



**Université Sidi Mohamed Ben Abdellah**  
**Faculté des Sciences et Techniques de Fès**  
**Département des Sciences de la Vie**  
**LST**  
**BIOTECHNOLOGIE ET VALORISATION**  
**DES PHYTORESSOURCES (BVPR)**

**RAPPORT DE FIN D'ETUDES**

***Extraction et distillation d'une plante aromatique et  
médicinale : Rosmarinus officinalis***

**Réalisé Par :**

***El-Azrak Hind***

**Encadrée Par :**

***Pr. Rachiq Saâd***

***Mr. Abderahim Saidi***

***Soutenu le 07-06-2017 devant le jury :***

***Pr. Rachiq Saâd***

***Pr. Boukir Abdellatif***

***Mr. Abderahim Saidi***

## ***Remerciements***

*Je remercie le Directeur Monsieur Farhat Abdekhalak qui a bien voulu m'accorder ce stage au sein de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques (ANPMA).*

*Au terme de ce stage de fin d'étude, je tiens à exprimer ma gratitude à tous mes encadrants (M. Rachiq Saad, M. Saidi Abderrahim) qui ont assuré la direction de ce travail.*

*Je remercie également Madame Leila Elhanafi pour sa contribution dans l'élaboration du travail.*

*Je les remercie très vivement pour leur bienveillance, leur aide et soutien moral, ainsi que pour la confiance dont ils ont toujours fait preuve à mon égard.*

*Mes remerciements s'adressent aussi à tous les enseignants qui ont assuré ma formation.*

*Je remercie aussi tous les personnels de l'agence nationale des plantes aromatiques et médicinales qui m'ont aidé à faire ce travail.*

## ***Avant –propos***

*Mon stage s'est déroulé à l'AGENCE NATIONALE DES PLANTES MEDICINALES ET AROMATIQUES – TAOUNATE.*

*Après ma rapide intégration, j'ai eu l'occasion de réaliser plusieurs tâches qui ont constitué une mission de stage globale.*

*Lors des deux premières semaines, j'ai pris le temps d'observer et comprendre le déroulement et les étapes de l'extraction et distillation des plantes. J'ai ainsi participé aux travaux de récolte et de séchage des plantes faisant l'objet de mon étude.*

*Après j'ai effectué différentes méthodes d'extraction et distillation sur les plantes (romarin), et aussi quelques activités biologiques.*

# *Sommaire*

## *Introduction générale*

## **Chapitre I : Revue bibliographique**

### **1. les plantes aromatiques et médicinales**

#### *1.1 Généralité*

#### *1.2 Définition*

#### *1.3 Les PAM dans le monde*

#### *1.4 Utilisation des PAM au Maroc*

### **2. les huiles essentielles**

#### *2.1 Définition*

#### *2.2 Localisation des huiles essentielles dans les tissus de la plante*

#### *2.3 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles*

#### *2.4 Composition des huiles essentielles*

#### *2.5 Propriétés et utilisations des huiles essentielles*

### **3. Méthodes d'extraction et de distillation des PAM**

#### *3.1 Généralité*

#### *3.2 Techniques de distillation*

##### *3.2.1 Hydro distillation*

##### *3.2.2 Entraînement par la vapeur d'eau*

#### *3.3 Extraction par solvant*

##### *3.3.1 Soxhlet*

##### *3.3.2 Macération à froid*

##### *3.3.3 Ultrasons*

#### *3.4 Extraction par CO2 super critique*

### **4. Récupération de l'extrait**

### **5. Analyse de la composition chimique**

## **Chapitre II Matériel et méthode**

### **1. L'agence Nationale des Plantes Médicinales et**

## **Aromatique (ANPMA)**

### ***1.1 Généralité sur l'ANPMA***

### ***1.2 Missions d'ANPMA***

### ***1.3 Activités d'ANPMA***

## **2. Matériel végétale**

### ***2.1 Généralité sur le romarin***

### ***2.2 Classification***

### ***2.3 Description botanique***

### ***2.4 Propriétés médicinales du romarin***

### ***2.5 Récolte***

### ***2.6 Séchage***

### ***2.7 Calcul d'humidité***

## **3. Procédés d'extraction du romarin**

### ***3.1 Distillation***

*a. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau (Alambic)*

*b. Hydrodistillation (Clevenger)*

### ***3.2 Extraction par solvant(Ethanol)***

*a. Macération à froid*

*b. Soxhlet*

*c. Ultrasons*

## **4. Récupération de l'extrait total**

## **5. Rendement**

## **6. Activité antioxydante**

# **Chapitre III Résultats et discussions**

## **1. Séchage**

## **2. Rendement**

## **3. Activité antioxydante**

## **4. Conclusion**

## *Introduction générale*

*L'usage thérapeutique des plantes remonte aux temps les plus reculés de l'histoire de l'humanité. L'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) estime que 80% de la population mondiale utilise quotidiennement les plantes pour se soigner.*

*Par sa position géographique, son relief, sa lithologie, ses sols, ses climats, le Maroc offre des milieux naturels extrêmement variés. Ce qui explique en grande partie sa richesse et sa diversité biologique en général et floristique en particulier. Parmi cette diversité floristique. On compte 600 espèces réputées pour leurs usages thérapeutiques et aromatiques. Ces plantes médicinales et aromatiques riches en molécules bioactives sont d'un intérêt particulier pour l'industrie pharmaceutique et cosmétologique. Ces molécules sont connues pour leurs propriétés biologiques et pharmacologiques.*

*Ce rapport fait état des diverses méthodes d'extractions et de distillations appliquées sur le romarin pour l'obtention d'un bon rendement. IL Présente également dans le cadre de l'étude des activités biologiques comme l'activité antioxydante qui possède la capacité d'empêcher les réactions avec les radicaux libres.*

# Chapitre I : Revue bibliographique

## 1. les plantes aromatiques et médicinales

### *1.1 Généralités*

Le secteur des plantes aromatiques et médicinales, connaît une forte augmentation de la demande mondiale pour les plantes et les produits dérivés, dont la mise en valeur associée au nombre croissant d'utilisateurs et à la diversité des domaines et de leur utilisation, offre valeur de réelles opportunités de développement. Les PAM constituent des ressources à forte valeur ajoutée, Capables de contribuer à l'amélioration du niveau de vie de la population usagères, toutefois l'adoption d'une politique adéquate dans les domaines de la gestion, de l'exploitation et de valorisation de ces ressources.

