Cinéole est récupéré avec un taux élevé dans les premières minutes de l'extraction.
- L'augmentation du débit de condensation entraîne une augmentation du rendement et provoque des changements dans la composition chimique des essences.
- Le mode de broyage et la manipulation des tamiseurs peuvent avoir des retombées négatives sur la teneur de la matière végétale en huile essentielle et donc sur le rendement de l'extraction.
- La structure histologique du végétal joue un rôle très important dans les processus de transfert de matière lors de l'hydrodistillation.
- La granulométrie peut avoir une influence sur le rendement de l'extraction comme sur la composition chimique des huiles essentielles. La fine particule favorise le transfert de matière et aussi l'apparition de grosses molécules dans la composition des essences extraites comme les sesquiterpènes.
- Pour améliorer le rendement de l'hydrodistillation il faut s'assurer d'un système d'ébullition solide-liquide efficace. La matière végétale doit être totalement submergée dans l'eau.

- Le processus d'extraction par fluide supercritique est plus performant que l'hydrodistillation du point de vue rendement ; par contre, du point de vue degré d'extraction, l'hydrodistillation est le processus le plus rapide.
- L'huile essentielle des feuilles de Laurier noble a présenté une activité antibactérienne très importante, plus grande que celles des feuilles de la Sauge et du Romarin et cela grâce à sa forte teneur en 1.8-Cinéole.
- L'application du modèle diffusionnel a permis de déterminer le coefficient de diffusion de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble et de simuler d'une manière adéquate la cinétique de l'extraction. Il a permis d'avoir des résultats calculés assez proches des données expérimentales, obtenues de l'hydrodistillation par un montage de type Clevenger à l'échelle de laboratoire.

Références

- [1] Paul ISERIN, LAROUSSE Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, soins. ISBN : 2-03-560252-1, Paris, 2001, p 225-226.
- [2] Lucienne Ali DELILLE, Les Plantes Médicinales d'Algérie, Berti-Edition, 2ème édition, Alger, 2010, p148/218/210.
- [3] Colette BESOMBES, Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées, Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, Discipline : Génie des procédés industriels, 2008.
- [4] Karl-Heinz Kubeczka, History and Sources of Essential Oil Research, Handbook of Essential Oils, Science, Technology and Applications, CRC Press, USA, 2010, p 5-6.
- [5] Légeu GANOU, Contribution à l'étude de mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielles, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, Spécialité : Traitements des Matières Premières Végétales, 2001.
- [6] A.Haj Ammar., A-H.Meniai., F.Zagrouba., Experimental study and modeling of essential oil extraction from plants by hydrodistillation, Chemical Engineering and Technology, vol.37, N°.00, 2014, p 1-9.
- [7] A.K.Djibo., A.D.Samaté., M.Nacro., Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. *O. canum* Sims du Burkina Faso, Comptes Rendus Chimie, vol.7, 2004, p 1033-1037.
- [8] F.Avlessi., J.Dangou., V.D.Wotto., G.A.Alitonou., D.K.Sohounhloue., C.Menut., Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle des feuilles de *Clausena anisata* (Wild) Hook, Comptes Rendus Chimie, vol.7, 2004, p 1057-1061.
- [9] A.Russo., C.Formisano., D.Rigano., F.Senatore., S.Delfine., V.Cardile., S.Rosselli., M.Bruno., Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean Sage (*Salvia Officinalis* L.) grown in different environmental conditions, Food and Chemical Toxicology, vol.55, 2013, p 42-47.
- [10] M. Ben Farhat., R.Chaouch-Hamada., J.A.Sotomayor., A.Landoulsi., M.J.Jordan., Antioxidant potential of *Salvia Officinalis* L. residues as affected by the harvesting time, Industrial Crops and Products, vol.54, 2014, p 78-85.
- [11] Y.Zaouali., T.Bouzaine., M.Boussaid., Essential oils composition in two *Rosmarinus Officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities, Food and Chemical Toxicology, vol.84, 2010, p 3144-3152.
- [12] A.M.Ojeda-Sana., C.M.van Baren., M.A.Elechosa., M.A.Juarez., S.Moreno., New insights into antibacterial and antioxidant activities of Rosemary essential oils and their main components, Food Control, vol.31, 2013, p 189-195.

- [13] J.M.Ben Jemaa., N.Tersim., K.T.Toudert., M.L.Khouja., Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tnisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition, *Journal of Stored Products Research*, vol.48, 2012, p 97-104.
- [14] S.Périno-Issartier., C.Ginies., G.Cravotto., F.Chemat., A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation, *Journal of Chromatography A*, vol.1305, 2013, p 41-47.
- [15] D.W.Al Abbasy., N.Pathare., J.N.Al-Sabahi., S.Alam Khan., Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani Basil (*Ocimum basilicum* Linn.), *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, vol.5, issue.8, 2015, p 645-649.
- [16] S.Zoubiri., A.Baaliouamer., N.Seba., N.Chamouni., Chemical composition and larvicidal activity of Algerian *Foeniculum vulgare* seed essential oil, *Arabian Journal of Chemistry*, vol.7, 2014, p 480-485.
- [17] I.H.Sellami., W.A.Wannes., I.Bettaieb., S.Berrima., T.Chahed., B.Marzouk., F.Limam., Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves as affected by different drying methods, *Food Chemistry*, vol.126, 2011, p 691-697.
- [18] M.Rahimmalek., S.A.Hosseini Goli., Evaluation of six drying treatments with respect to essential oil yield, composition and color characteristics of *Thymus daenensis* subsp. *daenensis*. Celak leaves, *Industrial Crops and Products*, vol.42, 2013, p 613-619.
- [19] S.Zrira., B.Benjlali., Effect of drying on leaf oil production of Moroccan *Eucalyptus camaldulensis*, *Journal of oil research*, 10.1080, 2011, p 117-118.
- [20] M.Bourkhiss., M.Hnach., B.Bourkhiss., M.Ouhssine., A.Chaouch., B.Satrani., Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters, *AgroSolutions*, vol.20, N°.1, 2009, p 44-48.
- [21] T.A.Misharina., A.N.Polshkov., Antioxidant properties of essential oils: Autoxidation of essential oils from Laurel and Fennel and their mixtures with essential oil from Coriander, *Applied Biochemistry and Microbiology*, vol.41, N°.6, 2005, p 610-618.
- [22] B.Benjlali, *Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique*, Chapitre 3, Le matériel végétal et l'extraction, Maroc, p 65.
- [23] S.Combrinck., G.W.Du Plooy., R.I.McCrintle., B.M.Botha., Morphology and Histochemistry of the glandular trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae), *Oxford Journals, Annals of Botany*, vol.99, 2007, p 1111-1119.
- [24] G.J.Wagner., Secreting glandular trichomes: more than just hairs, *Plant Physiol*, vol.96, 1991, p 675-679.
- [25] A.Zermane., A-H.Menai., D.Barth., Supercritical CO₂ extraction of essential oil from Algerian Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), *Chemical Engineering and Technology*, vol.33, N°.3, 2010, p 1-11.

- [26] L.R.Hernandez Ochoa., Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, Spécialité : Sciences des Agro-ressources, 2005.
- [27] A.Haj Ammar., F.Zagrouba., M.Romdhane., Optimization of operating conditions of Tunisian myrtle (*Myrtus communis* L.) essential oil extraction by a hydrodistillation process using a 2⁴ complete factorial design, *Flavour and Fragrance Journal*, vol.25, 2010, p 503-507.
- [28] N.Herzi., Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO₂ supercritique et des techniques conventionnelles, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, Spécialité : Génie des procédés et de l'environnement, 2013.
- [29] J.Leybros., P.Frémeaux., Extraction solide-liquide ; Aspects théoriques, *Techniques de l'ingénieur*, J 2780.
- [30] S.Z.Milojevic., T.D.Stojanovic., R.Palic., M.L.Lazic., V.B.Veljkovic., Kinetics of distillation of essential oil from communited ripe juniper (*juniperus communis* L.) berries, *Biochemical Engineering Journal*, vol.39, 2008, p 547-553.
- [31] M.Rouatbi., A.Duquenoy., P.Giampaoli., Extraction of the essential oil of thyme and black pepper by superheated steam, *Journal of Food Engineering*, vol.78, 2007, p 708-714.
- [32] T.Ozek., Distillation parameters for pilot plant production of *Laurus nobilis* essential oil, *Records of Natural Products*, vol.6, N° 2, 2012, p 135-143.
- [33] M.H.Hazwan., C.M.Hasfalina., M.J.Hishamuddin., Z.A.Zurina., Optimization and kinetics of essential oil extraction from Citronella Grass by ohmic heated hydrodistillation, *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, vol.3, N° 3, 2012, p 173-177.
- [34] M.T.Golmakani., K.Rezaei., Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L., *Food Chemistry*, vol.109, 2008, p 925-930.
- [35] H.Y.Sintim., A.Burkhardt., A.Gawde., C.L.Cantrell., T.Astatkie., A.E.Obour., V.D.Zheljzakov., V.Schlegel., Hydrodistillation time affects dill seed essential oil yield, composition and bioactivity, *Industrial Crops and Products*, vol.63, 2015, p 190-196.
- [36] W. Tinsson., Plans d'expérience : constructions et analyses statistiques, *Mathématiques et Applications*, DOI 10.1007/978-3-642-11472-4, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010, p 67.
- [37] J.Goupy., Plans d'expériences, *Techniques de l'ingénieur*, PE 230.
- [38] T.Silou., M.Malanda., L.Loubaki., Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* grâce à un plan factoriel complet 2³, *Journal of Food Engineering*, vol.65, 2004, p 219-223.
- [39] M.Fadil., A.Farah., B.Ihssane., T.Haloui., S.Rachiq., Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. by response surface methodology, *Journal of Materials and Environmental science*, vol.6, N° 8, 2015, p 2346-2357.
- [40] M.Fadil., A.Farah., B.Ihssane., T.Haloui., S.Rachiq., The application of Plackett and Burman design in screening the parameters acting on the hydrodistillation process of Moroccan thyme

