

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement et de la recherche scientifique



Université Dr Moulay Tahar de Saida

Faculté des SCIENCES

Département de CHIMIE

Mémoire de : FIN D'ETUDE

Filière : CHIMIE ORGANIQUE

Spécialité: CHIMIE

Thème

CARACTERISATION PAR INFRA ROUGE DE DEUX HUILES ESSENTIELLES EXTRAITES

Présenté par : BOUAMAMA FATIHA

Évalué le : 16 / 05 /2014

Devant le jury composé de :

President

Examineur M^{elle}.A.Mostfai M.C.A Univ.Saida

Examineur Mr M.Zbida M.A.A Univ.Saida

Encadreur M^{me}.M.Chabani M.A.A Univ.Saida



Dédicaces

Je rends Grace à l'Éternel Dieu de son Amour et de sa protection durant ma formation et lors de la réalisation de ce travail de fin d'étude.

A mon mari Amer

A mes filles Nessrin et Nour el Houda

A mes parents Pour tout ce qu'ils font a mon égard, pour leurs soutiens et leurs encouragements, et surtout d'avoir croire en moi.

A mes frère et sœurs

A tous mes amis

A tout Ce qui m'a apporter d'une manière ou d'une autre quelque chose dans ma vie.

A tous ceux que j'ai oubliés, je m'en excuse et que je remercie aussi.

Fatiha



Remerciements

*Je souhaite remercier tout particulièrement mon encadreur Madame **Chabani Malika** pour son aide, sa disponibilité, ses bons conseils qu'elle m'a toujours prodigué.*

*Je tiens à exprimer mes plus vives remerciements à Madame **Mostefai Asma** pour l'honneur qu'elle m'a fait d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*Je tiens à remercier vivement M. **Zbida Mourad** pour l'honneur qu'il m'a fait d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail*

Liste des abréviations

HD :	Hydro distillation
HE :	Huile Essentielle
IR :	Infra Rouge
IA :	Indices d'Acide
IE :	Indice d'Ester
VIH :	Virus d'Immunodéficience Humaine
CM :	Centimètre
% :	Pourcentage

SOMMAIRE

Introduction généralité

Chapitre I : Etude Bibliographique

I. Introduction.....	1
I.1.Généralités sur le thym.....	1
I.1.1.Historiques du thym	2
I.1.2.Habitat et origine.....	2
I.1.3 Culture.....	3
I.1.4.Présentation de plante.....	4
I.1.5 .Utilisation.....	5
I.1.5 .a. En culinaire.	5
I.1.5 .b.En médecine.....	5
II.1.Généralités sur le romarin.....	6
II.1.1 Historiques du romarin.....	6
II.1.2 Habitat et origine.....	7
II.1.3. Culture.....	8
II.1.4 Présentation de plante.....	9
II.1.5.Utilisation.....	10
II.1.5.a. En culinaire.....	11
II.1.5 .b.En médecine.....	11
II.1.5 .b.1.voie externe.....	11
II.1.5.b.2.voie interne.....	12
II.1.5.c. En alimentation.....	12

Chapitre II : Partie Expérimentale

I. Généralités sur les huiles essentielles	13
I.1 Introduction.....	13
I.2 Définition des huiles essentielles	13

I. 3.composition chimique.....	13
I.4 propriété physico chimique.....	14
I.4.1. propriété physique.....	14
I.4.1.a. Indice de réfraction.....	14
I.4.1.b. Pouvoir rotatoire.....	14
I.4.1.c. Densité.....	14
I.4.2. propriété Chimique.....	15
I.4.2.a. . Indice d'acide	15
I.4.2.b. . Indice d'ester.....	15
I.4.2.c. . Indice de phénol.....	15
I. 5 l'origine géographique.....	15
I. 6 Utilisation.....	16
I. 6.1Usage externe.....	16
I. 6.2Usage interne.....	16
I. 7 méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	16
I.7.1. La distillation à la vapeur d'eau.....	17
I.7.2. L'hydro distillation.....	18
I.7.3. L'enfleurage.....	18
I.7.4. L'expression	19
I.7.5. L'extraction par solvant.....	20
I.7.6 La technique du CO2 Supercritique.....	20
I.8. Identification de la molécule active.....	20
I.8.1.Principe actif du Thym	20
I.8.1.Principe actif du Romarin	21
II. Mode opératoire	21
II.1. L'extraction par hydro distillation du Thym.....	21
II.2. L'extraction par hydro distillation du Romarin.....	23
II.2.1Calcul du rendement de huile essentielles.....	23
II.3.Résultats et discussion.....	24
III. Conclusion.....	24

Chapitre III: Caractérisation des huiles essentielles extraites

I. Introduction.....	25
II. Spectroscopie Infra Rouge.....	25
III. Interprétation des spectres	25
III.1.Spectroscopie Infra Rouge d’huiles essentielles extraites du Thym.....	25
III.2 .Spectroscopie Infra Rouge d’huiles essentielles extraites du Romarin.	27
III3.Conclusion.....	28

Conclusion générale

Références bibliographiques

INTRODUCCION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Depuis longtemps l'homme reconnaît et utilise les plantes pour se nourrir et pour traiter diverses maladies. Les vertus thérapeutiques des plantes ont été expérimentées. Les remèdes de bonne réputation ont prévalu malgré le développement de la médecine moderne qui est venue marginaliser le recours aux techniques médicales naturelle.

Connaître une plante ayant des vertus médicinales suppose pouvoir décrire sa morphologie et son anatomie, connaître son origine et son mode d'action, apprécier l'incidence de ceux-ci sur sa qualité, analyser sa composition chimique et les facteurs qui peuvent la faire varier, connaître la structure et les propriétés des principes actifs aussi bien que leur activité pharmacologique, savoir apprécier la qualité par des éléments objectifs et mettre en œuvre des méthodes pour la contrôler.

Et enfin d'appréhender tous les problèmes liés à l'utilisation des plantes et des produits qui sont issus.

Le thym et le romarin sont les plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde, Les extraits des huiles essentielles de ces plantes sont largement utilisés, dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles contre une multitude de maux. Aujourd'hui, les deux plantes sont entrées dans la médecine moderne.

L'objectif de notre travail est d'extraire deux huiles essentielles, de calculer leurs rendement, le comparer à celui de la littérature afin de trouver des conditions optimales pour la culture de telles plantes.

Le plan de rédaction de ce mémoire est présenté comme suite :

- Une introduction générale.
- Le premier chapitre est réservé à une étude bibliographique sur les plantes.
- Le deuxième chapitre est consacré aux généralités sur les huiles essentielles. Et à une étude expérimentale par hydro distillation de la partie.
- Le troisième chapitre est préservé à la caractérisation des deux huiles essentielles extraites par Infra Rouge
- En fin une conclusion générale qui résume les résultats de notre travail

CHAPITRE I

Etude Bibliographique

I. INTRODUCTION

Les plantes produisent naturellement des substances actives permettant de se protéger, des maladies ou d'attaques extérieures. De celles-ci ont été tirées les huiles essentielles.

Il existe à l'heure actuelle un intérêt croissant pour les produits à base de plantes.

I.1. Généralités sur le Thym

Thymus est un genre de plante couramment appelées thym ou serpolet de la famille des Lamiacées, Ce genre comporte plus de 300 espèces, Ce sont des plantes rampantes ou en coussinet portant de petites fleurs rose pâle ou blanches. Ces plantes sont riches en huiles essentielles et à ce titre font partie des plantes aromatiques.

La principale huile essentielle de Thymus vulgarise est un terpénoïde qui lui doit son nom, Dans le sud de la France, le thym est aussi fréquemment appelé farigoule.

Le thymol et le carvacrol sont les composants principaux, ainsi que le para-Clyméné, le 1,8-cinéol (eucalyptol), le linalol et d'autres mono terpènes, tri terpènes, flavonoïdes.

