

Faculté des Sciences Exactes et de l'Informatique
Département de Chimie
Filière : Chimie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Pour l'Obtention du Diplôme de Master en chimie
Option : Chimie appliquée

THEME :

**Extraction, caractérisation et identification des composés
chimiques d'une huile naturelle**

Etudiantes :

- **Hamidi Dalila**
- **Kouari souhila**

Encadrant :

- **Docteur Mahmoud Belalia**

Année Universitaire 2018-2019

Dédicace

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes chers parents, qui m'avez dirigé et suivi pondant toute mes années d'étude et surtout ma mère pour ses sacrifices de tous les instants, sa patience sans limite et l'éducation qu'elle m'a donnée, je lui dit merci mille fois.

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à

Ma sœur : Rabha

Mes frères : Abd ElWahab, Abd El Hakim et Nouredine.

Et A mon cher binôme Dalila

Je vous remercie pour votre soutien moral, votre patience et votre dévouement à ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.

Mes très chères amies : Kawthar, Wafaa, Siham.

A toute la promotion Master II chimie Appliqué 2019

A tous ceux qui me sont chers et qui m'aiment



souhila

Je dédie ce travail :

A mes parents :

Qui m'ont transmis de l'amour, la joie, le courage et pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué. Aucun dédicace aucun mot ne pourrait exprimer mon respect ma considération et mes profonds sentiments envers eux.

A ma sœur :

Hanaa. Pour votre soutien moral, vous m'avez appris la patience sur mon travail. Je vous souhaite un avenir plein de succès.

A mon binôme Souhila :

Je vous remercie pour votre soutien moral, votre patience et votre dévouement à ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.

A mon fiancé Sid Ahmed :

Pour votre compréhension, votre confiance, votre patience. Vous m'avez toujours soutenu et réconforté. Vous êtes et vous resterez toujours ma source d'encouragement. Vous avez supporté mes caprices pendant certaines périodes de ce parcours. Sincère gratitude.



Dalila

Remerciement

Nos remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :

ALLAH le tout puissant de nos avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Car l'homme propose mais ALLAH dispose. Seigneur, veuillez toujours diriges nos pas.

Nous tenons à adresser nos très sincères remerciements à notre encadreur et directeur de mémoire Dr Mahmoud Belalia qui nous a guider dans notre travail. Merci pour nous avoir accordé votre temps, Merci pour d'avoir mis votre expérience à notre profit, Merci pour votre disponibilité et vos conseils judicieux.

Nous tenons à présenter notre sincère et vif remerciement à les membres du jury, professeur Ahmed Belhakem et docteur Abdenour Benguendouz, qui ont accepté de juger notre travail.

Nous n'oublions pas de remercier aussi monsieur Ghribi Hmida, ingénieur de laboratoire, Merci d'avoir été patient avec nous.

Enfin, nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous

La liste d'abréviation

AFNOR : Association Française de Normalisation.

°C : Degré Celsius

C.A : codex Alimentarius

Cm : Centimètre.

d : densité

g: Gramme.

g/mol : Gramme par mole.

h : Heure.

HE : Huile essentielle.

la : Indice d'acide.

IE : Indice d'ester.

IP : Indice de peroxyde.

Is : indice de saponification.

kg: Kilogramme.

méq O₂/Kg : Milliéquivalent de O₂ par kilogramme.

mg KOH/g d'huile :milligramme de KOH par gramme d'huile.

min: Minute.

ml: Millilitre.

N : Normalité.

T : température

La liste des figures

Figure1. Structure des polyphénols	(2)
Figure2. Structure des alcaloïdes	(3)
Figure3. Structure des tanins	(4)
Figure4. Structure des flavonoïdes	(4)
Figure5. Structure des stéroïdes	(5)
Figure6. Structure des terpenoïdes	(5)
Figure7. Structure des anthocyanes	(6)
Figure8. Entraînement à la vapeur	(7)
Figure9. Extraction par pression à froid	(8)
Figure10. Hydrodistillation	(8)
Figure11. Extraction par micro-onde	(9)
Figure12. Extraction par dioxyde de carbone CO ₂	(9)
Figure13. Appareil de soxhlet	(13)
Figure14. Appareil évaporateur rotatif	(14)
Figure15. Pycnomètre	(15)
Figure16. Appareil réfractomètre	(15)
Figure17. Test indice de saponification	(18)
Figure18. Test d'indice d'ester	(18)

La liste des tableaux

Partie : expérimental

Tableau 01 : Caractéristiques des produits chimiques utilisés (12)

Partie : résultat et discussion

Tableau 2 : quelques propriétés de notre solvant (22)

Tableau3 : densité d'huile essentielle par la méthode de soxhlet (22)

Tableau 4 : valeur d'indice de réfraction de notre huile essentielle (23)

Tableau5 : valeur d'indice d'acide de notre huile essentielle (23)

Tableau 6 : valeur d'indice de peroxyde de notre huile essentielle (24)

Tableau 7 : valeur d'indice de saponification de notre huile essentielle (24)

Tableau8 : valeur d'indice d'ester de notre huile essentielle (25)

Tableau 9 : Influence du procédé d'extraction sur la couleur de l'huile (26)

Tableau 10 : Résultats de criblage phytochimique de notre l'extrait (27)

Dédicace	
Remerciement	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste d'abréviation	

Sommaire

Introduction	(1)
--------------	-----

Partie : synthèse bibliographique

Chapitre1 : les huiles essentielles et molécules bioactives

1 Les huiles essentielles	(2)
1-1 Définition	(2)
1-2 Les métabolites secondaires des huiles essentielles	(2)
1-2-1 Définition	(2)
❖ Polyphénols	(2)
Propriétés biologiques des polyphénols	(3)
❖ Alcaloïdes	(3)
Propriétés des alcaloïdes	(3)
❖ Tanins	(4)
❖ Flavonoïdes	(4)
❖ Stéroïdes	(5)
❖ Terpénoïdes	(5)
❖ Anthocyanes	(6)

Chapitre2 : les techniques d'extraction des huiles essentielles

2-1 Introduction	(7)
2-2 les principales méthodes d'extraction	(7)

2-2-1 l'entraînement à la vapeur	(7)
2-2-2 l'expression à froid	(8)
2-2-3 l'hydrodistillation	(8)
2-3 Autre méthodes d'obtention des extraits volatils	(9)
2-3-1 Extraction par micro-onde	(9)
2-3-2 Extraction par CO ₂ supercritique	(9)
2-3-3 Extraction par solvant	(10)
2-3-3-1 Extraction liquide-liquide	(10)
2-3-3-2 Extraction solide-liquide	(10)
2-3-3-2-1 Les types d'extraction solide-liquide	(10)
• Macération	(10)
• Décoction	(10)
• Infusion	(10)
• Soxhlet	(10)
Description	(11)
Les avantages et les inconvénients de l'extraction par soxhlet	(11)

Chapitre3 : partie expérimentale

3-1 Matériels et produits utilisés	(12)
3-2 Les produits chimiques utilisés	(12)
3-3 Extraction de l'huile essentielle par soxhlet	(13)
3-3-1 Mode opératoire	(13)
3-3-2 Evaporation	(13)
3-4 Caractérisation physicochimique de l'huile essentielle	(14)
3-4-1 Analyses physiques	(14)
❖ Densité	(14)
❖ Indice de réfraction	(15)

