



Licence Sciences et Techniques (LST)

GENIE CHIMIQUE

PROJET DE FIN D'ETUDES

ÉTUDE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES HUILES ESSENTIELLES EXTRAITES DES PLANTES « FRAICHES & FERMENTÉS »

Présenté par :

- ◆ **Nachit Mohammed**

Encadré par :

- ◆ **Mr Greche Hassan (INPMA)**
- ◆ **Pr Kandri Rodi Adiba**

Soutenu Le 17 Juin 2011 devant le jury composé de:

- **Pr A. Kandri Rodi**
- **Pr Y. Kandri Rodi**
- **Pr S. Saber**

Stage effectué à l'institut des plantes médicinales et aromatiques (Taounat).

Année Universitaire 2010 / 2011

Remerciement

Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Licence Sciences et Techniques «Génie Chimique».

Tout d'abord, je remercie sincèrement Madame le professeur **ADIBARODI KANDRI**, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour m'avoir accordé sa confiance que pour m'avoir guidé dans mon travail tout au long de cette période de stage. Ses compétences, ses précieux conseils, sa disponibilité et sa gentillesse à mon égard ont contribué au bon déroulement de ce travail.

Professeur **GRECHE HASSAN**, je tiens à vous remercier pour m'avoir accueilli dans votre laboratoire. Je suis très reconnaissant pour la confiance que vous m'avez accordée, votre gentillesse, votre disponibilité, et vos encouragements. Votre disponibilité et votre présence pendant les moments difficiles m'ont été indispensables.

Mes plus vifs remerciements vont aussi à Monsieur **REDA FOUAD** pour son aide et pour sa disponibilité. Sa grande expérience, sa gentillesse et ses grandes qualités scientifiques et humaines ont constitué un support permanent à ma réflexion.

J'adresse mes profonds remerciements aux membres de jury d'avoir accepté de juger ce travail.

Je ne saurais oublier tous mes collègues et camarades chimistes et biologistes. J'ai apprécié leur amitié de tout instant et surtout la bonne ambiance au sein du laboratoire.

Il est évident que je ne peux oublier de remercier ma famille, notamment mes parents, - mes frères, mes sœurs, Hind - qui ont toujours répondu « présents » et ont été d'un grand secours moral en toutes situations.

Sommaire

Introduction

Partie bibliographique

A/ Matière végétale.....	5
1. Famille de plantes.....	5
2. Les huiles essentielles.....	8
2.1 Définition des huiles essentielles	8
2.2 Constituants des huiles essentielles.....	8
B/ Méthodes d'extraction.....	10
1 Distillation	10
1.1 Définition de la distillation	10
2 Les méthodes générales de la distillation	10
3 Autres techniques d'extraction.....	11
3 Rendement en huiles essentielles.....	11
3.1 Détermination du taux de la matière sèche.....	11
3.2	D
détermination du rendement en huiles essentielles.....	11
.....	
C/ Techniques de détermination de la composition chimiques des huiles essentielles et des extraits aromatiques.....	12
1	L
l'analyse structurale.....	12
✓	L
des méthodes de détermination des constituants de l'huile essentielle.....	12
D/ La fermentation	
1. Définition	16

2. La levure	16	
2.1		M
métabolisme et conditions de croissance du levure	17	
-		C
condition de croissance du levure.....	18	

Partie expérimentale.

1.		I
Introduction générale	21	
2.		P
Procédé classique d'extraction l'hydro-distillation.....	21	
1.1 Mode opératoire.....	22	
3. Analyse quantitative.....	22	
3.1 Le taux de la matière sèche.....	22	
3.2 Résultats.....	23	
3.3 Commentaire	25	
3.4 Conclusion.....	25	
4. Analyse qualitative.....	25	
4.1 Méthode d'analyse.....	25	
4.2		
Résultats.....	25	

Introduction

La région méditerranéenne, d'une manière générale et le Maroc en particulier, avec son climat doux et ensoleillé, est dotée d'une biodiversité végétale riche avec une avalanche des plantes aromatiques et médicinales. La production des huiles essentielles à partir de ces plantes peut constituer une source économique pour notre pays.

Ces composés ont intéressé l'industrie, c'est pourquoi des techniques d'extraction ont été mises au point rapidement par les industriels. Aujourd'hui, il existe de nombreuses techniques d'extraction selon les plantes utilisées. C'est pour cette raison que nous avons choisie comme thème de recherche :

Etude qualitative et quantitative des huiles essentielles extraites des plantes « fraîches & fermentés »

Le présent travail a pour objectif majeur de chercher d'autres nouvelles techniques qui nous ramènent à obtenir un meilleur rendement et une bonne qualité en huiles essentielles.

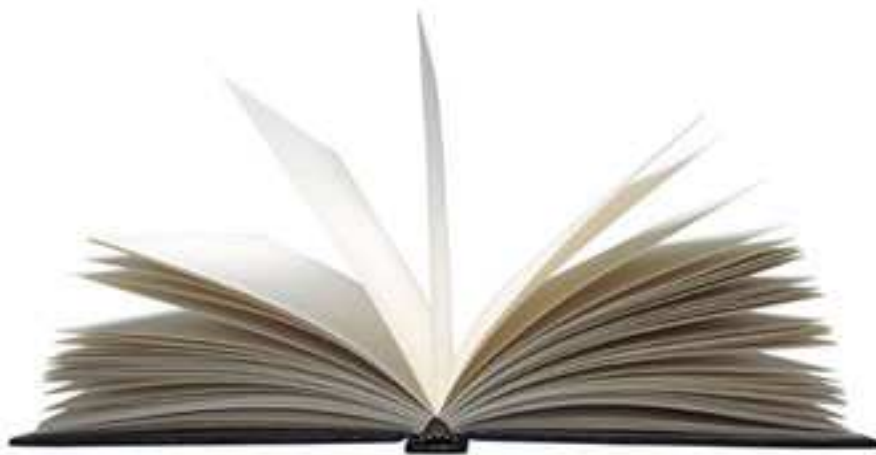
En s'engageant dans cette voie, nous avons choisi de travailler sur 15 espèces végétales très utilisées en industrie:

Thym (3types). Marjolaine. Romarin. Citronnelle. Myrte. L'origan. L'absinthe. L'eucalyptus (2types). La sauge. La lavande. Pélargonium. Bigaradier.