Les grands types des plantes aromatiques et médicinales utiles à l'homme peuvent être définis par leur principal usage. On peut citer :

- *plantes à usages cosmétiques,*
- *plantes à usages aromatiques et condimentaires,*
- *plantes à usages alimentaires,*
- *plantes à usages industriels,*
- *plantes médicinales.*

### *1.2 Définition*

**Une plante médicinale** lorsqu'un de ses organes possède des activités pharmacologiques, pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. On utilise généralement qu'une partie de la plante : la racine, feuille, la fleur, la graine...

**Une plante aromatique** est une plante utilisée en cuisine et en phytothérapie pour les arômes qu'elles dégagent, et leurs huiles essentielles que l'on peut extraire. Ces plantes aromatiques sont cultivées selon les besoins pour leurs feuilles, tiges, bulbes, racines, graines, fleurs, écorce...

### ***1.3 Les PAM dans le monde***

La reconnaissance de la valeur clinique, pharmaceutique et économique des médicaments à base de plantes continue de croître.

La croissance de l'industrie pharmaceutique et le développement incessant de Nouveaux produits médicaux synthétiques et biologiques plus efficaces n'ont Pas réduit l'importance de l'utilisation des plantes médicinales dans le monde.

### ***1.4 Utilisation des PAM au Maroc***

Le Maroc est un producteur traditionnel de PAM, il est l'un des principaux fournisseurs à l'échelle mondiale (de romarin, de verveine, de rose, de coriandre, de menthe pouliot, etc.) et un fournisseur exclusif de plusieurs huiles essentielles comme l'armoise, la camomille sauvage...

La production des PAM met en exploitation aussi bien des plantes spontanées que des plantes séchées pour les besoins d'herboristerie et les aromates alimentaires. Plus d'une vingtaine d'espèces sont utilisées pour la production d'huiles essentielles ou d'autres extraits aromatiques destinés essentiellement à l'industrie de parfumerie et cosmétique ainsi que pour la préparation des produits d'hygiène et la formulation des arômes.

## **2. Les huiles essentielles**

### ***2.1 Définition générales***

Une **huile essentielle** (HE) est un extrait de végétaux aromatique et hautement volatile, marquée par une forte odeur. C'est un produit de composition complexe, obtenue à partir d'une matière première végétale.

Les huiles essentielles contiennent un nombre considérable de familles Biochimiques incluant les alcools, les phénols, les esters, les oxydes, les coumarines, les mono terpènes, les sesquiterpènes, les cétones, les aldéhydes.

La quantité d'huile essentielle contenue dans les plantes est toujours de très faibles concentrations, Il est important de faire une différence entre les huiles essentielles et les huiles végétales. Les huiles essentielles sont obtenues par expression (réservée aux agrumes) ou par distillation à la vapeur d'eau, Une huile végétale est obtenue par pression, et est constituée majoritairement de corps gras.



## ***2.2 Localisation des huiles essentielles dans les tissus de la plante***

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante Et se forment dans le cytoplasme de certaines cellules végétales spécialisées Elles peuvent être stockées et emmagasinées dans diverses structures de la plante telles que les poils sécréteurs ou les trichomes, les cellules épidermiques, les cellules sécrétrices internes, les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs. On peut dire alors que toutes les parties des plantes aromatiques peuvent contenir de l'huile essentielle :

- ✓ *Les fleurs (oranger, rose, lavande....)*
- ✓ *Les feuilles (menthe, thym, sauge...)*
- ✓ *Les organes souterrains, (racines, rhizomes ...).*

## ***2.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles***

L'huile essentielles possède certaines caractéristiques physico-chimiques qu'il est Possible de mesurer au laboratoire à l'aide de techniques simples ou d'appareillages Plus complexes. Les huiles essentielles sont incolores ou jaune pâle à l'état liquide et à température ordinaire. Toutes les huiles essentielles sont volatiles et odorantes, Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les huiles végétales, dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation

## ***2.4. Propriétés et utilisation des huiles essentielles***

Les huiles essentielles opèrent de manière préventive en stimulant le système immunitaire afin que votre organisme lutte plus efficacement contre les infections bactériennes.

Parmi les propriétés les plus connues, on citera :

- ✓ **Le pouvoir antiseptique :**

Elles détruisent les microbes ou empêchent leur développement (thym, eucalyptus...).

✓ **Le pouvoir antibactérien :**

Les phénols possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénols, aldéhydes etc.

✓ **Le pouvoir antivirale :**

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles. Aujourd'hui, les HE constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques.

✓ **Le pouvoir antiparasitaire :**

Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites.

✓ **Activité antioxydante :**

L'activité antioxydante des extraits végétaux permet de contribuer à la fabrication de produits plus écologiques dans le domaine de l'extraction pour l'agro-alimentaire.

Plusieurs substances chimiques présentées dans les aliments sont appelées antioxydants parce qu'elles possèdent la propriété d'empêcher les réactions en chaîne néfastes provoquées par les radicaux libres. Les principaux antioxydants naturels sont les bio flavonoïdes, les caroténoïdes, les vitamines C et E.

### **3. Les méthodes d'extraction et de distillation des PAM**

#### **3.1 Généralités**

Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte des caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisant une forte demande toujours plus exigeante, Basées sur différentes phénomènes physiques : la distillation, l'extraction ou la Séparation, ces techniques seront présentées selon le principe sur lequel elles sont basées.