3-4-2 Analyses chimiques	(16)
❖ Indice d'acide	(16)
❖ Indice de peroxyde	(16)
❖ Indice de saponification	(17)
❖ Indice d'ester	(18)
3-5 Paramètres organoleptiques	(19)
3-6 Les tests phytochimiques	(19)
❖ Test des phénols	(19)
❖ Test des alcaloïdes	(19)
❖ Test des tanins	(19)
❖ Test des flavonoïdes	(20)
❖ Test des stéroïdes	(20)
❖ Test des térénoïdes	(20)
❖ Test des glycosides cardiaques	(20)
❖ Test des anthocyanes	(20)
❖ Test des composés réducteurs	(21)

Chapitre4 : résultat et discussion

4-1 Extraction de l'huile par soxhlet	(22)
4-2 Paramètres physico-chimiques	(22)
4-2-1 Paramètres physiques	(22)
❖ Densité	(22)
❖ Indice de réfraction	(22)
4-2-2 Paramètres chimiques	(23)
❖ Indice d'acide	(23)
❖ Indice de peroxyde	(24)
❖ Indice de saponification	(24)
❖ Indice d'ester	(25)
4-3 Paramètres organoleptiques	(26)
❖ Couleur	(26)
❖ Aspect	(26)

4-4 Criblages phytochimiques (26)

Conclusion (29)

Références

introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner, et parfois les utilise dans des rites religieux. Elles sont exploitées dans diverses industries telles que : la parfumerie, l'agro-alimentaire, les cosmétiques et la pharmaceutique. La plupart des végétaux renferment des huiles essentielles en quantités variables, ce qui confère à la plante un pouvoir odorant et aromatique.

La science confirme les différentes vertus des plantes aromatiques et de leurs huiles essentielles et leurs extraits bruts dont les domaines d'application sont très variés et qui sont très utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs et dans les cosmétiques, les parfumeries, les industries de savon et de détergents en volume impressionnant. Elles rentrent également dans la composition de plusieurs médicaments, sous forme de crèmes, gélules et suppositoires (1).

Les huiles essentielles, se trouvent dans diverses parties de la plante : bois, feuilles, fruits, graines et racines. De nos jours, les huiles essentielles suscitent de plus en plus l'intérêt des chimistes, biologistes, et médecins en raison de leurs utilisations dans le traitement de certaines maladies infectieuses pour lesquelles les antibiotiques de synthèse deviennent de moins en moins actifs ou dans la préservation des aliments contre l'oxydation comme alternatives aux produits chimiques de synthèse.

De manière générale, l'extraction des huiles essentielles préalable à l'analyse chimique se compose de deux étapes : l'extraction et l'analyse. Alors que l'étape analytique requiert en général quelques minutes, l'étape d'extraction nécessite plusieurs heures (2).

Notre objectif dans ce travail est de faire l'extraction des huiles essentielles d'une plante médicinale, et ensuite faire l'analyse physico-chimique et les tests photochimiques.

Le présent travail est scindé en deux parties. La première partie est théorique, portant deux chapitres. Premier qui illustre les huiles essentielles et molécules bioactives. Deuxième, les techniques d'extraction des huiles essentielles, on a mentionné divers procédés, mais on a basé sur le procédé de soxhlet, sa description, ses avantages et ses inconvénients.

Seconde partie est expérimentale, portant sur deux chapitres. Dans le premier, On y décrira les protocoles expérimentaux utilisés pour extraction par soxhlet et pour les analyses : Physiques (densité, indice de réfraction), chimiques (indice d'acide, indice de peroxyde, indice de saponification et indice d'ester) et pour les tests photochimiques, on a mentionné les métabolites secondaires qui sont présent dans la plante.

Deuxième chapitre, nous présenterons et discuterons les résultats obtenus au cours de notre étude.

A la fin, on termine par une conclusion générale.

1 Les huiles essentielles :

1-1 définition : Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, les branches, le bois. Elles sont présentes en petite quantité par rapport à la masse du végétal. Ce sont des substances d'aspect huileux, volatiles à température ordinaire, ininflammables, insolubles dans l'eau, solubles dans les alcools et les éthers (3).

1-2 Les métabolites secondaires des huiles essentielles :

1-2-1 définition : Le terme « métabolite secondaire », qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques (4).

Les composés chimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols y compris les flavonoïdes, les anthocynes, les tanins, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes...etc.

❖ Polyphénols :

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ils sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits.

Les composés phénoliques jouent un rôle fondamental, car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé. (5).

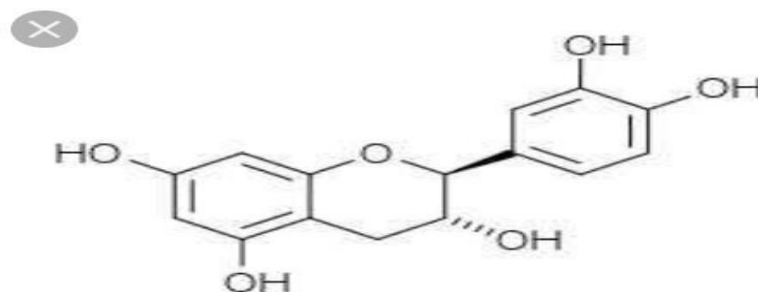


Figure1. Structure des polyphénols

Propriétés biologiques des polyphénols :

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées, en raison de leurs diverses propriétés physiologiques.

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (6).

❖ Alcaloïdes :

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe. Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. (7).

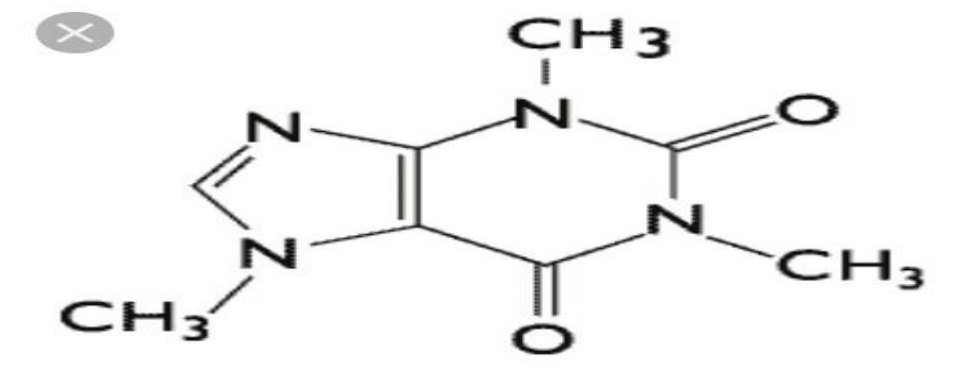


Figure2. Structure des alcaloïdes

Propriétés des alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont caractérisés par une solubilité faible dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool et peuvent donner des colorations spécifiques avec certains réactifs (réactifs de Mayer, de Dragendorf, de Wasicky, de Bouchardat). Ils exercent en générale de puissantes actions pharmacologiques.

Les alcaloïdes ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont des solides cristallisables, rarement colorés (8).

❖ Tannins :

Les tannins (ou tanins) sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir. Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène de la peau. (9).

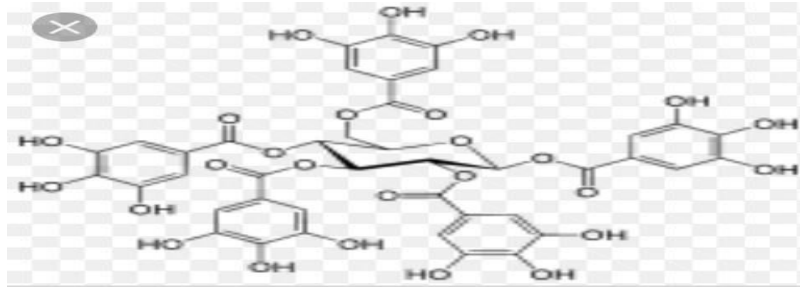


Figure3. Structure des tanins

❖ Flavonoïdes :

Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (10).

