

Licence Sciences et Techniques (LST)

Technique d'Analyse et Contrôle de Qualité

« TACQ »

**PROJET DE FIN D'ETUDES**

Extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques et médicinales : La lavande



**Présenté par :**

◆ Hanyny Nadia

**Encadré par :**

◆ Pr. HAZM Jamal Eddine

**Soutenu, Le 07 / 07 / 2021 devant le jury composé de :**

- Pr. HAZM Jamal Eddine
- Pr. OULMEKKI Abdellah
- Pr. ZARGUILI Ikbal

**Stage effectué à :** Le Centre de Recherche Forestière à Rabat (CRF)

Année Universitaire 2020 / 2021

## Remerciements

Le plus dur n'est pas de rédiger le rapport mais de remercier toutes les personnes qui m'ont soutenu pour réaliser ce projet.

Je tiens tout d'abord à remercier mon encadrant **Pr. HAZM Jamal Eddine** et mon encadrant de stage **Dr. SATRANI Badr**, de m'avoir acceptée pour effectuer ce stage de projet de fin d'études, pour son temps précieux et ses précieux conseils tout au long du Déroulement de ce stage.

Finalement, j'adresse mes profondes gratitude à ma famille qui a toujours été à mes côtés, pour Son soutien et son encouragement. Je remercie également tous mes amis.



## Table des matières

<b>Chapitre 1 : Revue bibliographique</b> .....	2
1 Présentation du centre de recherche forestière de Rabat (CRF) .....	3
1.1 Rôle et missions .....	3
1.2 Groupement.....	5
2 Huiles essentielles.....	6
2.1 Définition .....	6
2.2 Propriétés physiques .....	6
2.3 Méthodes d'extraction.....	6
2.3.1 Entraînement à la vapeur d'eau .....	7
2.3.2 Hydrodistillation.....	7
2.3.3 Expression à froid.....	8
2.3.4 Solvants organiques.....	8
2.4 Composition chimique .....	8
2.4.1 Terpènes .....	8
2.4.2 Composés aromatiques .....	9
2.4.3 Composés d'origine variée .....	9
2.5 Rôle des huiles essentielles chez les plantes .....	9
2.6 Toxicité .....	10
2.7 Principaux domaines d'application.....	10
2.7.1 Aromathérapie .....	10
2.7.2 Agro-alimentaire.....	11
2.7.3 Cosmétologie et parfumerie.....	11
2.7.4 Pharmacie .....	11
2.8 Méthodes d'analyse.....	11
2.8.1 Chromatographie en phase gazeuse.....	11
2.8.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse atomique CPG/MS .	12
3 Lavandula stoechas .....	12
3.1 Monographie .....	12
3.2 Classification.....	13
<b>Chapitre 2 : Matériels et méthodes</b> .....	14
1 Matériels .....	15
1.1 Matériel végétal.....	15
1.2 Appareils .....	15

2	Méthodes.....	15
2.1	Test d'humidité .....	15
2.2	Extraction des huiles essentielles .....	17
2.3	Rendement .....	17
2.4	Analyse chromatographique.....	18
<b>Chapitre 3 : Résultats et discussion</b> .....		<b>20</b>
1	Résultats.....	21
1.1	Taux d'humidité.....	21
1.2	Rendement en huile essentielle .....	21
1.3	Composition chimique .....	22
2	Discussion.....	23
2.1	Test d'humidité .....	23
2.2	Extraction des huiles essentielles .....	23
2.3	Analyse chromatographique.....	24

## Abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

CRF : Centre de Recherche Forestière

CPG/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

FID : Détecteur à Ionisation de Flamme

H.E : Huile Essentielle

H% : Humidité

IK : Indice de Kovats

L. Stoechas : Lavandula Stoechas

R% : Rendement

## Liste des figures

Figure 1 : principe schématisé de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	7
Figure 2 : dispositif d'hydrodistillation .....	7
Figure 3 : Appareillage de chromatographie en phase gazeuse.....	12
Figure 4 : Lavandula Stoechas .....	13
Figure 5:lavandula stoechas .....	15
Figure 6: Balance du centre de recherche forestière (CRF).....	16
Figure 7: L'étuve du centre de recherche forestière (CRF).....	16
Figure 8: dispositif d'extraction d'huile essentielle de type clevenger du centre de recherche forestière .....	17
Figure 9: Chromatographe en phase gazeuse du centre de recherche forestière .....	19
Figure 10: Huile essentielle de la lavande .....	22

## Liste des tableaux

Tableau 1: L'humidité de L. Stoechas .....	21
Tableau 2: Le rendement en huile essentielle de L. Stoechas .....	21
Tableau 3: La composition chimique d'huile essentielle de L. Stoechas.....	23



## *INTRODUCTION GENERALE*

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes permettent à l'homme non seulement de se nourrir, se vêtir, se loger, se chauffer, se parfumer...mais aussi de maintenir son équilibre, soulager ses souffrances préserver et soigner les maladies qui nuisent à sa santé.

Par ailleurs, les plantes aromatiques et médicinales jouent un rôle économique considérable dans le secteur des industries de l'agro-alimentaire, de la parfumerie, des cosmétiques, ...et de la pharmacie.<sup>1</sup>

En effet, les plantes représentent une source de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïdes, flavonoïdes, hétérosides, saponosides, quinones, vitamines, ...et huiles essentielles.<sup>2</sup>

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<sup>3</sup>.

L'objectif de notre étude est d'extraire l'essence de la lavande par hydrodistillation et d'identifier les principaux constituants chimiques de cette huile essentielle par les méthodes chromatographiques.

Ce manuscrit comporte trois chapitres :

Dans le premier chapitre, on présente le centre de recherche forestière de Rabat, une revue bibliographique concernant les huiles essentielle.

Dans le deuxième chapitre, on donnera les matériels et les méthodes utilisées lors de ce stage.

Dans le troisième chapitre, nous exposons les résultats et les discussions concernant notre travail effectuée au Centre de Recherche Forestière (CRF).



