



Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. par la méthodologie de surface de réponse

Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. by response surface methodology

M. Fadil^{1,2*}, A. Farah², B. Ihssane³, T. Haloui^{1,2}, S. Rachiq¹

¹Laboratory of Functional Ecology and Environment, Faculty of Sciences and Techniques Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez, Morocco

²Laboratory of Medicinal, Aromatic Plants and Natural Substances, National Institute of Medicinal and Aromatic Plants Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Taounate, Morocco,

³Application Organic Chemistry Laboratory, Faculty of Sciences and Techniques Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez, Morocco,

Received 20 Mar 2015, Revised 25 Jul 2015, Accepted 25 Jul 2015

*Corresponding author: E-mail: fadil.mouhcine@gmail.com ; Tel: (+212663249345)

Résumé

Dans le but de l'optimisation des facteurs qui agissent sur l'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. par hydrodistillation, une étude par plan surface de réponse de type composite centrée a été menée. Après un choix approprié de quatre variables, 27 expériences ont conduit à un modèle mathématique du second degré reliant la réponse (rendement en huiles essentielles) aux facteurs et permettant une bonne maîtrise du processus d'extraction. Après la réalisation des essais et l'analyse des données, l'étude a permis la connaissance des conditions optimales nécessaires pour l'obtention d'un meilleur rendement en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. Ces conditions opératoires sont : un temps d'hydrodistillation de 210 min, un séchage d'environ 8 jours, un rapport Eau/Matière végétale d'environ 10,5 (x 100ml/100g) et une température de chauffage de 250°C. Notre étude a prouvé la grande efficacité d'appliquer la méthodologie des plans d'expériences pour l'optimisation des paramètres opérationnels affectant l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis*. Il s'agit d'un moyen pertinent et économique qui permet d'obtenir le maximum d'informations dans une courte durée et surtout avec un minimum d'expériences.

Mots clés: Optimisation, *Rosmarinus officinalis* L., hydrodistillation, rendement en huile essentielle, plan de surface de réponse.

Abstract

In order to optimize the factors affecting the extraction of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil by hydrodistillation, a study by response surface design type central composite was conducted. After an appropriate choice of four variables, 27 experiments led to a mathematical second degree model relating the response function (yield) to factors and allowing a good control of the extraction process. Later than the realization of the experiments and data analysis, the study has allowed the knowledge of the optimal conditions necessary to obtain a better essential oil yield. These operating conditions are: an hydrodistillation time of 210 min, a drying for about 8 days, a water/plant material ratio of approximately 10,5 (x 100ml/100g) and a heating temperature of 250°C. Our study proved the great efficiency to applying the experiments design methodology for optimizing the operational parameters affecting the hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis*. It is about a relevant and economical way which allows to obtain the maximum of information in a short time and, especially, with a minimum of experiments.

Keywords: Optimisation, *Rosmarinus officinalis* L., hydrodistillation, essential oil yield, response surface design.

1 Introduction

Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., est une herbe médicinale largement utilisée à travers le monde. Elle est, sans doute, l'une des plantes les plus populaires au Maroc, et se présente en une seule espèce avec de très nombreux chémotypes [1].

Le romarin renferme une huile essentielle à laquelle il doit ses propriétés intéressantes. Cette huile est antiasthmatique, anti-dysentérique, anti-inflammatoire, antinévralgique, antirhumatismale, antiseptique, antispasmodique, anti-vertigineuse, anxiolytique, bronchodilatatrice, diurétique, gastroprocinétique [2] et aussi un antioxydant fort [3]. De ce fait, l'amélioration du rendement en huile essentielle devient une nécessité primordiale. Ainsi, l'application des techniques statistiques telles que les plans d'expériences rend cette amélioration de plus en plus possible. Ces méthodes qui permettent l'expérimentation dans un nombre minimal d'expériences [4] donnent aussi la possibilité du criblage des facteurs, du plus influent au moins influent, et l'optimisation des conditions opératoires afin d'avoir le résultat souhaité.

L'utilisation des plans d'expériences dans l'optimisation du processus d'hydrodistillation a été évoquée par plusieurs auteurs. Certains ont utilisé d'autres types de plans tels que les plans factoriels complets [5-7] et d'autres sont passés directement à l'optimisation en se servant des plans surface de réponse [8-10].

Ce travail vient comme suite de l'étude réalisée sur le criblage des facteurs qui influent le rendement en huile essentielles de *Rosmarinus officinalis* obtenus par hydrodistillation [11]. Cette étude a permis de dégager un ensemble de facteurs jugés influents sur la réponse étudiée. Dans cet article, nous avons pu réaliser une optimisation de ces facteurs jugés influents sur l'opération d'hydrodistillation *Rosmarinus officinalis* L. en nous servant des plans d'expériences d'optimisation du type surface de réponse. Puisqu'il s'agit d'une optimisation et non pas d'une étude de l'effet de chaque facteur, les plans de surface de réponse sont mieux recommandés pour optimiser les variables opérationnelles [12].

2 Matériel et méthodes

2.1 Matériel végétal

Les plantes de *Rosmarinus officinalis* L. ont été cueillies du jardin de l'institut national des plantes médicinales et aromatiques de Taounat pendant le mois de juin. D'après les résultats obtenus [11], le moment de récolte a montré un effet significatif sur le rendement et la meilleure période d'exploitation est celle qui se déroule en mois de juin.

2.2 Matériel d'extraction

L'appareil utilisé pour l'hydrodistillation est de type Clevenger [13]. Il est constitué d'un chauffe ballon, un ballon de 1L, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre qui reçoit les extraits de la distillation. L'huile essentielle obtenue est conservée au réfrigérateur dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement à 4 °C et à l'ombre.