Une comparaison entre le rendement et la composition chimique des huiles essentielles obtenues des plantes fraîches et celle qui sont obtenues après fermentation de ces espèces étudiées nous permet de déterminer la méthode d'extraction efficace avec laquelle nous devons faire notre extraction.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE



A/ Matière végétale.

L'identification des plantes est un élément essentiel préalable à l'utilisation des huiles essentielles. La certification botanique de l'espèce végétale doit précéder toutes les applications que nous voulons en faire. Il existe de nombreux exemples malheureux de fausse identification de plantes qui ont entraîné des cas d'intoxication.

Toutes les plantes ne sont pas considérées comme aromatiques ou plantes à huiles essentielles. Celles qui possèdent suffisamment de cellules sécrétrices appartiennent aux familles de la classe des conifères de la sous-division des Gymnospermes et aux familles des classes des Monocotyles et des Dicotyles de la sous-division des Angiospermes. La liste suivante indique quelques familles de ces plantes en ordre alphabétique et des exemples de genres et d'espèces appartenant à ces familles .

1. Famille de plantes

Rappelons quelques familles des plantes riches en huiles essentielles :

1.1. Les conifères

- **Cupressacées** : *Cupressus lusitanica*, *Juniperusvirgiana*, *Thujaoccidentalis*, *juniperusoxycedrus*,...
- **Pinacées**:*Abiesbalsamea*, *Piceamariana*, *Pinusmugo*,...

1.2. Les monocotyles et les dicotyles :

- **Anacardiées** : *Heeriainsignis*, *Schinussmolle*, ...
- **Anonacées** : *Monodoracitriodora*,...
- **Apiacées**:*Ammivisnaga*, *Anethumgraveolens*, *Coriandrumsativum*, *Diplophiумаfricanum*, *Foenicullumvulgare*, *Ligusticumscoticum*, *Steganoteniaaraliacea*,...
- **Apocynacées** : *Carissa edulis*,...
- **Aracées** : *Acorus calamus*,...
- **Astéracées** : *Achilleamillefolium*, *Artemisiaabsinthium*, *Baccharissalicifolia*, *Matricariachamomilla*, *Solidago canadensis*, *Tanacetumvulgare*, ...
- **Chénopodiacées** : *Chenopodiumambrosioides*, ...
- **Cloranthacées**: *Hedyosmumangustifolium*, ...
- **Géraniacées** : *Pelargoniumgraveolens*,
- **Iridacées** : *Iris florentina*, ...
- **Lamiacées** : *Aeollanthuspubescens*, *Hyptissuaveolens*, *Hyssopuserita.ficinalis*, *officinalis*, *Lavandulaangustifolia*, *Melissa officinalis*, *Mentha*, *pipMinthostachysandina*, *Monardafistulosa*, *Ocimum(basilicum, canum,...)*, *Origanumvulgare*, *Rosmarinusofficinalis*, *SalviaofThymusvulgaris*, *...rviflora*, *amazonica*), *Cinnamomumcamphora*,

- **Lauracées** : *Aniba*(*paLaurusnobilis*, *Sassafras officinalis*,
- **Liliacées** : *Allium sativum*, ...
- **Malvacées** *Hibiscus abelmoschus*, ...
- **Méliacées** : *Cedrelaodorata*, ...
- **Moracées** : *Siparunaguianensis*, ...
- **Myricacées** : *Myrica gale*, ...
- **Myristicacées***Myristicafragrans*, ...
- **Myrtacées** : *Eucalyptus citriodora*, *Leptospermumcitratum*, *Melaleucainquenervia*, *Pimenta dioica*, *Myrtuscommunis*,...
- **Pipéracées** : *Piper nigrum*, ...
- **Poacées**: *Cymbopogoncitratum*, *Vetiveriazizanoides*, ...
- **Rosacées** : *Rosa damascena*, ...
- **Rutacées** : *Citrus limon*, *Clausenaanisata*, *Rutagraveolens*, ...
- **Verbénacées** : *LippiaCitriodora*, ... : *omum*, *Elettaria cardamomum*,
- **Zingibéracées***AmomumcardamZingiber officinale*, ...

Le tableau 1 donne des exemples de plantes et leurs parties riches en huiles essentielles. Il est intéressant de dégager des caractéristiques botaniques de certaines familles de plantes en rapport avec la présence d'huiles essentielles.

Partie de plante	Exemple
Feuilles	Romarin, Sauge, Eucalyptus, Laurier noble
Feuilles de confères	Sapin, Cèdre
Tiges	Citronnelle, lemon-grass
Écorces	Cannelier
Racines	Angelica, vetiver
Rhizomes	Acorus, gingembre
Bulbes	Oignon
Bois	Santal, Cèdre de l'atlas, thuya,
Fruits	Bleuet, citron
Fleurs	Jasmin, rose
Graines	Aneth

2. Les huiles essentielles.

2.1. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des liquides visqueux de couleur jaune pâle à orange et d'une odeur aromatique, épicée au fond avec une odeur aldéhydée montante de tête. Ce sont des produits de composition généralement complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux et qui sont plus ou moins modifiés au cours de la préparation.