## **Chapitre 1 : Revue bibliographique**

## 1 Présentation du centre de recherche forestière de Rabat (CRF)

Le domaine forestier marocain couvre plus de 9 millions d'hectares de forêts et de nappes alfatières. Formé d'une trentaine d'écosystèmes terrestres, complexes et diversifiés, il occupe un éventail très large de bioclimats, du saharien au per-humide et de haute montagne. La gestion, la mise en valeur et la conservation de ces écosystèmes ne vont pas sans poser de nombreuses contraintes d'ordre écologique, technique, économique et social aux gestionnaires. La nécessité et l'importance d'un système de recherche scientifique, pour assurer à la fois la charge de l'étude des problèmes fondamentaux et pour répondre aux besoins techniques d'une gestion durable des écosystèmes forestiers ont conduit à la création, en 1926, de la station de recherche forestière devenue en 1992 le Centre de Recherche Forestière (CRF). Le CRF se focalise particulièrement sur la connaissance du milieu forestier, des écosystèmes naturels et des filières (bois, plantes aromatiques et médicinales, chasse et pêche, protection de la nature...) et sur la maîtrise des techniques culturales des essences productives, principalement le Cèdre de l'Atlas, le Chêne-liège, les pins et les Eucalyptus.

### 1.1 Rôle et missions

Le Centre de Recherche Forestière coordonne la recherche forestière au Maroc et développe des relations de coopération et de partenariat avec des institutions de recherche, de formation et de financement aux niveaux national et international. Il offre un support scientifique et technique aux gestionnaires des Eaux et Forêts et répond à leurs besoins pour qu'ils s'acquittent de leur tâche dans les meilleures conditions et mènent à bien leurs projets de préservation et de développement des ressources naturelles.

Le CRF a pour missions :

#### a. Développer et orienter

La recherche scientifique et les études techniques et économiques relatives à la connaissance, la conservation, le développement, la valorisation, le suivi et l'évaluation des ressources forestières, alfatières, sylvopastorales, piscicoles continentales et cynégétiques, en plus des parcs et réserves naturelles.

#### b. Promouvoir

La recherche scientifique et les études techniques et économiques relatives à la forêt et à l'évolution du processus de la désertification et en évaluer l'impact ainsi que les voies et moyens pour y faire face.

c. Mettre en place

Un dispositif de veille stratégique et de prospective sur la conservation des ressources forestières et les processus de désertification et développer un système intégré et durable pour assurer le suivi l'évaluation et la diffusion de l'information y afférente et sur les projets et programmes d'action.

## 1.2 Groupement

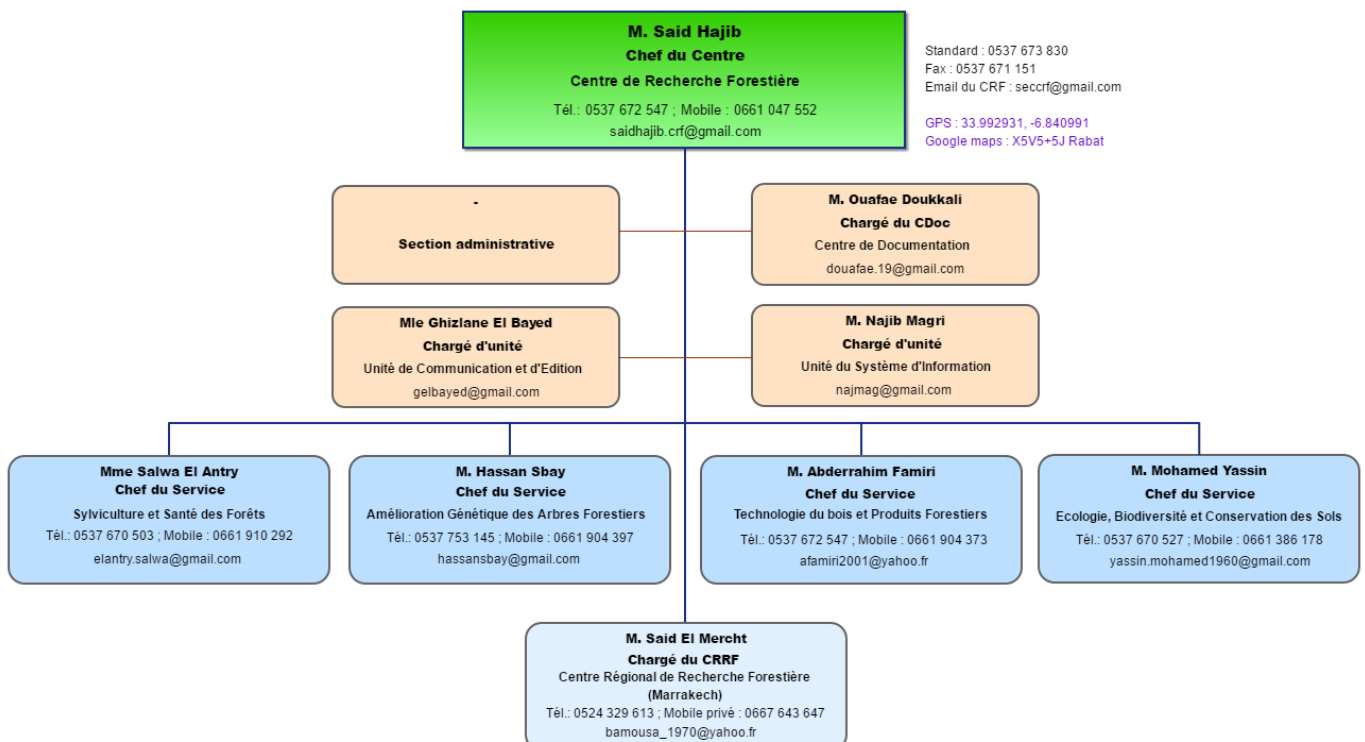
Le personnel du CRF s'élevait à 121 fonctionnaires en 2019 dont :

- 35 chercheurs (en constante régression),
- 10 techniciens.
- 17 supports techniques.
- 59 supports administratifs.

