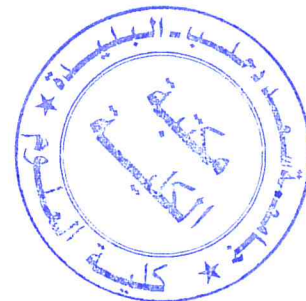


République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université BLIDA 1
Faculté des Sciences
Département de Chimie



Mémoire présenté par

HADDOU Asma

En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Option : **Chimie des Substances Naturelles**

Titre

**Extraction et caractérisation des cétones
aliphatiques et cycliques à partir d'huile essentielle
de la rue de montagne (*Ruta montana* L.) et de la
sauge officinale (*Salvia officinalis* L.)**

Soutenu publiquement en octobre 2013 devant le jury composé de :

Y. Daghbouch	Pr	Président	Université de Blida
N. Bouzidi	MCB	Examinatrice	Université de Blida
S. Kasmi	MCA	Examinatrice	Université de Blida
H. Boutoumi	MCA	Promoteur	Université de Blida
M. El hattab	Pr	Membre de CP	Université de Blida
A. Badis	Pr	Membre de CP	Université de Blida
K. Boutemak	MCB	Membre de CP	Université de Blida
Z.Chemat	MCB	Membre de CP	Université de Blida
O. Touafak	MCB	Membre de CP	Université de Blida
N. Ayachi	MAA	Membre de CP	Université de Blida

Promotion 2012-2013

Résumé

Les études chimiques et biologiques réalisés sur la matrice complexe des huiles essentielles sont incomplètes et non reproductibles sans la compréhension des comportements individuels de chaque composé. Sachant encore que les propriétés des huiles essentielles sont intimement liées à la fonction chimique du composé majoritaire principale. Dans ce contexte, les études effectuées sur la rue de montagne et la sauge officinale révèlent la présence de cétones en quantité importante identifiées respectivement en tant que méthylnonylcétone et α -thuyone.

Dans ce travail on a procédé à l'extraction de 2-undécanone et de l' α -thuyone à partir des huiles essentielles de la rue de montagne et la sauge officinale par les méthodes chimiques, comme l'addition de bisulfite de sodium qui a fourni des rendements appréciable (69% ,86%) ainsi que leurs hydrolyses qui a été réalisé avec succès. Cependant, la condensation de 2,4-dinitrophénylhydrazone a conduit à la formation des hydrazones correspondants avec des rendements acceptables. Les produits obtenus ont été identifiés et caractérisés par les différentes méthodes d'analyses.

Mots clés : *Ruta montana L.*, *Salvia officinalis L.*, huile essentielle, 2-undécanone, α -thuyone, hydrazone, composé bisulfite.

Abstract

Chemical and biological studies carried out on the complex matrix of essential oils are incomplete and not reproducible without understanding individual behavior of each compound. Even knowing that the properties of essential oils are closely related to the chemical function of the main major compound. In this context, studies on *Salvia officinalis* and *Ruta montana* reveal the presence of ketones in large quantities identified respectively as methyl nonyl ketone and α -thujone.

In this work we performed the extraction of 2-undecanone and α -thujone from essential oils of *Ruta montana* and *salvia officinalis* by chemical methods such as the addition of sodium bisulfite, which provided appreciable yields (69%, 86%) and their hydrolysis has been achieved successfully. However, the condensation of 2,4-dinitrophenylhydrazine led to the formation of the corresponding hydrazones with acceptable yields. The resulting products were identified and characterized by different analytical methods.

Keywords: *Ruta montana* L., *Salvia officinalis* L. essential oil, 2-undecanone, α -thujone, hydrazone, bisulfite compound.

ملخص

تتميز الزيوت الطيارة لفيجل الجبل و الميرمية المخزنية من وجود كيتونات مثل 2-أنديكانون و الفا-تيجون على التوالي.

في هذا العمل أجرينا استخراج 2-أنديكانون و الفا-تيجون من الزيوت الطيارة لفيجل الجبل و الميرمية المخزنية بالإضافة إلى تحليلها (69%، 86%) بالطرق الكيميائية مثل إضافة بيسلفيت الصوديوم الذي أعطى مردود المائي الذي تحقق بنجاح. و مع ذلك قدم التكتيف من 4,2 -دينيتروفينيلهيديرازين إلى تشكيل هيدرازونات موافقة لكن بعائدات منخفضة .

توفيق هذه الأساليب الفصلية الكيميائية تم تحليلها باستخدام المطيافية ما تحت الحمراء بتحويل فوريي (IRTF)

الكلمات المفتاحية : روتا مونتانا، L ، الميرمية المخزنية، L ، استخراج، من الضروري النفط، 2-انديكانون، الفا-توجون.

Remerciements

«La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage ».

La première personne que je tiens à remercier est mon promoteur Mr Boutoumi H, pour l'orientation, la confiance, la patience, la disponibilité, les encouragements inlassables et son œil critique qui ma été très précieux pour structurer le travail et pour améliorer la qualité des différentes sections de mon mémoire, je le remercie vivement.

Un grand merci à M^{me} Daghbouche Y, d'avoir accepté la présidence du jury de mon travail, qu'elle trouve ici mes expressions les plus respectueuses.

J'exprime ma très grande considération, et mon profond respect à M^{me} Kasmi S, et M^{me} Bouzidi N, pour avoir accepter de juger ce modeste travail et l'enrichir par leurs propositions.

J'adresse encore mes remerciements à toute l'équipe de chimie des substances naturelles, en particulier : Mr El Hattab M, pour ses conseils et son aide.

J'exprime ma reconnaissance à tout le personnel du département de Chimie industrielle de l'Université de Blida pour leur aide dans la réalisation de cette étude.

Enfin, je tiens également à remercier tous ceux qui m'ont soutenu et participé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Dédicace

La liste est longue, les sentiments sont fors, l'espace comme le temps sont réduits.

Je ferais de mon mieux, mais l'exhaustivité est impossible.

L'éclipse recèle beaucoup.

A toi mon père qui ma toujours encourager d'aller vers le devant et qui a fait en sorte que je ne manque de rien. Trouve à travers ce modeste travail, la récompense de ton affection, de tes sacrifices et de ta patience.

A toi ma mère qui ma insufflé le don d'aller toujours en avant et qui ma permis d'avoir confiance en moi.

A mes frères : Aboubaker, Abderrahmane et Abdellatif

A ma grande mère

A toutes mes amies et amis

A ma promotion de master de chimie des substances naturelles

Et a tous ceux qui mon aider de proche ou de loin

ASMAA

Liste des figures

P12-Figure 1 : Squelette d'une unité isoprénique

P14-Figure 2 : Biosynthèse des monoterpènes

P15-Figure 3 : Classification de quelques monoterpènes

P18-Figure 4 : Appareil Clevenger

P20-Figure 5 : Principe d'un réacteur micro-ondes, a) multi-mode (*distributed microwaves*) b) monomode (*focused microwaves*). (Tirée et adaptée de: Camel, 2000.)

P21-Figure 6 : Montage d'une hydrodistillation assistée par micro-ondes.

P25-Figure 7 : La rue de montagne (*Ruta montana*)

P25-Figure 8 : La sauge (*Salvia officinalis L*)

P27-Figure 9 : Montage expérimental de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau

P28-Figure 10 : Montage expérimental de l'extraction par hydrodistillation

P30-Figure 11 : Montage expérimental de l'extraction assistée par Micro-onde

P31-Figure 12 : Réfractomètre

P33-Figure 13 : Mécanisme de l'addition de l'hydrogénosulfite de sodium avec les cétones

P34-Figure 14 : Réaction d'addition de 2,4-Dinitrophénylhydrazine avec les cétones

P36-Figure 15 : un spectrophotomètre FTIR à transformée de fourrier de marque TENSOR 27

P37-Figure 16 : Chromatographe en phase gazeuse

P42-Figure 17 : Chromatogramme d'huile essentielle de la rue de montagne extraite par entraînement à la vapeur

P43-Figure 18 : Chromatogramme d'huile essentielle de la rue de montagne extraite par Hydrodistillation

P44-Figure 19: Chromatogramme d'huile essentielle de la rue de montagne extraite par Hydrodistillation assistée par Micro-onde

P46-Figure 20 : Spectre infrarouge d'huile essentielle de la rue de montagne par Entraînement à la vapeur

P47-Figure 21 : Chromatogramme d'huile essentielle de la rue de la sauge officinale par Hydrodistillation

P48-Figure 22 : chromatogramme d'huile essentielle de la sauge extraite par entraînement à la vapeur

P49-Figure 23 : chromatogramme d'huile essentielle extraite par hydrodistillation assistée par micro-onde

P51-Figure 24 : Spectre infrarouge d'huile essentielle de la sauge officinale extraite par hydrodistillation

P52-Figure 25: Spectre d'infrarouge de 2-hydroxyundécane-2-sulfonates de sodium hydrate

P53-Figure 26: chromatogramme CCM de la réaction de 2,4-dinitrophénylhydrazine avec le 2-undécanone

P 55- Figure 27 : Spectre IR de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane

P56-Figure 28: spectre infrarouge de 3-hydroxy-1-isopropyl-4-méthylbicyclo [5,1,0]- hexan-3-sulfonate de sodium

P57-Figure29 : chromatogramme CCM de la réaction de 2,4-dinitrophényl hydrazono-3-thuyle

P59-Figure 30 : Spectre IR de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle

P60-Figure 31 : spectre IR de la régénération de 2-undécanone par l'addition de soude

P62-Figure 32: Spectre IR de 2-undécanone isolé par la réaction avec le 2,4-dinitrophénylhydrazium sulfate

P63-Figure 33 : Spectre IR d'isolation de l' α -thuyone par l'hydrogénosulfite de sodium

P65-Figure 34 : Spectre IRTF de la régénération de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle

Liste des équations

P51-Equation 1 : réaction de formation de 2-hydroxyundécan-2-sulfonate de sodium avec l'hydrogénosulfite de sodium (NaHSO_3)

P53-Equation 2: Réaction de 2-undécanone avec le 2,4-dinitrophénylhydrazuim sulfate

P55- Equation 3 : réaction de l'hydrogénosulfite de sodium avec l' α -thuyone

P57-Equation 4 : réaction de 2,4-dinitrophénylhdrazono-3-thuyle

P59-Equation 5 : Réaction de régénération de 2-undécanone par l'addition de soude

P61-Equation 6 : Réaction de régénération de 2-undécanone par l'hydrolyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane

P62-Equation 7 : réaction de régénération de l' α -thuyone par la soude.

P64-Equation 8: Réaction de régénération de l' α -thuyone par l'hydrolyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle

P66-Equation 9: la forme énol de 2-undécanone

P67-Equation 10: la forme énole de l' α -thuyone

Liste des tableaux

P-38 Tableau n°1 : rendement d'huile essentielle de la rue de montagne obtenu par différent procédés d'extraction

P-39 Tableau n°2 : rendement d'huile essentielle de sauge officinale de obtenu par différent procédés d'extraction

P-40 Tableau n°3 : Caractéristiques organoleptiques de la rue de montagne et la sauge officinale

P-41 Tableau n°4 : caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de la rue de montagne et de la sauge officinale

P-47 Tableau n°5 : les pics du chromatogramme des constituants chimiques d'huile essentielle de la sauge officinale extraite par hydrodistillation

P-48 Tableau n°6 : les pics du chromatogramme des constituants chimiques d'huile essentielle de la sauge officinale extraite par entraînement à la vapeur

P-49 Tableau n°7 : les pics du chromatogramme des constituants chimiques d'huile essentielle de la sauge officinale extraite par hydrodistillation assistée par micro-onde

P-65 Tableau N°8: Rendement des produits avant et après la séparation de 2-undécanone isolé par deux méthodes

Liste des abréviations

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

IRTF : spectroscopie Infrarouge à Transformé de Fourier

HE : Huile Essentielle

HES : Huiles Essentielle

PPI-3 : Pyrophosphate d'Isopentène-3-yle

PPI-2 : Pyrophosphate d'Isopentène-2-yle

IPP : Isoprényl Pyrophosphate

DMAPP : B,B diméthyl allyl pyrophosphate

GPP : Géranyl Pyrophosphate

HDMO : Hydrodistillation assistée par micro-onde

L : litre

AFNOR : Association Française de Normalisation

R_{HE} : rendement en huile essentielle (%)

M_{HE} : masse de l'huile essentielle en gramme.

M_{MV} : masse de matière végétale en gramme.

d²⁰ : La densité relative à 20°C d'une HE

IR : Indice de réfraction

I_A : Indice d'acide

I_E : Indice d'ester

g : gramme

min : minute

NaHSO₃ : Hydrogénosulfate de Sodium

DNPH : 2,4-Dinitrophénylhydrazine

ml : millilitre

CCM : Chromatographie sur couche mince

FID : Détecteur à ionisation de flamme

h : heure

TABLE DES MATIERES

Introduction générale.....	1
Chapitre I : généralités sur les plantes (ruta montana L., et Salvia officinalis)	3
I-1 La rue de montagne.....	3
I-1-1 Introduction.....	3
I-1-2 Classification botanique de la rue de montagne	3
I-1-3 présentation de la rue de montagne	4
I-1-4 Description botanique.....	4
I-1-5 Composition chimique de la rue	4
I-1-6 La toxicité de la rue	5
I-1-7 propriétés et usages	5
I-1-7-1 Effet pesticide	5
I-1-7-2 Culinaire	5
I-1-7-3 Effet thérapeutique.....	6
I-2 Sauge officinale (Salvia officinalis L.).....	7
I-2-1 Introduction	7
I-2-2 Le genre de Salvia	7
I-2-3 Présentation de Salvia officinalis L.	8
I-2-4 Classification botanique	8
I-2-5 Description botanique de la sauge.....	8
I-2-6 Propriétés et usages.....	8
I-2-7 La toxicité de la sauge officinale.....	9
I-2-8 La composition chimique de la sauge officinale.....	9
Chapitre II (Les huiles essentielles)	10

II-1 Introduction	10
II-2 Définition	10
II-3 Localisation des huiles essentielles	11
II-4 Fonction biologique des huiles essentielles au niveau de la plante	11
II-5 Composition chimique des huiles essentielles	11
II-5-1 Composés aromatiques.....	12
II-5-2 Composés terpéniques	12
II-5-2-1 Classification des terpènes.....	12
II-5-2-2 La biosynthèse des squelettes terpéniques.....	13
II-5-2-3 Les monoterpènes	13
II-5-2-3-1 Classification des monoterpènes	14
II-6 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	16
II-7 Procédés d'extraction des huiles essentielles	16
II-7-1 L'entraînement à la vapeur	16
II-7-2 L'hydrodistillation et ses variantes	17
II-7-2-1 Principe	17
II-7-2-2 Utilisation d'appareil Clevenger.....	17
II-7-2-3 Avantages et inconvénients d'hydrodistillation	18
II-7-3 Extraction assistée par micro-ondes.....	19
II-7-3-1 Introduction	19
II-7-3-2 Principe du chauffage par micro-onde	19
II-7-3-3 Réacteurs micro-ondes	19
II-7-3-4 L'hydrodistillation assistée par micro-ondes (HDMO).....	20

II-7-3-5 Avantages et Inconvénients d'extraction assistée par micro-onde	21
II-7-3-5-1 Avantage	21
II-7-3-5-2 Inconvénients	21
II-7-3-6 Les travaux antérieurs sur l'extraction assistée par micro-onde	22
II-7-4 L'expression à froid	22
II-7-5 Extraction par solvants volatils	22
II-3 Les cétones	23
II-3-1 Généralités sur les cétones	23
II-3-1-1 Définition	23
II-3-2 État naturel, distribution, localisation des cétones	23
II-3-3 Propriétés des cétones	23
II-3-4 Toxicité des cétones	24
Chapitre III (Matériels et méthodes)	25
III-1 La région de la plante	25
III-2 Le séchage	26
III-3 Extractions des huiles essentielles	26
III-3-1 Extraction par entraînement à la vapeur	26
III-3-2 Extraction par hydrodistillation	27
III-3-3 Hydrodistillation assistée par micro-onde	29
III-4 Calcul du rendement de l'extraction	30
III-5-1 Mesure des indices physiques	31
III-5-1-1 Densité relative	31
III-5-1-2 Détermination de l'indice de réfraction (IR)	31
III-5-2 Mesures des indices chimiques	32
III-5-2-1 Détermination de l'indice d'acide (I.A)	32
III-5-2-2 Détermination de l'indice d'ester (I.E)	32

III-6 Extraction des Cétones	33
III-6-1 Réaction d'addition de l'hydrogénosulfite de sodium (NaHSO ₃) avec les Cétones	33
III-6-2 Régénération de Cétone par l'hydrolyse de la réaction de de l'hydrogénosulfite de sodium (NaHSO ₃).....	34
III-6-3 condensation par 2,4-Dinitrophénylhydrazine (DNPH)	34
III-6-3-1 Analyse par chromatographie sur couche mince CCM.....	35
III-6-4 Régénération des cétones par l'hydrolyse de la réaction de la 2,4 Dinitrophénylhydrazine (DNPH)	36
III-7 Analyse par spectroscopie Infrarouge à transformé de Fourier (FTIR)	36
III-8 Analyse chromatographique.....	37
III-8-1 Chromatographie en phase gazeuse.....	37
 Chapitre IV Résultats et discussions	38
 IV-1 Extraction d'huile essentielle de <i>Ruta montana L. et Salvia officinalis L.</i>	38
IV-1-1 Rendement en huile essentielle de la Rue de montagne.....	38
IV-1-2 Rendement en huile essentielle de la sauge officinale	39
 IV-2 Caractérisation de l'huile essentielle de la rue de montagne et de la sauge officinale	40
IV-2-1 Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de la rue de montagne et de la sauge officinale	40
IV-2-2 Caractéristique physico-chimique d'huile essentielle de la rue de montagne et la sauge.....	41
 IV-3 Etude chromatographique (chromatographie en phase gazeuse) des huiles essentielles de la rue de montagne	42

IV-4 Analyse d'huile essentielle de la rue de montagne par spectrométrie infrarouge (IRTF)	45
IV-5 Etude chromatographique (chromatographie en phase gazeuse) d'huile essentielle de la sauge officinale	46
IV-6 Analyse d'huile essentielle de la sauge officinale par spectrométrie infrarouge (IRTF)	50
IV-7 Etude des méthodes d'isolation de 2-undécanone à partir d'huile essentielle de la rue de montagne	51
IV-7-1 Etude des réactions d'addition sur le 2-undécanone	51
IV-7-1-1 Réaction d'addition de 2-undécanone avec le bisulfite de sodium	51
IV-7-1-1-1 Analyse hydrate de 2-hydroxyundécan-2-sulfonâtes de sodium par spectrométrie infrarouge (IR)	52
IV-7-1-2 Réaction d'addition de 2-undécanone avec le 2,4-dinitrophénylhydrazonium sulfate	53
IV-7-1-2-1 Analyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane par chromatographie sur couche mince (CCM)	53
IV-7-1-2-2 Analyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane par spectrométrie Infrarouge (IRTF)	54
IV-8 Etude des méthodes d'isolation de α-thuyone à partir d'huile essentielle de la sauge officinale.....	55
IV-8-1 Etude des réactions d'addition sur l' α -thuyone	55
I-8-1-1 Réaction d'addition de l'huile essentielle de la sauge avec le bisulfite de sodium	55
IV-8-1-1-1 Analyse d'hydrate de 3-hydroxy-1-isopropyl-4-méthylbicyclo[5,1,0]-hexan-3-sulfonate de sodium par spectrométrie infrarouge (IR)	56
IV-8-1-2 Réaction d'addition de l' α -thuyone avec le 2,4-dinitrophénylhydrazonium sulfate	57

IV-8-1-2-1 Analyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle par chromatographie sur couche mince (CCM).....	57
IV-8-1-2-2 Analyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane par spectrométrie Infrarouge (IRTF)	58
IV-9 Etude des réactions de régénération des constituants de deux huiles essentielle (Ruta montana et Salvia officinalis)	59
IV-9-1 Réaction de régénération de 2-undécanone par l'addition de soude sur le 2-hydroxy undécane-2-sulfonâtes de sodium	59
IV-9-1-1 Analyse de la régénération de 2-hydroxy undécane-2-sulfonate de sodium	60
IV-9-2 Réaction de régénération de 2-undécanone par l'hydrolyse de 2,4dinitrophénylhydrazono-2-undécane	61
IV-9-2-1 Analyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane par infrarouge (IRTF) ..	62
IV-9-3 La réaction de régénération de 3-hydroxy-1-isopropyl-4-méthylbicyclo [5,1,0]hexan-3-sulfonate de sodium.....	62
IV-9-3-1 Analyse de la régénération de l' α -thuyone par l'hydrolyse 3-hydroxy-1-isopropyl-4- méthylbicyclo[5,1,0]hexan-3-sulfonate de sodium de par IRTF.....	63
IV-9-4 Réaction de régénération de l' α -thuyone par l'hydrolyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle	64
IV-9-4-1 Analyse de la régénération de régénération de l' α -thuyone par l'hydrolyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle	64
IV-9-5 L'influence de la méthode de séparation sur le rendement des produits avant et après la séparation de 2-undécanone et l' α -thuyone	65
Conclusion générale	68

Annexe



Introduction générale

Introduction générale

L'Algérie de par sa position géographique privilégiée, possède une flore particulièrement riche en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existe à l'état spontané [1]. A cette richesse spécifique est associée une originalité sur le plan systématique (nombreuses plantes endémiques), sur le plan phytochimique (spécificité des substances biosynthétisées) et sur le plan pharmacologique.

Cette richesse et cette originalité fait que l'étude de la flore d'Algérie présente un intérêt scientifique « fondamental » pour la connaissance et le savoir dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle mais également un intérêt scientifique « appliqué » dans le domaine de la valorisation des substances naturelles [2].

Les plantes représentent une source immense de molécules chimiques complexes exploitées par l'homme dans l'industrie des parfums, agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. En effet, l'utilisation de ces molécules est encouragée car les produits équivalents issus de synthèses chimiques ont, à tort ou à raison, une mauvaise réputation parmi le grand public. Certaines classes de ces molécules rentrent dans la composition des métabolites secondaires et principalement les huiles essentielles.

La plupart des végétaux renferment des huiles essentielles ; ils sont alors appelés « plantes aromatiques ». Ces huiles essentielles se trouvent dans de nombreuses parties de la plante : le bois, les feuilles, les fruits, les écorces, les graines et les racines. Ce sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines, voire de plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes et de composés aromatiques [3].

Dans le but d'extraire et de séparer des cétones monoterpéniques nous nous sommes intéressés à l'extraction des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Salvia officinalis* L. et *Ruta montana* (Clus) L., dont les constituants principaux sont des monoterpènes. Ces derniers représentent une famille de molécules naturelles abondantes, de faible cout et possédant des propriétés olfactives et biologiques notables.

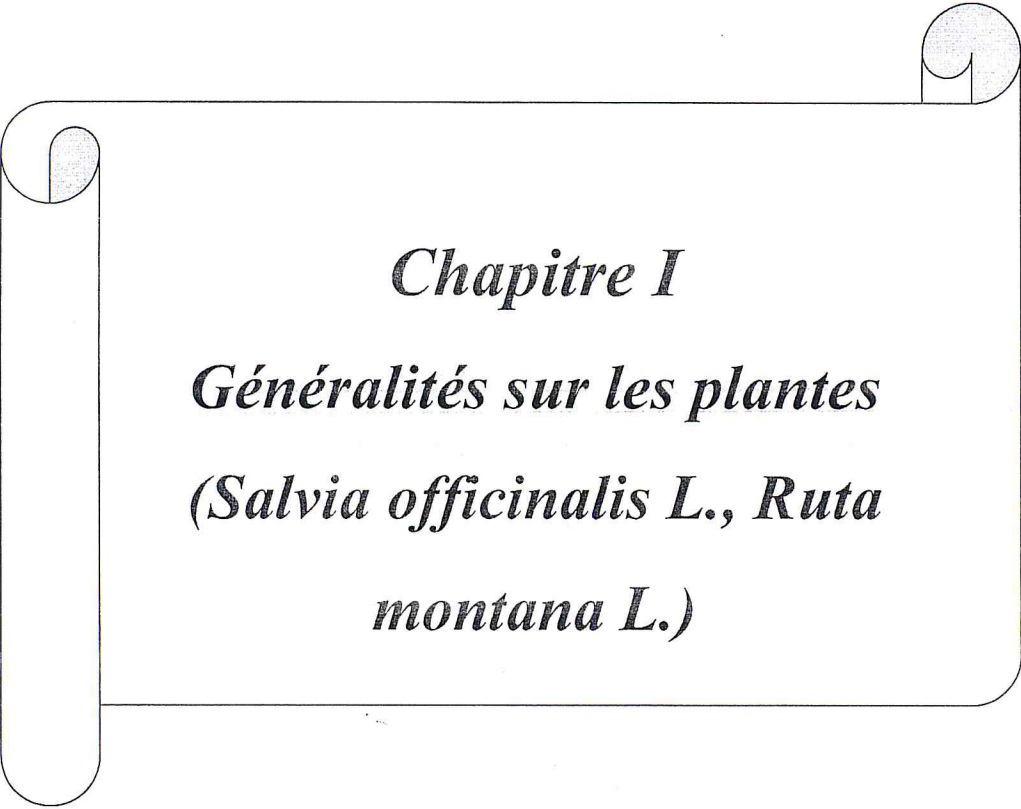
L'isolement de ces substances naturelles passe par leur fonctionnalisation dans le but d'accroître l'activité biologique reconnue de la molécule naturelle ou de découvrir de nouvelles activités. Les constituants principaux de ces huiles essentielles

sont les 2-undécane pour la rue de montagne et l' α -thuyone pour la sauge officinale.