#### **3.2. Techniques d'extraction**

La plante préalablement identifiée, récoltée, séchée et broyée selon sa nature et le but rechercher, plusieurs modes d'extraction.

### **3.2.1. Hydrodistillation (clevenger)**

L'hydrodistillation consiste à porter à ébullition un mélange d'une partie de la plante et de l'eau. Sous l'action de la chaleur, les cellules éclatent et libèrent des composés organiques odorants et volatils. La vapeur d'eau formée entraîne les composés organiques à l'état gazeux vers le réfrigérant.

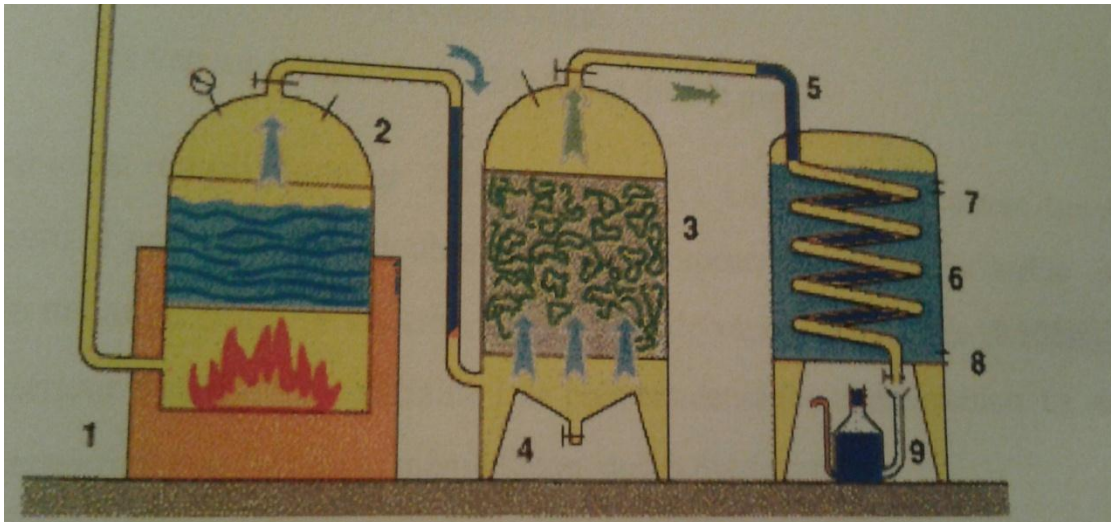
La condensation de ce mélange gazeux, provoque sa séparation en deux phases liquides :

- *Une phase liquide huileuse et très odorante, appelée huile essentielle, contenant la majorité des composés odorants.*
- *Une phase aqueuse, odorante, appelée eau aromatique, qui n'en contient que très peu.*

### **3.2.2. Entraînement à la vapeur d'eau (Alambic)**

L'entraînement à la vapeur d'eau est une méthode officielle pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydro distillation, cette Technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange \*eau + huile essentielle\*.

Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique " l'huile essentielle". L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.



**Figure 1 : Dispositif de distillation par entrainement à la vapeur d'eau**

**1 : Foyer – 2 : chaudière – 3 : Vase à fleurs – 4 : Vidange de condensation – 5 : Col de cygne – 6 : Réfrigérant serpentin – 7 : Sortie d'eau chaude – 8 : Arrivée d'eau froide – 9 : Essencier servant à la décantation de l'essence et de l'hydrolat.**

### ***3.3. Extraction par solvant***

Ce procédé permet d'extraire les métabolites secondaires non volatiles de la plante (les extraits brutes). Elle permet de récupérer des familles chimiques variées telle que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tannins. Selon la polarité du solvant utilisé, on aura les composés apolaires, peu polaire, moyennement polaire ou polaire.

Le choix du solvant obéit à trois critères :

- *Le solvant doit être liquide à la température et à la pression où l'on réalise l'extraction.*
- *Il doit être non miscible à la phase qui contient initialement le composé à extraire.*
- *Le composé à extraire doit être très soluble dans le solvant.*

Les méthodes d'extraction par solvant :

### **3.3.1. Soxhlet :**

C'est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. L'échantillon entre rapidement en contact avec une portion de solvant pur, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. De plus, elle ne nécessite pas de filtration après extraction et peut être utilisée quel que soit la matrice végétale. Ses inconvénients les plus significatifs sont la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée (devant être ultérieurement évaporé), et aussi l'extraction à chaud peut dégrader certaines substances chimiques, ce qui limite sa rentabilité économique et la rend peu écologique.

### **3.3.2. Macération à froid :**

Elle est utilisée pour les drogues dont les PA peuvent s'altérer à chaud et qui sont solubles à froid ou pour éviter la dissolution de pectines à chaud. On utilise des drogues à gommages ou mucilages (racine, bois, écorces...), On verse l'eau à température ambiante sur la plante, on laisse en contact 30 min à 4 heures (parfois jusqu'à 12 heures), on filtre et on obtient un macéré.

### **3.3.3. Ultrasons :**

Méthode simple, efficace et peu coûteuse, elle offre une augmentation du rendement d'extraction. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. L'extraction par ultrasons permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels. Cependant, l'effet de l'extraction par ultrasons sur le rendement et la cinétique d'extraction est lié à la nature de la matrice végétale. La présence d'une phase dispersée mène à l'atténuation des ondes ultrasonores et les zones actives dans l'extracteur restent à proximité de l'émetteur d'ultrasons. Cette méthode ne permet pas de renouveler le solvant pendant le processus. L'étape limitante est la filtration et le rinçage après l'extraction.

## **3.4. Extraction par CO<sub>2</sub> super critique**

La méthode consiste à faire circuler du CO<sub>2</sub> supercritique, sous pression et température, à travers la matière végétale, puis d'opérer une décompression pour

récupérer l'extrait. A la dépressurisation (chute de la pression), le CO<sub>2</sub> est libéré sous forme gazeuse (ré-exploitable) et le composé recherché sous forme liquide.