Le CRF dispose aussi d'un potentiel scientifique et technique constitué de :

- laboratoires,
- 2 stations hydrométriques,
- 40 stations climatiques automatiques accessibles par Internet (accès réservé),
- quelques pépinières d'expérimentation, et
- un centre de documentation.

### Organigramme du Centre de Recherche Forestière au Maroc



## 2 Huiles essentielles

Depuis les temps les plus reculés, le monde végétal offre les éléments nécessaires à la survie de l'espèce humaine. En effet, les plantes demeurent la principale source de principes actifs dont le rôle et l'utilisation sont très variés.

Les huiles essentielles, isolées à partir de plantes, constituent l'un des principes actifs des plus importants en raison de leurs multiples et diverses applications<sup>4</sup>.

### 2.1 Définition

Une huile essentielle est un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de composition<sup>5</sup>.

### 2.2 Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites « fixes ». Leur densité est en grande majorité inférieure à celle de l'eau. Pour autant quelques huiles essentielles font exception cette règle. C'est le cas du sassafras, du girofle et de la cannelle<sup>6</sup>. Elles sont huileuses, mais non grasses et s'évaporent facilement. Chaque huile essentielle est unique et se caractérise par une odeur, une couleur, une viscosité et des propriétés spécifiques. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée<sup>7</sup>. Elles sont solubles dans l'alcool et dans tout type de corps gras (liposolubles). Les huiles essentielles sont entraînables à la vapeur d'eau, mais très peu solubles dans l'eau. Pour autant une fraction des composants des huiles essentielles se solubilisent dans l'eau ce qui permet d'obtenir « les eaux florales » elles se composent de molécules à squelette carboné, entre 10 et 15 atomes de carbone en générale.

### 2.3 Méthodes d'extraction

L'extraction des huiles essentielles de la matière végétale peut être réalisée au moyen de nombreux et divers procédés :

- Entraînement à la vapeur d'eau
- L'hydrodistillation
- Expression à froid
- Solvants organiques

### 2.3.1 Entraînement à la vapeur d'eau

Cette méthode consiste à faire passer la vapeur d'eau à travers la matière végétale placée dans l'alambic, la vapeur provoque l'ouverture des cavités des plantes qui libèrent ainsi les molécules des huiles volatiles, la température doit être ajustée et contrôlée pour ne pas « brûler » l'élément végétal ni dénaturer l'huile essentielle. La vapeur qui contient l'huile essentielle est dirigée à travers un système de refroidissement (serpentin) ou elle se liquéfie, ce qui sépare de fait l'huile essentielle de l'eau. (Figure 1)

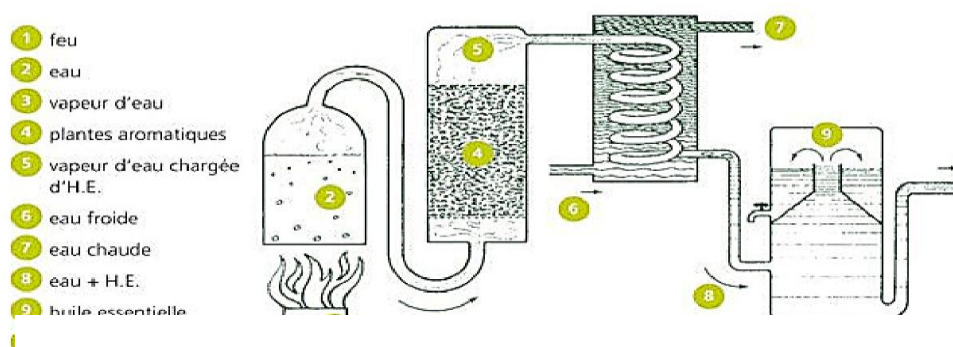


Figure 1 : principe schématisé de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau

### 2.3.2 Hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. Les composés volatils et semi-volatils sont entraînés par la vapeur d'eau, qui est ensuite condensée par un système de réfrigération à la fin on récupère l'huile essentielle et l'eau (l'huile flotte sur l'eau à cause de sa faible densité par rapport à l'eau) (Figure 2)

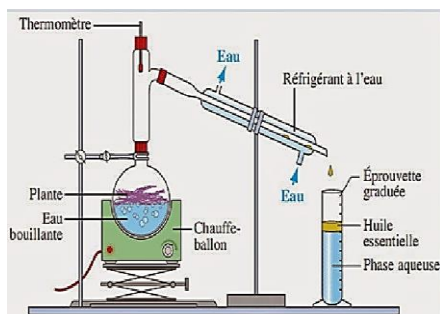


Figure 2 : dispositif d'hydrodistillation

### 2.3.3 Expression à froid

Cette technique est la plus simple pour recueillir les huiles essentielles, mais elle est aussi la plus limitée. Elle consiste à écraser par différents moyens les écorces des fruits de façon à faire éclater les poches situées à leur surface et renfermant l'huile essentielle.

### 2.3.4 Solvants organiques

Certaines huiles essentielles ont une densité voisine de l'eau et le procédé par distillation à la vapeur d'eau ne peut être que dans ce cas utilisé. Le principe consiste à faire macérer la plante dans le solvant afin de faire passer les substances odorantes dans le solvant.

- Solvants issus du pétrole : ce moyen met en œuvre des solvants organiques comme le pentane, l'hexane, l'heptane, ...il est réservé aux huiles essentielles ayant une densité voisine de celle de l'eau.
- Forane 113 : le forane 113( $\text{F}_2\text{CCl}-\text{CCl}_2\text{F}$ ) permet d'extraire un mélange d'huile essentielle lipidique en même temps, ce qui permet de valoriser doublement la plante.
- Dioxyde de carbone : dans l'extraction par le dioxyde de carbone liquide ou supercritique, un courant de  $\text{CO}_2$  à forte pression fait éclater les poches à essence. Cette méthode est meilleure que l'hydrodistillation en termes de coût, d'économie d'énergie, de rendement et de qualité du produit obtenu du fait que le dioxyde de carbone est incolore, inodore, inflammable et non toxique<sup>8</sup>.

## 2.4 Composition chimique

La composition chimique des essences est complexe et peut varier selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature du sol, les pratiques culturales et le mode d'extraction<sup>9</sup>. Les huiles essentielles sont un mélange de constituants qui appartiennent à trois catégories de composés : terpéniques, aromatiques et variés.