L'Association Française de Normalisation (AFNOR) définit les huiles essentielles comme "produits" obtenus soit à partir de matière première naturelle par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques".

2.2. Constituants des huiles essentielles.

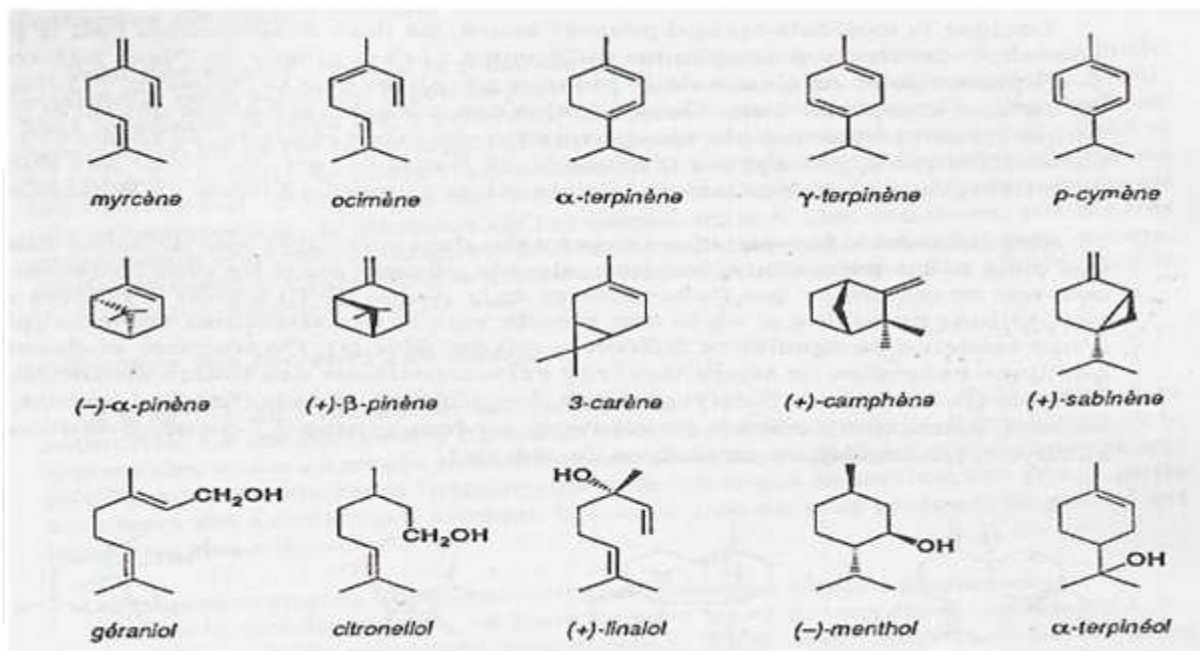
a) Monoterpènes:

Ils sont presque toujours présents. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène, ...), monocycliques (α - et γ -terpinène, p-cymène, ...) ou bicycliques (pinènes, 3-carène, camphène, sabinène...).

Lorsque la molécule est optiquement active, les deux énantiomères sont le plus souvent présents dans des plantes différentes : (+)- α -pinène de *Pinus palustris*, (-)- α -pinène de *P. caribaea* et de *P. pinastre*.

En général, les mono-terpènes constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle.

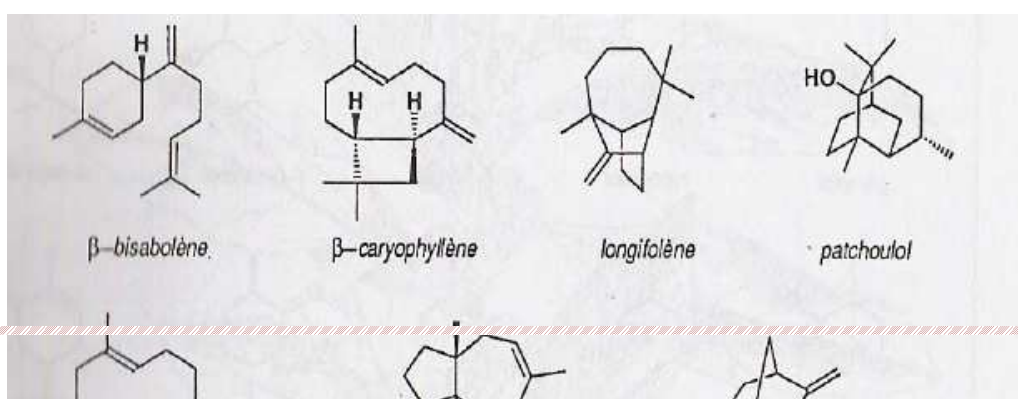
Quelques structures de mono-terpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles sont présentées ci-dessous :



Quelques structures de mono-terpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles

b) **Sesquiterpènes** : Les variations structurales dans cette série sont les mêmes que dans le cas précédent : carbures, alcools, cétones étant les plus fréquents.

On trouvera ci-dessous quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles :



Exemples de structures de Sesquiterpènes.

B/ Méthodes d'extraction

Les huiles essentielles et les extraits aromatiques sont constitués de molécules aromatiques d'origines végétales 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 satisfaisant 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.

1.La Distillation

1.1 Définition de la distillation

La distillation peut être définie comme étant la séparation des constituants d'un mélange de deux, voir plusieurs liquides, en fonction de leur point d'ébullition. La distillation des plantes aromatiques repose sur l'évaporation des constituants des huiles essentielles se trouvant à l'intérieur du tissu végétal. Ce passage de l'intérieur du tissu vers la surface du matériel végétal est supposé se faire essentiellement par diffusion.