Le thym est très résistant. Il a besoin de soleil et pousse à l'état sauvage sur les collines arides et rocailleuses des régions méditerranéennes. Le thym peut reproduire par semis ou par division de racines, marcottage, ou bouturage. Les plantations s'effectuent tous les 30 cm. À chaque printemps, il est préférable d'engraisser la terre avec de l'engrais ou de la poudre d'os et de couper la plante de moitié pour favoriser l'apparition de nouvelles pousses. Par contre, il ne faut pas mettre de l'engrais durant l'été car cet apport excédentaire de vitamines rend la plante fragile à l'époque des gelées, Pour la culture en pot, utilisez une terre poreuse, Comme il déteste les terres humides, installez-le dans un endroit surélevé par rapport à l'allée, afin que l'eau s'écoule, Il peut pousser jusqu'à 1 500 à 2 000 mètres d'altitude [1].

Il faut renouveler les plants tous les trois ans sinon la tige devient trop ligneuse et les feuilles perdent leur goût et caractéristiques.

I.I.1.Historique du thym

Depuis plus de 12 000 ans, le thym fait partie de la vie quotidienne des humains, tant pour ses usages médicinaux et cosmétiques que culinaires.

Les Sumériens et les Égyptiens de la haute Antiquité l'utilisaient pour embaumer leurs morts. Chez les Romains, on faisait brûler du thym pour purifier l'air et éloigner les animaux nuisibles. On s'en servait aussi pour aromatiser fromages et boissons alcooliques. Les militaires en mettaient dans leur bain pour se donner de la vigueur. Au Moyen Âge, le thym était réputé pour donner du courage aux chevaliers.

En Europe, le thym compte encore parmi les plantes les plus fréquemment recommandées contre la toux et l'inflammation des voies respiratoires [2].

I.I.2.Habitat et Origine

Le thym petit arbrisseau ne dépassant pas une trentaine de centimètres de hauteur, le thym est une Plante vivace, arbustive, originaire des maquis, garrigues et rocailles du bassin méditerranéen, aujourd'hui répandue un peu partout sous les Climats tempérés qui connaissent des hivers doux, La plante aime le plein soleil et tolère modérément la sécheresse. Sous les climats plus nordiques, on la traite comme une annuelle que l'on cultive par semis ou par bouturage, car elle ne résiste pas aux hivers rigoureux [3].

I.I.3 .Culture

En agriculture , la propagation ou multiplication du thym se fait au printemps, Cette production se développe également par semis, dans ce cas, les semences prennent deux à trois semaines à lever, la croissance est rapide et le repiquage s'effectue deux mois après, avec un espace de 25 à 30 cm entre les plants, la division des touffes et des racines ainsi que le bouturage et le marcottage sont d'autres techniques culturales appropriées. On évitera les engrais durant l'été qui risqueraient, par un apport excédentaire, de rendre la plante trop fragile à l'époque des gelées, et les arrosages d'appoint. On pourra pailler avec des pierres plutôt qu'avec de la matière organique, ce qui augmentera la chaleur à son pied et réduira les risques de pourriture. On devra aussi penser à couper la plante de moitié au printemps pour favoriser l'apparition de nouvelles pousses. On pourrait aussi les semer au printemps en rang et les éclaircir à 15 cm. Il est conseiller de renouveler, de faire une bouture ou de marcotter les plants tous les trois ans sinon la tige devient trop ligneuse et les feuilles perdent leur arôme.

Pour une culture intérieure, le thym a besoin d'au moins 5 heures de soleil par jour ou de 12 heures de lumières artificielles. Le terreau devra être constitué de compost, de gros sable et de morceaux de calcaire. On attendra que la terre devienne sèche avant de procéder à l'arrosage. On peut alors utiliser son thym de façon régulière, sinon tailler les extrémités chaque mois. Les tiges sont réunies en bouquets, qui sont suspendus, l'inflorescence en bas dans des locaux chauds, secs, aérés et ombragés. Après séchage complet, on procède au battage sur une toile cirée pour détacher les feuilles des branches. On conserve ensuite la plante dans un contenant hermétique, en évitant les matières plastiques pour éviter une perte des huiles essentielles par absorption par le plastique.

On peut la cultiver en compagnonnage avec la lavande avec lequel il forme une excellente équipe. [4]

I.I.4.Présentation de plante



Photo des feuilles, et des fleurs du Thym

Nom : Thymus, Broussonet.

Famille : Des Labiées.

Drogue : Tige fleurie.

L'HE de thym : Renferme 50% de Thymol ou de Carvacrol.

I.I.5.Utilisations

Le thym est utilisé comme aromate en cuisine et comme plante médicinale, dans les tisanes. En tisane, il sert à soigner les infections respiratoires. Une tisane de thym est également efficace pour drainer le foie, ce qui fait qu'il est recommandé par la naturopathie pour les personnes subissant une chimiothérapie, traitement très destructeur pour le foie .C'est aussi un excellent calmant.

I.I.5.a. En Culinaire

Le thym est une plante condimentaire très utilisée en particulier dans la cuisine provençale et rurale. Avec le laurier le persil le romarin, l'origan, il fait partie du bouquet garni qui relève de nombreuses recettes de viande en sauce

I.I.5.b. En médecine

Le thym est un antiseptique et il a des propriétés antivirales. Il est aussi stomachique, expectorant et antispasmodique. En aromate ou en infusion, c'est un désinfectant des voies digestives souvent utilisé en association avec le romarin et la sauge. Le thym soulage les digestions difficiles. L'infusion de thym peut s'utiliser en bain de bouche en cas d'inflammation des gencives et en gargarisme en cas d'irritation de la gorge ou d'angine.

Le thym ou les préparations contenant du thym s'utilisent en fumigation pour traiter les rhinites et les sinusites. Le thym peut être également utilisé pour fabriquer des liqueurs particulièrement parfumées quand elles sont à base de fleurs ramassées.

[5]

II.1.Généralités sur le Romarin

Le romarin est un arbrisseau de la famille des Labiées, répandu sur toutes les rives de la méditerranée [4]. Il est dominant dans les communautés arbustives post-feu, principalement dans les sols calcaires. Il s'agit d'un germe à semences obligatoire et à floraison abondante. Son caractère ensoleillé et son effort de reproduction élevé lui permettent de coloniser les paysages découverts [5]

Le romarin fait l'objet de très nombreuses mentions historiques et légendaires.

Les Anciens Grecs lui vouaient une grande vénération. On s'en servait généreusement dans toutes les fêtes, qu'il s'agisse de cérémonies nuptiales, funéraires ou de célébrations profanes. Les mariées portaient des couronnes de romarin, symboles d'amour et de fidélité, tandis que les invités recevaient des branches enjolivées de rubans de soie multicolores. On mettait aussi des brins de romarin sous les oreillers pour chasser les mauvais esprits et les cauchemars.

Les Égyptiens plaçaient des rameaux de romarin dans la tombe des pharaons afin de fortifier leur âme. Le romarin est un symbole du souvenir et de l'amitié. Les étudiants grecs s'en confectionnaient des couronnes, qu'ils portaient durant les examens pour stimuler leur mémoire.

Les Romains considéraient également le romarin comme une plante sacrée, comme l'atteste le poète Horace dans ces vers : "Si tu veux gagner l'estime des dieux, apporte leur des couronnes de romarin et de myrte".

Durant les épidémies de peste, le romarin était très populaire. On en faisait brûler des rameaux pour purifier l'air et on portait des sachets sur soi, que l'on respirait lorsqu'on passait dans les endroits touchés par cette terrible maladie.

II.1.1.Historique du Romarin

L'histoire veut aussi que la reine de Hongrie, qui souffrait de rhumatismes chroniques, ait été délivrée de ses problèmes grâce à un remède à base de romarin lorsqu'elle était âgée de 72 ans. Dans certaines régions rurales, on fait tremper du romarin pour obtenir une boisson fortifiante. On utilise aussi le romarin sous forme d'extrait à base d'alcool pour la plaie et sous forme d'onguent ou de baume pour

soulager les rhumatismes et les névralgies, tant chez les humains que chez les animaux.