### 2.4.1 Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques. Ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute  $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$ . Les huiles essentielles contiennent particulièrement des monoterpènes, des sesquiterpènes et peu souvent de diterpènes<sup>10</sup>. Les terpènes sont des structures très diverses (acycliques, monocycliques, bicycliques, ...) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques.

## 2.4.2 Composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropane (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>). Ils sont moins fréquents que les terpènes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole, ... ils sont fréquemment rencontrés dans les huiles essentielles d'Apiaceae (anis, fenouil, persil, etc...) et sont caractéristiques de celles de la vanille, de l'estragon du clou de girofle,<sup>1</sup> ... Ils se distinguent entre eux par :

- Le nombre et la position des groupements hydroxyle et méthoxy ;
- La position de la double liaison de la chaîne latérale, allylique, ou propénylique ;
- Le degré d'oxydation de la chaîne aliphatique (alcool, aldéhyde, cétone ou acide...)

## 2.4.3 Composés d'origine variée

En général, les composés d'origine variée de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions. A titre indicatif, on peut citer :

- L'Heptane et la paraffine dans l'essence de camomille ;
- Des acides en C<sub>3</sub> et C<sub>10</sub> ;
- Des aldéhydes comme l'octanal et le décanal des citrus ;
- Des alcools comme le 1-oten-3-ol de l'essence de lavande ... ;
- Des esters acycliques présents surtout dans les fruits : acétate de butyle (pomme) ;

**Remarque :** Il convient de souligner que de nombreux et multiples facteurs influent sur le rendement et la composition chimique d'une huile essentielle comme l'origine géographique et botanique, les facteurs climatiques, la nature du sol, la localisation des sites producteurs, ... les pratiques culturales, le mode et les conditions d'extraction<sup>11</sup> ainsi que la conservation (séchage et stockage)<sup>12</sup>.

## 2.5 Rôle des huiles essentielles chez les plantes

L'existence des huiles essentielles dans les végétaux même si leur fonction n'est pas toujours précisément connue, répondait aux besoins d'une protection spécifique des espèces en fonction de leur environnement<sup>13</sup>.

- Les plantes étant immobiles, elles auraient développé les huiles essentielles pour constituer une défense chimique contre les micro-organismes. Elles repoussent les parasites et protègent la plante de certaines maladies grâce à leurs propriétés antifongiques, antivirales, antibactériennes ou insectifuges.



- Elles se défendent également contre les autres plantes. Par exemple, **Erica cinerea**, la bruyère cendrée diffuse des substances télétoxiques afin d'éviter la pousse d'autres végétaux à proximité. (Une lande de bruyère ne comporte aucune autre végétation).
- Elles attirent au contraire les insectes pollinisateurs (fleurs parfumées, fécondées par certains insectes butineurs) et permettent ainsi à la plante d'assurer sa reproduction.
- Elles remplissent une action de protection contre les brûlures solaires.
- Elles pourraient permettre aux plantes de communiquer entre elles. Par exemple, une plante attaquée par un herbivore pourrait envoyer des signaux d'alerte (substances volatiles comme hexénal ou l'ocimène) aux autres plantes du secteur, pour quelles déclenchent des mécanismes de défense.

## 2.6 Toxicité

Les huiles essentielles des substances puissantes et très actives. Elles représentent une source inépuisable de remèdes naturels. Néanmoins, il est important de souligner que l'automédication fréquente et abusive surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe par les essences est nocif. Elle engendre des effets secondaires plus ou moins néfastes dans l'organisme (allergies, coma, épilepsie, etc...) principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques)<sup>14</sup>.

L'accumulation des essences dans l'organisme par des prises répétées peut conduire à des nausées, des céphalées...l'ingestion de plus de 10 ml d'huile essentielle est neurotoxique et épiléptogène par inhibition de l'apport d'oxygène au niveau des tissus encéphaliques<sup>15</sup>.

*« Tout est poison, rien n'est poison, seule la dose compte »*, PARACELSE

## 2.7 Principaux domaines d'application

En raison de leurs diverses propriétés, les huiles essentielles sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie par leurs pouvoirs antiseptique, analgésique, antispasmodique, apéritif, antidiabétique, ... en alimentation, en parfumerie et en cosmétique par leur propriété odoriférante.

### 2.7.1 Aromathérapie

L'Aromathérapie est une forme de médecine alternative dans laquelle les huiles essentielles ont une grande importance car elles induisent de nombreux effets curatifs. Ainsi elles s'utilisent de plus en plus dans diverses spécialités médicales telles que : la podologie, l'acupuncture, la Masso-kinésithérapie, l'ostéopathie, la rhumatologie ainsi dans l'esthétique<sup>16</sup>.

### 2.7.2 Agro-alimentaire

En vertu de leurs propriétés antiseptiques et aromatisants, les huiles essentielles sont employées quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, thym, laurier...). Elles sont également très prisées en liquoristerie (boissons anisées, kummel) et en confiserie (bonbons, chocolat, ...). Leur pouvoir antioxydant leur permet de conserver les aliments en évitant les moisissures.

Exemple : utilisation de thym et de romarin pour la conservation du **smen**<sup>17</sup>.

### 2.7.3 Cosmétologie et parfumerie

Les huiles essentielles sont recherchées dans l'industrie des parfums et des cosmétiques en raison de leurs propriétés odoriférantes. L'industrie de la parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celle de **rose, jasmin, de violette, de verveine, ...** les huiles essentielles sont aussi consommées en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques : les dentifrices, les shampoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les savons etc<sup>18</sup>...

Les produits d'hygiène, détergents et lessives par exemple consomment eux aussi beaucoup d'huiles essentielles pour masquer les odeurs (souvent peu agréables) des produits purs.

### 2.7.4 Pharmacie

Les essences issues des plantes sont utilisées en grande partie dans la préparation d'infusion (menthe, thym, verveine, ...) et sous forme de préparations galéniques.