Notre travail expérimental consiste à extraire les huiles essentielles des deux plantes aromatiques *Salvia officinalis L.*, et *Ruta montana L.* puis les identifier par une analyse par spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) et chromatographie en phase gazeuse (CPG), après avoir accédé à la séparation des cétones par les méthodes chimiques en se basant sur les notions de la chimie organique « la réactivité de la fonction carbonyle », dont le travail est réparti en quatre chapitres.

- Le chapitre I est axé sur la description botanique des deux plantes aromatiques *Salvia officinalis L.* et *Ruta montana L.*
- Le chapitre II : Dans ce chapitre, nous avons donné un bref rappel bibliographique sur les huiles essentielles puis nous avons décrit les principales techniques d'extraction.
- Le chapitre III : Ce chapitre a été consacré à la description du matériels et les méthodes utilisés durant notre travail.
- Chapitre IV : Ce chapitre porte sur la discussion des résultats obtenus pendant notre travail expérimentale.

Enfin une conclusion générale qui résume l'ensemble de résultats obtenus.



Chapitre I
Généralités sur les plantes
(Salvia officinalis L., Ruta
montana L.)

Chapitre I

Généralités sur les plantes (*Salvia officinalis L.*, *Ruta montana L.*)

I-1 La rue de montagne

I-1-1 Introduction

Les rutacées doivent leurs noms à la rue et elles comprennent plus de 700 espèces en grande partie arborescentes apparaissent dans les pays tropicaux et tempérés chauds du globe.

Les rutacées s'identifient avec netteté par leurs appareils sécréteurs constitués par des poches sécrétrices d'un type particulier et qui ne sont rencontrées dans aucune autre famille.

Ces poches, toujours superficielles, sont d'origine épidermique c'est ce qui explique qu'il suffit d'écraser légèrement une partie molle d'une rutacée pour qu'une forte odeur d'essence s'en dégage. Très abondant sur les feuilles, elles apparaissent sous forme de points transparents.

Il existe plusieurs centaines d'espèces de *Ruta* :

Ruta montana, *Ruta graveolens* et *Ruta chalepensis* sont les plus connues et utilisées. Les rues sont en effet des plantes médicinales traditionnelles.

Notre étude est limitée seulement à l'espèce de *Ruta montana*, herbe vivace que l'on rencontre à l'état spontané dans les montagnes. Elle possède une odeur désagréable [4].

I-1-2 Classification botanique de la rue de montagne [5,6 et 7]

- ❖ Règne : Végétal
- ❖ Embranchement : Spermaphyte
- ❖ Sous embranchement : Angiospermes
- ❖ Classe : Dicotylédones
- ❖ Sous classe : Dialypétales
- ❖ Série : Disciflores

❖	Sous série :	Diplostémones
❖	Odeur :	Sapindales (Rutales)
❖	Famille :	Rutacées
❖	Sous famille :	Rutoïdées
❖	Genre :	<i>Ruta</i>
❖	Espèce :	<i>Ruta montana</i>

I-1-3 Présentation de la rue de montagne

La Rue de montagne. Appelée communément: *fidjlet el-djbel*, à une odeur fétide très intense, se trouve sur les coteaux arides et dans les endroits secs et pierreux de la région méditerranéenne [8].

I-1-4 Description botanique

La rue est une plante vivace de forme presque arbustive. Sa tige est ligneuse au bas du plan, ses feuilles bleu-vert sont alternes et profondément subdivisées en trois segments spatulés ou oblongs de 15 mm de longueur. Ses fleurs jaune-vert sont disposées en panicule ou corymbe terminale. Les feuilles et les fleurs sont très plates.

La rue émet une odeur très forte, plutôt désagréable et le goût de ses feuilles est très amer et âcre [9].

I-1-5 Composition chimique de la rue

La rue est une plante médicinale qui contient plus de 120 composés chimiques tels que les alcaloïdes, les coumarines, l'huile essentielle, les flavonoïdes, glucides furoquinolines et un peu de tanin repartis sur différentes parties de la plante (les racines, les feuilles et les fleurs).

Beaucoup de ces composés ont une activité biologique, par exemple l'huile essentielle a un effet répulsif sur les insectes et les alcaloïdes et les coumarines ont des propriétés bactéricides [10,11].

Quand à l'huile essentielle de la rue ; ses principaux constituants sont : la nonan-2-one (méthylheptycétone, de teneur comprise entre 3 à 60%) et l'undécane-2-one (méthylnonylcétone, de teneur comprise entre 5 à 80%). Les compositions de ces deux composés varient selon les races chimiques. Les autres constituants sont l'acétate

de 2-nonyl et l'acétate de 2-undecyl, l'isobutyrate de 2-nonyl, du 2-méthylbutyrate de 2-nonyl de pégeiérène, l'acide hexadecanique et curcuphénol.

Le mode d'extraction de cette huile est l'entraînement à la vapeur d'eau avec un rendement de 0.75% à 1.2% à partir de *Ruta montana* [12].

I-1-6 La toxicité de la rue

Les furanocoumarines et l'huile essentielle de la rue (*Ruta montana*), peuvent provoquer des troubles graves [13].

L'huile essentielle provoque des contractions du muscle de l'utérus ainsi que des hémorragies utérines. Les signes d'intoxications par la rue commencent par des troubles digestifs (douleurs, vomissements, hypersalivation) qui s'accompagnent rapidement de signes de choc (hypotension, troubles cardiaques), voire de convulsion. Parallèlement on peut observer des saignements génitaux. Plus tard, et selon la gravité de l'intoxication, il peut se développer une insuffisance rénale et hépatique pouvant conduire au décès [5].

I-1-7 Propriétés et usages

I-1-7-1 Activité pesticide

La rue, de par sa forte odeur et ses composés puissants est utilisée pour le contrôle des ravageurs. Elle est efficace contre les insectes comme les doryphores de la pomme de terre, les tanaïses et les mouches d'étable et les domestiques ainsi que les puces. Et l'extrait à l'éther de leurs graines est efficace contre le puceron de la féverole (*Aphis craccivora*) [14,15].

L'extrait de la rue possède des propriétés antibactériennes mais insensible contre les levures antifongiques. Cependant elle est efficace entre autre contre des maladies de plante telles que la tumeur du collet, la pourriture molle, la pustule bactérienne et la tache bactérienne [16].

I-1-7-2 Culinaire

Au Moyen-Orient, la rue est utilisée dans la fabrication d'un produit à base de beurre de chèvre ou de brebis qui se conserve pendant quatre mois [17].

Les Italiens utilisent la rue pour aromatiser un vin nommée « Grappa con ruta ».la rue aromatisé aussi les alcools de type Vermouth.

Les Africains du Nord utilisent les graines dans la préparation d'un vin de palme appelé « laqmi ».

En Angleterre, les feuilles étaient autrefois bouillies avec de la mélasse pour les conserver longtemps.

En petite quantité également, les feuilles fraîches ou sèches servent à aromatiser les fromages, les viandes, la volaille, les jus de légumes et les ragouts [14,18].

I-1-7-3 activité thérapeutique

La rue est connue depuis longtemps et que le jus ou la sève des feuilles de la rue sert d'antidote contre les morsures de serpents, les piqûres d'insectes et les allergies dues aux plantes et elle est antispasmodique.

Les arabes en mâchent les feuilles, ce qui est sensé calmer tout trouble d'origine nerveuse. Les feuilles fraîches écrasées en application externe soulagent la sciatique. Traditionnellement, la rue était utilisée dans les cas d'épilepsies.

La rue est antihelminthique et elle est aussi bonne pour renforcer les os et les dents [19,20]

I-2 Sauge officinale (*Salvia officinalis* L.)

I-2-1 Introduction

Les Lamiacées constituent une famille très diversifiée avec 224 genres et environ 4000 espèces. Elle est aussi bien répandue dans les zones tropicales que dans les zones tempérées du monde. La plus grande diversité est rencontrée selon cet ordre: le bassin méditerranéen, l'Asie centrale, le continent Américain, les Iles du pacifique, l'Afrique équatoriale et la Chine.

Un des traits les plus caractéristiques de cette famille réside dans le fait que plusieurs genres renferment des terpènes qui sont responsables de l'odeur aromatique de ces plantes et qui sont utilisés dans la médecine traditionnelle et dans les plats de cuisine [21].

Les lamiacées sont des plantes herbacées ou arbustives caractérisées par une tige carrée et des feuilles opposées et décussées (deux paires successives se croisent à angle droit). Ces feuilles sont souvent dentées et recouvertes de petits poils. Les fleurs ont une symétrie bilatérale et les pétales forment des lèvres qui ont donné leur nom à la famille.

L'ensemble de la plante, et plus particulièrement les fleurs et les feuilles, dégage une odeur forte qui varie selon les espèces et les variétés [22].

I-2-2 Le genre de *Salvia*

Le non scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie : *salvia* vient de *salvare* qui est en latin signifie « sauver », il ya une diction qui dit « qui a la sauge dans son jardin, n'a pas besoin de médecin ».

La sauge bénéficiait effectivement d'une réputation dans la Rome antique où elle était considérée comme une plante médicinale de grande valeur [23]. En Egypte, elle était probablement déjà employée 6000 ans avant J.-C.

Les anciens Egyptiens faisaient boire de la sauge aux femmes pour les rendre fertiles. Elle a vraisemblablement été cultivée pour la première fois en Grèce puis introduite en Europe centrale à partir du VIII^e siècle où était cultivée dans les monastères et les jardins.

Dés le moyen âge, elle devint un véritable remède. Elle fait partie des plantes dont la culture recommandée par charlemagne dans l'ordonnancement rural

« Capitulare de villis » [24]. Originaire du pourtour méditerranéen, la sauge est maintenant acclimatée et cultivée dans toute l'Europe et Amérique du Nord [25].

I-2-3 Présentation de *la Sauge officinale*

Nom vernaculaire : [26], [27], [28]

- Arabe : Souak en nebi. –Salma- Kheyet ledjrah.
- Berbère : Agourim imeksaouen – Tazzourt.
- Français : Saugue commune- thé de France.

I-2-4 Classification botanique

- ❖ Règne : végétal
- ❖ Embranchement : spermaphytes
- ❖ Sous-embranchement : Angiospermes
- ❖ Classe : Dicotylédones
- ❖ Sous-classe : Gamopétales
- ❖ Ordre : Lamiales
- ❖ Famille : Lamiacées
- ❖ Genre : *Salvia*
- ❖ Espèce: *Salvia officinalis L.*

I-2-5 Description botanique de la sauge

C'est un sous-arbrisseau buissonnant de 20 à 70 cm de haut. La plante est originaire des régions méditerranéennes. Elle est fortement ramifiée et ligneuse à la base. [29], [27], [26], [30]. La partie inférieure des tiges à l'aspect du bois. Les longues feuilles étroites, disposées en face à face, sont souples et feutrées. Gris verdâtre au printemps, elles deviennent argentées en automne. La sauge fleurit à partir de la mi-mai ou en juin. Au sommet des tiges, les parties labiées se groupent en verticille, comportant généralement six à dix fleurs. La sauge pousse de préférence au soleil, sur des sols légers pas trop humides [31].

I-2-6 Propriétés et usages

La sauge est utilisée depuis l'antiquité. Elles jouissent des multiples propriétés suivantes : stimulante, digestive, antispasmodique, tonique, emménagogue, antihémorragique, antidiarrhéique, antisudoral [24].

En médecine traditionnelle, la sauge a des propriétés oestrogéniques. Elle est utilisée pour arrêter la lactation, en raison de ses propriétés anti-galactogènes. De nos jours, la drogue est employée comme antiphlogistique dans les inflammations buccales

et pharyngées, dans les gingivites et les stomatites, mais aussi comme tisane dans les troubles digestives, les ballonnements, les colites et les diarrhées [26]. Par ailleurs, la sauge est très utilisée pour ses propriétés antioxydantes et antiseptiques. Elle retarde et/ou inhibe le rancissement des corps gras (d'où sans emploi bien connu en charcuterie) [32].

Enfin, la sauge est astringente, cicatrisante et réhydratante et trouve des applications en cosmétologie [23].

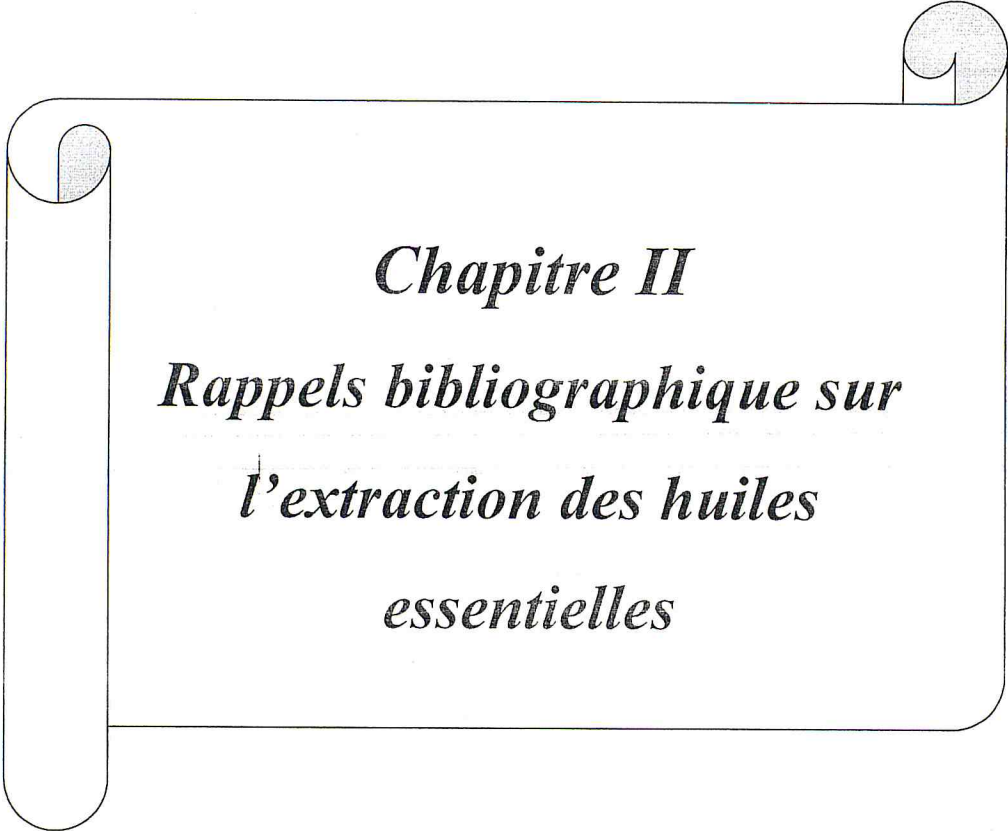
I-2-7 La toxicité de la sauge officinale

La sauge est l'exemple type de la plante pleine de vertus bénéfiques qui peut faire du mal. Les feuilles fraîches de la sauge et son huile essentielle [33].

L'huile de la sauge officinale est neurotoxique, pouvant provoquer des crises nerveuses rappelant l'épilepsie, ainsi que des vomissements. La thuyone et le camphre en sont responsables [34]. Le thuyone contenant dans l'huile essentielle paralyse les terminaisons nerveuses des glandes sudoripares, c'est à dire qu'elle bloque la sueur [35].

I-2-8 La composition chimique de la sauge officinale

Certaines études scientifiques sur l'espèce *Salvia officinalis* ont montré la présence de nombreux composés appartenant principalement aux groupes d'acides phénoliques, les glycosides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanes, des coumarines, des polysaccharides, des stérols, des terpènes et des huiles essentielles [35]. Ces composés extraits de sauge et d'huiles essentielles ont de fortes activités antiradicalaires et les capacités antioxydantes [36], et également des propriétés antibactériennes [38].



Chapitre II
Rappels bibliographique sur
l'extraction des huiles
essentielles

Chapitre II

Les huiles essentielles

II-1 Introduction

Les huiles essentielles sont composées par des molécules aromatiques d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure. Cependant ces huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares, mais toujours précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes une forte demande toujours plus exigeante.

Basée sur différents phénomènes physiques : la distillation, l'extraction ou la séparation, ces techniques d'extraction seront présentées selon le principe sur lequel elles sont basées, et classées en deux catégories distinctes selon le produit final obtenu : une huile essentielle ou un extrait aromatique [39].

II-2 Définition

La pharmacopée française (édition de 1965) donne une définition officielle des huiles essentielles :

« Produit de composition généralement assez complexe renfermant 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 essences ou de certains de leurs organes, et celui par expression ».

Dans la pratique courante, le terme d'essence ou d'huile essentielle est parfois utilisé pour désigner des produits odorants issus de la dégradation enzymatique d'un substrat de la plante. Dans le cas des fruits, on parle d'arômes [40].

II-3 Localisation des huiles essentielles

Les HES peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, rhizomes, fruits et graines. La synthèse et l'accumulation des HES sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent situées sur ou à proximité de la surface des tissus de plantes et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à l'huiles essentielles (*Lauraceae* ou *Zingiberaceae*), dans des poils sécréteurs (*Lamiaceae*), dans des poches sécrétrices (*Myrtaceae* ou *Rutaceae*) ou dans des canaux sécréteurs (*Apiaceae* ou *Asteraceae*).

Elles peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (ylang-ylang, bergamotier, rose,..), les sommités fleuries (tagète, lavande,...), les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier,...), les fruits (ainsi, badiane,...), le bois (bois de rose, santal, ...) ou les graines (ambrette, muscade,...) [41].

II-4 Fonction biologique des huiles essentielles au niveau de la plante

Comme tout métabolite secondaire, le rôle écologique et évolutionnaire des huiles essentielles a été associé à la défense contre les animaux herbivores et les ravageurs des plantes, la guérison de blessure des organes de la plante, la protection contre des insectes nuisibles, la résistances aux attaques microbiennes (propriétés fongicides et bactéricides), la protection de la plante du rayonnement ultraviolet et des oxydants et l'attraction d'insectes et d'animaux intervenant dans la pollinisation. Elles jouent également un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal, et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement et sont par conséquent produites en lus grande quantité dans des conditions extrêmes [42].

II-5 Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles est généralement très complexe d'un double point de vue, à la fois par le nombre élevé de constituants présents et surtout par la diversité considérable de leurs structure.

En effet, elles comprennent deux classes de composés caractérisés par des origines biogénétiques bien distinctes : les **composés terpéniques**, d'une part et les **composés aromatiques** dérivés de phénylpropane d'autre part.

Il existe également d'autres corps qui entrent en faible proportion dans la constitution de certaines huiles essentielles (acides organiques, ester et autre) [43].

II-5-1 Composés aromatiques

Les dérivés du phényl propane (C_6-C_3) sont beaucoup moins fréquents que les composés terpéniques, se sont très souvent des allyles et des propénylphénols, parfois des aldéhydes caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiacées telle que : « Anéthol, Anisaldéhyde, Apiol » mais aussi celle de girofle, de la muscade et de l'estragan [32].

Les huiles essentielles renferment aussi des composés odorants de Type « phénylpropanoïdes » qui empruntent une voie biosynthétique dite de l'acide shikimique conduisent essentiellement à la synthèse de la « tyrosine » (NAZZI, 2003)

II-5-2 Composés terpéniques

La plus grande majorité des terpènes sont spécifiques du règne végétal mais on peut en rencontrer chez les animaux. [44]

Ce sont des produits naturels, formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonées ramifiées dérivées du 2-méthyl butadiène, appelées unités isopréniques [45].

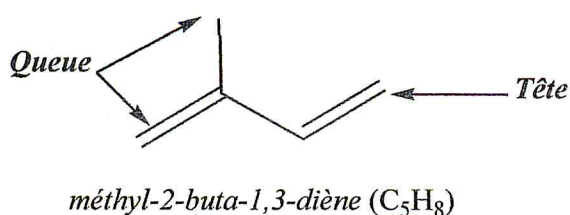


Figure 1 : Squelette d'une unité isoprénique

II-5-2-1 Classification des terpènes [46]

La synthèse d'une grande variété des terpènes, cycliques et non cycliques, dans les plantes, fait intervenir un nombre variable d'éléments isopréniques. Suivant le

nombre entier d'unités pentacarbonés (C_5) x n ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène, on peut faire la classification suivante :

- pour n = 2 : les monoterpènes (C_{10})
- pour n = 3 : les sesquiterpènes (C_{15})
- pour n = 4 : les diterpènes (C_{20})
- pour n = 5 : les sesterpènes (C_{25})
- pour n = 6 : les triterpènes (C_{30})
- pour n = 8 et le caoutchouc naturel : les polyterpènes

II-5-2-2 La biosynthèse des squelettes terpéniques

La synthèse des squelettes terpéniques est la voie de l'acide 3R(+) mévalonique, gouvernée par des enzymes et se déroulant au sein du cytoplasme.

Biogénétiquement, le précurseur universel de tous les terpènes est l'acide mévalonique, obtenu après condensation enzymatique de trois molécules d'acides acétique. Sa phosphorylation suivie d'une décarboxylation aboutit à l'unité isoprénique de base : le pyrophosphate d'isopentène-3-yle (PPI-3) qui en s'isomérisant donne pyrophosphate d'isopentène-2-yle (PPI-2). Sa propriété d'être un agent d'alkylation électrophile lui permet de fixer des unités (PPI-3) donnant une combinaison qui est à l'origine selon le nombre d'unités isopréniques fixées des intermédiaires biosynthétiques suivant : [47]

- Géranylpyrophosphate (C_{10}) : donne naissance aux monoterpènes
- Farnésylpyrophosphate (C_{15}) : aboutit aux sesquiterpènes
- Géranylgéranylpyrophosphate (C_{20}) conduit aux diterpènes

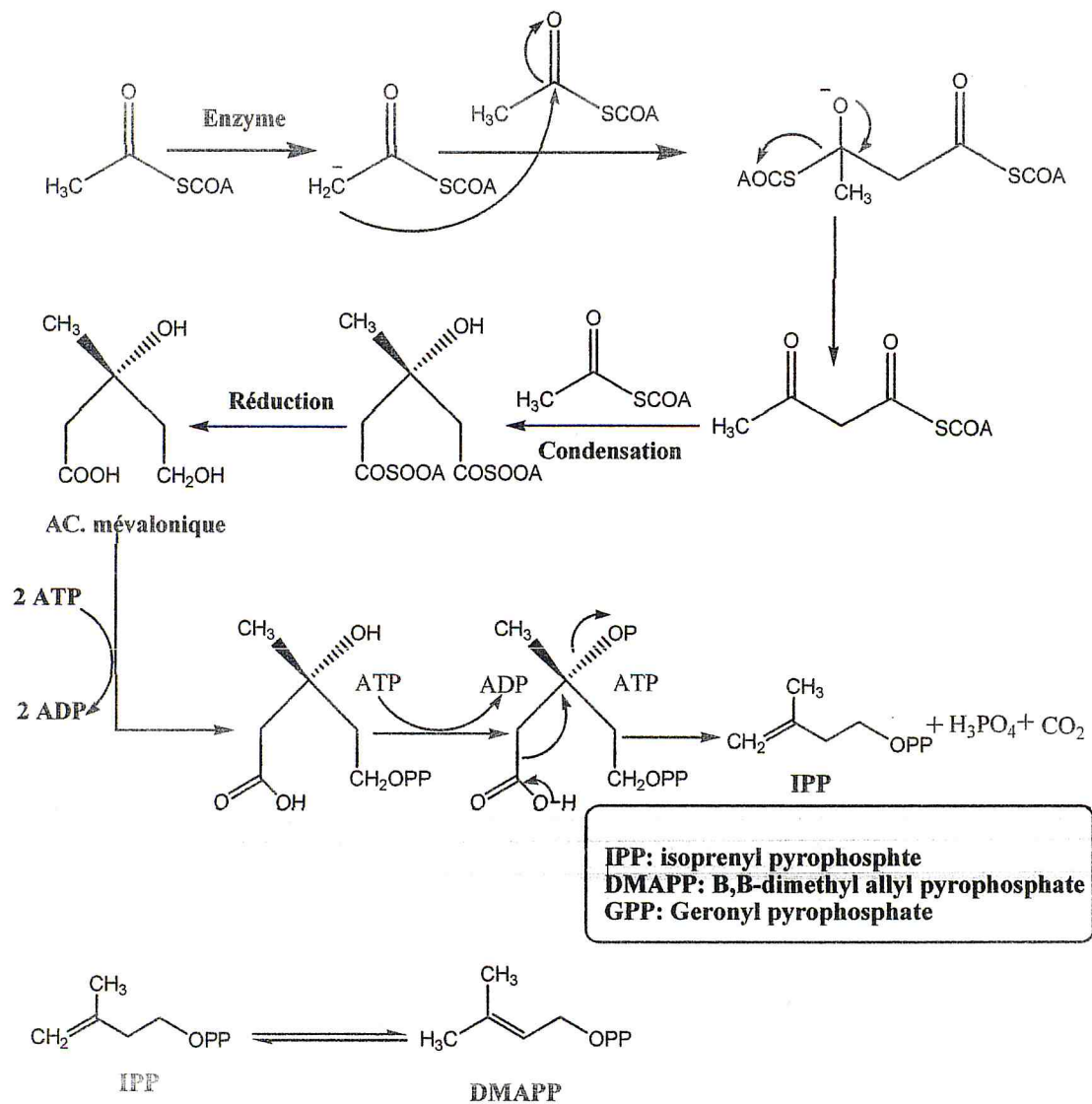


Figure 2 : Biosynthèse des monoterpènes [48]

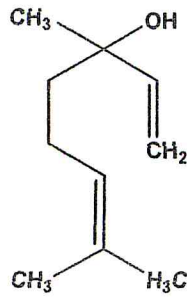
II-5-2-3 Monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%) [49]. Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales.