2.3 Analyses par CPG/SM

Les analyses chromatographiques ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de pression de type Trace GC ULTRA couplé à un spectromètre de masse de type (Polaris Q MS à trappe ionique). L'appareil de chromatographie en phase gazeuse est équipé d'une colonne de type VB-5 (Methylpolysiloxane à 5% phenyl), 30 m * 0,25 mm * 0,25 µm. Le gaz utilisé est l'Hélium avec un débit de 1,4 mL/min. Les échantillons sont injectés en split mode, la température d'injection est de 220°C. Le volume injecté est de 1 µL. La température initiale est égale à 40°C pendant 2 min. La température de la colonne augmente de 40°C à 180°C à raison d'une montée de 4 °C.min⁻¹ et de 180°C à 300°C à raison de 20 °C.min⁻¹. La température finale est maintenue pendant 2 min. L'appareil de spectrométrie de masse fonctionne sous les conditions suivantes: la fragmentation a été effectuée par impact électronique sous un champ de 70 eV. La température de la source d'ionisation est égale à 200°C.

2.4 Les plans de surface de réponse

Les plans d'expériences sont des techniques qui permettent de quantifier les effets de divers facteurs sur une réponse et de les optimiser dans des domaines expérimentaux bien déterminés. On organise une suite d'essais consistant à manipuler les facteurs afin de décrire la méthode permettant d'obtenir la réponse optimale [14]. La méthodologie de surface de réponse fait partie des plans d'expériences utilisés pour l'optimisation. C'est une modélisation empirique technique consacrée à l'évaluation de la relation d'un ensemble de facteurs expérimentaux contrôlés et observés avec les résultats [15].

Parmi les trois types de plans de surface de réponse couramment utilisés à savoir les plans de Box-Behnken, les plans de Doehlert et les plans composites centrés, nous avons choisis le troisième type. Les plans composites se prêtent bien au déroulement séquentiel d'une étude. En effet, ces plans nous donnent la possibilité de commencer l'étude avec un nombre minime d'expériences. Ensuite, si le modèle est validé l'étude s'achève le plus souvent sinon, nous avons la possibilité d'ajouter d'autres expériences sans perdre les résultats des essais réalisés précédemment. Les essais supplémentaires permettent d'établir un modèle du second degré [16].

Les essais supplémentaires sont représentés par des points d'expériences situés sur les axes de coordonnées et par de nouveaux points centraux. Les points situés sur les axes de coordonnées sont appelés les points en étoile. Les plans composites présentent donc trois parties :

- le plan factoriel : c'est un plan factoriel complet ou fractionnaire à deux niveaux par facteurs. Les points expérimentaux sont aux sommets du domaine d'étude ;
- le plan en étoile : les points du plan en étoile sont sur les axes et ils sont, en général, tous situés à la même distance du centre du domaine d'étude ;
- les points au centre du domaine d'étude. On prévoit toujours des points expérimentaux situés au centre du domaine d'étude, et cela aussi bien pour les plans factoriels que pour les plans en étoile.

2.5 Domaines expérimentaux des facteurs

L'étude d'optimisation a été menée sur les facteurs jugés influents par l'étude de criblage menée par Fadil et al. [11] à savoir le temps de l'hydrodistillation, la durée de séchage, le rapport Eau/Matière végétale et la température de chauffage.

Les quatre facteurs jugés susceptibles d'affecter l'opération d'hydrodistillation sont tous des facteurs continus ou quantitatifs, c'est à dire des facteurs dont on peut maîtriser le réglage, et qui peuvent adopter toutes les valeurs numériques réelles dans l'intervalle choisi. Ainsi, nous avons les facteurs et leurs domaines de variation comme suit:

- le temps de l'opération d'hydrodistillation compris entre 150 min et 210 min avec un pas de variation égal à 30. Le choix de ce domaine expérimental est basé sur les données de littératures précédentes [6, 11].
- la température de chauffage qui est directement liée au flux de vapeur sortant du ballon chauffé donc au débit de condensation. Afin de tester ce paramètre, deux températures de chauffage sont utilisées 250°C et 350°C, avec un pas de variation égal à 50°C. Ce domaine expérimental a été choisi pour garantir un système d'extraction solide-liquide efficace et stable. En effet un chauffage à une température inférieure à 250°C augmente la durée d'atteinte de l'ébullition d'où l'augmentation du temps de traitement. Cependant, l'atteinte d'une température qui dépasse 350°C provoque le refus de l'eau dans le tube de dégagement latérale qui relie le ballon avec la colonne de distillation.
- le rapport entre l'eau et la matière végétale dans le ballon de distillation : ce facteur varie entre 4/1=4 et 12/1=12 (x 100ml/100g) avec un pas de variation égal à 4. Un rapport eau/matière végétale inférieur à 4 provoque la brulure des feuilles sur les parois du ballon, alors qu'un rapport qui dépasse 12 entraîne un refus de l'eau dans le tube de dégagement latérale qui relie le ballon avec la colonne de distillation.
- la durée de séchage est comprise entre 0 jour (Traitement de la plante à l'état frais juste après sa récolte) et 14 jours de séchage à l'ombre dans une salle, dont la température, est fixée à 25°C. Le pas de variation est à 7 jours aussi. La durée de séchage choisie a été reliée aux données bibliographiques [11, 17, 18] qui indiquent une durée de deux semaines pour le suivi du rendement en fonction des jours de séchage.

Le tableau 1 montre les trois facteurs qui ont été étudiés simultanément afin de quantifier l'effet de chacun d'entre eux sur l'opération d'hydrodistillation.

Tableau 1: Les domaines expérimentaux des facteurs étudiés dans l'optimisation de l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis*.