La production des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques par entraînement à la vapeur d'eau, se ferait donc en deux étapes :

- Diffusion des huiles essentielles de l'intérieur des tissus vers la surface du matériel végétal,
- Évaporation et entraînement à la vapeur d'eau.

Les composés volatiles constituant des huiles essentielles sont retenus par des fractions lipidiques de la plante et en particulier par les hydrocarbures ce qui ralentit leur entraînement par la vapeur d'eau. C'est cette étape qui détermine la durée de la distillation.

1.2. Les méthodes générales de la distillation

Trois procédés sont largement employés pour extraire les huiles essentielles :

- Distillation par l'eau ou "l'hydro-distillation".
- Distillation à la vapeur d'eau ou "la vape-hydro-distillation".
- Distillation à la vapeur directe (utilisant un générateur de vapeur).

Ces trois modes de distillation reposent sur le même principe : entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau. La seule différence réside dans le degré de contact entre l'eau et le matériel végétal.

2. Autre techniques d'extraction

Il existe également d'autres méthodes d'extraction des huiles essentielles, nous citons d'après la bibliographie :

- Extraction par Micro-ondes.
- Extraction par Turbo-distillation.
- Extraction au CO₂ supercritique.
- Extraction par expression à froid (ou par pression à froid).
- Distillation à la vapeur d'eau avec entraînement d'huiles essentielles.
- Enflourage ou extraction avec les graisses froides.
- Extraction par macération dans la graisse chaude.
- Extraction par les solvants.

3. Rendement en huiles essentielles

3.1 Détermination du taux de la matière sèche dans la plantes

La détermination du taux de la matière sèche est habituellement réalisée par étuvage à 104°C d'une prise d'essai de la matière végétale. L'expérience est poursuivie jusqu'au poids constant.

3.2 Détermination du rendement en huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles est exprimé, en ml de distillat pour 100g de ms, comme suite :

$$\text{Rdt}(\%) = \left[\frac{V}{m_s} \times 100 \right]$$

Avec :

- Rdt (%) le rendement en huiles essentielles (ml/g).
- V le volume d'huiles essentielles recueilli.
- ms la masse végétale sèche.

C/ Techniques de détermination de la composition chimiques des huiles essentielles.

Les huiles essentielles et les extraits aromatiques présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que la pharmacie, la cosmétique, la parfumerie et l'agroalimentaire. Quel que soit le secteur d'activité, l'analyse des huiles essentielles reste une étape importante qui, malgré les progrès constants des différentes techniques de séparation et d'identification, demeure toujours une opération délicate nécessitant la mise en œuvre simultanée ou successive de diverses techniques.

De manière schématique, on distingue deux démarches analytiques pour la détermination des composants des huiles essentielles en fonction de l'objectif recherché :

- La première est d'élucider la structure d'une molécule qui n'a jamais été décrite dans la littérature : il s'agit de l'analyse structurale.
- La seconde est l'identification et la quantification d'un composé déjà connu et dont les caractéristiques spectrales sont décrites.

1. L'analyse structurale.

L'analyse structurale est basée sur la purification préalable des constituants par différentes techniques chromatographiques, chromatographie sur couche mince (CCM), chromatographie liquide sur colonne ouverte (CLC), chromatographie liquide haute performance (CLHP) ou chromatographie en phase gazeuse préparatrices (CPGP). Elle requiert donc une quantité suffisante de produit pur (quelques milligrammes) afin de réaliser une étude complète par toutes les méthodes spectroscopiques habituelles, Spectrométrie de Masse (SM), Infrarouge par Transformée de Fourier (IRTF), Ultra- Violet (UV), Résonance Magnétique Nucléaire (RMN du H¹ et C¹³, RMN bidimensionnelle).

A partir de la combinaison de toutes ces techniques complémentaires, il est possible d'établir la structure chimique de la molécule inconnue.

✓ Les méthodes de détermination des constituants de l'huile essentielle sont:

- *Méthodes Chromatographiques :*

La chromatographie est une technique de séparation des substances chimiques qui repose sur des différences de comportement de séparation entre une phase mobile courante et une phase stationnaire pour séparer les composants d'un mélange.

L'échantillon est transporté par un courant de gaz mobile au travers d'un tube rempli d'un solide finement morcelé, ou peut-être enduit d'une pellicule d'un liquide.

Il existe deux types de chromatographie: la chromatographie phase gazeuse (CPG) et la chromatographie phase liquide à haut performance (HPLC):

La chromatographie en phase gazeuse est basée sur une phase stationnaire solide pour laquelle la rétention des substances à analyser est la conséquence de l'adsorption physique. Grâce à sa simplicité, sa sensibilité et son efficacité dans la séparation des composants de mélanges, la chromatographie en phase gazeuse représente l'un des instruments les plus importants dans le domaine de la chimie.

Elle est largement utilisée pour l'analyse quantitative et qualitative de mélanges, pour la purification de corps composés, et pour la détermination de constantes thermochimiques comme les chaleurs de solution et de vaporisation, la pression de vapeur et les coefficients d'activité.

La chromatographie gazeuse est également utilisée pour surveiller automatiquement les processus industriels : les courants de gaz sont périodiquement analysés et des réponses manuelles ou automatiques sont établies pour contrecarrer d'éventuelles variations indésirables.