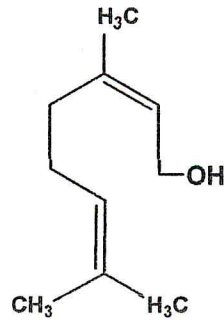
II-5-2-3-1 Classification des monoterpènes

a-Acyclique

Alcools

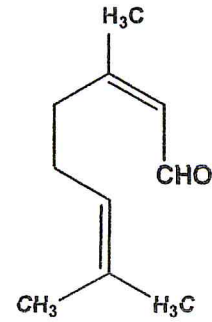


Linalol (Lavande)



Géraniol (Rose)

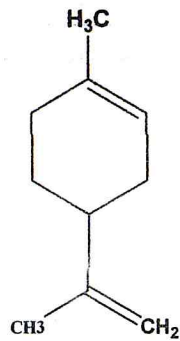
Aldéhydes



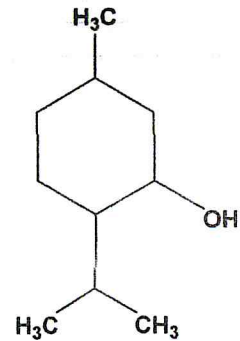
citral (citron)

b- Monocycliques

Carbures

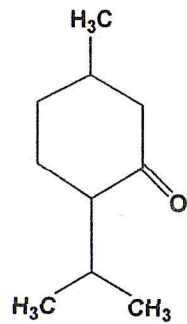


Limonène (citron)

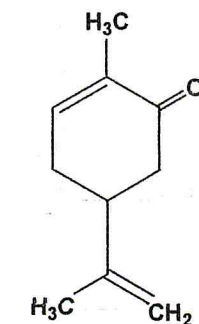


Menthol (Menthe)

Cétones

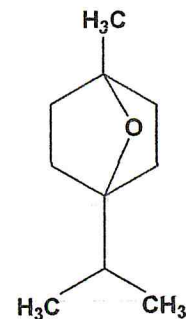


Monthone
Menthe poivrée



Carvone
(Carvi, Menthe)

Ether-oxyde



Eucalyptole
(Eucalyptus)

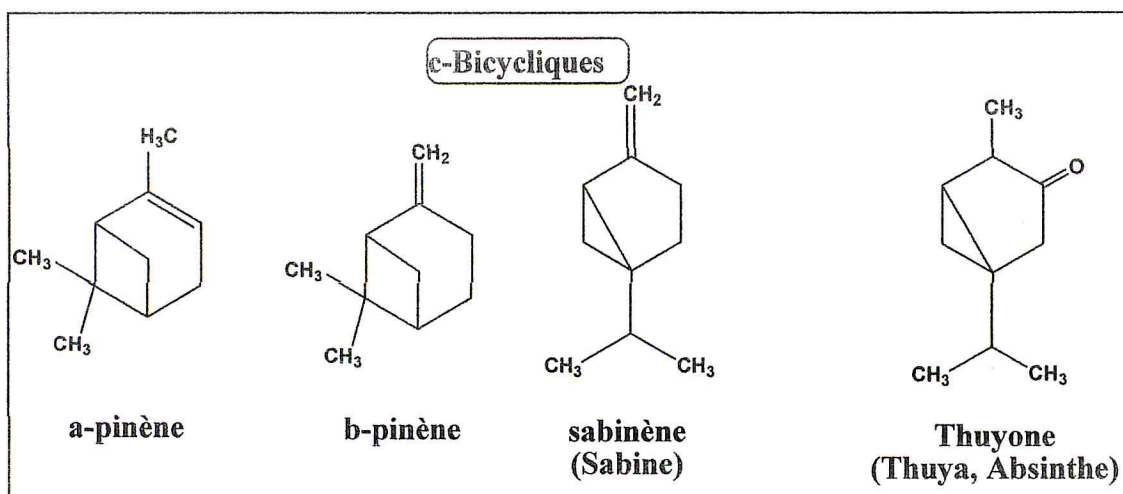


Figure 3 : classification de quelques monoterpènes

II-6 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont généralement liquides, volatiles à la température ambiante et très odorante. Elles sont solubles dans les solvants organiques et très peu solubles dans l'eau. Leur densité est en générale inférieure à 1; seule trois huiles essentielles ont une densité supérieure à celle de l'eau : ce sont les huiles essentielles de cannelle, de girofle, de sassafras. Elles ont un indice de réfraction généralement élevé et la plupart dévient la lumière polarisée [49].

Les huiles essentielles sont sensibles à la lumière et à l'oxydation. Elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation des produits résineux. De même leurs odeurs se modifient, elles peuvent se combiner à l'eau pour former des hydrates, avec la potasse pour donner les composés phénols [50].

II-7 Procédés d'extraction des huiles essentielles

II-7-1 Entraînement à la vapeur

L'entraînement à la vapeur d'eau consiste à récupérer l'huile essentielle des végétaux [51], en faisant passer à travers ces derniers un courant de vapeur d'eau, qui traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est favorisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « vapeur d'eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier, avant

d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

II-7-2 L'hydrodistillation et ses variantes

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité.

II-7-2-1 Principe

Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à l'ébullition généralement à pression atmosphérique.

La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotrope ; sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures.

Ainsi le mélange azéotrope « eau+ huile essentielle » distille à une température inférieure ou égale à 100°C atmosphérique alors que la température d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. Il est ensuite refroidi et condensé dans un essencier ou vase florentin. Une fois condensées, eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : huile essentielle. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation [39]

Le principe de recyclage appelé cohobage. En laboratoire le système équipé d'un cohobe qui généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles en accord avec la pharmacopée Européenne est le Clevenger [52].

II-7-2-2 Utilisation de l'appareil Clevenger

Dans le cas des matrices alimentaires. Les composés aromatisant sont présents en faible concentration et restent en solution dans l'eau. Il est donc nécessaire de réaliser une extraction liquide-liquide de distillat obtenu pour concentrer les composés odorants dans un solvant organique. L'équipement le plus simple utilisé pour réaliser ce type d'extraction est le Clevenger qui permet une extraction en continu en condensant les vapeurs et en réinjectant l'eau condensée dans le ballon. L'ajout d'une petite quantité de solvant de densité inférieure à celle de l'eau (pentane, éther, 1 à 5ml) dans la burette de récupération permet d'extraire en continu les composés organiques avant de recycler l'eau [52].

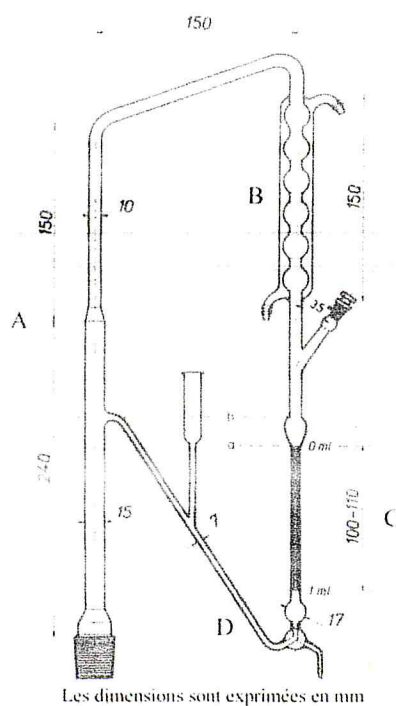


Figure 4 : Appareil Clevenger [53]

II-7-2-3 Avantages et inconvénients d'hydrodistillation

Cette technique facile à mettre en œuvre ne présente pas de risque de toxicité. De plus seuls les composés volatils, donc les arômes, sont entraînés. Cependant, elle n'est pas exempte d'inconvénient. Le chauffage peut engendrer des dégradations pour les composés thermosensibles. Certaines molécules peuvent être facilement hydrolysées, cyclisées, décarboxylées, réarrangées sous l'effet de l'acidité produite par les aliments, en particulier les végétaux frais [52].

II-7-3 Extraction assistée par micro-ondes

II-7-3-1 Introduction

Les huiles essentielles sont généralement obtenues par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger, toutefois de nombreuses techniques ont été développées dans le but de limiter le temps d'extraction, la consommation en eau et en énergie, d'augmenter le rendement d'extraction et d'améliorer la qualité de l'huile essentielle en évitant les dégradations thermiques et hydrolytiques. A côté de la distillation-extraction utilisant un appareil de type Lickens-Nickerson., de l'extraction par fluide supercritique, l'extraction assistée par micro-ondes est considérée comme une méthode alternative pour l'extraction des substances naturelles des végétaux [54].

II-7-3-2 Principe du chauffage par micro-onde [55]

Les micro-ondes sont des rayonnements électromagnétiques de fréquence allant de 0.3 à 300 GHz. Les micro-ondes domestiques et industrielles fonctionnent généralement à 2.45 GHz, mais sont également utilisées à 0.915 GHz aux Etats-Unis et à 0.896 GHz en Europe.

Les micro-ondes peuvent pénétrer les matières biologiques et agir sur les molécules polaires telles que l'eau pour leur communiquer un mouvement de fluctuation ce qui se traduit donc par une augmentation de la température de la matière en question à la profondeur de pénétration. L'extraction assistée par Micro-ondes (EAM) offre un transfert rapide d'énergie et un chauffage simultané de l'ensemble « solvant et matrice végétale solide ». En absorbant l'énergie des micro-ondes, l'eau présente dans la matrice végétale favorise la rupture des cellules facilitant ainsi la libération des produits chimiques de la matrice et améliorant leur extraction (Kaufmann, Christen et al. 2001).

II-7-3-3 Réacteurs micro-ondes

Il existe deux types de réacteurs micro-ondes (figure 5 a): les fours micro-ondes multi-modes (ou domestiques) et les réacteurs micro-ondes monomodes (ou de laboratoire). Les réacteurs multi-modes sont composés d'un ou plusieurs magnétrons qui génèrent le rayonnement micro-ondes (a). L'onde se réfléchit sur les parois du four et forme ainsi un champ réparti de façon hétérogène dans la cavité. Dans le cas des fours à micro-ondes multi-mode, la puissance émise est constante mais le temps

d'impulsion va varier selon la puissance voulue par la consigne (fonctionnement séquentiel). Ce type de réacteur a aussi son application en laboratoire, mais la puissance est dans ce cas variable selon la nécessité et délivrée de façon continue (Joly, 2003). Le contrôle de la réaction dans ces systèmes ne se fait que par le choix d'un pourcentage de la puissance micro-onde pendant un temps.

Les réacteurs monomodes sont aussi constitués d'un magnétron émetteur des micro-ondes, mais cette fois elles sont focalisées sur l'échantillon à irradier par l'intermédiaire d'un guide d'onde. Pour que le chauffage soit homogène, il est nécessaire que la hauteur de l'échantillon soit inférieure ou égale aux dimensions du guide d'onde (figure 5 b). De plus, ce type de réacteur permet de réguler la puissance et/ou la température selon les besoins [56].

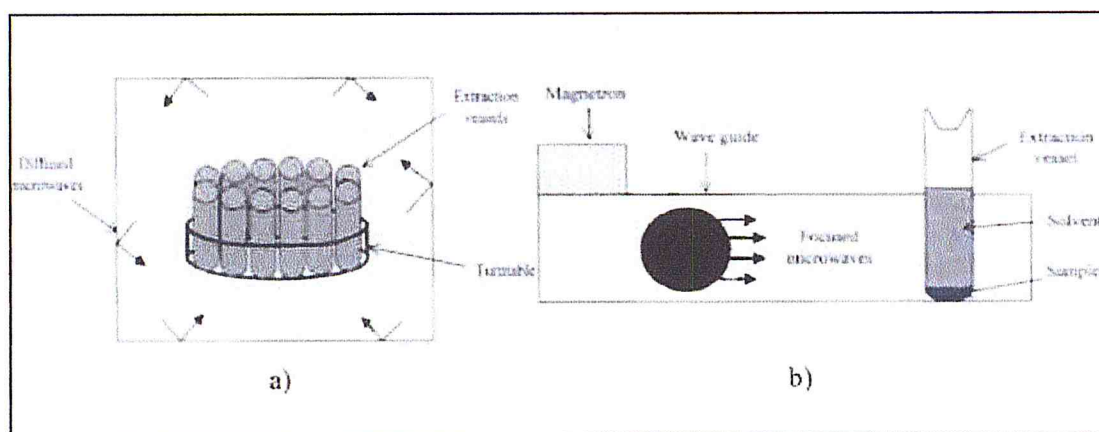


Figure 5 : Principe d'un réacteur micro-ondes, a) multi-mode (*diffused microwaves*), b) monomode (*focused microwaves*). (Tirée et adaptée de: Camel, 2000.) [56]

II-7-3-4 L'hydrodistillation assistée par micro-ondes (HDMO)

Récemment, Stashenko et coll. [57], utilisent un procédé d'hydrodistillation par micro-ondes. Ce procédé basé entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique consiste à placer une partie du montage d'hydrodistillation dans le four à micro-ondes (figure 6). Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un ballon disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four.

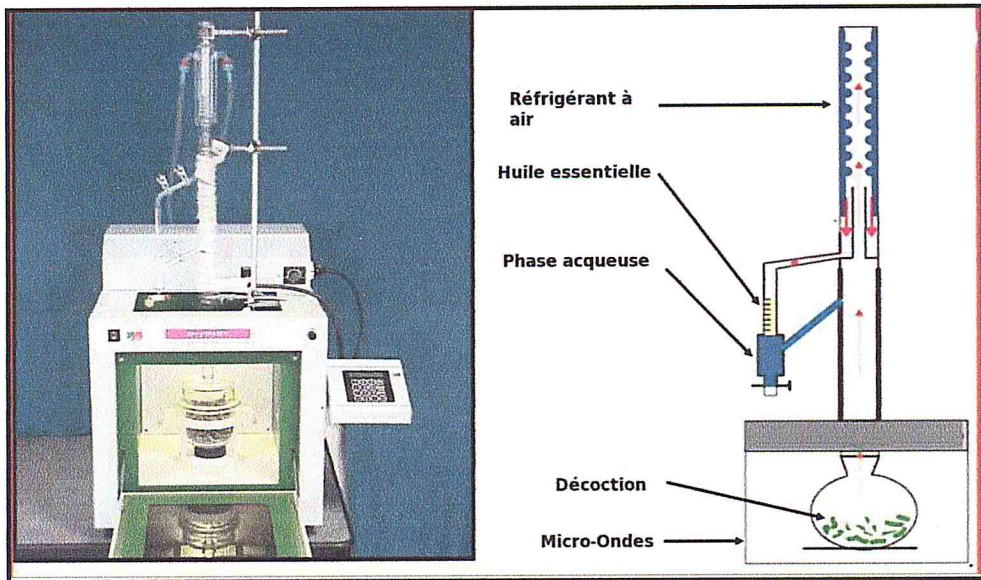


Figure 6 : Montage d'une hydrodistillation assistée par micro-ondes

II-7-3-5 Avantages et Inconvénients d'extraction assistée par micro-onde [58]

II-7-3-5-1 Avantage

- ❖ Technique alternative aux méthodes conventionnelles utilisées pour l'extraction des métabolites secondaires des plantes.
- ❖ Réduction du temps d'opération.
- ❖ Réduction du volume de solvant.
- ❖ Amélioration du rendement d'extraction
- ❖ Comparable à d'autres techniques modernes d'extraction telles que l'extraction par fluides supercritiques de par sa simplicité et son faible coût.
- ❖ Considérant les aspects économiques et pratiques, la technique MAE représente une nouvelle technique d'extraction efficace pour les nutraceutiques

II-7-3-5-2 Inconvénients

- ❖ Pour cette technique, il est nécessaire de prévoir une étape additionnelle de filtration et de centrifugation pour éliminer les fines particules de l'extrait.
- ❖ L'efficacité des micro-ondes peut être de beaucoup réduite si les composés ciblés ou le solvant utilisé sont non polaires ou quand ils sont volatiles.
- ❖ Les fortes températures peuvent provoquer la dégradation des composés bioactifs sensibles à la chaleur.

II-7-3-6 Les travaux antérieurs sur l'extraction assistée par micro-onde

Les études sur l'extraction par micro-ondes de produits naturels ont jusqu'à présent été essentiellement qualitative avec quelques taux d'extraction mesurés.

Notables sont les travaux de Chen et Spiro sur la cinétique d'extraction par micro-ondes de romarin et de feuilles de menthe poivrée dans différents mélanges de solvants d'hexane et d'éthanol [59]. Ils ont indiqué que le chauffage efficace des mélanges d'extraction pourrait augmenter le poids des feuilles en présence d'hexane, tandis que la puissance élevée était nécessaire d'augmenter l'élévation de température lors de l'irradiation des feuilles dans de l'éthanol. En outre, ils ont remarqué que l'extraction rapide a eu lieu dans des mélanges de solvants, comme dans le cas des extractions isotherme [60].

Plusieurs classes de composés tels que l'huile essentielle (Chemat et Lucchesi, 2006), arômes (Kimbaris et al., 2006), les pigments (Sun et al., 2007), antioxydants (Pan et al., 2008), les glycosides et les terpènes (Chen et al., 2007) ont été extraites successivement par différentes techniques d'extraction de micro-ondes [61].

II-7-4 L'expression à froid

Cette méthode est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices.

Dans les agrumes, l'huile essentielle se trouve répartie dans la partie externe du fruit, elle est contenue dans des ovales en forme de ballon appelés sacs d'huile ou glandes délimités par des tissus dégradés. Ces sacs d'huile sont difficilement cassables. Le reste de la matière végétale est soumis à des forces de pression qui détruisent les glandes d'huile essentielle. Afin de faire sortir toute l'huile à récupérer ainsi l'huile est entraînée par un courant d'eau, l'essence est ensuite séparée par décantation [40].

II-7-5 Extraction par solvants volatils

Les huiles essentielles ont la propriété d'être solubles dans la plupart des solvants organiques, particulièrement les hydrocarbures aliphatiques.

La matière végétale est mise en contact avec le solvant dans un extracteur spécifique, à une température bien définie, selon le solvant utilisé, une fois l'extraction terminée, on obtient un produit appelé « concrète » ressemblant à une cire grasseuse à tendance à se solidifier, en raison de la présence de graisses entraînées par le solvant.

En fonction de la technique et du solvant, on obtient :

- des hydrolysats : extraction par solvant en présence d'eau.
- Des alcoolats : extraction avec éthanol dilué.
- Des teintures ou solution non concentrées obtenues à partir de matières premières traitées par éthanol ou mélange éthanol + eau
- Des résinoïdes ou extrait éthanoliques concentrés.
- Des oléorésines et des concrètes qui sont respectivement des extraits à froids et à chaud au moyen de solvant divers. [62]

L'extraction est accompagnée d'un traitement secondaire pour séparer les fractions aromatique des graisses entraînées conjointement. En pratique une extraction à (-20°C) au moyen éthanol dans lequel les matières grasses sont peu solubles pour récupérer l'absolue comportant la majorité des composés odorants.

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée avec l'hydrodistillation.

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'exane, l'éthanol, l'éther de pétrole, et moins fréquemment le Dichlorométhane et l'acétone.

II-3 Chimie des cétones

II-3-1 Généralités sur les cétones

II-3-1-1 Définition

Une cétone est un composé organique, appartenant à la famille des composés carbonylés, dont l'un des carbones porte un groupement carbonyle C=O.

II-3-2 État naturel, distribution, localisation des cétones

On retrouve les cétones (42) par exemple dans :

- L'Hysope (*Hyssopus officinalis* L.) : pinocamphone et isopinocamphone,
- Le Thuya (*Thuja occidentalis* L.) : α -thujone, β -thujone, fenchone,
- La Menthe poivrée (*Mentha piperita* L.) : menthone,
- L'Eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) : pinocarvone.

II-3-3 Propriétés des cétones

Les cétones sont des molécules très actives et rapidement toxiques, dont les propriétés varient en fonction de la dose employée :

- à faible dose, les cétones sont négatives, calmantes et sédatives. Elles sont également immunostimulantes, mucopolypoliques*, anti-infectieuses, anti-

inflammatoires, antiparasitaires, désclérosantes, **anticoagulantes**, **stimulantes de la régénération cutanée** et cicatrisantes ;

- à forte dose ou à des faibles doses répétées (effet cumulatif), elles sont neurotoxiques, stupéfiantes, épileptiques et abortives [40].

II-3-4 Toxicité des cétones

Les cétones présentent une toxicité neurologique et obstétricale, en fonction de la dose employée ; on observera différentes manifestations :

- à dose subtoxique : vertiges, malaises, confusion, puis obnubilation, stupéfaction accompagnée de troubles de la coordination ;
- à dose toxique : crise d'épilepsie, avec nausées et dyspnée ;
- à dose supratoxique : coma pouvant aller jusqu'au décès.

L'utilisation d'une huile essentielle contenant des cétones comme celle d'Hélichryse est donc toujours à contre-indiquer chez la femme enceinte et allaitante, la personne épileptique, l'enfant et à déconseiller aux personnes sensibles aux cétones [53].



Chapitre III
Matériels et Méthodes

Chapitre III

Matériels et méthodes

Ce chapitre a pour objectif l'isolement de 2-undécanone et l' α -thuyone par l'addition de bisulfite de sodium et la réaction de condensation de 2,4-dinitrophénylhydrazine à partir des huiles essentielles de *Ruta montana* L. et leurs identifications par l'analyse IRTF.

III-1 La région de la plante

(*Ruta montana*) récolté de la région d'Oued Djer (Wilaya de Ain Defla).



Figure 7 : La rue de montagne (*Ruta montana*)

La sauge (*Salvia officinalis* L) récolté de la région d'Oued Djer (Wilaya de Ain Defla)



Figure 8 : la sauge (*Salvia officinalis* L)

III-2 Le séchage

La plante de la rue de montagne (*Ruta montana L*) a été séchée sous l'abri de la lumière pendant 15 jours sur des cartons puis conservé dans des sacs en papier.

III-3 Extractions des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle de la rue et de la sauge par entraînement à la vapeur a été réalisée au niveau du laboratoire de chimie organique du département de chimie industrielle et l'extraction par micro-ondes et hydrodistillation a été réalisé au niveau du laboratoire de chimie des substances naturelles du département de l'université de Blida.

III-3-1 Extraction par entraînement à la vapeur

L'huile essentielle a été obtenue par entraînement à la vapeur d'eau avec le dispositif décrit ci-après. (Figure 9)

➤ Présentation du dispositif

Le dispositif utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle comporte quatre parties :

1. Une grande enceinte avec un chauffage intense contenant de l'eau bouillante (source de la vapeur d'eau) munie d'un tube égalisateur de pression (pour éviter les risques d'explosion lorsque la pression sera grande).
2. Une ampoule à décanter liée à la grande enceinte qui sert à la fois de système de sécurité et afin d'essayer d'avoir une vapeur plus ou moins sèche.
3. Un ballon contenant la matière végétale, chauffée (pour garder l'état gazeux de l'eau et éviter sa condensation).
4. Une ampoule à décanter munie d'un système de refroidissement (réfrigérant) pour condenser la vapeur d'eau qui contient l'huile essentielle.

Le montage expérimental de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau est le suivant :



Figure 9 : Montage expérimental de l'extraction par entrainement à la vapeur d'eau

➤ **Mode opératoire**

On introduit 300g de la rue sèche dans un ballon de 2L alimenté par un courant de vapeur d'eau, après avoir vérifié la bonne installation de l'appareillage et le bon fonctionnement du dispositif (figure 9).

La condensation des constituants volatiles entraînés par la vapeur d'eau est récupérée dans une ampoule à décanter, puis verser dans une burette pour avoir une bonne séparation de l'huile essentielle de l'eau.

III-3-2 Extraction par hydrodistillation

L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation en utilisant un appareil de type **Clevenger** avec le dispositif décrit ci-après.

➤ **Présentation du dispositif**

- 1) Une chauffe ballon qui sert à chauffer le contenu du ballon
- 2) Un ballon de 2L qui contient de la matière végétale
- 3) Un appareil de type Clevenger lié directement qui comporte 4 partie :
 - La première partie est celle qui transporte la vapeur d'eau et les composés volatils vers le réfrigérant.

- Un système de réfrigération « réfrigérant » qui sert à condenser les vapeurs.
- Un système de piégeage de l'huile essentielle.
- Un système de cohobation qui permet de recycler l'eau vers le ballon.



Figure 10 : Montage expérimental de l'extraction par hydrodistillation

➤ **Mode opératoire**

Dans un ballon de 2l on introduit 300 g de la matière végétale (sauge- rue de montagne) accompagnée de 800 ml d'eau distillée, puis chauffés pendant 90 min après obtention de la première goutte d'huile essentielle. Grâce au système de cohobation la quantité d'eau au sein du ballon est quasiment la même tout au long de la distillation. L'huile essentielle obtenue est séparée de l'eau par simple décantation. Aucun solvant organique n'est utilisé au cours de ce protocole. L'huile essentielle est au préalable placée sur desséchant de type sulfate de magnésium ($MgSO_4$), afin d'éliminer toute trace éventuelle d'eau, puis est pesée afin de calculer le rendement de l'extraction par rapport à la masse de matériel végétal sec.

III-3-3 Hydrodistillation assistée par micro-onde

L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation par micro-onde en utilisant un appareil de type Clevenger avec le dispositif décrit ci-après.

➤ **Présentation du dispositif**

1. Un four micro-onde
2. Réacteur : c'est un ballon de 500ml
3. Un dispositif de type Clevenger

➤ **Mode opératoire**

On place dans un réacteur du type ballon de 500ml une masse de 50g de matière végétale (Rue de montagne, Sauge) immergé dans de l'eau distillée. Le ballon est ensuite placé dans la cavité du four micro-onde à pression atmosphérique. La durée totale d'une extraction assistée par micro-onde a donc été fixée pour 30 min avec une puissance de 300 W

Grâce au système de cohobation, le taux d'humidité au sein du ballon reste constant tout au long de l'extraction. La température initiale au sein du réacteur et voisine de la température ambiante du laboratoire soit 20°C. Par la suite, grâce au chauffage, la température de la matrice (Rue de montagne, sauge) augmente jusqu'à atteindre 100°C. L'huile essentielle obtenue par une simple décantation.

Aucun solvant organique n'est utilisé au cours de ce protocole.

L'huile essentielle est placée au préalable sur un desséchant de type sulfate de magnésium (Mg_2SO_4), afin d'éliminer toute trace éventuelle d'eau. L'huile essentielle est conservée dans un réfrigérateur à température de 4°C.