Ajouté à l'eau d'un bain, le romarin stimule la circulation sanguine. Des recherches récentes [6] ont démontré que l'huile de romarin avait certaines propriétés antibactériennes. On dénombre plus de 150 variétés de romarin. Elles se différencient par leur taille maximale (d'une dizaine de centimètres à 2 mètres), leur tenue (vertical ou rampant), la couleur de leurs fleurs (violette, bleue, blanche, rose) et de leurs feuilles.

II.1.2. Habitat et Origine

Plante vivace, arbustive, originaire des maquis, garrigues et rocailles du bassin méditerranéen, aujourd'hui répandue un peu partout sous les climats tempérés qui connaissent des hivers doux. La plante aime le plein soleil et tolère modérément la sécheresse. Sous les climats plus nordiques, on la traite comme une annuelle que l'on cultive par semis ou par bouturage, car elle ne résiste pas aux hivers rigoureux.

Le romarin est un arbrisseau de 50 cm à 1 mètre et plus, toujours vert, très aromatique, très rameux, très feuillé ; feuilles persistantes, coriaces, sessiles, linéaires, entières, enroulées par les bords, vertes et chagrinées en dessus, blanches-tomentueuses en dessous ; fleurs subsessiles, rapprochées en petites grappes axillaires et terminales ; calice encoche, bilabié, pulvérulent, nu à la gorge, à lèvre supérieure ovale entière, l'inférieure à 2 lobes lancéolés ; corolle bilabiée, à tube saillant, à lèvre supérieure en casque, bifide, l'inférieure à 3 lobes, le moyen très large et concave ; 2 étamines, à filets saillants, insérés à la gorge de la corolle, munis vers la base d'une petite dent ; anthères linéaires, à 1 loge ; carpelles obovales, lisses.

II.I.3.Culture

Le romarin se cultive dans un endroit ensoleillé, dans un sol calcaire et bien drainé [7]. Bien que ce soit une plante aimant les climats chauds, il supporte les gelées si le sol ne conserve pas l'humidité. Idéalement, ce dernier doit avoir un pH compris entre 6,5 et 7 [8]. Une légère taille au printemps après sa floraison a essentiellement pour but de lui conserver une forme harmonieuse. Il ne doit pas être rabattu trop court. Son feuillage persistant et sa tenue rend propice. Il se multiplie facilement au printemps ou à l'automne par bouturage ou marcottage ; plus difficilement en été par semis car sa germination est lente. Le romarin est assez résistant aux nuisibles. Il craint toutefois le rhizoctone brun en cas d'humidité trop importante.

Le romarin est cultivé à large échelle en Espagne, en Tunisie, au Maroc, en Italie, en France, en Algérie et au Portugal, principalement pour en extraire de l'huile essentielle. La production mondiale d'huile essentielle de romarin atteint 200 à 300 tonnes en 2005 [9].

II.I.4.Présentation de la plante



Photo des feuilles, et des fleurs du romarin

- Nom :** Rosmarinus officinales.
- Famille :** Des Labiées.
- L'HE du romarin :** Renferme Pinène, Bornéol, Cinéol, et de 5 à 15% de Camphre.

II.1.5.Utilisations

Les branches feuillues de romarin s'utilisent de préférence fraîches, mais peuvent également se conserver séchées. Les fleurs ont une saveur plus douce et se consomment crues.

L'utilisation du romarin en parfumerie est très ancienne. Le premier parfum alcoolique dont on connaît l'existence est l'eau de Hongrie, alcoolat fréquemment utilisé au XVII^e siècle et qui pourrait dater du XIV^e siècle, dont le romarin était l'un des principaux composants[10].

L'essence est obtenue par la distillation des branches, de préférence en n'utilisant que les sommités fleuries. Elle contient notamment du bornéol et du pinène [11]. du 1,8 cinéol[12] (ou eucalyptol), du camphène[13] et du pinène.

Le romarin fut longtemps utilisé empiriquement en phytothérapie. Le miel de romarin, aussi appelé « Miel de Narbonne » était un des multiples constituants de la thériaque de la pharmacopée maritime occidentale au XVIII^e siècle[14].

Des études modernes montrent les effets du romarin sur différentes parties de l'organisme Le romarin a longtemps été utilisé empiriquement comme agent hépato protecteur et cholérétique. Ces effets ont été montrés expérimentalement[15].

Le romarin permet donc d'activer les fonctions digestives, en particulier le travail de la vésicule biliaire. C'est un Antimycosique [16] et antibactérien. Les substances du romarin limitent le développement de certains agents pathogènes. Il a des Effets sur le système nerveux, L'administration d'huile de romarin, à la fois par inhalation et par voie orale, stimule l'activité du système nerveux central, respiratoire et locomotrice chez la souris [17]. L'extrait alcoolique de Romarin officialisé a montré une activité antidépressive sur la nage forcée et les tests d'immobilité de la souris [18]. Le romarin serait donc recommandé pour traiter les divers cas d'asthénie. Entre autre le romarin a Effets sur la circulation sanguine : L'utilisation d'huile de romarin dans un bain stimule la circulation dermique et améliore l'hémodynamique pour les problèmes d'occlusion artérielle[19].

L'huile ou l'extrait aqueux de feuilles permettent d'inhiber certaines contractions induites chez les lapins et les cochons d'inde [20], [21]. Le romarin aurait donc des effets antispasmodiques. Antitumorigénique et antioxydant .

De nombreuses études indiquent que le romarin permettrait de prévenir et de limiter la progression de certains types de cancers [22]

II.1.5.a. En culinaire

De nos jours, le romarin est surtout utilisé en cuisine, entre autre, avec les viandes, saupoudrées pour parfumer un plat ou un dessert. Les branches s'emploient généralement comme aromate par infusion dans les ragoûts, les civets, les soupes et les sauces. Le romarin est également utilisé pour parfumer les grillades. Il est également possible de fumer la viande ou le poisson en déposant quelques branches sur les charbons, ou en petite quantité dans un fumoir [9]. On peut enfin se servir de branches pour embrocher des légumes avant leur cuisson. Plus audacieux, le romarin est parfois utilisé en infusion pour parfumer des desserts comme les flans, les crèmes ou certaines confitures.

II.1.5.b. En médecine

II.1.5.b.1 Voie externe

Pour les traitements externes (entorses, foulures, contusions, torticolis), on emploie les sommités infusées dans de l'alcool. L'extrait alcoolique lui-même agit sur les ulcères, les plaies, les dermatoses parasitaires. La décoction aqueuse s'utilise en gargarismes (angines) et bains de bouche (aphtes), ou elle est ajoutée à des bains stimulants.

L'huile essentielle de romarin soulage les troubles rhumatismaux et de la circulation sanguine, soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la mémoire et la concentration, fortifiées convalescents, combat les effets du stress et de la fatigue, traite l'inflammation des voies respiratoires et de la sphère ORL [23].

II.1.5.b.2. Voie interne

Le romarin est un stimulant, antispasmodique, cholagogue. On l'indique pour ses qualités stimulantes dans les dyspepsies atoniques, les fermentations intestinales, les asthénies, le surmenage, les états adynamiques des fièvres typhoïdes ou muqueuses, de la grippe. En sa qualité d'antispasmodique, il est bénéfique dans le catarrhe chronique des bronches, la coqueluche, les vomissements nerveux, c'est un bon cholagogue utilisé dans les cholécystites chroniques, certaines ascites et cirrhoses, les ictères ; c'est aussi un emménagogue (aménorrhée dysménorrhée) et un diurétique (hydropisies) [24] anti-VIH [25] .

II.1.5.c .En alimentation

Le romarin est une bonne source naturelle de composés antioxydants. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments [26] Le romarin est également utilisé comme épice dans les croustilles.

