

وزارة التعليم العالي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT DE GENIE CHIMIQUE

# THESE

Présentée par : M. BOUMGHAR Med Yacine

Ingénieur E.N.P.

Pour l'obtention du diplôme de MAGISTER en Génie Chimique

## SUJET

Techniques d'extraction appliquées aux espèces forestières; le cèdre du Djurdjura. Contribution à l'étude analytique de l'huile essentielle extraite.

Soutenue le 22 Mars 1989 devant le jury composé de :

Monsieur	S. E. CHITOUR	Professeur E.N.P.	Président
Monsieur	M. H. GUERMOUCHE	Professeur U.S.T.H.B	Examineur
Madame	K. M. MOUSSAOUI	Maître de conférences E.N.P	Examinatrice
Madame	R. DERRICHE	Chargée de cours E.N.P	Examinatrice
Madame	N. SAHRAOUI	E.N.A.F.L.A	Invitée
Monsieur	R. BELABBES	Professeur E.N.P	Rapporteur

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE  
DEPARTEMENT DE GENIE CHIMIQUE

# THESE

Présentée par : M. BOUMGHAR Med Yacine  
Ingénieur E.N.P.

Pour l'obtention du diplôme de MAGISTER en Génie Chimique

## SUJET

Techniques d'extraction appliquées aux  
espèces forestières; le cèdre du Djurdjura.  
Contribution à l'étude analytique de l'huile  
essentielle extraite.

Soutenue le 22 Mars 1989 devant le jury composé de :

Monsieur S. E. CHITOUR	Professeur E.N.P	Président
Monsieur M. H. GUERMOUCHE	Professeur U.S.T.H.B	Examineur
Madame K. M. MOUSSAOUI	Maître de conférences E.N.P	Examinatrice
Madame R. DERRICHE	Chargée de cours E.N.P	Examinatrice
Madame N. SAHRAOUI	E.N.A.F.L.A	Invitée
Monsieur R. BELABBES	Professeur E.N:P	Rapporteur

Ce travail fait partie du Projet de recherche concernant la valorisation des espèces forestières. Il a été réalisé dans les laboratoires du département de Génie Chimique de l'Ecole Nationale Polytechnique.

J'exprime mes plus profonds remerciements à Monsieur le Professeur R. BELABBES qui m'a confié ce sujet de recherche, m'a éclairé de ses précieux conseils, m'a aidé et encouragé.

Je suis vivement reconnaissant envers Monsieur le Professeur S.E CHITOUR qui a accepté de présider le jury et ce, malgré ses nombreuses obligations.

J'exprime mes remerciements à :

Monsieur le Professeur M.D. GUERMOUCHE  
Madame N. MOUSSAOUI  
Madame R. DERRICHE  
Madame N. SAHRAOUI

d'avoir accepté de juger ce travail et de participer au jury. Je remercie chaleureusement mes camarades du laboratoire, mes collègues qui m'ont apporté leur concours en toutes circonstances. Mes remerciements vont également à Mademoiselle TOUAHRIA et Monsieur DIOURTE dont l'aide a été déterminante pour la réalisation de ce travail.

Tout comme je tiens à remercier Monsieur SARI, responsable du centre de calcul à l'E.N.P, pour toute l'aide qu'il a apportée à la réalisation de ce travail.

Mes plus vifs remerciements vont également à Mademoiselle YADDADEN pour l'aide apportée à la réalisation de cette thèse.

Ma sympathie s'adresse également à toutes les personnes qui ont de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail.

Je dois également remercier ma mère.

## TABLE DES MATIERES

I.	<b>INTRODUCTION</b>	1
II.	<b>PROCEDES D'EXTRACTION</b>	2
II.1.	LA DISTILLATION	2
II.1.1.	INTRODUCTION	2
II.1.2.	THEORIE DE LA DISTILLATION	2
II.1.3.	MODES DE DISTILLATION	6
II.1.3.1.	DISTILLATION A L'EAU	6
II.1.3.2.	DISTILLATION MIXTE	6
II.1.3.3.	ENTRAINEMENT A LA VAPEUR	7
II.1.4.	MODES DE RECUPERATION	10
II.2.	AUTRES PROCEDES D'EXTRACTION	11
II.2.1.	ENFLEURAGE	12
II.2.2.	MACERATION	13
II.2.3.	EXTRACTION PAR SOLVANTS VOLATILS	13
II.2.3.1.	PRODUCTION DE CONCRETES	13
II.2.3.2.	TRANSFORMATION DE CONCRETES EN ABSOLUES	15
II.2.3.3.	PRODUCTION DE RESINOIDES	15
II.2.4.	EXTRACTION AU CO <sub>2</sub>	18
II.3.	MATIERES PREMIERES VEGETALES	22
II.3.1.	ESPECES BOTANIQUES	22
II.3.2.	CONDITIONS CLIMATOLOGIQUES ET GEOLOGIQUES	23
II.4.	TRAVAUX ANTERIEURS RELATIFS AU CEDRE	24
II.4.1.	PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES HUILES ESSENTIELLES DES DIFFERENTS TYPES DE CEDRE	24
II.4.1.1.	BOIS DE CEDRE DE L'ATLAS MAROCAIN	26
II.4.1.2.	BOIS DE CEDRE DE L'HIMALAYA	27
II.4.1.3.	BOIS DE CEDRE DU LIBAN	27
II.4.1.4.	BOIS DE CEDRE DE VIRGINIE	28
II.4.1.5.	BOIS DE CEDRE DU TEXAS	29
II.4.1.6.	BOIS DE CEDRE DE L'AFRIQUE DE L'EST	29
II.4.2.	COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DES DIFFERENTS TYPES DE CEDRE	31
II.4.2.1.	BOIS DE CEDRE DE L'ATLAS	31
II.4.2.2.	BOIS DE CEDRE DES ETATS-UNIS	31
II.4.3.	STRUCTURE DES COMPOSES DE L'HUILE ESSENTIELLE DU BOIS DE CEDRE ET PRINCIPALEMENT CELLE DES HIMACHALENES	34
II.4.3.1.	RELATION ENTRE L' $\alpha$ - ET LE $\beta$ -HIMACHALENE	35

II.4.3.2.	FAITS STRUCTURAUX	36
II.4.3.3.	DETERMINATION DU SQUELETTE CARBONE DES HIMACHALENES	38
II.4.3.4.	STRUCTURE DU $\beta$ -HIMACHALENE	40
II.4.3.5.	STRUCTURE DE L' $\alpha$ -HIMACHALENE	42
III.	<b>APPAREILLAGE: CONCEPTION ET REALISATION</b>	43
III.1.	LA CHAUDIERE OU GENERATRICE DE VAPEUR	43
III.2.	LE DISTILLATEUR OU L'ALAMBIC	46
III.3.	LE CONDENSEUR OU RECEVEUR DE CONDENSATS	50
IV.	<b>INFLUENCE DES PARAMETRES D'EXTRACTION SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE</b>	55
IV.1.	INFLUENCE DU DEGRE DE DIVISION DE LA CHARGE ET DE LA MASSE ADMISSIBLE PAR PLATEAU	56
IV.2.	INFLUENCE DU DEBIT DE VAPEUR	60
IV.3.	LOCALISATION DES SITES D'HUILE	61
IV.4.	INFLUENCE DE L'AGE DU TRONC	61
IV.5.	QUELQUES REMARQUES RELATIVES AUX EXTRACTIONS MENEES LORS DE CETTE ETUDE	62
IV.5.1.	CHOIX DU SOLVANT	62
IV.5.2.	Eaux CONDENSEES DANS LA CUCURBITE	63
V.	<b>ETUDE ANALYTIQUE DES HUILES ESSENTIELLES EXTRAITES</b>	64
V.1.	EVALUATION DES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES	64
V.1.1.	PROPRIETES PHYSIQUES	64
V.1.1.1.	DENSITE	64
V.1.1.2.	POUVOIR ROTATOIRE	65
V.1.1.3.	INDICE DE REFRACTION	65
V.1.1.4.	POINT DE CONGELATION	66
V.1.2.	PROPRIETES CHIMIQUES	66
V.1.2.1.	INDICE D'ACIDE	66
V.1.2.2.	INDICE D'ESTER	67
V.1.2.3.	SOLUBILITE DANS L'ALCOOL	68
V.1.3.	PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'HUILE ESSENTIELLE	68
V.2.	ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE EN PHASE GAZEUSE DE L'ESSENCE EXTRAITE	74
V.3.	ANALYSE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE (C.G./S.M.) DE L'ESSENCE EXTRAITE	75
V.3.1.	METHODES THEORIQUES D'IDENTIFICATION	82
V.3.2.	METHODES COMPARATIVES	83
V.3.3.	METHODES STATISTIQUES OU "MODELES DE RECONNAISSANCE"	83

V.3.4.	METHODES DE RECONNAISSANCE UTILISANT LA METHODE K.N.N	84
V.3.5.	RESULTATS EXPERIMENTAUX DE L'ANALYSE PAR C.G./S.M. DE L'HUILE ESSENTIELLE DU BOIS DE CEDRE	86
V.3.6.	FRACTIONNEMENT DE L'HUILE ET ANALYSE PAR C.G./S.M.	89
VI.	<i>CONCLUSION</i>	96

## I. INTRODUCTION:

Une des valorisations possibles des espèces forestières que nous avons envisagé est l'extraction de leurs huiles essentielles dont l'importance économique est considérable, tant il est vrai qu'elles trouvent des applications dans les domaines les plus variés allant des industries alimentaires aux industries pharmaceutiques en passant par les cosmétiques et les parfums.

Notre intérêt s'est porté sur le bois de cèdre vue la haute valeur ajoutée de son huile et sa relative abondance en Algérie et notamment dans les parcs nationaux du Djurdjura, Khenchela, Chréa, ...

Les huiles essentielles principalement volatiles et immiscibles dans l'eau constituent les portions des métabolismes secondaires des produits de la plante. Ce sont des mélanges fort complexes de divers composés organiques; les constituants majeurs étant généralement des terpènes, diterpènes, sesquiterpènes et leurs dérivés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones,...).(1)

Les huiles essentielles contenues dans les tissus végétaux peuvent être extraites aussi bien par entraînement à la vapeur ou par distillation à l'eau, que par épuisement dans des solvants organiques, de certaines parties spécifiques de la plante (1).

Parmi ces procédés d'extraction, le plus largement utilisé reste l'entraînement à la vapeur d'eau. A cet effet, la conception d'une installation pilote d'extraction combinant l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur a été menée suivie de sa réalisation pratique (2, 3, 4).

La mise au point de l'appareillage a nécessité l'étude de l'influence de certains paramètres d'optimisation tels que temps de distillation, degré de division de la charge, masse admissible par plateau, débit de vapeur, ...

Quant à la qualité de l'huile de cèdre extraite de son bois, celle-ci a été évaluée en mesurant d'une part ses propriétés physico-chimiques, et d'autre part en procédant à l'analyse de ses constituants majeurs par chromatographie en phase gazeuse.

Enfin, une distillation de l'huile menée sous vide pour éviter les artefacts a fourni plusieurs fractions soumises à leur tour à une analyse chromatographique couplée à la spectrométrie de masse.

## II. PROCÉDES D'EXTRACTION:

### II.1. LA DISTILLATION:

#### II.1.1. INTRODUCTION:

La distillation peut être définie comme "un procédé de séparation des composés d'un mélange de deux ou plusieurs liquides basé sur la différence virtuelle de leurs pressions de vapeur." (5)

Dans le cas de la distillation des huiles essentielles, celle-ci est habituellement menée de deux manières: "récupération" et "fractionnement". La première opération a trait à la séparation de l'huile dans sa globalité à partir de la matière végétale dans laquelle elle se trouve; tandis que la deuxième est appliquée à la séparation d'un composé à partir du mélange constituant l'huile. (6)

Lors de la distillation, l'élaboration de la théorie qui se veut conforme à la pratique devra tenir compte des taux de diffusion dans la matrice et d'autres facteurs incluant le temps. Aussi, dans une première partie, nous présenterons une théorie simplifiée n'utilisant que l'équilibre liquide-vapeur et dans la seconde seront introduites les modifications qui prennent en compte les considérations pratiques et techniques, et quelques aspects du génie chimique.

#### II.1.2. THEORIE DE LA DISTILLATION:

Bien que les huiles essentielles soient des mélanges fort complexes de plusieurs constituants, il n'est souvent pas nécessaire de les traiter comme des systèmes multicomposés.

En effet, la distillation des huiles essentielles s'effectuant habituellement à petite échelle garantit l'application des méthodes continues, et de ce fait, la théorie des mélanges binaires semble convenir pour en expliquer le phénomène.

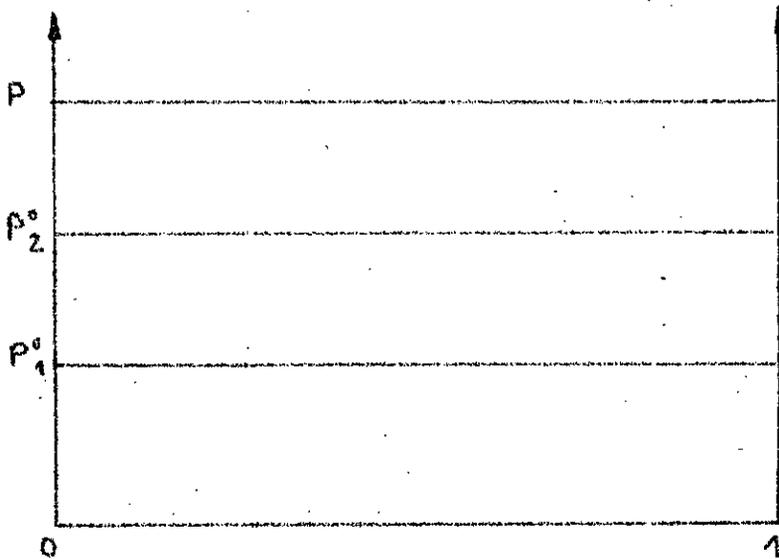
En général, deux types de distillation sont à envisager selon le critère de miscibilité(2):

1. Distillation de mélanges de liquides non miscibles, formant ainsi deux phases. Cette distillation s'applique à une rectification ou fractionnement des huiles essentielles, et mieux encore pour extraire les huiles volatiles de plantes aromatiques, par entraînement à la vapeur.

2. Distillation de mélanges de liquides miscibles, en toutes proportions et formant alors une seule phase liquide. La différence de comportement entre les deux types de distillation peut s'expliquer en considérant le phénomène lors de l'ébullition.

Rappelons que le point d'ébullition peut être défini comme "la température à laquelle, sous pression atmosphérique ou toute autre pression de vapeur spécifique, un liquide est transformé en vapeur, soit encore la température à laquelle la pression de vapeur du liquide devient égale à la pression extérieure du gaz environnant ou vapeur." (7)

Ainsi, le nombre total de molécules présent dans l'espace-vapeur au dessus du mélange liquide à deux phases, à une température donnée, sera égale à la somme du nombre de molécules de chacun des constituants pris séparément. Il en résulte que la composition de la vapeur à une température donnée, ne dépendra pas de la composition du liquide mais uniquement des pressions de vapeur de chacun des constituants de ce mélange. (2)



Dans le cas des mélanges de liquides complètement miscibles formant une seule phase liquide et homogène, les constituants obéissent à la loi de RAOULT:

$$p_i = p_i^o x_i \quad (1)$$

- $p_i$  : pression partielle du constituant  $i$
- $p_i^o$  : pression du constituant  $i$  pur
- $x_i$  : fraction molaire du constituant  $i$  en phase liquide

En d'autres termes, la pression partielle de chaque constituant de la solution est proportionnelle à sa fraction molaire en phase liquide. Par ailleurs, d'après la loi de DALTON, la pression de vapeur de la solution est la somme des pressions partielles de tous les constituants.

$$P = \sum_i p_i \quad (2)$$

Ainsi, le nombre de molécules de tout constituant d'un mélange homogène présent dans la phase vapeur sera nécessairement plus petit que celui présent dans le même espace vapeur si le liquide pur est vaporisé.

Dans le cas d'un mélange hétérogène tel que les huiles essentielles en l'assimilant à un mélange binaire de liquides non miscibles, l'application de la règle des phases conduit à un système univariant. Il s'ensuit que si l'on fixe la pression, le système devenant invariant bouera à une température constante et donnera une vapeur de composition fixe, pour autant que le système soit bien agité et que les deux phases liquides soient présentes.

En effet, si chaque constituant peut se vaporiser sans contrainte, la pression de vapeur du système sera égale à la somme des pressions de vapeur des constituants purs, et la température d'ébullition du mélange sera donc inférieure à celle de chaque liquide seul.

$$P = \sum_i p_i^* \quad (3)$$

Etayons ceci par l'exemple suivant: en distillant un composé liquide insoluble dans l'eau et de point d'ébullition 50°C, le distillat recueilli consistera en un certain volume d'eau et un large volume de composé insoluble. Par contre en hydrodistillant un composé liquide insoluble dans l'eau et de point d'ébullition 300°C, le distillat entraîné contiendra en majorité de l'eau et une très petite quantité de la substance à haut point d'ébullition. Ainsi, lors de la distillation d'un composé insoluble dans l'eau, le pourcentage de celui-ci dans le distillat décroît avec l'élévation de son point d'ébullition. Cette diminution, cependant, n'est pas uniforme d'une substance à une autre.

En effet, plusieurs substances de points d'ébullition très voisins apparaîtront dans le distillat avec des proportions différentes, que d'autres substances présentant des différences marquées de points d'ébullition peuvent s'observer dans le distillat

avec des proportions quasi identiques. Ces anomalies sont principalement dues à la diversité des structures chimiques et de la réactivité des constituants de l'huile essentielle.

La règle d'hydrodistillation des substances volatiles insolubles telles que les huiles essentielles peut être exprimée par la relation suivante:

$$\frac{W_{H_2O}}{W_{huile}} = \frac{P^*_{H_2O}}{P^*_{huile}} * \frac{M_{H_2O}}{M_{huile}} \quad (4)$$

$W_{H_2O}$  : Masse d'eau.

$W_{huile}$  : Masse d'huile.

$P^*_{H_2O}$  : Pression de vapeur de l'eau pure.

$P^*_{huile}$  : Pression de vapeur de l'huile pure.

$M_{H_2O}$  : Masse moléculaire de l'eau.

$M_{huile}$  : Masse moléculaire de l'huile.

En effet, la masse (W) de chaque constituant dans le distillat dépend de sa masse moléculaire (M) et de sa tension de vapeur ( $P^*$ ). En considérant que les deux liquides (eau et huile) sont immiscibles, selon la loi des gaz parfaits, le nombre de moles (n) de chaque constituant en phase gazeuse est proportionnel à sa tension de vapeur. Aussi, nous pouvons écrire:

$$\frac{W_{H_2O}}{W_{huile}} = \frac{M_{H_2O} * n_{H_2O}}{M_{huile} * n_{huile}} = \frac{M_{H_2O} * P^*_{H_2O}}{M_{huile} * P^*_{huile}} \quad (5)$$

En rappelant par ailleurs que ( $P^*_{H_2O} + P^*_{huile}$ ) est égale à la pression extérieure, il sera possible, lors de la distillation, de modifier partiellement ce rapport eau/huile dans le condensat en changeant la pression de travail; la température de l'appareil s'ajustant automatiquement à celle d'ébullition du mélange.

### II.1.3. MODES DE DISTILLATION:

Il est communément admis que la vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles. (2)

Aussi, s'est-il développé dans l'industrie des huiles essentielles une terminologie qui distingue trois types de distillation:

-Distillation à l'eau

-Distillation mixte et entraînement à la vapeur que nous présenterons successivement.

#### II.1.3.1. DISTILLATION A L'EAU:

La matière à distiller est en contact direct avec l'eau bouillante. Elle peut soit flotter, soit être complètement immergée; cela dépendra de sa densité et/ou de la quantité de matière de la charge.

L'avantage principal de cette méthode réside dans le contact direct entre la matière et l'eau bouillante.

Plusieurs plantes telles que pétales de rose, bourgeons d'orange, ... sont distillées de cette manière, car avec de la vapeur, ces matières s'agglutinaient et formeraient de larges "gâteaux" à travers lesquels la vapeur ne pourrait plus pénétrer.

#### II.1.3.2. DISTILLATION MIXTE:

Dans ce cas de distillation, la matière végétale n'est pas en contact direct avec l'eau de l'appareil distillatoire, mais plutôt avec de la vapeur. Cette dernière produite par une génératrice de vapeur externe traverse l'eau afin de la chauffer et arrive au niveau de la charge.

Ceci peut présenter un avantage, notamment pour des huiles possédant une certaine fragilité thermique de ses constituants, puisque la vapeur arrivant au contact de la matière est totalement saturée donc humide et de surcroît n'est jamais surchauffée.

### II.1.3.3. ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU:

L'entraînement à la vapeur d'eau est un procédé industriel d'extraction de l'huile essentielle à partir de la matière végétale.

Ce procédé d'entraînement des matières odorantes des plantes par distillation à la vapeur d'eau, à pression atmosphérique, est très ancien. En effet, des éléments trouvés en Chine font penser que cette façon d'obtenir les huiles essentielles vient de ce pays. (8)

Au cours des siècles, cette technique s'est répandue progressivement vers l'Ouest tout en se perfectionnant. Son développement industriel s'est fait en Europe et en particulier à Grasse.

Confronté aux problèmes de la difficile distillation du "beurre" d'iris, les industriels grassois, tout en tâtonnant, surent créer l'appareil permettant son obtention dans d'assez bonnes conditions. (2)

C'est ainsi qu'ils remplacèrent le col de cygne de l'alambic classique de la figure 1, par un tube de cuivre, de 10 cm de diamètre environ et de près de 80 m de long, que les vapeurs devaient parcourir de manière ascendante avant de retomber dans le condenseur réfrigérant. Par la suite, cet appareil fût substitué par un autre comportant une colonne remplie d'anneaux Raschig et travaillant à reflux; certes, cet appareil gros consommateur d'énergie est coûteux mais donne cependant un meilleur rendement. Un manomètre placé sur le corps de l'alambic a permis de vérifier l'existence d'une pression relative; en effet, les longs tubes ou la colonne garnie d'anneaux créent une perte de charge appréciable lors du passage de la vapeur. La distillation de l'iris se fait donc sous pression. Cette amélioration du rendement est prévisible théoriquement.

En effet, la relation 4 précédente rend possible l'étude de l'influence de la pression sur la quantité d'essence entraînée par une même quantité d'eau évaporée.

$$\frac{W_{H_2O}}{W_{huile}} = \frac{M_{H_2O} * P'_{H_2O}}{M_{huile} * P'_{huile}} \quad (4)$$

Dans le cas général, la distillation se fait sous pression atmosphérique, de sorte que l'on considère que  $(P'_{H_2O} + P'_{huile}) = 1 \text{ atm}$ .

En admettant à présent l'hypothèse d'une distillation sous pression, il faut donner à  $(P'_{H_2O} + P'_{huile})$  une valeur supérieure

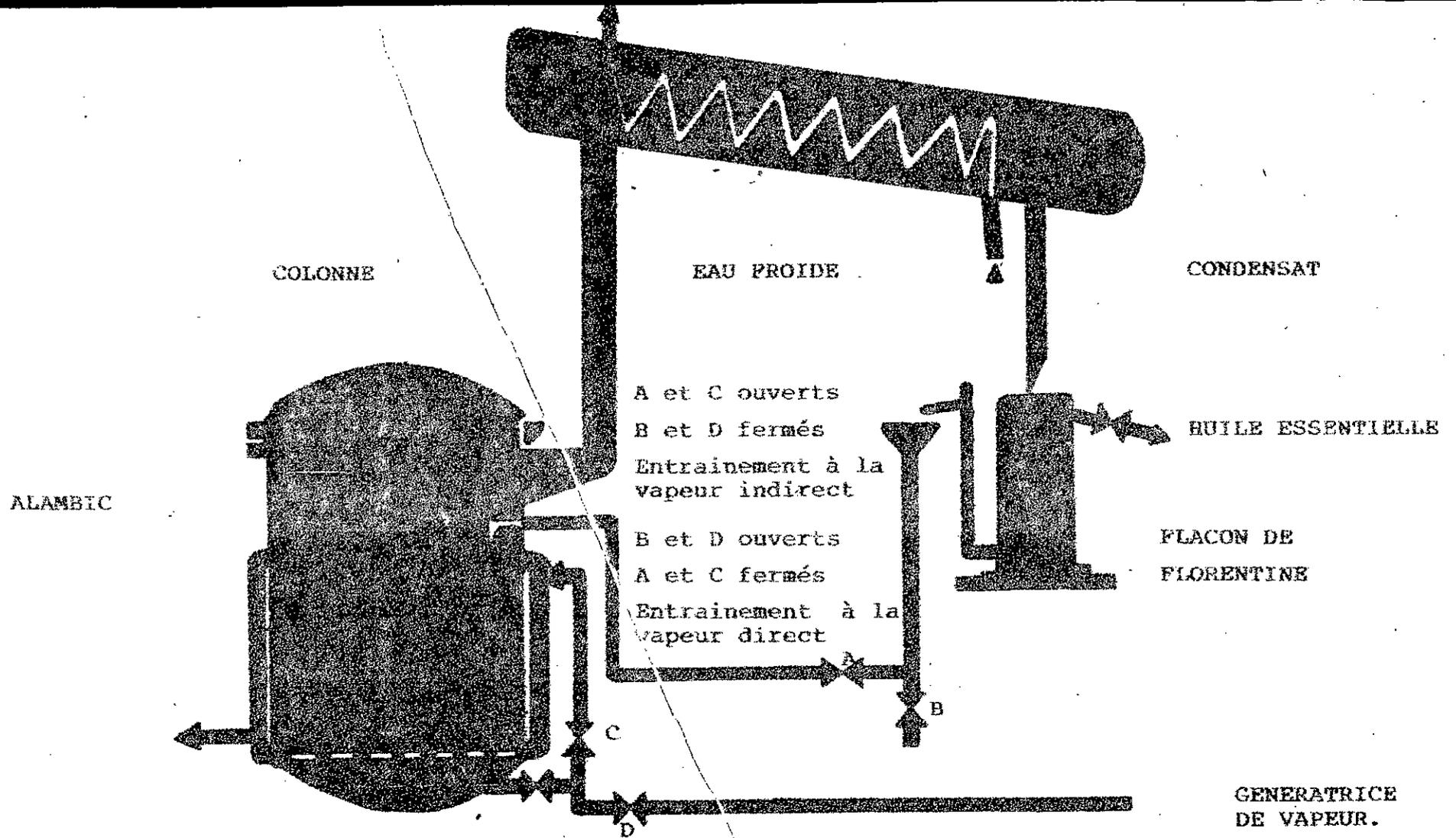


Figure 1 .

DIAGRAMME D'ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU

à l'atmosphère. C'est ce qui a été appliqué à l'acide caprylique, un des constituants du "beurre" d'iris. Aussi, le tableau I suivant (3) donne les différents rapports d'entraînement  $R=(W_{\text{acide}} / W_{\text{eau}})$  calculés, exprimés en pourcent à diverses pressions relatives ( $P^{\text{acide}} + P^{\text{eau}}$ ) correspondant à différentes températures.

Tableau I: Rapports d'entraînement R calculés lors de la distillation sous pression de l'acide caprylique par l'eau à diverses températures  
( $M_{\text{acide}} / M_{\text{eau}} = 144/18=8$ )

Température (°C)	99, 96	105	113, 7	124,6	136,7
Pression de vapeur P°1 de l'acide caprylique (torr)	1,7	2,6	5,0	10,0	20,0
Pression de vapeur P°2 de l'eau (torr)	758,3	906,3	1217,0	1721,0	2464,0
Pression totale ( P°1 + P°2 ). (torr)	760,0	908,9	1222,0	1731,0	2484,0
Pression relative (bar)	0	0,20	0,62	1,28	2,30
Rapport d'entraînement R calculé ( % )	1,8	2,3	3,28	4,65	6,50

Le calcul montre donc que le rapport d'entraînement est nettement amélioré par l'effet de la pression.

En effet, celui-ci passe de 1,8 % lors d'une distillation atmosphérique à 6,5 % lorsque la distillation s'effectue sous 2,3 bars. En d'autres termes, l'obtention d'un kilogramme d'acide caprylique nécessiterait l'évaporation de 55,5 kg d'eau sous pression atmosphérique et plus que 15,4 kg sous 2,3 bars.

Cette manière d'opérer est donc avantageuse car elle permet

d'économiser des calories et de diminuer la durée de la distillation. Précisons, cependant, que ceci n'est valable que dans le cas d'une hydrodistillation, car dans le cas de vapeur sèche, le système binaire devenant bivalent, il est alors possible d'agir sur deux paramètres à la fois.

#### II.1.4. MODES DE RECUPERATION:

Le mode de récupération d'huile essentielle à partir des cellules de la plante, durant l'entraînement à la vapeur, peut s'effectuer de deux manières: soit par osmose, soit par diffusion libre, selon le degré de division de la charge végétale.