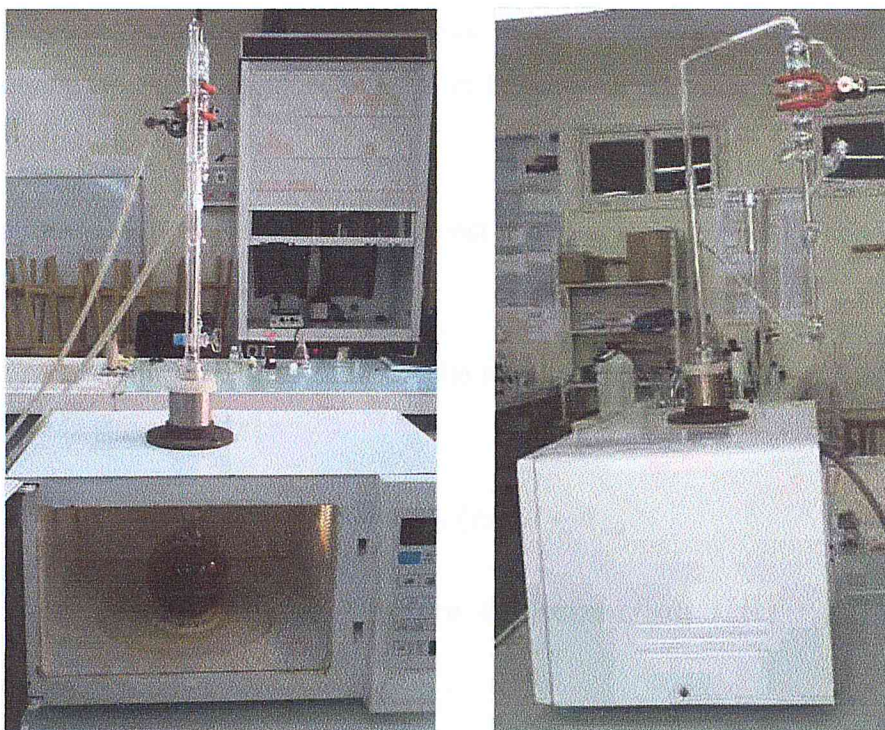


Figure 11 : Montage expérimental de l'extraction assistée par Micro-onde

III-4 Calcul du rendement de l'extraction

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre la masse d'huile essentielle extraite et la masse de la matière végétale utilisée (AFNOR, 2000). Le rendement exprime en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R_{HE} = \frac{M_{HE}}{M_{MV}} * 100$$

R_{HE} : rendement en huile essentielle (%).

M_{HE} : masse de l'huile essentielle en gramme.

M_{MV} : masse de matière végétale en gramme.

III-5 Propriétés physico-chimiques et organoleptiques

L'appréciation des caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles consiste à évaluer l'aspect, l'odeur, la couleur et la saveur, en utilisant les sens.

III-5-1 Mesure des indices physiques

III-5-1-1 Densité relative

III-5-2 Mesures des indices chimiques

III-5-2-1 Détermination de l'indice d'acide (I.A) : (NF ISO 1242 :1999 (T 75-103)

C'est le nombre en mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'HE. Les acides libres sont neutralisés par une solution éthanolique titrée de KOH. (AFNOR, 2000)

L'indice d'acide (IA) est calculé par la relation :

$$IA = V.C. \frac{56,11}{m}$$

IA : indice d'acide

V : est le volume, en ml, de solution de KOH utilisé pour le titrage ;

C : est la concentration exacte, en moles par litres, de la solution de KOH ;

m : est la masse, en grammes, de l'huile essentielle.

III-5-2-2 Détermination de l'indice d'ester (I.E) : (AFNOR NF T 75-104 : 1994)

C'est le nombre en mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1 g d'HE. (AFNOR, 2000)

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

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

Où :

IE : Indice d'ester ;

V₀ : est le volume, ml, de la solution de HCl utilisé pour l'essai à blanc ;

V₁ : est le volume, ml, de la solution de HCl utilisé pour la détermination ;

m : est la masse, en grammes, de l'huile essentielle ;

IA : est la valeur de l'indice d'acide déterminé selon la norme NF T 75-

103

III-6 extraction des Cétones

III-6-1 Réaction d'addition de l'hydrogénosulfite de sodium (NaHSO₃) avec les Cétones

L'hydrogénosulfite de sodium (NaHSO₃) s'additionne aux aldéhydes et à certaines cétones pour donner une substance cristalline appelée combinaison bisulfitique. On s'en sert pour purifier les aldéhydes ou certaines cétones ou pour les isoler d'un mélange. L'aldéhyde ou la cétone est facilement régénérée en décomposant la combinaison bisulfitique par une base ou un acide dilué. Le mécanisme d'addition de l'hydrogénosulfite de sodium est le suivant :

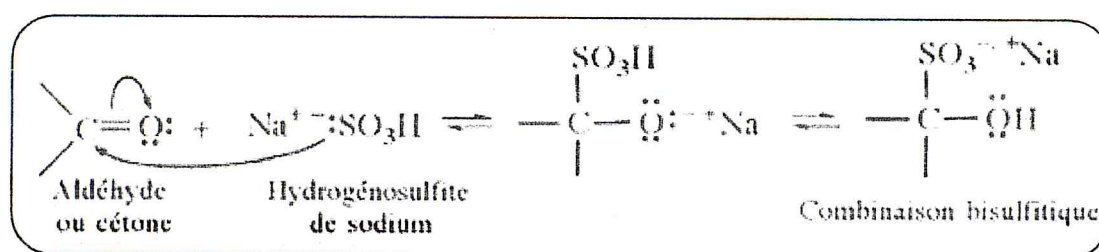


Figure 13 : Mécanisme de l'addition de l'hydrogénosulfite de sodium avec les cétones

Les aldéhydes ou les cétones, qui sont en général difficilement solubles dans l'eau, sont transformés en composés bisulfitiques solubles. Ce procédé est utilisé comme méthodes de purification des aldéhydes et des cétones car la plupart des impuretés ne sont pas solubles en milieu aqueux [64].

Dans notre travail on s'intéresse notamment aux cétones car les huiles essentielles de la Rue de montagne et la Sauge officinale ont comme composés majoritaires les cétones.

➤ Mode opératoire

6ml d'une solution de bisulfite de sodium (NaHSO₃) à 50% est ajouté à 1g d'huile essentielle (rue de montagne- sauge) sous une agitation magnétique pendant 1h.

Le précipité formé est filtré sur Buchner puis laver avec une petite quantité d'éthanol. Le sel obtenu est séché ensuite pesé.

III-6-2 Régénération de Cétone par l'hydrolyse de la réaction de l'hydrogénosulfite de sodium (NaHSO₃)

La régénération de cétones est faite par un simple hydrolyse de la combinaison bisulfitique en ajoutant 10.5 ml de NaOH au précipité blanc obtenu, sous une agitation magnétique à température ambiante pendant 30min. il se forme deux phase hétérogène, une phase supérieur est celle de la phase organique et une phase inférieur est celle de la phase aqueuse. La phase organique est récupérée, lavée avec de l'eau ensuite elle est séchée avec une petite quantité de Na₂SO₄.

III-6-3 Condensation par le 2,4-Dinitrophénylhydrazine (DNPH)

La fonction carbonyle peut être attaquée par les amines, qui sont également de bons nucléophiles. Cette propriété est utilisée dans un test caractéristique de la fonction carbonyle. En présence de 2,4-DNPH (abréviation usuelle de la 2,4-Dinitrophénylhydrazine), les aldéhydes et les cétones forment un précipité jaune-orange de 2,4-Dinitrophénylhydrazone. La présence de ce précipité coloré est le signe de l'existence d'une fonction carbonyle dans un composé.

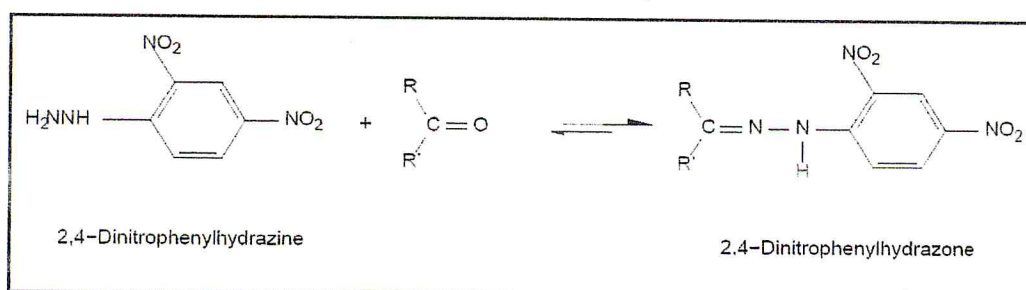


Figure 14 : Réaction d'addition de 2,4-dinitrophénylhydrazine avec les cétones

Les 2,4-Dinitrophénylhydrazones sont des composés à température de fusion caractéristique, la mesure de celle-ci permet l'identification de l'aldéhyde ou de la cétone de départ. Il existe des tables donnant les températures de fusion des aldéhydes et des cétones connues. Cependant, cette méthode est désuète, l'identification des composés organiques se faisant dorénavant par des techniques spectroscopiques [65].

➤ Mode opératoire

Dans un petit bécher on met 1mmoles (0.198 g) de 2,4-Dinitrophénylhydrazine en ajoute 5ml de l'éthanol sous une agitation magnétique ensuite on ajoute l'acide sulfurique (98%, 0.25 ml) goutte à goutte à température

ambiante. On verse 1 mmole (0.17g) de l'huile essentielle de la rue de montagne, on porte le mélange au chauffage à reflux pendant 30 min. on filtre le précipité orange obtenu puis en faire la recristallisation avec de l'éthanol.

Pour l'huile essentielle de la sauge, on suit les mêmes étapes précédentes, pour 1mmole (0.198 g) de 2,4-Dinitrophénylhydrazine on ajoute 1mmole (0.152g) de l'huile essentielle de la sauge

III-6-3-1 Analyse par chromatographie sur couche mince CCM

Le suivi de la réaction de 2,4-Dinitrophénylhydrazine avec les deux huiles essentielles (HE de la Sauge- HE de la Rue) par chromatographie sur couche mince a permis de mettre en évidence l'apparition d'un nouveau produit de condensation.

Le produit formé est solubilisé dans du Dichlorométhane CH_2Cl_2 ainsi que notre étalon le 2,4-Dinitrophénylhydrazine, à l'aide d'un tube capillaire on met un spot sur une ligne tracée de l'extrémité inférieur de la plaque au boue de 1cm, puis en met la plaque dans une cuve d'éluion qui contient le Dichlorométhane CH_2Cl_2 comme éluant.

III-6-4 Régénération des cétones par l'hydrolyse de la réaction de la 2,4-Dinitrophénylhydrazine (DNPH)

Pour la régénération de la cétone des deux huiles essentielles (HE de la rue, HE de la sauge), on fait une hydrolyse, en ajoutant au précipité formé 10.5 ml de solution de HCl de 10% et on porte le mélange à reflux pendant 30min.

-On filtre le précipité obtenu puis on procède à l'analyse infrarouge.

III-7 Analyse par spectroscopie Infrarouge à transformé de Fourier (FTIR)

Principe

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier permet d'identifier certaines fonctions chimiques présentes à la surface d'un matériau ainsi que certaines phases présentes dans l'échantillon. Cette technique est basée sur l'absorption par les matériaux des rayonnements électromagnétiques (dans le domaine de l'infrarouge, de

2,5 à 25 μm) qui vont entraîner des mouvements de vibrations des liaisons chimiques (Deniau, 2002). Les vibrations mises en jeu sont de deux types : les vibrations de valence et les vibrations de déformation [66].

L'analyse qualitative des composés carbonylés des huiles essentielles de la rue de montagne et la sauge officinale étant réalisé par un spectrophotomètre FTIR à transformée de fourrier de marque **TENSOR 27**. Les spectres sont enregistrés à température ambiante à l'aide d'un spectrophotomètre piloté par un ordinateur grâce au logiciel spécial.

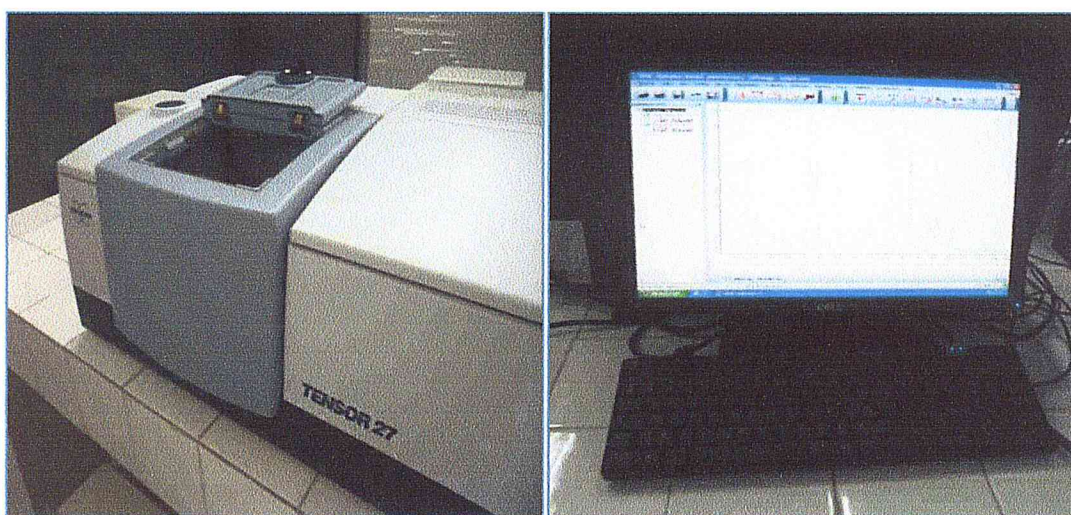


Figure 15 : un spectrophotomètre FTIR à transformée de fourrier de marque TENSOR 27

➤ Préparations des échantillons

Pour la mesure par transmission, on a préparé notre substance à analyser sous forme d'une pastille en utilisant la méthode suivante :

L'échantillon à analyser sous forme de poudre est broyé dans un mortier avec le bromure de potassium (KBr) (1mg d'échantillon avec 100 mg de KBr). Pour les échantillons sous forme liquide, on versée une goutte du liquide sur la pastille en KBr

III-8 Analyse chromatographique



Chapitre IV
Résultats et Discussion

III-8-1 Chromatographie en phase gazeuse

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. Les progrès technologiques réalisés dans le domaine des colonnes capillaires, des phases stationnaires et des détecteurs (FID) ont contribué à rendre la CPG incontournable pour l'analyse des huiles essentielles.

L'analyse des huiles essentielles de la Rue et de la Sauge par chromatographie en phase gazeuse a été réalisée au laboratoire de méthodes physiques d'analyse au département de chimie industrielle à l'Université de Blida.

➤ Conditions d'analyse

Les échantillons sont injectés (température d'injection 250°C) dans une colonne capillaire OV17 (longueur : 30 m, d.i : 0.25mm, épaisseur du film : 0.25µm) élué par de l'hélium à 0.3 ml/min avec un rapport Split de 10.

La température de la colonne est programmée en isotherme à 40°C pendant 2min, ensuite la température est portée à 260°C avec un gradient de 5°C/min. La séquence s'achève après 32min en isotherme avec un débit de 20ml/min et une pression de 80mPa.



Figure 16 : Chromatographe en phase gazeuse

Chapitre IV

Résultats et discussions

IV-1 Extraction d'huile essentielle de *Ruta montana L.* et *Salvia officinalis L.*

L'huile essentielle de la rue de montagne et la sauge officinale ont été extraites par trois procédés d'extraction (Hydrodistillation, entraînement à la vapeur et hydrodistillation assistée par micro-onde) à l'échelle laboratoire.

L'étude du rendement en huile essentielle a été effectuée en fonction de la partie aérienne sèche de la plante.

IV-1-1 Rendement en huile essentielle de la Rue de montagne

Tableau n°1 : rendement d'huile essentielle de la Rue de montagne obtenu par différents procédés d'extraction

	Entraînement à la vapeur	Hydrodistillation	Micro-onde
t (min)	90	90	30
Rendement (%)	2,02	0,42	0,97

Il apparaît au vu des résultats du tableau n°1 que le rendement d'huile essentielle de la *Rue de montagne* obtenu par entraînement à la vapeur est de 2.02%, cette valeur étant supérieure que celle obtenue par hydrodistillation assistée par Micro-onde est de 0.97%, et celle obtenue par hydrodistillation 1%. Le rendement d'huile essentielle obtenu par extraction par hydrodistillation assistée par micro onde est supérieur avec un temps d'épuisement court de 30min à ce obtenu par hydrodistillation dans 90 min. Cette différence du rendement est due en premier à la localisation d'huile essentielle de la rue se situant dans des poches sécrétrices de la plante des (glandes superficielles) ce qui rend l'extraction par entraînement à la vapeur est la meilleure méthode pour notre plante afin d'éviter les phénomènes d'hydrolyse et d'estérification.

Le rendement en huile essentielle de la rue de montagne obtenu par les trois procédés reste inférieur en comparant avec le rendement étudié par (Zellagui, *et al*) dont l'extraction des parties aériennes sèches de *Ruta montana* poussent dans Mila (région sub-humide) par hydrodistillation dotée de 4,5% d'une huile jaunâtre. Toutefois, le même *Ruta montana* recueillies au près d'Oum ElBouaghi (région semi-aride) a donné seulement 1,5%.

IV-1-2 Rendement en huile essentielle de la sauge officinale

Tableau n°2 : rendement d'huile essentielle de sauge officinale de obtenu par différent procédés d'extraction

	Entrainement à la vapeur	Hydrodistillation	Micro-onde
t (min)	90	90	30
Rendement (%)	0,89	1,0	0,71

L'analyse des résultats du **tableau n°2** montre que la valeur du rendement en huile essentielle de la sauge étant importante de 1% dans l'extraction par hydrodistillation dans un temps d'épuisement de 90 min. Toutes fois, elle est supérieure aux valeurs du rendement obtenu par hydrodistillation assistée par micro-onde de 0,71% et par entrainement à la vapeur de 0,89%, dont le temps d'extraction est duré 90 min. Cette différence dans le rendement peut s'exprimer toujours par la localisation des huiles essentielles de la sauge officinale où il faut faire des coupes histologiques.

Ces valeurs du rendement restent supérieures en comparant avec celle de (T. *Dob et al*) d'où l'extraction des parties aériennes sèches de *salvia officinalis L.* cueillit en juin par hydrodistillation pendant 3h donne un rendement de 0,9% de l'huile jaune claire de *salvia officinalis L.* En outre, d'après les travaux de (S. *Djeddi, et al*) L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation pendant 120 min de couleur blanche a donnée un rendement de 0,08%.

Plusieurs études ont été menée pour trouver une explication aux variations qui affectent le rendement en HE et de cerner la période adéquate à même de garantir

l'obtention d'une grande quantité d'essence aromatique. Les conclusions qui en découlent de ces travaux révèlent que d'une façon générale, le rendement en HE est tributaire de plusieurs paramètres. Parmi ces paramètres on trouve : Les méthodes d'extraction (Gomes, 2007), les pratiques culturales (utilisation des engrais organiques (Ram et al, 2002 ; Araya et al, 2006) ou élimination des mauvaises herbes (Rao et al, 2005)) exercent une grande influence sur la quantité d'essences végétales susceptibles d'être sécrétées par les plantes à parfum.

IV-2 Caractérisation de l'huile essentielle de la rue de montagne et de la sauge officinale

IV-2-1 Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de la rue de montagne et de la sauge officinale

Tableau n°3 : Caractéristiques organoleptiques de la rue de montagne et la sauge officinale

	HE de la rue de montagne		HE de la sauge officinale	
	Nos résultats	AFNOR	Nos résultats	AFNOR
Aspect	Liquide visqueux	Liquide mobile à la température de 20°C, cristallisant à basse température	Liquide	Liquide mobile, limpide
Couleur	Jaune pâle	Couleur jaune à jaune clair	Jaunâtre	incolore à jaune
Odeur	Odeur Caractéristique de la plante	Odeur caractéristique, grasse	Caractéristique de la plante, camphrée	Odeur caractéristique camphrée, un peu épicée, à goût piquant et amer

Les résultats du **tableau n°3** montrent que les caractéristiques organoleptiques des deux huiles essentielles de la rue de montagne et de la sauge sont conformes aux normes AFNOR (2000) [67].

IV-2-2 Caractéristique physico-chimique d'huile essentielle de la rue de montagne et la sauge

Le contrôle des paramètres physico-chimiques des huiles essentielles pour les deux plantes, *Ruta montana L.* et *Salvia officinalis L.*, a été déterminé selon des méthodes de référence. Les résultats sont rapportés dans le (**tableau n°4**)

Tableau n°4 : caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de la rue de montagne et de la sauge officinale

	HE de la rue	HE de la sauge
Densité d_{20}	0,83	0,89
Indice de réfraction n_D^{20}	1,4320	1,5674
Indice d'acide I_A	5,71	7,48
Indice d'ester I_E	24,69	80,75

D'après les résultats représentés dans le **tableau n°4**, concernant les constantes chimiques, les valeurs trouvées de l'indice d'acides demeurent faibles, pour l'HE de la sauge l'indice d'acide est de 7,48 et pour l'HE de la rue est de 5,71, ces valeurs nous permettent de dire que les huiles essentielles des deux plantes ont un taux faible des acides libres. Pour les valeurs de l'indice d'ester l'HE de la rue est 24.69 cette valeur révèle que l'huile essentielle de la rue est faible en ester par contre l'huile essentielle de la sauge a un indice d'ester un peut élevée en comparant avec celle trouvé par (*S. Djeddi, Et al*) d'où l'indice d'ester est 53,38 pour la même espèce *Salvia officinalis* [68].

Pour ce qui est des paramètres physiques, les densités à 20 °C, des huiles essentielles de la rue (0,83) et de la sauge (0,89) sont conformes aux densités trouvées par AFNOR dont la densité de la sauge est (0,93) et la densité de la rue est (0,83). Ceci explique leur non miscibilité aux solutions aqueuses. De ce qui concerne les

indices de réfraction des deux huiles essentielles de la rue 1,432 et de la sauge 1,567 sont supérieurs cela peut s'exprimer par le fait que les deux plantes sont riches en constituants chimiques.