Les flavonoïdes constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (11).

Ils se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (12).

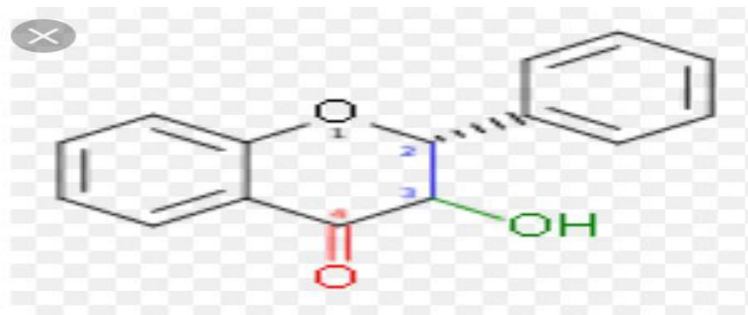


Figure4. Structure des flavonoïdes

❖ **Stéroïdes :**

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques. Ils sont synthétisés à partir d'un triterpène acyclique, le squalène, bien qu'ils soient généralement modifiés et qu'ils possèdent moins de 30 atomes de carbone (13).

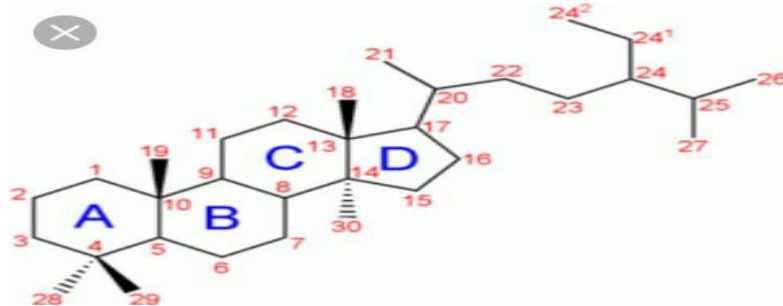


Figure5. Structure des stéroïdes

❖ **Terpénoides :**

Les terpènes constituent probablement la classe la plus vaste et la plus diversifiée de composés organique des végétaux, avec près de 15.000 structures moléculaires connues. Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui les composent ainsi que dans les divers modes d'assemblage, on distingue ;

- Les monoterpènes à 10 atomes de carbone.
 - Les sesquiterpènes à 15 atomes de carbone.
 - Les diterpènes à 20 atomes de carbone.
 - Les triterpènes à 30 atomes de carbone et les tétra terpènes à 40 atomes de carbone
- (14).

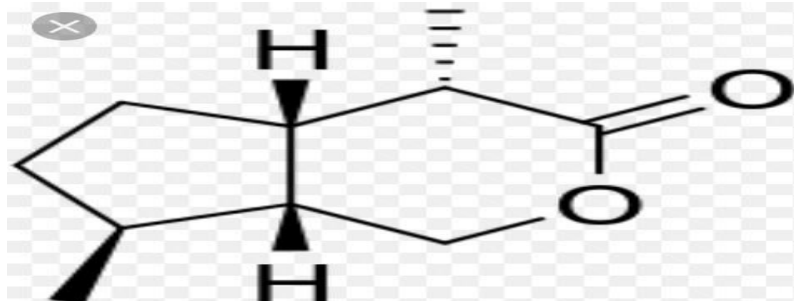


Figure6. Structure des terpnoïdes

❖ Anthocyanes :

Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange.

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3. Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment (15).

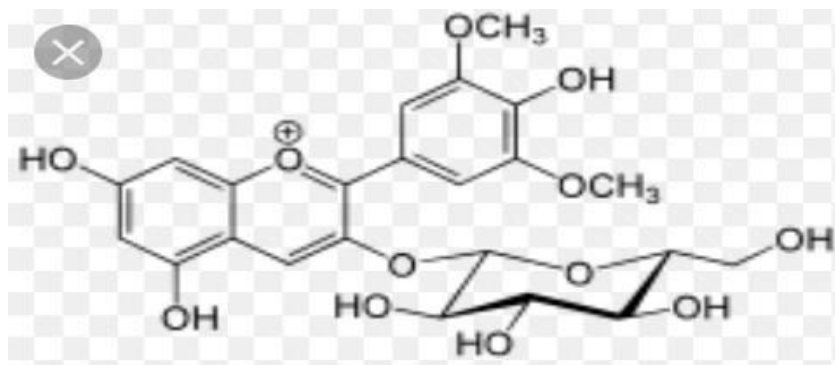


Figure7. Structure des anthocyanes

2-1 Introduction :

L'extraction est un procédé qui permet d'obtenir une espèce chimique à partir d'une substance naturelle qui la contient. Cette technique utilise un moyen d'extraction pour séparer sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange sur la base de propriétés chimiques et/ou physiques. Le moyen d'extraction n'est pas ou peu miscible avec les composants principaux du mélange alors que le composé à extraire possède plus d'affinités avec le moyen d'extraction qu'avec les composants principaux du mélange (15).

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, hydrodistillation, expression. Le choix de la méthode la mieux adapté se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter (16).

2-2 Les principales méthodes d'extraction :

2-2-1 L'entraînement à la vapeur : les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composées volatiles contenues dans les végétaux sont entraînable par la vapeur d'eau, du fait de leurs points d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se séparer par décantation.

Les principales variantes de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau sont l'hydrodistillation, la distillation à la vapeur saturée et hydrodiffusion(17).

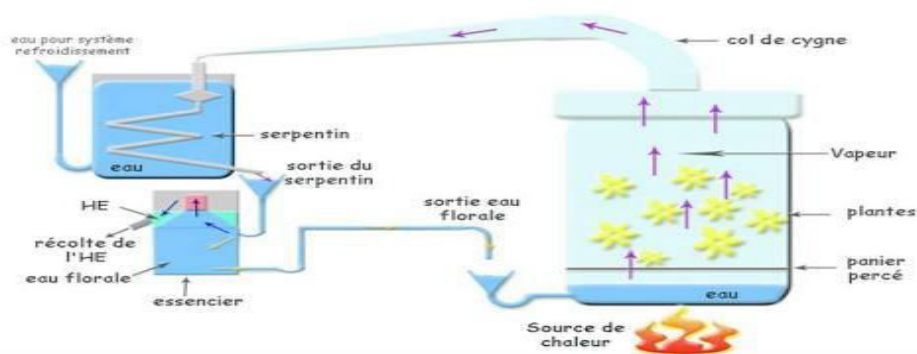


Figure 8. Entraînement à la vapeur

Chapitre2 les techniques d'extractions des huiles essentielles

2-2-2 L'expression à froid : elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'encore des fruits comporte des poches sécrétrices d'essence. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presse pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique **(18)**.



Figure9. Extraction par pression à froid

2-2-3 l'hydrodistillations : le principe est celui de la distillation des mélanges binaires non-miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux. Cependant, à cause de l'eau, de l'acidité, de la température du milieu, il peut se produire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement, d'oxydation etc..... **(19)**.