#### **4. Récupération de l'extrait**

Le mélange recueilli par les différentes méthodes d'extraction citées ci-dessus est soumis à une pression sous vide grâce à un évaporateur rotatif, pour séparer le solvant et les composés chimiques existants dans l'extrait.

Le principe de cet appareil est basé sur la distillation sous vide. La solution est mise en rotation pour éviter des bulles d'ébullition trop grosses ou mousseuses, puis la pression est diminuée grâce à une trompe à eau. La température de chauffage est en fonction de la température d'ébullition du solvant à éliminer pour accélérer l'évaporation.

Il est constitué de différentes parties :

- *Un bain-marie afin de chauffer la solution à concentrer*
- *Un ballon dont la forme est adapté en fonction du volume de l'extrait à concentrer.*
- *Un réfrigérant qui condense les gouttelettes du solvant*
- *Un ballon réceptacle dans lequel le solvant condensé est recueilli.*
- *Un dispositif qui fait tourner le ballon suivant son axe de symétrie afin de permettre une homogénéisation du milieu et une évaporation tranquille.*

#### **5. Analyse de la composition chimique**

Cette analyse concerne l'identification qualitative et quantitative des différents Constituants d'une huile essentielle. On peut utiliser les méthodes suivantes : CPG, CG/SM, HPLC, RMN, IR, etc.

## Chapitre II : Matériel et méthode

### 1. L'agence Nationales des Plantes Médicinales et Aromatiques

#### *1.1. Généralité sur l'ANPMA*

L'**ANPMA** (agence nationale des plantes médicinales et aromatiques) se situe environ 80 km au nord de la ville de Fès, dans la province de Taounate, est une agence qui a pour vocation tout ce qui concerne la filière des plantes médicinales et aromatiques et les produits naturels.



**Figure 2 : Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques (ANPMA)  
de TAOUNATE**

#### *1.2. Missions d'ANPMA*

- Effectuer et promouvoir des travaux de recherche/ développement.
- Organiser des séminaires, des conférences et des expositions dans les domaines des plantes médicinales et aromatiques, ainsi que dans les autres domaines utilisant les produits naturels.
- Valoriser et promouvoir des plantes médicinales et aromatiques, l'utilisation et l'intégration du produit naturel dans les différents secteurs socio-économiques par la création des pépinières de projets.

- Etablir des relations de coopération avec les organismes nationaux et internationaux.
- Coordonner à l'échelle nationale les activités relatives aux plantes médicinales et aromatiques.

### **1.3. Activités d'ANPMA**

- Optimisation des techniques de ramassage, de culture, de récolte, de séchage et de conditionnement.
- Préparation et formation de nouveaux produits naturels à valeur ajoutée, destinés aux secteurs pharmaceutique, parfumerais, cosmétique, agro-alimentaire et chimique.
- Réalisation des études phytochimiques.
- Développement des prototypes d'équipements spécifiques à la nature des PMA.
- Promotion de la conservation, la valorisation, l'utilisation et l'intégration des produits naturels par la création des pépinières dans le cadre des projets de développement régional et / ou national relatif aux différents secteurs socioéconomiques.

## **2. Matériel et méthodes**

### **2.1. Généralité sur le romarin**

Abondant à l'état sauvage le romarin aime les terrains calcaires, Exploité pour leurs vertus médicinales, les branches feuillées, fraîches ou séchées de cette plante condimentaires sont également couramment utilisées pour parfumer grillades, ragouts, civets, soupes et autres sauces.

**Nom scientifique** : Rosmarinus officinalis

**Noms communs** : romarin officinal, herbe aux couronnes, rose de mer...

**Forme de préparation** : huiles essentielles, pommades, tisanes, décoctions...

**Parties utilisées** : parties aériennes, idéalement à la floraison.



## 2.2. Classification



<b>Règne</b>	Plantae
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	Rosmarinus

## 2.3. Description botanique du romarin

Le romarin est un arbrisseau de la famille de Lamiaceae (Lamiacées), poussant à l'état sauvage sur le pourtour méditerranée. Peut atteindre 2 m de hauteur en culture. Il est reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous, Leur odeur très camphrée.

Les fleurs sont bleu violacées de février à mai. Leur calice a un aspect duveteux, la corolle est bilabée et dotée de 4 étamines. Le fruit du romarin est un tétrakène brun.

## 2.4. Propriétés médicinales et aromatiques du romarin

### Utilisation interne :

- Favorise la digestion, régule les lipides, améliore la circulation sanguine.
- Antistress, antifatigue : il prévient l'insomnie et permet de lutter contre le surmenage intellectuel.
- Contre les affections de la peau : infections, plaies, nettoyage de la peau.
- Accélère la pousse des cheveux.
- Permet de lutter contre certains agents pathogènes : antimycosique et antibactérien.
- Effet antioxydant : contre le vieillissement cellulaire.

### Indications thérapeutiques usuelles :

- La choline qu'il contient agit comme régulateur des lipides, au niveau du foie, et favorise la digestion.
- Ses vertus diurétiques facilitent l'activité rénale et participent à la prévention du rhumatisme.
- Ses propriétés anti oxydantes ont un effet de stimulation sur l'activité cérébrale et améliorent la mémoire.

### Huile essentielle de romarin :

L'huile essentielle de romarin est largement utilisée comme composant aromatique dans l'industrie des cosmétiques (savons, parfums, crèmes, etc.), mais aussi dans l'industrie alimentaire (boissons alcoolisées, desserts, bonbons, conservation des lipides, etc.).

### **2.5. Récolte**

La récolte de la plante a été réalisée par un sécateur dans un jardin d'ANPMA – TAOUNATE.

### **2.6. Séchage**

On prend 5 kg de romarin pour le séchage à l'ombre dans un endroit sec et aéré, pendant 8 jours.