IV-3 Etude chromatographique (chromatographie en phase gazeuse) des huiles essentielles de la rue de montagne

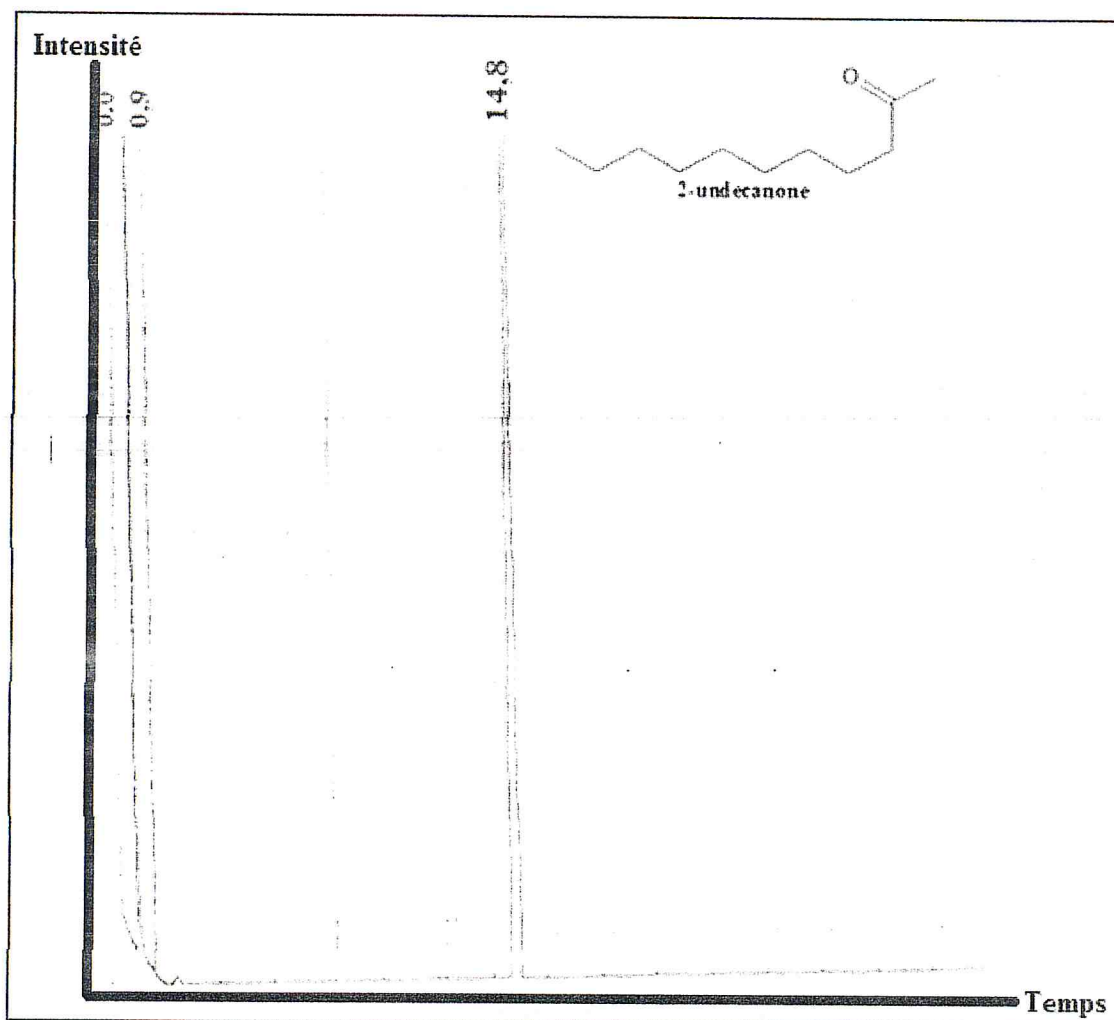


Figure 17 : Chromatogramme d'huile essentielle de la rue de montagne extraite par Entraînement à la vapeur

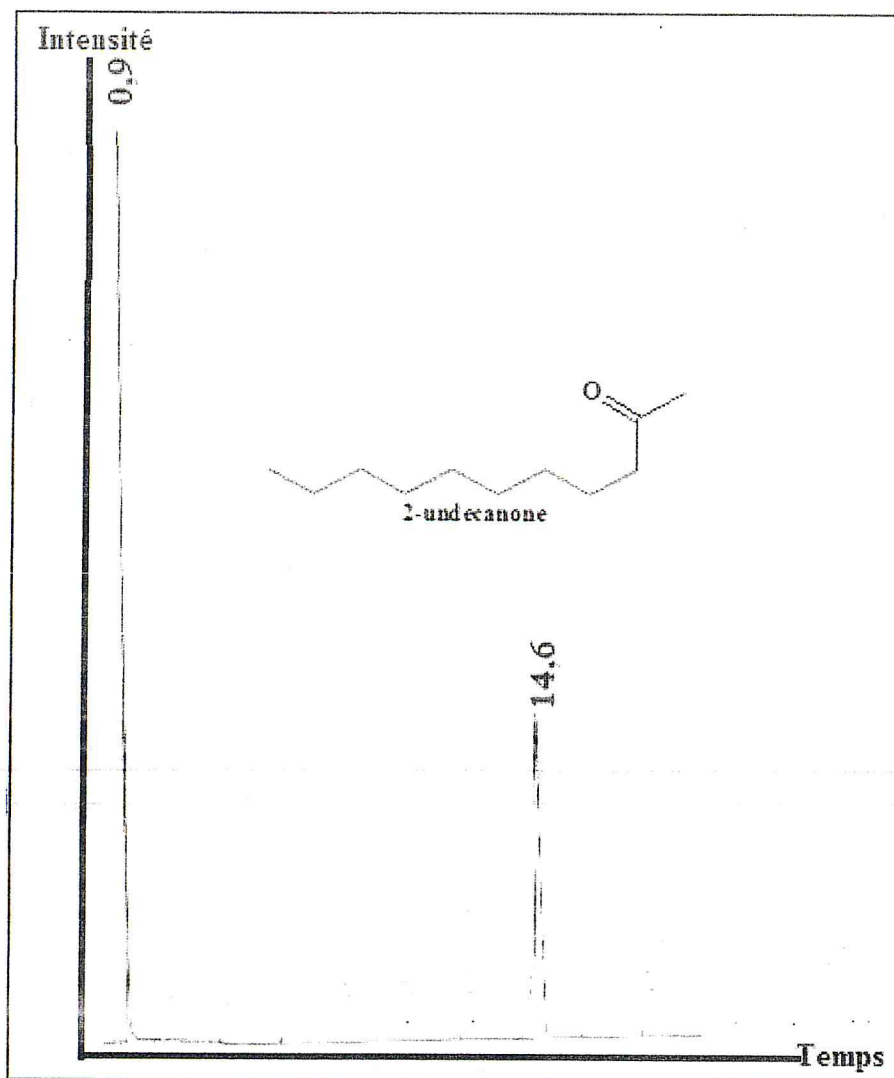


Figure 18 : Chromatogramme d'huile essentielle de la rue de montagne extraite par Hydrodistillation



Figure 19: Chromatogramme d'huile essentielle de la rue de montagne extraite par Hydrodistillation assistée par Micro-onde

Les chromatogrammes (CPG) d'huile essentielle de la rue de montagne extraite par trois procédés (entraînement à la vapeur, hydrodistillation et hydrodistillation assistée par micro-onde) représentés dans les figures (17, 18, 19) montre la présence du pic intense avec un indice de rétention de 0,91 min est celle de méthanol et un deuxième pic avec un indice de rétention de 14,64 min du composé majoritaire de l'huile essentielle de la rue qui est le 2-undécanone.

Par le manque des étalons et la non disponibilité de l'analyse CG/MS, l'identification de la composition chimique de la rue par CPG reste incomplète. Par ailleurs, et sur la base de plusieurs études antérieures sur la même espèce parmi eux :

Les études qui ont été effectués sur *Ruta montana L.* en Algérie (2011), dont le but a été réalisé sur une étude sur l'extraction et la comparaison de l'activité bactéricide et insecticide d'huile essentielle de *Ruta montana* [69].

L'huile essentielle de la rue de montagne extraite par l'entraînement à la vapeur d'eau, a été analysée par la CG/SM. Cette analyse a révélé que l'HE de la rue (*Ruta montana*) est composé essentiellement de cétones aliphatiques, et le constituant majoritaire de cette huile est le 2-undécanone (59,34 %).

IV-4 Analyse d'huile essentielle de la rue de montagne par spectrométrie infrarouge (IRTF)

La figure 20 montre le spectre IRTF d'huile essentielle de la Rue de montagne égoutté sur une pastille en KBr.

Le spectre IRTF d'huile essentielle de la rue de montagne a permis de distinguer trois bandes intenses relatifs à la vibration de la liaison C-H. La bande de $2955,55 \text{ cm}^{-1}$ est correspondante au groupement méthyle (CH_3) et les deux autres bandes entre $2927,25 \text{ cm}^{-1}$ et $2855,24 \text{ cm}^{-1}$ sont caractéristiques au groupement méthylène (CH_2). Il représente également une bande intense à $1718,75 \text{ cm}^{-1}$ caractéristique à la fonction cétone aliphatique saturé. La bande à $1475,49 \text{ cm}^{-1}$ correspond à la déformation de la liaison C-H spécifique au groupement méthyle (CH_3) et méthylène (CH_2). Les deux bandes à $1229,71 \text{ cm}^{-1}$ et à $1172,45 \text{ cm}^{-1}$ correspondent à la liaison C-C des hydrocarbures. Et finalement, une bande faible et visible à $720,53 \text{ cm}^{-1}$ correspond à la déformation de plusieurs groupements de (CH_2).

Les spectres IRTF de l'huile essentielle de la rue extrait par hydrodistillation et hydrodistillation assistée par micro-onde sont identiques au spectre IRTF de l'huile essentielle de la rue extraite par entraînement à la vapeur (**annexe**).

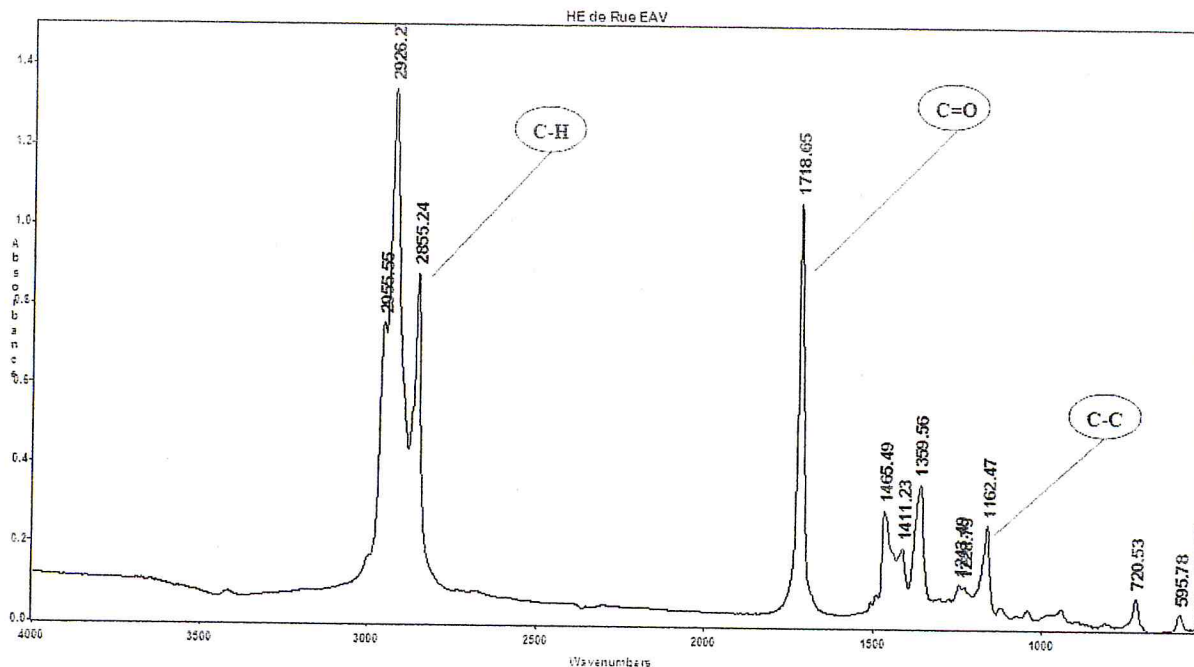


Figure 20 : Spectre infrarouge d'huile essentielle de la rue de montagne extraite par Entrainement à la vapeur

D'après les résultats de l'analyse par IRTF qui montre la présence d'une fonction carbonyle, et les résultats de CPG qui révèle la présence d'un seul pic avec un indice de rétention à 14,73 (min), ces résultats nous informent la présence d'un composé cétonique aliphatique qui est le 2-undécanone.

IV-5 Etude chromatographique (chromatographie en phase gazeuse) d'huile essentielle de la sauge officinale

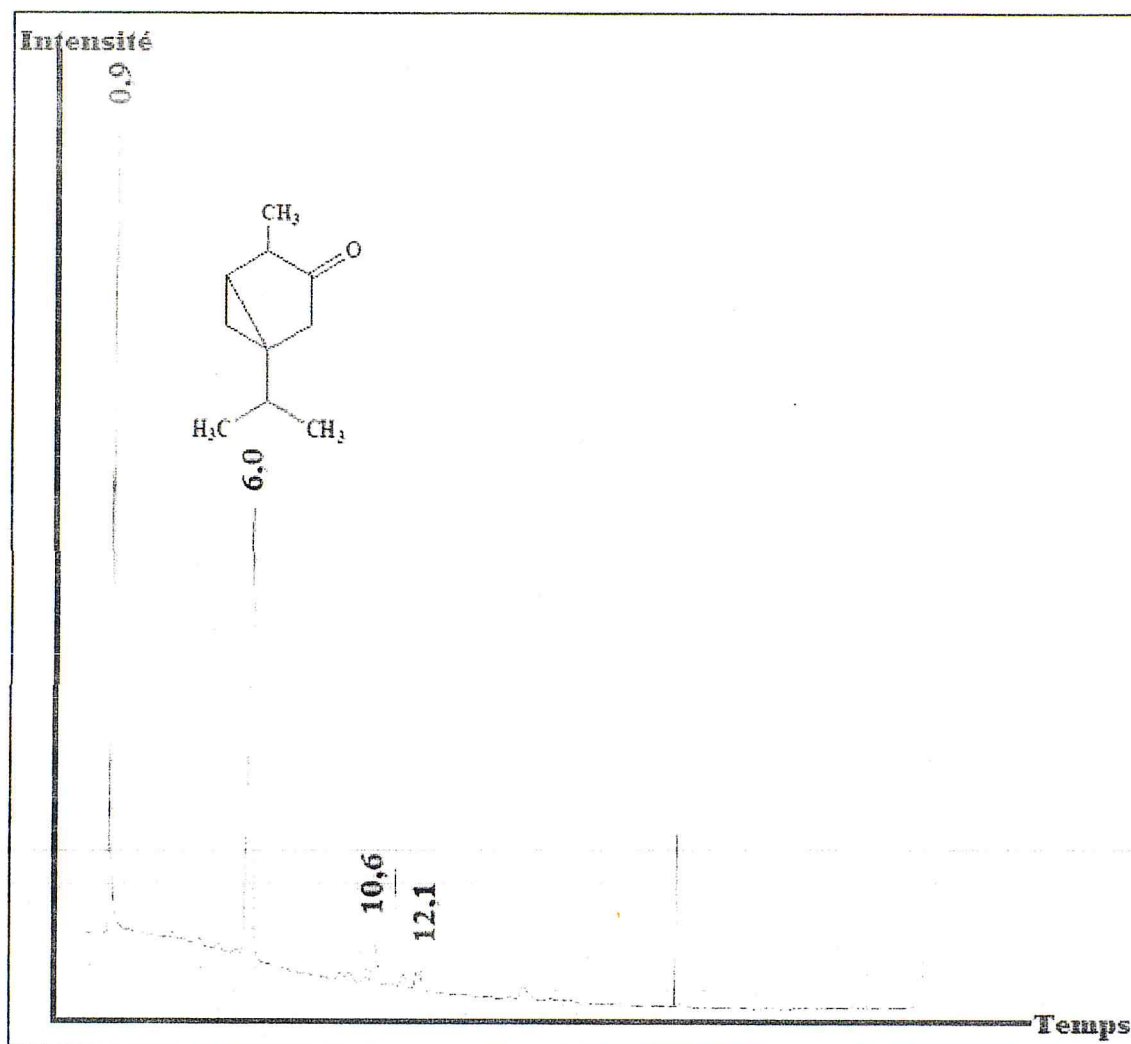


Figure 21 : Chromatogramme d'huile essentielle de la rue de la sauge officinale par Hydrodistillation

Tableau n°5 : les pics du chromatogramme des constituants chimiques d'huile essentielle de la sauge officinale extraite par hydrodistillation

Nombre des pics	1	2	3	4	5	6
t_R (min)	9,3	6,0	10,6	12,0	12,1	16,0

D'après le chromatogramme présenté dans la figure 21 et le tableau n°5, l'huile essentielle de la sauge officinale extraite par hydrodistillation montre la présence d'un pic intense à 9,33 min qui est du méthanol et un autre pic intense est de l' α -thuyone.

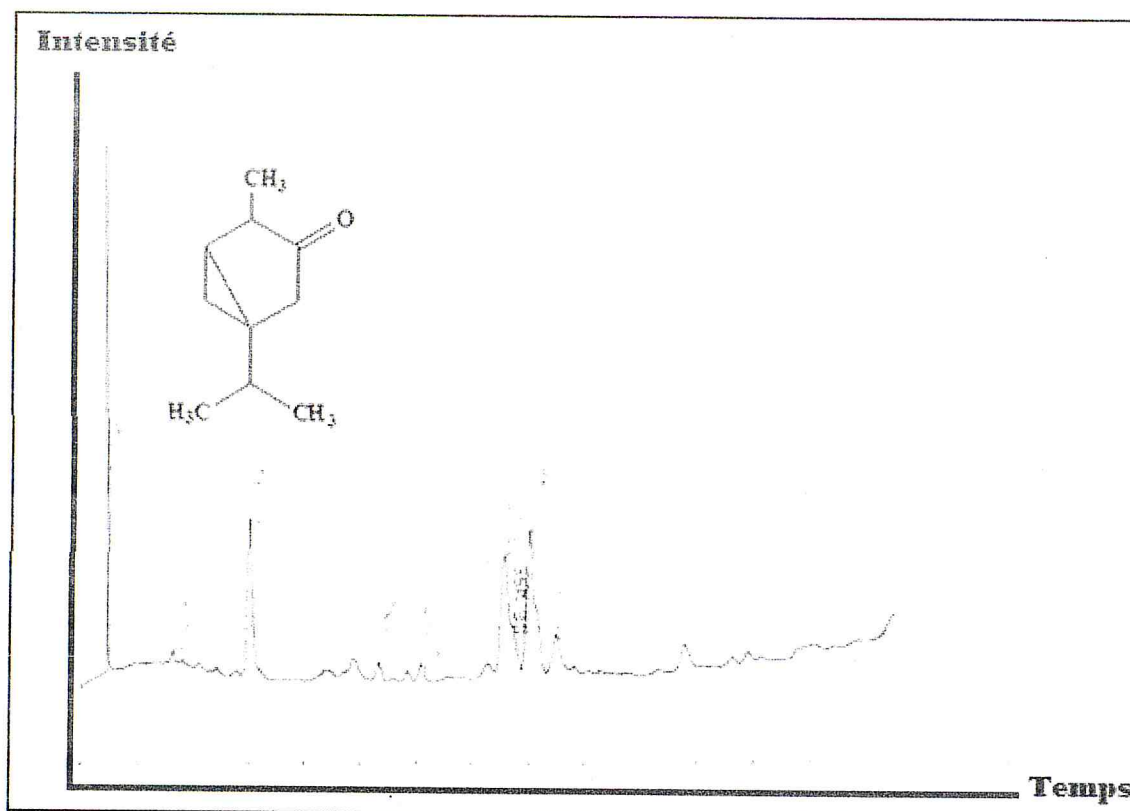


Figure 22 : chromatogramme d'huile essentielle de la sauge extraite par entrainement à la vapeur

Tableau n°6 : les pics du chromatogramme des constituants chimiques d'huile essentielle de la sauge officinale extraite par entrainement à la vapeur

Nombre des pics	1	2	3	4	5	6	7	8
t _R (min)	0,9	3,2	6,0	10,6	12,1	15,1	16,0	17,0

Le chromatogramme d'huile essentielle de la sauge officinale extraite par entrainement à la vapeur (figure 22) et le tableau n°6 montrent la présence de plusieurs pics avec des différents indices de rétention se qui explique la richesse d'huile essentielle de la sauge en constituants chimiques avec la présence du pic correspond à l' α -thuyone.

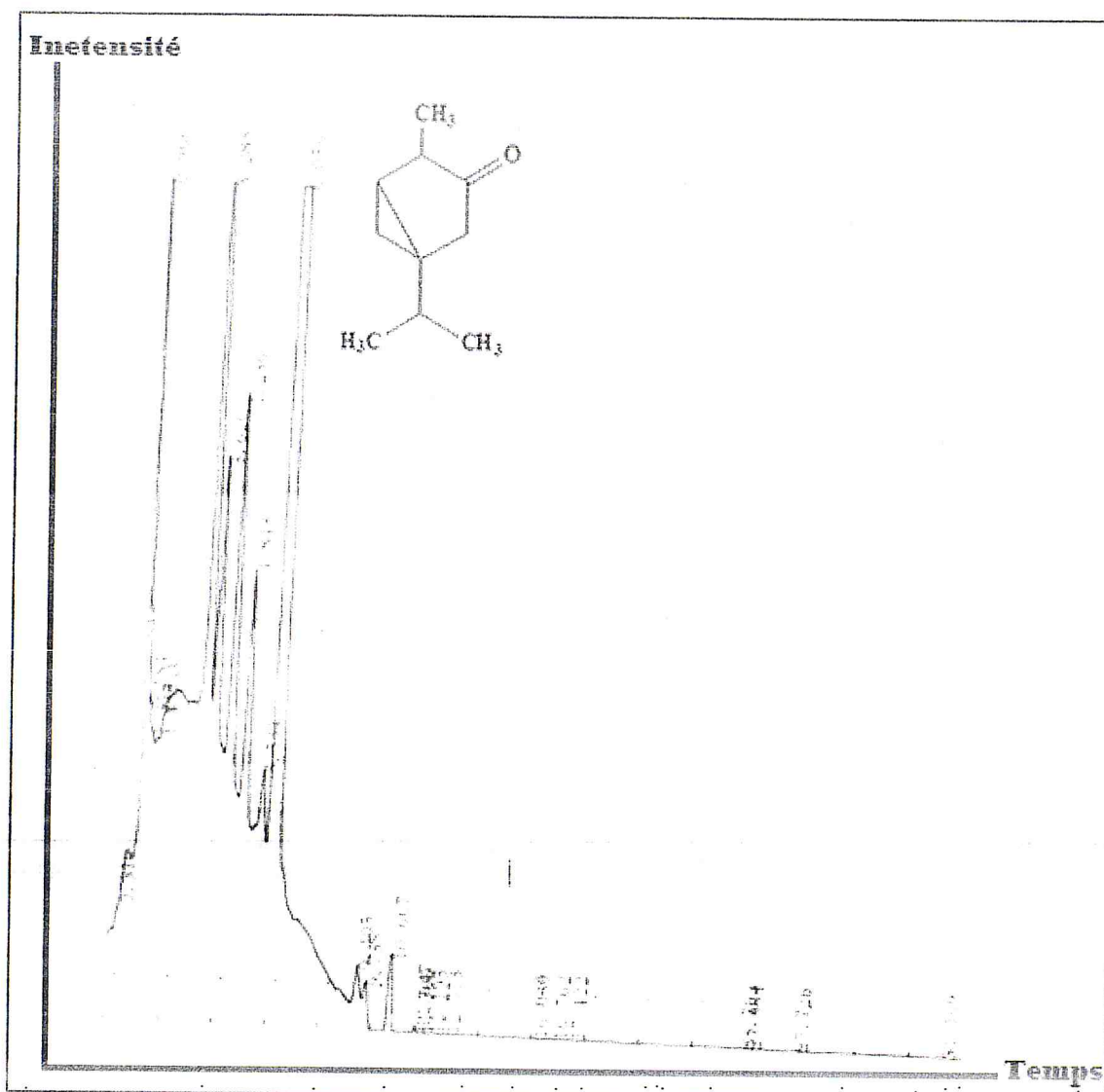


Figure 23 : chromatogramme d'huile essentielle extraite par hydrodistillation assistée par micro-onde

Tableau n°7 : les pics du chromatogramme des constituants chimiques d'huile essentielle de la sauge officinale extraite par hydrodistillation assistée par micro-onde

Nombre des pics	1	2	3	4	5	6	7	8	9
tr (min)	0,9	3,2	3,6	4,2	5,5	6,0	9,4	9,7	10,6

Le chromatogramme d'huile essentielle de la sauge officinale extraite par hydrodistillation assistée par micro-onde montre la présence de plusieurs pics avec



différents indices de rétention ce qui veut dire que l'huile essentielle de la sauge est riche en constituants chimiques, dont le composé majoritaire est l' α -thuyone qui est présenté par le pic d'un indice de rétention de 6,05 min.

Il apparait au vu des résultats des chromatogrammes présentés par les figures (21,22, 23) que l'huile essentielle de la sauge est riche en constituants chimiques avec la présence d'un pic en commun dans les trois chromatogrammes avec un indice de rétention presque identique (6,33min) qui représente le composé majoritaire de l'huile de la sauge « l' α -thuyone ». Mais par un manque des étalons et la non disponibilité de l'analyse CG/MS, l'identification de la composition chimique de l'HE de sauge par CPG reste incomplète. Par ailleurs, et sur la base de plusieurs études antérieurs sur la même espèce parmi eux :

Les travaux qui ont été réalisé sur *Salvia officinalis L.* en Algérie (2013) dont le but est d'identifier la composition chimique et l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de la sauge officinale [70].

L'hydrodistillation des parties aériennes de *Salvia officinalis L.* a été analysée par la CG/MS, 35 composés représentant 98,39% de l'huile essentielle ont été détectés avec α -thuyone (24,52%), le camphre (16,86%) sont les principaux constituants.

IV-6 Analyse d'huile essentielle de la sauge officinale par spectrométrie infrarouge (IRTF)

La figure 24 montre le spectre IRTF de l'huile essentielle de la sauge officinale extraite par hydrodistillation.

Le spectre IRTF a permis de distingué la présence de trois bandes intenses relatives aux vibrations des liaisons C-H. Les deux bandes $2967,24\text{ cm}^{-1}$ et $2925,27\text{ cm}^{-1}$ sont caractéristiques à la liaison C-H du groupement méthyle, et la bande de $2881,53\text{ cm}^{-1}$ correspondante à la liaison C-H du groupement méthylène CH_2 . Il nous présente également la bande caractéristique de la fonction carbonyle C=O de cétone à $1746,57\text{ cm}^{-1}$. La bande à $2015,10\text{ cm}^{-1}$ correspondante à la liaison C-C.

D'après les résultats de l'analyse par IRTF qui montre la présence d'une fonction carbonyle cétone, et les résultats du chromatogramme (CPG) qui révèle la présence d'un pic intense avec un indice de rétention à 6,33 min, assure la présence de composé cétonique qui est de l' α -thuyone.