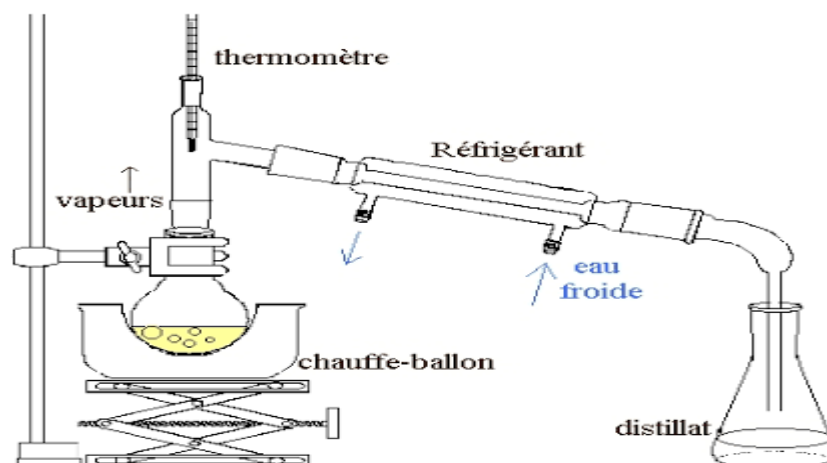


Figure 10. Hydrodistillation

2-3 autres méthodes d'obtention des extraits volatils :

2-3-1 Extraction par micro-ondes : le procédé d'extraction par micro-ondes consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Cette technique présente les avantages suivants : rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel (20).

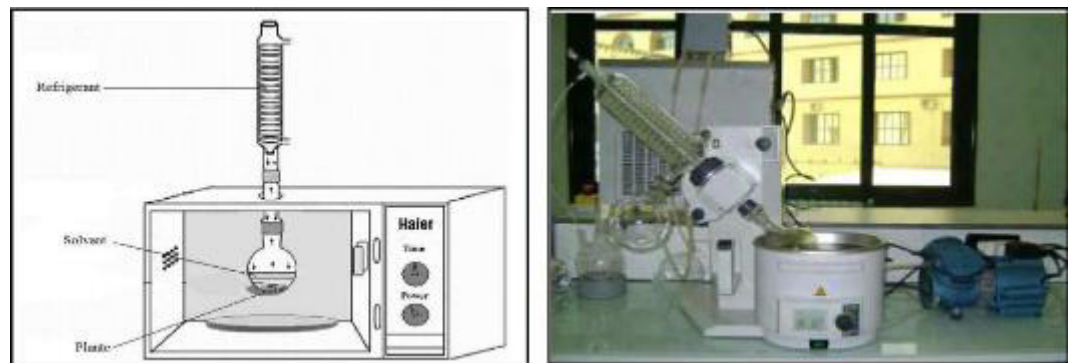


Figure11. Extraction par micro-onde

2-3-2 Extraction par CO₂ supercritique : la technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le CO₂ à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le CO₂ permet l'extraction dans le domaine liquide et la séparation dans le domaine gazeux. Le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Cette technique est meilleure qu'hydrodistillation en termes de coût, d'économie d'énergie, de rendement et de qualité du produit obtenu du fait que le CO₂ est incolore, inodore, ininflammable et non toxique.

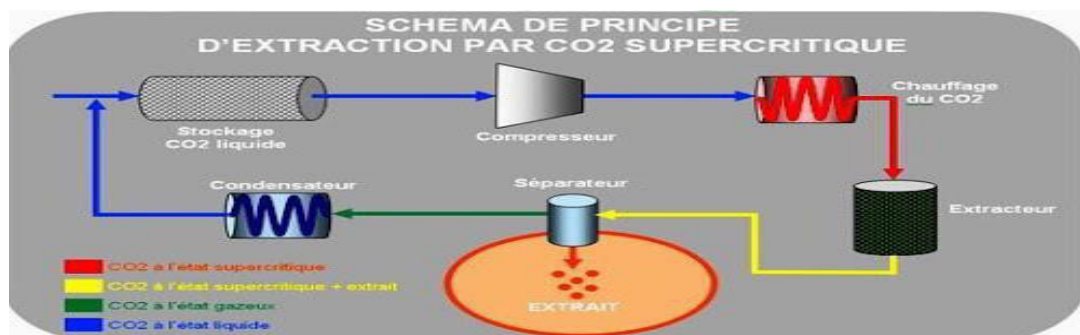


Figure12. Extraction par dioxyde de carbone CO₂

Chapitre2 les techniques d'extractions des huiles essentielles

2-3-3Extraction par solvant : la méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, discontinu **(21)**.

On distingue deux types d'extractions par solvant :

2-3-3-1Extraction liquide – liquide : est une technique physicochimique de séparation et de concentration des composés ou des éléments chimiques. Elle est basée sur la distribution d'un soluté entre deux phases liquides non miscibles dont l'une est aqueuse et l'autre organique. La phase organique constituée par un ou plusieurs extractants dissous dans un diluant encore appelé solvant.

Les inconvénients d'une cette extraction sont bien connus tel que la consommation d'énorme quantité de solvants organiques potentiellement toxiques, perte de solvants organiques et extractant, la teneur de la séparation des deux phases par décantation **(22)**.

2-3-3-2Extraction solide - liquide : est l'opération fondamentale qui a pour le but d'extraire, séparer, de dissoudre soit par immersion, soit par percolation d'un constituant solide ou piégé dans le solide. C'est une opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide, qui contient la matière à extraire et une phase liquide, le solvant d'extraction **(23)**.

2-3-3-2-1Les types d'extraction solide-liquide : macération ; décoction ; infusion ; soxhlet.

- **Macération** : le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre. Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 à 12 heures) **(24)**.
- **Décoction** : les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition un temps plus ou moins long, deux ou trois minutes pour les feuilles, les tiges et les fruits ; cinq minutes ou plus pour les écorces et les racines **(24)**.
- **Infusion** : une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matières végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes **(25)**.

Chapitre2 les techniques d'extractions des huiles essentielles

- **Soxhlet** : l'extraction par soxhlet, qui a été employé longtemps, est une technique standard et la référence principale pour évaluer la performance d'autres méthodes d'extraction solide-liquide. L'extraction par Soxhlet est une technique générale et bien établie, et qui dépasse en performance les autres techniques conventionnelles d'extraction, excepté dans le cas de l'extraction des composés thermo mobiles **(26)**.

Dans notre étude, on a travaillé et basé sur la méthode de soxhlet.

Description : Dans un système conventionnel de soxhlet, la matrice végétale est placée dans une cartouche, et rempli de solvant frais condensé à partir d'un ballon à distiller. Quand le liquide atteint le niveau de débordement, un siphon aspire la solution de la cartouche et de la décharge de nouveau dans le ballon à distiller, portant les corps dissous extraits dans le liquide en bloc. Dans le ballon, le corps dissous (soluté) est séparé du solvant par distillation. Le soluté reste dans le flacon et le solvant frais passe de nouveau dans le lit de solide. L'opération est répétée jusqu'à ce que l'extraction soit réalisée **(27)**.

Les avantages et les inconvénients de l'extraction par soxhlet :

- **Avantage** :

Le déplacement de l'équilibre de transfert en mettant à plusieurs reprises le solvant frais en contact avec la matrice solide.

Le maintien d'une température relativement élevée d'extraction avec la chaleur du ballon à distiller.

Aucune ne nécessite de filtration après l'extraction. En outre, la méthode de soxhlet est très simple et bon marché **(28)**.

- **Inconvénient** :

Le temps d'extraction est long et une grande quantité de solvant est nécessaire. Il est impossible d'accélérer le processus par agitation. La grande quantité de solvant utilisée exige une étape d'évaporation concentration.

La possibilité de dégradation thermique des composés cible ne peut être ignoré vu que l'extraction s'opère habituellement au point d'ébullition du solvant pendant un temps assez long.

La grande quantité de solvant ainsi que la longue durée de l'opération ont conduit à de larges critiques de cette méthode **(28)**.

Dans ce chapitre, nous proposons d'aborder les différents aspects pratiques de notre étude, à savoir la méthodologie employée pour l'extraction et la caractérisation des huiles essentielles extraites.