Facteur réel	Symbole	Unité	Niveau	Centre	Niveau
Temps de l'hydrodistillation	X ₁	min	150	180	210
Durée de séchage	X ₂	Jours	0	7	14
Rapport Eau/Matière végétale	X ₃	(x 100ml/100g)	4	8	12
T° de chauffage	X ₄	°C	250	300	350

2.6 Réponse étudiée

La réponse étudiée est le rendement en huile essentielle qui se traduit par l'expression :

$$R_{HE}(\%) = \frac{M_{HE}}{M_S} \times 100$$

Avec : R_{HE} est le rendement en huile essentielle (%), M_{HE} la masse de l'huile essentielle (g) et M_S : est la masse de la matière végétale sèche (g).

2.7 Matrice d'expériences

Le plan d'expérimentation est basé sur un plan composite centré pour 4 facteurs X_1 , X_2 , X_3 et X_4 et constitué de 27 essais répartis en 16 points factoriels, 8 points en étoile et 3 répétitions au centre afin de déterminer l'erreur pure.

2.8 Modèle mathématique

Le modèle mathématique postulé est un polynôme d'ordre 2 tel que l'équation :

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{44} X_4^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{34} X_3 X_4 + \varepsilon$$

Avec:

Y est le rendement en huile essentielle (réponse).

β_0 représente la valeur moyenne théorique de la réponse.

β_1 , β_2 , β_3 , β_4 sont les coefficients des termes linéaires.

β_{11} , β_{22} , β_{33} , β_{44} sont les coefficients des termes quadratiques.

β_{12} , β_{13} , β_{23} , β_{14} , β_{24} , β_{34} sont les coefficients des termes d'interactions.

ε : Le terme d'erreur.

2.9 Analyse statistique et optimisation

2.9.1 Analyse de la variance

Les carrés moyens (CM) sont obtenus comme suit :

$$CM = SCE / ddl$$

Le rapport entre le carré moyen dû à la régression (CM_R) et le carré moyen résiduel (CM_r), $F_{ratio (R/r)}$, a été utilisé afin de vérifier si le modèle était statistiquement significatif [6].

La valeur $F_{ratio (R/r)}$ explique de façon adéquate la variation des données autour de leur valeur moyenne, en plus, elle atteste si l'effet principal est significatif [19, 20].

Aussi, le rapport entre le carré moyen dû au défaut d'ajustement CM_{DA} et le carré moyen dû à l'erreur pure CM_{EP} , $F_{ratio(DA/EP)}$ est utilisé pour évaluer si le modèle est bien ajusté aux observations. Des valeurs élevées de ce rapport indiquent un défaut d'ajustement [21].

En plus de l'analyse de la variance, nous allons avoir recours à d'autres outils à savoir le coefficient de détermination R^2 et les effets des facteurs. Pour ces derniers, la signification statistique a été déterminée en utilisant le test t-student. Les coefficients du modèle vont être considérés significatifs pour des valeurs de p-value < 0,05.

2.9.2 Étude de l'optimisation

Pour une meilleure optimisation, nous allons nous servir des outils de l'étude de l'optimisation que le logiciel de traitement JMP [22] met à notre disposition. Or, pour la recherche des zones de compromis entre les facteurs qui engendrent les réglages menant à la réponse souhaitée, nous utilisons les courbes d'isoreponses. La finalité de cet outil est d'obtenir des courbes de surface qui traduisent les variations de notre réponse [23]. Après la détermination du modèle et la vérification de sa validité, les courbes d'isoreponses peuvent être tracées à l'intérieur du domaine expérimental. Ces courbes représentent des plans pour surfaces de réponse, c'est-à-dire la représentation graphique des résultats (modèle estimé) pour pouvoir en tirer des optimums.

Ensuite, pour chercher le réglage optimal exact avec un certain pourcentage de compromis, nous utilisons la fonction « Désirabilité ». Cette fonction qui permet de donner un réglage optimal exact varie entre 0 et 1. En effet, la valeur 0 est

attribuée lorsque les facteurs conduisent à une réponse inacceptable (non désirable) et celle de 1 lorsque la réponse représente la performance maximale désirée pour les facteurs considérés [24].

3 Résultats et discussions

3.1 Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

A partir des analyses de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* réalisées par CPG/MS, nous avons pu déterminer 98,9% des composés chimiques qui constituent cette huile (tableau 2), le chromatogramme de cette analyse est illustré dans la figure 1.