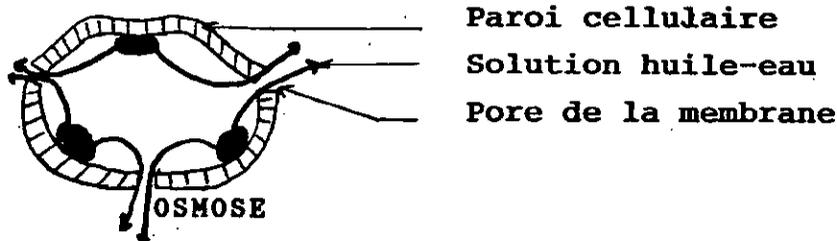
En effet, lorsque les cellules de la plante restent intactes, le phénomène d'osmose sera observé, par contre lorsque les parois cellulaires sont détruites (cas notamment des distillations industrielles), c'est la diffusion libre qui intervient. (9)

L'osmose, procédé de diffusion spontanée selon lequel un solvant passe de la solution la moins concentrée vers la plus concentrée à travers une membrane semi-perméable, prend un sens spécifique qui a été décrit par Von-Rechenberg et Guenther (10) comme suit:

"A la température d'ébullition de l'eau, une partie de l'huile volatile se dissout dans l'eau ayant diffusée à l'intérieur des glandes, par osmose à travers la membrane cellulaire. La solution résultante huile-eau, exerçant une pression osmotique, s'infiltrera, à son tour, à travers les pores élargies de la paroi cellulaire gonflée et atteindra finalement la surface externe d'où l'huile sera vaporisée et entraînée par la vapeur d'eau ascendante. "

Ce processus se poursuivra jusqu'à ce que toutes les substances volatiles aient été extraites des glandes et entraînées par la vapeur.

Dans le cas de l'osmose, la vitesse de récupération est très lente, de sorte que le procédé de distillation est loin d'être économique.



Lorsque la charge végétale est préparée convenablement en

brisant les parois cellulaires, les constituants de l'huile essentielle sont récupérés par diffusion libre, dans l'ordre de leur volatilité.

## DIFFUSION

Ce processus s'effectue de manière plus rapide que l'osmose. En effet, comme l'ont montré Gokhale et Masada (9), dans une étude à l'échelle industrielle sur des grains d'aneth odorant, le mode de récupération par diffusion libre, dans le cas de l'entraînement à la vapeur, conduit à un rendement d'extraction en huile bien plus important que par osmose (3,36 % contre 1,36 %) et le temps de distillation est réduit de 24 heures à 9 heures.

### II.2. AUTRES PROCÉDES D'EXTRACTION:

Le terme "huiles essentielles naturelles" couvre l'ensemble des extraits de matière végétale (fleurs, feuilles, branches, bois, racines, rhizomes, fruits, gommes, ...) et les extraits de sécrétion animale.

De nos jours, la plupart des huiles essentielles sont isolées à partir de la plante par des procédés de distillation (hydrodistillation, entraînement à la vapeur). Cependant, quelques huiles sont extraites par pressage ou expression à froid des péricarpes des fruits, dans le cas des hespéridés ou citrus, donnant ainsi un produit de qualité supérieure (2). Par ailleurs, certaines fleurs fragiles thermiquement ne donnent pas directement d'huile par hydrodistillation mais une solution aqueuse fortement diluée. Cela concerne plus particulièrement le jasmin, la tubéreuse, la violette, le mimosa, l'acacia, le gardénia, ... Aussi, dans ces cas, est-il nécessaire de faire appel à d'autres méthodes autres que la distillation, telles qu'enfleurage, macération, extraction par solvants volatils et extraction au gaz carbonique (CO<sub>2</sub>).

### II.2.1. ENFLEURAGE:

C'est une méthode fortement développée dans la région de Grasse avant l'introduction de l'extraction au moyen de solvants volatils. Le procédé d'enfleurage utilise la propriété qu'ont les graisses d'absorber très facilement les émanations parfumées des fleurs sans interrompre complètement leur vie. En effet, certaines fleurs continuent leurs activités physiologiques de développement au delà même de leur cueillette. Ce phénomène fut étudié par Passy (11, 12) et plus tard par Hesse (13, 14, 15).

Le succès de cette extraction à froid par enfleurage dépend essentiellement de la qualité de la graisse employée. Celle-ci ne doit présenter aucune odeur, mais en revanche elle doit posséder une certaine consistance (surface semi-dure) afin de faciliter l'élimination des fleurs épuisées.

Plusieurs années d'expérience ont montré qu'un mélange composé d'une part de suif hautement purifié et de deux parts de lard donne de très bons résultats; celui-ci alliant une consistance convenable à un grand pouvoir d'absorption.

Tout équipement industriel d'enfleurage se compose d'un millier de chassis rectangulaires en bois empilés les uns sur les autres. Leurs dimensions exprimées en inch sont de (20\*16\*2). Dans chacun de ces chassis est inséré une plaque de verre sur les faces de laquelle sont appliquées des couches de graisse à l'aide d'une spatule. Chaque chassis est enduit en moyenne de 720 g de graisse (360 g sur chaque face) et chaque kilogramme de graisse reste en contact avec 2,5 kilogrammes de fleurs durant toute la période de l'enfleurage c'est-à-dire 8 à 10 semaines. A la fin de l'opération, les fleurs épuisées sont éliminées délicatement, et la graisse relativement saturée en huile essentielle est recueillie sous forme de pommade possédant l'arôme typique de la fleur utilisée (ex: le jasmin). La pommade ainsi obtenue est rarement utilisée comme telle. Elle subit un épauement à l'alcool absolu, et après évaporation sous vide de ce dernier, un concentré ou absolu de pommades est obtenu gardant toute la finesse et le parfum de la fleur épuisée.

### II.2.2. MACERATION:

A l'inverse de l'enfleurage où l'extraction s'effectuait à température ambiante, la macération utilise les mêmes graisses mais à chaud, ce qui a pour effet d'augmenter leur pouvoir absorbant.

Cette opération présente donc l'avantage d'être rapide, de sorte qu'elle s'applique préférentiellement aux fleurs qui cessent leurs activités physiologiques de développement au moment de leur cueillette.

L'extraction s'effectue par immersion de fleurs fraîchement cueillies et constamment renouvelées dans un bac de graisse chaude jusqu'à saturation de cette dernière. Un épuisement à l'alcool absolu est généralement effectué sur cette graisse saturée.

Ce procédé fut longtemps utilisé pour l'obtention des parfums de rose, de violette, de mimosa, d'acacia, ... , avant l'avènement du procédé d'extraction au moyen de solvants volatils.

### II.2.3. EXTRACTION PAR SOLVANTS VOLATILS:

L'extraction par solvants volatils est aujourd'hui la méthode la plus usitée. L'épuisement de la matière végétale s'effectue tant à froid qu'à chaud au moyen de solvants organiques désodorisés tels que hexane, toluène, ether de pétrole ou des mélanges binaires de solvants, dans des extracteurs hermétiquement clos. Cette extraction conduit à l'obtention d'essences concrètes, d'absolues et de résinoïdes.

#### II.2.3.1. PRODUCTION DE CONCRETES:

Nous avons représenté sur la figure 2 une unité d'extraction par solvants volatils (16). Le récipient d'extraction contient de la matière végétale recouverte d'un solvant organique désodorisé. La température à laquelle s'effectue l'opération d'extraction varie

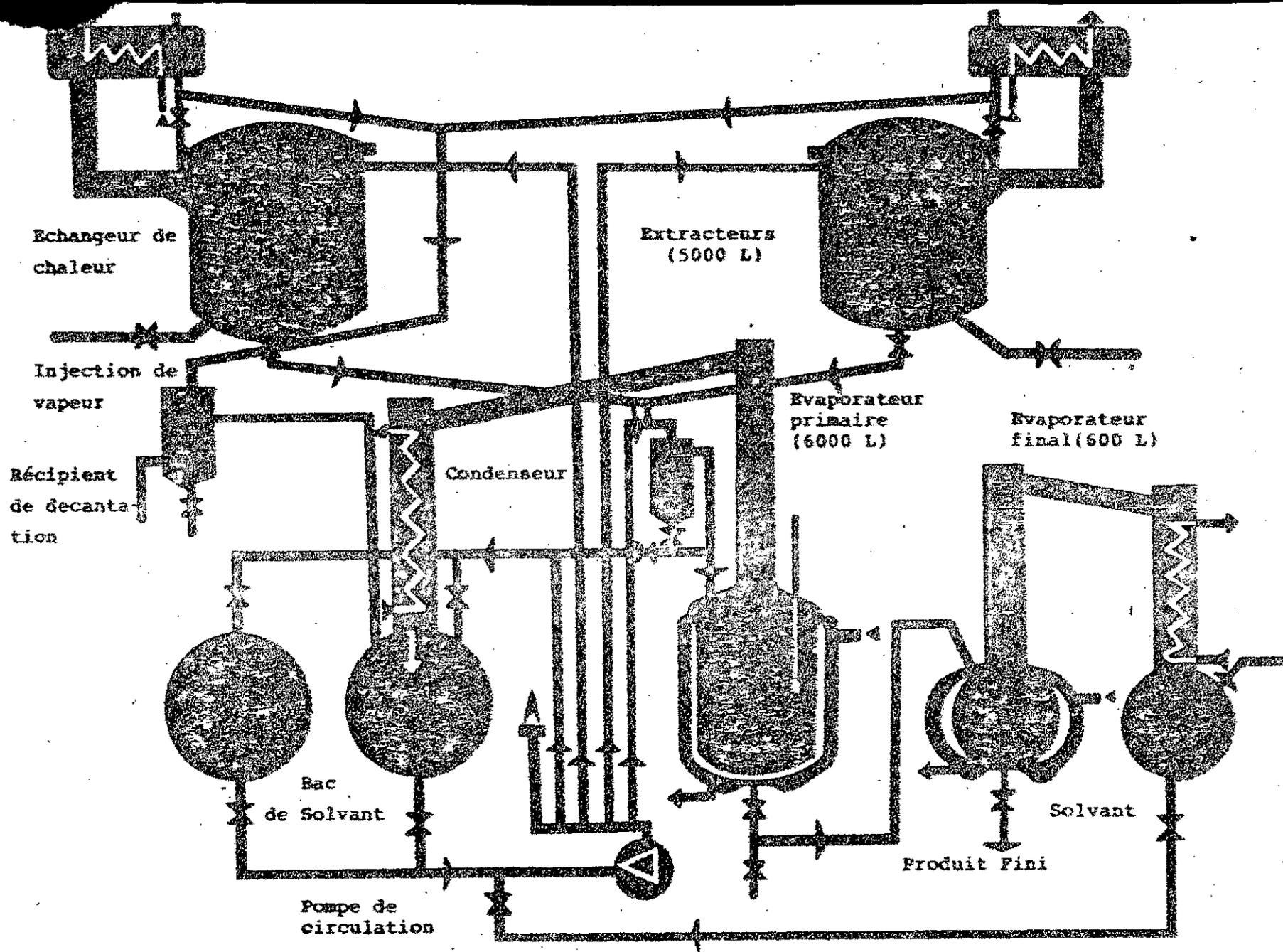


Figure 2 : Unité d'extraction au solvant

selon la nature du solvant utilisé et notamment son point d'ébullition (60 à 80°C). La durée de l'extraction et le nombre possible d'extractions successives varie en règle générale d'une matière végétale à une autre, et plus spécifiquement selon certaines caractéristiques telles qu'humidité ou maturité de la matière végétale. (16)

Après macération, le solvant saturé en huile est pompé dans un premier "concentrateur" où il est porté à son point d'ébullition. Aussi, après refroidissement, le solvant est recyclé et le volume de la solution réduit à un dixième (1/10). Cette dernière solution est enfin aspirée dans un deuxième "concentrateur final" travaillant sous vide. Le produit obtenu alors est désigné sous le nom de concrète ressemblant à une cire graisseuse, plus ou moins solide à température ambiante. Nous remarquerons que ces concrètes, outre les substances aromatiques contiennent également de la cire et des colorants naturels. Aussi y a-t-il lieu de les transformer.

#### II.2.3.2. TRANSFORMATION DES CONCRETES EN ABSOLUES:

Dans la plupart des cas, les produits extraits des matières végétales humides par solvants volatils ou concrètes subissant plusieurs lavages à l'alcool (95%) afin d'éliminer la cire se transforment en absolues généralement liquides bien qu'elles puissent être plus ou moins visqueuses voire pâteuses. Nous avons représenté sur la figure 3 une unité de transformation de concrètes en absolues (16). La concrète additionnée d'alcool à 30-40°C est vigoureusement agitée dans un réacteur. Quand cette solution est réfrigérée à -5, -10°C seules les cires précipitent; en effet, les cires n'étant plus solubles dans l'alcool à basse température (-1°C). L'ensemble passe alors à travers un filtre rotatif qui permet de retenir les cires par adsorption. Le filtrat recueilli après concentration sous vide et élimination de l'alcool n'est autre que de l'absolue, de la concrète exempte de cire.

#### II.2.3.3. PRODUCTION DE RESINOIDES:

Les résinoïdes, produits des matières végétales desséchées, sont obtenues dans un extracteur à filtre flottant tel que représenté sur la figure 4 schématisant une unité d'extraction de résinoïdes

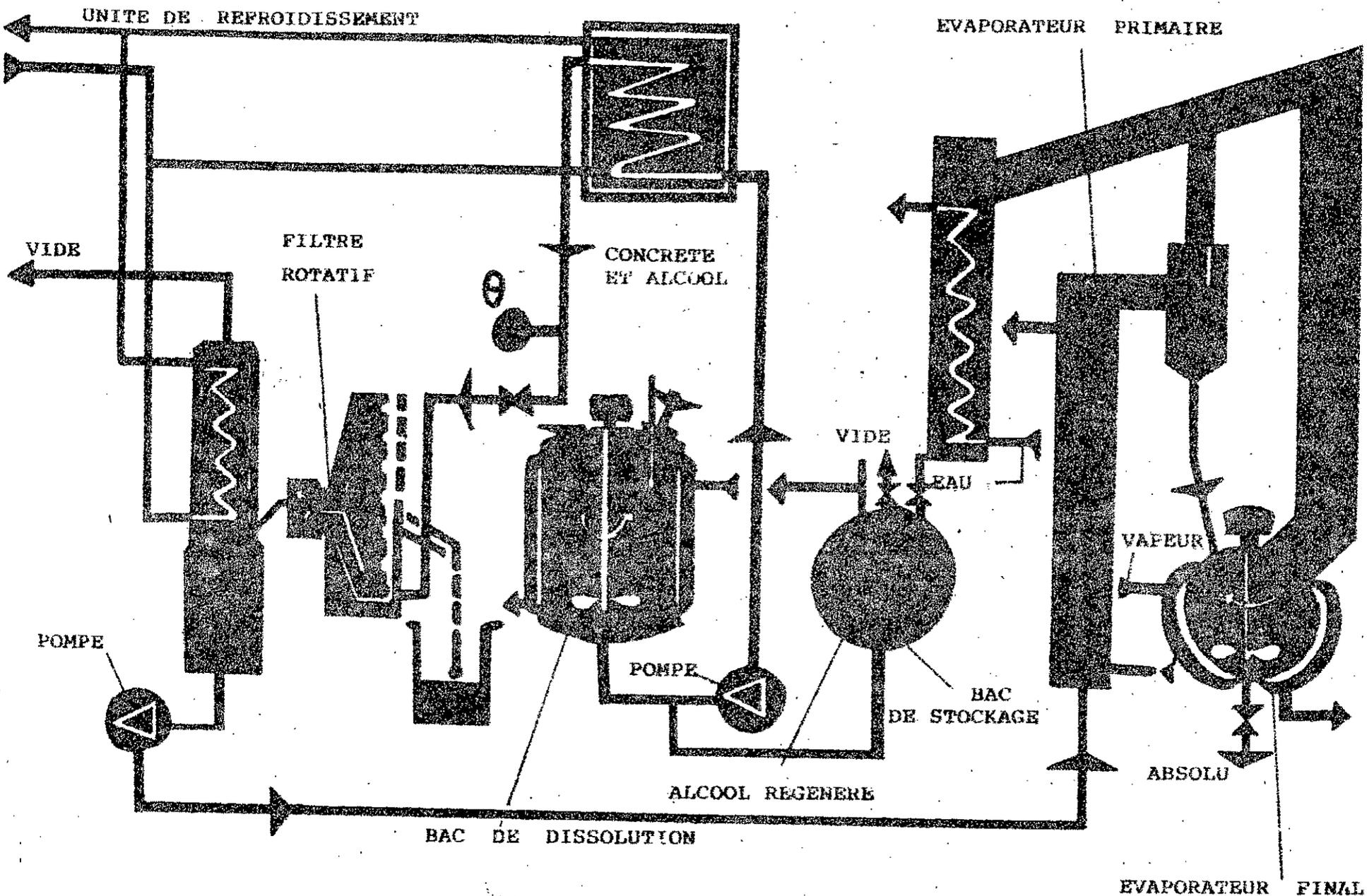


Figure 3. UNITE DE TRANSFORMATION DE CONCRETE EN ABSOLUS

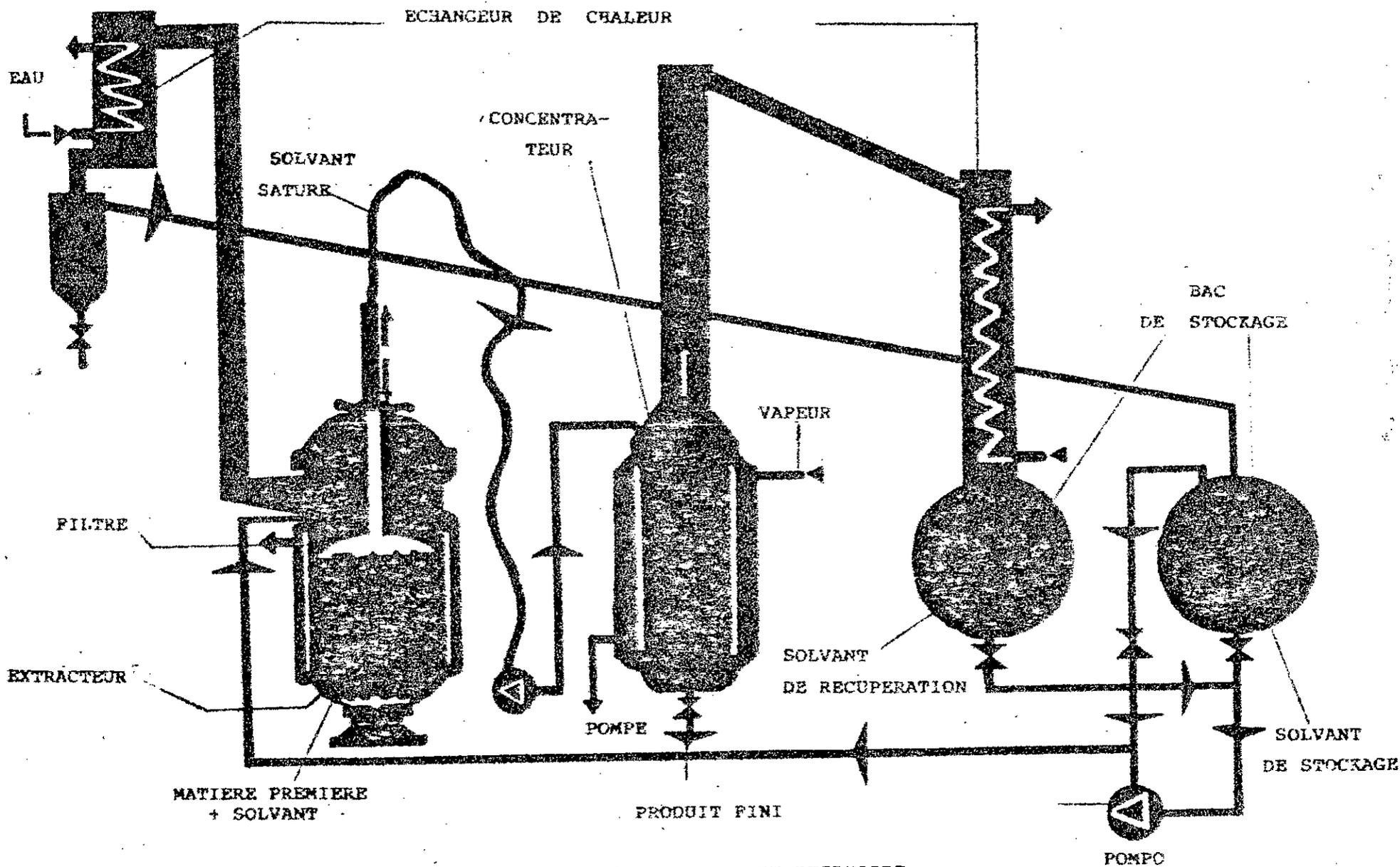


Figure 4 . UNITE D'EXTRACTION DE RESINOIDE

(16). Ainsi, la matière première additionnée du solvant approprié est fortement agitée dans l'extracteur puis filtrée. Le filtrat est ensuite aspiré dans un concentrateur permettant d'évaporer le solvant. Le produit obtenu après élimination totale du solvant est appelé résinoïde. Il est à noter que le solvant le plus souvent utilisé est l'alcool, toutefois d'autres solvants tels que solvants chlorés et autres peuvent être employés et ce, selon la matière végétale à extraire.

Si l'extraction par solvants volatils est la méthode de plus en plus utilisée de nos jours, il n'en demeure pas moins que le choix du solvant approprié est souvent délicat et pose problème vu les critères auxquels il doit répondre. En effet, outre les paramètres physico-chimiques tels que pouvoir solvant élevé, stabilité chimique aux températures d'utilisation et vis à vis de l'huile essentielle, ininflammabilité, faible point de fusion ( $<0^{\circ}\text{C}$ ), le solvant devra satisfaire aux exigences économiques de coût (prix peu élevés), de disponibilité en grande quantité, de salubrité (être non toxique) et enfin devra être neutre à l'égard des appareillages. Aussi, une nouvelle méthode d'extraction mérite d'être citée, il s'agit en l'occurrence de l'extraction au gaz carbonique ( $\text{CO}_2$ ), solvant organique à bas point d'ébullition.

#### II.2.4. EXTRACTION AU $\text{CO}_2$ :

Lors de l'entraînement à la vapeur d'eau et de l'hydrodistillation, la matière végétale est exposée à une température relativement élevée pouvant conduire à des artefacts dus essentiellement aux phénomènes de fragilité thermique et d'hydrolyse de certains composés de l'huile essentielle. Aussi, afin de prévenir ces effets, fait-on appel à l'extraction au moyen d'un solvant sélectif à bas point d'ébullition (17). Cette nouvelle technique d'extraction à basse température utilise principalement le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) comme solvant. Les conditions opératoires optimales sont déterminées expérimentalement pour chaque produit naturel (18). Examinons tout d'abord, comme le montre le diagramme des phases de la figure 5 (16) les différents états physiques observés pour le  $\text{CO}_2$  sous l'effet conjugué de la pression et de la température entre 0 et  $70^{\circ}\text{C}$ . Nous remarquons l'existence de trois phases: gaz, liquide et fluide supercritique représentant un état intermédiaire entre l'état liquide et l'état gazeux dans des intervalles définis de pression et de température autour du point critique ayant pour coordonnées  $31,3^{\circ}\text{C}$  et 1071 psi ( $\approx 73$  atm). Il

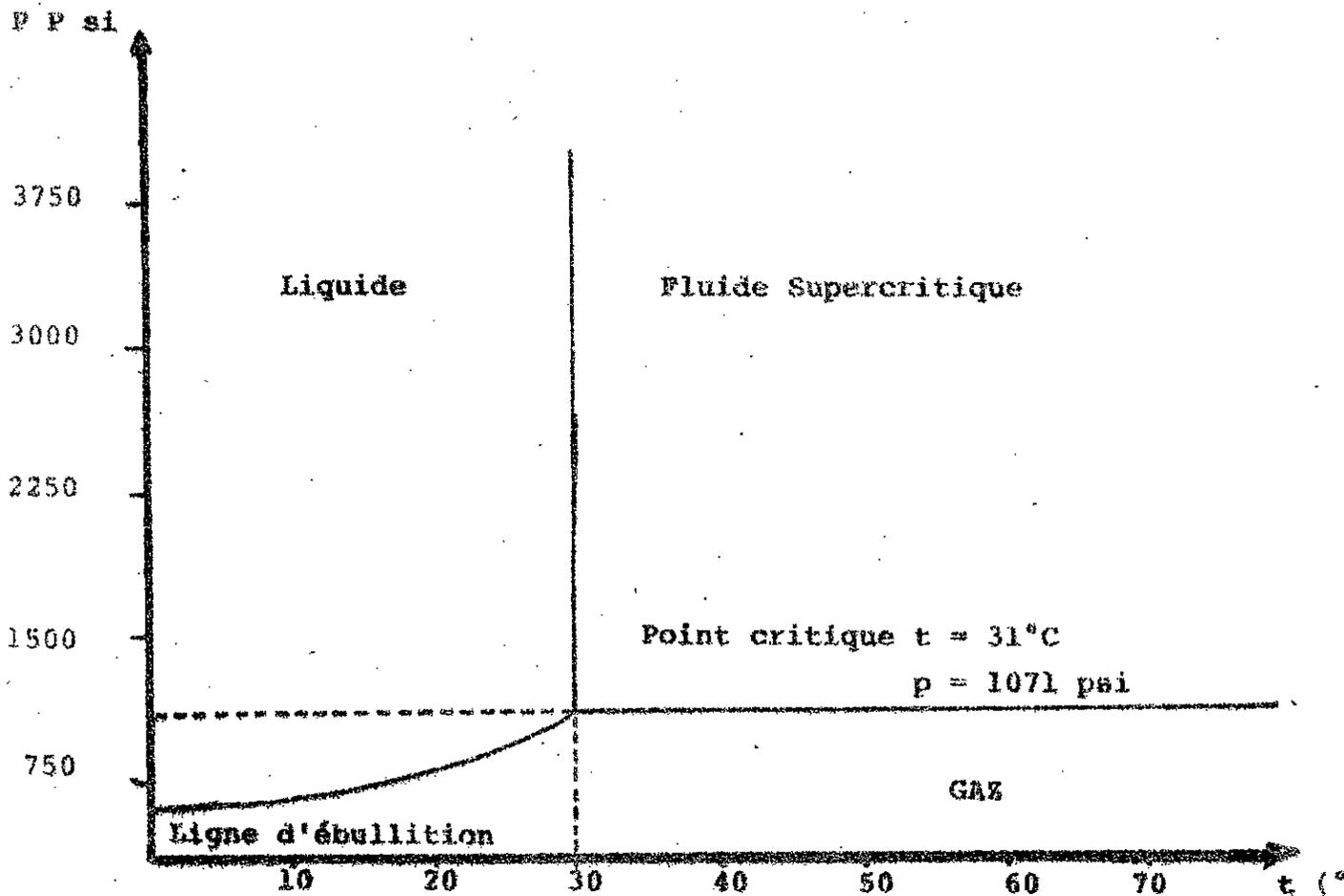


Figure 5 : Diagramme de phases du CO<sub>2</sub> dans l'intervalle 0 à 70°C et haute pression

2

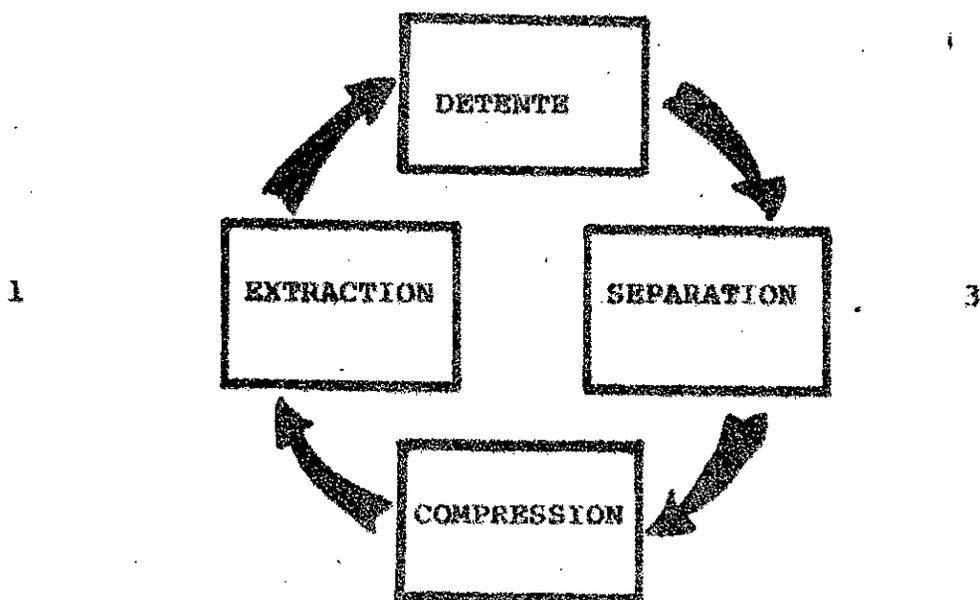


Figure 6 : Diagramme d'extraction au CO<sub>2</sub>- Process

4

apparaît donc que l'extraction au CO<sub>2</sub> peut s'effectuer de deux manières, soit au CO<sub>2</sub> liquide soit encore au CO<sub>2</sub> supercritique.

En effet, la première citée convient bien aux substances volatiles des matières végétales et produits naturels (18-20), (23-25). Quant à la seconde, elle intéresse en particulier, les composés de faible volatilité ou de stabilité thermique limitée, étant donné les propriétés solvatantes des fluides supercritiques. Aussi, n'est-il pas étonnant de voir, depuis une quinzaine d'années, cette dernière technique se développer rapidement et concurrencer les méthodes conventionnelles d'entraînement à la vapeur et d'extraction par solvants. (16, 21, 22)

Elle trouve déjà de nombreuses applications, notamment dans les industries alimentaire, pharmaceutique, pétrochimique et de la chimie fine. (26, 27)

Le CO<sub>2</sub> est de loin le plus utilisé comme solvant et ceci pour plusieurs raisons:

- bonne solubilité de la majorité des constituants d'une matière végétale ou d'un produit semi-fini tel que concrète, résinoïde ou même essence(16);

- récupération aisée des constituants de l'huile essentielle par évaporation; produits obtenus sans trace de solvants (17);

- facilité de manipulation compte tenu de sa basse température critique 31,3°C et de sa pression critique d'environ 75 kg/cm<sup>2</sup>;

- le CO<sub>2</sub> n'est ni toxique, ni inflammable;

- il n'a pas d'odeur donc physiologiquement irréprochable;

- il est relativement bon marché et disponible dans une grande pureté.