Exemple : **gastralgie** est un digestif antiacide qui se compose d'huile essentielle de carvi<sup>19</sup>.

De même, elles permettent par leurs propriétés aromatisants de masquer l'odeur désagréable de médicaments absorbés par voie orale.

## 2.8 Méthodes d'analyse

Une parfaite connaissance de la composition chimique des huiles essentielles est nécessaire afin de les caractériser, de mettre en évidence une éventuelle spécificité locale et d'en évaluer la qualité en vue d'une bonne commercialisation.

### 2.8.1 Chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse CPG est une méthode d'analyse qui s'applique aux composés susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition<sup>20</sup>. C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constitutions à partir d'échantillon de l'ordre du milligramme voire microgramme. Chaque constituant est caractérisé par des indices calculés à partir d'un gramme d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante (Indice de Kovats) ou en programmation de température

(Indice de Rétention). Les temps de rétention, bien que spécifiques d'un composé, ont tendance à varier d'une analyse à l'autre. Le produit analysé est introduit dans l'injecteur. Il est volatilisé et entraîné par un gaz vecteur ( $N_2$ ,  $H_2$ , He ou mélange de  $H_2/N_2$ ). Le mélange traverse une colonne où s'effectue une opération entre les différents constituants. A la suite ils sont captés par un détecteur. (Figure 3)

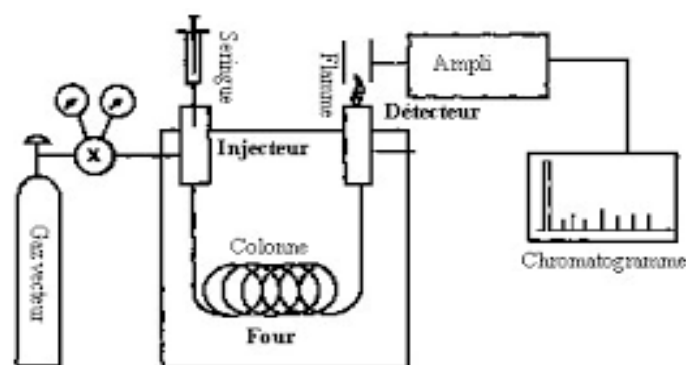


Figure 3 : Appareillage de chromatographie en phase gazeuse.

## 2.8.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse atomique CPG/MS

Le couplage CPG/MS permet une approche plus précise de nombreuses applications dans le secteur de l'agro-alimentaire et la technique de référence dans le domaine des huiles essentielles<sup>21</sup>. Il permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse de différents constituants d'un mélange complexe.

## 3 Lavandula stoechas

### 3.1 Monographie

La lavande est connue et récoltée depuis des siècles pour divers usages allant de la parfumerie à la médecine. Elle est également employée en herboristerie, en aromathérapie est considérée comme une plante médicinale pour l'action de son huile. Les vertus et applications des huiles essentielles de lavande sont décrites dans des ouvrages depuis l'antiquité et le moyen âge. Ces huiles essentielles sont utilisées dans l'industrie de la lessive et de la savonnerie, ainsi qu'en parfumerie. Les propriétés médicinales et le parfum des huiles essentielles de lavandes sont principalement attribués aux composés organiques volatils de la famille des terpènes. Ce sont les monoterpènes et les sesquiterpènes qui donnent à la lavande son parfum caractéristique<sup>22</sup> et à ces huiles leurs propriétés. La proportion des principaux terpènes dans les huiles essentielles est un critère d'évaluation de la qualité de ces huiles<sup>23</sup> et joue un rôle dans le choix de telle ou telle variété par l'herboriste ou l'industriel<sup>24</sup> (Figure4)



Figure 4 : *Lavandula Stoechas*

### 3.2 Classification

Règne : Plantes

Sous règne : plantes vasculaires

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotyledones

Sous classe : Dialypétales

Ordre : Lamiales (Labiales)

Famille : Lamiaceae

Genre : *Lavandula*

Espèces : *Lavandula stoechas*

## **Chapitre 2 : Matériels et méthodes**

## 1 Matériels

### 1.1 Matériel végétal

La collecte des échantillons de la partie aérienne (tiges, feuilles et fleurs) du *Lavandula stoechas* a été effectuée selon la norme AFNOR<sup>25</sup>. L'identification systématique de cette plante a été effectuée par les botanistes chercheurs au sein du Centre de Recherche Forestière à Rabat, Maroc (Figure 5)



Figure 5: *lavandula stoechas*

La récolte de l'échantillon de *Lavandula stoechas* au stade végétatif de floraison a été faite le mai 2021, à partir de la ville d'Azrou.

### 1.2 Appareils

La réalisation de l'extraction des huiles essentielles de ce travail a été faite par l'utilisation de l'appareil de l'hydrodistillation de type Clevenger. Ce dernier est composé par :

- Ballon 2000 mL
- Chauffe ballon
- Réfrigérant
- Circuit d'eau
- Condensateur Clevenger

## 2 Méthodes

### 2.1 Test d'humidité

On pèse à l'aide d'une balance bien étalonnée 20g de lavande, on répète cette opération trois fois, on met ces échantillons dans l'étuve (60°C). Après 72 heures (3jours) on fait sortir ces échantillons et on les pèse de nouveau. Et on calcule le pourcentage d'eau relâcher par la lavande par la relation suivante :(Figure 6) et (Figure7) :

$$H(\%) = \left[ \frac{mf - ms}{mf} \times 100 \right]$$

Avec :

$m_f$  : masse de la plante à l'état frais.

$m_s$  : masse de la plante à l'état sec.