CHAPITRE II

Partie Expérimentale

I. Généralités sur les huiles essentielles

I.1. Introduction

L'organisme humain, constamment exposé à une multitude de microbes (bactéries, virus, parasites, champignons), possède un système complexe de défense qui lui permet de rencontrer ou d'héberger ces microbes sans leur permettre d'envahir ses tissus. Cependant, dans certaines conditions, l'infection peut entraîner une maladie infectieuse grave.

A côté des antibiotiques connus, différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la synthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles (HE) ou essences connues depuis longtemps pour leur activité antiseptique et leur activité thérapeutique en médecine.

I.2. Définition

Huiles essentielles sont des complexes naturels de molécules volatiles et odorantes, synthétisées par les cellules sécrétrices des plantes aromatiques. Celles-ci les conservent dans des poches au niveau de certains organes [27]. Ces produits odorants sont extraits par entraînement à la vapeur d'eau ou par hydro distillation [28].

I.3. Composition Chimique

Les huiles essentielles ont une composition assez complexe [29]. On y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Les composés terpéniques sont formés d'unités isopréniques (en C_5) et comprennent les mon terpènes en (C_{10}), les sesquiterpènes (C_{15}), les di terpènes (C_{20}) et le tri terpènes en (C_{30}). Ils ont la même origine métabolique. Ces terpènes peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. En général, une HE est un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Parmi ces composés oxygénés, on peut noter la présence d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, de cétones, d'éthers-oxydes et de carbures.

A l'intérieur d'une même espèce végétale, on observe des variations chimiques importantes ayant conduit à admettre l'existence de races chimiques tel que le thymol, le géraniol, le carvacrol, le linalol) [30], et parmi les nombreux constituants d'une HE, l'un domine généralement on l'appelle composé majoritaire.

La composition chimique des HE varie encore de façon appréciable avec le milieu et la période de la végétation. Elle peut aussi être modifiée au cours de l'extraction ou durant la conservation [31, 32, 33].

I.4. Propriétés Physico-chimiques des HE

I.4.1. Propriétés Physiques

Les huiles essentielles sont caractérisées par leurs propriétés physiques suivantes

I.4.1.a. Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une huile essentielle se définit comme le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et celui de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air à l'huile essentielle maintenue à une température constante.

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est généralement élevé.

I.4.1.b. Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire donne l'angle où tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde déterminée correspondant aux raies du sodium, lorsque celle-ci traverse une épaisseur de 100mm d'huile essentielle dans des conditions déterminées de température.

Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle est déterminé par la lecture sur l'appareil appelé « polarimètre ».

Le pouvoir rotatoire indique donc la présence des molécules chirales ou asymétriques dans l'huile essentielle.

I.4.1.c. Densité

La densité relative à 20°C d'une huile essentielle indique le rapport de la masse d'un certain volume d'huile essentielle à 20°C, à la masse d'un égal volume d'eau distillée à 20°C.

L'huile essentielle a une densité faible inférieure à 1, mais quelques huiles essentielles présentent une densité supérieure à 1.

I.4.2. Propriétés Chimiques

Les huiles essentielles se caractérisent par leur composition chimique complexe constituée de substances chimiques très diversifiées et très facilement oxydables puis par les indices chimiques suivants :

I.4.2.a. Indice d'acide

L'indice d'acide(IA), se rapporte au nombre en mg d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser des acides libres contenus dans 1 g d'huile essentielle.

I.4.2.b.Indice d'ester

L'indice d'ester(IE) indique le nombre de mg d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g d'huile essentielle.

I.4.2.c.Indice de phénol

La teneur en phénol évalue le pourcentage en volume de phénol dans les huiles essentielles on trouve généralement les HE incolores ou jaune pâle à l'étatliquide à température ordinaire. Toutes les HE sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densitéest le plus souvent inférieure à 1. Seules trois HE officinales ont unedensité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HE de cannelle, de girofle etde sassafras.

Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans laplupart des solvants organiques. Elles sont altérables et très sensibles àl'oxydation

I.5.L'Origine Géographique

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

Une même plante grandissant dans des lieux différents avec changement de situation Géographique (altitude et latitude), avec variation de la nature du sol, peut produire des huilesessentielles différentes.

Par exemple, le thym vulgaire à géraniol ne produit cette molécule de géraniol qu'en hivernalors que l'acétate de géranyle la remplacera en été.

I.6.Utilisation

Les huiles essentielles sont employées en aromathérapie pour préserver ou améliorer la santé et la beauté des êtres humains. Elles peuvent être utilisées pour :

I.6.a. Usage externe

Inhalations, Compresses, massage, bains aromatisés, soins des cheveux, diffusion d'arôme, etc.

I.6.b.Usage interne

Infusions, sirops, pastilles, etc.

I.7.Méthodes d'extraction

La teneur d'une plante en huile essentielle est faible, de l'ordre de quelques pour cent.

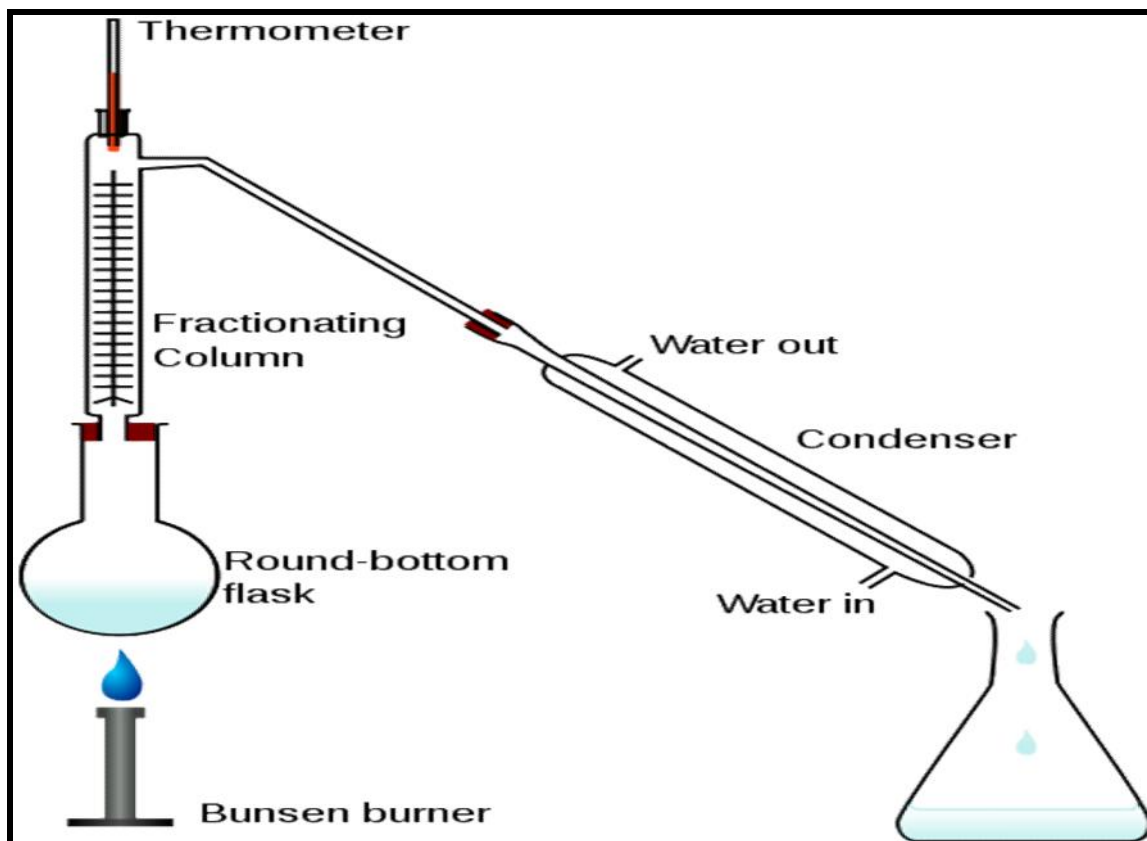
Les techniques d'extraction sont variées et ont été améliorées au fil des âges. Parmi les techniques les plus anciennes citons l'expression, l'enfleurage, et la distillation. Avec l'évolution des techniques, on a amélioré les procédés d'extraction, mais leurs principes sont néanmoins restés les mêmes.