Le principe du procédé tel que schématisé sous forme de cycle sur la figure 6, repose sur la bonne solubilité dans le dioxyde de carbone de la majorité des constituants: monoterpéniques, sesquiterpéniques et leurs dérivés oxygénés respectifs.

Le CO<sub>2</sub> pur liquide ou supercritique, selon le cas, est introduit dans l'extracteur 1 préalablement rempli de matière végétale ou de produit semi-fini, et où règnent les conditions opératoires optimales de pression et de température. Après absorption des constituants, la solution de CO<sub>2</sub> saturée d'extrait subit alors une détente dans l'enceinte 2 où les paramètres de pression et/ou de température sont réduits, avant d'être envoyée dans le séparateur 3 afin de condenser les produits et d'éliminer le CO<sub>2</sub> qui, après purification dans un piège, utilisant du charbon et recompression dans le compresseur 4 est recyclé et introduit dans l'extracteur 1.

Sur la figure 7, nous avons représenté une unité d'extraction au dioxyde de carbone (18). Chacun des quatre extracteurs (A, B,

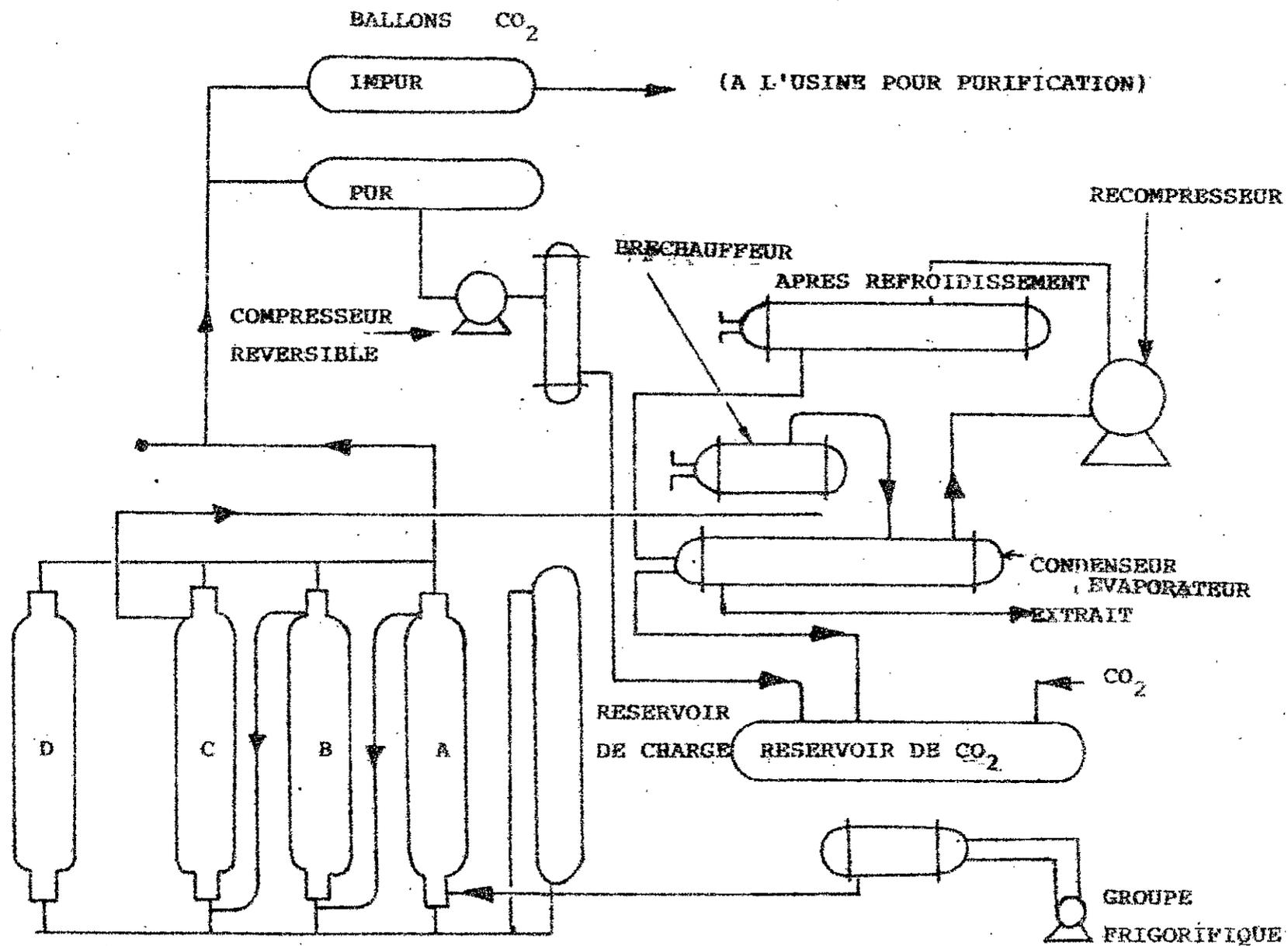


Figure 7 . UNITE D'EXTRACTION AU CO<sub>2</sub>

C, D) possède une capacité de 500 à 600 kg de charge (matière végétale ou produit semi-fini). L'opération se déroule à contre-courant et en régime normal de fonctionnement, seul trois extracteurs sont utilisés.

Outre les avantages précédemment cités, et comparativement aux procédés conventionnels, l'extraction au CO<sub>2</sub> permet d'obtenir des produits plus concentrés et d'odeur plus fine que ceux extraits par entraînement à la vapeur ou par solvants volatils moins sélectifs. De plus, ces produits présentent l'avantage d'être exempts de solvants et d'artefacts ou de "notes d'appareil" qui se retrouvent dans les huiles essentielles fraîchement distillées que l'on a laissées mûrir (18). De manière générale, l'huile essentielle extraite au CO<sub>2</sub> contient peu d'hydrocarbures monoterpéniques et bien plus de composés volatils inexistant dans les huiles distillées à la vapeur; ceci pouvant être dû à la solubilité de ces composés en phase aqueuse ou encore à leur évaporation du système lors de la distillation. Par ailleurs, les propriétés solvatantes du dioxyde de carbone fournissent un extrait concentré en huile essentielle (hydrocarbures plus lourds) et résinoïdes (18).

### II.3. MATIERES PREMIERES VEGETALES:

La qualité d'une huile essentielle dépend de très nombreux facteurs. Certains d'entre eux sont liés à l'espèce et au climat. Aussi, avant toute extraction est-il nécessaire de situer la plante tant du point de vue de l'espèce botanique que du point de vue climatologique et géologique.

#### II.3.1. ESPECES BOTANIQUES:

L'identification d'une plante est généralement difficile. En effet, les plantes constituant une espèce sont le résultat de centaines voire de milliers de combinaisons (28,29).

Ces difficultés d'origines diverses peuvent se résumer comme suit:

-Hybridations:celles-ci provoquent une rupture de l'homogénéité de l'espèce végétale conduisant ainsi à des huiles essentielles de composition fort variable.

-Races chimiques: dans une même espèce, différentes races chimiques peuvent coexister provoquant alors des différences de composition des huiles essentielles obtenues.

-Variations ontogéniques: la période de récolte et l'âge de la plante jouent un rôle prépondérant dans la composition de l'huile essentielle. En effet, des modifications peuvent apparaître au cours de la croissance du végétal et durant le cycle annuel.

-Traumatisme et parasitisme du végétal: une intervention quelconque sur le composé odorant qui est en liberté dans les plantes amène des modifications de composition de l'huile essentielle. Ce composé odorant peut, en effet être étherifié, oxydé, cyclisé, déshydraté par simple piqûre d'insectes.

-Site producteur de l'huile essentielle: l'huile essentielle peut se trouver dans les feuilles, l'écorce, les tiges, ... Aussi, pour une même plante, le rendement en huile essentielle et sa composition varient en fonction de la partie de la plante extraite, comme le montre l'exemple du tableau II ci-après relatif au cèdre.

Tableau II: Composition chimique de l'huile essentielle du bois et des feuilles du cèdre rouge

Composition de l'huile du bois de cèdre rouge (30)	Composition de l'huile(31) des feuilles de cèdre rouge
Rendement : 2 à 2,5%	Rendement : 0,2%
. Cédrene (80%)	. $\alpha$ -pinène
. Cédrol	. d-limonène
. Pseudocédrol	. Bornéol
. Cédrenol	. Cadinène

### II.3.2. CONDITIONS CLIMATOLOGIQUES ET GEOLOGIQUES:

La nature du sol, la situation géographique, l'ensoleillement, la pluviométrie et l'hygrométrie constituent autant de facteurs pouvant influencer la composition d'une huile essentielle extraite d'une même plante.

Nous donnerons dans le chapitre suivant l'exemple relatif aux constituants rencontrés dans le bois de cèdre de l'Himalaya et

celui de l'Atlas, mais auparavant, faisons une brève présentation botanique du cèdre.

En 1950, Boudy (32) estimait que le cèdre de l'Atlas couvrait une superficie de 145000 hectares dont 116000 au Maroc et 29000 en Algérie. Ces cédraies se caractérisent par un âge très avancé et sont impressionnantes de par leurs dimensions: certains cèdres pouvant atteindre 40 m au Maroc et voire 60 m au Népal.

Au Maroc, le cèdre se retrouve dans le Rif à des altitudes de 1400 à 1600 m et dans le Moyen-Atlas entre 1600 et 2200 m. En Algérie, nous le rencontrons dans l'Ouarsenis entre 1400 et 1600 m, l'Atlas blidéen, le Djurdjura, les monts du Hodna et les Aurès.

Du point de vue taxonomique, le genre *Cedrus* est représenté par les quatre espèces suivantes que l'on rencontre respectivement:

-en Afrique du Nord : *Cedrus Atlantica* Manetti.

-au Proche-Orient : *Cedrus Libani* Borell (notamment rencontré en Turquie, Syrie et au Liban).

-à Chypre : *Cedrus Brévifolia* Dode.

-dans l'Himalaya : *Cedrus Deodora* Loudon.

Parmi toutes ces espèces, nous nous sommes intéressés au cèdre croissant en Algérie c'est-à-dire au *Cedrus Atlantica* Manetti.

#### II.4. TRAVAUX ANTERIEURS RELATIFS AU CEDRE:

De nombreux travaux ont été effectués sur les divers types de cèdre existant de par le monde entre autres, cèdre de l'Atlas marocain, cèdre de l'Himalaya et de Virginie, cèdre du Liban, du Texas et de l'Afrique de l'Est.

Concernant la région du Maghreb, les seuls travaux connus ont été menés sur le cèdre de l'Atlas marocain.

Parmi toutes ces études, certaines traitent des propriétés physico-chimiques, d'autres de la composition chimique des huiles extraites de son bois et de la structure de ses constituants.

##### II.4.1. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES HUILES ESSENTIELLES DES DIFFERENTS TYPES DE CEDRE:

De manière générale, toute huile essentielle est caractérisée par un ensemble de grandeurs physico-chimiques dont nous rappelons brièvement chacune des définitions.

• Densité  $d_t^4$  : C'est le rapport du poids d'un certain volume d'échantillon à une température  $t$  au poids du même volume

d'eau à température standard. Le choix de l'état standard à 4°C permet l'identification des chiffres qui mesurent la densité et la masse volumique. (33)

$$d^4_t = \frac{\text{poids d'un volume de produit à } t}{\text{poids du même volume d'eau à } 4^\circ\text{C}} = \text{masse volumique (6)}$$

•Pouvoir rotatoire  $(\alpha)^t_D$  :Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle  $(\alpha)$  est l'angle, exprimé en milliradians ou en degrés d'angle, dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde  $589,3 \text{ nm} \pm 0,3 \text{ nm}$ , correspondant aux raies D du sodium, lorsque celle-ci traverse une épaisseur de 100 mm de l'huile essentielle dans des conditions déterminées de température. (34)

•Indice de réfraction  $n^20_D$  :l'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à température constante. La longueur d'onde spécifiée est  $(589,3 \pm 0,3)\text{nm}$ , correspondant aux radiations D<sub>1</sub> et D<sub>2</sub> du spectre du sodium.

La température de référence est 20°C, sauf pour les huiles essentielles qui ne sont pas à l'état liquide à cette température. (35)

•Indice d'acide I<sub>A</sub> : l'indice d'acide est le nombre de milligrammes de potasse nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans un gramme de substance. (36)

$$I_A = 5,6 \frac{n_1 - n_2}{m}; m=0,1 \text{ g} \quad (7)$$

$n_1$  -volume (cm<sup>3</sup>) de potasse utilisé pour le virage dans la fiole A

$n_2$  -volume (cm<sup>3</sup>) de potasse utilisé pour le virage dans la fiole B témoin.

•Indice d'ester I<sub>E</sub> : L'indice d'ester est le nombre de milligrammes de potasse nécessaire pour effectuer la saponification totale des esters-sels contenus dans un gramme de substance.(36)

$$I_E = 28 \frac{n - n_1}{m} * 10^3 ; n = 10 \text{ ou } 20 \text{ cm}^3 ; m = 0,1 \text{ g} \quad (8)$$

virage.

-Solubilité dans l'alcool à 90 %: Une huile essentielle est dite miscible à V volumes et plus d'éthanol de titre alcoométrique déterminé, à la température de 20°C, lorsque le mélange d'un volume de l'huile considérée avec V volumes de cet éthanol est limpide et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre, jusqu'à un total de 20 volumes. (37)

#### II.4.1.1. BOIS DE CEDRE DE L'ATLAS MAROCAIN:

Par entraînement à la vapeur d'eau, le bois de cèdre de l'Atlas marocain fournit un rendement de 3 à 5% en huile essentielle. Cette dernière est produite industriellement dans les montagnes de l'Atlas marocain, et plus particulièrement à Azrou.(38)

Cette huile visqueuse se présente sous la forme d'un liquide légèrement brunâtre caractérisée par une odeur balsamique plaisante et tenace.

Gildemeister et Hoffman (39) rapportèrent les principales propriétés physico-chimiques connues de cette huile et présentées ci-dessous.

Densité	$d_{4}^{15}$	.....	0,945	à	0,968
Pouvoir rotatoire	$(\alpha)^{20}_{D}$	.....	+43°0'	à	+62°0'
Indice de réfraction	$n^{20}_{D}$	.....	1,512	à	1,517
Indice d'acide	$I_A$	.....	> 2		
Indice d'ester	$I_E$	.....	3	à	11
Indice d'ester après acétylation ( $I_E$ ) <sub>ac</sub>		.....	30	à	16
Teneur totale en alcool, calculée comme					

C<sub>15</sub> H<sub>26</sub> O :..... 12 à 19%

Solubilité :..... soluble dans 1 à 10 volumes d'alcool à 90%; la solubilité augmentant avec la teneur en alcools sesquiterpéniques.

Quant aux huiles du bois de cèdre de l'Atlas distillées au Maroc par Massy (40), elles ont les propriétés physico-chimiques variant à l'intérieur des limites suivantes:

Densité	$d_{4}^{15}$	.....	0,9384	à	0,9587
Pouvoir rotatoire	$(\alpha)^{20}_{D}$	.....	+35°16'	à	+49°14'
Indice de réfraction	$n^{20}_{D}$	.....	1,5061	à	1,5132
Indice d'acide	$I_A$	.....	0,50	à	2,16
Indice d'ester	$I_E$	.....	3,75	à	8,86
Indice d'ester après acétylation ( $I_E$ ) <sub>ac</sub>		.....	28,26	à	40,01

Solubilité :..... soluble dans 1 à  
6 volumes d'alcool à 90%

En accord avec le bulletin édité par la société marocaine d'exploitations forestières (41), l'huile du bois de cèdre de bonne qualité possédera les propriétés physico-chimiques suivantes:

Densité	$d_{15}^4$ :.....	0, 939	à	0,945
Pouvoir rotatoire	$(\alpha)_{20}^D$ :.....	+45°0'	à	+55°0'
Indice d'acide	$I_A$ :.....	> 1		
Indice d'ester	$I_E$ :.....	Pas moins de 20		
Indice d'ester après acétylation	$(I_E)_{ac}$ :.....	28, 26	à	40,01
Solubilité	:.....	soluble dans moins de 10 volumes d'alcool à 90 %		

#### II.4.1.2. BOIS DE CEDRE DE L'HIMALAYA:

La distillation de ce bois donne un rendement de 2, 5% en huile essentielle caractérisée par une odeur balsamique plaisante.(42)

Roberts (43), Schimmel & collaborateurs\_ (44), Simonsen & Rao (45) rapportèrent les propriétés physico-chimiques connues du bois de cèdre de l'Himalaya (Deodora Cedra) comme suit:

Densité	$d_{15}^4$ :.....	0,9530	à	0,9756
Pouvoir rotatoire	$(\alpha)_{20}^D$ :.....	+34°0'	à	+53°8'
Indice de réfraction	$n_{20}^D$ :.....	1,515	à	1,523
Indice d'acide	$I_A$ :.....	1,6	à	5,6
Indice d'ester	$I_E$ :.....	4,9	à	20,5
Indice d'ester après acétylation	$(I_E)_{ac}$ :.....	30,8	à	39,2
Solubilité	:.....	L'une des huiles est soluble en toutes proportions dans l'alcool à 90%. Par contre, les deux autres huiles sont partiellement solubles dans l'alcool à 90%.		

#### II.4.1.3. BOIS DE CEDRE DU LIBAN:

Distillant du bois de cèdre du Liban, Schimmel & collaborateurs (46) ont obtenu un rendement de 3, 5% d'une huile jaunâtre possédant une odeur balsamique, légèrement "parfumée" par la méthyl-hepténone et la thuyone.

Les propriétés physico-chimiques de ces huiles mesurées par Schimmel & coll. varient dans le domaine de valeurs suivantes:

Densité	$d^{15}_4$	:.....	0,940	à	0,947
Pouvoir rotatoire	$(\alpha)^{20}_D$	:.....	+68°0'	à	+86°0'
Indice de réfraction	$n^{20}_D$	:.....	1,5125	à	1,5134
Indice d'acide	$I_A$	:.....	0,5	à	1,5
Indice d'ester	$I_E$	:.....	2,0	à	3,0
Indice d'ester après acétylation ( $I_E$ ) <sub>ac</sub>		:.....	19,8		
Solubilité		:.....	soluble dans 5 à 6 volumes d'alcool à 95%		

Intervalles d'ébullition des fractions recueillies par distillation sous 754 mm Hg:

270°C à 275°C	:.....	30%
275°C à 280°C	:.....	40
280°C à 285°C	:.....	14%
285°C à 290°C	:.....	6%
Résidu de distillation	:.....	10%

Par entraînement à la vapeur d'eau du bois de cèdre du Liban coupé en fines lamelles, Massy (47) a obtenu 6% d'huile ayant les propriétés physico-chimiques suivantes:

Densité	$d^{15}_4$	:.....	0,9570
Pouvoir rotatoire	$(\alpha)^{20}_D$	:.....	+43°28'
Indice d'acide	$I_A$	:.....	0,7
Indice de saponification	$I_s$	:.....	4,84
Indice d'ester après acétylation ( $I_E$ ) <sub>ac</sub>		:.....	33,77
Solubilité		:.....	soluble dans un volume d'alcool à 90%
Intervalle de température sous pression atmosphérique		:.....	270 à 290°C d'ébullition

#### II.4.1.4. BOIS DE CEDRE DE VIRGINIE (*Juniperus Virginiana* L.):

Concernant le rendement en huiles, certains chercheurs remarquèrent que celui-ci était de l'ordre de 2 à 2,5% quand le bois est réduit en poudre alors qu'il est de 3% lorsque le bois est intact.

Selon Huddle (48), le cèdre rouge de Virginie donne un rendement de 3,5% alors que sa sève ne fournit qu'un rendement de 1%. La majeure partie des huiles se trouve donc dans le coeur du bois. L'huile volatile extraite par entraînement à la vapeur du *Juniperus Virginiana* L est incolore et se présente sous forme d'un

liquide visqueux à odeur balsamique douce et tenace qui est une caractéristique de l'huile du cèdre rouge.

Selon Gildemeister et Hoffman (39), l'huile du bois de cèdre de Virginie possède les propriétés physico-chimiques suivantes:

Densité	$d^{15}_4$	.....	0,943	à	0,964
Pouvoir rotatoire	$(\alpha)^{20}_D$	.....	-18°0'	à	-4,2°0'
Indice de réfraction	$n^{20}_D$	.....	1,50	à	1,51
Indice d'acide	$I_A$	.....	> 1,5		
Indice d'ester	$I_E$	.....	> 12		
Indice d'ester après acétylation	$(I_E)_{ac}$	.....	26	à	28

#### II.4.1.5. BOIS DE CEDRE DU TEXAS:

Le *Juniperus Mexicana* Schiede, appelé aussi "cèdre du Texas" est un arbre de taille plutôt moyenne, sa hauteur ne dépassant pas 20 feets.

Son rendement en huile varie de 1,8 à 2,3%. Selon Pool (49), le rendement est meilleur, quand le bois est séché.

L'huile extraite par entraînement à la vapeur est brunâtre et se présente sous forme d'un liquide visqueux ayant une odeur caractéristique du bois de cèdre. Du fait de sa grande teneur en cédrol, les huiles du bois de cèdre texan possède une haute valeur de densité, ce qui est souvent recherché pour les huiles du bois de cèdre.

Des échantillons analysés par Fritzsche Brothers, Inc, New York possèdent les propriétés physico-chimiques suivantes:

Densité	$d^{15}_4$	.....	0,945	à	0,978
Pouvoir rotatoire	$(\alpha)^{20}_D$	.....	-33°54'	à	-62°3'
Indice de réfraction	$n^{20}_D$	.....	1,5029	à	1,5084
Solubilité		.....	soluble dans 8 à 10 volumes d'alcool à 90%		

#### II.4.1.6. BOIS DE CEDRE DE L'AFRIQUE DE L'EST:

Le bois de cèdre de l'Afrique de l'Est (*Juniperus Procera* Hochst) ressemble à celui du cèdre rouge d'Amérique du Nord.

En distillant des copeaux de bois de cèdre de l'Afrique de l'Est, Schimmel & coll. (50) a obtenu un rendement de 3,2%, tandis que le rendement n'était que 2% pour des copeaux fraîchement

découpés selon Macculloch (51). Des distillations ultérieures menées sur des copeaux de bois par Beckley (52) ont donné un rendement en huile de 0,90 à 2,57 %.

Les propriétés physico-chimiques de cette huile rapportées par Gildemeister et Hoffman (39) varient dans les limites suivantes:

Densité	$d^{15}_4$	:.....	0,968	à	0,988
Pouvoir rotatoire	$(\alpha)^{20}_D$	:.....	+16°0'	à	+38°30'
Indice de réfraction	$n^{20}_D$	:.....	1,4805	à	1,509
Indice d'acide	$I_A$	:.....	1,0	à	15
Indice d'ester	$I_E$	:.....	1,0	à	9,0
Indice d'ester après acétylation ( $I_E$ ) <sub>ac</sub>		:.....	70,0		
Solubilité		:.....	soluble dans 60 volumes d'alcool à 70%, dans 1,6 volumes d'alcool à 80% et dans 0,5 à 5 volumes d'alcool à 90%.		

Certes, ces études limitées aux seules propriétés physico-chimiques ne suffisent pas à caractériser l'huile du bois de cèdre, aussi proposons-nous de les compléter par des travaux analytiques de détermination de composition chimique et structure.

## II.4.2. COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DES DIFFERENTS TYPES DE CEDRE:

### II.4.2.1. BOIS DE CEDRE DE L'ATLAS:

Les seuls travaux menés à ce jour sont ceux effectués sur le bois de cèdre de l'Atlas marocain que l'on présentera dans l'ordre chronologique.

En 1902, GRIMAL (53) signala, pour la première fois, un constituant de l'huile essentielle du bois de cèdre de l'Atlas comme étant le méthyl-1 acétyl-4 cyclohexène dont la structure (A) est donnée dans le tableau III ci-dessous. Plus tard, au cours des années 1932 et 1934, PFAU et PLATTNER (54) signalèrent la présence d' $\alpha$ - et - atlantones (B) et (C) comme cétones caractéristiques retrouvées à la fois dans le bois de cèdre de l'Atlas (*Cedrus Atlantica*) et dans celui de l'Himalaya (*Cedrus deodora*). En 1961, VON BREDEBERG et ERDTMANN (55), isolèrent à leur tour, l' $\alpha$  et le  $\beta$ -himachalène (D) et (E) de l'essence de l'Atlas et du Liban. Ces deux sesquiterpènes ont été également isolés à partir de l'essence de l'Himalaya par DEV & coll (56).

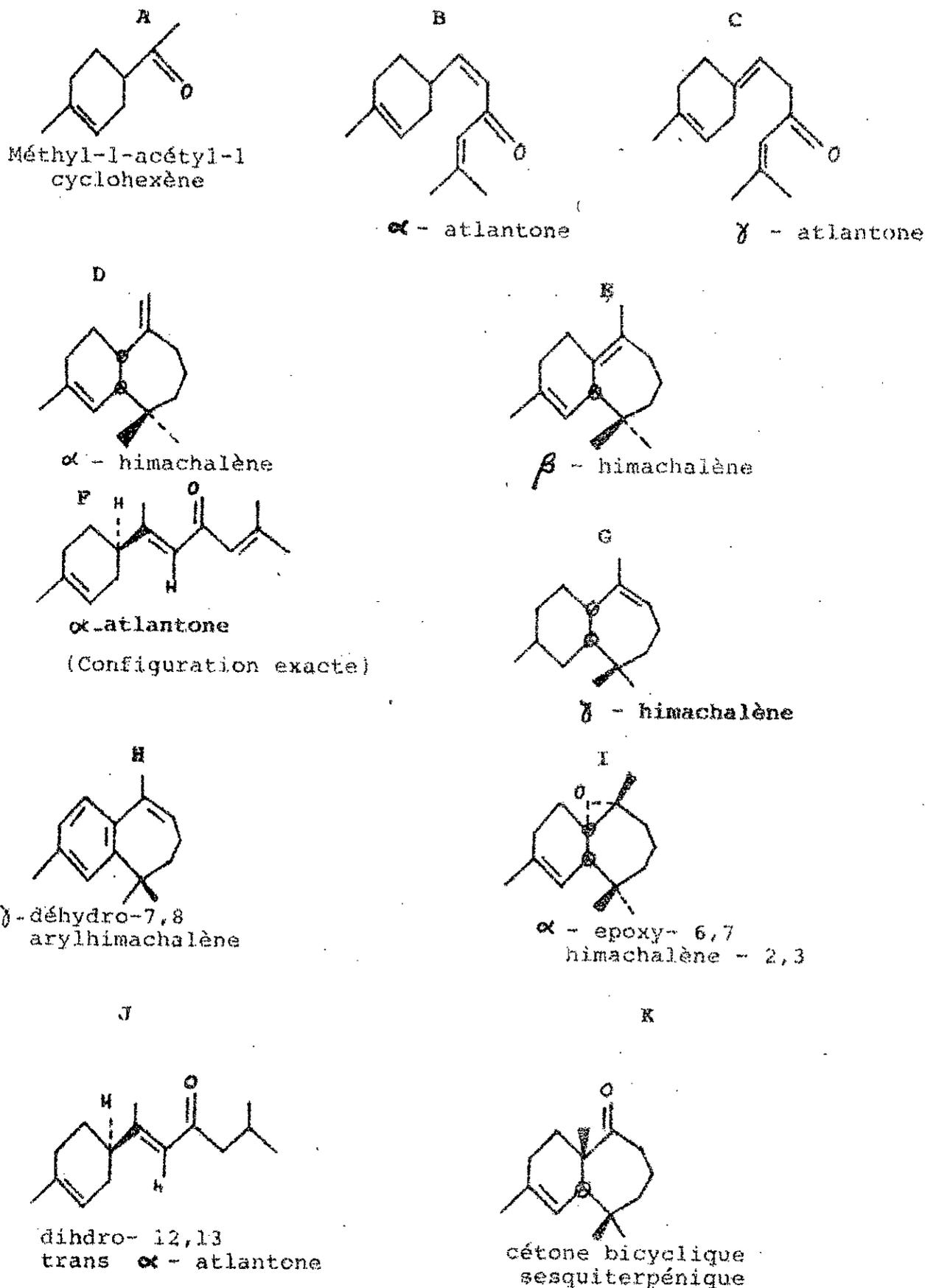
En 1974, PLATTIER et TEISSEIRE (57) s'étaient proposés de déterminer la structure exacte et la configuration absolue de l' $\alpha$ -atlantone (F) et d'améliorer les connaissances relatives à la composition de l'essence du bois de cèdre de l'Atlas.