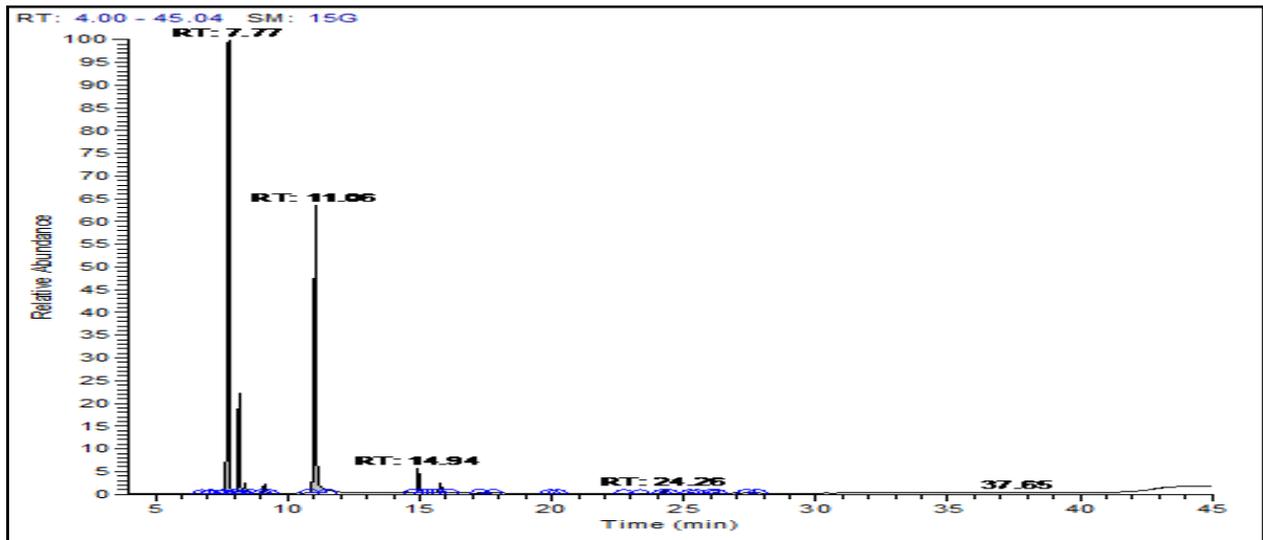


Figure 1: Chromatogramme de l'analyse de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Tableau 2: Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Temps de rétention	Indice de Kovats	Composé	%
7.34	916	Tricyclène	0,39
7.77	929	α -Pinène	48,88
8.18	940	Camphène	8,69
8.39	946	2,4-thujadiène	1,41
9.13	967	Sabinène	1,02
11.06	1021	1,8-Cinéole	33,6
14.94	1146	Camphre	2,58
15.78	1169	Borneol	1,42
20.04	1278	Bornyl acetate	0,12
22.96	1362	α -Copaène	0,26
24.26	1398	Caryophyllène	0,4
25.33	1437	Humulène	0,21
26.11	1465	γ -Murolène	0,12
27.52	1514	β -Himachalène	0,28
Total			99,38

Ces résultats montrent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est composée essentiellement de : l' α -pinène (48,88 %), le 1,8 cinéole (33,6 %), le camphène (8,69 %). Cette composition est en désaccord avec les résultats de Pintore et al. [25] qui disent que le romarin marocain est marqué par une prédominance du 1,8

cinéole qui peut dépasser 40% et Zaouali et al. [26] qui ont noté l'existence du 1,8 céniole (40%), α -pinène (10,3%) et camphène (6,3%) pour cette espèce.

3.2 Plan d'expérimentation

Le plan d'expérimentation comprenant les différentes combinaisons des quatre facteurs étudiés avec les valeurs des réponses observées est répertorié dans le tableau 3. Les essais ont été réalisés après randomisation.

Tableau 3 : Plan d'expérimentation de l'optimisation du processus d'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* avec les réponses enregistrées pour chaque essai

N° de l'essai	Ordre des expériences	Temps de l'hydrodistillation (min)	Durée de séchage (Jours)	Rapport Eau/Matière (x100 ml/100g)	Température de chauffage (°C)	R _{HE} (%)
1	22	150	0	4	250	1,21
2	5	210	0	4	250	1,78
3	11	150	14	4	250	1,35
4	18	210	14	4	250	2,10
5	19	150	0	12	250	1,45
6	9	210	0	12	250	2,14
7	20	150	14	12	250	1,36
8	17	210	14	12	250	2,24
9	10	150	0	4	350	1,15
10	1	210	0	4	350	1,86
11	12	150	14	4	350	1,30
12	2	210	14	4	350	1,88
13	20	150	0	12	350	1,38
14	24	210	0	12	350	1,91
15	13	150	14	12	350	1,31
16	6	210	14	12	350	1,89
17	15	150	7	8	300	1,54
18	3	210	7	8	300	2,25
19	26	180	0	8	300	1,45
20	8	180	14	8	300	1,49
21	23	180	7	4	300	1,56
22	14	180	7	12	300	1,64
23	21	180	7	8	250	1,58
24	27	180	7	8	350	1,46
25	16	180	7	8	300	1,71
26	4	180	7	8	300	1,71
27	7	180	7	8	300	1,74

3.1 Validation statistique du modèle postulé

Les résultats affichés dans le tableau de l'analyse de la variance (Tableau 4) indiquent que l'effet principal de la régression est significatif puisque la probabilité de la signification du risque *p-value* est inférieure à 0,05. Bien évidemment, le calcul de $F_{\text{Ratio}(R/r)}$ (50,63) a montré qu'il est 19 fois supérieur à la valeur de $F_{(0,05;14,12)}$ au niveau de confiance de 95% qui est égale à 2,63. Comme règle pratique, le modèle est statistiquement significatif si la valeur de F calculée est au moins de trois à cinq fois plus grande que la valeur théorique [27].

En contrepartie, la somme des carrés due aux résidus a été décomposée en somme de deux variabilités: la première est due au manque d'ajustement, la deuxième est due à l'erreur pure. Il s'agit d'une technique permettant d'affiner l'analyse de la variance, utilisable dès lors qu'au moins une expérience a été répétée, et

permettant de tester l'hypothèse H_1 : « le modèle n'est pas bien ajusté en moyenne ». D'après le tableau 4, le modèle ne présente pas un manque d'ajustement puisque la probabilité de la signification du risque (p -value=0,071) est supérieure à 0,05. Nous allons donc garder l'hypothèse H_0 qui dit que le modèle est bien ajusté.

Le coefficient de détermination $R^2=98,33\%$ est suffisant. Cette valeur donne une bonne compatibilité entre les valeurs expérimentales et prévues du modèle adapté.

Le graphe (figure 2) confirme que la courbe des valeurs observées en fonction des valeurs prévues a parfaitement l'allure d'une droite.