(*Thymus vulgaris L.*), International Journal of Innovation and Applied Studies, vol.6, N°3, 2014, p 530-540.

[41] C.Wu., F.Wang., J.Liu., Y.Zou., X.Chen., A comparison of volatile fractions obtained from *Lonicera macranthoides* via different extraction processes: ultrasound, microwave, Soxhlet extraction, hydrodistillation, and cold maceration, Integrative Medicine Research, vol.4, 2015, p 171-177.

[42] E.Ghasemi., Y.Yamini., N.Bahramifar., F.Sefidkon., Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of *Artemisia sieberi*, Journal of Food Engineering, vol.79, 2007, p 306-311.

[43] M.Khajeh., Y.Yamini., S.Shariati., Comparison of essential oils compositions of *Nepeta persica* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and steam distillation methods, Food and Bioproducts Processing, vol.88, 2010, p 227-232.

[44] L.Wang., C.L.Weller., Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, Trends in Food Science & Technology, vol.17, 2006, p 300-312.

[45] P.I.Penchev., Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, Spécialité : Génie des procédés et de l'environnement, 2010.

[46] Samah.DJEDDI., Les huiles essentielles, Des mystérieux métabolites secondaires, Presses Académiques Francophones, Allemagne, 2012, P 28-30/32-33/37.

[47] Chlodwig Franz and Johannes Novak, Sources of Essential Oils, Handbook of Essential Oils, Science, Technology and Applications, CRC Press, USA, 2010, p 39-40.

[48] Amira OUIBRAHIM, Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis L.*, *Ocimum basilicum L.* et *Rosmarinus officinalis L.*) de l'Est Algérien, Thèse de doctorat LMD, Université BADJI MOKHTAR – Annaba, Spécialité : Toxicologie, 2015.

[49] Karima Taleb-Toudert, Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae), Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri, Sciences biologiques, 2015.

[50] Laurent DUVAL, Les huiles essentielles à l'officine, Thèse de doctorat en pharmacie, UFR de Médecine et de Pharmacie de Rouen, 2012.

[51] P.C.Castilho., M.d.C.Costa., A.Rodrigues., A.Partidario., Characterization of Laurel fruit oil from Madeira island, Portugal, Journal of American Oil Chemists' Society, Vol.82, Issue.12, 2005, p 863-868.

[52] Adrien M.Monfroy, L'aromathérapie en rhumatologie : une alternative aux anti-inflammatoires non stéroïdiens, Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lille 2, 2012.

[53] Nabil BOUSBIA, Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires, Thèse de doctorat en Cotutelle, Université d'Avignon et

des pays de Vaucluse et Ecole nationale supérieure agronomique d'El Harrach, Spécialité : Chimie, 2011.

[54] K.V.Peter, Handbook of herbs and spices, CRC Press, Cambridge England, 2001, p 54/59.

[55] P.D.Leo Lira., D.Retta., E.Tkacik., J.Ringuelet., J.D.Coussio., C.V.Baren., A.L.Bandoni., Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurus nobilis* L.) from Argentina, Industrial Crops and Products, Vol.30, 2009, p 259-264.

[56] G.Flamini., M.Tebano., P.L.Cioni., L.Ceccarini., A.S.Ricci., I.Longo., Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven, Journal of Chromatography A, Vol.1143, 2007, p 36-40.

[57] M.I.Dias., L.Barros., M.Duenas., R.C.Alves., M.B.P.P.Oliveira., C.S.Buelga., I.C.F.R.Ferreira., Nutritional and antioxidant contributions of *Laurus nobilis* L. leaves: Would be more suitable a wild or a cultivated sample?, Food Chemistry, Vol.156, 2014, p 339-346.

[58] M.Chmit., H.Kanaan., J.Habib., M.Abbass., A.Mcheik., A.Chokr., Antibacterial and antibiofilm activities of polysaccharides, essential oil, and fatty oil extracted from *Laurus nobilis* growing in Lebanon, Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, Vol.7, 2014, p 546-552.

[59] S.M.d.Silveira., F.B.Luciano., N.Fronza., A.Cunha Jr., G.N.Scheuermann., C.R.W.Vieira., Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7°C, LWT - Food Science and Technology, Vol.59, 2014, p 86-93.

[60] A.Merghni., H.Marzouki., H.Hentati., M.Aouni., M.Mastouri., Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections, Pathologie Biologie, 2015.10.003.

[61] C.N.Hassiotis., E.I.Dina., The effects of laurel (*Laurus nobilis* L.) on development of two mycorrhizal fungi, International Biodeterioration and Biodegradation, Vol.65, 2011, p 628-634.

[62] M.P.Santamarina., J.Rosello., S.Gimenez., M.A.Blazquez., Commercial *Laurus nobilis* L. and *Syzygium aromaticum* L. Merr. and Perry essential oils against post-harvest phytopathogenic fungi on rice, LWT - Food Science and Technology, Vol.65, 2016, p 325-332.

[63] U.D.Corato., O.Maccioni., M.Trupo., G.D.Sanzo., Use of essential oil of *Laurus nobilis* obtained by means of a supercritical carbon dioxide technique against post harvest spoilage fungi, Crop Protection, Vol.29, 2010, p 142-147.

[64] M.Simic., T.Kundakovic., N.Kovacevic., Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts, Fitoterapia, Vol.74, 2003, p 613-616.

[65] D.B.M.Marquez., G.C.M.Avila., J.E.Wong-Paz., R.B.Cerda., R.R.Herrera., C.N.Aguilar., Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity, Ultrasonics Sonochemistry, Vol.20, 2013, p 1149-1154.

[66] O.Ouchikh., T.Chahed., R.Ksouri., M.B.Taarit., H.Faleh., C.Abdelly., M.E.Kchouk., B.Marzouk., The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs, Journal of Food Composition and Analysis, Vol.24, 2011, p 103-110.

- [67] A.Boulila., I.Hassen., L.Haouari., F.Mejri., I.B.Amor., H.Casabianca., K.Hosni., Enzyme-assisted extraction of bioactive compounds from bay leaves (*Laurus nobilis* L.), *Industrial Crops and Products*, Vol.74, 2015, p 485-493.
- [68] H.Chiasson., N.Beloin., Les huiles essentielles, des biopesticides « Nouveau genre », *Bulletin de la société d'entomologie du Québec, Antennae*, Vol.14, N°1, 2007, p 3-6.
- [69] R.Furtado., J.Baptista., E.Lima., L.Paiva., J.G.Barroso., J.S.Rosa., L.Oliveira., Chemical composition and biological activities of *Laurus* essential oils from different Macaronesian Islands, *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol.55, 2014, p 333-341.
- [70] F.Erler., I.Ulug., B.Yalcinkaya., Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*, *Fitoterapia*, Vol.77, 2006, p 491-494.
- [71] Arnaud GAYDA., Etude des principales huiles essentielles utilisées en rhumatologie, Thèse de doctorat en pharmacie, Université Toulouse 3 PAUL SABATIER, 2013.
- [72] F.Fang., S.Sang., K.Y.Chen., A.Gosslau., C.T.Ho., R.T.Rosen., Isolation and identification of cytotoxic compounds from Bay leaf (*Laurus nobilis*), *Food Chemistry*, Vol.93, 2005, p 497-501.
- [73] M.Sayyah., G.Saroukhani., A.Peirovi., M.Kamalinejad., Analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* Linn. *Phytotherapy Research*, Vol.17, Issue.7, 2003, p 733-736.
- [74] Maria Graça Miguel., Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review, *Molecules*, Vol.15, 2010, p 9252-9287.
- [75] S.Nayak., P.Nalabothu., S.Sandiford., V.Bhogadi., A.Adogwa., Evaluation of wound healing activity of *Allamanda cathartica*. L. and *Laurus nobilis*. L. extracts on rats, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, Vol.6, Issue.12, 2006, p 1-6.
- [76] E.A.Khalil., F.U.Afifi., M.Al-Hussaini., Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*), *Journal of Ethnopharmacology*, Vol.109, 2007, p 104-112.
- [77] A.Aljamal., Effects of Bay Leaves on Blood Glucose and Lipid Profiles on the Patients with Type 1 Diabetes, *International Journal of Medical, Health, Biomedical, Bioengineering and Pharmaceutical Engineering*, Vol.4, N°9, 2010, p 409-412.
- [78] A.Khan., G.Zaman., R.A.Anderson., Bay leaves improve glucose and lipid profile of people with type 2 diabetes, *Journal of Clinical Biochemistry and nutrition*, Vol.44, 2009, p 52-56.
- [79] M.Sayyah., J.Valizadeh., M.Kamalinejad., Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole- and maximal electroshock-induced seizures, *Phytomedicine*, Vol.9, 2002, p 212-216.
- [80] F.U.Afifi., E.Khalil., S.O.Tamimi., A.Disi., Evaluation of the gastroprotective effect of *Laurus nobilis* seeds on ethanol induced gastric ulcer in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol.58, 1997, p 9-14.
- [81] M.Romdhane., C.Tizaoui., The kinetic modeling of a steam distillation unit for the extraction of aniseed (*Pimpinella anisum*) essential oil, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, Vol.80, 2005, p 759-766.