3-1 Matériels et produits chimiques :

- **Balance :** Toutes les pesées ont été réalisées sur une balance analytique de marque SARTORIUS, de précision égale à $\pm 0.0001\text{g}$.
- **Plaque chauffante :** La température et la vitesse d'agitation ont été contrôlées à l'aide d'une plaque chauffante.
- **Chauffe ballon :** il a été utilisé dans le procédé d'extraction par soxhlet, il permet le chauffage d'eau.
- **Etuve :** permet de séchage notre verreries, elle est de marque MEMMERT
- **Rotavapor :** afin de distiller rapidement les solvants, il est de marque BUCHI
- **Agitateur magnétique :** utilisé pour assurer l'homogénéisation d'un milieu.
- **Erlenmeyer, Burette, Eprouvette.**

3-2 Les produits chimiques utilisés :

Produit chimique	Formule Chimique	Masse molaire (g/mol)	Pureté (%)
Amidon	$(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$	Si $n=1$ $M=162$	-
Iodure de potassium	KI	166.0028	99
Phénolphtaléine	$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$	318.3228	-
Hydroxyde de Potassium	KOH	56.11	-
Ethanol	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	46.068	96
Chloroforme	CHCl_3	119.38	99-99.4
Acide acétique	CH_3COOH	60.05	99-100
Thiosulfate de sodiumpenta hydraté	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3, 5\text{H}_2\text{O}$	248.q.11	99
Acide chlorhydrique	HCl	36.46	36,5-38
Di iode	I_2	253.8089	99.8
Chlorure de mercure	HgCl_2	271.5	-
Chlorure de fer (III)	FeCl_3	162.204	-
An hydrique acétate	AC_2O	102.09	-
Acide sulfurique	H_2SO_4	98.078	-
Ammoniaque	NH_4OH	35.0458	-
Liquueur de Fehling	-	-	-

Tableau 01. Caractéristiques des produits chimiques utilisés

3-3 Extraction de l'huile essentielle par soxhlet :

3-3-1 Mode opératoire :

- Placer dans l'extracteur la cartouche (en papier filtre épais) contenant la prise d'essai broyée.
- Positionner l'extracteur sur le ballon contenant le solvant d'extraction.
- Après une extraction d'une durée de 8h, 6h, 4h, éteindre l'appareil et laisser refroidir.
- Eliminer le solvant par évaporation dans un rota vapeur



Figure13. Appareil soxhlet

3-3-2 Evaporation :

En pratique, on utilise évaporateur rotatif qui permet d'éliminer le solvant sous vide. Le Protocol d'évaporation est le suivant :

- Mettre le thermostat du bain en route. La température sera adaptée au solvant à extraire.
- Mettre l'eau dans la colonne de condensation
- Déclencher la trompe à eau.
- Placer le ballon contenant la solution à purifier de son solvant. Le fixer par sécurité par une pince.
- Fermer le robinet.
- Mettre le ballon en rotation.
- Descendre le ballon pour le mettre en contact avec la solution.
- Attendre les premières gouttes de solvant dans le ballon de recueillement.

- Vérifier que le solvant est distillé : le ballon doit être froid.
- Arrêter le tout en prenant garde de ne pas faire un retour d'eau en coupant la trompe à eau en premier.



Figure 14. Appareil évaporateur rotatif

3-4 caractérisations physicochimiques d'huile essentielle : Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à la caractérisation physico-chimique de notre huile, dans le but de contrôler sa qualité.

3.4.1. Analyses physiques : Les paramètres physiques étudiés sont :

- ❖ **La densité :** La densité est une constante physique intrinsèque des corps liquides, gaz, ou solides. Pour les huiles essentielles, sa mesure représente un paramètre principal permettant de mieux la caractériser. Elle est mesurée à l'aide d'un pycnomètre, la relation de la densité pour les liquides purs est exprimée à 20°C dans l'équation 1 :

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \quad (1)$$

M_0 : masse (g) de pycnomètre vide (g) ;

M_1 : masse (g) de pycnomètre rempli d'eau (g) ;

M_2 : masse (g) de pycnomètre rempli d'huile (g) ;

a) Mode opératoire :

- Nettoyer soigneusement le pycnomètre.
- Déterminer la masse m_0 de pycnomètre vide.
- Déterminer la masse m_1 de pycnomètre rempli d'eau distillé.
- Déterminer la masse m_2 de pycnomètre contenant d'huile.



Figure15. Le pycnomètre

❖ **Indice de réfraction :** L'indice de réfraction est le rapport entre les sinus de l'angle d'incidence de longueur d'onde déterminée (29). L'indice de réfraction d'un milieu déterminé par le rapport suivant :

$$r = \frac{\sin i}{\sin r} \quad (2)$$

a) **Mode opératoire :**

- Nettoyer la lame du réfractomètre en utilisant de papier joseph.
- Déposer quelques gouttes de l'huile dans la lame de réfractomètre et régler le cercle de chambre sombre et claire dans la moitié.
- Effectuer la lecture en tenant compte de la température.



Figure16. Appareil réfractomètre

3-4-2 Analyses chimiques :

❖ **Indice d'acide** : C'est la masse en mg de KOH nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle **(30)**.

Cet indice est calculé selon l'équation 3:

$$I_a = \frac{v \times \frac{M}{m}}{100} \text{ mg KOH/g d'huile} \quad (3)$$

Avec :

V : Volume de KOH (0,01N) versé (ml) ;

M : Masse molaire de KOH (g/mol) ;

m : Masse d'huile essentielle (g).

a) **Mode opératoire** :

- Peser 2g d'HE
- Introduire la prise d'essai dans le ballon.
- Ajouter 5ml d'éthanol à 95% et 2 à 3 gouttes de phénophtaléine.
- Titrer le liquide avec la solution KOH (0.1M) jusqu'à obtention d'une couleur rouge brique pendant 30s.
- Noter le volume de solution KI utilisé.
- Mettre en réserve le ballon et son contenu pour la détermination de l'indice d'ester.

❖ **Indice de peroxyde** : L'indice de peroxyde (IP), est la masse en microgrammes d'oxygène actif pour un gramme de matière grasse. Il permet d'apprécier le degré d'oxydation d'une huile **(31)**.

Il est déterminé par la relation 4 :

$$I_p = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times 1000}{m} \quad \text{még O}_2 / \text{Kg d'huile} \quad (4)$$

Avec :

V₂ : volume de la solution Na₂S₂O₃, 5H₂O utilisé pour l'essai à blanc (ml)

V₁ : volume de la solution Na₂S₂O₃, 5H₂O utilisé (ml)

N : normalité de la solution Na₂S₂O₃, 5H₂O utilisé (éq/L)

m : masse de la pris d'essai (g)

a) Mode opératoire :

- Introduire 2g d'huile essentielle dans 10 ml de chloroforme et 15 ml d'acide acétique dans un ballon 250ml.
- Rajouter 1mL de solution d'iodure de potassium, bouché aussitôt le flacon
- Agiter pendant une minute et laissé reposer pendant cinq minutes à l'abri de la lumière
- Rajouter 75 ml d'eau distillée
- Titrer tout en agitant vigoureusement en présence d'empois d'amidon comme indicateur, l'iode libéré, avec la solution de thiosulfate de sodium 0.01 N.
- Effectuer le même procédé mais cette fois sans le corps gras (essai à blanc).

❖ **Indice de saponification :** L'indice de saponification est la masse en milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et saponifier les triglycérides existants dans 1g de substance **(32)**.