Tableau 4. Analyse de la variance pour le modèle postulé

Source de variance	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F	p -value
Régression	14	2,428	0,173	50,63	<0,0001
Résidus	12	0,0411	0,0035		
Total	26	2,469			
Défaut d'ajustement	10	0,040	0,004	13,5	0,071
Erreur pure	2	0,0006	0,0003		
R^2	98,33%				

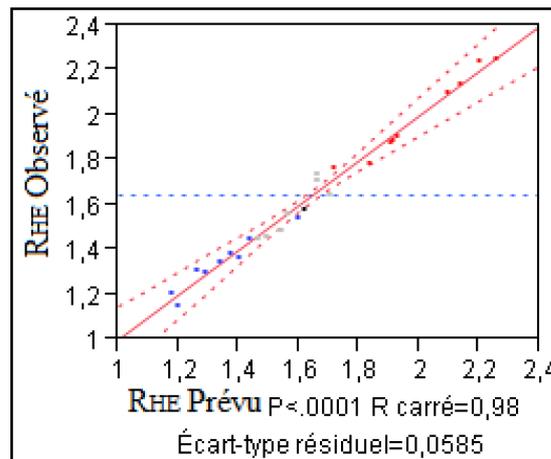


Figure 2 : Courbe des valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour le rendement en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

3.2 Effets des facteurs

3.4.1 Estimation des coefficients

Les effets de tous les facteurs étudiés ainsi que les valeurs statistiques de t-student et la probabilité observée (p -value) sont regroupés dans le tableau 5. Les valeurs de t-student sont employées pour déterminer la signification des coefficients de chaque paramètre, alors que les valeurs de p sont définies comme plus petit niveau d'importance menant au rejet de l'hypothèse H_0 ($b_i=0$, $\alpha=0,05$). En général, plus la grandeur de t est élevée, plus p value est petit, et plus le terme correspondant de coefficient est significatif. D'après ce tableau, les coefficients statistiquement significatifs sont :

- la constante b_0 ;
- les termes linéaires b_1 , b_2 , b_3 , et b_4 ;
- les termes quadratiques b_{11} , b_{22} , b_{44} ;
- les termes d'interaction b_{23} , b_{14} ;

Ces facteurs ont tous des valeurs de p -value inférieures à 0,05.

Tableau 5 : Effets des coefficients du modèle qui relie la réponse aux facteurs

Terme	Coefficient	Estimation	Écart-type	t-student	p-value
Constante	b ₀	1,658	0,022	76,87	<0,0001***
Temps de l'hydrodistillation	b ₁	0,328	0,014	23,8	<0,0001***
Durée de séchage	b ₂	0,038	0,014	2,74	0,018*
Rapport Eau/Matière végétale	b ₃	0,068	0,014	4,91	0,0004***
T° de chauffage	b ₄	-0,064	0,014	-4,67	0,0005***
Temps de l'hydrodistillation *Durée de séchage	b ₁₂	0,024	0,015	1,62	0,1305
Temps de l'hydrodistillation *Rapport Eau/Matière végétale	b ₁₃	0,010	0,015	0,68	0,5073
Durée de séchage *Rapport Eau/Matière végétale	b ₂₃	-0,050	0,015	-3,42	0,0051**
Temps de l'hydrodistillation *T° de chauffage	b ₁₄	-0,036	0,015	-2,48	0,0291*
Durée de séchage *T° de chauffage	b ₂₄	-0,019	0,015	-1,28	0,2243
Rapport Eau/Matière végétale *T° de chauffage	b ₃₄	-0,023	0,015	-1,54	0,1501
Temps de l'hydrodistillation *Temps de l'hydrodistillation	b ₁₁	0,268	0,037	7,34	<0,0001***
Durée de séchage *Durée de séchage	b ₂₂	-0,157	0,037	-4,3	0,001**
Rapport Eau/Matière végétale *Rapport Eau/Matière végétale	b ₃₃	-0,027	0,037	-0,74	0,4731
T° de chauffage*T° de chauffage	b ₄₄	-0,107	0,037	-2,93	0,0125*
*** : Coefficient hautement significatif; ** : Coefficient très significatif; * : Coefficient significatif					

3.4.2 Études des interactions

Pour ce modèle, et comme en témoigne la figure 3, il existe deux interactions dont l'effet est significatif statistiquement. Il s'agit bien des deux termes b₁₄ et b₂₃ relatifs respectivement à l'interaction de la durée de séchage avec le rapport Eau/Matière végétale et celle du temps de traitement avec la température de chauffage. Cela signifie que l'effet du séchage n'est pas le même sur la réponse lorsqu'on change le rapport Eau/Matière végétale, et que l'effet du temps de l'hydrodistillation sur la réponse n'est pas le même en changeant le facteur température.

3.3 Modèle mathématique retenu

Le modèle mathématique retenu est donné par l'équation suivante :

$$\hat{Y} = 1,658 + 0,328X_1 + 0,038X_2 + 0,068X_3 - 0,064X_4 + 0,268X_1^2 - 0,157X_2^2 - 0,107X_4^2 - 0,05X_2X_3 - 0,036X_1X_4$$

3.4 Optimisation des paramètres

Le rendement énoncé par la littérature [28] pour *Rosmarinus officinalis* varie de 1,6 à 1,9%. En réalisant le plan d'expérience relatif à cette plante, nous avons remarqué que l'obtention d'un rendement qui dépasse 2,25% est possible. L'objectif donc sera de trouver le réglage optimal des quatre paramètres qui mène à un rendement en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* égal à 2,3%. Autrement dit, nous allons chercher les conditions opératoires optimales qui mènent à ce rendement tout en minimisant le temps d'hydrodistillation et la durée de séchage.