Nous citerons dans ce qui suit un bref aperçu des différentes techniques d'extraction des huiles essentielles.

I.7.1.La distillation à la vapeur d'eau

Les méthodes d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînables par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formé dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal elle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation [34].

La plus part des huiles essentielles sont obtenues par distillation à la vapeur d'eau. Il s'agit de la méthode la plus répandue, la plus douce et la plus productive d'extraction d'huiles essentielles, car les plantes ne sont pas directement immergées dans l'eau bouillante (une chaleur trop élevée risquerait d'altérer les arômes subtils).



Montage à distillation simple [35]

1.7.2.L'hydro distillation

Cette méthode peut facilement être reproduite en laboratoire et ne nécessite pas beaucoup de matériel. Elle est réalisée en 2 étapes :

- La partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec de l'eau et quelques morceaux de pierre ponce pour assurer le brassage de la solution. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques.

- En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense. Elle est ensuite récupérée dans un erlenmeyer où il est possible de distinguer 2 phases bien distinctes :

L'huile essentielle et, dessous, l'eau aromatique (ou hydrolat) chargée d'espèces volatiles contenues dans la plante et ayant une densité plus élevée [36]

Les 2 phases contenues dans l'erlenmeyer sont ensuite transférées dans une ampoule à décanter. Après avoir laissé reposer le contenu, il est possible d'éliminer totalement l'eau aromatique [38] Il ne reste alors plus que l'huile essentielle dans l'ampoule à décanter. Cette opération est appelée relargage.

Bien que très avantageuse, l'hydro distillation connaît des inconvénients :

L'alambic doit être en inox ou en cuivre, le chauffage doit être fait sous basse pression, pour éviter la suroxydation et la décomposition des molécules, et doit être contrôlé régulièrement, l'eau doit être de l'eau de source non calcaire et l'extraction est relativement longue pour être intégrale[37] .

1.7.3.L'enfleurage

Cette méthode se rapproche quelque peu de l'extraction par solvants volatils par son principe mais dans ce cas on utilise des graisses comme solvant, ces dernières ayant elles aussi une forte affinité avec les composés odorants.

On distingue deux types d'enfleurage : à froid ou chaud.

I.7.3.a. L'enfleurage à froid

Consiste à piquer des fleurs fraîches dans de la graisse, cette dernière absorbant ainsi les molécules odorantes. On remplace régulièrement les fleurs pour gorger au maximum les graisses (on estime qu'un kilo de graisse absorbe trois kilos de fleurs). C'est ce qu'on appelle le défleurage.

La graisse est ensuite lavée à l'alcool dans des batteuses, on évapore l'alcool et on obtient ainsi une absolue de pommade [36]

Cette technique était utilisée pour des fleurs fragiles ne supportant pas la chaleur. Elle n'est plus utilisée aujourd'hui que pour de rares produits très cher car le coût de production est exorbitant.

I.7.3.b.1 'enfleurage à chaud

Consiste quant à lui à faire fondre dans de grandes marmites au bain-marie de la graisse à laquelle on ajoute les fleurs. On renouvelle les fleurs tous les deux jours environs. Puis on filtre le tout à travers plusieurs couches de tissus (lin et coton) afin de séparer la graisse inutile de la pommade. On peut utiliser cette pommade telle quelle ou la traiter par la même méthode que pour l'enfleurage à froid afin d'obtenir une absolue [36]

1.7.4.L'Expression

Cette technique est utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes (citron, orange, mandarine). C'est une méthode assez simple qui consiste à briser mécaniquement les poches à essence (Souvent au niveau de l'écorce ou péricarpe du fruit) pour recueillir un mélange d'essences odorantes et d'eau.

L'avantage de cette méthode est sans aucun doute son faible coût de production ainsi que le fait que l'essence obtenue après l'écrasement des fruits ne nécessite seulement qu'une filtration pour obtenir un produit commercialisable.

Néanmoins elle nécessite une énergie mécanique et est limitée aux agrumes [37]

1.7.5.L'extraction par solvant

Techniques utilisées pour extraire certains composés contenus dans les plantes entraînables par la vapeur d'eau. En utilisant des solvants on obtient des extraits plus complets (substances volatils, triglycérides, cires...). Ces solvants sont ensuite éliminés pour conserver les substances les plus volatils [38]

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone [39].

1.7.6.La technique du CO₂ Supercritique

La technique utilise du gaz carbonique (CO₂), qui dans certaines conditions de pressions et de températures, se comporte comme un solvant. Cette technique connue depuis environ 25 ans dans l'industrie présente de nombreux intérêts. Elle permet de travailler à une température modérée (à partir de 31°C), ce qui ne dénature pas les qualités organoleptiques et les principes actifs de l'extrait obtenu,

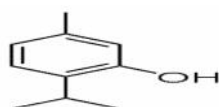
l'extrait reste dans un état proche du naturel. Elle permet d'autre part d'obtenir des extraits exempts de tous résidus de solvant d'extraction.

A la fin de l'extraction, par abaissement de la pression (phase de détente), on provoque le passage du gaz carbonique de l'état supercritique à l'état gazeux et le CO_2 s'élimine tout seul de l'extrait sous pression atmosphérique [40]

I.8. Identification de la molécule active

1.8 1 .Principe actif du thym

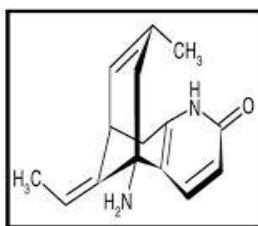
Il existe de nombreuses espèces de thym, la composition de l'huile essentielle que l'on extrait varie donc d'une plante à l'autre. L'huile essentielle de thym contient principalement des phénols dont le thymol de formule brute ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$) qui la compose à plus de 40%. Le thymol est donc la molécule active d'HE de thym.



Structure Chimique du Thymol

1.8. 2.Principe actif du Romarin

Il existe de nombreuses espèces du romarin, la composition de l'huile essentielle que l'on extrait varie donc d'une plante à l'autre. L'huile essentielle du romarin de formule brute ($\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}$) qui contient principalement des pinène (constituant de l'essence de térébentine), bornéol, cinéol, et de 5 à 15% de camphre



Structure Chimique du Romarin

II .Mode Opérateur

On s'intéresse à la technique de hydro distillation qui est la plus conforme a la littérature et ou les moyens sont disponibles dans notre laboratoire La partie sur laquelle nous avons basée notre travail est la partie aérienne (Tiges et feuilles) du thym et du romarin de la région de Saida.