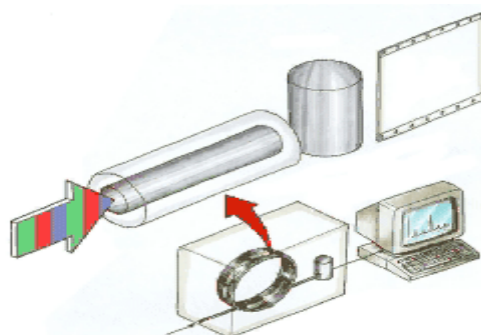


Figure 7 : Appareil d'analyse par Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie phase liquide (HPLC) est utile pour la séparation des ions ou des molécules dissous dans un solvant. Si la solution échantillon entre en contact avec une deuxième phase solide ou liquide, les différents solutés interagissent à des degrés variables avec l'autre phase en raison des différences d'adsorption, d'échange d'ions, de cloisonnement ou de taille. Ces différences permettent aux composants du mélange de se séparer les uns des autres et déterminent le temps de transit des solutés à travers une colonne.

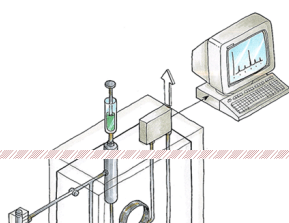


Figure 8 : Appareil d'analyse par chromatographie Phase liquide à haute performance (HPLC)

- *Spectrométrie de masse :*

La spectrométrie de masse (SM) utilise le mouvement des ions dans les champs électriques et magnétiques afin de les classer en fonction de leur rapport masse/charge. Ainsi, la SM est une technique analytique par laquelle les substances chimiques sont identifiées par classement des ions gazeux dans les champs électriques et magnétiques.

Les instruments utilisés dans ces études fonctionnent selon le principe que les ions en mouvement peuvent être déviés par des champs électriques et magnétiques. Le dispositif qui réalise cette opération et utilise des moyens électriques pour détecter les ions classés s'appelle un spectromètre de masse. La SM fournit des informations qualitatives et quantitatives sur la composition atomique et moléculaire des matériaux inorganiques et organiques.

- *La chromatographie en phase gazeuse (CPG) en couplage avec la spectrométrie de masse (SM) :*

C'est un procédé d'analyse complémentaire aux précédents. Il permet de caractériser chaque constituant d'une huile essentielle. On compare ensuite les spectres de masse obtenus avec ceux des composés de référence.

Cette méthode d'analyse qui part d'infimes quantités de substances permet de connaître, dans la plupart des cas, la masse moléculaire exacte de chaque constituant, et fournit une information complémentaire sur la structure des différents composés à partir des fragments observés.

- *La résonance magnétique nucléaire (RMN) :*

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est fondée sur la mesure de l'absorption de la radiation de radiofréquence (RF) par un noyau atomique dans un champ magnétique fort. L'absorption de la radiation pousse le spin nucléaire à se réaligner ou à retourner dans la direction de la plus haute énergie. Après avoir absorbé l'énergie, les noyaux atomiques réémettront une radiation RF et retourneront à leur état initial de moindre niveau d'énergie.

Le principe de la RMN est le suivant : les noyaux atomiques dotés d'un nombre impair de protons, de neutrons ou des deux, auront un spin nucléaire intrinsèque. Lorsqu'un noyau atomique avec un spin non nul est placé dans un champ magnétique,

Le spin nucléaire peut s'aligner soit dans la même direction soit dans la direction opposée au champ. Ces deux types d'alignement de spin nucléaire sont caractérisés par des énergies différentes, et l'application d'un

champ magnétique facilite la dégénérescence des spins nucléaires. Un noyau atomique dont le spin est aligné avec le champ aura une moindre énergie que lorsque son spin est aligné dans la direction opposée du champ.

L'énergie d'une transition de RMN dépend de la force de champ magnétique ainsi que d'un facteur de proportionnalité s'appliquant à chaque noyau appelé rapport gyromagnétique. L'environnement local autour d'un noyau donné dans une molécule a tendance à légèrement perturber le champ magnétique local exercé sur ce noyau et à affecter son énergie de transition exacte.

Cette dépendance de l'énergie de transition vis-à-vis de la position d'un atome particulier dans une molécule rend la RMN extrêmement utile pour la détermination de la structure des molécules.

La spectroscopie par RMN constitue l'un des plus puissants instruments de détermination de la structure des espèces organiques aussi bien qu'inorganiques. Cette technique s'est également montrée utile dans la détermination quantitative des espèces absorbantes.

D/ La fermentation

1. Définition

La fermentation est une réaction biochimique de conversion de l'énergie chimique contenue dans une source de carbone (souvent du glucose) en une autre forme d'énergie directement utilisable par la cellule en l'absence de dioxygène (milieu anaérobie). Louis Pasteur dira « La fermentation c'est la vie sans l'air. » C'est une simple réaction d'oxydoréduction où l'accepteur final d'électron est souvent le produit final. Elle se caractérise par une oxydation partielle du produit fermentescible, et donne lieu à une faible production d'énergie car la différence de potentiel redox entre le donneur et l'accepteur d'électron est assez faible.

La définition de Louis Pasteur "La fermentation c'est la vie sans l'air" a été nuancée ces dernières décennies. On définit aujourd'hui la fermentation comme un système de transfert d'électrons (à visée énergétique) ne mettant pas en jeu des complexes membranaires mais uniquement des partenaires solubles (en général des acides organiques ou leurs dérivés).

2. La levure

La levure est un champignon unicellulaire apte à provoquer la fermentation des matières organiques animales ou végétales. Les levures sont employées pour la fabrication du vin, de la bière, des spiritueux, des alcools industriels, du pain et d'antibiotiques.

Ces micro-organismes, de forme variable selon l'espèce (sphérique, ovoïde, en bouteille, triangulaire ou apicule, c'est-à-dire renflée à chaque bout comme un citron) mais

généralement ovales, d'environ 6 à 10 microns et jusqu'à 50 microns, se multiplient par bourgeonnement ou par fission (scissiparité). Ils sont souvent capables d'accomplir une sporulation soit dans un but de dormance en milieu défavorable, soit dans un but de dispersion.