### **2.7. Calcul d'humidité**

L'humidité est la quantité d'eau qui existe dans un kilogramme de matière végétale.

### Méthode :

Pour chaque distillation, une petite quantité représentative de matière fraîche est pesée dans un cristalliseur taré. Cette opération est doublée de manière à obtenir une moyenne. Le tout est mis à l'étuve jusqu'à ce que cette masse soit constante. Les cristalliseurs sont ensuite pesés pour l'obtention de la masse sèche des plantes.

On peut donc calculer l'humidité selon la formule suivante :

$$H\% = [(MF - MS)/MF]*100$$

**H%** : humidité exprimée en pourcentage ;

**MF** : la masse fraîche de l'échantillon de la plante et ;

**MS** : la masse sèche de l'échantillon de la plante.

### **3. Procédés d'extraction du romarin**

#### **3.1 Distillation**

##### **a. Distillation par entrainement à la vapeur d'eau (Alambic) :**

##### Matériel

- Alambic,
- Romarin (plante a distillé),
- Balance électronique de portée 500 kg,
- Sécateur (pour la récolte),
- Chaudière (génératrice de vapeur),
- Système de refroidissement (pour la condensation de vapeur),
- Florentin (essencier),
- Ampoule à décanter (pour l'élimination des traces d'eau florale restant),
- Flacon brun (pour éviter l'effet de photosensibilisation d'HE),
- Bécher.

##### Méthode :

La chaudière (génératrice de vapeur) alimente l'alambic par un flux de vapeur a une pression de 0.15 bar, la température de l'alambic s'élevé à 100°C.la pression de l'alambic reste nulle, car c'est un système ouvert, la température de l'eau refroidissement est ambiante.



**Figure 3: La chaudière( génératrice de vapeur d'ANPMA)**

La vapeur d'eau passe à travers la plante à la pression indiquée pour briser les cellules végétales, libéré les molécules aromatiques et les entraîne dans un serpentin de refroidissement d'où la vapeur se condense et se transforme à l'état liquide.



**Figure 4: Distillation par entrainement à la vapeur d'eau (Alambic)**

La distillation est arrêtée quand le volume de HE apparait stable dans un détecteur en verre du florentin (essencier) de 30 litres pour un temps environ 2h30.puis la récupération d'HE est réalisée.



**Figure 5: Florentin du dispositif de distillation d'ANPMA**

#### **b. Hydro distillation au laboratoire (par Clevenger)**

Une masse des feuilles de la plante qui représente 40% et une quantité de l'eau (proportion de 60%) sont immergées dans un ballon. Ce dernier est installé au dispositif de Clevenger pendant 2h30min, les vapeurs chargées d'huile essentielle traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, le mélange (huile essentielle + eau) se sépare par différence de densité.

L'huile récupérée, est placée dans un petit flacon opaque et conservée au Réfrigérateur.



**Figure 6: Hydrodistillation du romarin par clevenger**

### ***3.2 Extraction par solvant***

L'extraction par solvant (Ethanol) consiste à dissoudre le composé recherché dans les extraits végétatifs, puis la séparation de solvant et les composés chimiques existants dans l'extrait par un évaporateur rotatif.

Les différents types d'extraction sont :

#### **a. Macération à froid**

On prend une quantité de 30 g de la poudre végétale (romarin) macérée dans un solvant (éthanol) à froid, pendant un temps assez long (3 jours), afin que le solvant retienne les composés chimiques dont on veut extraire.

Une fois le temps écoulé, il suffit de filtrer le mélange à travers un papier filtre, ou du coton hydrophile non tissé et de stocker la macération obtenue dans un récipient bien bouché.

#### **b. Soxhlet**

La matière végétale (30g du romarin) est disposée dans une cartouche cellulosique poreuse laquelle est introduite dans un extracteur de type soxhlet, équipé à sa base d'un ballon dans lequel on introduit le solvant (Ethanol). Ce dernier est mis en ébullition (chaleur), la vapeur passe dans le tube latéral et se condense dans le réfrigérant, le solvant remplit progressivement la chambre d'extraction contenant le solide, se charge d'une partie du produit à extraire et la solution est ensuite siphonnée automatiquement dans le ballon dès que la chambre d'extraction est pleine. Le cycle se répète indéfiniment.



**Figure 7: Extraction du romarin par soxhlet**

### **c. Ultrasons**

L'extraction est effectuée sur 30 g de la poudre du romarin, séchée à l'air, mélangée avec 100 ml d'éthanol dans un flacon de 250 ml, Puis l'extraction se fait pendant 45 min, après le mélange est filtré dans un bécher contenant un papier filtre, et ensuite l'extrait obtenue est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif.



**Figure 8:Extraction du romarin par ultrasons**

#### 4. Récupération de l'extrait total

Le mélange recueilli par les différentes méthodes d'extraction citées ci-dessus est soumis à une pression sous vide grâce à un évaporateur rotatif, pour séparer le solvant et les composés chimiques existants dans l'extrait.



Figure 9: Rota vapeur d'extrait

#### 5. Calcul du rendement

##### **Définition :**

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids d'huile extraite et le poids de la plante à traiter.

Le rendement est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R = [PA / PB] \times 100$$

**R** : Rendement de l'huile en %.

**PA** : poids de l'huile en g.

**PB** : poids de la plante en g.

#### 6. Activité antioxydante

Dosage de l'activité antioxydante par le réactif phosphomolybdène



### **Principe de la méthode :**

La capacité antioxydante des extraits des plantes est évaluée par la méthode de phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de

Molybdène présent sous la forme d'ions molybdate à molybdène en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate à pH acide.

### **Protocole expérimental :**

Un volume de 0.3 ml de chaque extrait éthanolique est mélangé avec 3 ml de solution du réactif (0.6M acide sulfurique, 28 Mm de phosphate de sodium, 4 Mm de molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95 C° pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre du réactif et 0.3 ml du Ethanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydant totale est exprimée en  $\mu$ g équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche ( $\mu$ g eq d'aa/gMS).