Ainsi, ils ont réussi à isoler cinq nouveaux sesquiterpènes, en l'occurrence le -himachalène (G), le -déhydro-7, 8 arylhimachalène (H), l' $\alpha$ -époxy-6,7 himachalène-2,3 (I), la dihydro-12,13 trans- $\alpha$ -atlantone (J) et une cétone sesquiterpénique bicyclique dont la structure exacte n'a pu être déterminée mais pour laquelle, ils proposèrent la formule (K) objet d'un autre travail (58) dans lequel ils suggérèrent que la structure proposée (K) serait due à un réarrangement de l' $\alpha$ -époxy-6, 7 himachalène-2, 3 (I).

### II.4.2.2. BOIS DE CEDRE DES ETATS-UNIS:

Deux huiles du bois de cèdre sont produites aux Etats-unis celles du bois de Virginie (*Juniperus Virginiana* L. ) et du bois de cèdre du Texas (*Juniperus Mexicana* L. ). (59)

Tableau III : Structure et configuration absolue de quelques constituants principaux de l'huile essentielle du bois de cèdre de l'Atlas.



Bien que ces huiles soient obtenues à partir d'espèces de *Juniperus* différentes elles présentent beaucoup de similitude.

En effet, elles contiennent les mêmes constituants majeurs, cependant, les pourcentages individuels varient d'une huile à l'autre.

En 1960, RUNEBERG (60) a pu montrer que l'huile du bois de cèdre des Etats-Unis contenait 35% d' $\alpha$ -cédrene, 30% de thujopsène, 2% de cuparène, 4% de cédrol et 2% de widdrol.

Sept ans plus tard, WENNINGER & coll. (61) ont étudié la fraction d'hydrocarbures sesquiterpéniques (55-65%) du bois de cèdre américain. Ces auteurs ont trouvé que la fraction sesquiterpénique contenait du  $\beta$ -élémente, de l' $\alpha$ -cédrene, du caryophyllène, du  $\beta$ -cédrene, du thujopsène, de l'humulène, de l'acorène, du valencène, deux cuprénènes et du cuparène.

Une année plus tard, WALKER (62) rapporta que l'huile de cèdre contenait 80% de cédrene et 3 à 14% de cédrol. En 1970, WENNINGER et YATES (63) confirmèrent les premières analyses de l'huile du bois de cèdre et ajoutèrent le  $\beta$ -chamigrène à leur liste d'hydrocarbures sesquiterpéniques isolés à partir de cette huile. En 1971, KITCHENS & coll. (64) examinèrent la composition chimique de ces deux huiles du bois de cèdre américain. Ils trouvèrent que ces huiles contenaient de l' $\alpha$ -cédrene, du  $\beta$ -cédrene, du thujopsène, du cédrol, du widdrol, du pseudo cédrol, du cédrol-1, du  $\beta$ -chamigrène, du widdrene, de l'isowiddrene, de l' $\alpha$ -chamigrène, un isomère du widdrene, du cuparène-2, du cuparène-4 et du cuparène. En outre, ces mêmes auteurs comparèrent les principaux composés contenus dans cette huile du Texas et de Virginie et reportés dans le tableau IV suivant.

TABLEAU IV: Pourcentage des principaux composés des huiles de bois de cèdre du Texas et de Virginie

Composés	Cèdre de Virginie (%)	Cèdre du Texas (%)
$\alpha$ -cédrene	20,0	21,2
$\beta$ -cédrene	6,6	4,9
Thujopsène	18,9	29,0
Autres hydrocarbures sesquiterpéniques	13,3	15,5
Cédrol	31,6	25,0
Widdrol	4,8	4,2

En 1980, LAWRENCE (65) analysa plusieurs huiles de bois de cèdre du Texas et de Virginie, en utilisant la spectroscopie I. R comme moyen d'identification. Les composés suivants furent identifiés:

Juniperus Virginiana		Juniperus Mexicana	
$\alpha$ -pinène	(0,3-0,5%)	$\alpha$ -pinène	(0,2-0,3%)
$\alpha$ -cédrene	(18,2-30,9%)	$\alpha$ -cédrene	(23,7-24,5%)
Caryophyllène	(2,5-2,8%)	Caryophyllène	(0,5-0,6%)
$\beta$ -cédrene	(4,6-8,9%)	$\beta$ -cédrene	(5,5-5,8%)
Thujopsène	(14,6-15,6%)	Thujopsène	(30,3-34,7%)
Cédrol	(21,6-30,6%)	Cédrol	(14,5-17,6%)
-eudesmol	(4,1- 6,3%)	-eudesmol	( 2,3- 2,6%)

#### II.4.3. STRUCTURES DES COMPOSÉS DE L'HUILE DU BOIS DE CÈDRE ET PRINCIPALEMENT CELLE DES HIMACHALENES:

L'étude chimique des constituants des huiles essentielles, au XIX<sup>e</sup> siècle, a permis de découvrir un certain nombre d'hydrocarbures isomères de formule  $(C_5H_8)_n$  et principalement  $C_{10}H_{16}$  qui furent appelés "terpènes". On identifia aussi leurs dérivés oxygénés monofonctionnels notamment des alcools et des cétones, ainsi que d'autres constituants moins volatils formés à partir de squelettes en  $C_{15}$  ou  $C_{20}$ , etc... Il s'agissait de sesquiterpènes, de diterpènes, de triterpènes, etc...

L'une des classes les plus importantes est celle des composés en  $C_{15}$ , les sesquiterpènes et leurs dérivés; ils résultent de la condensation de trois unités d'isoprènes ( $C_5H_8$ ). Ces composés ont parfois des structures inhabituelles, tels que le caryophyllène (L), hydrocarbure provenant de l'essence du clou de girofle, le cédrol (M), alcool tricyclique donnant au bois de cèdre son odeur caractéristique.

(L):caryophyllène

(M):cédrol

Les analyses effectuées sur l'huile du bois de cèdre de l'Atlas marocain, ainsi que nos propres investigations, ont montré

que les principaux constituants de cette huile sont des himachalènes; aussi présenterons-nous leur structure.

C'est à partir de l'huile essentielle du bois de cèdre de l'Himalaya que, pour la première fois, ont été isolés les himachalènes ( $\alpha$  et  $\beta$ ) (66).

Des échantillons d'himachalènes de pureté chromatographique possèdent les propriétés physiques suivantes présentées dans le tableau V ci-dessous.

TABLEAU V: Caractéristiques physiques des  $\alpha$ - et  $\beta$ -himachalènes hydrocarbures en  $C_{15}H_{24}$  de masse moléculaire 204

	Température d'ébullition sous une pression en mm Hg	$n^{25}_D$	$d^{25}_4$	$(R)_D$	$(\alpha)^{25}_D$
$\alpha$ -himachalène	93-94°C/2	1,5082	0,9206	66,08	-192,3°
$\beta$ -himachalène	121-122°C/4	1,5130	0,9330	65,72	+224,7°

#### II.4.3.1. RELATION ENTRE L' $\alpha$ - ET LE $\beta$ - HIMACHALÈNE:

De tous les hydrocarbures en  $C_{15}H_{24}$  analysés, les valeurs des réfractions molaires  $(R)_D$  du tableau V calculées à l'aide de la relation:

$$(R)_D = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \cdot \frac{M}{d} \quad (9)$$

suggèrent que ces hydrocarbures sont des composés bicycliques contenant des chaînes éthyléniques. (56)

La nature bicyclique de ces sesquiterpènes est confirmée par l'hydrogénation catalytique ( $AcOH$  et  $PtO_2$ ) quantitative et les titrations à l'acide percamphorique (67). Ces deux méthodes montrent la présence de deux chaînes éthyléniques dans la molécule. L' $\alpha$ -himachalène donne un composé cristallin: le di- $\alpha$ -époxyde dont les caractéristiques physiques sont les suivantes:

- point de congélation : 125-126°C
- pouvoir rotatoire dans  $CHCl_3$  à 12,5% :  $(\alpha)^{20}_D = +144^\circ$

tandis que l'isomère  $\beta$  fournit uniquement un produit liquide de caractéristiques physiques:

-intervalle de température d'ébullition

: 126-130°C

sous une pression de 2 mm Hg

-indice de réfraction à 26°C

:  $n^{26}_D = 1,4939$

-pouvoir rotatoire dans  $\text{CHCl}_3$  à 2%

:  $(\alpha)^{26}_D = +87^\circ$

Il apparaît donc que l' $\alpha$ - et le  $\beta$ -himachalène ne diffèrent que par la position de l'une des deux chaînes éthyléniques.

#### II.4.3.2. FAITS STRUCTURAUX:

Les méthodes spectroscopiques notamment Infra-Rouge (I. R.) et Résonance Magnétique Nucléaire (R. M. N.) du proton ont été mises en oeuvre afin de vérifier et de corroborer les structures proposées pour l' $\alpha$ - et le  $\beta$ -himachalène.

Aussi, le spectre I. R. de l' $\alpha$ -himachalène (56) représenté sur la figure 8 montre des bandes de vibration respectivement à 3060, 1770, 1625 et 885  $\text{cm}^{-1}$  correspondant à  $>\text{C}=\text{CH}_2$  et à 1665 et 865  $\text{cm}^{-1}$  relatives à  $>\text{C}=\text{CH}-$ . Ces assignations sont par ailleurs confirmées par les spectres R. M. N. tant de l' $\alpha$ -himachalène que de son dérivé dihydrogéné. En effet, selon son spectre R. M. N. représenté sur la figure 9 l' $\alpha$ -himachalène montre un signal  $2\text{H}^\ominus$  à 283 cps et un autre petit et diffus  $1\text{H}^\ominus$  à 322 cps assignables respectivement aux protons du groupe vinylidène et à celui de la chaîne trisubstituée (56). Par ailleurs, ce spectre R. M. N. révèle la présence de protons de type  $\ominus$  de deux radicaux méthyles apparaissant à 58 et 60 cps et un signal  $3\text{H}^\ominus$  à 108 cps correspondant aux trois protons du radical méthyle de la chaîne oléfinique trisubstituée.

Le dihydro- $\alpha$ -himachalène, quant à lui, ne montre plus qu'une absorption correspondant à  $>\text{C}=\text{CH}-$  tant en I. R. (1657 et 862  $\text{cm}^{-1}$ ) qu'en R. M. N. (1H petit et diffus à 328 cps).

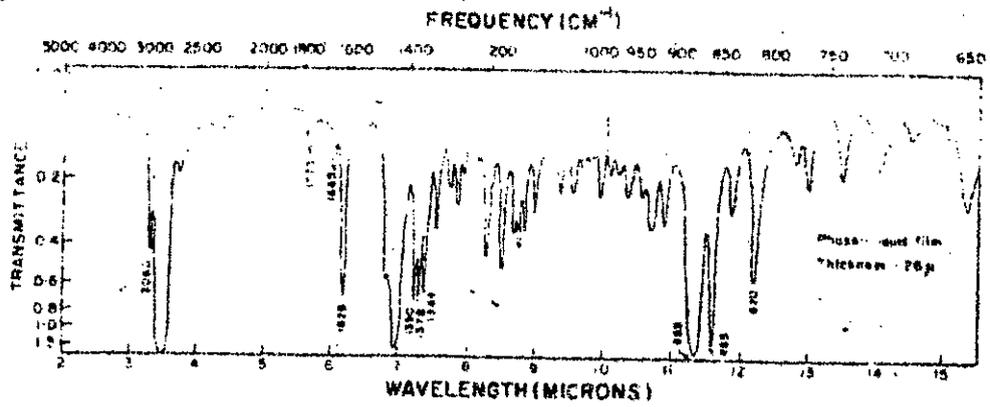


Figure 8 : Spectre I.R. de 1'  $\alpha$ -himachalène

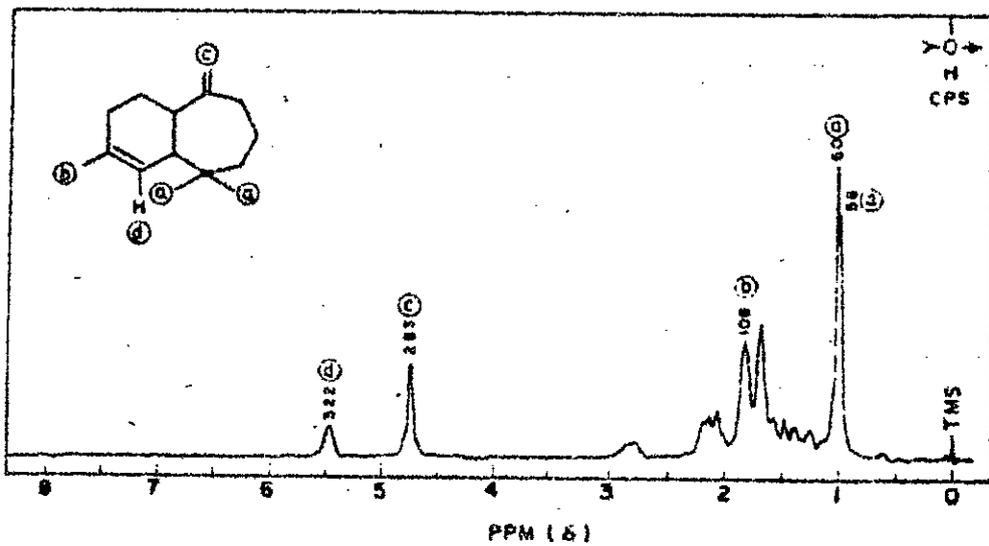
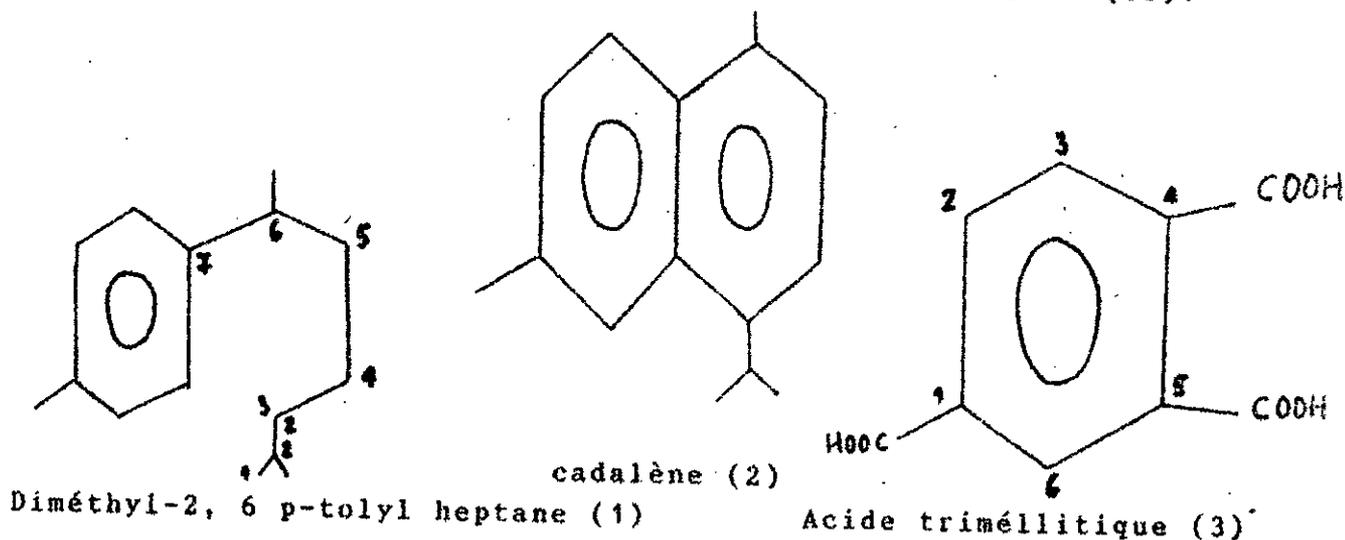


Figure 9 : Spectre R.M.N. de 1'  $\alpha$ -himachalène

Les spectres I. R. et R. M. N. (56) du  $\beta$ -himachalène représentés sur les figures respectivement 10 et 11 ne montrent plus qu'une absorption spécifique due à la présence de la seule chaîne  $>C=CH-$ . En effet, en I. R., nous n'observons plus que des bandes à  $1665$  et  $857\text{ cm}^{-1}$ , tandis qu'en R. M. N., il ne subsiste qu'un signal  $1H$  diffus et partiellement centré à  $319\text{ cps}$ .

#### II.4.3.3. DETERMINATION DU SQUELETTE CARBONE DES HIMACHALENES:

De l' $\alpha$ -himachalène pur et du  $\beta$ -himachalène ont donné le même produit de réaction lors de la déshydrogénation secondaire. En effet, lors de cette déshydrogénation effectuée à  $305-310^\circ\text{C}$  durant 48 heures, les himachalènes donnent trois produits principaux (A, B et C) dans les rapports suivants: A(39%), B(28%) et C(30%). Par contre, lorsque celle-ci est effectuée à  $210-215^\circ\text{C}$  pendant 2 heures, les produits de la réaction sont essentiellement les composés A (56%) et B (33%); le produit C n'apparaissant qu'à l'état de traces (<5%) (56). Le premier composé A a pu être identifié comme étant le diméthyl-2, 6 p-tolyl heptane (1) par comparaison avec un étalon, tandis que le composé C a été reconnu comme étant le cadalène (2). Quant au produit B, la déshydrogénation sulfurique et l'oxydation par l'acide nitrique conduit aux acides téréphtalique et triméllitique (3). Aussi, pouvons-nous suggérer que le composé B n'est autre qu'un benzène trisubstitué (1, 3, 4). Ceci est d'ailleurs confirmé par les bandes observées en I. R. dans la région  $1650-1950\text{ cm}^{-1}$  (68).



A l'aide de ces données, nous pouvons conclure que les himachalènes ont un squelette carboné capable de scission en

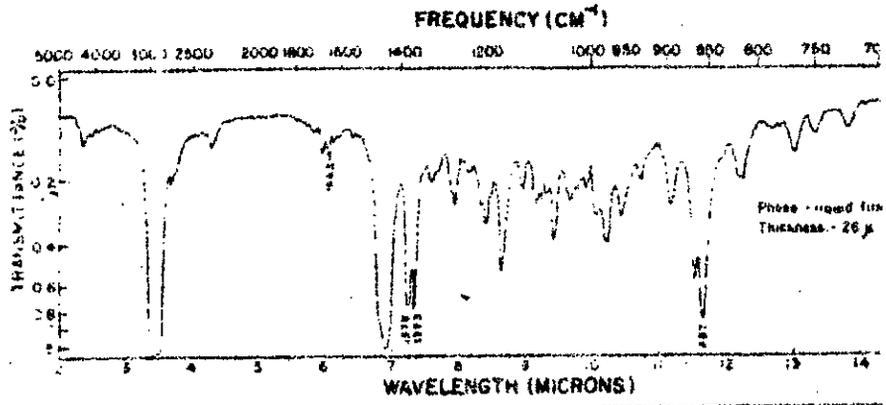


Figure 10 : Spectre I.R. du  $\beta$ -himachalène

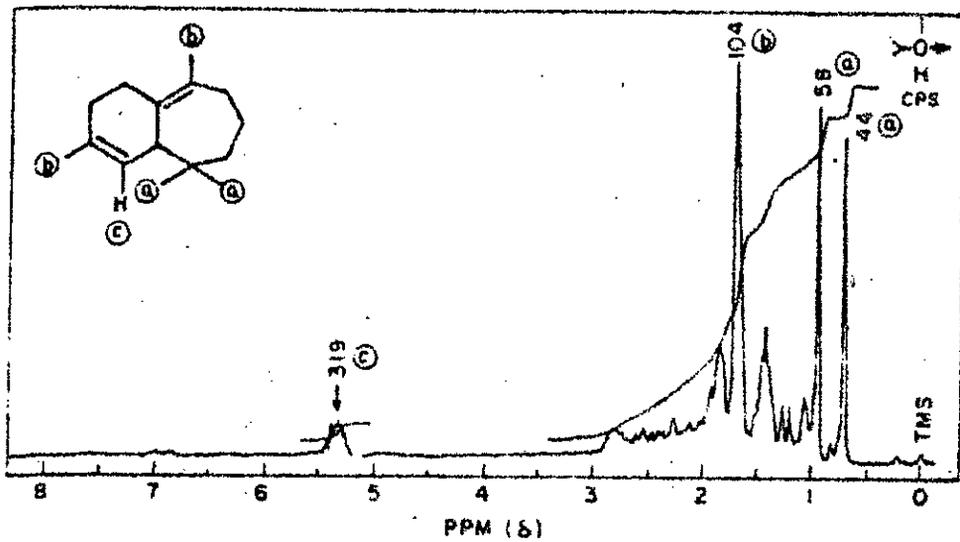
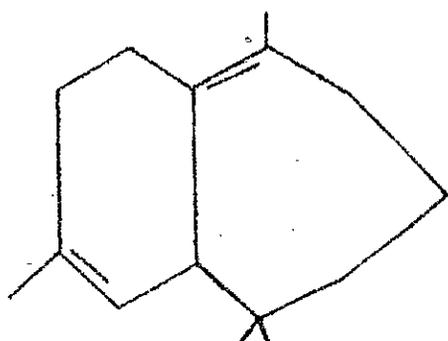


Figure 11 : Spectre R.M.N. du  $\beta$ -himachalène

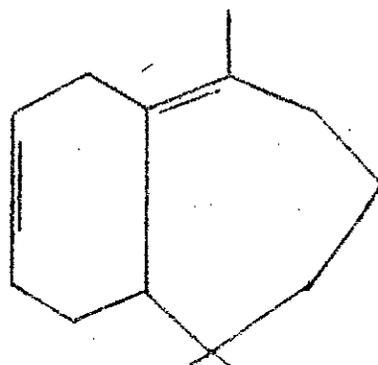
espèces qui peuvent ultérieurement conduire au diméthyl-2, 6 p-tolyl heptane (1), au cadalène (2) et à un composé B du type benzène trisubstitué (1, 3, 4).

#### II.4.3.4. STRUCTURE DU $\beta$ -HIMACHALENE:

Toutes les considérations citées précédemment montrent que la structure du  $\beta$ -himachalène peut être représentée par l'une ou l'autre des formules ci-dessous N ou P.



N



P

Cependant, N semble être la plus probable comme le montrent les résultats obtenus lors de l'oxydation par l'ozone du  $\beta$ -himachalène et représentés sur la figure 12.

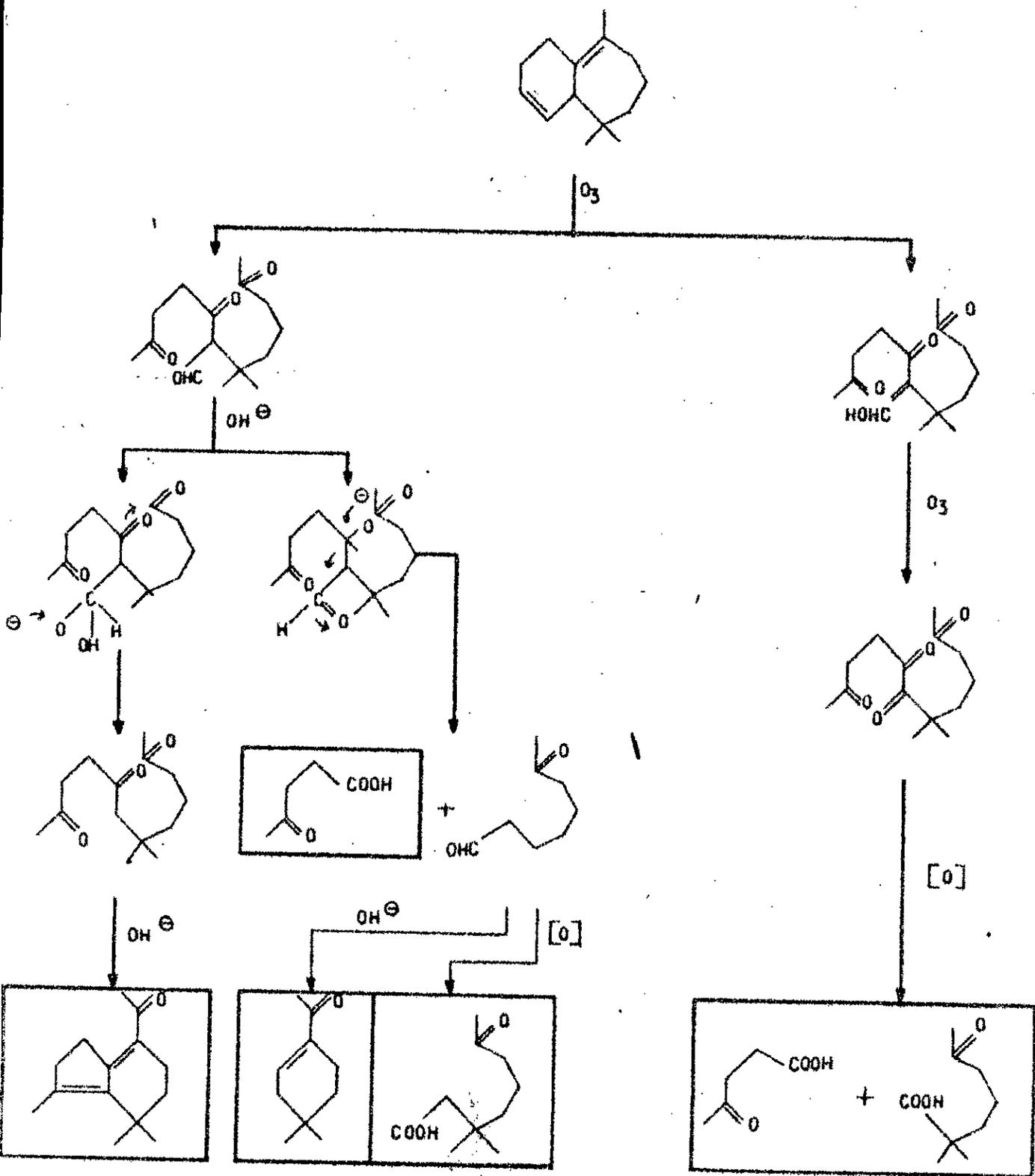
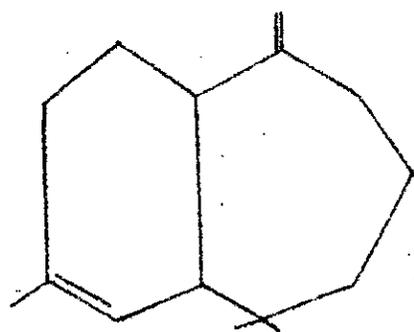


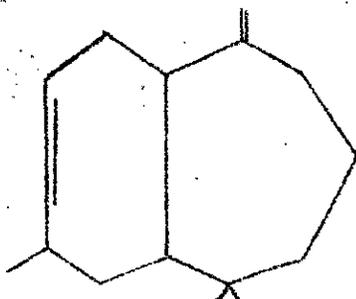
Figure 12; Oxydation du  $\beta$  - himachalène par l'ozone

### II.4.3.5. STRUCTURE DE L' $\alpha$ -HIMACHALENE:

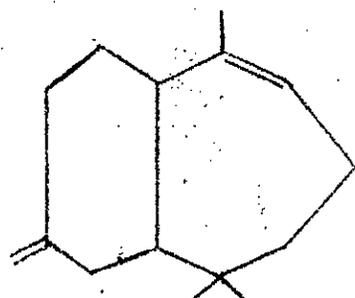
Partant du squelette carboné établi pour les himachalènes, trois structures (Q, R et S) peuvent être proposées pour formuler l' $\alpha$ -himachalène.



Q.



R



S

Toutefois, des études (69-71), notamment par spectroscopies U.V., I. R. et R. M. N., des produits d'hydrogénation et d'oxydation de l' $\alpha$ -himachalène ont montré que sa structure ne pouvait être que la formule Q.

### III. APPAREILLAGE: CONCEPTION ET REALISATION:

Toute installation et équipement d'extraction nécessite, au préalable, de définir la taille et le type de l'opération. Or, parmi les procédés d'extraction précités le plus largement utilisé reste l'entraînement à la vapeur d'eau. Aussi, avons-nous choisi de concevoir et de réaliser une installation pilotée d'extraction combinant l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur. Celle-ci est schématisée sur la figure 13. Nous examinerons successivement les trois parties essentielles composant cette installation d'extraction, en l'occurrence, la génératrice de vapeur ou chaudière, le distillateur ou alambic et enfin le condenseur et le receveur de condensats.

#### III.1. LA CHAUDIERE OU GENERATRICE DE VAPEUR:

La chaudière réalisée (72) se présente sous la forme d'un bac parallélépipédique de dimensions en mm (700 \* 600 \* 500) surmontée, à sa partie supérieure, d'une sortie de vapeur commandée par une vanne de diamètre 38,1 mm soit 1,5 inch, et d'une soupape de sécurité (73). Le contrôle du niveau d'eau de la chaudière est assuré par un tube en verre fixé le long de la paroi latérale externe du bac. Le chauffage est réalisé par des résistances immergées dans l'eau, alimentées par des disjoncteurs et fixées sur la paroi latérale gauche du bac.

L'étanchéité, tant au niveau des résistances que de la paroi latérale gauche de cette génératrice, est assurée par des joints en caoutchouc.

Enfin, dans un souci de minimiser les pertes de chaleur par conduction et convection naturelle, toutes les faces du bac sont recouvertes de plaques d'amiante.

La figure 14 représente le schéma détaillé du montage de la chaudière.

La puissance de chauffe nécessaire a été calculée sur la base des deux hypothèses suivantes:

- la différence de température moyenne du fluide de part et d'autre de la vanne (tube de sortie de vapeur) n'excède pas 3°C;

- la vitesse maximale du fluide dans le tube de vapeur est supposée être de 1 m/s.