- [82] H.Sovova., S.A.Aleksovski., Mathematical model for hydrodistillation of essential oils, *Flavour and Fragrance Journal*, Vol.21, 2006, p 881-889.
- [83] X.B.Xavier., R.M.F.Vargas., E.Cassel., A.M.Lucas., M.A.Santos., C.A.Mondin., E.R.Santarem., L.V.Astarita., T.Sartor., Mathematical modeling for extraction of essential oil from *Baccharis* spp. by steam distillation, *Industrial Crops and Products*, Vol.33, 2011, p 599-604.
- [84] M.Laoufi., S.Dounit., Modélisation du transfert de matière lors d'une extraction solide – liquide, *Annales des Sciences et Technologie*, Vol.5, N° 2, 2013, p 156-166.
- [85] E-H.Benyoussef., S.Hasni., R.Belabbes., J-M.Bessiere., Modélisation du transfert de matière lors de l'extraction de l'huile essentielle des fruits de Coriandres, *Chemical Engineering Journal*, Vol.85, 2002, p 1-5.
- [86] Rachel POIROT., Méthodologie pour le passage en continu d'extraction de soluté à partir de matière végétale, Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de TOULOUSE, Spécialité: Génie des procédés et Environnement, 2007.
- [87] Khadija Rhayour., Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*, Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Spécialité : Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé, 2002.
- [88] E.Cassel., R.M.F.Vargas., Experiments and modeling of the *Cymbopogon winterianus* essential oil extraction by steam distillation, *Industrial Crops and Products*, Vol.50, N° 3, 2006, p 126-129.
- [89] E.Cassel., R.M.F.Vargas., N.Martinez., D.Lorenzo., E.Dellacassa., Steam distillation modeling for essential oil extraction process, *Industrial Crops and Products*, Vol.29, 2009, p 171-176.
- [90] C.Bourdillon., Notions de Base sur les Incertitudes et le Traitement des Données Expérimentales en Physique, Chimie, Biologie, 2001, p 7.
- [91] G.D.Kiran Babu., B.Singh., Simulation of *Eucalyptus cinerea* oil distillation: A study on optimization of 1.8-cineole production, *Biochemical Engineering Journal*, Vol.44, 2009, p 226-231.
- [92] J.Crank., *The mathematics of diffusion*, Second edition, CLARENDON PRESS, Oxford, England, 1975, p 17-18.
- [93] Daniel LEPADATU., Optimisation des procédés de mise en forme par approche couplée plans d'expériences, éléments finis et surface de réponse, Thèse de doctorat, Université d'ANGERS, Spécialité : Sciences de l'Ingénieur, 2006.
- [94] D.Mathieu., R.Phan-Thau-Luu., Planification d'expériences en formulation : criblage. *Techniques de l'ingénieur*, J 2240.
- [95] M.L.Ouzzar., W.Louaer., A.Zermane., A-H.Meniai., Comparison of the Performances of Hydrodistillation and Supercritical CO₂ Extraction Processes for Essential Oil Extraction from Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.), *Chemical engineering transactions*, Vol.43, 2015, p 1129-1134.

Résumé

L'objectif de cette étude est l'optimisation de l'extraction de l'huile essentielle des feuilles de Laurier noble algérien par hydrodistillation et l'interprétation des résultats obtenus dans un modèle mathématique.

Avant de procéder à l'optimisation, des expériences préliminaires ont montré que les feuilles de Laurier sont l'organe végétatif le plus riche en huile essentielle avec plus de 1 % d'essence.

Le séchage à l'ombre à température ambiante pendant 28 jours des feuilles de Laurier noble et la Sauge officinale n'a pas d'influence sur le rendement de l'extraction des deux plantes ; par contre la composition chimique des extraits est plus ou moins affectée.

Le criblage des paramètres tels que : la granulométrie, le débit de condensation et le rapport de masse par un plan factoriel complet 2^3 a montré que le débit de condensation est le paramètre le plus influençant sur la réponse.

L'influence de la durée de l'hydrodistillation, du débit de condensation, de la taille des particules et du rapport de masse sur le rendement de l'extraction et la composition chimique des essences extraites a été étudiée. Le temps et le débit de condensation sont les paramètres les plus influençant, par contre la granulométrie n'a pas d'effet chez Laurier, contrairement au Romarin, la diminution de la taille de particule a amélioré le rendement de l'hydrodistillation.

Une comparaison entre le rendement de l'hydrodistillation et celui du CO_2 supercritique a révélé que le rendement le plus élevé en essence du Romarin est obtenu avec cette dernière.

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de Laurier noble, de la Sauge et du Romarin ont montré que l'essence de Laurier est la plus active contre les souches bactériennes étudiées.

Le modèle diffusionnel a bien corrélé les données expérimentales du rendement en huile essentielles des feuilles de Laurier noble algérien, il a permis aussi d'estimer le coefficient de diffusion de l'huile essentielle des feuilles de cette plante.

Mots clés : Extraction par Hydrodistillation, Laurier noble, Huiles essentielles, Optimisation, Activité antibactérienne, Modèle diffusionnel.

Abstract

The aim of this study is to optimize the hydrodistillation of Algerian Laurel leaves essential oil and the interpretation of the obtained results into a model enabling the simulation of the extraction kinetics and the estimation of the essential oil diffusion coefficient.

Before proceeding to the optimization, preliminary experiments were realized to determine the richest vegetative organ in essential oil; the results showed that the bay leaves contain the most important quantity with more than 1 %.

After choosing the vegetative organ, the shade drying effect on the leaves of Laurel and Salvia was studied at the room temperature for 28 days, it revealed that this mode of drying has no influence on the extraction yield for both plants leaves, by against; the extracts chemical composition was more or less affected.

The process optimization began with the testing of application of a full factorial design 2^3 for screening parameters such as: the particle size, the flow condensation and the mass ratio. The design showed that the flow condensation is the most influencing parameter on the response.

In the following, the influence of the hydrodistillation process time, the flow condensation, the particle size and the mass ratio was studied on the extraction yield and the chemical composition of the extracted essences. The study showed that the time and the flow condensation are the most influencing parameters, however, the granulometry has no effect in the extraction of laurel leaves oil, but it influenced a lot in the case of rosemary leaves, decreasing the particle size has increased the hydrodistillation yield.

To complete the experimental work, the yield of the hydrodistillation was compared with that obtained with supercritical CO₂ for the extraction of rosemary essential oil in order to evaluate the hydrodistillation performance. This comparison showed that supercritical CO₂ gives the highest essential oil yield. And finally, the antibacterial activity of essential oils of Laurel, sage and rosemary was studied, and the results showed that the essence of Laurel is the most active against the bacterial strains studied.

For the hydrodistillation modeling, a diffusional model based on Fick's second law was used; this model correlates well the experimental data of the Algerian bay leaves essential oil yield, it also allowed to estimate its diffusion coefficient (D).

Keywords: Hydrodistillation extraction, Laurel, Essential oils, Optimization, Antibacterial activity, Diffusional model.