La dénomination levure découle de l'observation des fermentations et tout particulièrement celle qui a lieu durant la fabrication du pain : on dit communément et depuis longtemps que le pain lève. Ce n'est pas, à proprement parler, une dénomination scientifique actuelle. Mais l'importance des levures dans le domaine des fermentations conduit à conserver ce terme générique qui continue à être correctement perçu.

Lorsqu'on parle de "Levure" sans précision, on désigne en général la levure de boulanger (ou de bière), *Saccharomyces Cerevisiae*.

Il ne faut pas confondre avec la Levure Chimique, ne serait-ce que pour éviter les déboires culinaires.

La levure chimique (poudre à lever) est un mélange composé essentiellement de bicarbonate de soude et d'acide tartrique, se présentant sous forme de poudre blanche et servant à faire gonfler pains et pâtisseries.

Contrairement à la levure de boulanger, qui agit par la fermentation de micro-organismes vivants, la levure chimique fait seulement intervenir des réactions chimiques de type acide-base. Tant que la poudre reste sèche, la réaction ne démarre pas. Lorsqu'elle est humidifiée, l'acide réagit avec le bicarbonate de sodium et un dégagement de dioxyde de carbone se produit, ce qui fait gonfler la pâte. Il faut alors la cuire sans tarder.

La levure chimique est aussi appelée « poudre à pâte », de l'anglais « bakingpowder », par les Québécois.

2.1- Métabolisme et conditions de croissance du levreur :

Processus énergétiques :

Les deux principaux processus énergétiques connus chez les hétérotrophes sont la respiration et les fermentations.

Pour leur développement ces levures ont besoin :

- De composés carbonés source de carbone et d'énergie.
- De composés azotés réduits sous forme d'ammonium ; quelques levures peuvent cependant utiliser des composés oxydés (comme les nitrates) ou organiques pour la synthèse de protéines et d'acides nucléiques.
- D'éléments minéraux variés, vitamines et facteurs de croissance qui varient selon les levures.

Toutes les levures sont capables de dégrader le glucose, le fructose et le mannose en présence d'oxygène, par un métabolisme oxydatif, conduisant à la formation de CO₂ et H₂O.

Respiration aérobie : $C_6H_{12}O_6$ (glucose) + $6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{énergie utilisable}$

Cette voie métabolique est très énergétique et permet aux cellules de subir une multiplication avec un rendement cellulaire élevé (le rendement étant défini par le quotient de la quantité de cellules fabriquées par le substrat sucré consommé). En plus des sucres simples, certaines levures peuvent utiliser d'autres glucides (mono, di ou tri saccharides, voir des polysaccharides comme l'amidon) mais aussi des alcools, des acides ou des alcanes. D'une manière plus générale, elles ont une capacité hydrolytique bien moindre que les moisissures.

En plus du métabolisme oxydatif, certaines levures peuvent privilégier une dégradation des glucides par un métabolisme fermentatif qui conduit à la formation d'éthanol et de CO_2 suivant la réaction :

Fermentation alcoolique : $C_6H_{12}O_6$ (glucose) $\rightarrow 2CO_2 + 2CH_3CH_2OH$ (éthanol) + énergie utilisable.

En plus de ces composés majoritaires, des alcools supérieurs, des aldéhydes, des esters, des acides... sont formés en plus petites quantités et participent qualitativement de façon importante et complexe à la formation des saveurs des boissons fermentées. Ce métabolisme est moins énergétique que le métabolisme oxydatif, et le rendement de la multiplication cellulaire en est affecté bien que la vitesse de croissance puisse être nettement plus rapide que dans le processus oxydatif. Ce processus fermentaire peut fonctionner en présence ou en absence partielle ou totale d'oxygène c'est-à-dire en anaérobiose.

Conditions de croissance du levure :

- La température : La température optimale de culture des levures se situe en général entre 25 °C et 30 °C, mais comme les autres micro-organismes, les levures peuvent être classées en levures psychrophiles, mésophiles et thermophiles. D'une façon générale, les levures ne sont pas thermorésistantes. La destruction cellulaire commence dès 52 °C (contre 120 °C pour les bactéries thermophiles hors archées). Les levures sont aussi sensibles à la congélation et à la lyophilisation avec une grande variabilité selon les genres et espèces, et selon la phase de croissance (les cellules en phase exponentielle résistent moins que les cellules en phase stationnaire).
- Activité de l'eau : La plupart des souches ne peuvent se développer pour une activité de l'eau inférieure à 0,90 ; mais certaines tolèrent des pressions osmotiques plus élevées, correspondant à une activité de l'ordre de 0,60, en ralentissant leur métabolisme ; ces levures sont dites xérotolérantes.
- L'oxygène : toutes les levures sont capables de se développer en présence d'oxygène : il n'y a pas de levure anaérobie stricte.

Certaines levures sont aérobies strictes (comme les *Rhodotorula*). Les autres sont aéro-anaérobies facultatives avec parmi elles : des levures préférant un métabolisme soit fermentaire soit respiratoire même en présence d'oxygène.

- Le pH : Les enveloppes cellulaires sont imperméables aux ions H_3O^+ et OH^- . Les levures tolèrent donc des gammes de pH très larges, théoriquement de 2,4 à 8,6.

▪ La sensibilité aux agents chimiques :

-Les acides organiques : ils ont un effet inhibiteur sous leur forme dissociée car ils peuvent pénétrer dans la cellule et la sensibilité de la levure dépend de sa capacité à les métaboliser. C'est pour cette raison que les acides sorbiques et propioniques sont plus inhibiteurs que les acides acétique, citrique et lactique.