II.1. Extraction par hydro distillation (HD) du Thym

On pèse 80 g en premier lieu ensuite 40g en deuxième lieu des feuilles de thym les émiettes très finement puis les introduire dans un ballon Bicol de 500ml on ajoute environ 200ml de Léau distille adapter un réfrigérant a air sur le ballon. On chauffe a reflux pendant 3h le mélange est refroidir a T° ambiante Ensuite pour pouvoir séparer les deux phases aqueuse est organique on procéde de la décantation a la aide de une ampoule à décanter comme indique dans le montage suivant

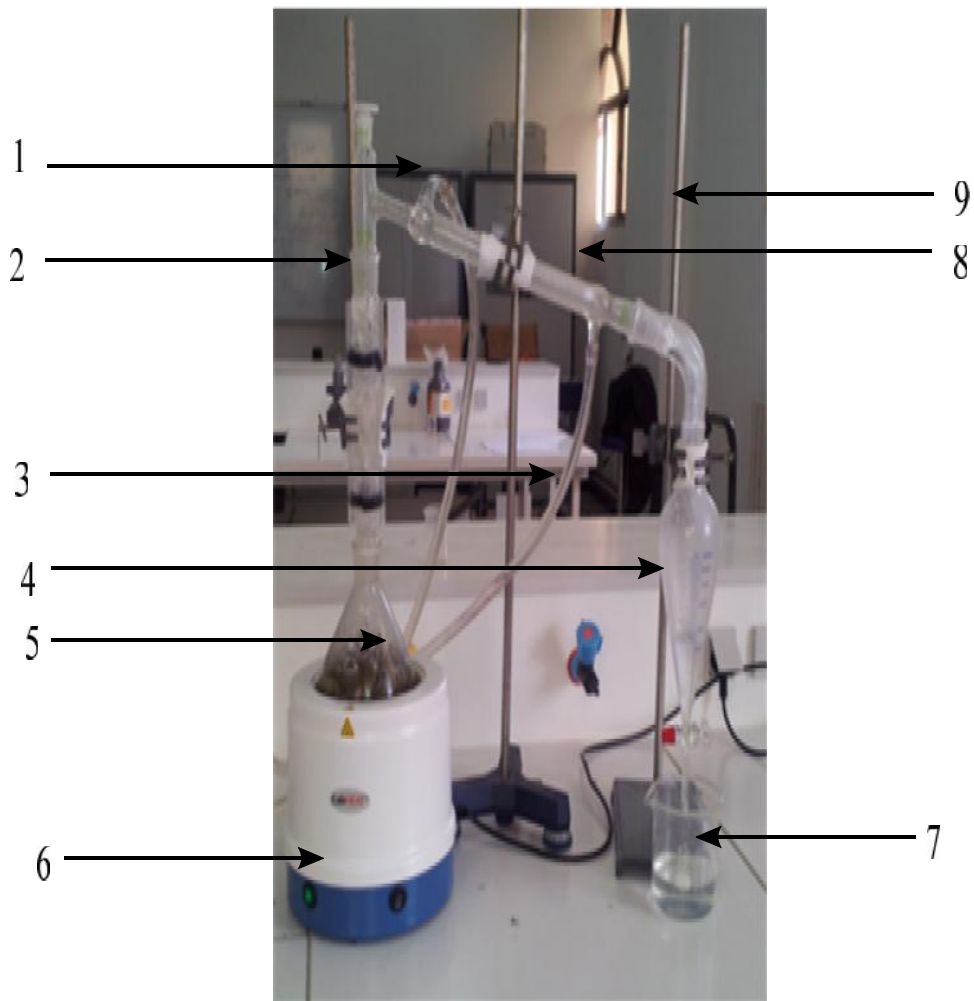


Figure 3: montage de l'extraction

- 1- entrée d'eau
- 2- réfrigérant
- 3- sortie d'eau
- 4- ampoule décounté
- 5- ballon
- 6- chauffe-ballon
- 7- bécher
- 8- réfrigérant
- 9- support

II.2. Extraction par hydro distillation (HD) du Romarin :

On pèse 80 g en premier lieu ensuite 40g en deuxième lieu des feuilles de Romarin les émiettes très finement puis les introduire dans un ballon Bicol de 500ml on ajoute environ 200ml de Léau distille adapter un réfrigérant a air sur le ballon. On Chauffe a reflux pendant 3h le mélange est refroidir a T° ambiante Ensuite pour pouvoir séparer les deux phases aqueuse est organique on procédé de la décantation a la aide de une ampoule à décanter comme indique dans le montage précédent.

Pour pouvoir calculer son rendement la phase organique huiles essentielles est séparé de la phase aqueuse.

II.2.1 Calcul du rendement d'Huiles essentielles

La détermination du rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de huiles essentielles expérimentale obtenue et la masse du produit végétal à traiter :

$$R_d \% = (m_1 / m_2) \times 100$$

R_d : rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage.

m_1 : masse en gramme d'HE.

m_2 : masse en gramme du produit végétal sec.

**Le tableau suivant résume les résultats des rendements en huile essentielle
Obtenues pour les plantes étudiées.**

Paramètre	Donnée	Donnée	Donnée	Donnée
	<i>Thym</i>	<i>Thym</i>	<i>Romarin</i>	<i>Romarin</i>
Partie utilisée	Feuilles et tiges	Feuilles et tiges	Feuilles et tiges	Feuilles et tiges
Etat	Sèche	Sèche	Sèche	Sèche
Léau distille	200L	200 L	200L	200L
Masse traitée	80 g	40 g	80 g	40 g
Temps de distillation	3h	3h	3h	3h
Masse d'huile recueillie	0,57 g	0,04 g	0,25 g	0,01 g
Rendements	0,71%	0,33%	0,31%	0,02%

II.3. Résultats et discussion

Le rendement est conforme avec Cela peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, parmi eux on cite la nature du sol, la période de la récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction.

Les résultats obtenus sont conformes aux normes internationales (AFNOR ,1999).

D'après les résultats obtenus on remarque que le rendement en huile essentielle de Thym est de **0,71%** Qui sont conforme aux normes AFNOR (**0,5-2**) [41].

Il est relativement élevé par rapport au rendement en huile essentielle du Romarin qui est de **0.31%**.

D'autre part la littérature confirme que le thym a toujours un rendement en huiles essentielles supérieur à presque toutes les plantes ce qui confirme que le thym est exploitées industriellement comme source des huiles essentielles [42]

III. Conclusion

Le rendement en huile essentielle des plantes étudiées (Thym, Romarin) est acceptable pour le thym car il est en accord a celui de la littérature par contre celui du romarin est légèrement inférieur donc il faut l'optimiser en améliorants les conditions de culture

Il faut peut-être jouer sur le facteur de température ou sur la nature du sol.

CHAPITRE III

Caractérisation des huiles essentielles extra

I .INTRODUCTION

La synthèse comme l'extraction des produits organiques nécessite des techniques pour s'assurer de la présence de tels produits, parmi ces techniques on cite entre autre la spectroscopie infra rouge.

II. Spectroscopie Infrarouge

La spectroscopie infra rouge est une classe de spectroscopie qui traite la région infrarouge du spectre électromagnétique. Elle recouvre une large gamme de techniques, la plus commune étant un type de spectroscopie d'absorption. Comme pour toutes les techniques de spectroscopie, elle peut être employée pour l'identification de composés ou pour déterminer la composition d'un échantillon. Les tables de corrélation de spectroscopie infrarouge sont largement présentes dans la littérature scientifique [43].

Nos analyses ont été faites sur un spectromètre transformé de fourrier JASCOFT/IR-4200 [44] de l'université d'Oran esenia, au laboratoire de chimie organique

Les échantillons liquides sont examinés dans des cellules en présence de Méthanol comme solvant. Les fréquences d'absorption () sont données en cm^{-1}