Cet indice est calculé par la relation 5:

$$I_s = \frac{(V_0 - V_1) \times (M \times N)}{m} \text{ mg KOH/ 1g} \quad (5)$$

Avec :

V₀: Volume de HCl utilisé pour l'essai à blanc (ml) ;

V₁: Volume de HCl utilisé pour l'échantillon d'huile (ml).

N : Normalité de la solution de HCl (0.5N)

m: Masse de la prise d'essai (g).

a) Mode opératoire :

- Introduire 02g d'huile essentielle dans ballon à fond plat
- Rajouter 25mL de KOH de normalité (0.5N)
- Le mélange est chauffé à reflux pendant une heure sous agitation
- A la fin de la manipulation, le mélange qui contient la solution savonneuse est refroidi
- Titré avec la solution de HCl de normalité 0.5N en présence de la phénolphthaléine comme indicateur coloré.

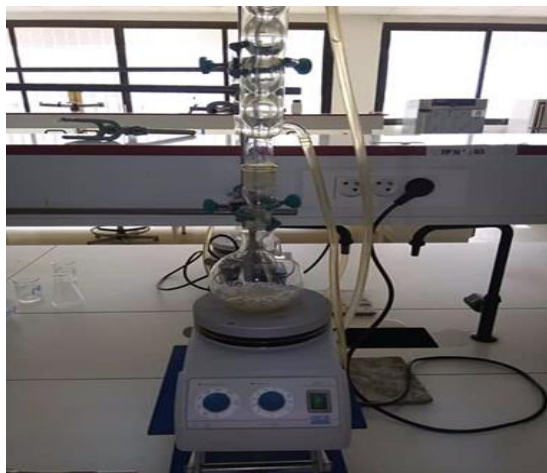


Figure17. Test d'indice de saponification

- ❖ **Indice d'ester** : C'est la masse en milligrammes de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 01g d'huile essentielle (33). Cet indice est déterminé par la relation 6:

$$I_e = 28.06 \frac{V_0 - V_1}{m} - I_a \text{ mg KOH/1g d'huile} \quad (6)$$

Avec :

I_E : Indice d'ester ;

V_0 : Volume de HCl de l'essai à blanc (ml) ;

V_1 : Volume de HCl avec l'échantillon (ml) ;

I_A : Indice d'acide

a) Mode opératoire :

- Pour ce test, le mélange obtenu lors de la détermination de l'indice d'acide, est chauffé à reflux avec 25mL de KOH de normalité 0.01N pendant une heure
- Après chauffage et une fois que la température a diminué, la solution est titrée avec HCl (0.5N) jusqu'au virage de couleur de la solution au jaune.
- Nous avons également effectué un essai à blanc



Figure18. Test d'indice d'ester

3-5 Paramètres organoleptiques :

L'évaluation des propriétés organoleptiques constitue généralement une partie des études visant à analyser les facteurs qui affectent la qualité de l'huile essentielle. Dans cette étude, nous nous sommes basés sur deux paramètres essentiels qui sont l'aspect et la couleur. Ils seront déterminés afin de pouvoir apprécier la qualité, et émettre un avis, tant sur le plan économique que scientifique.

3-6 Les tests phytochimiques :

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques.

Le screening phytochimiques a été réalisé tant sur les phases aqueuses qu'organiques par des réactions usuelles à l'aide des réactifs de caractérisation classiques.

❖ Test des phénols :**Mode opératoire :**

- Dans un tube à essai, ajouter l'extrait avec 2ml d'une solution aqueuse de (FeCl_3) à 2%.
- La présence des phénols indiqués par une coloration noire (34).

❖ Test des alcaloïdes : deux tests sont possibles (34) :**Test de Wagner :****Mode opératoire :**

- Ajouter 2ml de réactif de Wagner (2g d'iodure de potassium KI + 1.27g I_2 + 100 ml d'eau distillé) à 2ml de l'extrait.
- Apparition d'un précipité blanc jaune indique la présence des alcaloïdes.

Test de Mayer :**Mode opératoire :**

- Ajouter 2ml de réactif de Mayer (5g de KI et 1.358 g de chlorure de mercure HgCl_2 + 100 ml eau distillée) à 2ml de l'extrait.
- Apparition d'un précipité indique la présence des alcaloïdes.

❖ Test des tanins :**Mode opératoire :**

- Dans un tube à essai, ajouter 1ml extrait avec 2ml H_2O et 1ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 2%.
- La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre (tanin caté chique), ou bleu- noirâtre (tanins galliques) (35).

❖ Test des flavonoïdes :**Mode opératoire :**

- 1ml d'extrait a été traité par quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré HCl et quelques tournures de magnésium.
- Apparition d'une coloration rouge, orange, ou jaune indique la présence des flavonoïdes (34).

❖ Test des stéroïdes :**Mode opératoire :**

- Ajouter à 5ml de l'extrait, 5ml d'anhydride acétique dans une capsule.
- Reprise dans un tube à essai dans lequel sont coulée 0.5 ml de H₂SO₄ concentré.
- Apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique la présence des stéroïdes (36).

❖ Test des terpénoïdes :**Mode opératoire :**

- Ajouter 5ml d'extrait, 5ml d'anhydride acétique (Ac₂O).
- Ajouter 1ml d'H₂SO₄ sans agitation.
- Formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et d'une coloration violette de la couche surnageante révèlent la présence des stérols et des tri terpènes (36).

❖ Test des glycosides cardiaques :**Mode opératoire :**

- 2ml de l'extrait a été dissous dans 2ml de chloroforme.
- Ajouter acide sulfurique concentré avec précaution pour former une couche rougeâtre foncée.
- Apparition d'une coloration brune à l'interface de l'anneau indique la présence de glycoside cardiaque (36).

❖ Test des anthocynes :**Mode opératoire :**

- Ajouter 1ml d'extrait et 3ml de H₂SO₄ à 10% et 1ml de NH₄OH à 10 %.

- Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu en milieu basique, on peut conclure de la présence des anthocyanes (37).

❖ Test des composés réducteurs :

Mode opératoire :

- Ajouter 2ml d'H₂O et 1ml d'extrait puis 20 gouttes de liqueur de Fehling avec chauffage au bain marie.
- Apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (37).

Dans ce chapitre, nous présenterons et discuterons les résultats obtenus au cours de notre étude. Nous nous intéresserons par le mode d'extraction (Soxhlet), la nature du solvant (eau distillé). Nous donnerons par la suite les résultats des tests physico-chimiques et phytochimiques de notre huile.

4-1 Extraction de l'huile par Soxhlet :

On a travaillé avec l'eau distillé comme solvant d'extraction parce que l'eau est un bon solvant, il apparait comme étant le solvant le plus efficace à extraire les polyphénols et les flavonoïdes.

Solvant	Polarité	Point d'ébullition	Densité
Eau distillé	Assez polaire	100°C	1

Tableau 2. Quelques propriétés de notre solvant

4-2 Paramètres physico-chimiques : la densité, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice d'ester, l'indice de saponification, l'indice de peroxyde, constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle.

4-2-1 Paramètres Physiques :

❖ Densité :

La densité est une caractéristique physique d'une grande importance lors de l'évaluation de la qualité d'une huile. Le résultat obtenu est regroupé dans le tableau suivant :

La densité	0.918
Norme Codex Alimentarius (CA)	0.906-0.919

Tableau3. Densité d'huile essentielle par la méthode de Soxhlet.

Cette valeur est très voisine et conforme à la norme établie par Codex Alimentarius.