ملخص

الهدف الأساسي من هذه الدراسة هو تحسين مردود استخلاص الزيوت الأساسية من أوراق نبات الغار الجزائري عن طريق التقطير ببخار الماء، و ترجمة النتائج المتحصل عليها تجريبيا في نموذج رياضي محاكي لحركية الاستخلاص عن طريق التقطير. هذا النموذج يسمح لنا بتقدير معامل الانتشار (D) الخاص بالزيت الأساسي لنبات الغار الجزائري. تحسين أداء التقطير ببخار الماء يرتكز أساسا على دراسة تأثير معايير هذه الطريقة مثل حجم الجسيمات، تجفيف المادة النباتية، معدل التكثف، نسبة المادة النباتية إلى الماء و مدة الاستخلاص على كمية الزيت الأساسي المستخلص من جهة و تكوينه الكيميائي من جهة أخرى. قبل الشروع في تحسين المردود قمنا بتجارب أولية لاختيار العضو النباتي الأكثر غنا بالزيوت الطيارة من نبات الغار، و قد تبين لنا أن الأوراق هي العضو الأكثر احتواء على الزيوت الأساسية بنسبة فاقت 1%. بعد اختيار العضو النباتي، قمنا بدراسة تأثير التجفيف في الظل و في درجة حرارة الغرفة لمدة 28 يوما على أوراق الغار و أوراق المريمية بهدف مقارنة التأثير، و قد تبين لنا أن هذا النمط من التجفيف ليس له تأثير كبير على مردود التقطير لكلتا النباتين في حين يؤثر نوعا ما على التكوين الكيميائي للزيوت الأساسية المستخلصة.

تحسين المردود تم أولا بتطبيق تصميم التجارب بهدف الفحص، هذا التصميم من نوع factoriel 2^3 complet يحتوي على 3 معايير هي: حجم الجسيمات، معدل التكثف و نسبة المادة النباتية إلى الماء، و قد تبين أن معدل التكثف هو المعيار الأكثر تأثيرا.

بعد ذلك قمنا بدراسة تأثير مدة الاستخلاص، معدل التكثف، حجم الجسيمات و نسبة المادة النباتية إلى الماء على كمية الزيت المستخلص و تكوينه الكيميائي بتثبيت كل المعايير و تغيير المعيار المراد دراسته، و قد تبين أن المدة و معدل التكثف هما المعياران الأكثر تأثيرا، في حين حجم الجسيمات لم يؤثر عند نبات الغار و لكن كان له تأثير كبير عند نبات إكليل الجبل، فكلما أنقصنا في حجم الجسيمات كان المردود كبيرا. و بمقارنة مردود التقطير ببخار الماء بمردود الاستخلاص بثاني أكسيد الكربون في حالته فوق الدرجة المعلن عنه في نشرية علمية سابقة تبين لنا أن طريقة الاستخلاص الثانية تعطي المردود الأفضل من الزيت الطيار لنبات إكليل الجبل. في نهاية العمل التجريبي قمنا بدراسة النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية لنبات الغار، المريمية و إكليل الجبل و قد أوضحت النتائج أن زيت نبات الغار هو الأكثر نشاطا ضد البكتيريا المستعملة.

في الأخير، اخترنا تطبيق نموذج الانتشار المرتكز على القانون الثاني لفيك لأنه يعطي محاكاة قريبة لظواهر نقل المادة التي تحدث أثناء التقطير بالماء للزيت الأساسي لنبات الغار الجزائري، و قد مكنا هذا النموذج من تقدير معامل الانتشار (D) الخاص بالزيت الطيار لأوراق هذه النبتة.

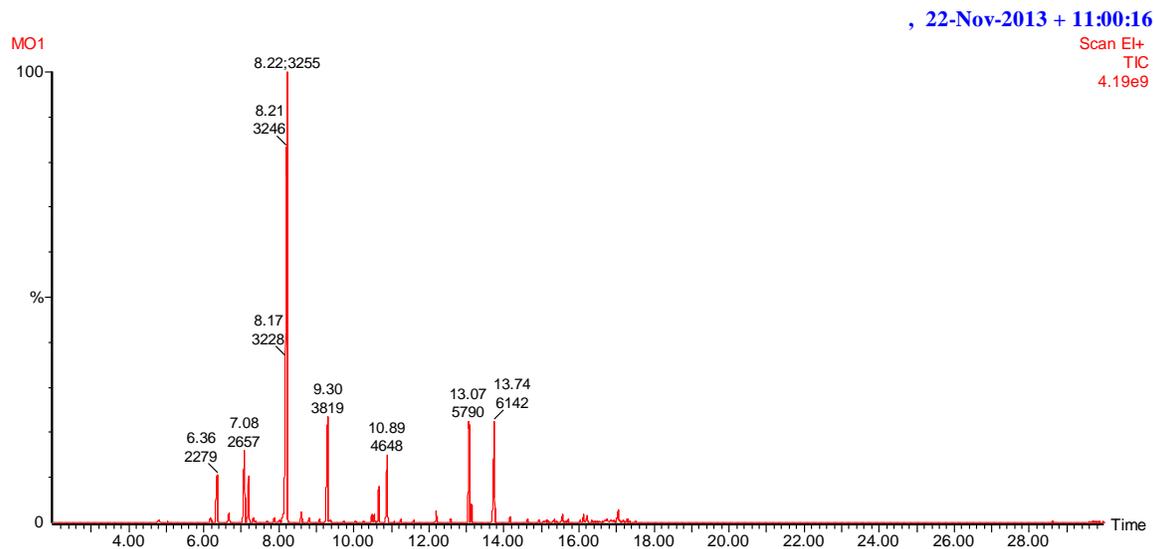
كلمات البحث: الاستخلاص عن طريق التقطير، نبات الغار، الزيوت الأساسية، تحسين المردود، النشاط المضاد للبكتيريا، نموذج الانتشار.