**Figure 10 : Les extraits de différents types d'extraction  
(Macération, soxhlet, ultrasons)**

# Chapitre III Résultats et discussion

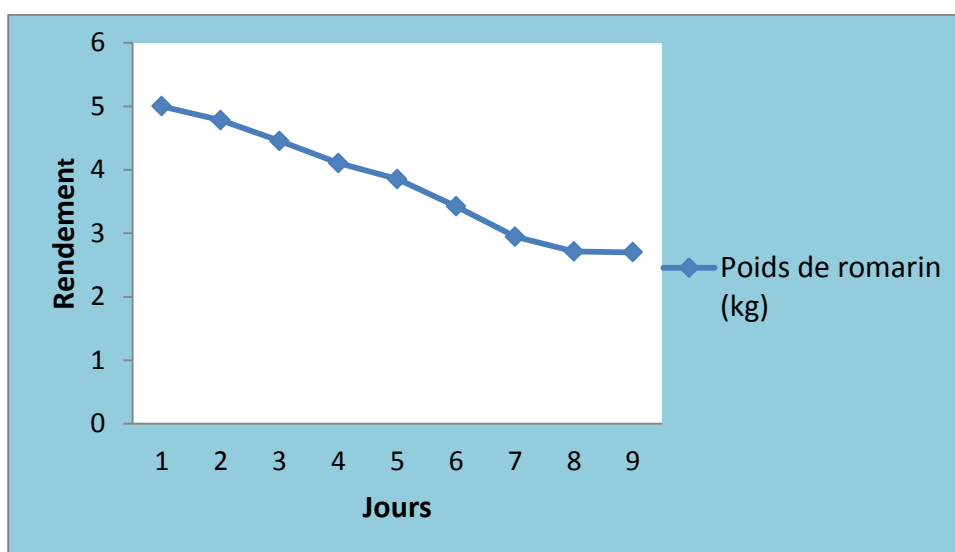
## 1. Séchage

Les résultats de séchage du romarin à l'ombre dans un endroit sec et aéré, pendant 9 jours. Sera résumé ci-dessous :

*Tableau 1 : Variations du poids du romarin en fonction du temps (jours)*

<i>Jours</i>	<i>Poids de romarin (kg)</i>
<i>1</i>	<i>5.000</i>
<i>2</i>	<i>4.780</i>
<i>3</i>	<i>4.453</i>
<i>4</i>	<i>4.106</i>
<i>5</i>	<i>3.852</i>
<i>6</i>	<i>3.422</i>
<i>7</i>	<i>2.946</i>
<i>8</i>	<i>2.713</i>
<i>9</i>	<i>2.700</i>

*On traduit ce résultat graphiquement :*



*Figure 11: variation du poids du romarin en fonction du temps*

On note une diminution progressive du poids du romarin en fonction du temps (jours) du premier jour jusqu'au 9<sup>ème</sup> jour (Tab. 1 et fig. 11). La diminution progressive du poids du romarin est due à une perte d'eau par évaporation.

Le pourcentage d'humidité est 46%.

## 2. Rendement

### *Méthode d'extraction par distillation :*

- ✓ Hydrodistillation (clevenger)

Le rendement **R** en huile essentielle est déterminé par rapport à 100 g des Feuilles de romarin sèches chaque jour.

$$R = [PA / PB] \times 100$$

**R** : Rendement de l'huile en %.

**PA** : poids de l'huile en g.

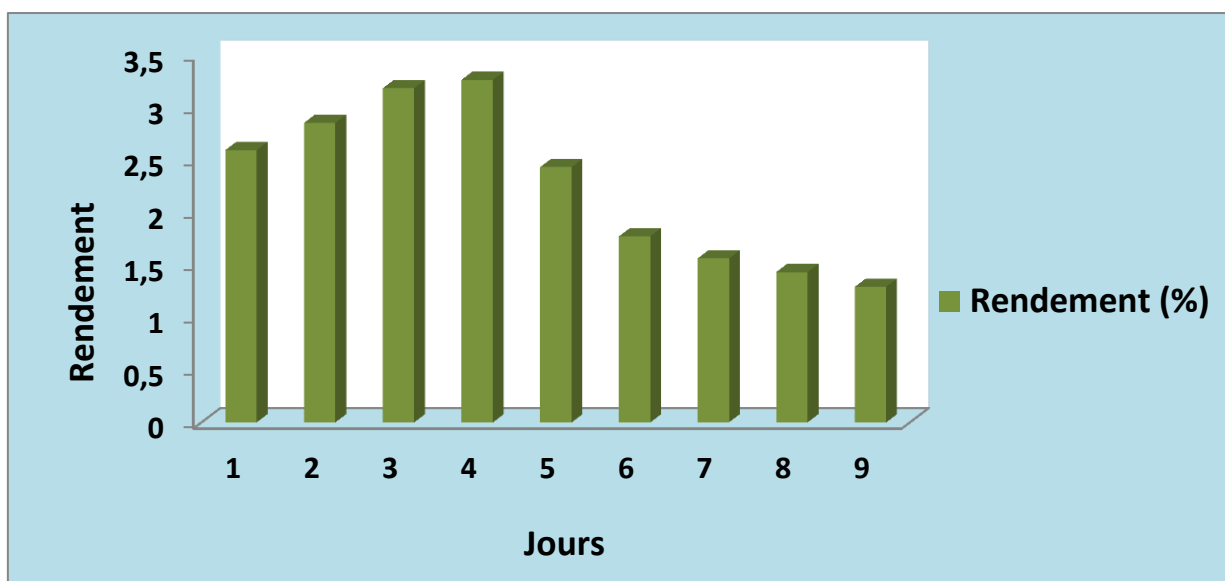
**PB** : poids de la plante sèche en g

Le résultat est effectué dans le tableau 2 suivant :