-L'éthanol : Les plus résistantes sont les *Saccharomyces bayanus* que l'on utilise dans les procédés de fermentation alcoolique pour l'élaboration des boissons ou d'éthanol industriel.

-Le sulfite : Le SO_2 a un effet inhibiteur plus prononcé sur les bactéries que sur les levures, même si parmi les levures des sensibilités existent.

-Les Antibiotiques : la sensibilité à la cycloheximide (actidione) est variable et on peut distinguer 3 groupes de levures :

* Levures inhibées dès 1 $\mu\text{g/ml}$ (ex : *Saccharomyces*)

* Levures inhibées à 25 $\mu\text{g/ml}$ (ex: *Schizosaccharomyces*)

* Levures tolérantes à 1 mg/ml (ex: *Zygosaccharomyces*)

Le Chloramphénicol inhibe la synthèse de protéines mitochondriales mais pas celle des protéines cytoplasmiques. Seules les levures capables de fermenter peuvent alors cultiver en présence de chloramphénicol.

PARTIE EXPÉRIMENTALE



1. Introduction générale

Ce travail a pour but de chercher à améliorer le rendement et la qualité des huiles essentielles d'une gamme de 15 plantes par une nouvelle méthode qui est la fermentation des plantes et la comparer avec la distillation des plantes fraîches ;

Ces plantes sont :

Thym. Marjolaine. Romarin. Citronnelle. Myrte. L'origan. L'absinthe. L'eucalyptus. La sauge. La lavande. Pélargonium. Bigaradier.

2. Procédé classique d'extraction: l'hydro-distillation

Le procédé d'hydro-distillation est la distillation d'un mélange d'eau et d'un produit naturel, elle consiste à porter à ébullition le mélange, puis à condenser les vapeurs qui se dégagent, c'est-à-dire de les ramener à l'état liquide, afin de récupérer la phase organique. Par ailleurs, quelque soit la nature du composé organique, la température d'ébullition du mélange est inférieure à 100°C sauf quelques exceptions. On récupère ainsi un mélange de substances organiques et d'eau.

La figure 1 décrit le montage d'hydro-distillation.

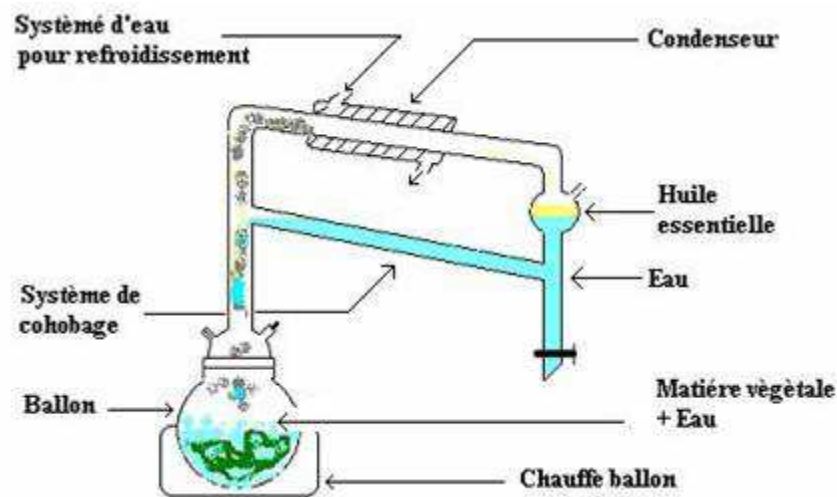


Figure 1. Montage d'hydro-distillation

1.2 Mode opératoire :

Nous avons introduit dans un ballon de 1 litre 100g de la plante fraîche coupée en petits morceaux auxquels nous rajoutons 650 ml d'eau de robinet.

Nous portons le mélange à ébullition pendant 3 heures (c'est le temps nécessaire pour récupérer plus de 90% d'huile essentielle), la vapeur qui entraîne avec elle les huiles essentielles contenues dans la plante se condense par un système de refroidissement pour avoir dans la colonne de récupération l'huile en plus de l'eau florale.

À la fin de la distillation, nous arrêtons le chauffage, nous récupérons l'huile avec une petite pipette et nous la mettons dans une petite bouteille pour la conserver au réfrigérateur (5°C) afin d'éviter toute évaporation des huiles essentielles.

:- La fermentation des plantes :

Nous avons fait la fermentation de différentes plantes de la façon suivante :

Dans un ballon de 1 litre nous avons introduit 100g d'une plante fraîche, suivie par l'ajout de 5g de sucre, 20g de sucre, 650 ml d'eau, puis laisser le mélange 24 heures au repos, la distillation de ce mélange se fait pendant 3 heures.

Et de la même façon nous avons procédé à une redistillation de déchets des plantes fraîches afin de rechercher une possibilité d'avoir un nouvel extrait d'huile essentielle.

3. Analyse quantitative

3.1 Le taux de la matière sèche dans les plantes :

Nous avons pesé 20g de la plante fraîche et la mettre dans l'étuve (chauffé à 104°C) pendant 24 heures puis la peser encore une deuxième fois et calculer le taux de la matière sèche dans la plante.