- 1 Alambic
- 2 Chapiteau
- 3 Col de cygne
- 4,5 Citerne de vapeur d'eau
- 6 Indicateur de niveau d'eau
- 7,8 Purges
- 9 Sortie de vapeur
- 10 Condenseur
- 11 Entrée d'eau de refroidissement
- 12 Sortie d'eau de refroidissement
- 13 Sortie de distillat
- 14 Brides
- 15 Génératrice de vapeur

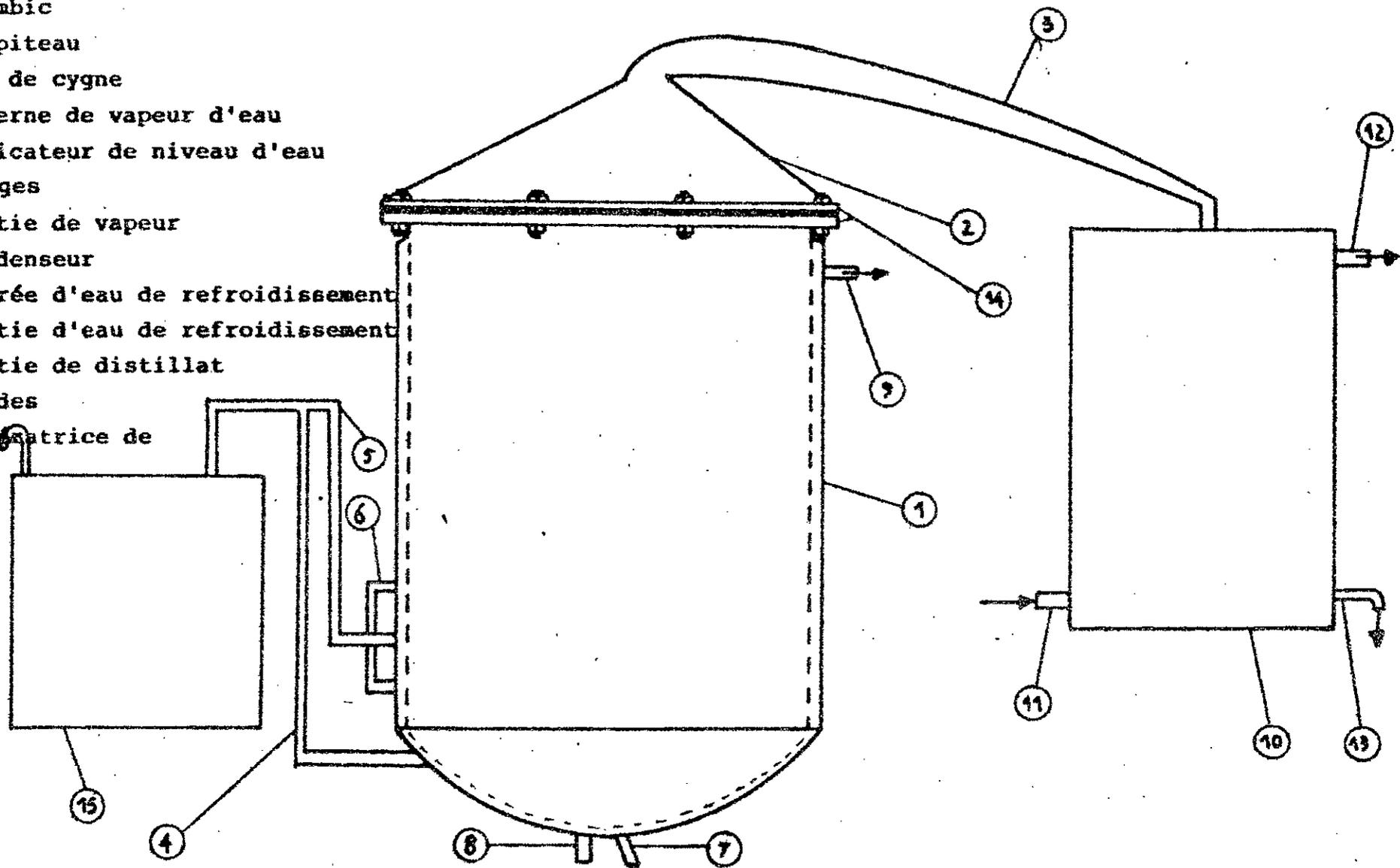


Figure 13 : Schéma de l'Installation

1. Résistance chauffante.
2. Joint d'étanchéité en caoutchouc.
3. Ecrou de serrage et de fixation de la résistance.
4. Ecrou de fixation du couvercle latéral gauche.
5. Joint périphérique en caoutchouc.
6. Plaque métallique usinée où sont fixées les 12 résistances.
7. Soupape de sécurité.
8. Vanne de commande de la sortie de vapeur.
9. Vanne d'alimentation de la chaudière en eau.
10. Contrôle du niveau d'eau dans la chaudière.

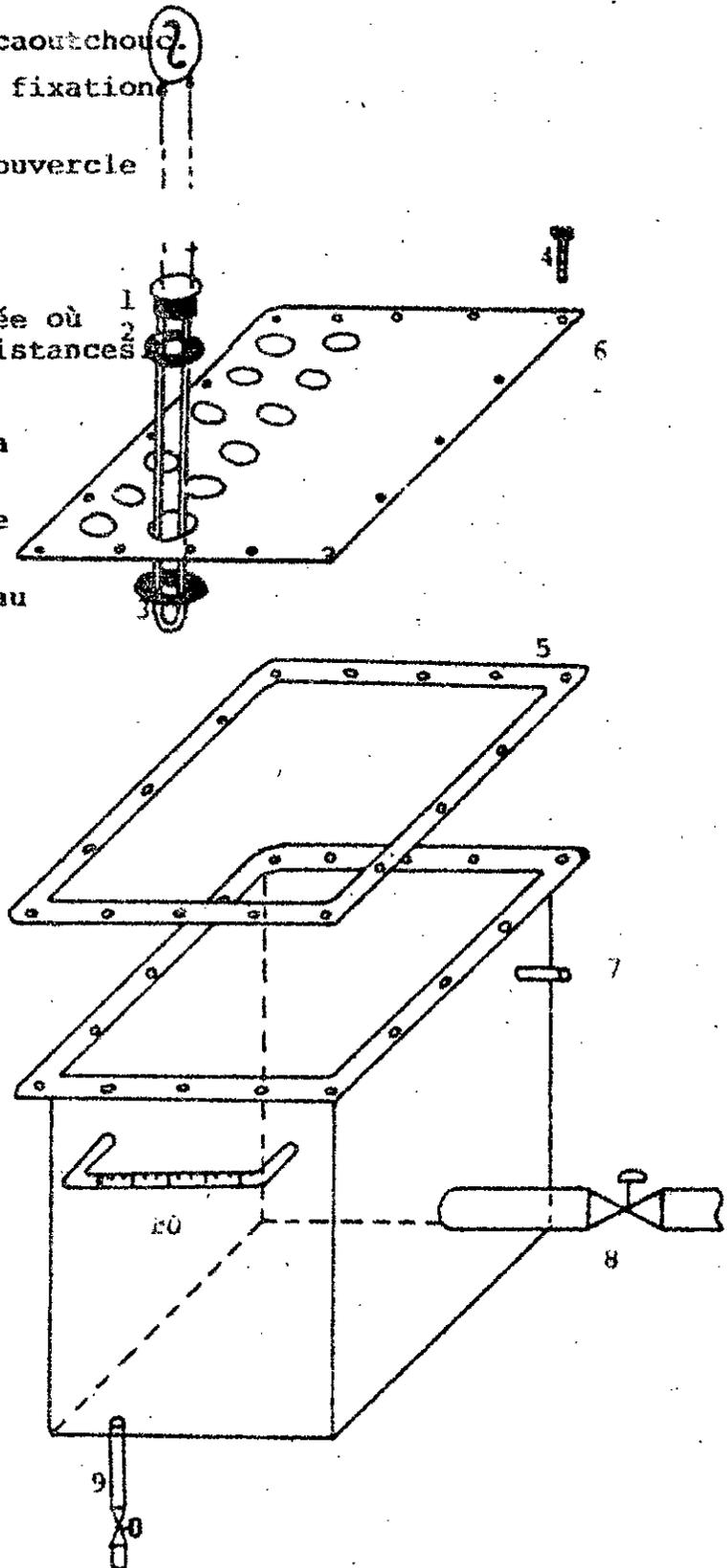


Figure 14 : Schéma détaillé du montage de la chaudière.

Ainsi, le débit maximum de vapeur circulant à l'intérieur de ce tube d'un diamètre intérieur  $d$  de 35 mm sera de :

$$D = \frac{\pi d^2}{4} * v = 3,464 \text{ m}^3 / \text{h}$$

La quantité de chaleur nécessaire pour transformer ce débit en vapeur d'eau s'écrira :

$$Q = m * C_p * \Delta t \quad (10)$$

où  $m$  est le débit massique du fluide soit  $3,464 \cdot 10^3$  kg/h et  $C_p$  la chaleur spécifique de l'eau soit 4186,8 kJ/kg degré. Il en résultera une puissance de chauffe évaluée à  $Q/3600$  s soit environ 12 kW.

En supposant, par ailleurs, que les pertes thermiques sont de l'ordre de 15%, la puissance réelle de chauffe sera de 13,8 kW.

Pour ce faire, six résistances (74) furent alimentées, deux à deux, par trois disjoncteurs; chacun d'entre eux débitant une puissance électrique de 2,31 kW.

### III.2. LE DISTILLATEUR OU ALAMBIC;

Il sert, avant tout, de récipient recevant la charge de matière végétale et dans lequel se déroule l'opération d'entraînement à la vapeur de l'huile essentielle de cette matière végétale. Schématiquement, ce récipient appelé également alambic se présente sous la forme d'un cylindre de diamètre légèrement inférieur à sa hauteur. En règle générale, dans les opérations à grande échelle requérant de plus grandes capacités, le diamètre des alambics ne devra pas excéder toutefois 2,50 à 3,30 m. Aussi, est-il préférable d'augmenter la hauteur plutôt que le diamètre de ces alambics. (2)

Par ailleurs, lors du dimensionnement de l'appareil, il faut avoir présent à l'esprit que les plantes sont non seulement très volumineuses mais aussi que, durant la distillation, elles subissent un gonflement et une dilatation pouvant ainsi augmenter leur volume du tiers. Les dimensions de l'alambic (hauteur et largeur) sont également en relation avec la porosité de la matière végétale. Ainsi, de grandes hauteurs sont généralement choisies lors de l'extraction d'huiles essentielles de plantes volumineuses, par contre, pour des matières végétales compactes telles que le bois,

il est préconisé des hauteurs d'alambics sensiblement supérieures à leurs largeurs.

En outre, dans le cas de l'entraînement à la vapeur, afin de s'assurer d'un réel et bon contact entre vapeur et charge végétale, cette dernière sera répartie uniformément en fines couches sur des grilles (plateaux perforés) suffisamment espacées entre elles. Par ailleurs, la vapeur devra être distribuée de façon convenable dans l'alambic. A cet effet, il est préconisé une conduite enroulée en spirale ou en croix et perforée de petits trous dont le diamètre n'excédera pas celui de la conduite, afin que la vapeur ne puisse pas uniquement s'échapper des premiers trous.

Enfin, l'alambic cylindrique se terminera, à sa partie supérieure, par un chapiteau tronc conique muni d'un col de cygne (tube légèrement recourbé descendant avec une faible pente vers le condenseur) et à sa partie inférieure, par une calotte hémisphérique munie en son centre, d'un robinet de purge permettant l'évacuation des eaux condensées dans la charge. L'alambic conçu pour mener deux types d'opération, en l'occurrence l'entraînement à la vapeur et la distillation mixte (eau + vapeur), a été réalisé (75) à l'échelle pilote dans le rapport 1/5 en tenant compte des normes industrielles de construction. Il comprend deux parties essentielles:

- la partie cylindrique appelé "cucurbite" ou "porte-bagages" représentée sur la figure 15 qui possède les dimensions suivantes: hauteur 757 mm et largeur (diamètre) 500 mm.

- la partie tronc conique haute de 243 mm appelée "chapiteau" et représentée sur la figure 16 qui se prolonge à sa partie supérieure par une conduite nommée "col de cygne". La cucurbite réalisée en cuivre est constituée d'un premier cylindre de diamètre 476/478 mm plongeant dans un second de diamètre 498/500 mm servant de double paroi. Ces deux cylindres co-axiaux se terminent, à leur extrémité inférieure, par des calottes hémisphériques munies en leur centre, de robinets de purge permettant de temps à autre, l'évacuation des eaux condensées à l'intérieur de l'alambic et de son enveloppe.

Sur les parois internes du premier cylindre, sont soudés des ergots servant de supports aux quatre (04) plateaux perforés sur lesquels est répartie la charge de matière végétale. Ces ergots au nombre de seize (16) sont équirépartis à raison de quatre (04) ergots distants entre eux de 374 mm par plateau. Les plateaux ou grilles sont quant à eux, des plaques circulaires de cuivre perforées de trous de 3 mm de diamètre; chacun d'entre eux étant



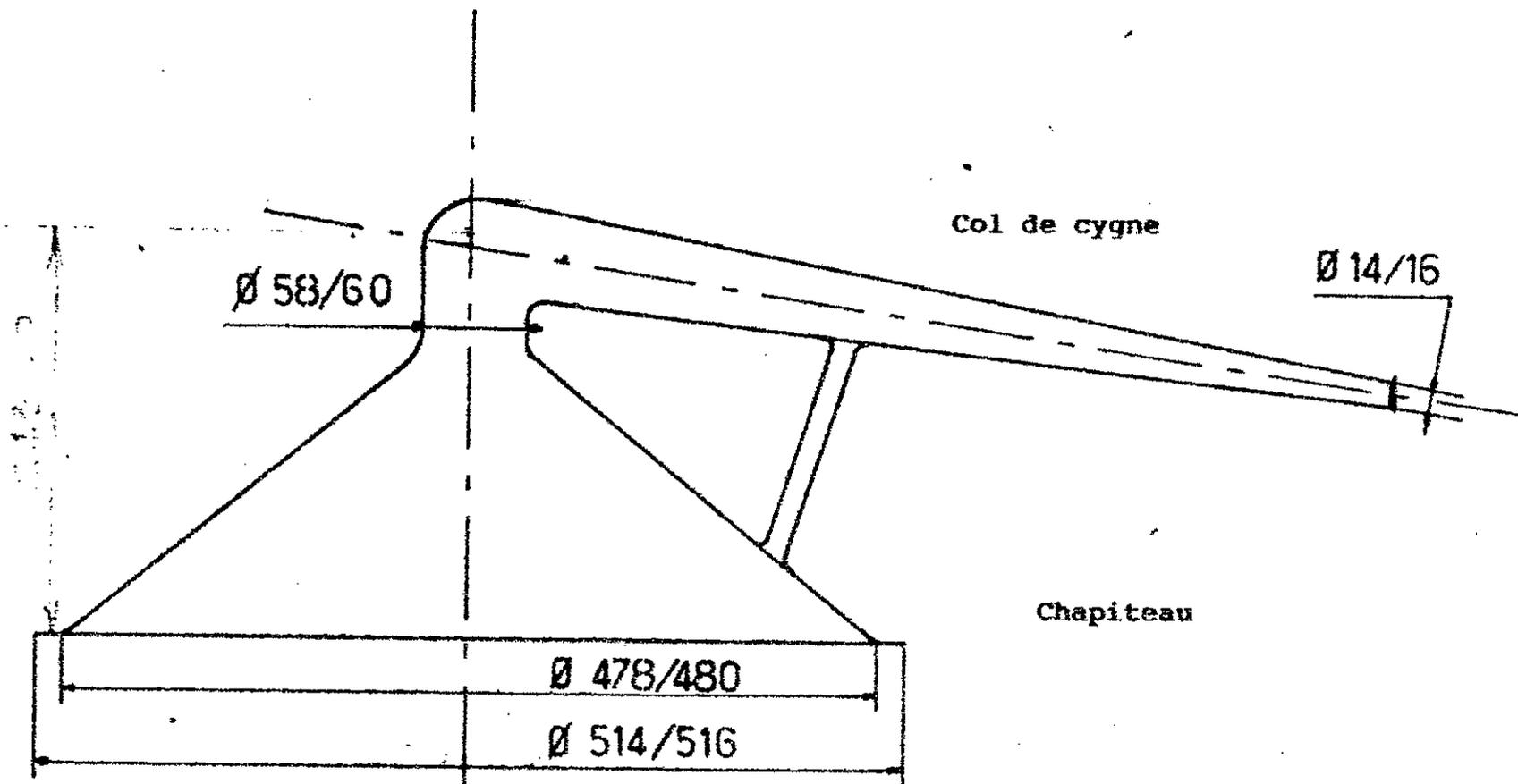


Figure 16 : Coupe longitudinale du chapiteau et du col cygne

distant de ses voisins immédiats de 10 mm. La figure 17 représente le schéma d'un plateau vu de face et de dessus.

A l'intérieur de ce cylindre, est également disposé un distributeur de vapeur enroulé en spirale. Celui-ci est un tube de cuivre de diamètre 14/16 sur la génératrice duquel des trous d'un diamètre de 2 mm ont été percés espacés entre eux de 10 mm. Ces trous permettent ainsi une répartition uniforme de la vapeur dans la cucurbite. Notons que ce distributeur est placé à 160 mm du fond de la cucurbite, pour lui éviter d'être en contact avec l'eau dans le cas de la distillation mixte, et à 85 mm de premier plateau de charge.

Par ailleurs, dans la double paroi, circule de la vapeur émanant d'un second distributeur placé dans l'enveloppe. Cette vapeur d'eau permet de minimiser la condensation des vapeurs à l'intérieur de la cucurbite ou encore de chauffer l'eau de cette dernière, lorsque la distillation mixte est utilisée. De la même manière, pour éviter que les vapeurs d'huile et d'eau ne se condensent dans le chapiteau, ce dernier est enveloppé d'amiante.

Enfin, un indicateur de niveau d'eau constitué par un tube en verre fixé le long de la paroi externe latérale de la cucurbite, permet de contrôler le volume d'eau utilisé lors d'une hydrodistillation.

Quant à la liaison entre alambic et chapiteau, celle-ci est assurée par une bride munie d'un joint étanche en caoutchouc.

A la sortie du col de cygne, les vapeurs arrivent au niveau du condenseur.

### III.3. LE CONDENSEUR ET RECEVEUR DE CONDENSATS:

Le condenseur n'est autre qu'un échangeur de chaleur servant à convertir toute vapeur en liquide (ou solide le cas échéant). Cette transformation physique d'état qu'est la liquéfaction requiert donc l'élimination d'une quantité de chaleur équivalente à la chaleur de vaporisation du ou des constituants à laquelle s'ajoute la chaleur nécessaire au refroidissement de la matière condensée à une température convenable inférieure à son point d'ébullition.

Lors de l'entraînement à la vapeur d'eau, la quantité de chaleur  $Q$  par unité de temps nécessaire pour réaliser l'extraction d'un poids  $P$  de matière végétale s'écrit en négligeant la chaleur de vaporisation des constituants de cette matière:

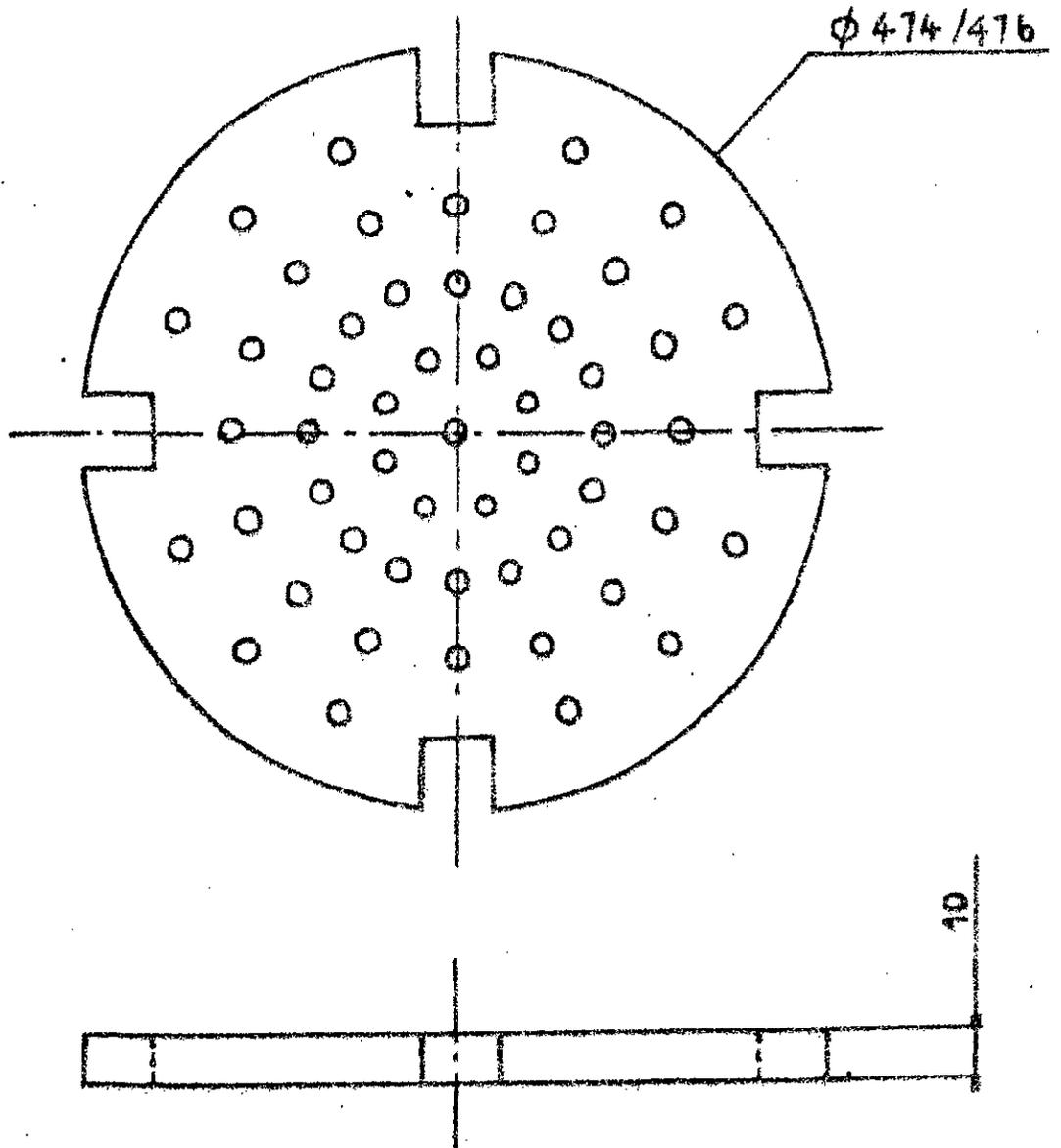


Figure 17 : Vues de face et de dessus d'un plateau

$$Q = (N + P C_p)(T - \theta) + N \Delta h_v \quad (11)$$

avec N : poids d'eau à évaporer en kg

P : poids de matière végétale à extraire en kg

C<sub>p</sub>: chaleur spécifique de la matière végétale en kcal/kg. degré; C<sub>p</sub> varie entre 0,4 et 0,8. C<sub>p</sub> augmente lorsque la matière est chargée d'eau.

T : température d'ébullition de l'eau; à pression atmosphérique (T=100°C)

θ : température initiale de l'eau à évaporer.

Δh: chaleur de vaporisation de l'eau exprimée en kcal/kg; soit à 100°C et sous 1 atm. h<sub>v</sub>=540 kcal/kg.

Cette relation (11) peut également s'écrire de manière simplifiée, en choisissant de travailler à pression atmosphérique et en négligeant le produit P\*C<sub>p</sub> devant N:

$$Q = N(100 - \theta + 540) = N(640 - \theta) \quad (11')$$

Par ailleurs, en supposant une température initiale de l'eau θ de 20°C, la quantité Q approximative de chaleur sera de 620 kcal/kg. Cette quantité de chaleur Q pourra être éliminée notamment par échange avec l'eau d'un circuit de réfrigération travaillant en circulation méthodique soit à contre-courant.

L'expression de Q par unité de temps peut être donnée par la relation suivante:

$$Q = K * S * \Delta T \quad (12)$$

où K désigne le coefficient global de transmission de chaleur, constante dépendant des conditions opératoires (débit des vapeurs à condenser, débit d'eau froide de réfrigération, nature du matériau du condenseur, régime sans ébullition ou avec ébullition, ...), S la surface utile d'échange et T la différence de température entre vapeurs à condenser et eau froide de réfrigération. Nous remarquons donc que la capacité totale d'un condenseur dépend essentiellement de la surface S d'échange qu'il présente, les autres paramètres fixés par ailleurs.

En pratique, la relation (12) s'écrit selon la formule de DULONG & PETIT (76):

$$Q = K * S * \Delta T^{1,233} \quad (13)$$

Parmi les différents types de condenseur, nous avons choisi le modèle le plus couramment utilisé en extraction par entraînement

à la vapeur, à savoir le condenseur tubulaire à serpentin traillant en circulation méthodique.

À cet effet, nous avons évalué la surface d'échange par unité de temps de ce condenseur à l'aide des relations précédentes.

Cette dernière s'écrit:

$$S = \frac{620 N}{K \Delta T} \quad (14)$$

Selon les normes usuellement admises, un bon condenseur permet de recueillir un distillat ou condensat dont la température avoisine 30°C, tandis que l'eau de refroidissement ne doit pas excéder une température de 80°C, à sa sortie.

Ainsi, en prenant pour K une valeur de 370 correspondant à un système en ébullition (vapeurs d'eau à condenser) et en considérant un  $\Delta T$  de 70°C (100-30), la surface d'échange S nécessaire pour refroidir 50 kg de vapeur d'eau par unité de temps est estimée à 0,4448 m<sup>2</sup>. Pour réaliser une telle surface d'échange, nous avons été amené à utiliser 8,85 m de tube de cuivre de diamètre 14/16 mm enroulé sous forme de spires et plongeant dans un bac de réfrigération. Le condenseur ainsi réalisé est représenté sur la figure 18. Le dimensionnement de celui-ci a été établi comme suit:

Par analogie aux réacteurs avec serpentin de refroidissement, la distance séparant deux spires consécutives a été choisie égale au diamètre extérieur du tube soit 16 mm et le diamètre d'une spire égal à 210 mm. Ceci nous a permis de déterminer le nombre total de spires, soit 13 spires, et la hauteur totale de ces spires, soit 432 mm.

Aussi le bac de réfrigération dans lequel plonge ce serpentin est un bac cylindrique en cuivre d'un diamètre de 308/310 mm et d'une hauteur de 470 mm. Il comporte une entrée et une sortie d'eau de refroidissement, et à sa partie inférieure, la sortie du serpentin pour les condensats d'huile et d'eau.

Enfin, le receveur de condensats, dans notre cas, consiste en une série d'éprouvettes de deux litres interchangeables.

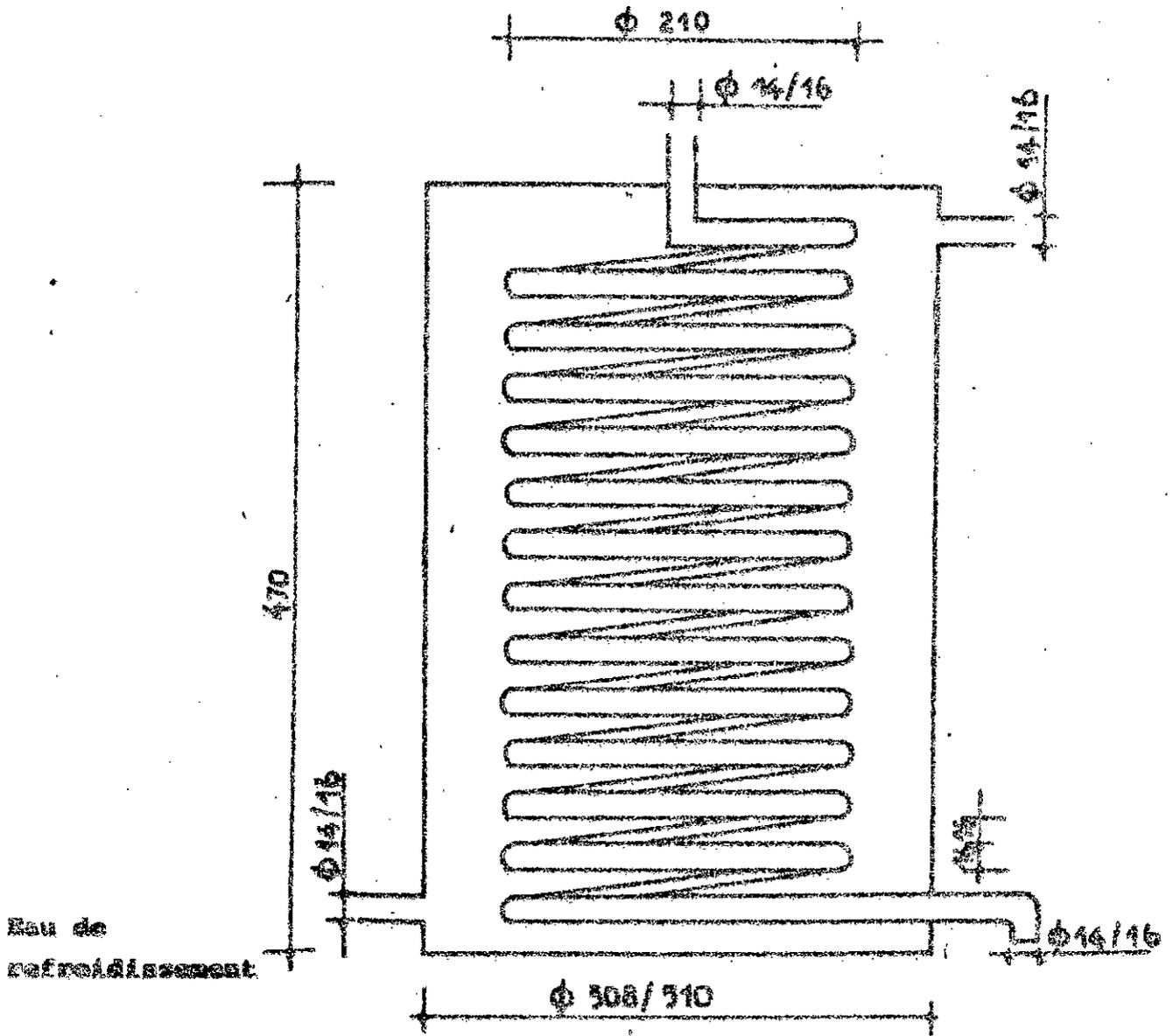


Figure 18 : Condenseur

#### IV. INFLUENCE DES PARAMETRES D'EXTRACTION SUR LE RENDMENT EN HUILE ESSENTIELLE:

Sur la base d'expériences préliminaires et afin de déterminer les conditions opératoires optimales permettant d'atteindre le meilleur rendement en huile, cinquante cinq extractions par entraînement à la vapeur ont été effectuées sur le bois de cèdre du Djurdjura.