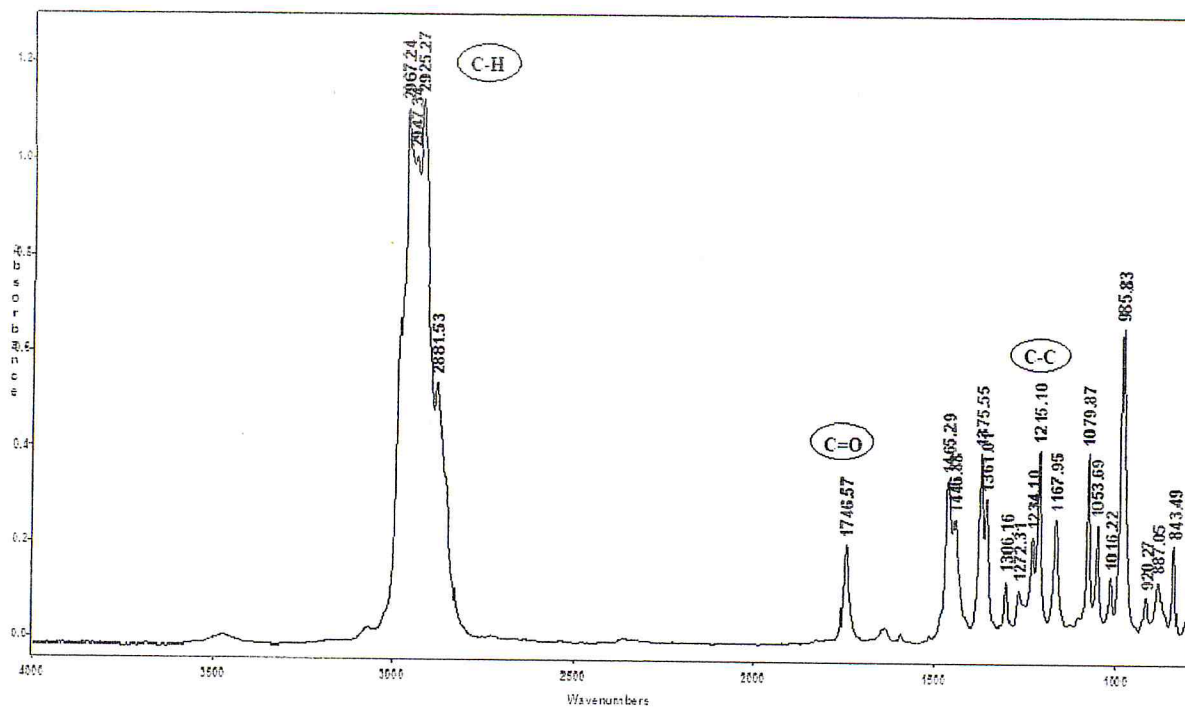
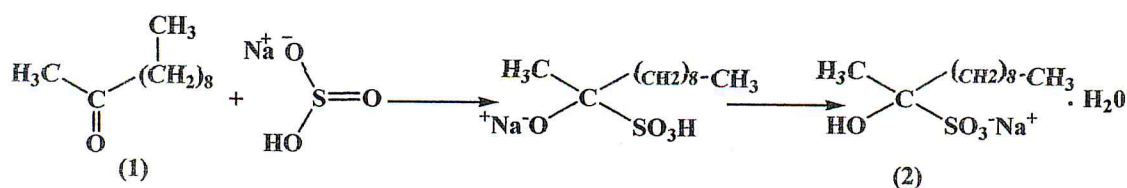


Figure 24 : Spectre infrarouge d'huile essentielle de la sauge officinale extraite par hydrodistillation

IV-7 Etude des méthodes d'isolation de 2-undécanone à partir d'huile essentielle de la rue de montagne

IV-7-1 Etude des réactions d'addition sur le 2-undécanone

IV-7-1-1 Réaction d'addition de 2-undécanone avec le bisulfite de sodium



Equation 1 : réaction de formation de l'hydrate de 2-hydroxyundécan-2-sulfonate de sodium avec l'hydrogénosulfite de sodium (NaHSO₃)

(1) : 2-undécanone

(2) : 2-hydroxyundécan-2-sulfonate de sodium

- Le produit obtenu à partir de la réaction d'addition de bisulfite est formé de cristaux blancs avec un rendement de 69%.

IV-7-1-1-1 Analyse d'hydrate de 2-hydroxyundécane-2-sulfonate de sodium par spectrométrie infrarouge (IR)

L'analyse du produit obtenu à partir de la réaction d'addition de bisulfite de sodium avec l'huile essentielle de la rue de montagne par IRTF (figure 25) montre la disparition de la bande caractéristique de la fonction cétone et l'apparition de nouvelles bandes, tels que la bande large à $3478,81 \text{ cm}^{-1}$ caractéristique à la fonction hydroxyle, la bande à $1657,27 \text{ cm}^{-1}$ de la fonction hydraté du produit formé, il ya la bande à $1031,38 \text{ cm}^{-1}$ caractéristique à la liaison S=O de la fonction sulfoxyde et la bande à $633,14 \text{ cm}^{-1}$ caractéristique à la liaison C-S de la fonction thioéther. Il montre également La bande à $2995,20 \text{ cm}^{-1}$ correspondante à la liaison C-H du groupement méthyle. La présence de deux bandes entre $2920,96 \text{ cm}^{-1}$ et $2851,16 \text{ cm}^{-1}$ correspondent à la liaison C-H du groupement méthylène. Ainsi, la bande caractéristique à la déformation de la liaison C-H du groupement méthyle et méthylène à $1466,35 \text{ cm}^{-1}$, deux bandes entre $1195,41 \text{ cm}^{-1}$ et $1117,48 \text{ cm}^{-1}$ correspondent à la liaison C-C des hydrocarbures. Enfin Une bande à $737,76 \text{ cm}^{-1}$ correspond à la déformation de la liaison C-H de plusieurs groupements méthylène CH_2 .

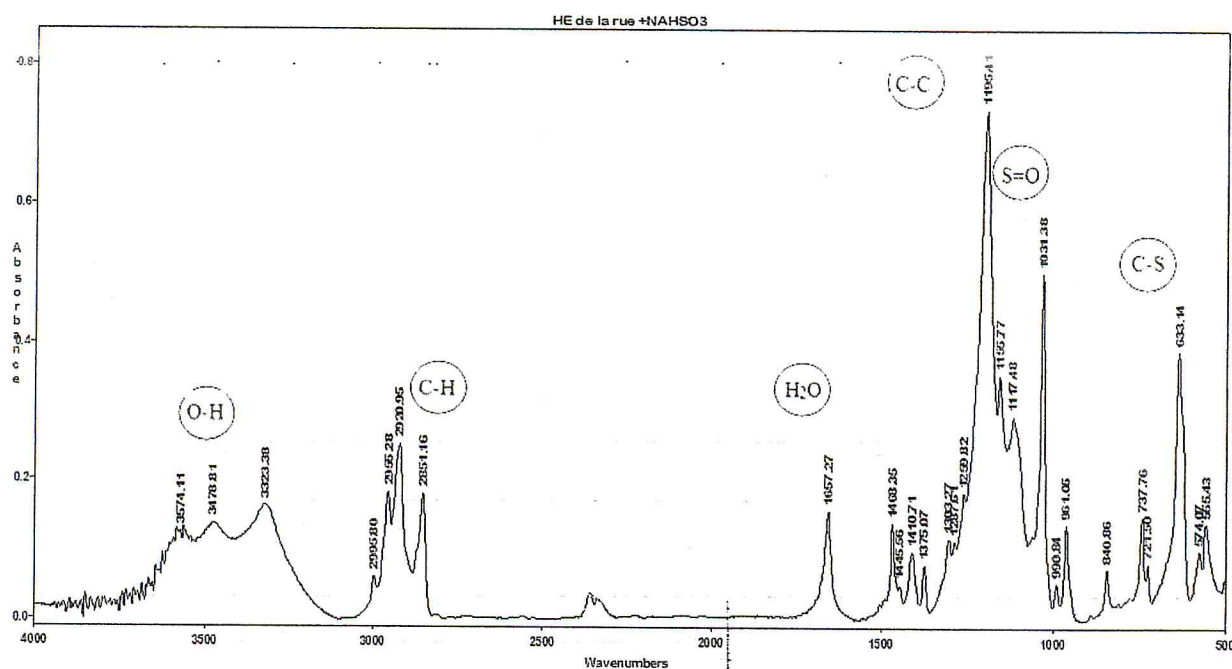
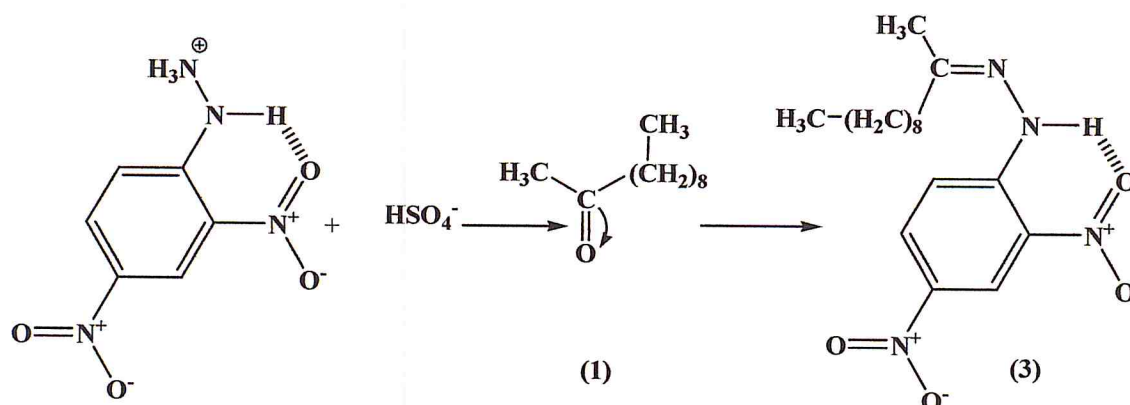


Figure 25: Spectre d'infrarouge d'hydrate de 2-hydroxyundécane-2-sulfonates de sodium

IV-7-1-2 Réaction de condensation de 2,4-dinitrophénylhydrazonium sulfate avec 2-undécanone



Equation 2: Réaction de 2-undécanone avec le 2,4-dinitrophénylhydrazuim sulfate

- (1) 2-undécanone
- (2) 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane

Le produit obtenu à partir de la réaction de 2,4-dinitrophénylhydrazuim sulfate avec l'huile essentielle de la rue donne un précipité orange avec un rendement de 8% avec

IV-7-1-2-1 Analyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane par chromatographie sur couche mince (CCM)

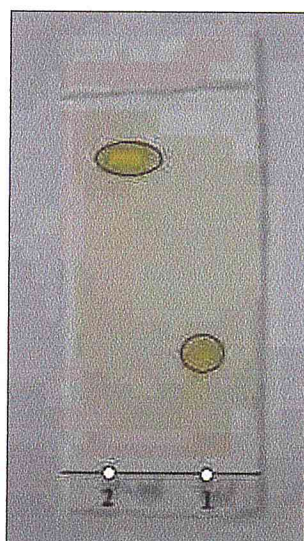


Figure 26: chromatogramme de la réaction de 2,4-dinitrophénylhydrazine avec le 2-undécanone

1 : 2,4-dinitrophénylhydrazine

2 : 2,4-dinitrophénylhydrazono2-undécane

La figure n° 26 montre l'apparition de deux taches jaunes d'un rapport frontal différent, le 2,4-dinitrophénylhydrazine a un rapport frontal de ($R_{f1} = 0,28$) alors que le rapport frontal du produit formé est de ($R_{f2} = 0,79$), ce qui signifie que l'huile essentielle de la rue a réagit avec le 2,4-dinitrophénylhydrazine en formant le précipité de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane et pour bien déterminer la formation de ce dernier on fait une analyse infrarouge IRTF.

IV-7-1-2-2 Analyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane par spectrométrie Infrarouge (IRTF)

L'analyse par IRTF nous a permis de distinguer la présence de nouvelles bandes du produit formé étaient absente dans le spectre IRTF de l'huile essentielle de la rue cela peut confirmer que la réaction est établi en succès.

On trouve la bande à $3325,29 \text{ cm}^{-1}$ caractéristique à la liaison N-H du groupement amine et une bande à $3105,11 \text{ cm}^{-1}$ correspond à la liaison C-H aromatique. Il ya les bandes entre $2916,92 \text{ cm}^{-1}$ et $2849,67 \text{ cm}^{-1}$ correspondent à la liaison C-H du groupement méthyle et méthylène. On trouve également la bande à $1618,78 \text{ cm}^{-1}$ caractéristique à la liaison C=N de la fonction imine, les bandes entre $1592,83 \text{ cm}^{-1}$ et $1337,13 \text{ cm}^{-1}$ correspondent au groupement nitro (NO_2). En outre, il ya la bande à $1513,96 \text{ cm}^{-1}$ caractéristique à la liaison C=C-H aromatique. La déformation de la liaison C-H du groupement méthyle et méthylènes dans les bande à $1418,41 \text{ cm}^{-1}$. Les bandes de $1278,34 \text{ cm}^{-1}$ à $1068,63 \text{ cm}^{-1}$ correspondent à la liaison C-C des hydrocarbures.

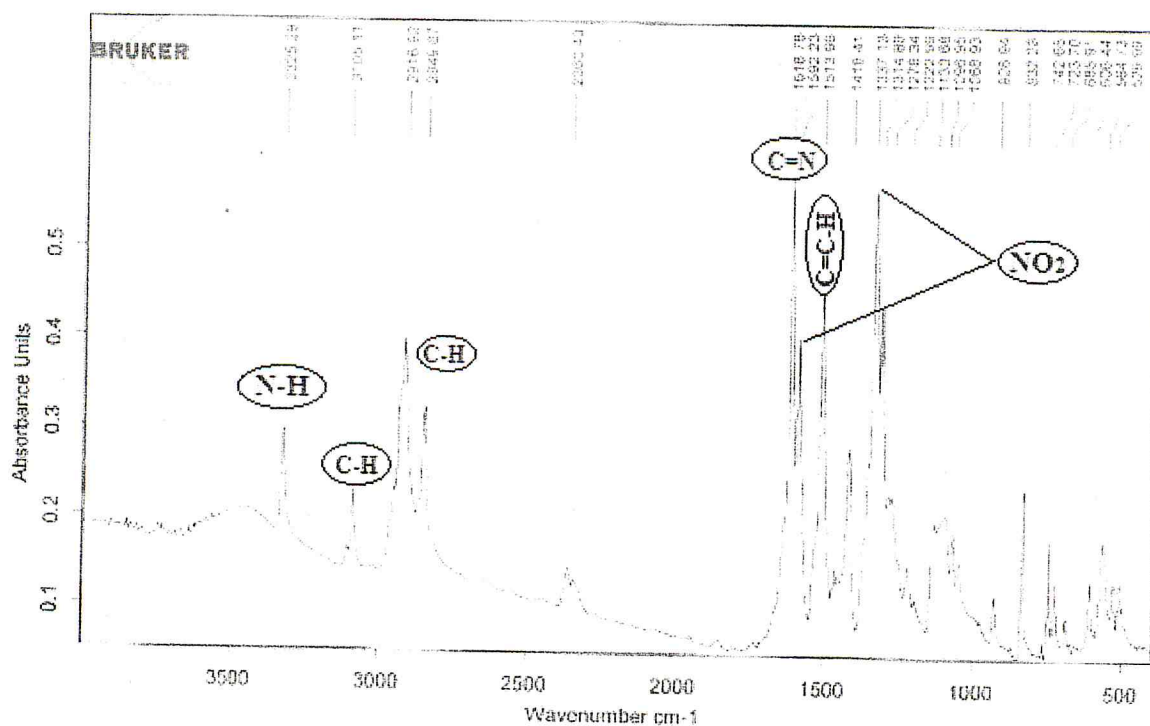
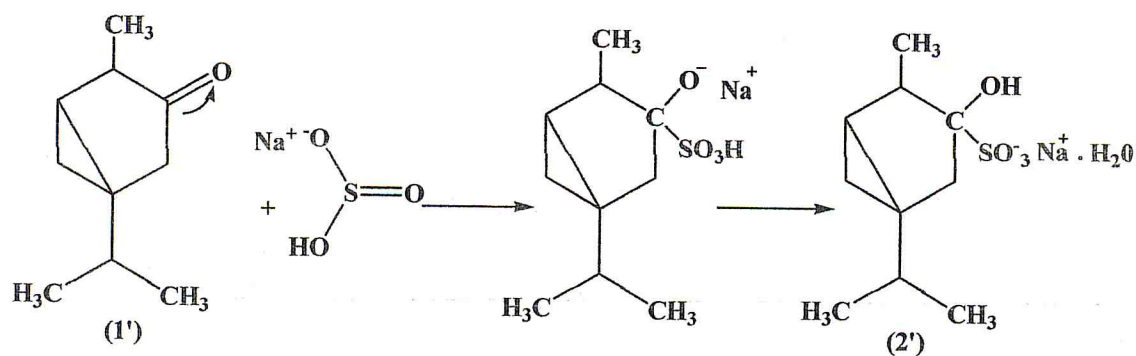


Figure 27 : Spectre IR de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane

IV-8 Etude des méthodes d'isolation de α -thuyone à partir d'huile essentielle de la sauge officinale

IV-8-1 Etude des réactions d'addition sur l' α -thuyone

I-8-1-1 Réaction d'addition de l'huile essentielle de la sauge avec le bisulfite de sodium



Equation 3 : réaction de l'hydrogénosulfite de sodium avec l' α -thuyone

Le produit obtenu à partir de la réaction d'addition de bisulfite est formé de cristaux blancs avec un rendement de 86 %.

(1') : 1-isopropyl-4-méthylbicyclo[5,1,0]- hexan-3-one.

(2') : 3-hydroxy-1-isopropyl-4-méthylbicyclo[5,1,0]- hexan-3-sulfonate de sodium

IV-8-1-1-1 Analyse d'hydrate de 3-hydroxy-1-isopropyl-4-méthylbicyclo[5,1,0]-hexan-3-sulfonate de sodium par spectrométrie infrarouge (IR)

-Le spectre IRTF de la réaction d'addition de l'hydrogénosulfite de sodium avec l'huile essentielle de la sauge officinale montre la disparition de la bande caractéristique de la liaison C=O de la fonction carbonyle et l'apparition de nouvelles bandes, comme la bande large à $3474,70\text{ cm}^{-1}$ caractéristique à la liaison OH du groupement hydroxyle. La bande de $1640,04\text{ cm}^{-1}$ correspondante à la fonction hydraté (H_2O). Il présente également la bande à $992,40\text{ cm}^{-1}$ caractéristique de la liaison S=O de la fonction sulfoxyde et la bande de $617,42\text{ cm}^{-1}$ correspondante à la liaison C-S de la fonction thioéther, et finalement il montre la présence de la bande caractéristique de la liaison C-C des hydrocarbures.

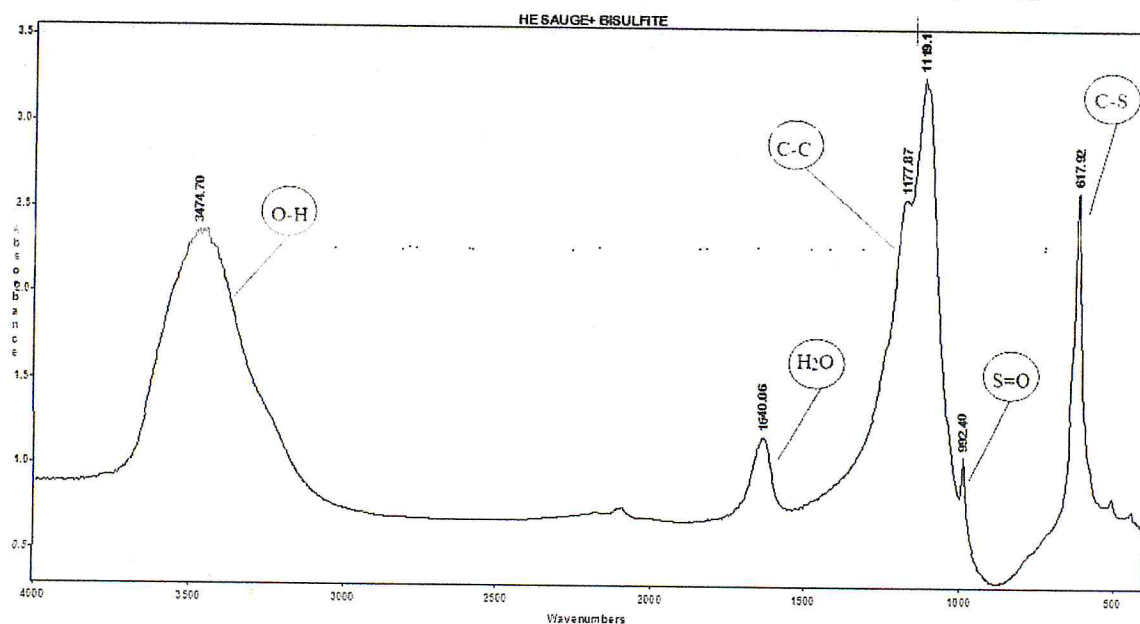
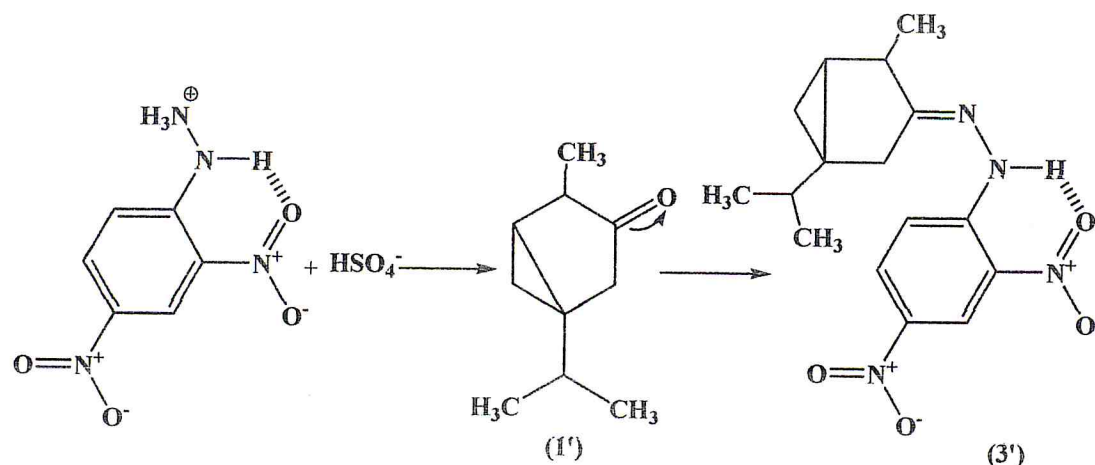


Figure 28: spectre infrarouge d'hydrate de 3-hydroxy-1-isopropyl-4-méthylbicyclo [5,1,0]- hexan-3-sulfonate de sodium

IV-8-1-2 Réaction d'addition de l' α -thuyone avec le 2,4-dinitrophénylhydrazonium sulfate



Equation 4 : réaction de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle

(1') : 1-isopropyl-4-méthylbicyclo[5,1,0]-hexan-3-one.

(3') : 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle

Le produit obtenu à partir de la réaction de 2,4-dinitrophénylhydrazonium sulfate avec l'huile essentielle de la sauge donne un précipité orange avec un rendement de 7% avec une température de fusion de 63°C .

IV-8-1-2-1 Analyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle par chromatographie sur couche mince (CCM)

La figure montre l'apparition de trois taches sur la plaque CCM avec un rapport frontal différent, ce qui signifie que le 2,4-Dinitrophénylhydrazine a réagi avec l'huile essentielle de la sauge

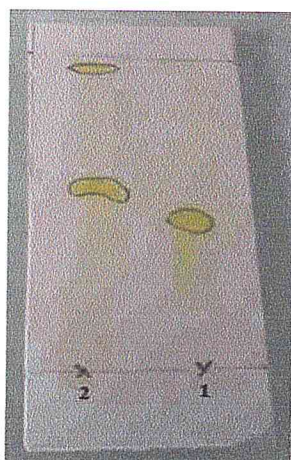


Figure 29 : Chromatogramme (CCM) de la réaction de 2,4dinitrophénylhydrazono-3-thuyle

1 : 2,4-Dinitrophénylhydrazine

2 : le 2,4-Dinitrophénylhydrazono-3-thuyle

Le chromatogramme (CCM) de la réaction de 2,4-Dinitrophénylhydrazine avec l'huile essentielle de l' α -thuyone a montré la présence de différentes taches avec des rapports frontaux différents dont (R_F (1) = 0.41, R_F (2) = 0.94) cela veut dire que l' α -thuyone a réagit avec le 2,4-Dinitrophénylhydrazine pour assurer notre information on a fait une analyse d'IRTF du précipité jaune-orange obtenu.

IV-8-1-2-2 Analyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle par spectrométrie Infrarouge (IRTF)

Le spectre IRTF de la réaction de 2,4-Dinitrophénylhydrazine avec de l' α -thuyone présenté dans la figure 30 montre la disparition de la fonction cétone ($1746,56\text{ cm}^{-1}$) et nous a permis de distinguer la présence de nouvelles bandes comme l'apparition de la bande large de la liaison N-H à $3405,88\text{ cm}^{-1}$ et la nouvelle bande caractéristique de la liaison C-H aromatique à $3111,10\text{ cm}^{-1}$, les bandes entre $2859,33$ et $2827,28\text{ cm}^{-1}$ qui correspondent à la liaison C-H du groupement méthyle et méthylène. Il nous montre également l'apparition de la bande à $1620,62\text{ cm}^{-1}$ caractéristique de la liaison C=N de la fonction imine, la bande à $1421,89\text{ cm}^{-1}$ correspondante de la liaison C=C-H aromatique et l'apparition de nouvelles bandes entre $1518,83\text{ cm}^{-1}$ et $1337,57\text{ cm}^{-1}$ caractéristiques du groupement nitro (NO_2).