❖ Indice de réfraction :

L'indice de réfraction est une caractéristique de pureté et de qualité des huiles essentielles. Le résultat obtenu est regroupé dans le tableau suivant :

	Notre huile	La norme AFNOR NFT
Indice de réfraction 20c	1.420	1.463-1.472

Tableau 4. Valeur d'indice de réfraction de notre huile essentielle

L'indice de réfraction dépend de la composition chimique des huiles essentielles, qui augmente en fonction des longueurs des chaînes d'acides gras, et aussi de leur degré d'insaturation et de la température. Dans notre cas, l'indice de réfraction est proche de la norme AFNOR NFT.

Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en mono terpène et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en mono terpène donnera un indice élevé.

Chaque substance a son indice de réfraction spécifique.

Plus l'indice de réfraction d'un produit est près de la valeur attendue, plus sa pureté est grande.

Le faible indice de réfraction des HE pourrait favoriser leur utilisation dans les produits cosmétiques.

4-2-2 Paramètres Chimiques :

❖ Indice d'acide :

Il est calculé en utilisant l'équation 3. Résultat obtenu est regroupé dans le tableau suivant :

Technique d'extraction	Soxhlet	La norme Marocaine
Indice d'acide (mg KOH/g d'huile)	1.4026	1.6-5

Tableau 5. Valeur d'indice d'acide de notre huile essentielle

Le volume de la solution de KOH versé est de 5 ml et la masse de l'huile est de 2g. Un indice d'acide inférieur à deux, est une preuve de bonne conservation de l'huile. En effet, une huile fraîche ne contient que très peu d'acides libres. C'est pendant la période de stockage que l'huile peut subir des dégradations telles l'hydrolyse d'esters.

On peut conclure que notre huile a un indice d'acide faible, donc c'est une huile de bonne qualité, il contribue à lui donner une forte stabilité face à l'oxydation.

Le faible indice d'acide des HE pourrait favoriser leur utilisation à usage médicale.

❖ **Indice de peroxyde :**

Il est calculé par l'équation 4. Le résultat obtenu est regroupé dans le tableau suivant :

Indice de peroxyde (még O ₂ /Kg)	32
Norme Marocaine	15-20
AFNOR NFT	13.5

Tableau 6. Valeur d'indice de peroxyde de notre huile essentielle

V₂= 20.5ml ; V₁= 14.1 ml

N= 0.01N ; m= 2g

L'indice de peroxyde est l'un des paramètres importants qui peuvent nous renseigner sur la qualité d'une huile essentielle.

La valeur de l'indice de peroxyde de notre huile est grande par rapport à la norme AFNOR NFT. Ceci est probablement dû à la durée de conservation.

Plus une huile est riche en acides gras insaturé (acides mono, di, tri ou polyinsaturés), plus elle devient sensible à l'oxydation. Cette réaction serait favorisée par l'air, la lumière et la chaleur.

Totalement protégés de l'action de l'air, ou au contraire, les peroxydes qu'il contient peuvent être détruits si la matière grasse est portée au cours des manipulations à plus de 150°C (**38**).

❖ **Indice de saponification :**

Nous avons appliqué pour le calcul de ce paramètre, l'équation 5. Le résultat obtenu est regroupé dans le tableau suivant :

Indice de saponification (mg KOH/g huile)	21.0412
Norme AFNOR NFT	192

Tableau 7. Valeur d'indice de saponification de notre huile essentielle

V₀=21 ml ;

V₁=19.5 ml ;

N_{HCL}= 0,5 N ;

m = 2g.

L'indice de saponification est très important qui nous renseigne sur la longueur de la chaîne d'un corps gras.

La valeur d'indice de saponification de notre huile est très petite en comparant à la norme AFNOR NFT. Nous pouvons conclure que notre huile possède des chaînes carbonées longues qui sont facilement altérés sous l'action de l'air et la chaleur, ce qui la rend très fragile et nécessite des conditions de conservation :

- ✓ Milieu inerte pour éviter toute altération
- ✓ Réfrigération
- ❖ **Indice d'ester :**

Il est calculé en appliquant, l'équation **6**. Le résultat obtenu est regroupé dans le tableau suivant :

Indice d'ester (mg KOH/1g d'huile)	51.9114
AFNOR NFT	53-76

Tableau8. Valeur d'indice d'ester de notre huile essentielle

$V_0 = 12.4$ ml

$V_1 = 8.6$ ml

$m = 2$ g

$I_A = 1.4026$

L'indice d'ester est l'un des paramètres chimiques qui permettent d'évaluer la qualité d'une huile essentielle.

La valeur d'indice d'ester de notre huile est proche à la norme AFNOR NFT (53-76), donc notre huile est de bonne qualité.

Les HE de très bonne qualité, renferment une très grande quantité d'esters et proportionnellement, moins la qualité d'une huile est élevée, et moins elle contiendra d'esters).

Le test de l'indice d'acide est un procédé indirect de détermination du taux d'esters contenu des huiles essentielles.

4-2 Paramètres organoleptiques :

❖ **Couleur :** résultat obtenu est regroupé dans le tableau :

	Notre huile	Norme
Couleur	Jaune pâle	Jaune orangé au vert

Tableau 9. Influence du procédé d'extraction sur la couleur de l'huile

La couleur d'une huile essentielle est un paramètre très important pour la détermination de sa qualité. Ces couleurs, nous indiquent la présence des pigments caroténoïdes.



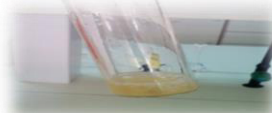
Notre huile est de couleur jaune pâle, il comprise dans la norme (jaune orange au vert). Donc, on peut conclure que notre huile est riche des pigments, lesquels jouent un rôle très important dans la nutrition et la santé, car ils présentent des propriétés antioxydants (39).

❖ **Aspect :**

Notre huile a un aspect liquide ce qui confère à notre extrait une bonne mobilité et une faible limpidité.

4-3 Criblage phytochimique :

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau de notre plante médicinale. Les résultats sont présentés dans tableau ci-dessous.

Les groupes phytochimiques	Extrait	Résultat
Alcaloïdes	++	
Tanins catéchiques	+++	
Flavonoïdes	++	




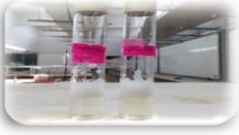
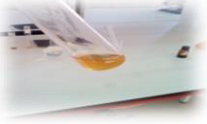
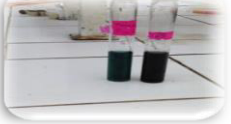
Stérols et triterpènes	-	
Glycoside cardiaque	+++	
Anthocynes		
Saponosides	+++	
Composés réducteurs	+	
Phénols	+++	

Tableau 10. Résultats de criblage phytochimique de notre l'extrait

Les résultats sont interprétés comme suit :

(+) présence.

(++) présence moyenne.

(+++) présence fort.

(-) absence.

L'étude de criblage phytochimique de l'extrait montre que notre plante contient :

Des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des glycosides cardiaques, des saponosides, des composés réducteurs, et des phénols.

La teneur en tanins, glycosides cardiaques, saponosides, et phénols est plus grand par rapport la teneur en flavonoïdes et alcaloïdes.

Par contre, la teneur en composés réducteurs est plus faible.

Les stéroïdes, terpenoïdes, et les anthocynes sont absent dans notre plante.

La richesse de cet extrait en composés chimiques actifs pourrait expliquer son utilisation traditionnelle.

Conclusion

Ce travail nous a permis de déterminer quelques paramètres de qualité et la composition chimique d'une huile extraite d'une plante.

D'après l'ensemble des résultats obtenus, nous pouvons conclure que :

- L'observation de l'huile obtenue par la méthode de soxhlet a montré que sa :

Couleur est comprise dans la gamme jaune orangé au vert.