III. Interprétation des spectres

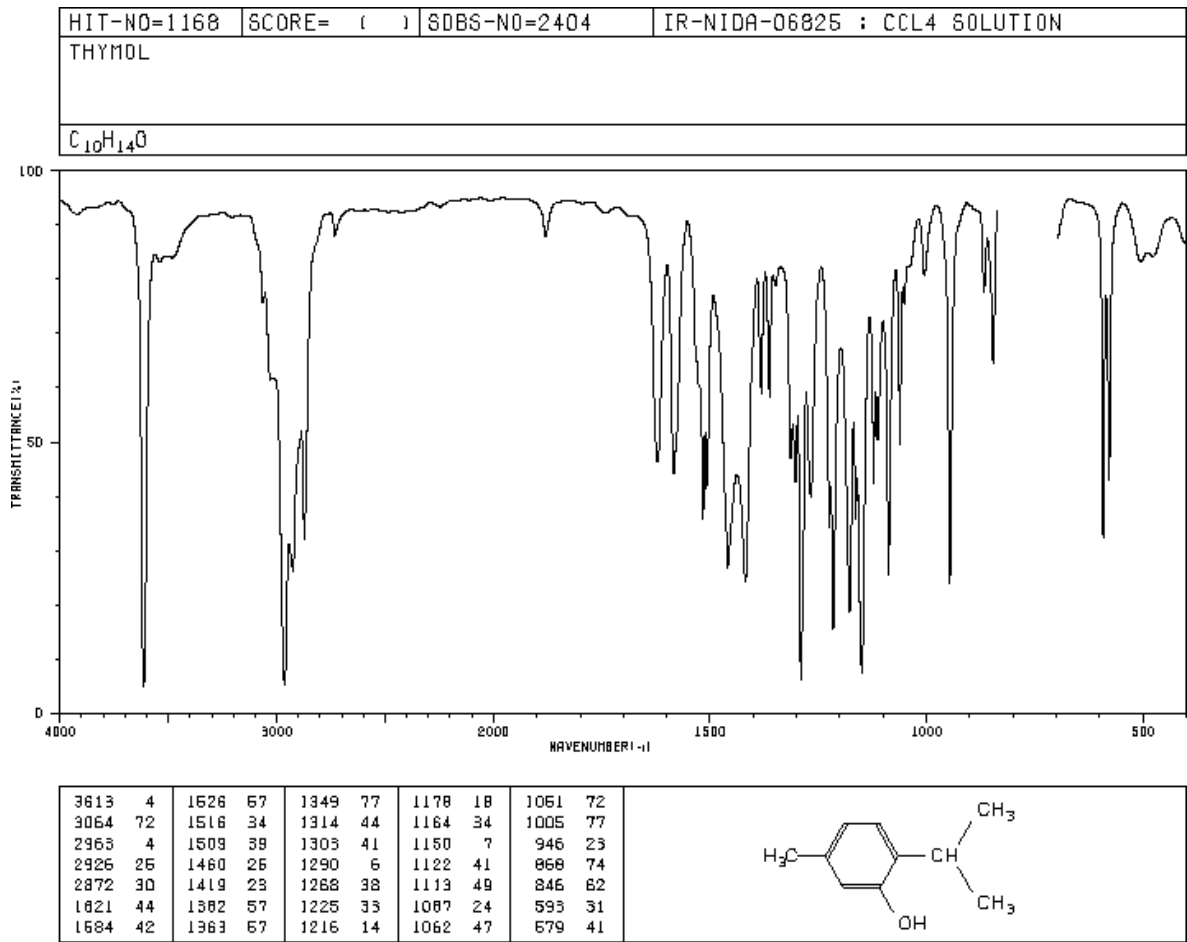
III.1. Spectroscopie IR d'huiles essentielles extraite du Thym

Les résultats obtenus sont caractérisés comme suit :

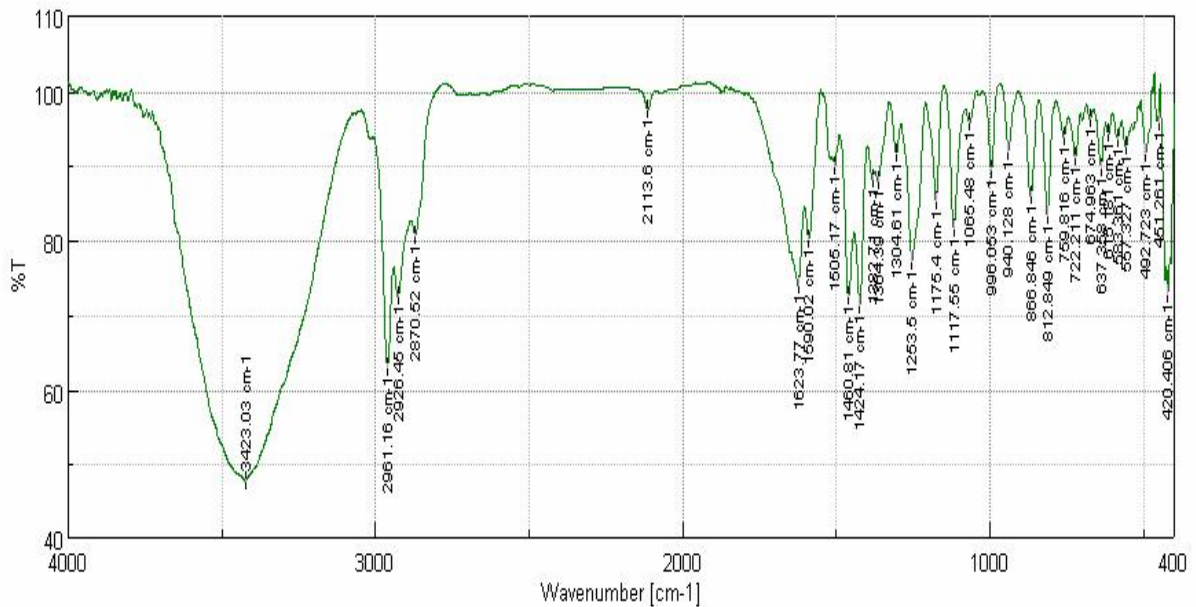
Les spectres IR des produits isolés purs permettent de constater la présence d'une forte bande d'absorption dans la zone 3423.03 cm^{-1} qui correspond au phénol.

On remarque d'après le spectre la pressens de différentes bandes d'absorptions dans la zone $2961,16\text{cm}^{-1}$, 2926.45cm^{-1} et 2870.52cm^{-1} qui correspondent à l'iso propyl et une bande vers $1304,61 \text{ cm}^{-1}$ que correspond à C-H.

Ceci est en accord avec le spectre théorique.



-Spectre infra rouge Théorique de huile essentielle du Thym par SDBS-

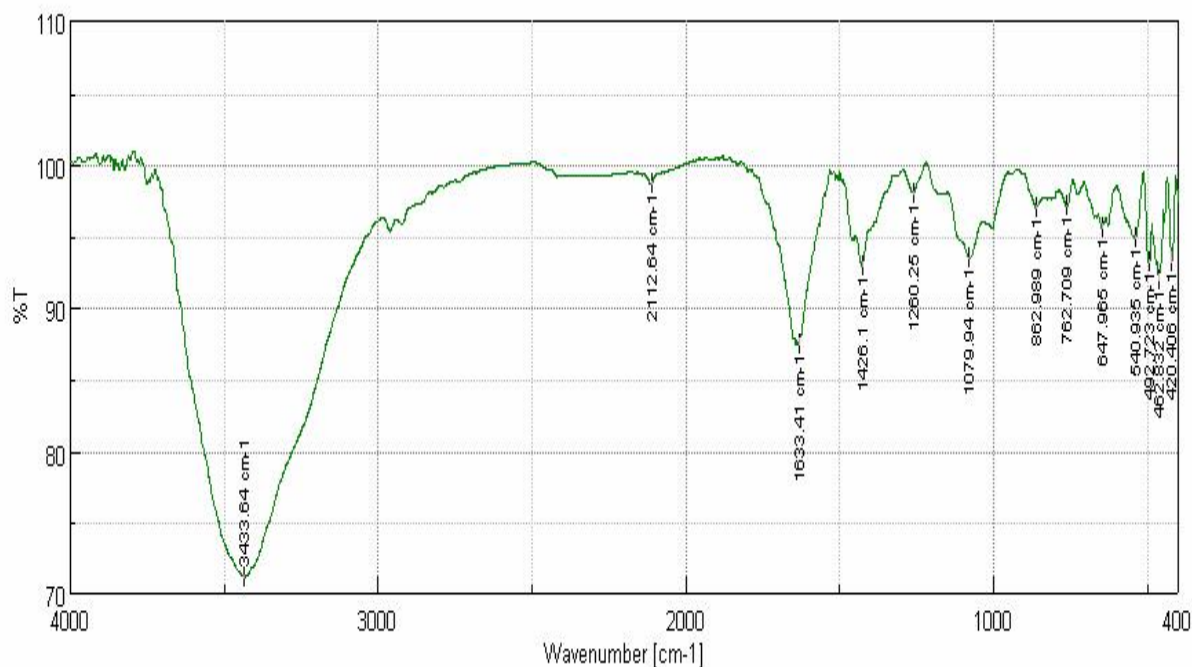


Spectre Infra Rouge de huile essentielle extraite du Thym dans le Methanol

III.2. Spectroscopie IR d'huiles essentielles extraite du Romarin

Le spectre infra rouge d'huile essentielle extraite du romarin indique la présence d'une bande d'absorption vers $3400,33 \text{ cm}^{-1}$ qui correspond à la fonction Amine primaire R-NH_2 ainsi qu'une bande absorption vers $1633,41 \text{ cm}^{-1}$ qui correspond à la fonction Cétone C=O

On remarque d'après le spectre la présence de différentes bandes absorptions dans la zone $862,98 \text{ cm}^{-1}$, et $1260,25 \text{ cm}^{-1}$ qui correspondent à la fonction Alcène.