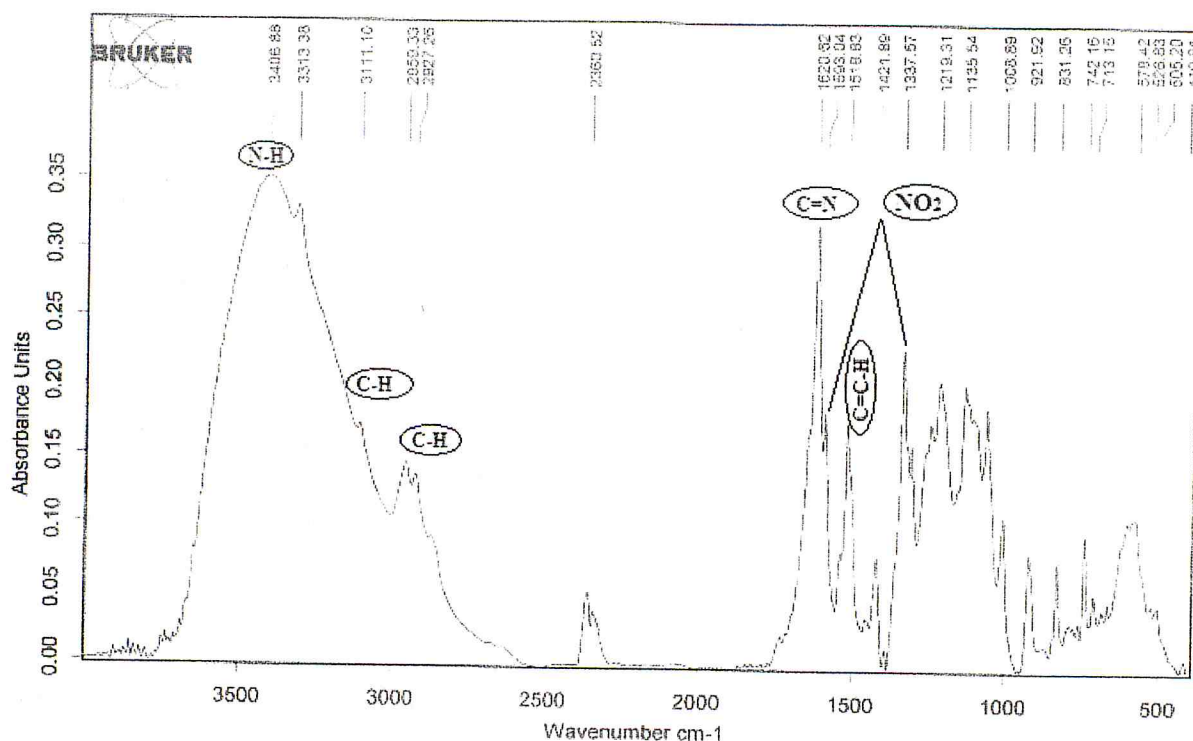
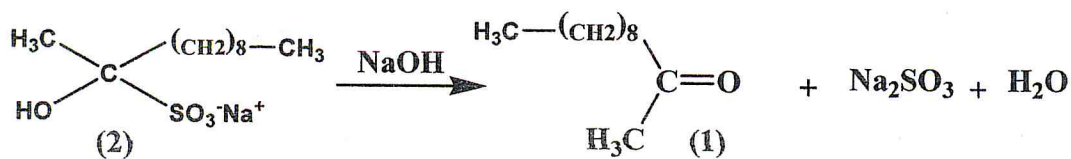


Figure 30 : Spectre IR de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle

IV-9 Etude des réactions de régénération des constituants de deux huiles essentielle (*Ruta montana* et *Salvia officinalis*)

IV-9-1 Réaction de régénération de 2-undécaneone par l'addition de soude sur le 2-hydroxyundécane-2-sulfonates de sodium hydrate



Equation 5 : Réaction de régénération de 2-undécaneone par l'addition de soude

- Le produit obtenu lors de la régénération de 2-Undécaneone par la réaction d'addition avec l'hydrogénosulfite de sodium est d'une couleur limpide visqueux avec un rendement de 65%.

IV-9-1-1 Analyse de la régénération de 2-hydroxyundécan-2-sulfonate de sodium

- Le spectre IRTF de la réaction de régénération a montré la réapparition de la bande $1718,53 \text{ cm}^{-1}$ caractéristique de la fonction cétone saturé. Il montre également la présence des bandes entre 2955 cm^{-1} et 2926 cm^{-1} correspondantes aux liaisons C-H du groupement CH_3 et la bande à 2855 cm^{-1} caractéristique de la liaison C-H du groupement méthylène ainsi la présence de la bande à 1162 cm^{-1} de la liaison C-C des hydrocarbures.

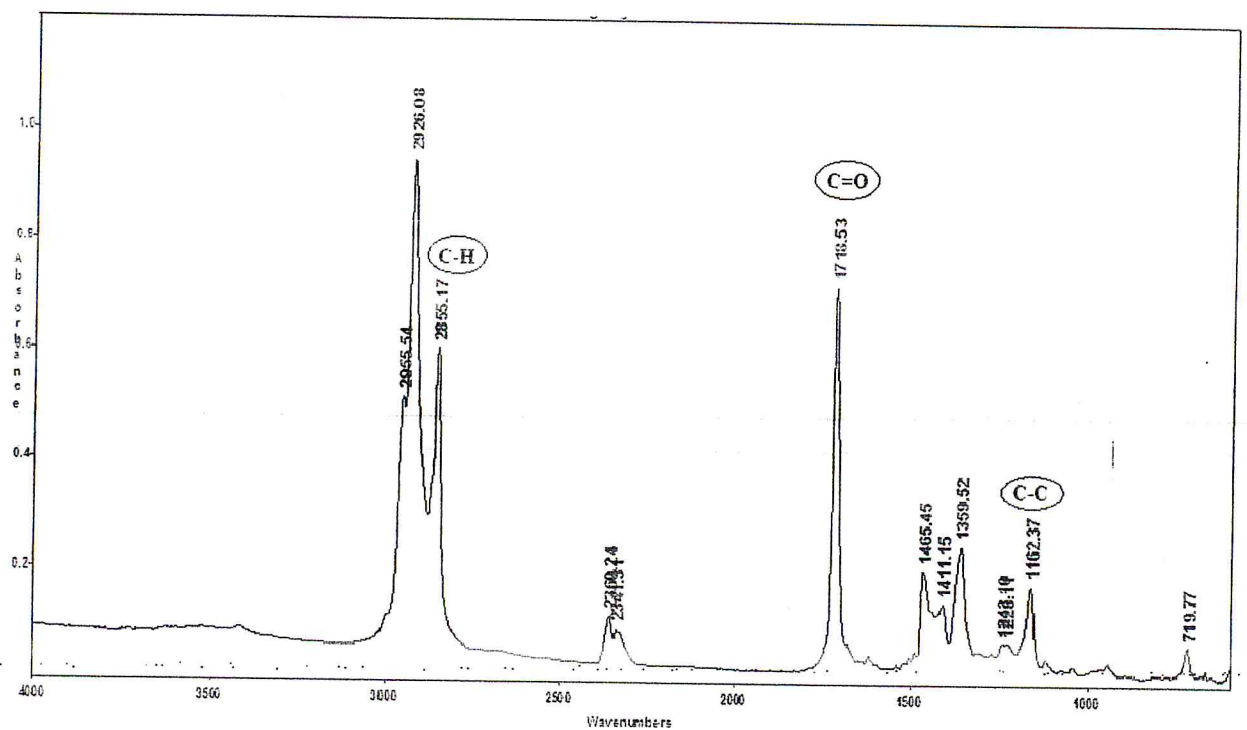
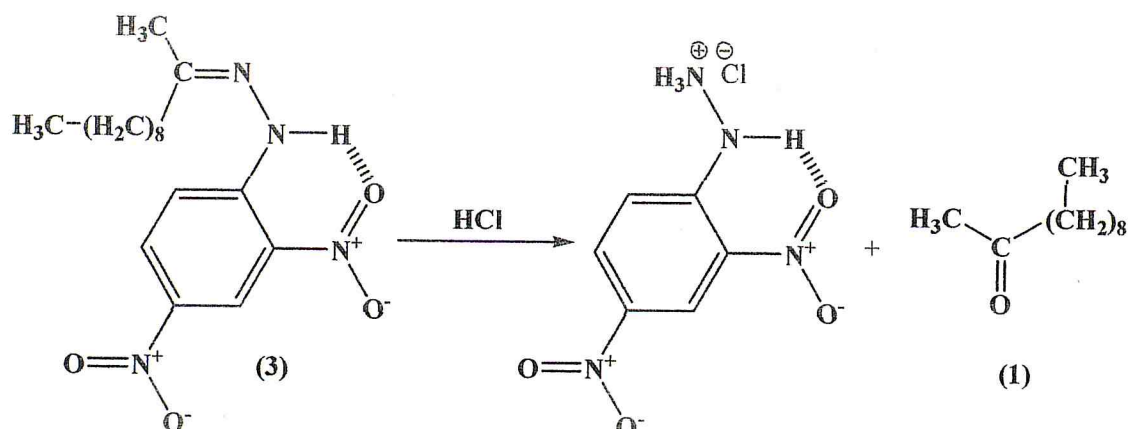


Figure 31 : spectre IR de la régénération de 2-undécanone par l'addition de soude sur le 2-hydroxyundécan-2-sulfonates de sodium

IV-9-2 Réaction de régénération de 2-undécanone par l'hydrolyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane



Equation 6 : Réaction de régénération de 2-undécanone par l'hydrolyse de 2,4dinitrophénylhydrazono-2-undécane

- L'hydrolyse de la réaction 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane a donné un précipité orange de 2-undécanone avec un rendement de 6%.

IV-9-2-1 Analyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono2-undécane par infrarouge (IRTF)

La figure n montre le spectre IRTF de 2,4-dinitrophénylhydrazono2-undécane obtenu par la réaction de régénération de 2-Undécanone par une simple hydrolyse.

Le spectre IRTF de ce produit montre la disparition des bandes caractéristiques de 2,4-dinitrophénylhydrazonium et la réapparition de la bande à $1718,53 \text{ cm}^{-1}$ caractéristique de la fonction cétone. Montre également la présence des bandes entre 2955 et 2926 cm^{-1} correspondantes aux liaisons C-H du groupement CH_3 et la bande 2856 cm^{-1} caractéristique de la liaison C-H du groupement méthylène. Ainsi la présence de la bande de 1163 cm^{-1} correspondante de la liaison C-C des hydrocarbures.

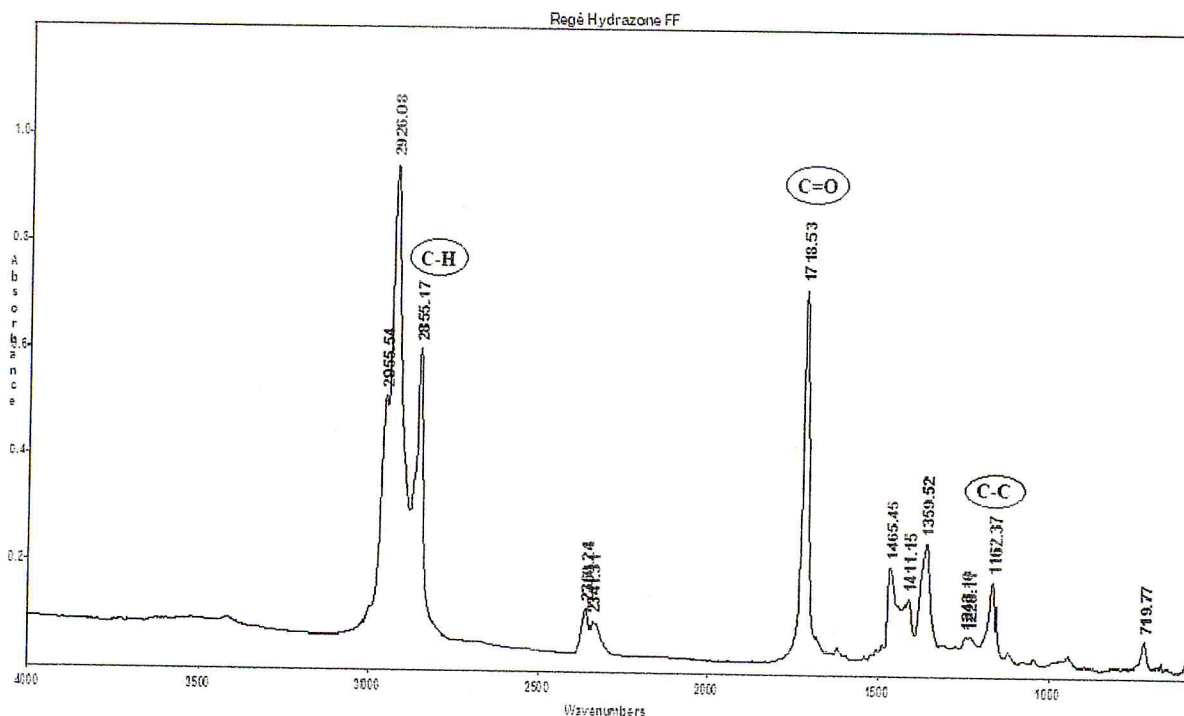
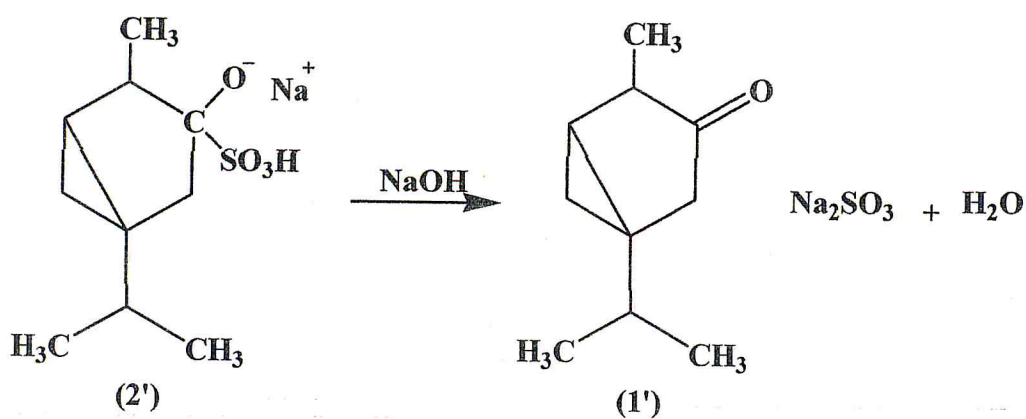


Figure 32: Spectre IR de 2-undécane isolé par la réaction avec le 2,4-dinitrophénylhydrazium sulfate

IV-9-3 La réaction de régénération de 3-hydroxy-1-isopropyl-4-méthylbicyclo [5,1,0]hexan-3-sulfonate de sodium



Equation 7 : réaction de régénération de l' α -thuyone par la soude

Le produit obtenu lors de la régénération de α -thuyone par la réaction d'addition de l'hydrogénosulfite de sodium est d'une couleur limpide avec un aspect visqueux a donné un rendement de 23 %.

IV-9-3-1 Analyse de la régénération de l' α -thuyone par l'hydrolyse 3-hydroxy-1-isopropyl-4-méthylbicyclo [5,1,0]hexan-3-sulfonate de sodium de par IRTF

Le produit obtenu a subi une analyse par IRTF où cette dernière a montré la disparition de la bande caractéristique de la fonction hydrate et les bandes qui correspondent aux liaisons C-S et S=O et il montre la réapparition de bande à $1745,53 \text{ cm}^{-1}$ de la liaison C=O de la fonction carbonyle. Il montre également la présence des bandes entre 2966 et 2920 cm^{-1} caractéristiques aux liaisons C-H aromatiques et la bande de 2861 cm^{-1} correspondante à la liaison C-C des hydrocarbures.

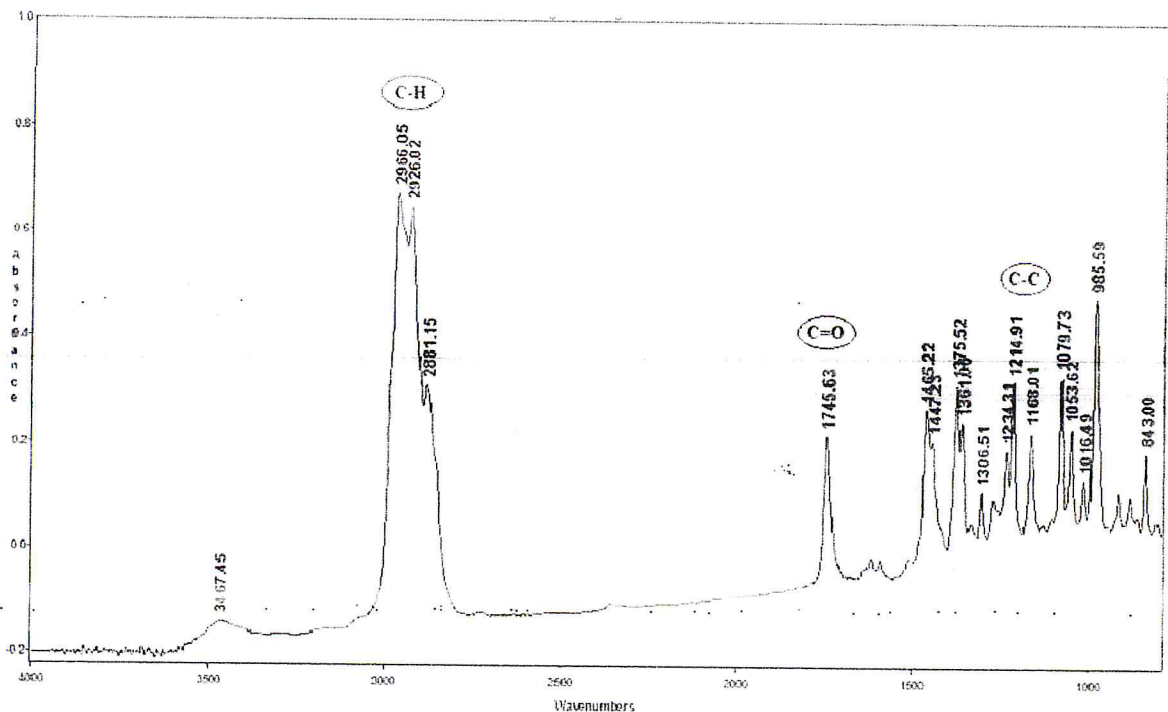
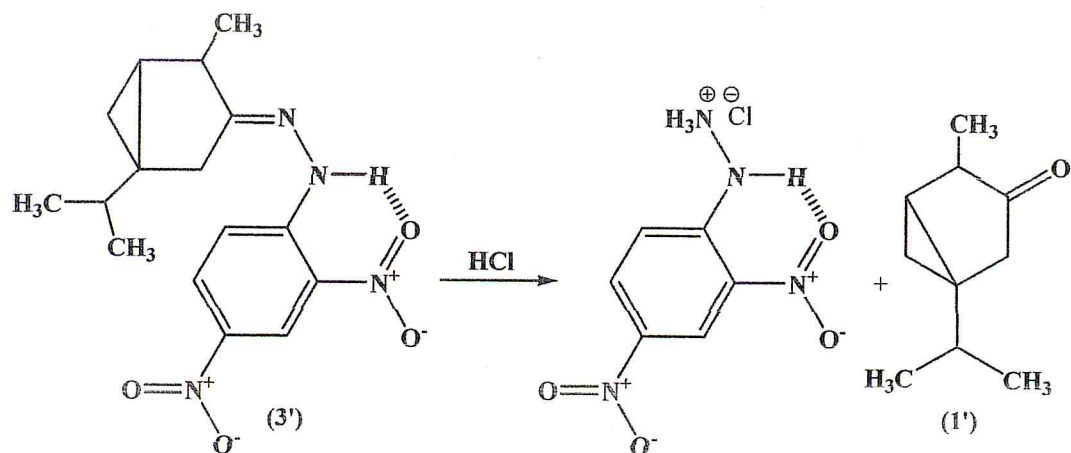


Figure 33 : Spectre IR d'isolation de l' α -thuyone par l'hydrogénosulfite de sodium

IV-9-4 Réaction de régénération de l' α -thuyone par l'hydrolyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle



Equation 8: Réaction de régénération de l' α -thuyone par l'hydrolyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle

- L'hydrolyse de la réaction d'addition de 2,4-Dinitrophénylhydrazine et de l'huile essentielle de la sauge officinale a conduit à la formation d'un précipité orange avec un rendement de 5%, ensuite ce dernier a subit une analyse par IRTF.

IV-9-4-1 Analyse de la régénération de régénération de l' α -thuyone par l'hydrolyse de 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle

Le spectre IRTF représenté dans la figure 36 montre la réapparition de la bande de 1745.49 cm^{-1} caractéristique de la fonction cétone. Il montre également la disparition des bandes de la liaison N-H, la liaison C-H aromatique et la disparition de la fonction imine C=N et le groupement nitro (NO_2). Et cela veut dire que le 2-Undécanone est régénéré.

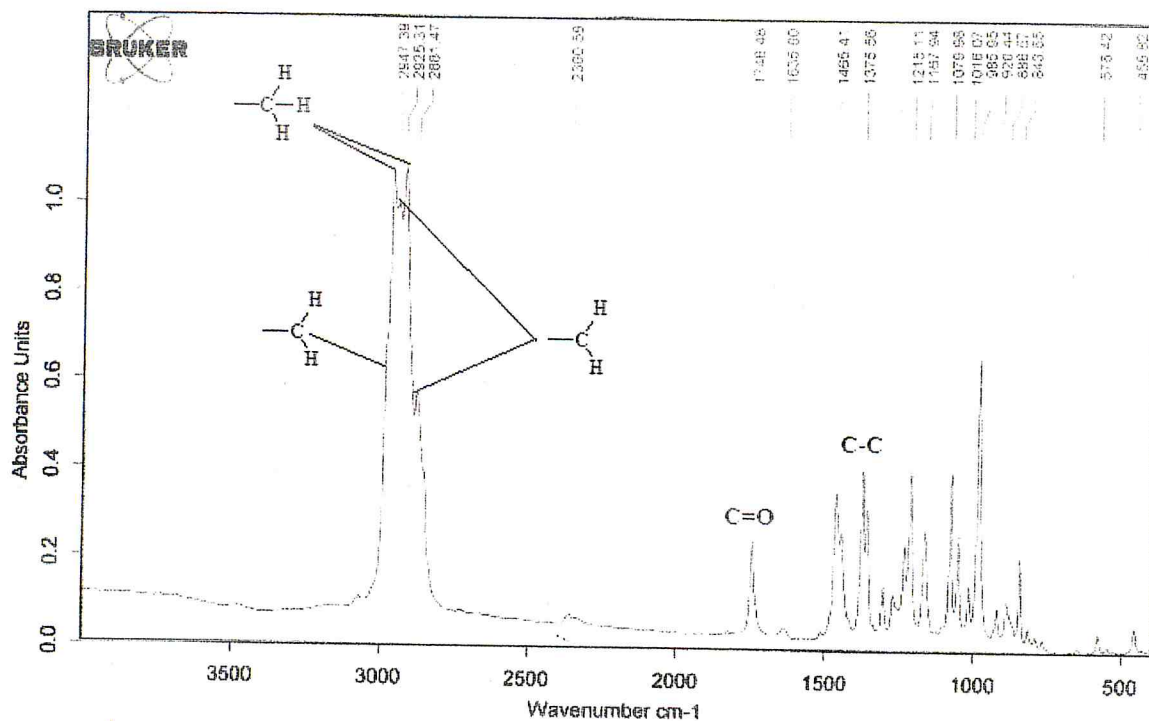


Figure 34 : Spectre IRTF de la régénération de 2,4dinitrophénylhydrazono-2-thuyle

IV-9-5 L'influence de la méthode de séparation sur le rendement des produits avant et après la séparation de 2-undécane et l' α -thuyone

Tableau N°8: Rendement des produits avant et après la séparation de 2-undécane et l' α -thuyone isolés par deux méthodes

	Composés	R(%)
Addition de bisulfite de sodium (NaHSO₃)	(2)	69
	(2')	86
Hydrolyse de l'addition bisulfitique	(1)	65
	(1')	23
Condensation de 2,4-dinitrophénylhydrazine	(3)	8
	(3')	7
Hydrolyse de la condensation des hydrazones	(1)	6
	(1')	5

NB :

(1) : 2-hydroxy undécane-2-sulfonate de sodium

(2) : 2-undécane (Hydrolyse du 2-hydroxyundécane-2-sulfonate de sodium)

(3) : 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane

(1) : 2-undécane (Hydrolyse du 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane)

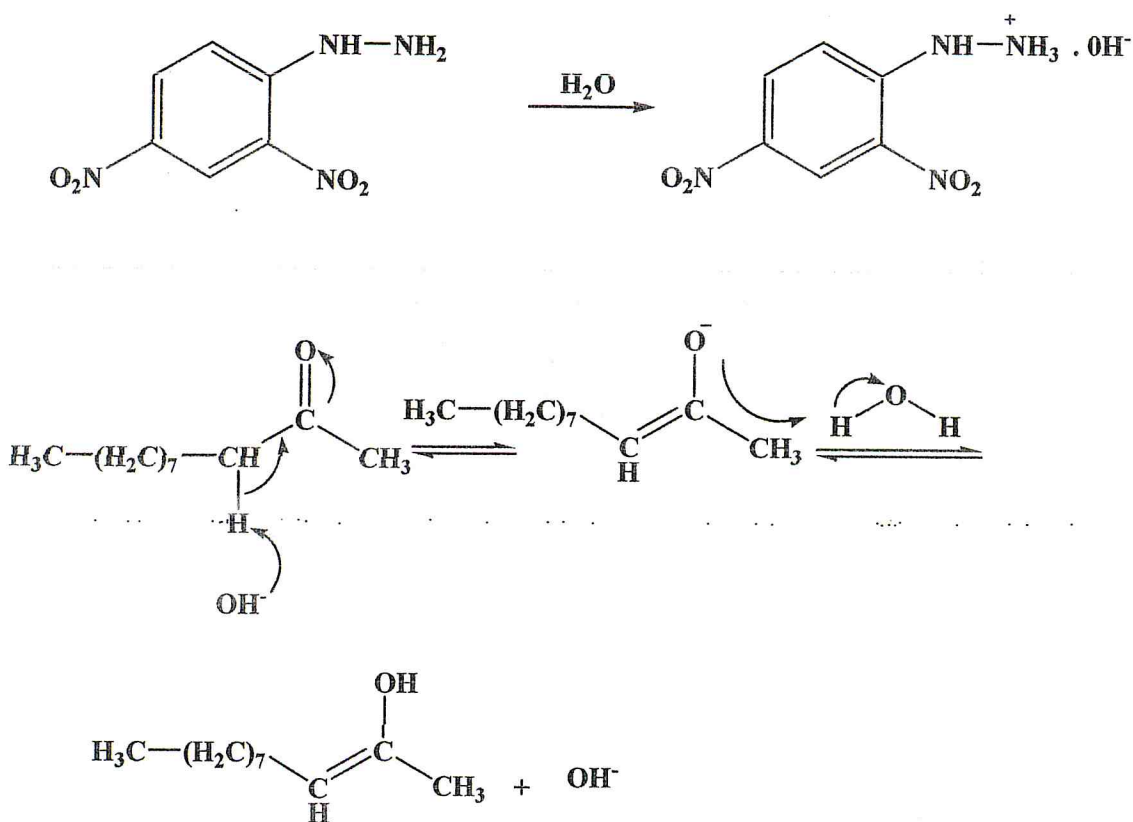
(1') : 3-hydroxy-1-isopropyl-4-méthylbicyclo[5,1,0]-hexan-3-sulfonate de sodium

(2') : α -thuyone (Hydrolyse de de 2-hydroxy-4-isopropyl-1-méthylbicyclo[2,4,0]-hexan-2-sulfonate de sodium)

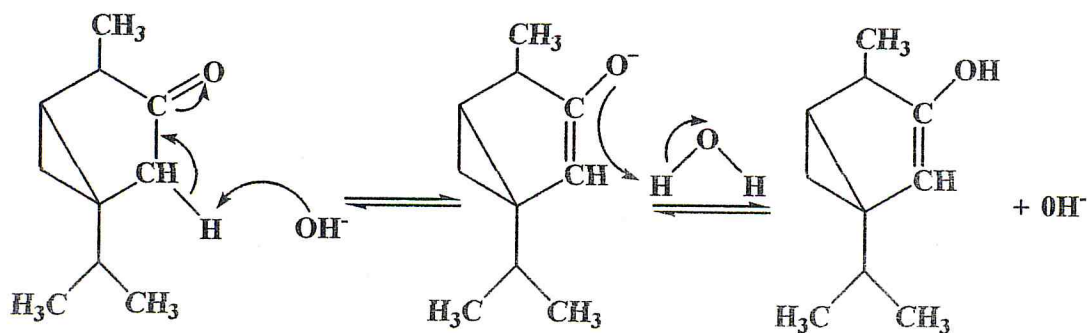
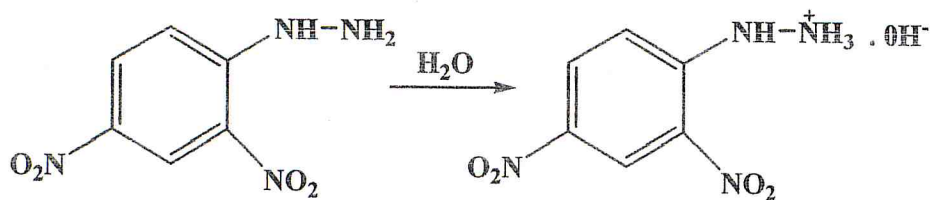
(3') : α -thuyone (Hydrolyse de 2,4dinitrophénylhdrazono-3-thuyle)

Le traitement de l'huile essentielle de la rue de montagne et l'huile essentielle de la sauge officinale se composent essentiellement des cétones et particulièrement le 2-méthylnonylcétone pour l'huile essentielle de la rue et l' α -thuyone pour l'huile essentielle de la sauge par une solution aqueuse d'hydrogénosulfite de sodium conduit quantitativement au 2-hydroxyundécane-2-sulfonate de sodium solide et le 3-hydroxy-1-

isopropyl-4-méthylbicyclo[5,1,0]-hexan-3-sulfonate de sodium. En revanche la même réaction avec le 2,4-dinitrophénylhydrazine fournit le 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane et le 2,4-dinitrophénylhydrazono-3-thuyle avec des rendements discutables. Ces faibles rendements sont attribués à la réaction de tautomérie compétitive de la réaction de condensation de la cétone avec l'hydrazine substituée. La présence de la forme cétone favorise la réaction de condensation, par contre la prépondérance de la forme énole influe sensiblement sur le rendement.