Ces dernières nous ont permis de préciser l'influence de divers paramètres choisis judicieusement (73) tels que degré de division et masse admissible par plateau de la charge, débit de vapeur, localisation des sites d'huile et âge du tronc d'arbre. Quant au temps d'extraction adéquat, celui-ci a pu être déterminé et évalué à quatre heures, lors des expériences préliminaires. (74)

Avant d'examiner l'influence de ces divers paramètres, nous présentons ci-dessous le schéma directeur des principales étapes suivies lors de l'extraction de l'huile essentielle du bois de cèdre du Djurdjura.

Bois de cèdre du Djurdjura

Extraction par entraînement  
à la vapeur

Condensat: huile essentielle + eau

Séparation par décantation et à  
l'aide d'un solvant organique

Phase organique: huile essentielle + solvant

Élimination du solvant dans un évaporateur  
rotatif

Huile essentielle

#### IV.1. INFLUENCE DU DEGRE DE DIVISION DE LA CHARGE ET DE LA MASSE ADMISSIBLE PAR PATEAU:

Le bois de cèdre utilisé lors de cette étude est issu d'un même tronc d'arbre mort du Djurdjura, dépourvu de son écorce, de 58 cm de diamètre et long de 83 cm. L'influence du degré de division du matériel végétal a été menée sur des échantillons parallélépipédiques de cœur et d'aubier de ce bois, répartis en dimensions différentes; le cinquième et dernier échantillon, quant à lui, se présente sous forme de sciure. A cet effet, nous avons regroupé dans le tableau VI ci-dessous les dimensions moyennes de ces échantillons, et afin de comparer leur degré de division, nous avons considéré notamment leurs épaisseurs.

TABIEAU VI: Dimensions moyennes des échantillons

Degré de division	A	B	C	D	E (sciure)
Longueur L (mm)	50,1	21,7	48,5	42,2	—
Largeur l (mm)	11,5	7,6	24,5	15,1	—
Epaisseur e (mm)	10,5	5,4	2,9	0,75	0,205

Notons, par ailleurs, que pour une même charge, plus les dimensions de l'échantillon sont petites, plus le volume qu'il occupe est grand. Aussi, avons-nous représenté sur la figure 19, en maintenant constant le débit de vapeur d'eau à 1,2 l/h, le rendement en huile obtenu pour chacun des cinq échantillons en fonction de diverses charges par plateau, en prenant toutefois pour charge maximale, celle pour laquelle le plateau est recouvert uniformément sans être tassé.

Le rendement en huile, exprimé en %, a été déterminé en considérant le poids d'huile extraite rapporté à une charge de bois.

Signalons en outre, que les travaux menés antérieurement ont montré que le rendement maximal en huile que l'on pouvait atteindre

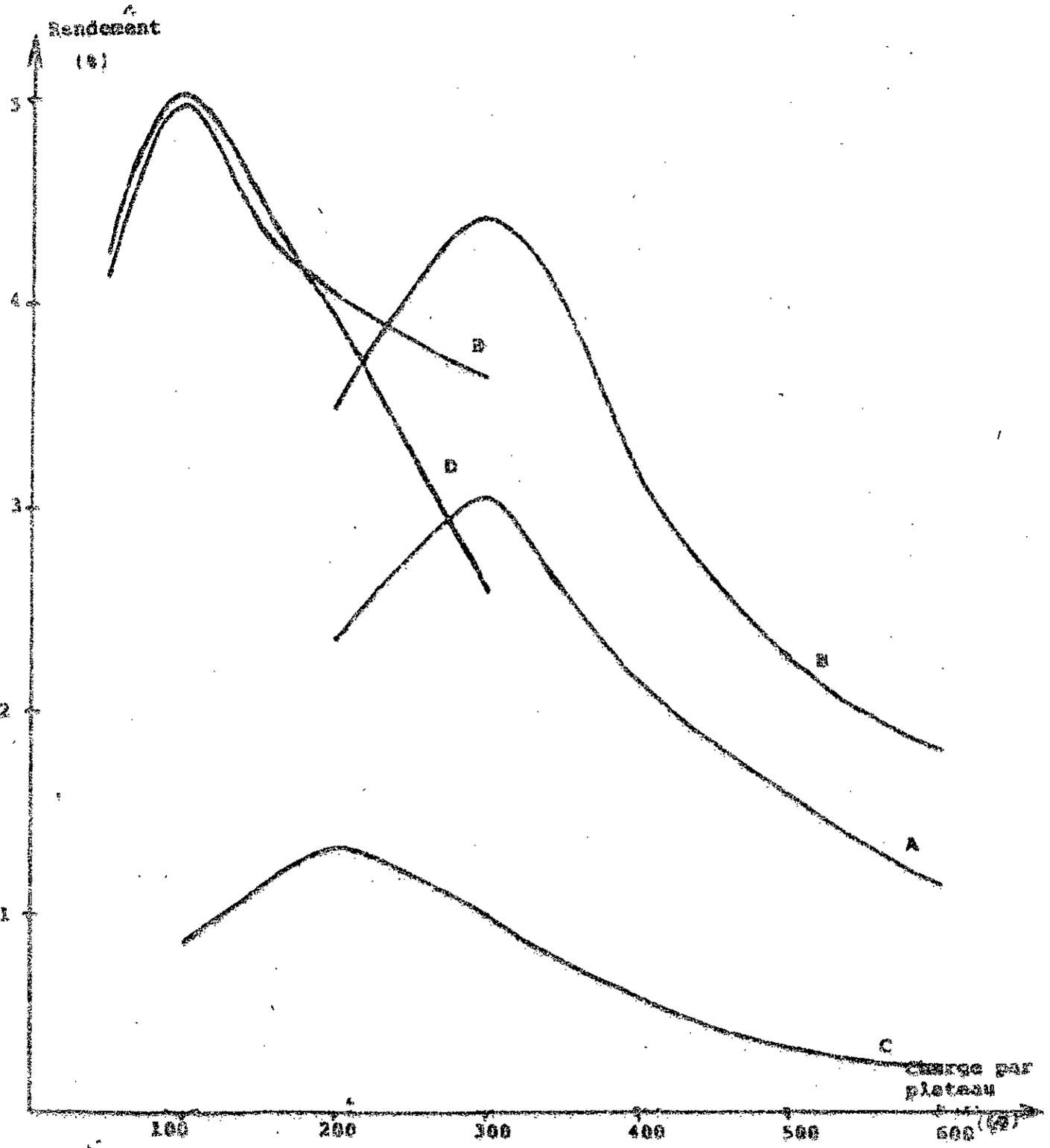


Figure 19 : Variations du rendement en fonction de la charge par plateau pour chacun des degrés de durition.

n'excédait pas 5%. Le tableau VII présente les valeurs ainsi obtenues.

Tableau VII: Influence du degré de division de la charge admissible par plateau sur le rendement en huile. Débit de vapeur constant = 1,2 l/h

Conditions opératoires	Degré de division	Charge par plateau (g)	Rendement en huile (%)
. Puissance de chauffe: 2,31 kW	A	200	2,37
		300	3,07
		400	2,18
		500	1,59
		600	1,15
		. Débit de vapeur: 1,2 l/h	B
300	4,43		
400	3,21		
500	2,28		
600	1,83		
. Temps de distillation: 4 h	C		
		200	1,32
		300	0,99
		400	0,58
		500	0,32
		600	0,24
. Temps de distillation: 4 h	D	50	4,25
		100	5,03
		150	4,53
		200	3,95
		300	2,61
		. Temps de distillation: 4 h	E
100	4,99		
150	4,40		
200	4,05		
300	3,65		

L'examen de ce tableau VII et de la figure 19 montre les faits suivants:

-l'allure des courbes est identique, en effet, chacune d'entre elles présente une valeur de rendement maximale correspondant à une charge optimale n'excédant pas 300g. Cette valeur se rattache en fait à la meilleure répartition de la matière végétale sur le plateau.

-Plus l'épaisseur de l'échantillon est faible, plus le rendement en huile est amélioré, à l'exception de l'échantillon C car ce dernier n'est constitué que d'aubier. Ce meilleur rendement s'explique par une meilleure diffusion de la vapeur à travers le végétal, soit encore une plus grande surface d'échange présentée.

A cet effet, nous avons déterminé pour une charge donnée optimale, la surface d'échange présentée par les degrés de division A, B et D.

Les différents résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau VIII ci-dessous.

Tableau VIII:Rendement en huile et surface d'échange

Degré de division	A	B	D
Surface d'échange d'une particule (mm <sup>2</sup> )	2446	646	1360
Nombre de particules par gramme de charge	0,39	2,06	6,12
Masse par plateau (g)	300	300	100
Surface totale d'échange par plateau (mm <sup>2</sup> )	286182	399228	832320
Rendement pour un débit de 3 l/h (%)	3,26	4,63	5,18

Ce tableau VIII montre que le rendement en huile augmente avec la surface totale d'échange; la diffusion de la vapeur à travers

l'échantillon végétal est d'autant plus facile que les dimensions des particules sont faibles et notamment l'épaisseur.

#### IV.2. INFLUENCE DU DEBIT DE VAPEUR:

L'influence du débit de vapeur d'eau sur le rendement en huile a été étudiée en faisant varier la puissance de chauffage des résistances immergées dans la chaudière. Toutefois, le débit de vapeur ne doit pas excéder le seuil toléré par la construction du condenseur. Le tableau IX regroupe les résultats obtenus pour chaque degré de division et la charge optimale par plateau.

Tableau IX: Influence du débit de vapeur sur le rendement en huile

Degré de division	A	B	C	D	E
Charge par plateau (g)	300	300	200	100	100
Rendement pour un débit de 1,2 l/h (%)	2,18	3,21	1,32	5,03	
Rendement pour un débit de 3 l/h (%)	3,26	4,63	1,73	5,18	3,04
Rendement pour un débit de 6 l/h (%)	1,82	2,23	0,75	3,99	3,01

Ce tableau IX montre qu'il existe comme pour la charge une valeur optimale du débit de vapeur. En effet, les faibles débits peuvent ne pas vaincre et surmonter les forces de frottement dues à la viscosité du mélange de vapeur d'eau et d'huile qui adhère ainsi aux parois du col de cygne; tandis que les grands débits pouvant créer des chemins préférentiels réduisent donc le contact de la vapeur avec la matière végétale.

#### IV.3. LOCALISATION DES SIYES D'HUILE:

Nous avons estimé nécessaire de rechercher la partie du bois donnant le meilleur rendement en huile. A cet effet, deux parties du même tronc ont été prises en considération, en l'occurrence le coeur et l'aubier. Placés dans les conditions optimales d'extraction, nous avons étudié l'influence de la partie du tronc sur le rendement en huile que nous présentons dans le tableau X.

Tableau X: Influence de la partie du tronc sur le rendement en huile.

Conditions opératoires	Localisation site	Rendement en huile(X)
. Degré de division : D	Coeur	5,26
. Puissance de chauffage: 4,62 kW	Aubier	3,29
. Débit de vapeur : 3 l/h	Mélange	5,18
. Masse par plateau : 100 g		
. Temps de distillation : 4 h		

Nous remarquons que le meilleur rendement est obtenu avec le coeur, toutefois le mélange des deux: coeur et aubier conduisant à un bon rendement nous préconise l'utilisation du tronc sans distinction de différentes parties; ce qui nous évitera d'importantes chutes de bois.

Enfin, notre intérêt s'est porté sur l'aspect écologique de préservation des forêts en étudiant notamment l'influence de l'âge du tronc sur le pourcentage en huile.

#### IV.4. INFLUENCE DE L'AGE DU TRONC:

En nous plaçant dans les conditions opératoires optimales nous avons procédé à l'extraction d'huile d'un jeune tronc d'une vingtaine d'années afin de comparer le pourcentage d'essence recueillie à celui déjà obtenu pour un vieux tronc d'arbre mort plus que centenaire. Le tableau XI résume ces valeurs.

Tableau XI: Rendement en huile extraite  
selon l'âge du tronc.

Conditions opératoires	tronc	Rendement en huile(%)
. Degré de division : D	Vieux	5,18
. Puissance de chauffage: 4,62 kW		
. Débit de vapeur : 3 l/h	Jeune	1,82
. Masse par plateau : 100 g		
. Temps de distillation : 4 h		

La nette différence de rendements observés nous rassure et montre qu'il est préférable d'utiliser les vieux cèdres morts que d'abattre les jeunes arbres faisant la richesse et, oh combien, la beauté de nos cèdraies.

En conclusion, les expériences menées ont permis de mettre au point l'appareillage distillatoire et de déterminer les conditions opératoires optimales de son fonctionnement. Les rendements obtenus (≈5%) sont fort encourageants en regard de ceux de l'industrie variant de 3 à 5%. En outre, il est intéressant de noter que les rendements les meilleurs sont obtenus avec de vieux cèdres morts, préservant de la sorte l'aspect environnement de nos parcs naturels.

#### IV.5. QUELQUES REMARQUES RELATIVES AUX EXTRACTIONS MENÉES LORS DE CETTE ÉTUDE:

##### IV.5.1. CHOIX DU SOLVANT:

Les condensats, une fois l'extraction terminée, subissent une décantation afin de séparer l'huile essentielle surnageante de la phase aqueuse. A cet effet, l'addition de solvants organiques favorisant cette opération de décantation est préconisée. De nombreux solvants furent utilisés dans notre étude, parmi lesquels nous citerons l'éther diéthylique, l'éther de pétrole, le benzène et l'hexane. Aussi, en prenant en considération le coût et la toxicité de ces solvants, nous suggérons l'emploi des deux premiers cités. La phase organique ainsi recueillie est soumise, à son tour, à évaporation dans un évaporateur rotatif afin d'éliminer le solvant

et récupérer l'huile essentielle. Ajoutons cependant, que l'hexane demeure un bon solvant et ce, malgré son coût élevé, eu égard à la bonne qualité de l'huile essentielle obtenue.

#### IV.5.2. EAUX CONDENSEES DANS LA CUCURBITE:

De la même manière que précédemment, les eaux condensées au niveau de la cucurbite, à l'arrêt de la distillation, ont été recueillies et soumises à une décantation, à l'aide des solvants précités. La quantité d'huile essentielle récupérée est très faible. En effet, le pourcentage de celle-ci ne représente que 0,045 à 0,06% de la charge totale. A travers ces essais, nous prouvons ainsi les performances de cet appareil distillatoire.

## V. ETUDE ANALYTIQUE DES HUILES ESSENTIELLES EXTRAITES:

Afin d'évaluer la qualité et la composition de l'essence extraite, diverses analyses ont été menées, tout d'abord en mesurant ses propriétés physico-chimiques, puis en la soumettant d'une part à l'analyse chromatographique en phase gazeuse et d'autre part, à un fractionnement sous vide suivi d'une analyse couplant la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse.

### V.1. EVALUATION DES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES:

Les premiers examens auxquels sont soumises les huiles essentielles fraîchement extraites consistent tout d'abord à vérifier leurs caractères organoleptiques (couleur, odeur, saveur), puis à déterminer leurs grandeurs physiques caractéristiques telles que densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire et point de congélation, et enfin à évaluer leurs propriétés chimiques par la mesure de leurs indices d'acide et d'ester et leurs solubilités dans l'alcool.

Nous avons pu constater, à l'issue de chaque extraction effectuée, que l'huile essentielle du bois de cèdre du Djurdjura obtenue présentait la même couleur jaune pâle et une odeur boisée.

Avant de présenter les propriétés physico-chimiques de cette essence évaluées systématiquement après chaque extraction, nous rappellerons les diverses grandeurs physiques et chimiques utilisées et leur mode opératoire.

#### V.1.1. PROPRIÉTÉS PHYSIQUES:

##### V.1.1.1. DENSITÉ : $d_t^t$

C'est le rapport du poids d'un certain volume d'échantillon, à une température  $t$  au poids du même volume d'eau, à la température standard. Le choix de l'état standard  $4^\circ\text{C}$  permet l'identification des chiffres qui mesurent la densité et la masse volumique. (33)

$$d_4^t = \frac{\text{poids d'un volume d'échantillon à } t}{\text{poids du même volume d'eau à } 4^\circ\text{C}} = \text{masse volumique } (6)$$

Dans un souci de précision, nous avons utilisé un pycnomètre ayant un volume de 5 ml. Les pesées ont été effectuées à l'aide d'une balance analytique digitale du type BARTORIUS 1602 MPB-1 avec une précision de  $10^{-7}$ g. Par ailleurs, toutes les mesures de densité ont été effectuées à une température de  $15^\circ\text{C}$ .

#### V.1.1.2. POUVOIR ROTATOIRE: $(\alpha)_D^{20}$

Deux définitions sont utilisées dans le cas des huiles essentielles (34):

-Définition 1: Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle  $(\alpha)$  est l'angle exprimé en milliradians ou en degrés d'angle, dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde  $589,3 \pm 0,3$  nm, correspondant aux raies D du sodium, lorsque celle-ci traverse une épaisseur de 100 mm de l'huile essentielle dans des conditions déterminées de température.

-Définition 2: Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle en solution, appelée également pouvoir rotatoire spécifique apparent  $(\alpha)$  est le pouvoir rotatoire  $(\alpha)$  de la solution de l'huile essentielle rapportée à la masse d'huile essentielle contenue dans l'unité de volume.

Dans ce cas précis, les solvants utilisés afin de mettre en solution les huiles essentielles sont de préférence l'éthanol à 95% (V/V) ou le tétrachlorure de carbone. Il est recommandé de vérifier que le solvant ainsi employé possède un pouvoir rotatoire nul.

Le polarimètre utilisé est à lecture digitale du type OPTICAL ACTIVITY LTD. La cellule est d'un volume de 4 cc.

#### V.1.1.3. INDICE DE REFRACTION $n_D^{20}$

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante. La longueur d'onde utilisée est de  $589,3 \pm 0,3$  nm, correspondant aux raies  $D_1$  et  $D_2$  du spectre du sodium. La température de référence est prise à  $20^\circ\text{C}$ , sauf pour les huiles

essentielles qui ne sont pas à l'état liquide à cette température. Dans ce cas, il est préconisé d'adopter une température de 25°C ou 30°C suivant les points de fusion des huiles essentielles considérées (35). Le réfractomètre utilisé dans nos expériences est du type SOPELEM n° 3275, et la température a été fixée à 20°C.

#### V.1.1.4. POINT DE CONGELATION:

C'est le degré le plus élevé auquel le thermomètre reste fixe pendant quelques temps, à la suite de son ascension rapide provoquée par le dégagement de chaleur provenant de la prise en masse de la substance. (77)

#### V.1.2. PROPRIÉTÉS CHIMIQUES:

La mesure de ces propriétés a pour objet de caractériser et de doser les constituants d'une huile, ce qui est un travail préliminaire à l'analyse chromatographique.

Avec l'évolution de la technologie, certaines mesures ont été abandonnées telles que l'indice d'iode et les réactions colorées. De nos jours, les essais les plus courants intéressent la détermination des indices d'acide et d'ester.

##### V.1.2.1. INDICE D'ACIDE:

L'indice d'acide d'une huile est défini comme le nombre de milligrammes de potasse (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres contenus dans un gramme d'huile. (36)

Le protocole opératoire est le suivant:

On pèse exactement 0,1 g d'huile essentielle dans un erlen A de 100 cm<sup>3</sup> et on ajoute 20 cm<sup>3</sup> d'alcool pour dissoudre cette huile. Dans un deuxième erlen B servant de témoin, on verse la même quantité de solvant (alcool) soit 20 cm<sup>3</sup>. Dans ces récipients A et B, on ajoute trois gouttes d'une solution de phénolphthaléine à 10% en guise de réactif coloré. Puis l'on titre chacune de ces solutions avec une solution de potasse décimale (0,1N). Le volume de potasse utilisé pour neutraliser l'acidité libre de 0,1 g d'huile s'écrit:  $n = n_A - n_B$  où  $n_A$  et  $n_B$  désignent les volumes en cm<sup>3</sup> de

potasse utilisées pour le virage respectivement dans les erlens A et B.

La masse de KOH correspondante est de  $(5,6 \text{ n}/1000)$  en grammes, soit  $5,6 \text{ n}$  milligrammes.

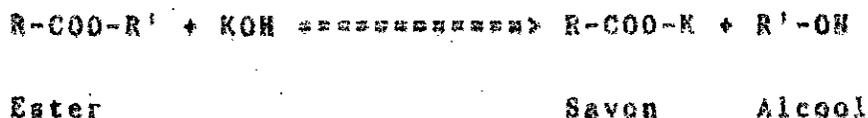
L'indice d'acide s'écrira donc:

$$I_A = 5,6 \frac{DA - DB}{m} \text{ avec } m = 0,1 \text{ g. (7)}$$

#### V.1.2.2. INDICE D'ESTER:

L'indice d'ester est le nombre de milligrammes de potasse nécessaire pour effectuer la saponification totale des esters-sels contenus dans un gramme d'huile essentielle. (36)

la réaction de saponification s'écrit:



Le mode opératoire est le suivant:

Dans un erlen A, on introduit 0,1 g d'huile essentielle auquel sont ajoutés 10 cm<sup>3</sup> d'une solution de potasse alcoolique 0,5N. Dans un autre erlen B, on verse 10 cm<sup>3</sup> de la même solution de potasse 0,5N.

Chacun de ces erlens fermé avec un bouchon muni d'un long tube de verre (30 à 40 cm) est chauffé au bain-marie pendant une demi-heure. Après refroidissement, on ajoute dans chaque erlen 2 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Si le liquide de l'erlen A est trouble, c'est qu'il reste de l'ester non saponifié car l'ester est soluble dans l'alcool et non dans l'eau, aussi ajouterons-nous 10 cm<sup>3</sup> de potasse alcoolique dans chacun des récipients et l'on procédera de nouveau comme précédemment.

Lorsqu'il n'y a plus de trouble dans l'erlen A, on ajoute trois gouttes de phénolphthaléine et l'on titre avec une solution d'acide chlorhydrique 0,5 N.

Soit  $n_1$  le volume en cm<sup>3</sup> de solution chlorhydrique nécessaire à la neutralisation.

Supposons par ailleurs que nous ayons utilisé un volume de potasse 0,5 N de 10 cm<sup>3</sup> (sinon nous prenons  $n = 20 \text{ cm}^3$ ), l'ester contenu dans 0,1 g d'huile a été saponifié par  $(n - n_1) \text{ cm}^3$  de potasse 0,5 N, correspondant à  $(n - n_1) \cdot 20 \cdot 10^{-3} \text{ g}$  ou  $(n - n_1) \cdot 20 \text{ mg}$ .

L'indice d'ester s'écrira donc:

$$I_e = 28 \frac{n-n_1}{m} * 10^3 \text{ pour } m = 0,1 \text{ g.} \quad (8)$$

### V.1.2.3. SOLUBILITE DANS L'ALCOOL:

Plusieurs définitions ont été données à ce sujet (37):

-Définition 1: Une huile essentielle est dite miscible à V volumes et plus d'éthanol de titre alcoométrique donné, à la température de 20°C, lorsque le mélange d'un volume d'huile essentielle considérée avec V volumes de cet éthanol est limpide et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre, jusqu'à un total de 20 volumes.

-Définition 2: Une huile essentielle est dite miscible à V volumes d'éthanol de titre alcoométrique déterminé, à la température de 20°C, et se troublant par dilution à V' volumes lorsque le mélange d'un volume de l'huile essentielle considérée avec V volumes de cet éthanol est limpide, puis devient trouble après addition graduelle de (V'-V) volumes d'éthanol de même titre et demeure trouble si l'on poursuit l'addition d'éthanol jusqu'à un total de 20 volumes.

-Définition 3: Une huile essentielle est dite miscible à V volumes d'éthanol de titre alcoométrique déterminé, à la température de 20°C, avec un trouble entre V' et V'' volumes, lorsque le mélange d'un volume de l'huile essentielle considérée avec V volumes de cet éthanol est limpide, devient trouble après l'addition graduelle de (V'-V) volumes d'éthanol de même titre, et redevient limpide après une nouvelle addition de (V''-V') volumes d'éthanol de même titre.

### V.1.3. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'HUILE ESSENTIELLE:

Les différentes propriétés physico-chimiques définies précédemment ont fait l'objet de mesures systématiques pour toutes les expériences réalisées lors de l'étude de l'influence de ces paramètres d'extraction. Nous voulions voir, en effet, les variations que peuvent également subir de telles grandeurs caractéristiques physico-chimiques lorsque nous faisons varier de tels paramètres.

Aussi, nous avons regroupé dans les tableaux suivants l'ensemble des grandeurs précitées en prenant en considération la charge par plateau, le degré de division de la charge, le débit de vapeur, la localisation des sites d'huile et enfin l'âge du tronc.

Tableau XII: Influence de la charge par plateau sur les propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle extraite.

Conditions opératoires	charge plateau	$d_{4}^{20}$	$n_{D}^{20}$	$(\alpha)_{D}^{20}$	$T_c$	$I_A$	$I_E$	S 90%
.Degré de division: A	200	0,9532	1,5144	+42°22'	-7,6	3,24	3,58	5,2 V
.Puissance de chauffe: 2,31 kW	300	0,9539	1,5142	+41°44'	-7,5	2,80	3,66	5,0 V
.Débit de vapeur: 1,2 l/h	400	0,9537	1,5138	+41°20'	-7,5	3,08	3,69	5,2 V
	500	0,9528	1,5135	+42°55'	-7,4	2,80	3,64	5,0 V
.Temps de distillation: 4 h	600	0,9541	1,5128	+41°56'	-7,5	2,80	3,58	5,0 V

Tableau XIIIa: Influence du degré de division sur les propriétés physico-chimiques de l'huile pour un débit de vapeur de 1,2 l/h.

Degré de division	$d_{15}^4$	$n_{20}^D$	$(\alpha)_{15}^D$	$T_c$	$I_A$	$I_E$	solubilité dans alcool à 90%(V/V)
A	0,9535	1,5137	+42°03'	-7,5	2,94	3,63	5,1 V
B	0,9523	1,5145	+42°37'	-7,3	2,24	3,58	5,1 V
C	0,9487	1,5119	+41°55'	-7,6	2,52	3,54	4,8 V
D	0,9519	1,5115	+40°42'	-7,1	2,38	3,64	5,0 V
E	0,9581	1,5130	+42°16'	-7,3	2,24	3,58	5,0 V

Tableau XIIIb: Influence du degré de division sur les propriétés physico-chimiques de l'huile pour un débit de vapeur de 3 l/h.

Degré de division	$d^{15}_4$	$n^{20}_D$	$(\alpha)^{15}_D$	$T_c$	$I_A$	$I_E$	solubilité dans alcool à 90%(V/V)
A	0,9547	1,5140	+40°22'	-7,4	2,80	3,24	5,0 V
B	0,9558	1,5143	+43°07'	-7,5	2,71	3,48	5,0 V
C	0,9499	1,5138	+42°12'	-7,5	2,61	3,46	5,1 V
D	0,9544	1,5146	+40°39'	-7,4	2,71	3,56	4,8 V
E	0,9579	1,5112	+41°18'	-7,6	2,80	3,54	4,8 V

Tableau XIV: Influence du débit de vapeur sur les propriétés physico-chimiques de l'huile évaluées par intervalle de variation.

Débit de vapeur	$d_{15}^4$	$n_{20D}$	$(\alpha)_{15D}$	$T_c$	$I_A$	$I_E$	solubilité dans alcool à 90%(V/V)
1,2 l/h	0,9487	1,5115	+40°22'	-7,6	2,24	3,54	4,8 à 5,1 V
	à	à	à	à	à	à	
3 l/h	0,9581	1,5145	+42°37'	-7,1	2,94	3,64	4,8 à 5,1 V
	à	à	à	à	à	à	
3 l/h	0,9499	1,5112	+40°22'	-7,6	2,61	3,24	4,8 à 5,1 V
	à	à	à	à	à	à	
6 l/h	0,9579	1,5146	+43°07'	-7,4	2,80	3,56	5,0 à 5,2 V
	à	à	à	à	à	à	
6 l/h	0,9492	1,5097	+41°18'	-7,6	2,62	3,54	5,0 à 5,2 V
	à	à	à	à	à	à	
6 l/h	0,9604	1,5155	+43°06'	-7,4	2,80	3,70	5,0 à 5,2 V
	à	à	à	à	à	à	

Tableau XV: Influence de la partie du tronc sur les propriétés physico-chimiques de l'huile.