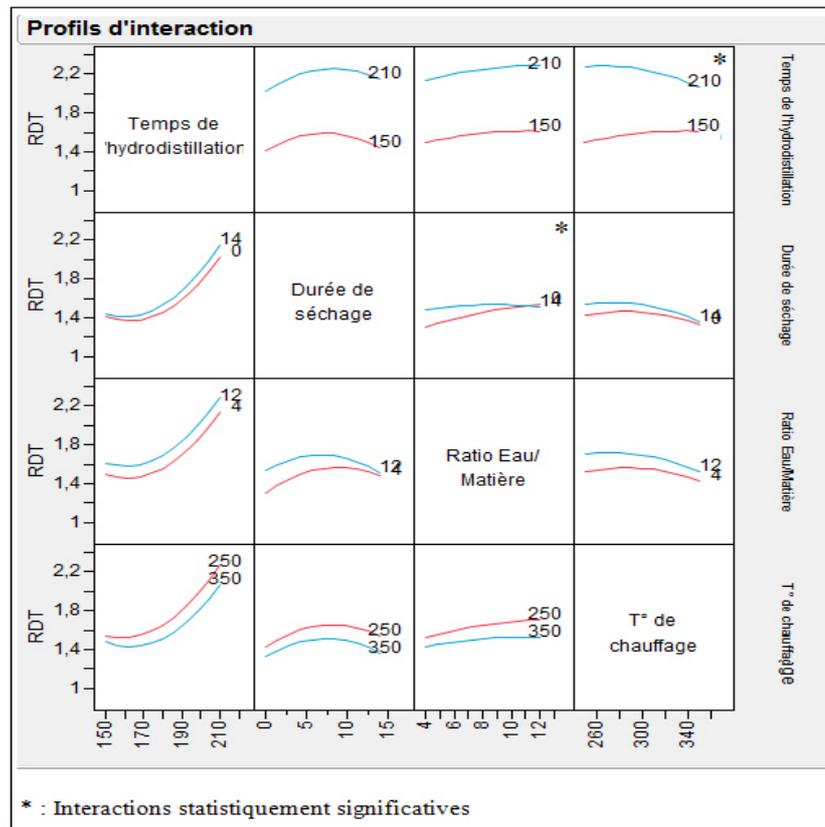


Figure 3 : Profil d'interaction des facteurs agissant sur la réponse étudiée qui montre l'existence des effets d'interaction X_2X_3 et X_1X_4

3.6.1 Profil d'isoréponses

À l'aide du profil d'isoréponses (figure 4), nous pouvons également envisager différentes solutions relatives aux conditions opératoires.

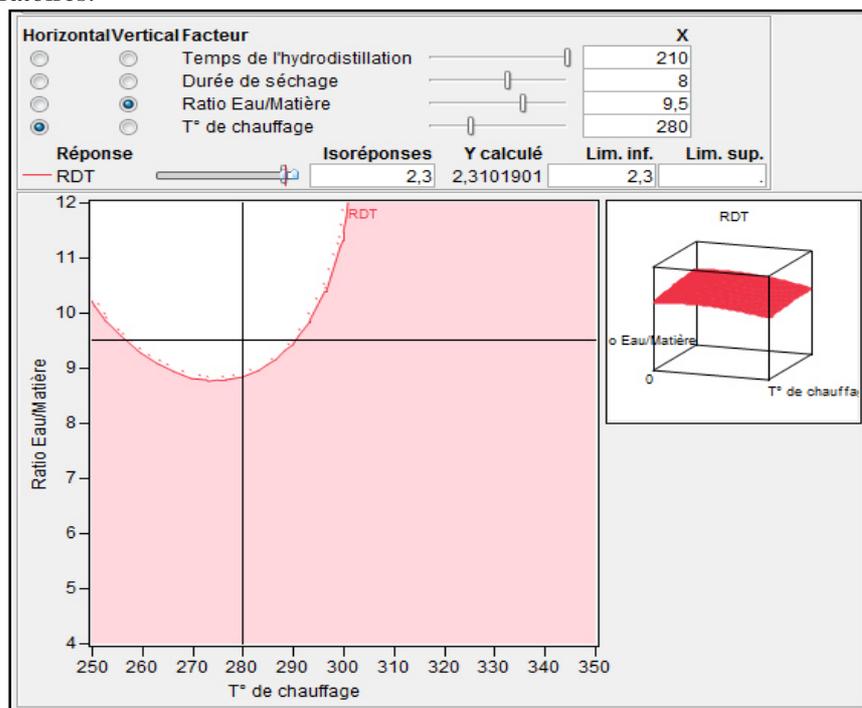


Figure 4 : Profil d'isoréponses pour *Rosmarinus officinalis* : Cas où nous avons fixé le temps de l'hydrodistillation à une valeur de 210Min et la durée de séchage est fixée à 8 jours

D'après ce profil, le temps minimal pour avoir le rendement souhaité (2,3%) est égal à 210 min, pour cette période de traitement, la durée de séchage qui donne ce rendement est égale à 8 jours.

L'étape suivante consiste à fixer ces deux valeurs pour ces deux paramètres et procéder par la recherche des valeurs des deux autres facteurs.

La zone blanche (figure 4) correspond à la zone du compromis pour les deux paramètres : température de chauffage et rapport Eau/Matière végétale pour atteindre le rendement souhaité et en fixant les deux premiers paramètres (temps de l'hydrodistillation et durée de séchage) aux valeurs 210 min et 8 jours respectivement. La fixation de ces deux paramètres nous a permis de connaître les domaines de variation des deux autres facteurs permettant d'atteindre le rendement désiré. Ainsi, l'obtention d'un rendement égal à 2,3% nécessite un temps de l'hydrodistillation : 210 min, une durée de séchage de 8 jours, un rapport Eau/Matière végétale compris entre 9 et 12 (x 100ml/100g) et une température de chauffage comprise entre 250°C et 300°C.

L'étude de la désirabilité va nous permettre de définir avec précision les valeurs optimisées des quatre facteurs étudiés.

3.6.2 Étude de la désirabilité

L'objectif de notre étude est de maximiser le rendement en huile essentielle afin qu'il atteigne une valeur de 2,3%, tout en garantissant un temps, une température et une durée de séchage minimaux.

La figure 5 indique que l'atteinte de cette valeur de rendement est possible avec une désirabilité de l'ordre de 96,8% en assurant comme conditions opératoires un temps de l'hydrodistillation de 210 min, une durée de séchage de 8 jours, un rapport Eau/Matière végétale de 10,5 (x 100ml/100g) et finalement une température de chauffage de 250°C.