Il ressort des résultats des analyses physico-chimiques que :

- La valeur de la densité de notre huile est égale à 0.918 et répond à la norme quiest de (0.906-0.919).
- L'indice de réfraction de notre huile est égal à 1.420 et répond à la norme

(1.463-1.472), ce qui confirme que notre huile se réfracte faiblement la lumière monochromatique, ce qui favorise son utilisation en cosmétologie.

- Indice d'acide de notre huile est de 1.4026 mg KOH/g d'huile, il est proche à la norme marocaine (1.6-5), ce qui favorise son utilisation à usage médicale.
- Indice de peroxyde de notre huile est égale à 32 méq O₂/Kg, il est élevé comparant à la norme marocaine (15-20) et AFNOR NFT (13.5). Ceci est probablement due à la durée de conservation.
- Indice de saponification de notre huile est égale à 21.0412 mg KOH/g d'huile,

il est faible comparant la norme AFNOR NFT. Nous pouvons conclure que notre HE possède des chaînes carbonées longues, ce qui la rend très fragile et nécessite des conditions de conservation.

- Indice d'ester de notre huile est 51.9114 mg KOH/g d'huile, ce qui signifie qu'elle est de bonne qualité puisqu'elle renferme une grande quantité d'ester.

Le criblage phytochimique réalisée sur notre HE basé sur des tests spécifiques a permis de montrer :

- La présence des flavonoïdes, des tanins, d'alcaloïdes, de glycosides cardiaques, de composés réducteurs, des saponisides, et de phénols.
- L'absence des stérols, triterpène, et ces anthocyanes.

La Liste de références

- [1] Copyright © Wikimédia Fondation, Kunnafohi et tous les contributeurs (licence de Documentation libre GNU) <https://commons.wikimedia.org>.
- [2] CLEVENGER J.F., 1928 :Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Amer. Pharm. Assoc.*, Vol. 17, pp : 336-341.
- [3] R J. Dean, extraction technique in analytical sciences, 1^{ère} édition, UK, 2009.
- [4] Glombitza, K. W., Gerstberger, G. (1985).Phytochemistry (Elsevier). p24, 543-551.
- [5] Fleuriet, A. (1982).Thèse Doc. Etat, Montpellier.
- [6] Leong LP., Shui G., 2002-An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem*, 76 : 69-75.
- [7] Badiaga, M. (2011).Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat.10 p.
- [8] Rakotonanahary, M. (2012).Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. p16, 19, 27, 28.
- [9] Bruneton, J. (1999).Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- [10] Bouakaz, I. (2006).Etude phytochimique de la plante *GenistaMicrocephala*, Mémoire de magister.
- [11] Havsteen, B.H. (2002).The biochemistry and medicalsignificance of the flavonoids. *Pharmacol, Therapeut*. p96, 67– 202.
- [12] Delporte, G., Mascolo, N., Izzo, A., (1999).Life, Scien., 65(4), 337-53.
- [13] Gerhenson J, McCaskill D., Rajaonarivony J., Mihaliak C., Karp F., Croteau R.,1991- Isolation of secretory cells from plant glandular trichonies and their use in biosynthetic studies of monoterpenes and other gland products. *Ann Biochem*, 200 :130-138
- Govindachari T. R., Parthasarathy P. C., Desai H. K.,1972- *Indian Journal of Chemistry*,

La Liste de références

10 (12): 1120-2.

[14] Belbache, H. (2003). Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora Desf*, mémoire de magister en chimie organique, université Mentouri Constantine. p 16-20.

[15] Bessas A., Benmoussa L., Kerarma M., 2007- Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire d'ingénieur en biologie. Université djillali liabes, (sidi bel-abbès): 14-17.

[16] Samate Abdoul D. (2001) : composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso.

[17] Bruneton J. (1993) : pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} éd. Tec. Doc., Lavoisier, Paris, France.

[18] Roux R. (2008) : conseil en aromathérapie. 2^{ème} édition, pro-officia, p. 187. Their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*. 128 : p. 151-153.

[19] Justin Nzeyumwami K. (2004) : caractérisation des huiles essentielles de trois plantes aromatiques : *Hyptis Spicigera*, *Pluchea Ovalis* et *Laggera Aurita*. DEA.

[20] Brian M.L, (1995) : The isolation of aromatic materials from plant products, R J. Reynolds Tobacco Company, Winston-Salem (USA), p57-148.

[21] G. COTE, Extraction liquide-liquide Techniques de l'Ingénieur, J 2760.

[22] J. Leybros, P. Fremeaux, Extraction solide-liquide - Aspects théoriques. Techniques de l'Ingénieur (traité Génie des procédés), J 2780.

[23] Pierre M., Lis. M (2007) : Secrets des plantes, édition Artémis, Paris 1 : 463.

[24] Sofowera A. (2010) plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala, *Economie et Développement*. Paris : 384.

[25] Luque de Castro, M. D. and L. E. Garcia-Ayuso (1998). « Soxhlet extraction of solid ».

[26] Luque-Garcia, J. L. and M.D. Luque de Castro (2004). « Ultrasound-assisted Soxhlet extraction ; An expeditive approach for solid sample treatment-Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. » *Journal of chromatography A* 1034 : 237-242.

La Liste de références

- [27] Aafi A. (1996), Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), Centre Nationale de la recherche Forestière, Rabat (Maroc), pp. 10.
- [28] Wolff J, P, 1968. Manuel d'analyses des corps gras. ED. Aznulay., Paris.
- [29] AFNOR NFT75-112-2000, huiles essentielles'' échantillonnage et méthodes d'analyses monographiques relatives aux huiles essentielles (Tome 02).
- [30] Z. Mohandi, thèse doctorat « Etude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles et Flavonoïdes de quelques plantes de la région de Telemcen », Université de Aboubaker Belkaid Telemcen faculté des sciences, 2005-2006, p89-
- [31] M. Njussa, « Etude des propriétés physico-chimiques des huiles végétales camerounaises ». Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du D.I.P.E.S.II, 1999, p 50.
- [32] Olympiades de la chimie (07/02/2007 épreuves pratiques des éliminatoires régionales Poitou-Charentes), <http://www.olympiadeschimie.fr/Concours%202007/Poitiers/sujetTP06-07.pdf> ».
- [33] Atta M.B, some characteristics of nigella (*nigella sativa* L) seed cultivated in Egypt. and its lipid profile. Food Chemistry Vol 83 n 1, 2003, p 63-68.
- [34] Azzi R. Contribution a l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucre dans l'ouest algérien : enquête ethno pharmacologique, analyse pharmaco-toxicologique de figuier (*figus carica*) et de coloquinte (*citrulluscolocynthis*) chez le rat WISTAR. Thèse de doctorat 2012, P 75. Available on : dspace.univ-tlemcen.dz/.../Contribution-a-l-etude-de-%20plantes-%20medicinales.pdf
- [35] BentabetLasgaa N. Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *Fredoliaaretioides* et *echiumvulgare* de l'ouest algérien. Thèse de doctorat 2015, P 20-21. Available on : www.phytojournal.com/archives/2017/vol6issue2/.../6-1-53-637.pdf
- [36] Yam M.F, Ang L.F, Ameer O.Z, Salman I.M, Aziz H.A, Asmawi M.Z. Anti-inflammatory and analgesic effects of *Elephantopus tomentosus* ethanolic extract. *Journal of acupuncture and meridian studies*. 2009 ; 280-287. Available on : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20633503>

La Liste de références

[37] Dohou N. Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de thymelaelythroïdes. Thèse de doctorat 2015, P 59. Available on : dspace.univ-lemcen.dz/bitstream/112/7722/1/ABEDDOU.pdf