*Figure 6: Balance du centre de recherche forestière (CRF)*



*Figure 7: L'étuve du centre de recherche forestière (CRF)*

## 2.2 Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger<sup>26</sup>. La méthode appliquée est celle décrite dans la Pharmacopée européenne en 2008<sup>27</sup> et selon les recommandations de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Les plantes fraîchement récoltées ont été séchées à l'ombre dans une chambre aérée, à température ambiante pendant une semaine. Trois distillations, de 100g de matériel végétal (lavande) avec un litre d'eau dans un ballon de 2 litres, surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur, reliée à un réfrigérant, ont été réalisées par ébullition pendant trois heures. L'huile essentielle surnage, elle est récupérée à l'aide d'une micropipette ou d'une pipette pasteur après l'arrêt de l'extraction. (Figure 8)



*Figure 8: dispositif d'extraction d'huile essentielle de type clevenger du centre de recherche forestière*

## 2.3 Rendement

Le rendement de l'huile essentielle de la plante est calculé par rapport à la matière totale sèche par la relation :



$$R(\%) = \left[ \frac{V}{ms} \times 100 \right]$$

Avec :

R (%) : rendement en huile essentielle (ml/g)

V : volume d'huile essentielle recueilli en ml

ms : masse végétale sèche

#### 2.4 Analyse chromatographique

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de pression de type Hewlett-Packard (série HP 6890), équipé d'une colonne capillaire HP-5 (5% phényl-méthyl-siloxane) ; (30m x 0,25mm, épaisseur du film : 0,25 µm). Détection est assurée par un détecteur à ionisation de flamme (FID) (250°C) alimenté par un mélange de gaz H<sub>2</sub>/Air. Le gaz vecteur utilisé est l'azote avec un débit de 1,7 ml/min. L'appareil est équipé d'un injecteur PVT (Température de Vaporisation Programmée) de type Split-splitless. Le mode d'injection est Split (fuite : 1/50, débit : 66 ml/min). Le volume injecté est de 1 µl. la programmation de température va de 50 à 200 °C, pendant 5 min, avec un gradient de 4 °C/min.

L'appareil est piloté par un système informatique de type "HP ChemStation" gérant le fonctionnement de l'appareil et permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques. (Figure 9)



Figure 9: Chromatographe en phase gazeuse du centre de recherche forestière

Le calcul des indices de Kovats est largement employé pour identifier les composés habituels des huiles essentielles. Des tables d'indices de Kovats spécifiques à chaque produit sont proposées dans la littérature. Ils ont été élaborés en utilisant des analyses sur différents types de colonnes. Ces indices de références sont comparés à ceux calculés à partir de nos échantillons (Kovats, 1965). Les indices de Kovats (IK) sont déterminés en injectant un mélange d'alcane de C9 à C24 dans les mêmes conditions opératoires que celles des huiles essentielles. Ils sont calculés à partir de la relation :

$$IK = \left[ \frac{TR_x - TR_n}{TR_{n+1} - TR_n} + n \right] \times 100$$

Avec :

$n$  : nombre d'atomes de carbone de l'alcane qui sort juste avant le composé A.

$(n+1)$  : nombre d'atomes de carbone de l'alcane qui sort juste après le composé A.

$TR_x$  : temps de rétention réduit du composé A.

$TR_n$  : temps de rétention réduit de l'alcane à  $(n)$  atomes de carbone qui sort juste avant le composé A.

$TR_{n+1}$  : temps de rétention réduit de l'alcane à  $(n+1)$  atomes de carbone qui sort juste après le composé A.

## **Chapitre 3 : Résultats et discussion**

# 1 Résultats

## 1.1 Taux d'humidité

Les résultats de l'humidité sont représentés dans le tableau suivant (Tableau1) :

Tableau 1: L'humidité de *L. Stoechas*

N° d'échantillon	1	2	3
Masse avant séchage à l'étuve 60°C	20g	20g	20g
Masse après séchage à l'étuve 60°C	9,17g	10,06g	9g
H%	54,15%	49,7%	55%

$$H(\%)_{moyenne} = \left( \frac{H1 + H2 + H3}{3} \right)$$

$$H(\%)_{moyenne} = \left( \frac{54,15 + 49,07 + 55}{3} \right)$$

$$H(\%)_{moyenne} = 52,95\%$$

## 1.2 Rendement en huile essentielle

L'extraction par hydrodistillation des feuilles de la plante étudiée a fourni une huile essentielle de couleur jaune claire avec une forte et persistante odeur. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant (Figure10) (Tableau 2) :

Tableau 2: Le rendement en huile essentielle de *L. Stoechas*

N° de distillation	1	2	3
Le volume obtenu d'huile essentielle en ml	2ml	2ml	2,3ml
Le rendement en %	4,25%	4,25%	4,88%

$$R(\%)_{moyen} = \left( \frac{R1 + R2 + R3}{3} \right)$$

$$R(\%)_{moyen} = \left( \frac{4,25 + 4,25 + 4,88}{3} \right)$$

$$R(\%)_{moyen} = 4,46\%$$

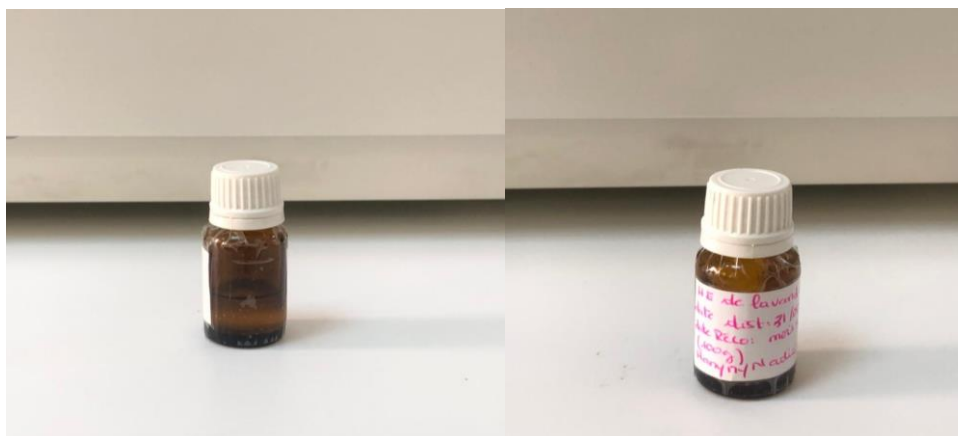


Figure 10: Huile essentielle de la lavande

### 1.3 Composition chimique

L'ensemble des techniques chromatographiques d'analyses décrites, à savoir la CPG-IK, nous a permis d'identifier les constituants contenus dans l'huile essentielle de la plante étudiée (*Lavandula stoechas*). Les résultats relatifs à la composition chimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* sont dressés dans le tableau suivant (Tableau 3) :

Tableau 3: La composition chimique d'huile essentielle de *L. Stoechas*

N°	IK	Composé	%
1	932	$\alpha$ -pinène	<b>8,42</b>
2	946	Camphène	7,07
3	1012	1,4-Cinéole	<b>9,11</b>
4	1094	Linalool	<b>11,55</b>
5	1142	Camphre	<b>44,55</b>
6	1174	Terpinen-4-ol	3,17
7	1631	(E)- Sesquilandulol	4,47
<b>Total</b>			<b>88,34%</b>

IK=Indice de Kovats ; \*=source d'identification (calcul des IK) ; (%) =Pourcentage.