Equation 9: la forme énol de 2-undécane



Equation 10: la forme énole de l' α -thuyone



Conclusion générale

Conclusion générale

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une source inépuisable pour l'élaboration et la mise au point de nouvelles molécules actives, qui jouent un rôle important dans de nombreuses applications : la parfumerie, l'industrie pharmaceutique, cosmétique et agro-alimentaire.

Le but principal de notre étude était l'extraction et la caractérisation des cétones aliphatique et les cétones cycliques par les méthodes chimiques à partir des huiles essentielles de la rue de montagne et la sauge officinale.

Les huiles essentielles de ces deux plantes aromatiques, ont été obtenues par les techniques d'extraction suivantes : l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodistillation et l'hydrodistillation assistée par micro-onde au niveau de laboratoire.

L'extraction d'huile essentielle de la rue par entraînement à la vapeur d'eau a donnée un meilleur rendement (2.02%) par apport à l'extraction par entraînement à la vapeur et l'hydrodistillation assistée par micro-onde. Toutes fois, il reste supérieur au rendement donné par les normes AFNOR (0.75 % à 1.2 %). Cependant l'extraction d'huile essentielle de la sauge par l'hydrodistillation a permit d'obtenir un rendement supérieur (0.71 %) par apport aux d'autres techniques et il est toujours supérieur (0.71 %) avec un temps d'épuisement de (90 min) au rendement donnée par AFNOR (0,7 % à 2 %) en 60 min en Dalmatie. Cette différence des rendements est due à localisation des huiles essentielles dans les deux plantes où on doit faire des coupes histologiques.

L'étude analytique des huiles essentielles de la rue de montagne et la sauge officinale par (IRTF) a montré la présence des bandes caractéristiques à la fonction cétone correspondante. On outre, l'étude qualitative de ces deux huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse (CPG) a révélé la présence des pics correspondent au 2-undécanone et à l' α -thuyone respectivement.

L'action de la solution aqueuse d'hydrogénosulfite de sodium (NaHSO_3) sur les huiles essentielles de la rue de montagne et la sauge officinale a permit d'obtenir le 2-hydroxyundécan-2-sulfonate et le 3-hydroxy-1-isopropyl-1-méthylbicyclo[5,1,0]hexan-2-sulfonate de sodium avec des bons rendements (69%, 86%) respectivement. En

revanche, la condensation de 2,4-dinitrophénylhydrazine avec l'huile essentielle de la rue de montagne et l'huile essentielle de la sauge officinale a conduit à la formation des précipités jaune-orange de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane et le 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-thuyle à des rendements faibles (9%, 8%) respectivement . L'analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) a montré l'apparition des taches correspondant aux hydrazones cités précédemment.

La régénération des cétones caractéristiques des deux huiles essentielles (rue de montagne, sauge officinale), tels que le 2-undécanone et l' α -thuyone a été effectuée par l'hydrolyse des combinaisons bisulfiteuses à l'aide d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (NaOH) qui a donné des rendements importants (65%, 23%). par contre, l'hydrolyse des hydrazones correspondant en présence d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique nous a donné des rendements faibles (6%, 5%). La caractérisation des composés d'additions et leurs régénérations a été réalisé par une analyse spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF).

les rendements des réactions effectuées par l'addition de bisulfite de Sodium sont supérieurs à ceux obtenus par la réaction de condensation de 2,4-Dinitrophénylhydrazine, cette différence de rendement peut s'exprimer par l'influence de la méthode de cette dernière où la réaction subit en premier à une réaction de tautomérisation compétitive de la réaction de condensation de la cétone avec l'hydrazine substituée, ce qui nous mène à conclure que la réaction d'addition de bisulfite de Sodium est la bonne méthode pour l'extraction des cétones.

Références

- [1]. Felidj M. Bouazza M., « Note sur le cortège floristique et l'intérêt de la plante médicinale *Ammoides pussila* (verticillata) dans le Parc national des Monts de Tlemcen (Algérie occidentale) », *Geo-Eco-Trop.*, 2010, 34 : 147 – 154
- [2]. Nouioua W., « Biodiversité et ressources phytogenétiques d'un ecosysteme forestier «*paeonia mascula* (l.) Mill. », Mémoire de Magister Université FERHAT ABBAS – SETIF, (2011).
- [3]. EL Haib A., « Valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques », DOCTORAT de l'université de TOULOUSE, (2011).
- [4]. Guignard J., Louis pelt, J.M. «Abrégé de botanique». 5^{ème} Edition. P 158-160. (1983).
- [5]. Bruneton J., «Plantes toxiques (végétaux dangereux pour l'homme et les animaux) ». 2^{ème} édition. Edition : Techniques et Documentation. P 461-467. (2001).
- [6]. Créte P., «Précis de botanique Tome II (Systématique des angiospermes) ». Paris : Masson.P. (1965).
- [7]. Guignard J, L., «Botanique systématique moléculaire». 12^{ème} édition. Paris : Lasson. P205-206-207. (2001).
- [8]. Baba Iassa, F., «Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb», Ed : Librairie Moderne-Rouïba ; p : 243 - 244. (1999).
- [9]. Metcalf, R., et Metcalf, E., «Plant kairomones in insect ecology and control». Chapman and Hall, New Yor. (1992).
- [10]. Spichiger, R., Savolainen, V., Figeat, M., et Jean, D. «Botanique systématique des plantes à fleurs».3^{ème} édition. Presses polytechnique et universitaire romandes. P272-273. (2004).
- [11]. Julve, Ph., Baseflor., «Index botanique, écologique et chronologique de la flore de France», Version : 23 avril 2004.

- [12]. Grieve, M., «A modern herbal». Vol. II. Dover Publications, New York. (1981).
- [13]. Jean, D., «La culture de la Rue». [<http://eap.mcgill.ca/agrobio/ab-head.htm>] AGRO-BIO-350-01. (1992).
- [14]. Thurzoua, L., «Les plantes –santé». Edition: BORDAS. P 98-99. (1981).
- [15]. Hans, F., «Herbes medicinal. Edition: delachaux et niestlé», Paris. P 170. (1977).
- [16]. Inna, K., Irina, T., et Bernd, S., «Specific accumulation and revised structures of acridone alkaloid glucosides in the tpe of transformed roots of *Ruta graveolens*L. », *Journal Phytochemistry* 65 (2004) 1095–1100. (2004).
- [17]. Zobel, A.M., S.A. Brown. «Dermatitis-inducing furanocoumarins on leaf surfaces of eight species of rutaceous and umbelliferous plants», *Journal of Chemical Ecology*, 16(3):693-700. (1990).
- [18]. <http://www.inchem.org/>.
- [19]. Metzger, F.W., « Repellency to the Japanese beetle of extracts made from plants immune to attack». USDA Technical Bulletin No. 299. (1932).
- [20]. Smale, B.C., Wilson R.A., et Keil H.L., « A survey of green plants for antimicrobial substances *Phytopathology*», 54:748. (1964).
- [21]. Kabouche A., «Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae », Mémoire de Doctorat, UNIVERSITE MENTOURI-CONSTANTINE, (2005).
- [22]. Ekopédia, <http://fr.ekopedia.org/>.
- [23]. Dellile, L., « plantes médicinales d'Algérie », Berti Edition, (2007).
- [24]. Hammiche, V., et Maiza, K., « Traditional medicines in central Sahara : Pharmacopoesis of Tassili N'ajjer» *Journal of Ethnopharmacology*, (2006), 358-367.
- [25]. Iserin, P., «Encyclopédie des plantes médicinales », Larousse, (2001).

- [26]. Grundwald, J., et Janicke, C., « Guide de la phytothérapie », Edition Marabout, (2004), 341-342.
- [27]. Rodozko, V., « Abécédaire de la phytothérapie », (2000), 125.
- [28]. Schauenderg, P., « Guide des plantes médicinales », Dalachaux Niestlé, Paris, (1977), 396.
- [29]. Wichtl M., et Anton R., « Plantes thérapeutiques : tradition, pratiques, officinales », Tec & Doc, 2003, 692.
- [30]. Quezel, R., Santa, S., « Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques Méridionales » Tome II, Edition Centre National de la Recherche Scientifique.
- [31]. Valnet, J., " Aromathérapie, traitement des maladies par les essences des plantes ".
- [32]. Bruneton, J., « pharmacognosie : phytochimie des plantes médicinales » Edition Lavoisier, (1999), 1119.
- [33]. Crassula., « Encyclopédie Culinaire Collaborative ».
- [34]. Phytothérapie, Plantes Médicinales, Aromathérapie, Huiles Essentielles.
- [35]. Aouadhi S., « Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle ». Faculté de médecine de Tunis- Master spécialisé en toxicologie (2010).
- [36]. Lu, Y., Foo, L.Y., « Polyphenolics of *Salvia* a review. Phytochemistry», 59:114-140, (2002).
- [37]. Baydar, H., et Ozkan, G., «Yield, chemical composition, and antioxidant properties of extracts and essential oils of sage and rosemary depending on seasonal variations», Acta Hort., 826: 383-389, (2009).
- [38]. Miladinoviæ, D., Miladinoviæ, L., «Antimicrobial activity of essential oil of sage from Serbia». Facta Universitatis, Series; Physics, Chemistry and Technology, 2: 97-100, (2000).

- [39]. Lucchesi Elisabeth M., « extraction sans solvant assistée par micro-ondes, conception et application à l'extraction des huiles essentielles », thèse de Doctorat, Université de la REUNION (2006).
- [40]. Jouault, S., « la qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité », université de lorraine, (2012).
- [41]. Mebarki N., « Extraction des huiles essentielles de *Thymus Fontanesii* et l'application à la formulation médicamenteuse- antimicrobienne », UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA BOUMERDES, (2010).
- [42]. Benazzineddine, S., « effet insecticide des cinq huiles essentielles vis-à-vis des *Sitophilus oryzae* (Coleoptera Curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera ; Tenebrionidae) », Ecole nationale supérieure agronomique El-Harrach d'Alger – Ingénieur d'état en science agronomique 2010.
- [43]. EL Abed ET Kambouche N., « Les huiles essentielles », édition dar el Gharb (2003) :120p
- [44]. BRUNETON J., « Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales », 2^{ème} édition Lavoisier, 1993 :p915
- [45]. MAYER, F., « Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite », Thèse de Doctorat en Pharmacie, 2012.
- [46]. Qureshi, N., Poster J. W., « In Biosynthesis of isoprenoid Dompounds » ; Wiley : New York (1981), V 1, 47-94
- [47]. Gerhard, R., Press polytechnique et universitaire romandes, Diffusion, *Tec et Doc*, France, 1993, 291
- [48]. Hameurlaine S., « Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* de la région de Ghardaïa » mémoire de magister. Université de Kasdi Merbah –Ouargla, (2009).
- [49]. Benslimane, A., Younsi, B., « Synthèse et analyse d'un nouvel insecticide à base de mélange tensioactif (molécule perfluoré) et l'huile essentielle (*pistacia*

- atlantica*) et son application sur le puceron noir (*Aphis craccivora*) », Mémoire de fin d'études. Institut d'agropastoralisme. Djelfa (2002).
- [50]. Sattar, I., et Bouchenak, N., « Extraction et caractérisation des huiles essentielles de la sange (*Salvia officinalis*) et du Romarin ». Département de biologie, université de Saad Dahleb Blida. Thèse d'ingénieur d'état (2005).
- [51]. Guenther, E., « The essential oils », Ed. Robert Krieger publishing Co. H. Huntington, New York. 1972.
- [52]. Bass D. C., « analyse des arômes », technique d'ingénieur 2012.
- [53]. Figueredo, G., « Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne », Thèse de Doctorat, UNIVERSITÉ BLAISE PASCAL, (2007).
- [54]. Phutdhawong, W., Kawaree, R., « Microwave-Assisted Isolation of Essential oil of *Cinnamomum iners* Reinw. ex Bl.: Comparison with Conventional Hydrodistillation », *Molecules* **2007**, *12*, 868-877
- [55]. Ben amor, B., « Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée », Thèse de Doctorat de l'université de la ROCHELLE.
- [56]. Aimesther Ojito Betancourt., « Analyse, extraction et récupération de poly-3-hydroxybutyrate présent dans la biomasse », Université du Québec À MONTRÉAL, janvier (2008).
- [57]. Stashenko, E.E., Jaramillo B, E., Martinez J. R. « Analysis Of Volatil Secondary Metabolites from Colombian *Xylopiia aromatic* (Larmarck) by different Extraction and Head space Methods and Gas Chromatography », *J. Chromatogr A.* 2004, *1025*, 105-113.

- [58]. Kaufmann, B., «Christen, P., and Veuthey, J. L. (2001). Parameters affecting microwave-assisted extraction of with anolides», *Phytochemical Analysis* 12, 327–331.
- [59]. Chen, S.S., Spiro, M., «Study of microwave extraction of essential oil constituents from plant material», *J. Microw. Power Electromagn. Energy* 29 (4) (1994) 231–241.
- [60]. Chen, S.S., Spiro, M., « Kinetics of isothermal and microwave extraction of essential oil constituents of peppermint leaves in several solvent systems», *Flavor Fragrance J.* 10 (1995) 259–272.
- [61]. Jiao Jiao, Yu-Jie Fu., “Enzyme-assisted microwave hydro-distillation essential oil from *Fructus forsythia*, chemical constituents, and its antimicrobial and antioxidant activities”, *Food Chemistry* 134 (2012) 235–243.
- [62]. Liddle. P., « Smedip, A.P, Parfum, Cosmétique et Arome ». P 110-112-117, (1981).
- [63]. Mathebiau P., Disponible sur
« <https://sites.google.com/a/nouvellearoma.com/philippemathebiau/normes-nouvelles-HEBBD-EOBBD/composants-biochimiques/structures-biochimiques/cetones>».
- [64]. GREEVES C., WOTHERS W., « Chimie Organiques », eddition De Boeck, 2003.
- [65]. Daniel « Réactions des aldéhydes et des cétones », P3, Université de Genève
- [66]. Nguemtchouin M., Goletti M., « Formulation d’insecticides en poudre par adsorption des huiles essentielles de *Xylopi aethiopica* et de *Ocimum gratissimum* sur des argiles camerounaises modifiées » thèse de doctorat en COTUTELLE.
- [67]. GARNER J., «Huiles Essentielles »,
- [68]. Djeddi, S., Bouchenak, N.S., Settar, I., et Halli, L., « Screening of chemical composition and antimicrobial potential of Algerian sage essential oil», *Global Journal of Medicinal Plant Research*, 1(1): 46-49., (2012) ISSN 2074-0883.

[69] Hamdni Fatima Z., -Extraction et comparaison de l'activité bactéricide et insecticide d'huile essentielle de *Ruta montana*, Mémoire de Master, université Saad Dahleb, Blida (2011).

[70]. Lakhali H., Ghorab H., « Chemical composition and biological activities of the essential oil of *Salvia officinalis* from Batna (Algeria) », *Der Pharmacia Lettre*, 2013, 5 (3):310-314

Annexe 1



Figure VI.1 : Huile essentielle de la sauge officinale



Figure VI.2 : Huile essentielle de la rue de montagne

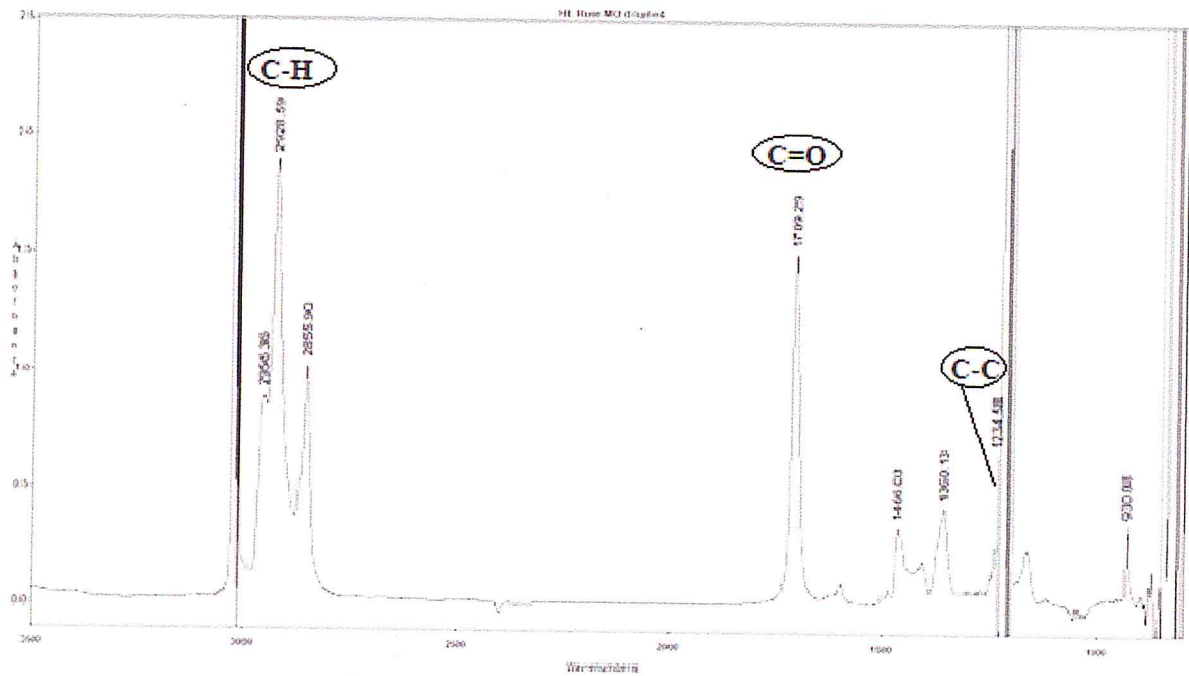


Figure IV 3: Spectre infrarouge d'huile essentielle de la rue de montagne extraite par hydrodistillation assistée par micro-onde

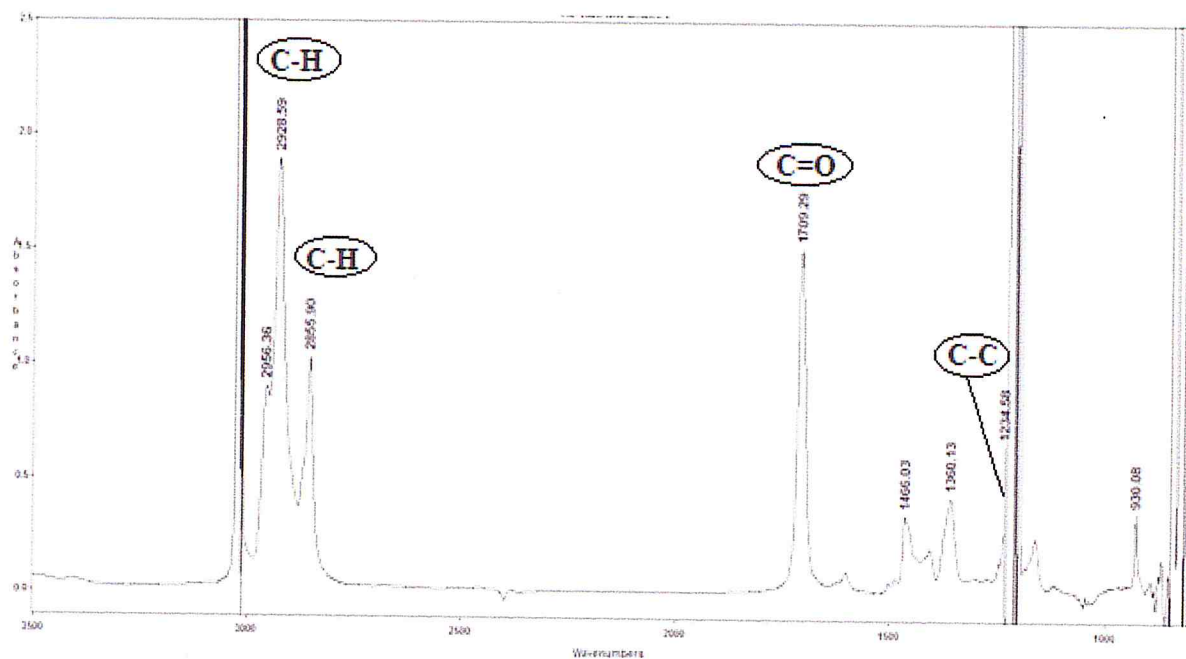


Figure IV 4: Spectre infrarouge d'huile essentielle de la rue de montagne extraite par hydrodistillation



Figure IV.5: précipité de 2,4-dinitrophénylhydrazono-2-undécane

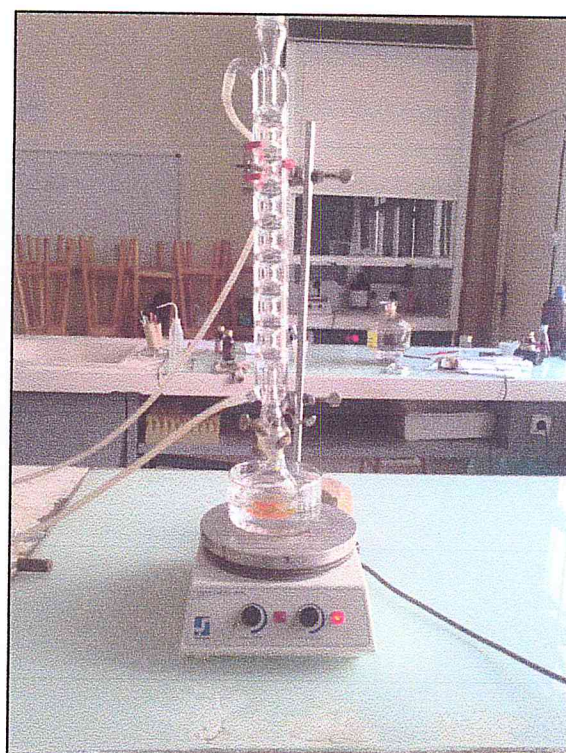


Figure VI.6 : montagne d'hydrolyse de la réaction de 2,4-dinitrophénylhydrazine

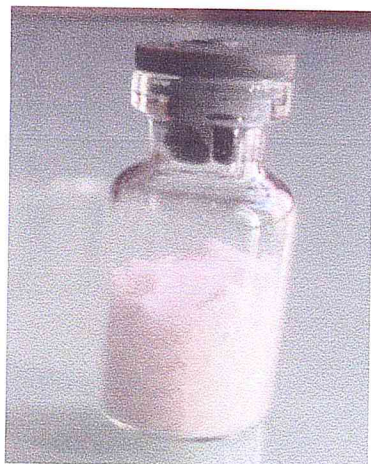


Figure IV.7: les cristaux blancs de l'addition de bisulfite de sodium sur les deux huiles essentielles de la rue de montagne, la sauge officinale



Figure IV.8 : la régénération de 2-undécanone et l' α -thuyone par la soude



Figure IV.9 : Fusionmètre