Conditions opératoires	partie du tronc	$d_{15}^4$	$n_{20D}$	$(\alpha)_{15D}$	$T_c$	$I_A$	$I_E$	solubilité alcool à 90%
. D P=4,62 kW . 100 g . 3 l/h . 4 heures	Aubier	0,9517	1,5123	+42°45'	-7,6	2,24	3,24	4,8 V
	Coeur	0,9563	1,5152	+40°59'	-7,2	2,80	3,54	5,0 V

Tableau XVI: Influence de l'âge du tronc sur les propriétés physico-chimiques de l'huile.

Conditions opératoires	Age du tronc	$d^{15}_d$	$n^{20}_D$	$(\alpha)^{15}_D$	$T_c$	$I_A$	$I_B$	solubilité alcool à 90%
.D .P=4,62 kW .100 g .3 l/h .4 heures	Jeune	0,9613	1,5245	+43°15'	-7,8	3,34	3,72	5,5 V
	Vieux	0,9534	1,5150	+40°49'	-7,4	2,80	3,58	4,8 V

L'examen de ces tableaux montre que les grandeurs physico-chimiques de l'huile essentielle du bois de cèdre du Djurdjura ne sont point affectées d'une extraction à l'autre, mais que cependant, celles-ci varient dans un domaine relativement restreint. Par ailleurs, les seules valeurs quelque peu différentes observées dans le dernier tableau XVI sont à attribuer à la jeunesse du tronc. Ces écarts pourraient s'expliquer par le fait que l'essence extraite du jeune arbre, renfermerait bien plus de composés oxygénés que celle du bois âgé, comme l'indique la valeur de sa miscibilité dans l'alcool.

Enfin, nous avons résumé dans le tableau XVII, les domaines de variation de ces propriétés physico-chimiques qui, par ailleurs, semblent être en bon accord avec les valeurs observées, par d'autres auteurs, pour l'huile essentielle du bois de cèdre de l'Atlas marocain.

Tableau XVII: Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du bois de cèdre du Djurdjura comparées à celles de l'Atlas marocain.

	$d^{15}_4$	$n^{20}_D$	$(\alpha)^{15}_D$	Tc	I <sub>A</sub>	I <sub>B</sub>	solubilité alcool à 90%
Bois de l'atlas	0,940	1,506	+35°				
	à	à	à	—	1	—	—
marocain	0,970	1,517	+62°				
	0,9487	1,5097	+40°22'	-7,6	2,24	3,24	4,8 V
Bois du Djurdjura	à	à	à	à	à	à	à
	0,9604	1,5155	+43°67'	-7,1	2,94	3,70	5,2 V

#### V.2. ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE EN PHASE GAZEUSE DE L'ESSENCE EXTRAITE:

La provenance et la qualité d'une huile essentielle sont souvent établies en utilisant en plus des méthodes basées sur la connaissance des propriétés physico-chimiques, des méthodes chromatographiques et plus particulièrement en phase gazeuse.

Aussi, pour chacun des degrés de division A, B et D une analyse par chromatographie en phase gazeuse a été menée. Les huiles essentielles, mélanges fort complexes de constituants doués de volatilité et polarité différentes, ne peuvent pas être analysées que sur une colonne ou à une température donnée. C'est la raison pour laquelle nous avons adopté le protocole opératoire suivant:

-Utilisation de deux colonnes capillaires en silice fondue de dimensions (L=50m,  $\phi_{int}$ =0,2mm) et de polarités différentes, l'une quasi apolaire OV 101 et l'autre polaire Carbowax 20 M.

-Programmation de température de colonne de 50 à 210°C à raison de 4°C/min, sans palier initial de température, mais avec un palier final de 25 min.

Le chromatographe utilisé est un chromatographe Hewlett-Packard avec un détecteur à ionisation de flamme (P. I. D.) et intégrateur.

A cet effet, nous avons représenté sur les six figures suivantes 20, 21, 22, 23, 24 & 25 les chromatogrammes obtenus sur les phases respectivement OV 101 et Carbowax 20 M avec chacun des échantillons des degrés de division A, B et D.

L'examen de ces chromatogrammes montre tout d'abord, une bonne séparation des constituants majeurs de cette huile. Par ailleurs, l'utilisation de la phase stationnaire très peu polaire OV 101 réduit les temps d'analyse sans affecter la séparation de ces constituants majeurs. Quant à la phase polaire Carbowax 20 M, celle-ci améliore la séparation totale des constituants de l'huile essentielle du bois de cèdre du Djurdjura.

Dans le but d'identifier les constituants majeurs et en l'absence de substances étalons, nous avons jugé utile d'employer la technique d'analyse couplant la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse.

Toutes ces analyses tant par chromatographie sur colonnes capillaires que par C.G./S.M. ont pu être effectuées au laboratoire de Givaudan Corporation (New-Jersey-U.S.A.) grâce à l'aimable concours de M. CHIEN.

### V.3. ANALYSE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLÉE A LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE (C.G./S.M.) DE L'ESSENCE EXTRAITE:

L'analyse de mélanges complexes tels que les huiles essentielles représente en fait, un important travail de séparation, d'isolation et d'identification de la majorité des constituants de cette huile, et nécessite souvent un temps appréciable. Aussi, ces différents problèmes rencontrés sont, dans une large mesure, résolus par l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse à haute résolution (colonnes capillaires) couplée à la spectrométrie de masse à basse résolution (400 u.m.a). Ce couplage se trouve être à l'heure actuelle, la technique de choix la plus performante d'analyse. Ajoutons en outre, que l'apport de l'outil informatique (microprocesseur, ordinateur) à cette technique a permis le développement de méthodes d'identification fiables et de surcroît très rapides. A cet effet, trois types de méthodes informatisées ont été élaborées, partant du spectrogramme de masse pour aboutir à la structure du composé (78). Ce sont :

- les méthodes théoriques dites d'"intelligence artificielle",

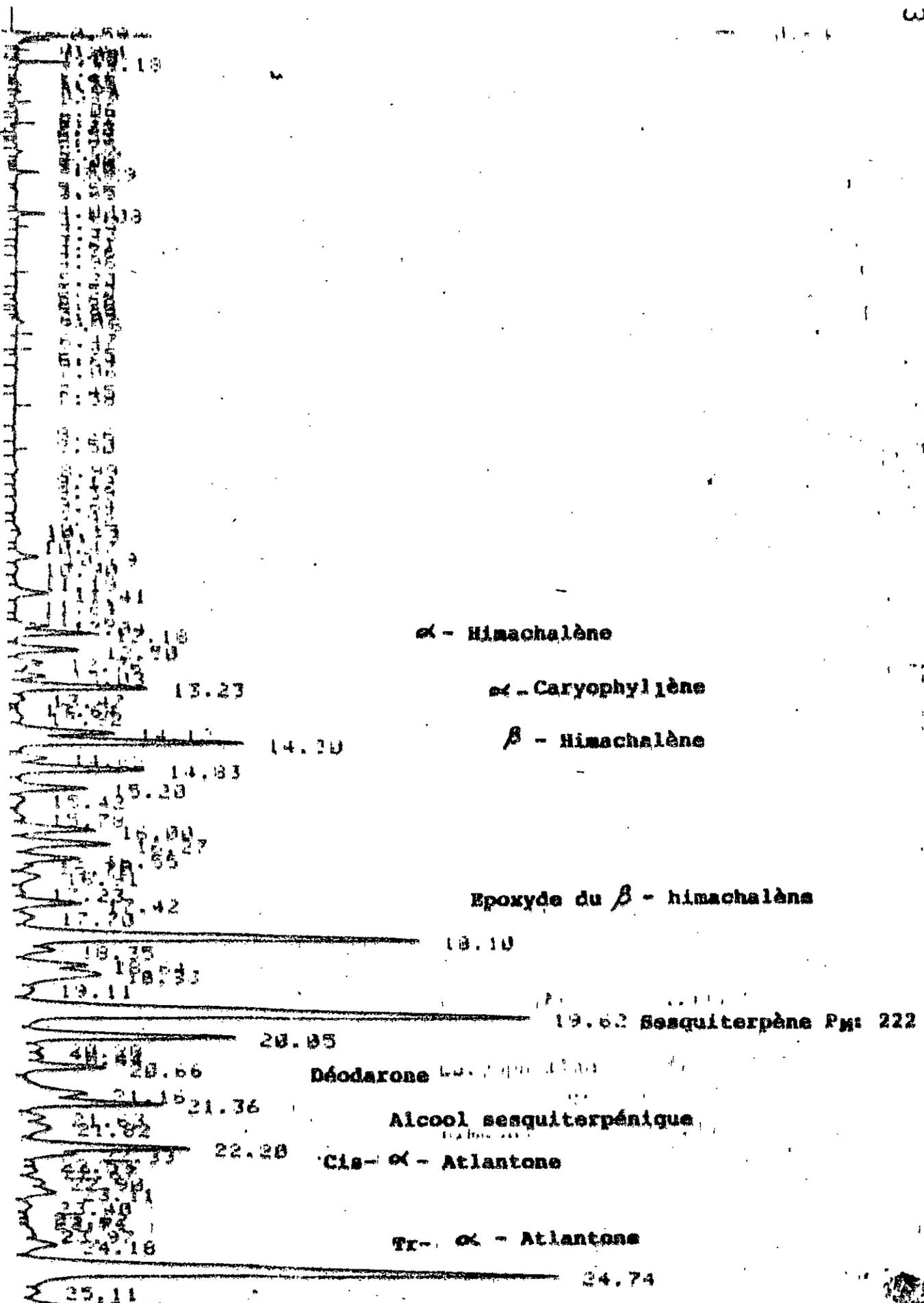
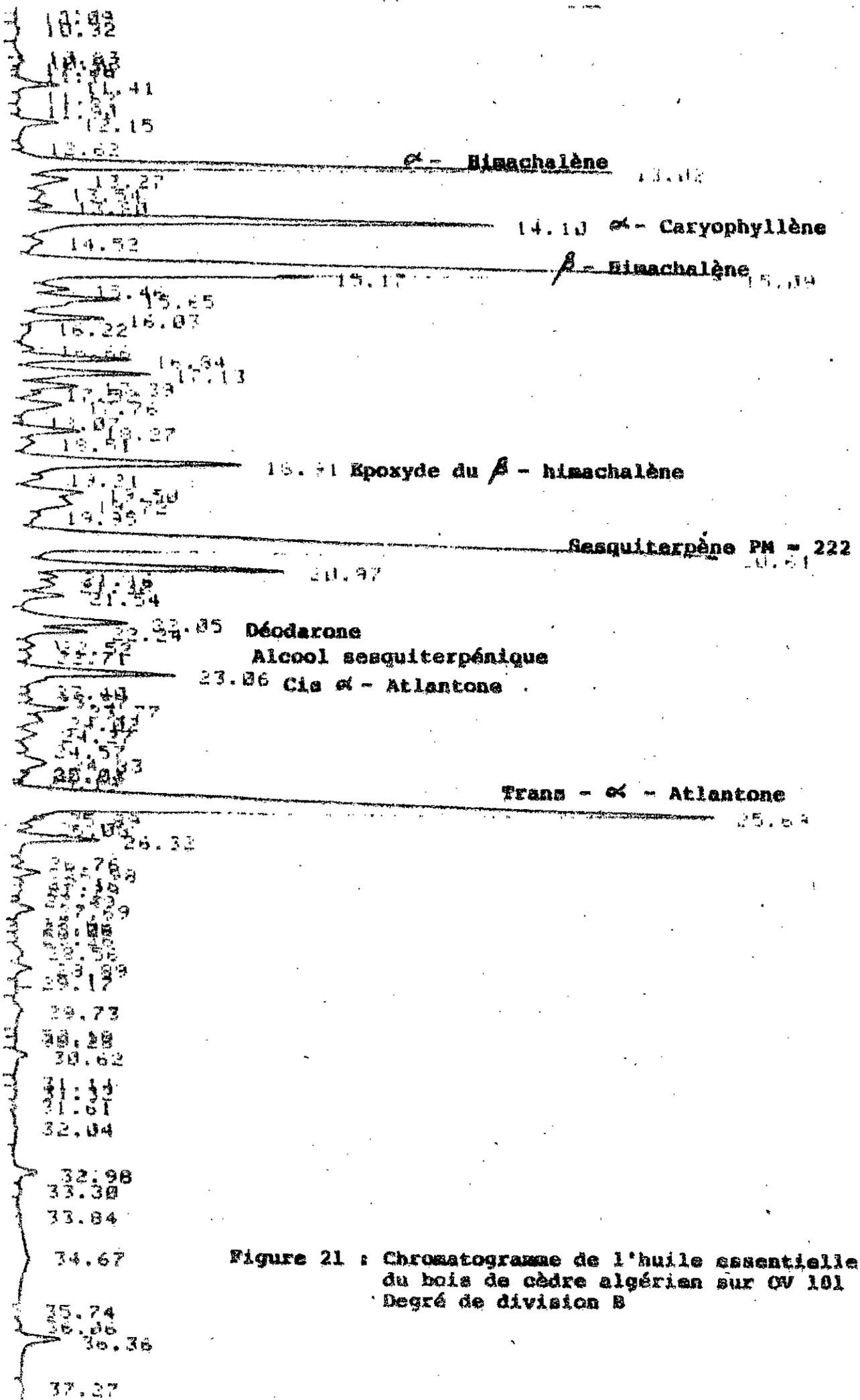


Figure 20 : Chromatogramme de l'huile essentielle du bois de cèdre algérien sur OV 101 Degré de division A



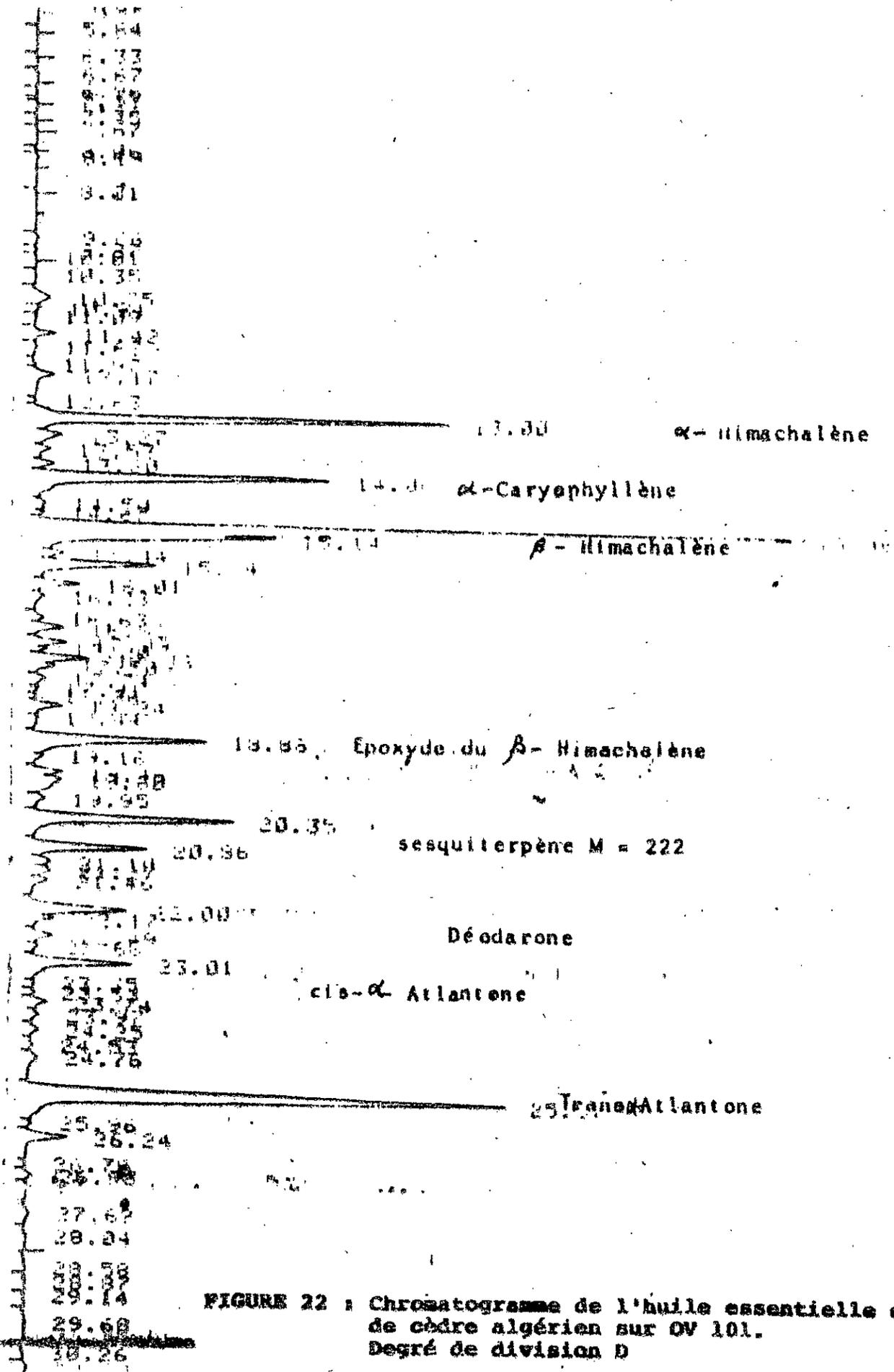


FIGURE 22 : Chromatogramme de l'huile essentielle du bois de cèdre algérien sur OV 101. Degré de division D

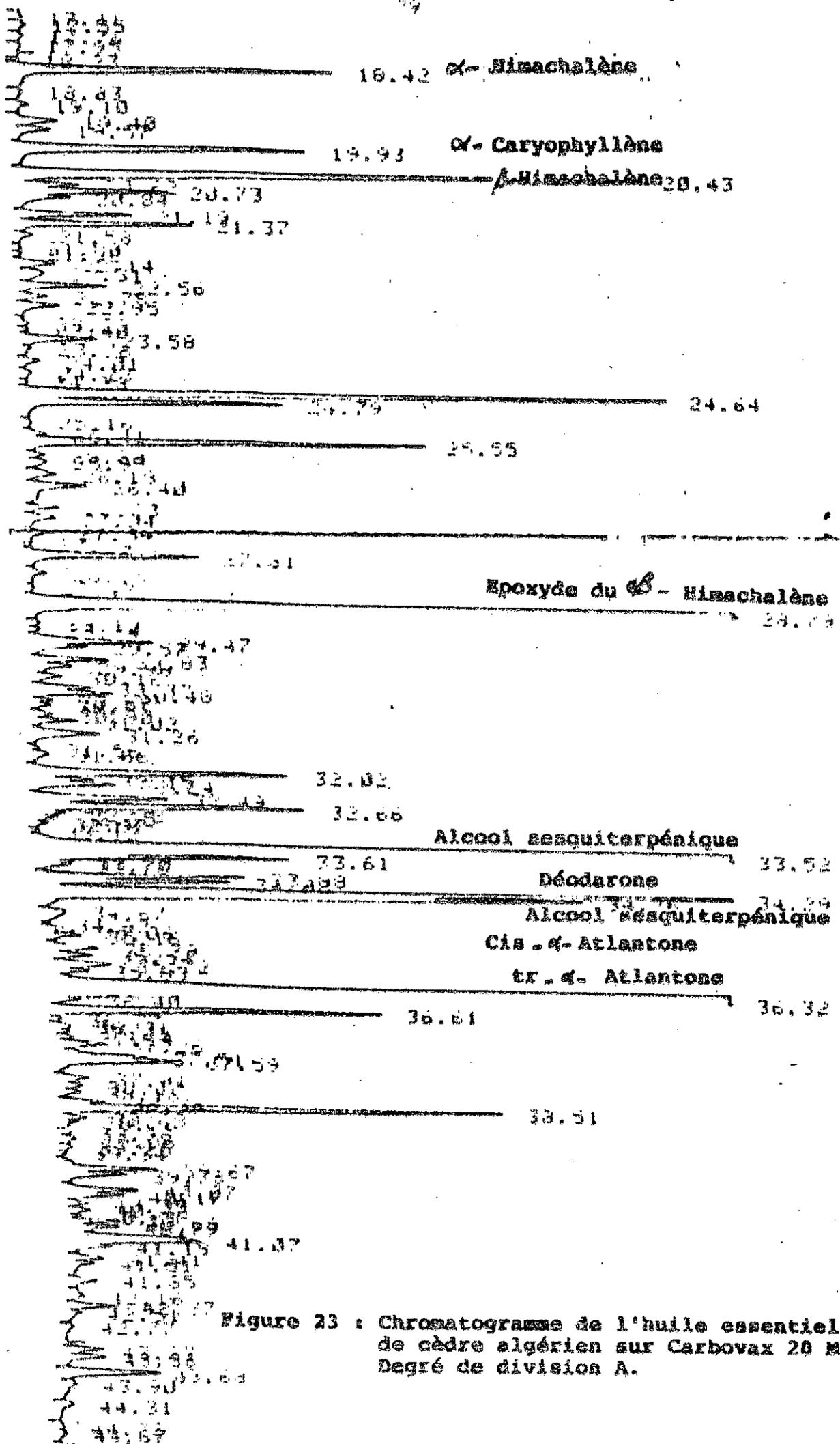


Figure 23 : Chromatogramme de l'huile essentielle du bois de cèdre algérien sur Carbowax 20 M Degré de division A.

$\alpha$ - Himachalène

$\alpha$ - Caryophyllène

$\beta$ - Himachalène

Epoxyde du - himachalène

III

Alcool sesquiterpénique

Déodarone

Alcool sesquiterpénique

Cis  $\alpha$  - Atlantone

Tr-  $\alpha$  - Atlantone

Figure 24 : Chromatogramme de l'huile essentielle du bois cèdre algérien sur Carbovan 2DM Degré de division B



-les méthodes comparatives ou de recherche dans les banques de données,

-les méthodes statistiques appelées également "modèles de reconnaissance".

Ces méthodes que nous examinerons brièvement, ont été revues par Heller (79), Jurs (80), Smith (81), Chapman (82) et Mum et Mc Lafferty (83).

### V.3.1. METHODES THEORIQUES D'IDENTIFICATION:

Ces méthodes consistent, par examen des différents spectrogrammes, soit à extraire des informations structurales, ou à émettre des propositions de structure déduites des modes de fragmentation, afin de comparer le spectrogramme théorique ainsi élaboré à celui du composé inconnu.

Cette méthode nécessite certes, une bonne connaissance des règles de fragmentation. A cet effet, plusieurs programmes ont été développés et s'appliquent aux composés suivants:

-hydrocarbures saturés et esters méthylés (84),

-esters aromatiques, éthers, cétones, aldéhydes, alcènes, alcanes (85),

-amines et alcools (86),

-esters, alcools et phtalates (87, 88).

De tous ces programmes, le plus élaboré est sans doute, le STIRS (Self-Training Interpretive and Retrieval System) développé par Mc Lafferty et collaborateurs (89, 90). Cet algorithme STIRS calcule une série d'indices à partir des faits structuraux suivants:

-ions et série d'ions caractéristiques d'une des classes citées précédemment,

-masses de ces ions caractéristiques,

-pertes de molécules neutres,

-autres facteurs semblables dérivant d'une combinaison linéaire des trois premières.

Toutefois, tous ces programmes développés ne peuvent que classer le spectrogramme du composé inconnu dans une famille chimique donnée.

### V.3.2. METHODES COMPARATIVES:

Le principe de ces méthodes consiste à rechercher parmi les spectrogrammes de référence contenus dans une banque de données, ceux qui présentent des similitudes ou voire même une superposition au spectrogramme du composé à identifier.

Ces méthodes ont retenu l'attention, en premier lieu, d'Abrahamson et Stenhagen (91), mais depuis ces techniques ont été très largement étudiées (85), (92-101) et ce, pour les deux avantages majeurs qu'elles présentent. En effet, elles permettent d'identifier complètement un composé inconnu en ne s'aidant que de son spectre de masse à basse résolution, et par ailleurs ne nécessitent aucune connaissance ou base théorique de spectrométrie de masse (102). Cependant, ces méthodes présentent l'inconvénient d'être limitées aux seuls spectres de la banque de données. Aussi, dans ces cas, serait-on amené à rechercher un spectre de masse suffisamment similaire à celui du composé inconnu afin d'établir une analogie structurale.

Enfin, ces méthodes comparatives se sont révélées efficaces dans le cas des mélanges non résolus. (103-106)

### V.3.3. METHODES STATISTIQUES OU "MODELES DE RECONNAISSANCE":

Ces "modèles de reconnaissance" fort complexes utilisent une classification empirique d'un composé possédant plusieurs propriétés mesurables reliées à un trait spectral particulier, parmi une série de composés de référence représentés chacun par un point dans un espace multidimensionnel  $p$ . Les composés présentant des similitudes seront contenus dans cet espace  $p$ . Partant du spectre de masse, trois approches de classification ont été considérées (81):

a-Classification par la méthode de la distance minimale à un point caractérisant une classe à partir d'un spectre moyen. Chaque classe peut être représentée par un seul point ou un modèle autour duquel tous les autres points de cette classe tendent à se regrouper. Les coordonnées de chaque point sont les valeurs d'intensité de chacun des  $p$  nombres de masse du spectre.

La mesure commune de la distance est la distance euclidienne ou le carré de la distance.

b-Classification par groupe. Cette méthode est appliquée pour reconnaître un spectre appartenant à une classe particulière

d'un groupe donné; chaque spectre est composé de  $p$  fragments d'intensités  $x_1$  à  $x_p$ .

c-Classification par la méthode K.N.N (K-nearest neighbor) ou du K le plus proche voisin avec  $K=1, 2, 3, \dots, n$ .

Cette méthode permet de ranger un spectre de masse inconnu dans la classe de spectres à K le plus proche voisin.

Parmi ces différentes méthodes d'identification des structures de composés, nous avons choisi celle du modèle de reconnaissance K.N.N développé par M.CHIEN (107,108). Aussi, avons-nous jugé utile de la présenter.

#### V.3.4. MODELE DE RECONNAISSANCE UTILISANT LA METHODE K.N.N:

Comparée aux autres modèles de reconnaissance la méthode K.N.N, outre une crédibilité de ses résultats, présente l'avantage d'une grande simplicité tant dans sa conception que dans son mode de calcul. (107,108)

Un système multicomposé peut être représenté par un point dans un espace multidimensionnel. La distance euclidienne entre deux systèmes 1 et 2 est définie par l'équation suivante:

$$d = \left( \sum_{i=1}^N (C_{1i} - C_{2i})^2 \right)^{1/2} \quad (15)$$

N-nombre total de composés.

$C_{1i}$ -concentration du composé  $i$  dans le système 1.

$C_{2i}$ -concentration du composé  $i$  dans le système 2.

Cette distance reflète la dissimilitude de ces deux systèmes. Dans un souci de compréhension, définissons comme suit deux fonctions  $F_{12}$  et  $F_{21}$ , entre deux systèmes 1 et 2 contenant respectivement  $n_1$  et  $n_2$  composés:

$$F_{12} = 1000 * 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n_1} M_i (\log C_{1i} - \log C_{2i})^2}{D_1} \quad (16)$$

$$F_{21} = 1000 * 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n_2} M_i (\log C_{1i} - \log C_{2i})^2}{D_2} \quad (17)$$

avec:

$M_i$  - facteur de poids.

$P$  - nombres de composés communs aux deux systèmes.

$D_1, D_2$  - les plus grandes distances possibles entre les deux systèmes.

$C_{11}$  et  $C_{21}$  étant exprimées dans une échelle relative de 1 à 1000, les distances  $D_1$  et  $D_2$  s'écrivent alors:

$$D_1 = \sum M_i (\log 1000)^2 \quad (18)$$

$$D_2 = \sum M_i (\log 1000)^2 \quad (19)$$

Nous remarquons que la fonction  $F_{12}$  mesure la probabilité de présence du système 1 dans le système 2. Si tous les composés du système 1 se retrouvent dans le système 2, à des niveaux similaires,  $F_{12}$  sera égale à 1000. Dans le cas contraire, la valeur de  $F_{12}$  sera inférieure à 1000. Il en est de même pour la fonction  $F_{21}$ .

Afin de caractériser les mélanges à identifier, quatre étapes sont nécessaires à la mise en oeuvre de cette méthode.

-La première étape intéresse la création d'une banque de données à l'aide des résultats expérimentaux de la C. G. /S.M. Le temps de rétention et l'aire du pic chromatographique ainsi que les valeurs de  $m/e$  correspondant aux quatre ions les plus intenses (en se référant au pic de base) et séparés les uns des autres d'au moins 3 u. m. a. sont, à cet effet, sélectionnés et emmagasinés.

-La deuxième étape permet de convertir tous les temps de rétention en indices de rétention de Kovats selon l'équation:

$$K = \sum A_i (\log T)^i \quad (20)$$

où  $T$  désigne le temps de rétention du soluté  $i$  et  $K$  son indice de rétention.

Les coefficients  $A_i$  sont quant à eux, déterminés par régression linéaire à partir des hydrocarbures normaux. Dans ce programme, une fonction polynomiale d'ordre 20 est utilisée.

-La troisième étape est l'étape d'identification. En effet, les valeurs de l'indice de rétention de Kovats et des quatre masses d'ions sélectionnés pour chaque pic chromatographique sont comparés à celles des composés de référence de la banque de données (environ 700 composés de référence). Quand la différence entre les indices de rétention de Kovats est inférieure ou égale à 5 unités et que les intensités des quatre masses d'ions sont

comparables, l'identification peut être considérée comme convenable et la procédure s'arrête.