3.2 Résultats :

Les résultats des ces distillations sont présentées dans le tableau suivant :

Plante	La nature des plantes	Volume de l'huile essentielle (en ml)	Taux de la matière sèche dans 100g de la plante (en gramme)	Le rendement %
--------	-----------------------	---------------------------------------	---	----------------

1-Thym	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 0.5 - V = 0.25 - V = 0	Ms = 37.35	1- R = 1.34 2- R.F = 0.669 3- R.D = 0
3-Thymus Hyemalis Lange	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 0.8 - V = 0.2 - V = 0	Ms = 34.8	1- R = 2.3 2- R.F = 0.575 3- R.D = 0
Marjolaine	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 0.7 - V = 0.3 - V = 0	Ms = 38.3	1- R = 1.827 2- R.F = 0.78 3- R.D = 0
Romarin	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 0.9 - V = 0.65 - V = 0	Ms = 34.55	1- R = 2.6 2- R.F = 1.88 3- R.D = 0
Citronnelle	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 0.7 - V = 0.5 - V = 0	Ms = 27.35	1- R = 2.56 2- R.F = 1.828 3- R.D = 0
Myrte	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 0.25 - V = 0.1 - V = 0	Ms = 40.5	1- R = 0.62 2- R.F = 0.25 3- R.D = 0
L'Origan	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 1.1 - V = 0.7 - V = 0	Ms = 29.8	1- R = 3.69 2- R.F = 2.35 3- R.D = 0
L'Absinthe	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 0.6 - V = 0.6 - V = 0	Ms = 28.15	1- R = 2.13 2- R.F = 2.13 3- R.D = 0

	plantes distillées			
L'Eucalyptus	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 1.1 - V = 0.9 - V = 0	Ms = 52.8	1- R = 2.08 2- R.F = 1.705 3- R.D = 0
L'Eucalyptus Robusta	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 0.7 - V = 0.35 - V = 0	Ms = 51.2	1- R = 1.367 2- R.F = 0.684 3- R.D = 0
La sauge	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 0.7 - V = 0.45 - V = 0	Ms = 37.65	1- R = 1.859 2- R.F = 1.195 3- R.D = 0

Le résultat obtenu dans ces tableaux montre que le rendement en huile des plantes fermentées est inférieur de celle des plantes fraîches.

Remarque 1 : toutes les résultats de la distillation du déchet des plantes distillées sont nuls.

- Ces plantes n'ont pas donné des huiles après avoir les fermenter

La lavande	1. Fraîche 2. Fermentée 3. Déchet des plantes distillées	- V = 0.6 - V = 0 - V = 0	Ms = 31.7	1- R = 1.893 2- R.F = 0 3- R.D = 0
Pélargonium	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 0.3 - V = 0 - V = 0	Ms = 24.4	1- R = 1.23 2- R.F = 0 3- R.D = 0
Bigaradier	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 0.3 - V = 0 - V = 0	Ms = 45.5	1- R = 0.66 2- R.F = 0 3- R.D = 0

2- Thymus Broussoneti (Maire)	1- Fraîche 2- Fermentée 3- Déchet des plantes distillées	- V = 0.9 - V = 0 - V = 0	Ms = 33.6	1- R = 2.68 2- R.F = 0 3- R.D=0
-------------------------------	--	---------------------------------	-----------	---------------------------------------

Remarque 2 :Le volume des huiles essentielles de ces 4 plantes lors de leur fermentation est égal à 0

3.3 Commentaire :

D'après ces résultats, nous remarquons, d'une part que la distillation des plantes fermentées ne donne pas de bons résultats au niveau du rendement des huiles essentielles, et d'autre part, d'autres plantes donnent des résultats nuls, et aussi la fermentation du déchet des plantes fraîches distillées ne donne aucune trace d'huile. Donc la fermentation n'est plus une bonne méthode pour améliorer le rendement des huiles essentielles.

La Lavande, Pélagonium, le Bigaradier et Thymus Broussoneti (Maire) leur fermentation ne donne aucun résultat, donc il est déconseillé de fermenter ces espèces avant de les avoir distillées.

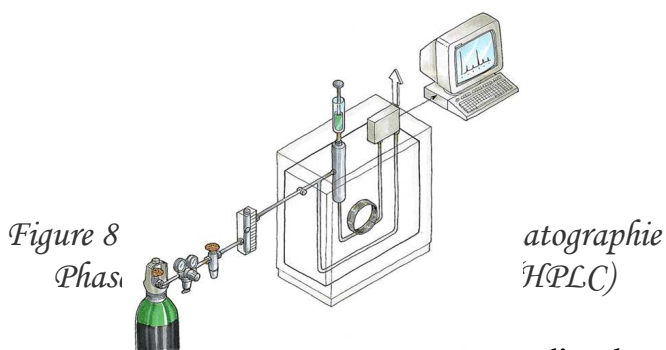
3.4 Conclusion :

La fermentation n'est plus une méthode efficace pour avoir un bon rendement en huile essentiel, reste à savoir au niveau de la composition chimique des différentes huiles obtenues à partir des 2 méthodes (fraiche ou fermentée), quelle est la meilleure au niveau qualité ?

4. Analyse qualitative

A. Lachromatographie phase liquide (HPLC) :

L'HPLC est utile pour la séparation des ions ou des molécules dissous dans un solvant. Si la solution échantillon entre en contact avec une deuxième phase solide ou liquide, les différents solutés interagissent à des degrés variables avec l'autre phase en raison des différences d'adsorption, d'échange d'ions, de cloisonnement ou de taille. Ces différences permettent aux composants du mélange de se séparer les uns des autres et déterminent le temps de transit des solutés à travers une colonne.



B. Résultats:

Ce travail est toujours en cours, en attendant les résultats d'analyse de ces différentes huiles par HPLC.

Conclusion générale

D'après l'analyse quantitative des huiles essentielles de cette gamme de plante on remarque que la fermentation n'est plus une bonne méthode pour améliorer le rendement des huiles essentielles par hydro distillation. Reste à savoir est ce que cette méthode est efficace pour l'obtention d'une huile essentielle de bonne qualité.