Exemple d'Analyse Chromatographique GC/MS

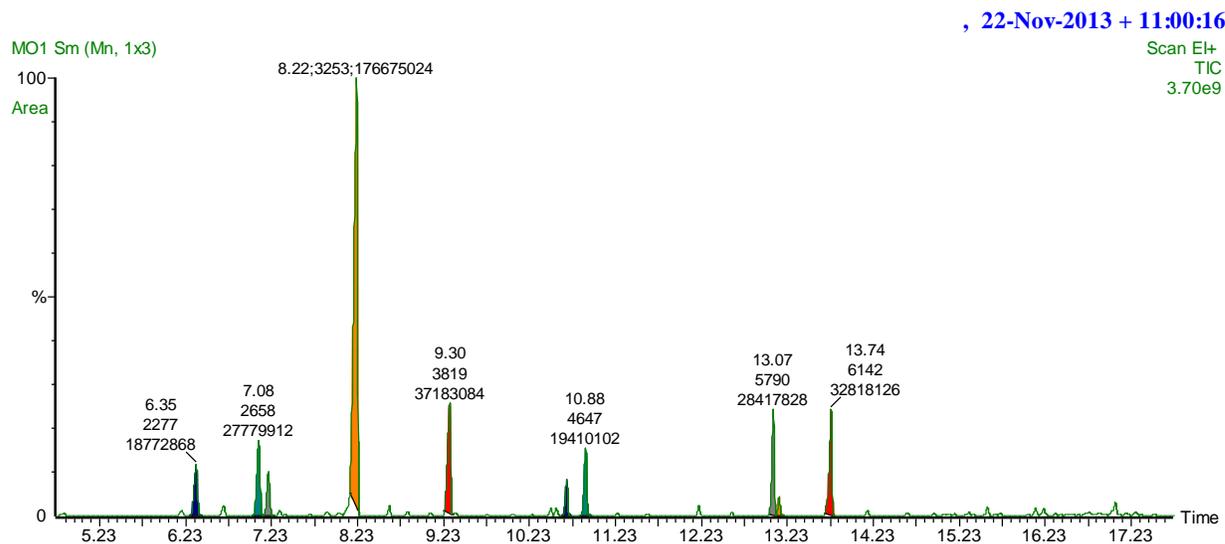
Effet du séchage

Echantillon n° 1 : Le jour de la récolte

Chromatogramme

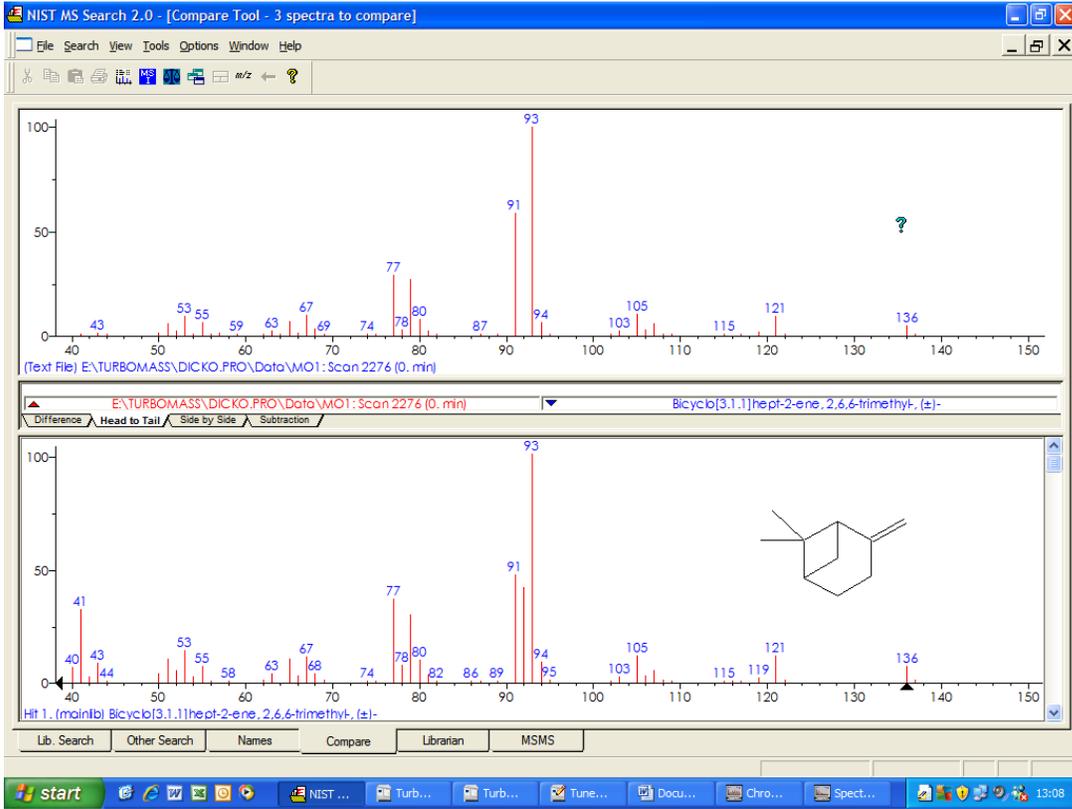


Agrandissement

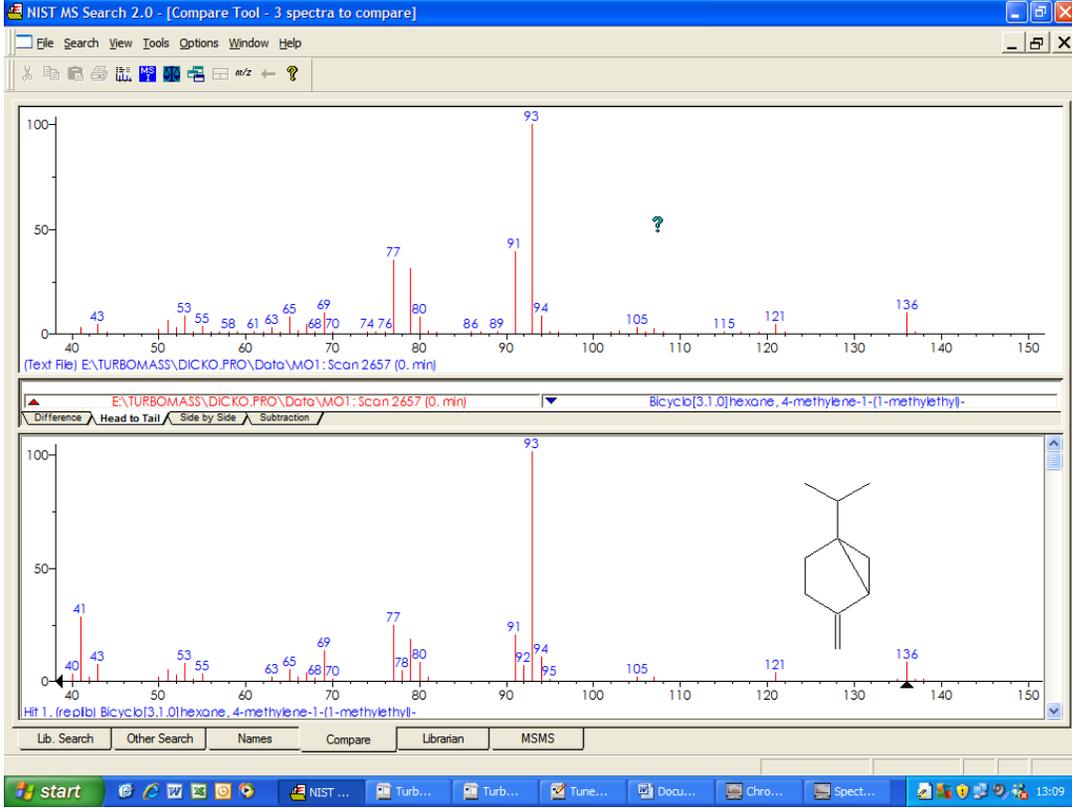


Spectres de masse

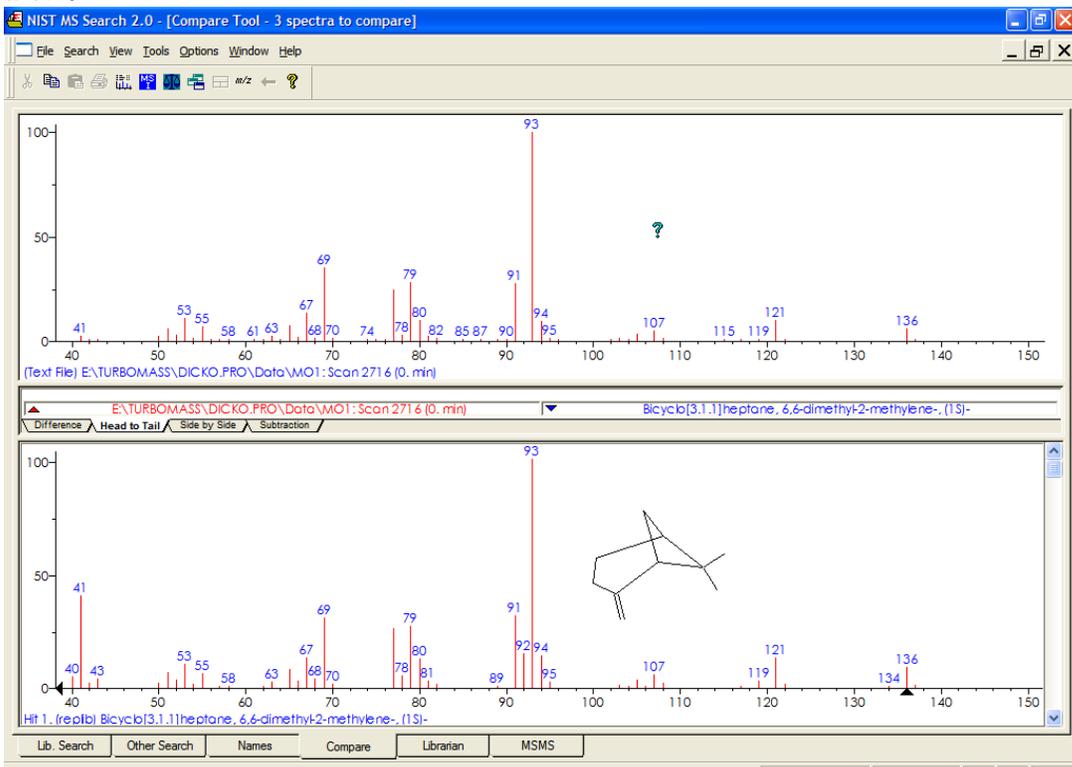
t : 6.35 min



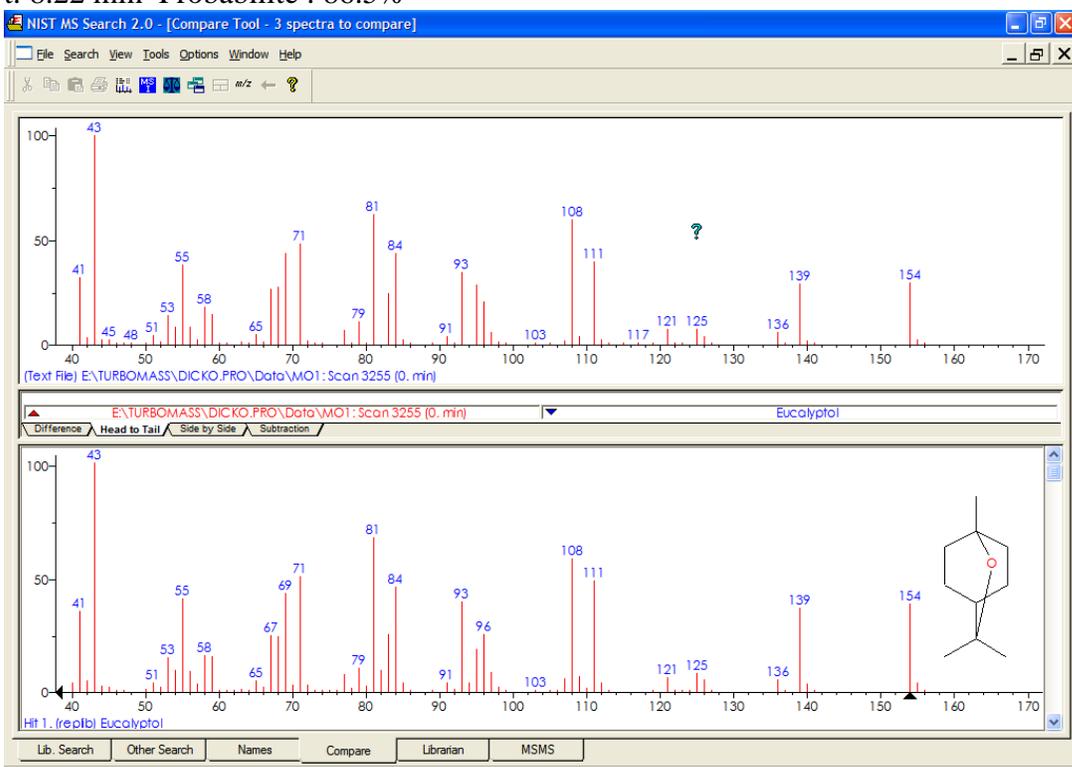
t : 7.08



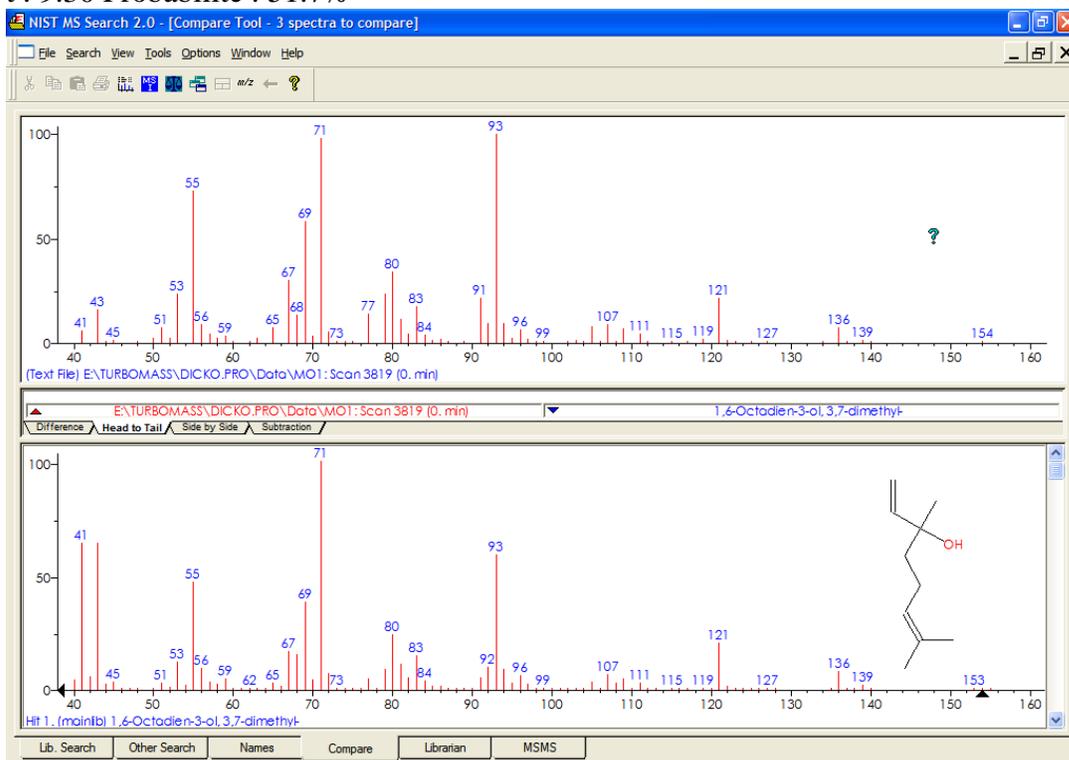
t: 7.19