## 2 Discussion

### 2.1 Test d'humidité

Les végétaux sont riches en eau, les analyses de notre échantillon ont révélé un taux d'humidité important correspond à environ (52,95 %). Cela signifie approximativement plus de la moitié du poids de la plante fraîche est constituée par l'eau et le reste du poids de la plante (47,05%) c'est la matière sèche.

Parallèlement **Bachiri et al. (2016)** au Maroc montre aussi le taux d'humidité de cette espèce est constituée plus de la moitié du poids frais (64 %). L'inversement de **Mohammedi (2006)** illustre le taux d'humidité de la plante fraîche de la région d'Oum el Alou de Tlemcen (Algérie) est constitué la moitié (52,5 %) du poids.

Plusieurs facteurs pourraient influencer la teneur en eau et en matière sèche des plantes comme la nature des fibres, l'âge des plantes, l'état du sol et la durée de conservation du végétal après récolte (**Bachiri et al. 2016**).

### 2.2 Extraction des huiles essentielles

L'extraction par hydrodistillation conventionnelle des parties aériennes fleuries de *L. stoechas* ont été optimisées puis réalisées dans des conditions opératoires strictement identiques sur une population algérienne sauvage.

Cette population étudiée est présentée un rendement important 4,46% par rapport aux résultats obtenus par **Ben Abdelkader (2012)** indiquent que les fleurs sèches de la lavande provenant de six wilayas

d'Algérie (Skikda, Jijel, Boumerdes, Médéa, Ain Defla, Chlef et trois régions presque de la même localité de wilaya de Bouira (Lakhdaria, Ain Bessam, Taguedit)) présentent des teneurs en HES respectivement (0,71% ; 0,79% ; 1,16% ; 0,34% ; 0,36% ; 0,52% ; 0,52 % ; 1,63% ; 0,6%).

Même si toutes ces études indiquent une forte variabilité dans la teneur en HES de populations sauvages de *L. stoechas*, elles sont toutes d'accord pour dire que cette espèce, comme quelques autres espèces de lavande est riche en HES et permet de la considérer comme une plante aromatique (**Lis-Balchin, 2002**).

Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs : l'organe de la plante (**Vekiari et Protopapadakis, 2002**) notamment le degré de maturité des fleurs, l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol), le génotype, l'origine géographique de la plante, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (**Svoboda et Hampson, 1999 ; Smallfield, 2001**), le moment de la récolte et la méthode d'extraction (**Botton, 1990**). Plusieurs travaux aussi relatifs au séchage des plantes aromatiques et médicinales indiquent des modifications considérables, particulièrement sur le plan quantitatif au niveau des HES. Or, une plante si elle n'est pas séchée dans de bonnes conditions, elle risque de se dégrader et par suite, la perte de la totalité de ses HES (**Aghfir et al., 2007**).

### 2.3 Analyse chromatographique

Ces résultats montrent que les huiles essentielles de *Lavandula stoechas* de région azrou comprennent 7 composés qui représentent un total de 88,34 %. Les composés majoritaires sont le camphre (44,55%), le Linalool (11,55%), le 1,4-Cinéole (9,11%) et l' $\alpha$ -pinène (8,42%). On note aussi la présence d'autres composés avec des pourcentages plus faibles tels que le Terpinen-4-ol (3,17%), le (E)-Sesquilavandulol (4,47%). Cependant l'huile essentielle de *L. stoechas* de la Turquie a un composé dominant qui est la pulegone (40,37%), suivie du menthol (18,06%) et menthone (12,57%) (**Gören et al, 2002**).

L'espèce *Lavandula stoechas* est une plante médicinale active, sa composition chimique est complètement différente des autres lavandes. Dans la même espèce, le contenu biochimique de l'HE trouvé dans les fleurs, la tige ou feuilles diffère d'une manière significative selon les conditions de développement de la plante. La présence et la concentration de certains constituants chimiques fluctuent également selon la saison et la maturation de la plante (**Chu et Kemper, 2001**).

## CONCLUSION GENERALE

Dans la nature il existe des ressources insoupçonnées et qui seront dans plusieurs domaines les solutions de demain, et c'est l'affaire de tous de les préserver et de les valoriser. Parmi ces ressources figurent les plantes aromatiques et médicinales qui sont connues depuis l'antiquité pour leurs vertus thérapeutiques. Ces plantes représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs. De manière générale, si l'on veut apprécier correctement l'intérêt d'une plante, il convient de prendre toujours en compte la totalité des produits qu'elle fournit. Parmi ces produits, on peut citer les huiles essentielles. La qualité de ces huiles sa comparaison avec les résultats obtenus par la littérature. C'est dans ce contexte que cette étude a été réalisée tout en insistant sur la valorisation du patrimoine naturel marocain, qui possède une diversité végétale très importante en plantes aromatiques et médicinales. Dans ce travail nous nous sommes intéressés à déterminer le rendement en huile essentielle de *lavandula stoechas* de la région d'Azrou ainsi que la qualité chimique de cette essence. Notre étude nous a permis de déterminer le rendement en huile essentielle de la lavande (4,46%). Nous avons également déterminé la composition chimique d'huile étudiée en se basant sur les résultats des analyses chromatographiques par la CPG. Ces résultats ont montré que les principaux constituants de cette huile sont le camphre (44,55%), le Linalool (11,55%), le 1,4-cinéole (9,11%) et l' $\alpha$ -pinène (8,42%). On note aussi la présence d'autres composés avec des pourcentages plus faible tels que le terpinen-4-ol (3,17%), le (e)-Sesquilandulol (4,47%).