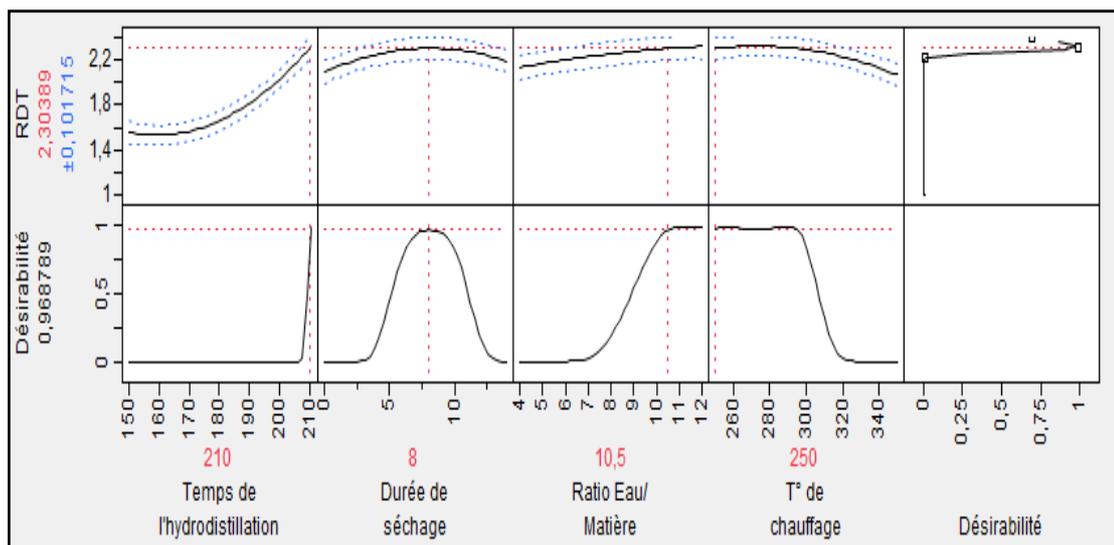


Figure 5 : Profil de prévision des conditions optimales de l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis*

Ces résultats indiquent que l'obtention du rendement désiré nécessite une augmentation du temps de l'hydrodistillation vers la borne supérieure du domaine de variation de ce facteur (210 Min). Bien évidemment, le temps influe directement sur l'opération d'hydrodistillation, et son impact sur cette opération a été prouvé par plusieurs auteurs [5-8].

Les résultats affirment aussi que l'augmentation du rapport Eau/ Matière végétale donc l'augmentation de la quantité d'eau entraîne une augmentation du rendement obtenu jusqu'à un optimum autour du rapport Eau/Matière végétale égale à 10,5 (x100ml/100g). Il faut donc penser à augmenter ce rapport, donc à augmenter la quantité de l'eau utilisée jusqu'au point où la totalité de la plante est immergée dans l'eau (un rapport Eau/Matière supérieur à 9 (x100ml/100g)), cela est nécessaire pour obtenir un système d'ébullition solide-liquide efficace [29].

La température de séchage influe inversement sur le rendement en huile essentielle. Ce dernier atteint son maximum lorsque la température est dans la borne inférieure du domaine de variation de ce facteur (250°C).

Ceci est peut-être dû à la localisation des glandes productrices des métabolites dans les tissus de cette plante. En effet, pour les lamiacées (famille de *Rosmarinus officinalis*), les huiles essentielles sont stockées au niveau des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur la surface de la plante telle que les poils sécréteurs [30] et ne nécessite donc pas un apport élevé de température pour les extraire. Contrairement, une augmentation progressive de la température au-delà de celle optimale implique une baisse dans le rendement. Ce phénomène peut être expliqué par le fait qu'une grande augmentation de la température de chauffage augmente le débit de condensation et, donc, minimise le temps de séjour du condensat dans le décanteur et ne laisse pas le temps aux huiles essentielles d'être séparées du liquide [31]. Ces résultats s'accordent parfaitement avec ceux obtenus par d'autres auteurs [5, 6].

Le dernier facteur ayant prouvé un effet significatif sur l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* est le séchage. En effet, l'augmentation du rendement en huile essentielle nécessite un séchage à l'ombre pendant 8 jours, cet effet a fait l'objet de certaines études qui ont confirmé que le séchage avant sa mise en distillation, est un traitement qui a des effets très nets sur le rendement en huile essentielle pour certaines plantes [17, 32]. Les travaux de Zrira et al. [33] ont essayé d'expliquer ce phénomène. Après avoir vérifié plusieurs hypothèses, ils ont conclu qu'il s'agit d'un phénomène biologique. La plante, après sa récolte, continue à vivre et son activité de biosynthèse des terpènes et dérivés s'accroît. La production des métabolites secondaires telles que les huiles essentielles paraît s'agir pour d'un moyen de défense contre le manque hydrique. Après la mort définitive de la plante, toute l'activité de biosynthèse s'arrête et les pertes en huile essentielle par évaporation ne sont plus compensées, d'où les baisses des rendements de distillation. Ce phénomène a été confirmé pour *Rosmarinus officinalis* [17], pour l'eucalyptus [32, 33] et pour la tanaïsie annuelle [34].

3.6.3 Point test

Pour finaliser les tests de la validité du modèle retenu, nous nous sommes servis de l'outil point test. Ainsi, nous avons réalisé un essai dont le résultat correspond à la réponse souhaitée. Les coordonnées sont : $X_1=1$; $X_2=0,43$; $X_3= 0,37$ et $X_4= -1$. Les résultats mentionnés sur le tableau 6 montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les réponses expérimentales et celles prédites.

Tableau 6 : Valeurs prédites et expérimentales pour le point test

Paramètre	Valeur réelle	Valeur codée	Réponse prédite (%)	Réponse expérimentale (%)
Temps de l'hydrodistillation (min)	210	1	2,3±0,05	2,34
Durée de séchage(Jours)	8	0,43		
Ratio Eau/Matière(x100ml/100g)	10,5	0,37		
T° de chauffage (°C)	250	-1		

Conclusion

Grâce aux plans d'expériences, et plus précisément à la méthodologie de surface de réponse, nous avons pu modéliser et optimiser le processus d'hydrodistillation de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L..