*Tableau 2: le rendement de romarin en fonction du temps (Jours)*

<i>Jours</i>	<i>Quantité de la plante fraîche(g)</i>	<i>Huile essentielle</i>	<i>Poids initial(g)</i>	<i>Poids finale(g)</i>	<i>Humidité (%)</i>	<i>Quantité de la plante sèche(g)</i>	<i>R (%)</i>
1	100	1	10	3.85	61.5	38.5	2.59
2	100	1.2	10	4.21	57.9	42.1	2.85
3	100	1.4	10	4.40	56	44	3.18
4	100	1.5	10	4.60	65.1	46	3.26
5	100	1.4	10	5.75	42.5	57.5	2.43
6	100	1.35	10	7.62	23.8	76.2	1.77
7	100	1.3	10	8.32	16.8	83.2	1.56
8	100	1.2	10	8.40	16	84	1.43
9	100	1.1	10	8.48	15.5	84.8	1.29

On traduit les résultats graphiquement :



*Figure 12 : Variation de rendement (romarin) en fonction du temps*

Le rendement d'huile essentielle augmente progressivement du premier jour jusqu'au 4<sup>ème</sup> jour (optimum), ensuite il y a diminution de rendement d'HE.

L'augmentation de rendement d'HE s'explique par diminution d'eau par évaporation à partir de la matière végétative fraîche.

La diminution de rendement s'explique par que la matière végétal devient sèche, et en plus les huiles essentielles sont volatils.

✓ Entrainement par la vapeur d'eau (alambic) :

*Tableau 3: Rendement de romarin par entrainement à la vapeur d'eau*

<i>Nom de la plante</i>	<i>Quantité de la plante (kg)</i>	<i>Quantité d'HE (ml)</i>	<i>Rendement (%)</i>
<b>Romarin</b>	<b>20</b>	<b>105</b>	<b>0.5</b>

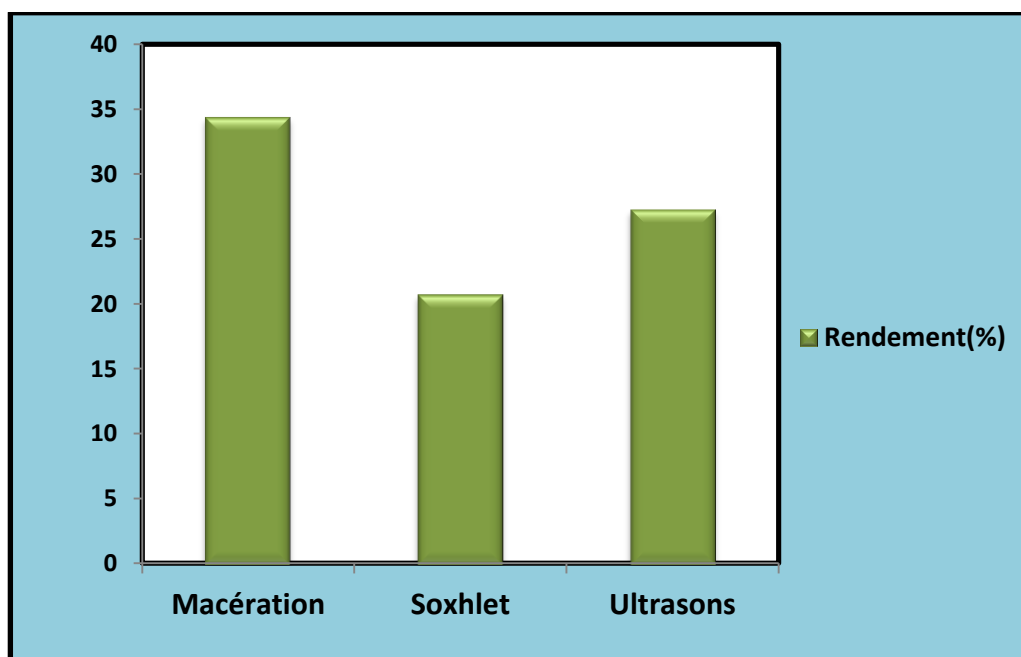
**Méthode d'extraction par solvant(Ethanol) :**

Il existe 3 méthodes d'extraction par solvant(Ethanol), chaque méthode différencié par des conditions bien précisé (temps, température...)

**Tableau4: Rendement de romarin par l'extraction(Ethanol)**

<i>Type d'extraction</i>	<i>Quantité de la poudre (g) (romarin)</i>	<i>Poids d'extrait (g)</i>	<i>Rendement(%)</i>
<i>Macération</i>	<i>30</i>	<i>10.31</i>	<i>34.36</i>
<i>Soxhlet</i>	<i>30</i>	<i>6.22</i>	<i>20.73</i>
<i>Ultrasons</i>	<i>30</i>	<i>8.18</i>	<i>27.26</i>

On traduit ce résultat graphiquement :



**Figure 13: Histogramme d'extractions par solvant(Ethanol)**

D'après la figure on remarque que le rendement le plus élevé est enregistré chez l'extraction par macération avec une valeur de 34.63% suivi par l'extraction par ultrason 27.26% et soxhlet de 20.73%(Tab. 4 et fig. 14).

Ce résultat peut être expliqué par le fait que le facteur de temps intervient d'une manière directe dans l'extraction, en effet plus la substance végétale est en contact avec le solvant plus ce dernier a tendance à extraire des molécules bioactives au maximum. Cela est clairement remarqué quand il s'agit de la macération qui a duré 3 jours, suivi par le Soxhlet qui a duré 6h ensuite l'ultrason qui n'a duré que 45min. cette dernière méthode est basée en principe sur plusieurs facteurs dont on trouve : le temps, la puissance, la fréquence, la température. Ces facteurs doivent être optimisés pour chercher les meilleures conditions d'extraction pour un rendement maximal.