Par rapport à cette étude, qui contribue à la valorisation des plantes aromatiques et médicinales qui ont plus d'intérêt socio-économique du Maroc, la perspective à apporter sera orientée vers l'exploitation des huiles essentielles dans les domaines alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques afin de remplacer les produits chimiques qui constituent un danger pour la santé humaine. Ceci nous oblige à élargir cette étude sur d'autres espèces et sur d'autres plantes aromatiques et médicinales marocaines.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- <sup>1</sup> Bruneton, J. « Pharmacognosie », Plantes médicinales, Ed. Lavoisier, Techniques et Documentation, Paris 1999, 405 ; b) Da Cruz-Cabral, L. ; Fernandez-Pinto, V. ; Patriarca, A. Int J Food Microbiol. 2013, 166, 1-14.
- <sup>2</sup> Lafon, J.P ; Thorand Prager, C. et Levy, G. « biochimie structurale » Biologie des plantes cultivées. Tome 1. Lavoisier. TEC. & DOC. 1988 ; b) Sallé, J.L. « Le totum en phytothérapie » Approche de phytothérapie. Ed Frison-Roche. Paris 1991.
- <sup>3</sup> Farnsworth, N.R. ; Akerele, O. ; Bingel, A.S. ; Soejarto, D.D. ; Guo, Z. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé 1986 ,64(2), 159-175 ; b) Roux, D. ; Catier, O. « Botanique, pharmacognosie, phytothérapie » ,3ème Ed. Porphyre 2007, 13.
- <sup>4</sup> El Abed, D. et Kambouche, N. « Les huiles essentielles », Edition Dar El Gharb, 2003.
- <sup>5</sup> BRUNETON J. Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales - (5° Edition). Lavoisier ; 2016.
- <sup>6</sup> BRUNETON J. Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales - (5° Edition). Lavoisier ; 2016.
- <sup>7</sup> Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles -ANSM- [Internet]. [Cité 2 oct. 2017]. Disponible sur : [http://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/657257784ff10b16654e1ac94b60e3fb.pdf](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/657257784ff10b16654e1ac94b60e3fb.pdf)
- <sup>8</sup> a) Pellerin, P. Perfume, Flavor, 1991,16, (07-08), 37 ; b) Richard, H. et Loo, A. « La fabrication des extraits : extraction par le dioxyde de carbone, in Epices et Aromates », (Richard, H., Coordonnateur), Tec. Et Doc, Lavoisier, Paris, 1992,139 ; c) Illés, Daood, H.G ; Pernecki, S. ; Sokonya, L. et Then, M. Journal of supercritical Fluids, 2000, 17,177.
- <sup>9</sup> Guignard, J.L. « Biochimie végétale », Masson, Paris, 2000,166
- <sup>10</sup> Finar, I.L. « Organic Chemistry», Ed. Longman Scientific et Technical 1994, Vol. II, 354.
- <sup>11</sup> Guignard, J.L. « Biochimie végétale », Masson, Paris, 2000,166
- <sup>12</sup> Seu-Saberno, M., Blakeway, J. « La mousse de chêne, une base de la parfumerie », Pour la science, Edition Française de Scientific American, 1984, Mai, 83.
- <sup>13</sup> COUIC-MARINIER F. Huiles essentielles : l'essentiel - Conseils pratiques en Aromathérapie pour toute la famille au quotidien. 2013
- <sup>14</sup> Degryse, A.C. ; Delpla, I. Voinier, M.A. « Atelier Santé Environnement, Risques et bénéfices des huiles essentielles », IGS.EHESP.2008.

- <sup>15</sup> Baudoux, D. « *Aroma News* », Lettre d'information de N.A.R.D. : Naturel Aromathrapy Research and Development, Belgique, 1997.
- <sup>16</sup> Sallé, J.L. « Les huiles essentielles ; synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie », Edition Frison-Roche, Paris, 1991,21.
- <sup>17</sup> a) Teissedre, P.L.; Waterhouse, A.L.J. *Agric. Food Chem.*2000,48,3801-3805; b) Ismaili Alaoui, M.et Bendjilali, B.1er Séminaire Magrebin sur les plantes aromatiques, Tlemcen le 29-31Mai, 1999; c) Latloui N.et Tantaoui-Elaraki, A.J. *Essent. Oil Res.* 1994, 165.
- <sup>18</sup> Seu-Saberno, M., Blakeway, J. « La mousse de chêne, une base de la parfumerie », Pour la science, Edition Française de Scientific American, 1984, Mai, 83.
- <sup>19</sup> Pharmacie Européenne, 3ième Ed.1999, 103-130
- <sup>20</sup> Arpino, P. ; Prévôt, A. ; serpinet, J ; Tranchant. ; Vergnol, A, Witier, P. « Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse », Masson, Paris 1995.
- <sup>21</sup> Constantin, E. « spectrométrie de masse », Lavoisier Tec & Doc, Pris 1996,1-14
- <sup>22</sup> Blanch G. P. et al. (2005) "Enantiomeric composition studies in *Lavandula* species using supercritical fluids." *Journal of Separation Science* 28(17): 2333-2338.
- <sup>23</sup> AFNOR (1996). *Huiles essentielles, recueil de normes françaises*, AFNOR, Paris La Défense, France.
- <sup>24</sup> Grayer R. J., G. C. Kite, et al. (1996). "Infraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*." *Phytochemistry* 43(5) : 1033-1039.
- <sup>25</sup> AFNOR (2000) *Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse (Tome1) – Monographies relatives aux huiles essentielles (Tome 2. Volumes 1 et 2) mars.*
- <sup>26</sup> Clevenger J.F (1928) Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Am. Pharm. Assoc*, 17 : 341-
- <sup>27</sup> Pharmacopée européenne (2008) *Huiles essentielles. Aetherolea (01) : 2098*