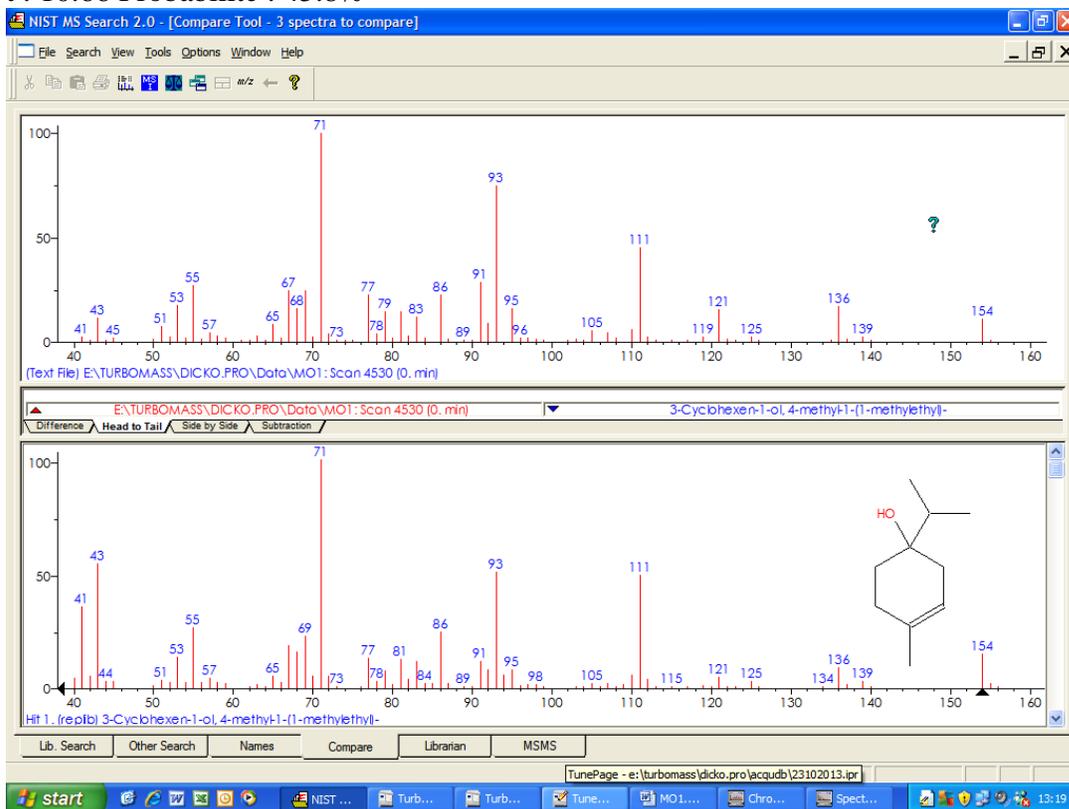
t: 8.22 min Probabilite : 86.5%



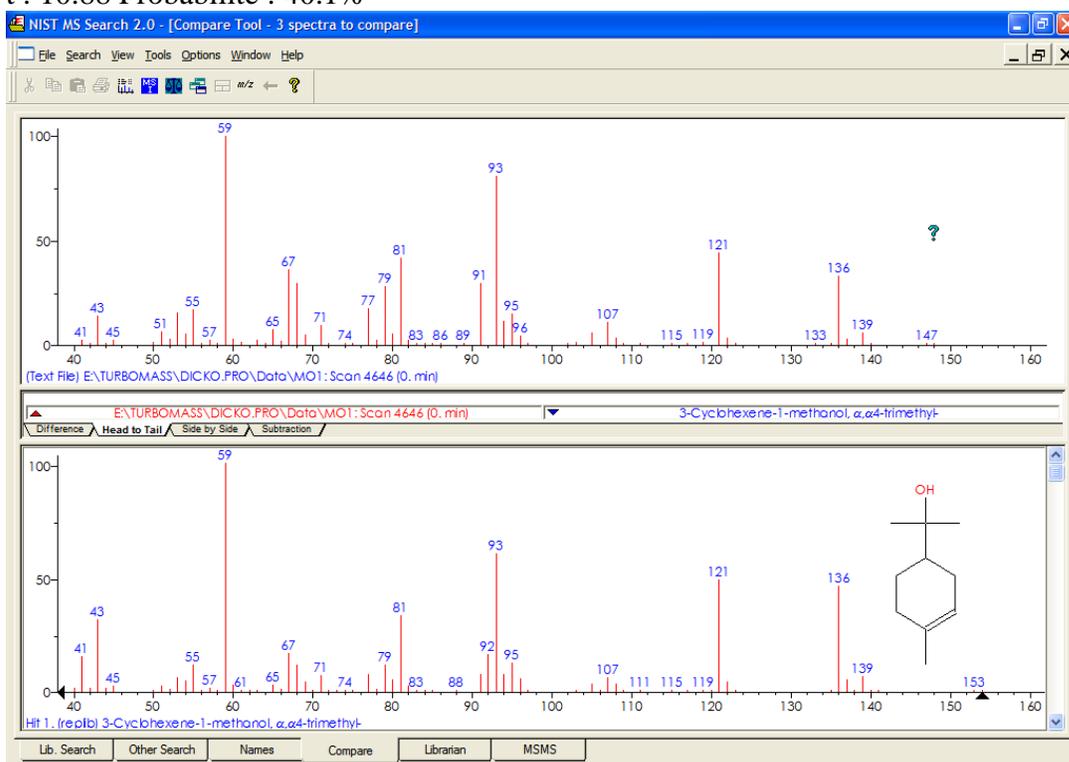
t : 9.30 Probabilite : 51.7%



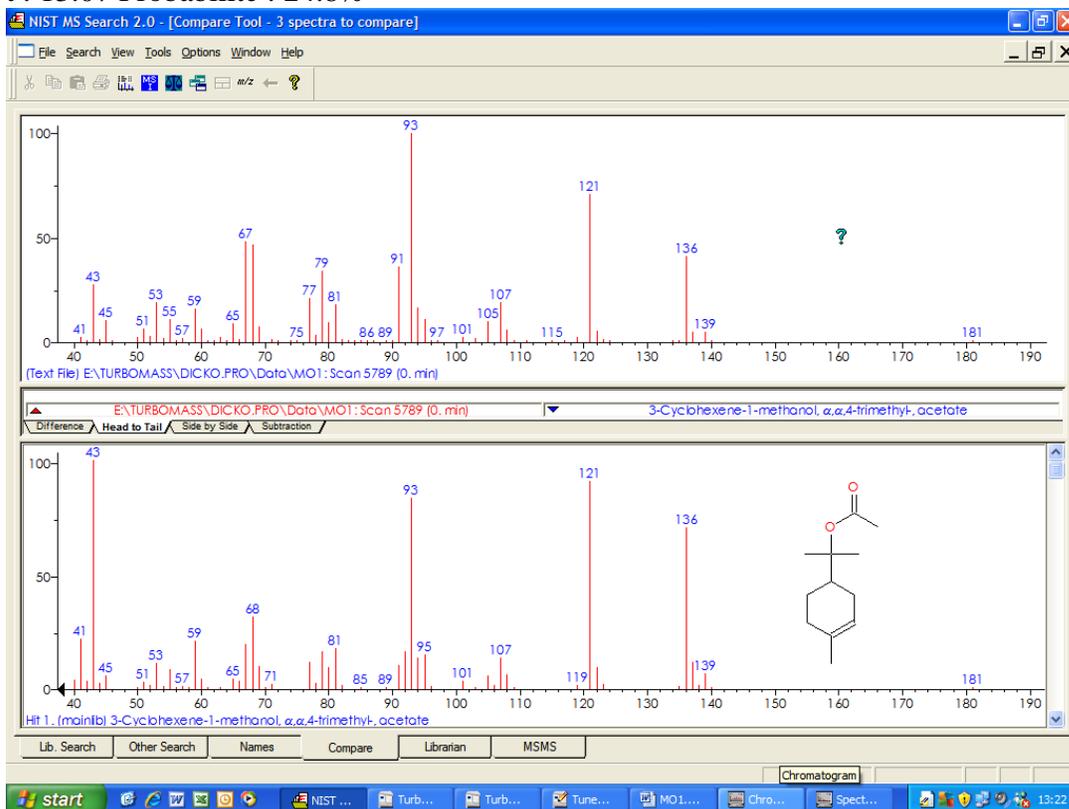
t : 10.66 Probabilite : 45.8%



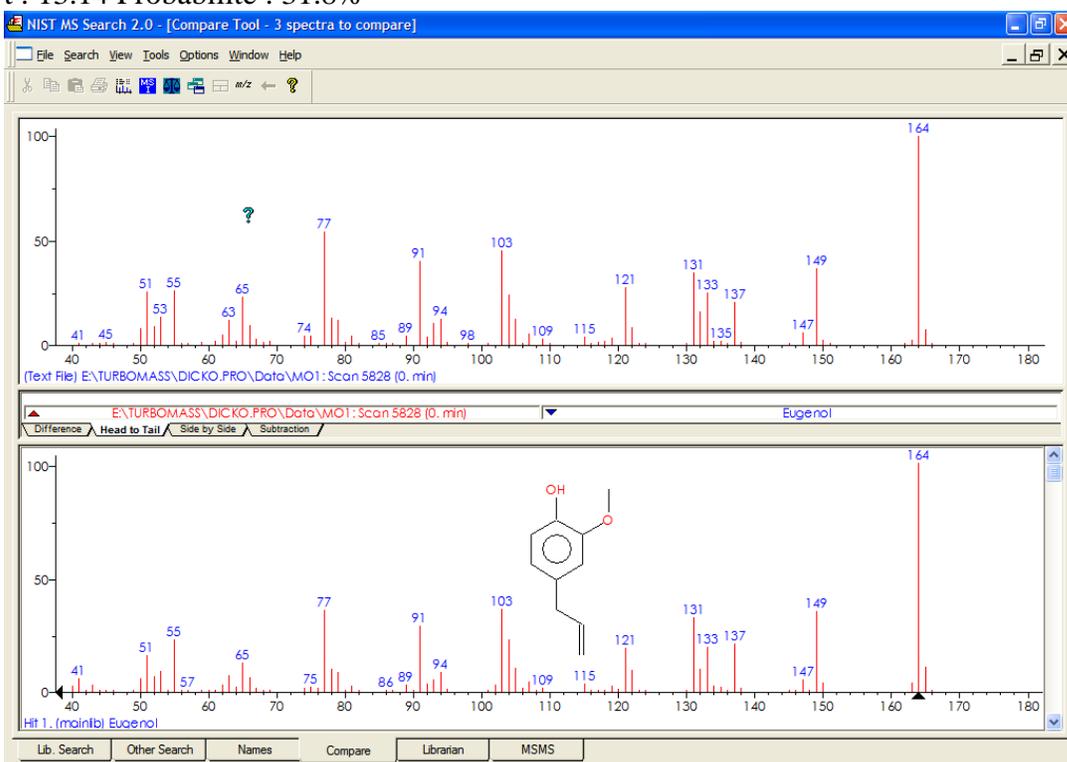
t : 10.88 Probabilite : 40.1%



t : 13.07 Probabilite : 24.8%



t : 13.14 Probabilite : 31.8%



t : 13.75 Probabilite : 77.5%

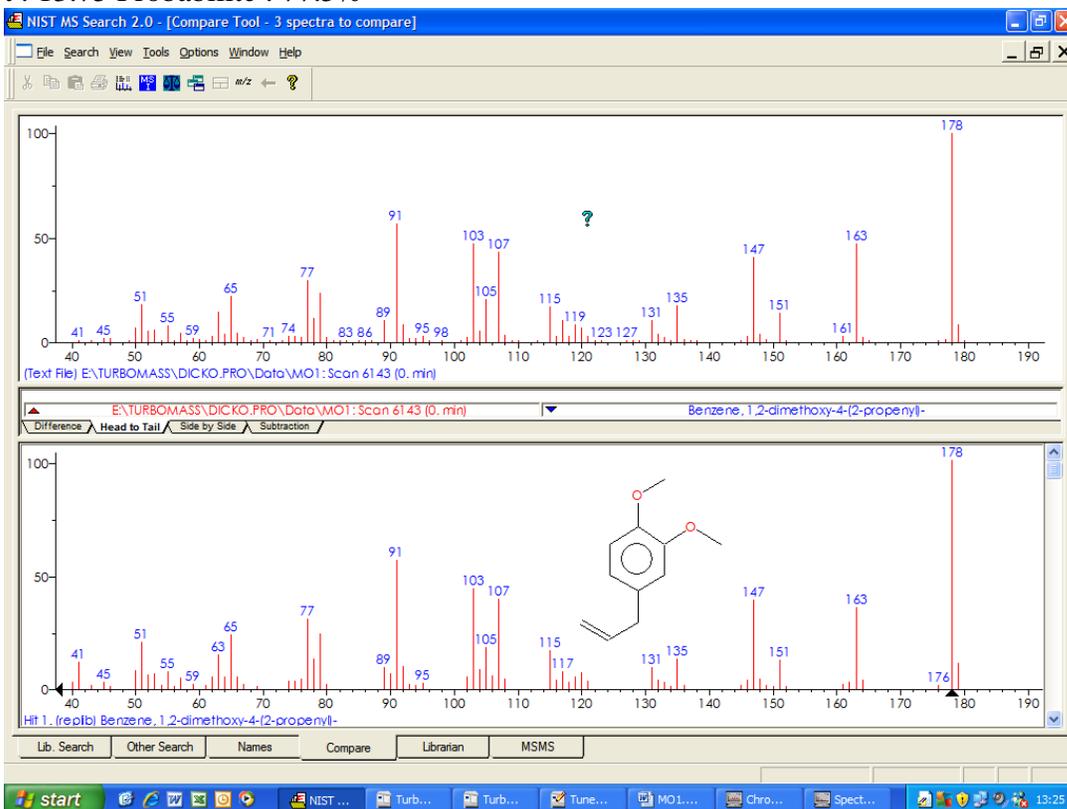


Tableau des aires

PIC	AIRE	POURCENTAGE
6.35	18772868	5.094
7.08	27779912	7.539
7.17	14095228	3.824
8.18	176675024	47.948
9.27	37183084	10.089
10.65	9106075	2.467
10.86	19410102	5.267
13.05	28417828	7.712
13.12	4230903	1.148
13.72	32818126	8.906
SOMME	349716282	99.994

1. Dispositif de l'extraction

Montage d'hydrodistillation utilisé (**Clevenger**)



Figure A. 2 : Montage d'hydrodistillation utilisé dans l'extraction (Witeg NS29.2/32).