### 3. Activité antioxydante

Le résultat de l'activité antioxydante obtenue des différents types d'extractions sera résumé ci-dessous :

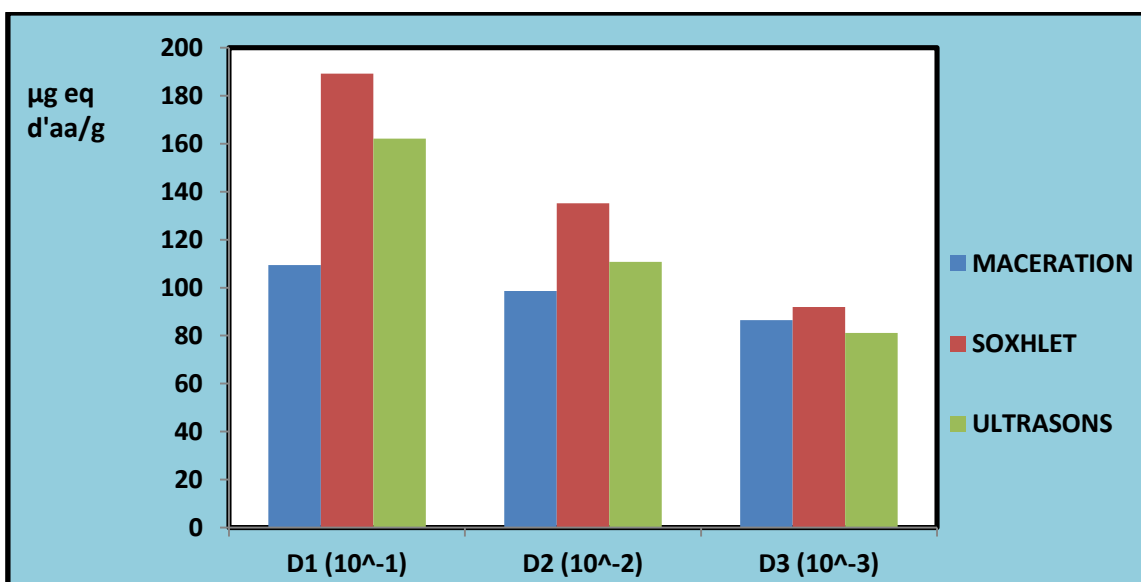


Figure 14: Histogramme descriptive d'activité antioxydante des extraits

D'après le figure ci-dessus, il y a 3 dilutions, on remarque que ; plus on dilue plus l'activité antioxydante totale diminue, en effet les meilleurs valeurs ont été enregistrées chez les doses élevées et cela pour les trois méthodes d'extraction. D'autre part, on observe que l'extraction par Soxhlet donne les meilleurs résultats dans toutes les dilutions :

$D1 (10^{-1}) = 1g$  d'extrait contient  $180\mu g$  eq d'aa/g

$D2 (10^{-2}) = 1g$  d'extrait contient  $140\mu g$  eq d'aa/g

$D3 (10^{-3}) = 1g$  d'extrait contient  $90\mu g$  eq d'aa/g

*Suivie par l'extraction par ultrasons :*

*D1 ( $10^{-1}$ )=1g d'extrait contient 160 $\mu$ g eq d'aa/g*

*D2 ( $10^{-2}$ )=1g d'extrait contient 110 $\mu$ g eq d'aa/g*

*D3 ( $10^{-3}$ )=1g d'extrait contient 82  $\mu$ g eq d'aa/g*

*Ensuite l'extraction par macération :*

*D1 ( $10^{-1}$ )=1g d'extrait contient 110 $\mu$ g eq d'aa/g*

*D2 ( $10^{-2}$ )=1g d'extrait contient 100 $\mu$ g eq d'aa/g*

*D3 ( $10^{-3}$ )=1g d'extrait contient 85  $\mu$ g eq d'aa/g*

*L'extraction par soxhlet a donné un maximum des molécules bioactives par rapport à la macération et l'ultrason, en effet cela peut être expliqué par le fait que la concentration à plusieurs cycles permet au solvant d'extraire plus de molécules à chaque fois qu'il est en contact avec la matière, en plus que la température utilisée optimise le processus d'extraction. Contrairement à la macération qui, d'une part se base sur une température ambiante et d'autre part utilise une quantité déterminée du solvant qui peut être saturée au cours du processus.*

*L'extraction par ultrasons est une méthode moderne qui doit être optimisée tout en jouant sur les paramètres de réglage de l'appareil : la température, la puissance et la durée de l'extraction.*

## *Conclusion*

*Ce stage au sein de l'agence ANPMA, m'a permis d'approfondir mes connaissances, d'apprendre plus de techniques d'extraction des huiles essentielles des PAM et de tester certaines de leurs activités, notamment l'activité antioxydante.*

*Il permet de confronter les théories étudiées à la réalité du secteur des plantes médicinales et Aromatiques, et d'avoir une meilleure connaissance sur les différentes matérielles scientifiques disponible au sein de l'agence(ANPMA).*



## *Références bibliographiques*

- [1] Fanny Bastien, Thèse sur: Effet larvicide des huiles essentielles sur stomoxys calcitrans à la réunion, Université Paul\_Sabatier de Toulouse, 2008,19-28.
- [2] Nisrin Benayad, Thèse sur: les huiles essentielles extraite par plantes médicinales marocaine : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, Université Mohammed V– Agdal de Rabat, Novembre 2008, 13-30.
- [3] Zeghad Nadia, thèse sur : Etude du contenu polyphénolique de deux plantes Médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne, Université Mentouri Constantine, 2008-2009,65-72.
- [4]CONRAD M. - Rosmarinus officinalis L. en Corse - 1988, p. 23-24 - Le Monde des Plantes, Le Monde des Plantes, Intermédiaire des botanistes, N°431 - Saisie : Centre Régional de Phytosociologie / Conservatoire Botanique National de Bailleul - Art. n°3383