Spectre Infra Rouge de l'huile essentielle extraite du Romarin dans le Méthanol

III.3. Conclusion

La composition chimique des HE est assez complexe, les composés terpéniques et aromatiques représentent les principaux constituants. On y trouve également, et en faibles concentrations des acides organiques, des cétones et des coumarines volatiles.

La nature du composé majoritaire (Phénol, alcool, aldéhyde, cétone...) joue un rôle principal dans l'efficacité de leurs effets biologiques.

D'après les résultats de nos spectres IR on prouve l'existence de certaines bandes d'absorption qui indiquent bien la présence des différentes fonctions qui caractérisent nos huiles extraites .

Pour le cas du thym le spectre expérimentale est bien en accord avec celui de la théorie (SDBS).

CONCLUSION

CONCLUSION GENERALE

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

L'intérêt de notre travail consiste à extraire deux d'huiles essentielles du thym et du romarin de la région de Saida- Algérie.

La valeur du rendement en huile essentielle de la partie aérienne du thym est de 0.71 % et celle du romarin est de 0.31% .ces deux valeurs sont identiques avec celles obtenues chez d'autres plantes de la même espèce.

Les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles du thym et du Romarin extraites par hydro distillation ont des rendements qui sont conformes aux normes **AFNOR [43]**.

La caractérisation par spectroscopie IR montre bien la présence des bandes caractéristiques des différentes fonctions qui existent au sein des huiles essentielles extraites des deux plantes : le thym et le romarin

Les bandes caractéristiques du thym sont bien en accord avec celles trouvées en théorie (spectre SDBS)

NOTES ET REFERENCES

Notes et références

- [1] **DURVELLE J.-P., 1893** : Fabrication des essences et des parfums. Editeur J. FRITSCH, Paris.
- [2] **DURVELLE J.-P., 1930** : Fabrication des essences et des parfums. Ed. Desforges, Girardot
- [3] (Lieutaghi, Petite ethnobotanique méditerranéenne, Actes Sud, 2006).
- [4] (Gildemeister et Hoffmann, 1912)
- [5] (Weerakkody et *al.* 2010 ; Romano et *al.* 2009)
- [6] H. Panda, Aromatic Plants Cultivation, Processing and Uses, 2009
- [7] a et b Jean-Marie Poêles, La culture des plantes aromatiques, 2006
- [8] a, b et c Azhar Ali Farooqi et al. Cultivassions of SpiceCrops, 2005
- [9] Camille Knockaërt, Le fumage du poisson (7e édition), 2002
- [10] La Belgique horticole: Annales de botanique et d'horticulture. Vol. 12. 1862
- [11] Revue suisse de viticulture, arboriculture, horticulture. 2001
- [12] Souad Karoun, Étude des propriétés biochimiques des poly phénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* et *Vicia faba* L., 2006
- [13] Rae et al., Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): Impact of drying on its flavor quality, 1998
- [14] D'après Mastral, in Yannick Romieux, De la hune au mortier, Éditions ACL, Nantes, 1986
- [15] Joyeux M, Rolland A, Fleurantine J, Mortier F & Dorfman P, *Plata Med*, 56 (1990) 171
- [16] Steinmetz M D, Moulin-Trafford J & Regli P, *Mycoses*, 31 (1988) 40.

- [17] Kovar K A, Gropper B, Fries D & Amman H P T, *Planter Med*, 53 (1987) 315.
- [18] Matsuyama K, Lu X-C, Yasuda H et al, *NatMed*, 5 (1997) 63.
- Riffs W, *MunchMedWochensch*, 126 (1984) 207.
- [20] Aqel M B, *J Ethnopharmacol*, 33 (1991) 57.
- [21] Al-Sereiti M R & Said S A, *First Médica Conference of Libia*, 1992, 2.
- [22] M R Al-Sereiti et al., « Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinal's* Linn.) And its therapeutic potentials », *Indian Journal of Experimental Biology*, Vol. 37, February 1999, p. 124-131.
- [23] (Dias et al. 2000).
- [24] (Chang et al. 1977 ; Aqel, 1991 ; Leung et Foster, 1996 ; Haloui et al. 2000),
- [25] (Paris et al. 1993) et anti-carcinogénique (Oxford et al. 1995)
- [26] (Ponce et al. 2008)
- [27] Jacques G. Palet s.a.- Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule du Laboratoire "Jacques Palet". 1997.
- [28] Eduquions P. – L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie, leur Normalisation et l'Europe du médicament. *Perf. Cosme. Sova*. 1968, 11: 414-418.
- [29] Peyron L & Naves Y.R. – Lexique des termes et expressions utilisées dans les industries des matières premières aromatiques.(les huiles essentielles). *Ri vista italiano*. E.P.P.O.S., 1977, 59 : 550-564
- [30] Paris M & Hura bielle. – Abrégé de matière médicale. *Pharmacognosie*. Tome 1. Masson. Paris. France. 1981.
- [31] Cosentino S., Tuberoze C.I., Pisano B., Seta M., Marcia V., Arzedi E. &

- Palmas F. – In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Letts Apple Microbial*. 1999, 29(2): 103-105.
- [32] Joe N.T., Yoshimori R.B., Mason G.R., J.S. & Libeling M.R. - Single – tube.
- [33] Mundane M., Vila R., Tomi F., Tomas X., Cisco J.F., Adret T., Casanova S. & Canigueral S. –*Biochemist. Syst. Ecol*. 2001, 29(7) : 739-748.
- [34] Demetzos C, Stahl B., Anastassaki T., Lazuli M, Zouvelekis L.S. & Rallis M.–*Chemical analysis Planta Med*. 1999. 65(1): 76-78.
- [35] (Bruneton, – Composition and Chemical polymorphism of the essential oils from Piper lance folium. antimicrobial activity of the resin Ladinos, of its essential oil and of the isolated compounds. 1993)
- [36] (Wikipédia, Chemical composition of Lebanese rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil as a function of the geographical region and the harvest time. *J. Ess. Oil Res.*, Vol.14, pp : 449 – 452 -2010).
- [37] (Bachelot et Solid-liquid extraction technologies for manufacturing nutraceuticals from botanicals. In J. Shi, G. Mazza, & M. L. Maguer (Eds.) *Functional foods: biochemical and processing aspects* (pp. 331e366). Boca Raton FL. 2006)
- [38] (Willem, *Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity* 2002)
- [39] (Dégrisé-Essential oil production, Chapitre 8. Cité In DUGO G. et DI GIACOMO 2002 : *Citrus, the genus Citrus. Medicinal and aromatic plants –* 2008).
- [40] (Kim et Lee, 2002 ; Dapkevicius et *al.* 1998 ; Legrand, 1993)
- [41] AFNOR normes afnor recueil des normes françaises (1992). *Huiles essentielles*. AFNOR, Paris.
- [42] ALLING et AL *chimie organique –MCGRAW-HILL-1982.*