2. Mesure de l'épaisseur de la feuille de Laurier noble

La mesure de l'épaisseur a été effectuée à l'aide d'un pied à coulisse digital de la marque **Fisher Scientific** montré sur la photo ci-dessous :



Figure A. 1 : Pied à coulisse Fisher Scientific.

La valeur moyenne de l'épaisseur est de : $L = 0.000236$ m

Résolution du problème de Storm Liouville

Méthode de séparation des variables

$$\frac{\partial^2 C_A}{\partial x^2} = \frac{1}{D} \frac{\partial C_A}{\partial t} \quad 0 \leq x \leq L \quad (1)$$

La concentration du soluté varie en fonction du temps (t) et de la position dans la particule (x). La forme de la solution de l'équation (1) est supposée comme étant le produit de deux fonctions à variables séparées (x) et (t).

$$C_A(x, t) = V(x) \cdot W(t) \quad (2)$$

En faisant la dérivée première de (2) par rapport au temps (t) et la dérivée seconde par rapport aux coordonnées spatiales (x).

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} = V(x) \frac{\partial W}{\partial t} \quad (3)$$

$$\frac{\partial^2 C_A}{\partial x^2} = W(t) \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} \quad (4)$$

En remplaçant (3) et (4) dans (1), on obtient

$$W(t) \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = \frac{1}{D} V(x) \frac{\partial W}{\partial t} \quad (5)$$

$$\frac{1}{V(x)} \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = \frac{1}{D} \frac{1}{W(t)} \frac{\partial W}{\partial t} \quad (6)$$

$$\frac{V''}{V} = \frac{1}{D} \frac{W'}{W} \quad (7)$$

Comme il s'agit de deux variables (x) et (t) indépendantes, les expressions dans chaque membre de droite et de gauche ne peuvent être égales que si elles sont égales à une constante arbitraire (k).

$$\frac{V''}{V} = \frac{1}{D} \frac{W'}{W} = k \quad (8)$$

Ce qui nous permet d'écrire les deux équations ci-dessous

$$\frac{\partial^2 V}{\partial x^2} \frac{1}{V(x)} = k \Rightarrow \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} - kV(x) = 0 \quad (9)$$

$$\frac{\partial W}{\partial t} \frac{1}{DW(t)} = k \Rightarrow \frac{\partial W}{\partial t} - kDW(t) = 0 \quad (10)$$

L'équation (9) correspond à une équation ordinaire du second ordre du type :

$$V'' - kV(x) = 0$$

Sa solution est de la forme :

$$\begin{cases} V(x) = ax + b & \text{si } k = 0 & (i) \\ V(x) = C_1 e^{\sqrt{k}x} + C_2 e^{-\sqrt{k}x} & \text{si } k > 0 & (ii) \\ V(x) = A \cos \sqrt{k}x + B \sin \sqrt{k}x & \text{si } k < 0 & (iii) \end{cases}$$

En utilisant les conditions aux limites, on obtient

$$\begin{cases} \text{à } x = 0, C_A = 0 \Rightarrow C_A(0, t) = V(0).W(t) = 0 \\ \text{à } x = L, C_A = 0 \Rightarrow C_A(L, t) = V(L).W(t) = 0 \end{cases} \Rightarrow V(0) = V(L) = 0 \quad \forall t$$

$$(i) \Rightarrow \begin{cases} V(0) = a \cdot 0 + b = 0 \Rightarrow b = 0 \\ V(L) = aL + 0 = 0 \Rightarrow a = 0 \end{cases} \Rightarrow V(x) = 0 \quad \forall x \Rightarrow \text{Solution inacceptable.}$$

$$(ii) \Rightarrow \begin{cases} V(0) = C_1 e^{\sqrt{k} \cdot 0} + C_2 e^{-\sqrt{k} \cdot 0} = 0 \Rightarrow C_1 + C_2 = 0 \Rightarrow C_1 = -C_2 \\ V(L) = -C_2 e^{\sqrt{k}L} + C_2 e^{-\sqrt{k}L} = 0 \Rightarrow C_2 = 0 \Rightarrow C_1 = C_2 = 0 \end{cases} \Rightarrow V(x) = 0 \quad \forall x$$

Solution inacceptable.

$$(iii) \Rightarrow \begin{cases} V(0) = A \cos \sqrt{k} \cdot 0 + B \sin \sqrt{k} \cdot 0 = 0 \Rightarrow A = 0 \\ V(L) = B \sin \sqrt{k}L = 0 \Rightarrow B = 0 \text{ ou } \sin \sqrt{k}L = 0 \end{cases}$$

$$\text{Or } k = -p^2 < 0$$

$$B \neq 0 \Rightarrow \sin \sqrt{k}L = 0 \Rightarrow \sqrt{k}L = n\pi \Rightarrow \sqrt{k} = \frac{n\pi}{L} \quad \text{Avec } n = 1.2.3\dots$$

Donc l'expression de la solution pour V(x) se réduit à :

$$V(x) = B \sin \frac{n\pi}{L} x \quad (11)$$

L'équation (10) correspond à une équation ordinaire du premier ordre du type :

$$W' - DkW(t) = 0$$

Sa solution est donnée par :

$$W(t) = C e^{Dkt} \Rightarrow W(t) = C e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t} \quad (12)$$

En remplaçant (11) et (12) dans (2), on obtient

$$C_A(x, t) = \sum_{n=1}^{\infty} A_n \cdot \sin\left(\frac{n\pi}{L} x\right) \cdot e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t} \quad (13)$$

Avec $A_n = B \cdot C$

- Calcul des coefficients A_n

En utilisant la condition initiale, on obtient

à $t = 0, C_A = C_{A0}$

$$C_A(x, 0) = C_{A0} = \sum_{n=1}^{\infty} A_n \cdot \sin\left(\frac{n\pi}{L} x\right) = f(x) \quad (14)$$

La fonction (14) nous permet de calculer les coefficients A_n selon les formules connues d'Euler, pour les fonctions périodiques.

$$A_n = \frac{1}{L} \int_{-L}^L f(x) \cdot \sin\left(\frac{n\pi}{L} x\right) dx \Rightarrow A_n = \frac{2}{L} \int_0^L f(x) \cdot \sin\left(\frac{n\pi}{L} x\right) dx$$

$$A_n = \frac{2}{L} \int_0^L C_{A0} \cdot \sin\left(\frac{n\pi}{L} x\right) dx \Rightarrow A_n = \frac{2C_{A0}}{L} \left[-\frac{L}{n\pi} \cos\left(\frac{n\pi}{L} L\right) - \left(-\frac{L}{n\pi} \cos\left(\frac{n\pi}{L} 0\right) \right) \right]$$

$$A_n = \frac{2C_{A0}}{L} \left[-\frac{L}{n\pi} \cos n\pi + \frac{L}{n\pi} \right]$$

Si n est un nombre pair

$$A_n = \frac{2C_{A0}}{L} \left[-\frac{L}{n\pi} (1) + \frac{L}{n\pi} \right] = 0 \Rightarrow A_n = 0 \text{ Solution non acceptable.}$$

Si n est un nombre impair

$$A_n = \frac{2C_{A0}}{L} \left[-\frac{L}{n\pi} (-1) + \frac{L}{n\pi} \right] \Rightarrow A_n = \frac{4C_{A0}}{n\pi} \quad (15)$$

Avec $n = 2m + 1$

En remplaçant (15) dans (13), L'équation devient alors :

$$C_A(x, t) = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{4C_{A0}}{n\pi} \cdot \sin\left(\frac{n\pi}{L}x\right) \cdot e^{-D\left(\frac{n\pi}{L}\right)^2 t} \quad (16)$$

L'équation (16) représente la solution du problème de **Sturm Liouville**.