Ainsi, le rendement en huile essentielle selon le modèle mathématique postulé et validé dépend des termes linéaires b_1 , b_2 , b_3 et b_4 , des termes quadratiques b_{11} , b_{22} et b_{44} relatifs aux facteurs temps de l'hydrodistillation, durée de séchage et température de chauffage respectivement et, enfin, des termes d'interaction b_{23} et b_{14} relatifs à l'interaction durée de séchage/Rapport Eau/Matière végétale et l'interaction temps de l'hydrodistillation/température de chauffage. Pour cette plante, un temps d'hydrodistillation de 210 min, une température de chauffage de 250°C, un rapport Eau/Matière végétale égale à 10,5 (x 100ml/100g) et une durée de séchage de 8 jours sont les conditions expérimentales optimales pour une maximisation du rendement vers une valeur de 2,3%.

Ces résultats peuvent être une base pour l'extrapolation de l'optimisation des conditions expérimentales de l'extraction des huiles essentielles par procédé pilote ou industriel. Donc, ils peuvent représenter un grand intérêt économique, surtout après la confirmation de l'effet du temps de l'hydrodistillation et de la durée de séchage sur la maximisation du rendement.

Références

1. Laporé M.C., Collin G., *info essences*. 14 (2000) 1.
2. Neves JM, Matos C., Moutinho C., Queiroz G., Gomes L. R., *J. Ethnopharmacol.* 124 (2009) 270.
3. Erkan N., Ayranci G., Ayranci E., *Food Chem.* 110(2008)76.
4. Zeboudj S., Belhanèche-Bensemra N., Belabbès R., *J. Food Eng.* 67 (2005) 507.
5. Silou T., Malanda M., Loubaki L., *J. Food Eng.* 65 (2004) 219.
6. Ammar AH., Zagrouba F., Romdhane M., *Flavour. Fragr. J.* 25 (2010) 503.
7. Wognin EL., Tonzibo ZF., Augustin K., Thomas Y., *Rev. Ivoir. Sci. Technol.* 15 (2010) 23.
8. Tan Q., Kieu X., Kim N., Hong X., *Emir. J. Food Agric.* 24 (2012) 25.
9. Mu'azu K., Mohammed-Dabo IA., Waziri S M., *J. Basic Appl. Sci. Res.* 2 (2012) 2298.
10. Galadima MS., Ahmed AS., Olawale AS., Bugaje IM., *Niger. J. Basic. Appl. Sci.* 20 (2012) 368.
11. Fadil M., Farah A., Ihssane B., Haloui T., Rachiq S., *Int. J. Innov. Appl. Stud.*, 8 (2014) 372.
12. Cheynier, V., Feinberg M., Chararas C., Ducauze C., *Appl. Env. Microbiol.* 45 (1983) 634.
13. Clevenger J., *J. Am. Pharm. Assoc.* 17 (1928) 345.
14. Hanco V., Poilâne C., Chen J., In 17^{èmes} Journées Nationales sur les Composites, *PoitiersFuturoscope, France* (2011).
15. Annadurai G., Sheeja, R.Y., *Bioprocess eng*, 18(1998) 463.
16. Goupy J., Creighton L. Introduction aux plans d'expérience 3^{ème} Ed, *Dunod, Paris* (2006) .
17. B. Benjilali, Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation - Manuel pratique, *Corporation Laseve, Université Du Québec* (2005).
18. Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., Chaouch A., Satrani B., *Agrosolutions* 20 (2009) 48.
19. Myer RH., Montgomery DC., *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments*, *Wiley, New York* (2002).
20. Box G.E.P., Hunter W.G., Hunter J. S., *Statistics for Experimenters: An Introduction to Design, Data Analysis and Model Building*, *Wiley, New York* (1978).
21. Tovar L.P., Wolf Maciel M.R., Pinto G.M.F., Maciel Filho R., Gomes D.R., *Chem. Eng. Res. Des.* 88(2010) 239.
22. SAS Institute. *Jmp: The Statistical Discovery Software. Sas Inst* (2009).
23. Marti-mestres G., Laget J.P., Maillols H., Fernandez C., *Int. J. Cosmetic Sci.*, 20 (1998) 19.
24. Feinberg M., *Validation des méthodes d'analyse, une approche de l'assurance qualité au laboratoire*, *Dunod, paris, France* (2004).
25. Pintore G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., Boatto G., Tomi F., Casanova J., *Flavour. Fragr. J.* 17(2002)15.
26. Zaouali Y., Bouzaine T., Boussaid M., *Food Chem. Toxicol.* 48 (2010) 3144.
27. Kalil S.J., Maugeri F., Rodrigues ML., *Process. Biochem.* 35 (2000) 539.
28. Elamrani A., Zrira S., Benjilali B., Berrada, M., *J. Essent. Oil Res.* 12 (2000) 487.
29. Herzi N., Bouajila J., Camy S., Romdhane M., Condoret, J. S. *Food chemistry*, 141 (2013) 3537.
30. Bruneton J., *Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Technique et documents. Ed. Lavoisier Paris*, (1987).
31. Rabesiaka J., Pierre R., Razanamparany B., *J. Food Process. Technol.* 4 (2012) 2.
32. Zrira S., Benjilali B., *J. Essent. Oil Res.* 3 (1991), 117
33. Zrira S., Benjilali B., & Lamaty G., *Actes. Instit. Agro. Vét.* 15 (1995) 27.
34. Greche H., Ismaili-Alaoui M.M., Hajjaji N., Zrira S., Bélanger A., B. Benjilali., *Actes Editions I.A.V. Hassan II* (1997) 169.

(2015) ; <http://www.jmaterenvironsci.com>