Enfin, la quatrième et dernière étape permet d'évaluer la ressemblance de ces deux profils en calculant les fonctions  $F_{12}$  et  $F_{21}$  précédemment citées. Aussi le résultat est donné sous forme graphique simplifiée où chaque pic chromatographique est matérialisé par des traits verticaux. Sont portées sur ce graphe, les intensités relatives en fonction des indices de rétention de Kovats.

#### V.3.5. RESULTATS EXPERIMENTAUX DE L'ANALYSE PAR C.G./S.M. DE L'HUILE ESSENTIELLE DU BOIS DE CEDRE:

L'appareillage utilisé pour l'analyse de nos échantillons A, B et D d'huile, est un chromatographe HEWLETT-PACKARD travaillant en programmation de température de 50 à 210°C à raison de 4°C/min, sur colonnes capillaires OV 101 et Carbowax 20M en silice fondue. Ce chromatographe est couplé à un spectromètre de masse FINNIGAN 4500 équipé de son ordinateur NOVA 3 et d'un système de données INCOS compatible au mode MSDS. Cette méthode d'analyse nous a permis d'identifier les principaux constituants majeurs de l'huile essentielle de cèdre et d'en évaluer leur teneur. Aussi, nous avons regroupé dans les tableaux XVIII & XIX les résultats obtenus pour chaque degré de division A, B et D respectivement sur OV 101 et Carbowax 20 M.

Tableau XVIII: Huile essentielle du bois de cèdre du Djurdjura éluee sur colonne apolaire OV 101. Composition en constituants majeurs.

Constituants majeurs	% pour le degré de division A	% pour le degré de division B	% pour le degré de division D
$\alpha$ -himachalène	1,17	5,61	7,98
$\alpha$ -caryophyllène	2,24	6,27	6,96
$\beta$ -himachalène	1,84	14,53	20,89
Epoxyde du $\beta$ -himachalène	9,30	3,58	4,70
Sesquiterpène (M=222)	14,55	5,89	5,21
Déodarone	2,40	2,04	2,86
Alcool sesquiterpénique	—	—	—
Cis- $\alpha$ -atlantone	3,64	2,66	2,96
Trans $\alpha$ -atlantone	17,00	15,29	14,99
<b>TOTAL</b>	<b>52,14</b>	<b>55,87</b>	<b>66,55</b>

Tableau XIX: Huile essentielle du bois de cèdre du Djurdjura éluee sur colonne polaire Carbowax 20 M. Composition en constituants majeurs.

Constituants majeurs	% pour le degré de division A	% pour le degré de division B	% pour le degré de division D
$\alpha$ -himachalène	1,87	6,93	10,75
$\alpha$ -caryophyllène	1,83	5,79	7,82
$\beta$ -himachalène	3,81	14,42	26,87
Epoxyde du $\beta$ -himachalène	9,40	6,91	8,94
Alcool sesquiterpénique 1	17,46	22,15	6,86
Déodarone	1,15	1,34	2,04
Alcool sesquiterpénique 2	5,45	4,87	4,08
Cis- $\alpha$ -atlantone	2,96	2,94	4,20
Trans- $\alpha$ -atlantone	22,46	21,99	20,24
TOTAL	66,39	87,34	91,80

L'examen des tableaux XVIII et XIX montre que l'huile ainsi extraite est constituée principalement d' $\alpha$ -atlantones (composés trans notamment), de  $\beta$  et  $\alpha$ -himachalènes, d'alcools sesquiterpéniques, d' $\alpha$ -caryophyllène et enfin d'époxydes d'himachalène. L'échantillon de degré de division A présente certaines différences quant à la teneur de ces constituants majeurs. En effet, les pourcentages sont plus faibles hormis l' $\alpha$ -atlantone et les alcools sesquiterpéniques. Par ailleurs, les huiles essentielles éluees tant sur OV 101 que sur Carbowax 20 M présentent des pourcentages similaires en constituants majeurs. C'est ainsi que, dans la suite du travail, nous avons choisi d'utiliser une seule colonne apolaire, vu le gain de temps d'analyse que cette dernière procure.

### V.3.6. FRACTIONNEMENT DE L'HUILE ET ANALYSE PAR C.G./S.M.:

Afin d'améliorer la connaissance de l'huile, nous avons fait subir à celle-ci un fractionnement sous vide. Un échantillon de 100 ml d'huile a été fractionné en portions de 15 à 20% en volume chacune sur une colonne à distiller sous vide automatique RIGOSNA & Co. Ltd. A l'issue de cette distillation, nous avons recueilli cinq fractions que nous avons soumises à l'analyse chromatographique couplée à un spectromètre de masse FINNIGAN 4500. Les éluions ont été effectuées sur une colonne capillaire de phase stationnaire apolaire J& WDB1, selon une programmation de température de 50 à 230°C à raison de 4°C/min. Le tableau XX présente les pourcentages en constituants majeurs dans chacune des cinq fractions.

Tableau XX: Composition en constituants majeurs dans les différentes fractions de l'huile essentielle du bois de cèdre du Djurdjura

Constituants	fraction1	fraction2	fraction3	fraction4	fraction5
$\alpha$ -himachalène	10,28	24,44	20,83	12,12	3,44
$\alpha$ -caryophyllène	6,83	14,93	14,86	11,68	5,37
$\beta$ -himachalène	10,51	51,68	55,31	46,65	20,60
Epoxyde du $\beta$ - himachalène	—	3,11	0,91	2,38	3,01
Alcool sesquiter -pénique 1	—	2,05	2,42	6,82	11,00
Alcool sesquiter -pénique 2	—	—	—	2,14	5,07
Isomère de la $\beta$ aglantone	—	—	0,22	0,78	3,64
Déodarone	—	—	0,51	1,96	5,22
$\beta$ -aglantone	—	0,28	—	0,82	2,81
Cis- $\alpha$ -atlantone	—	—	—	0,74	2,91
Tr $\alpha$ -atlantone	—	—	1,57	6,18	23,45
Aromatique d'himachalène	36,30	—	—	—	—
Aromatique du dihydrohimacha- lène	2,29	—	—	—	—
TOTAL	66,21	96,49	96,47	92,27	86,52

Lors de l'analyse par C. G/S. M. des fractions de l'huile essentielle, nous remarquons que les  $\alpha$ -atlantone (cis et trans) n'apparaissent que dans les fractions lourdes (fr. 4 & fr. 5).

L'analyse des fractions a permis de mettre en évidence de nouveaux constituants qui n'apparaissaient pas lors de l'analyse chromatographique de l'huile essentielle du bois de cèdre du Djurdjura:  $\beta$ -aglantone et son isomère et les aromatiques d'himachalène.

Les profils chromatographiques des cinq fractions sont représentés sur les figures 26 à 30. Ces profils sont donnés sous une forme graphique simplifiée où chaque trait vertical correspond à un constituant donné caractérisé par son indice de rétention de Kovats.

Figure 26 : Analyse par C.G./S.M. d'une fraction  
d'huile essentielle (fraction 2)

49286

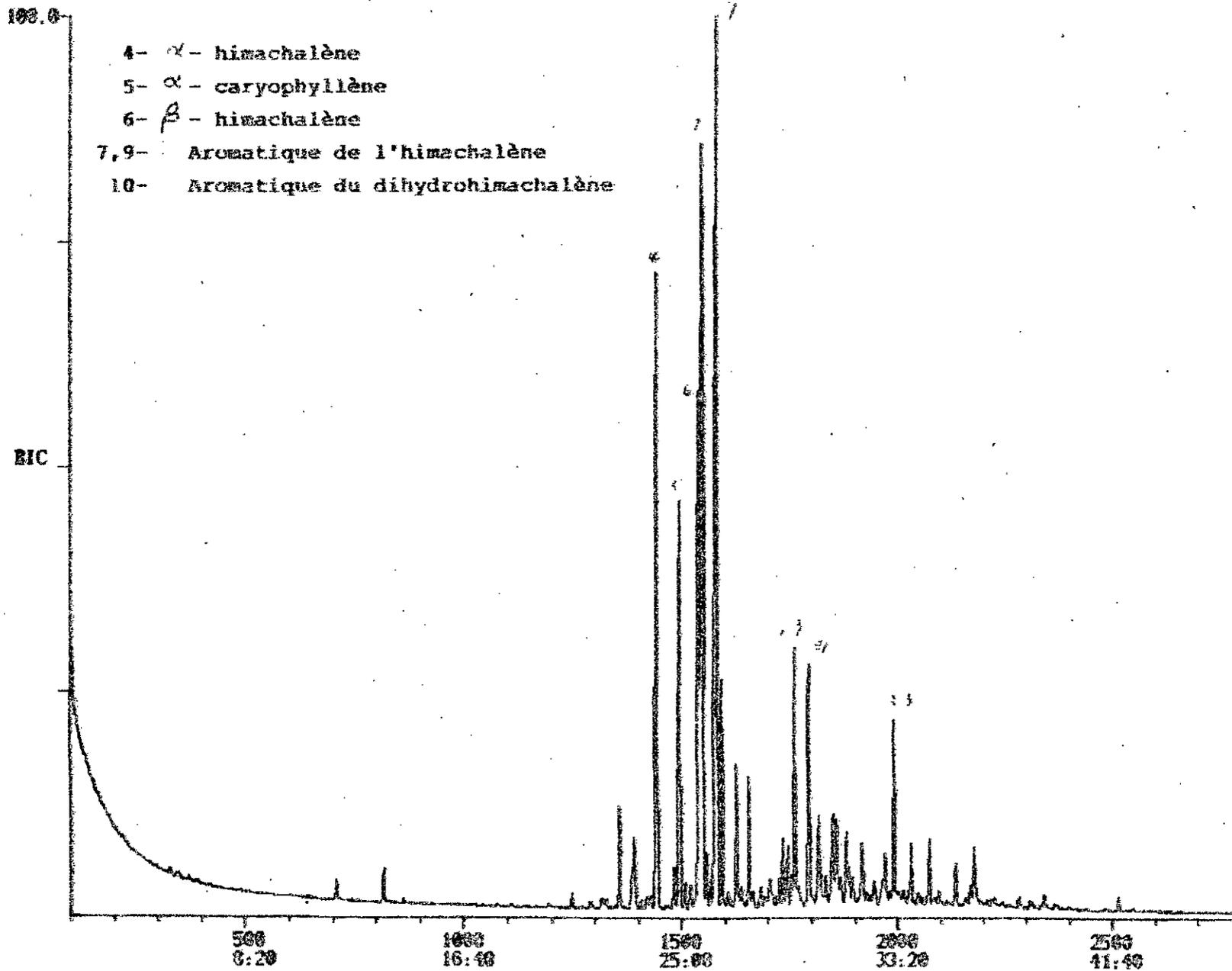


Figure 27 : Analyse par C.G./S.M. d'une fraction  
d'huile essentielle (fraction 3)

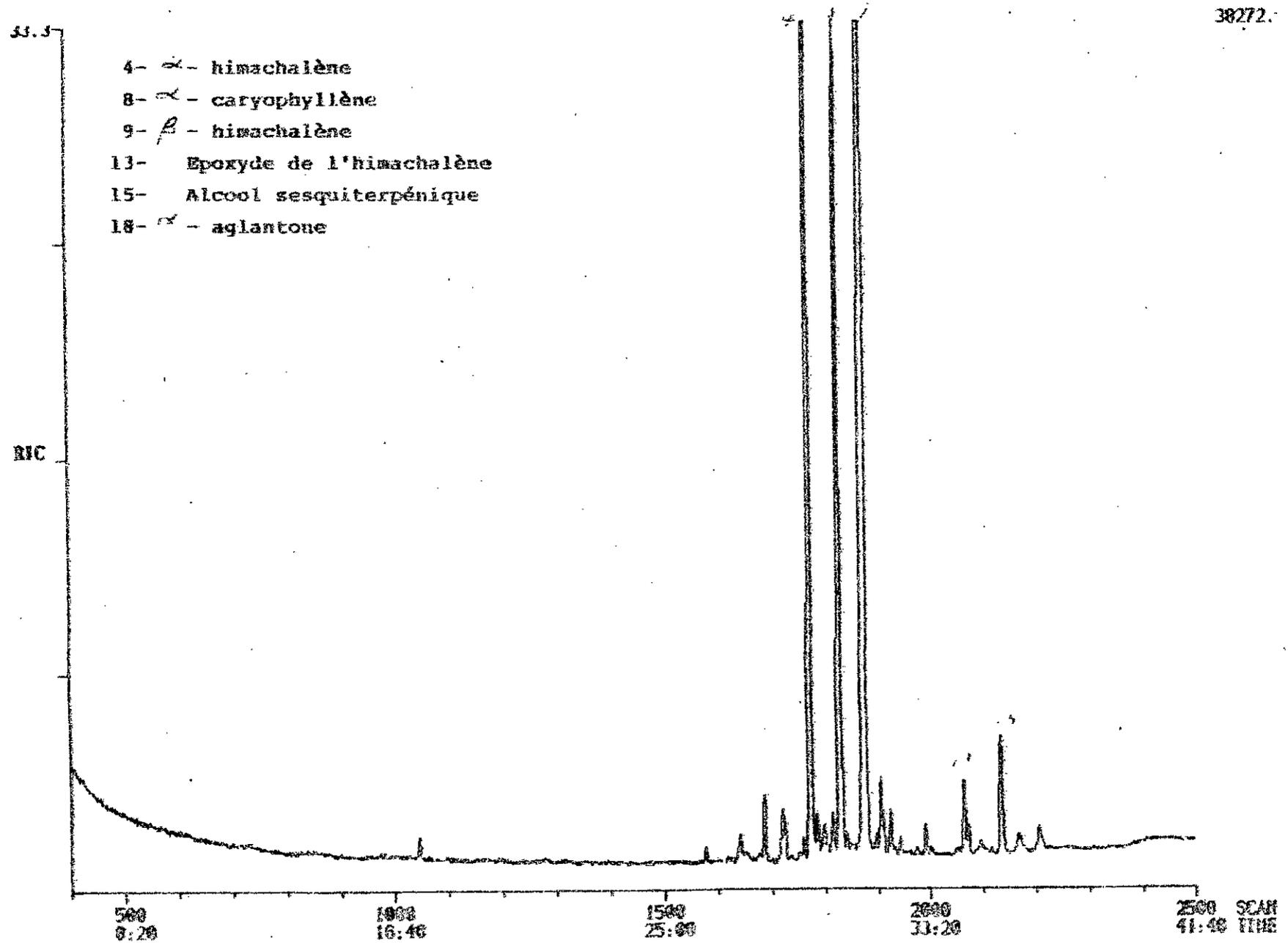


Figure 28 : Analyse par C.G./S.M. d'une fraction d'huile  
essentielle (fraction 4)

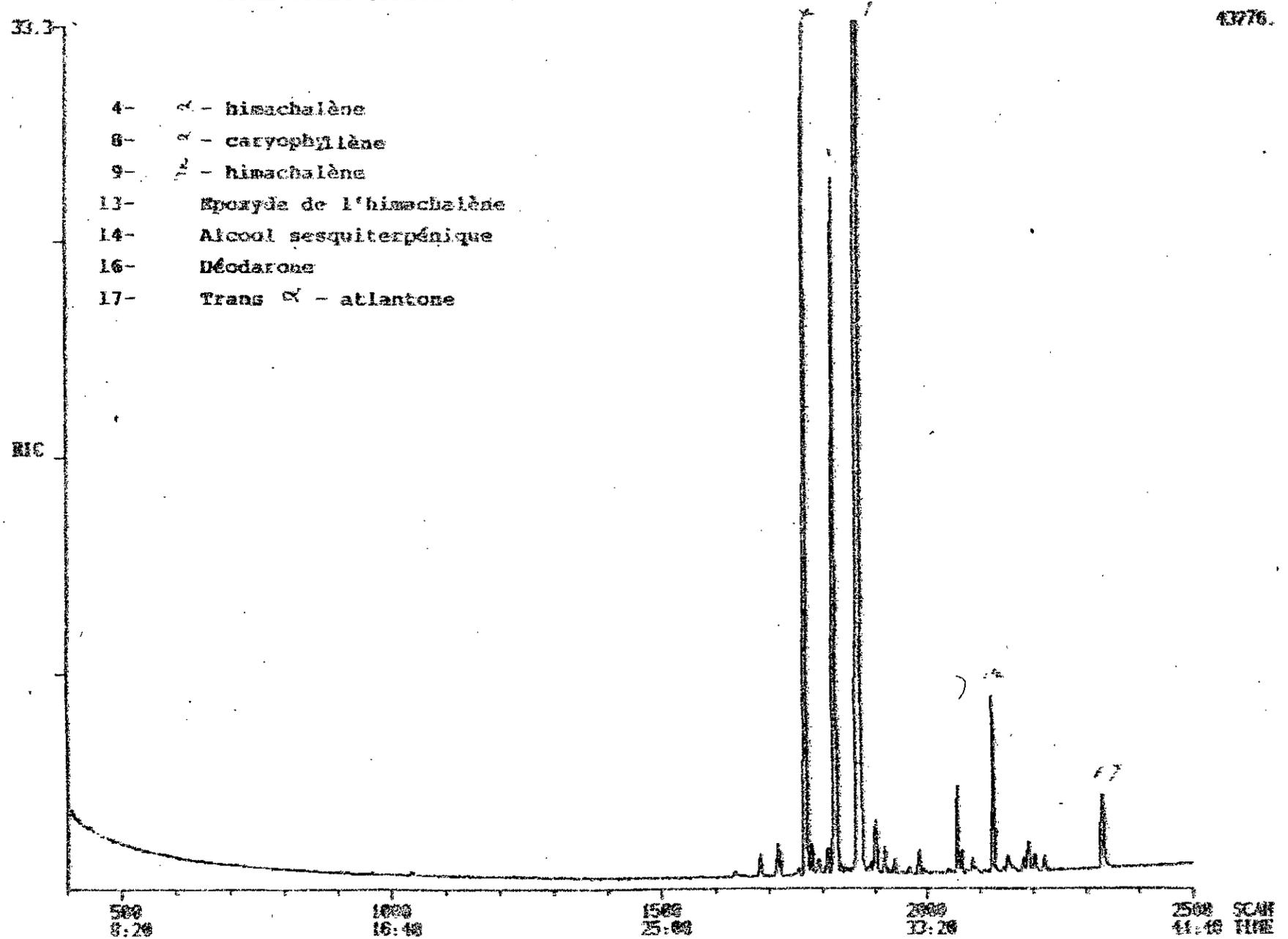


Figure 29 : Analyse par C.G./S.M. d'une fraction  
d'huile essentielle (fraction 5)

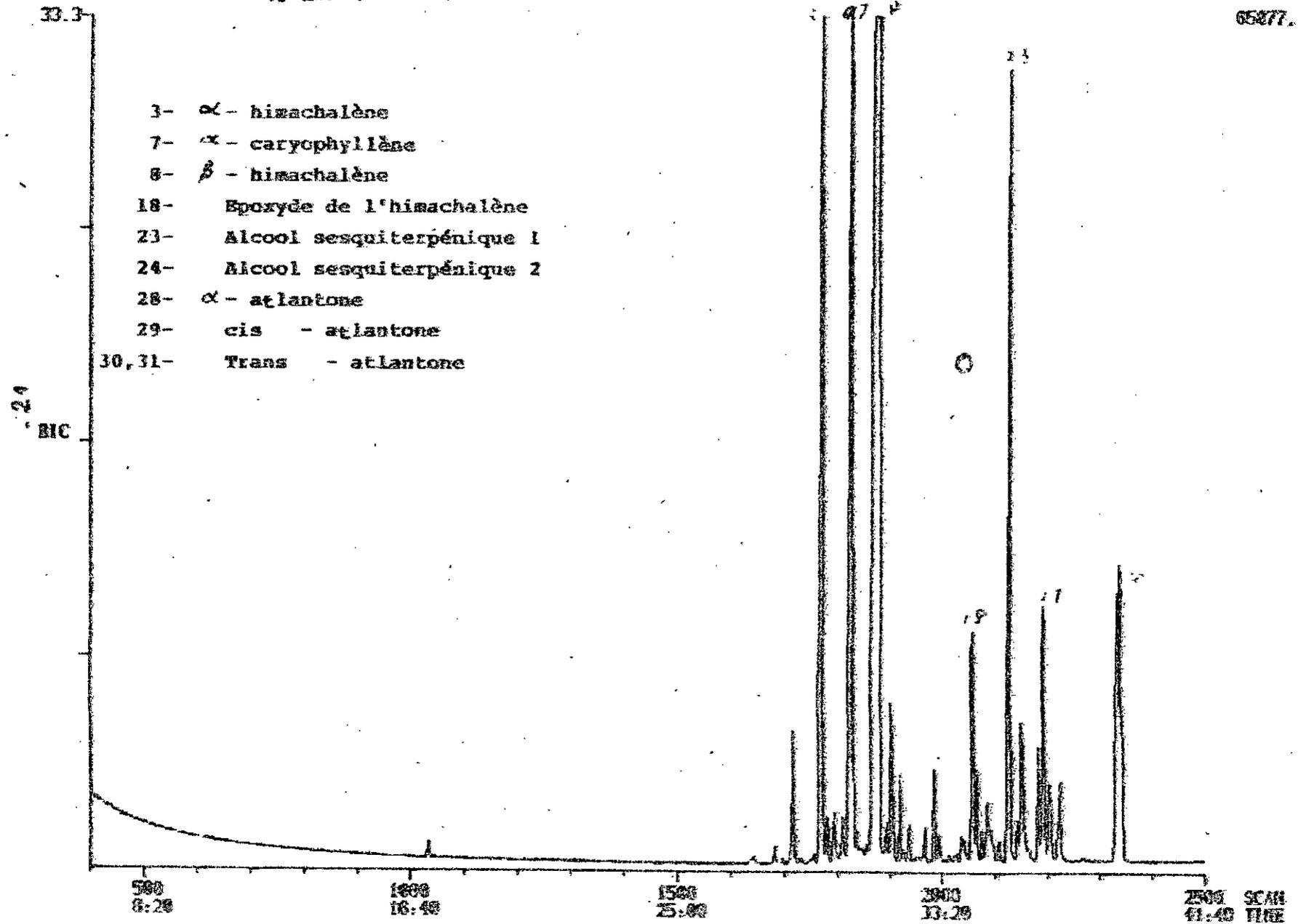
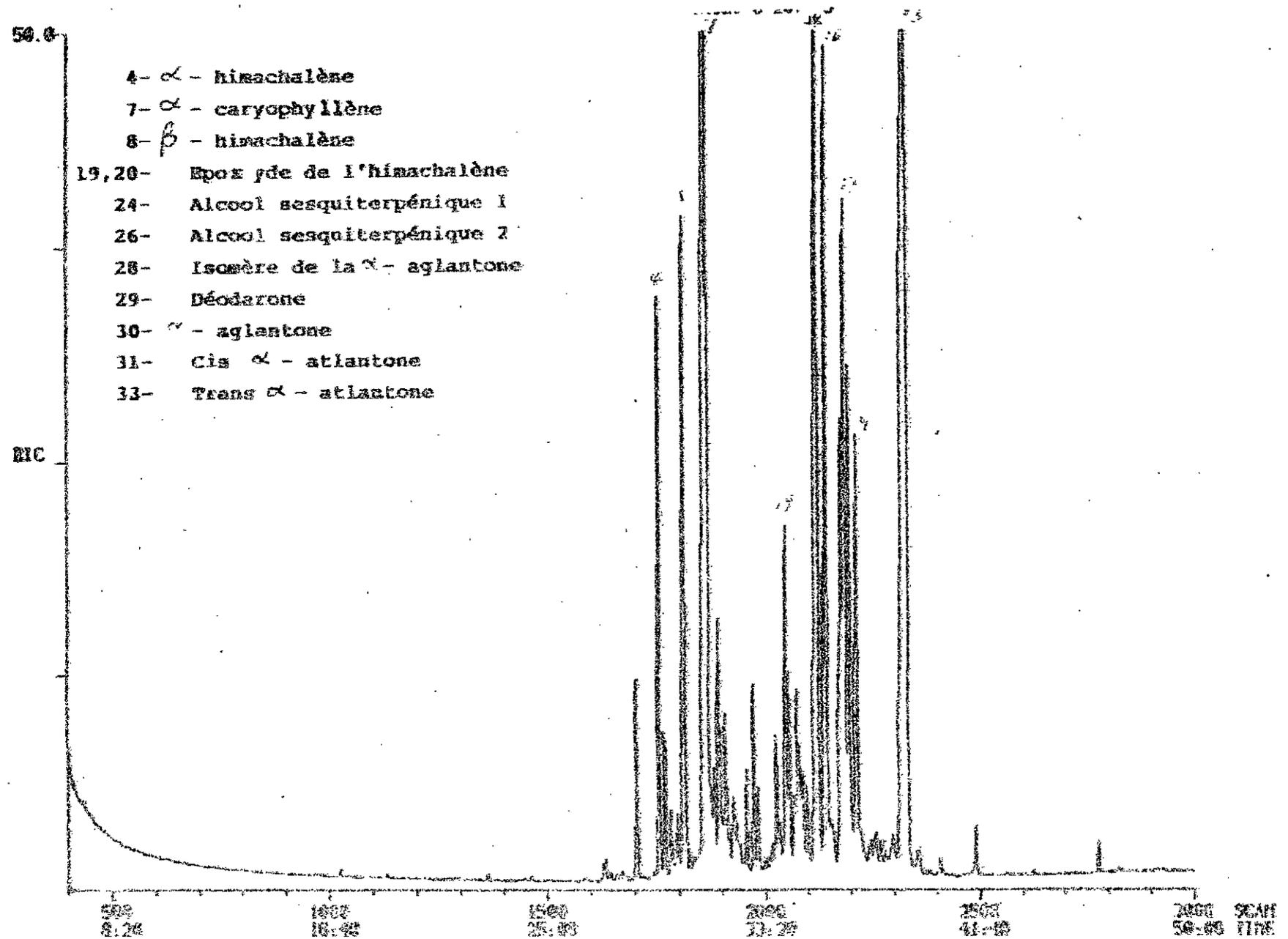


Figure 30 : Analyse par C.G. /S.M. d'une fraction  
d'huile essentielle (fraction 6)



## VI. CONCLUSION:

La valorisation de nos espèces forestières nous a amené à concevoir et à réaliser un appareillage pilote d'extraction d'huiles essentielles, combinant les deux modes de distillation: entraînement à la vapeur et distillation mixte.

L'étude des paramètres accessibles expérimentalement tels que temps de distillation, degré de division de la charge, masse admissible par plateau, débit de vapeur, ... a permis l'optimisation des conditions opératoires de ce réacteur. Aussi, les rendements en huile essentielle voisins de 5% montrent que notre installation donne de bons résultats comparés aux valeurs généralement admises dans le monde industriel (rendement variant de 3 à 5%).

Toutefois, cette conclusion est quelque peu hâtive. En effet, l'appareillage devra être testé ultérieurement avec d'autres charges de nature différente à savoir rameaux, feuilles, tiges, aiguilles, racines, fleurs, etc... afin d'apprécier ses capacités d'extraction.

Dans le but de caractériser l'huile essentielle ainsi extraite, nous avons mené deux types d'analyse:

-Une première analyse a consisté à l'évaluation des propriétés physico-chimiques de l'huile par la détermination des intervalles de variation de sa densité, son pouvoir rotatoire, sa solubilité dans l'alcool et ses indices de réfraction, d'acide et d'ester. Aussi, les valeurs observées confirment la qualité de notre huile.

-La deuxième série d'analyses a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse sur deux colonnes capillaires de polarités différentes (Carbowax 20 M & OV 101) afin d'évaluer la teneur en constituants majeurs de l'huile.

Par ailleurs, l'identification de ces constituants majeurs ( $\alpha$ - et  $\beta$ -himachalène, époxyde du  $\beta$ -himachalène, cis et trans  $\alpha$ -atlantènes, alcools sesquiterpéniques, déodorone, aglantone, ...) a pu être menée sur des fractions issues d'une distillation sous vide, par la technique couplant la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse.

Ainsi, nous pouvons constater que notre huile est constituée principalement de dérivés sesquiterpéniques représentant environ 80 %.

Des travaux ultérieurs pourraient être menés sur l'étude des phénomènes de diffusion intervenant lors du processus d'extraction. De même que les études analytiques les plus fines

pourraient permettre une meilleure connaissance de l'huile essentielle du cèdre du Djurdjura et de l'Atlas Algérien.

## BIBLIOGRAPHIE.

- 1-ANALYTICAL METHOD COMMITTEE, *Analyst* , 109, 1984, 1339
- 2-E.GUENTHER, *The Essential Oils*, vol I, Ed. Krieger, 3<sup>e</sup> ed., 1982
- 3-T.SHIBAMOTO , *Chromat.Sci.* , 105, 1981, 455
- 4-E.STAHL & D.GERARD , *Perfum. & Flav.*, 10, 1985, 29
- 5-S.MIALL, *A New Dictionary of Chemistry*, London, Longmans Green, 1940
- 6-A.L.BLOOMFIELD, *The Perfumery & Ess.Oils Record*, 3, 1936
- 7-Hack's *Chemical Dictionary*, Philadelphia, 1944
- 8-J.A.PICKETT, J.COATES & R.F.SHARPE, *Chemistry & Industry*, 5, 1975, 571
- 9-N.N.GOKHALE & Y.MASADA , *Int.Congr.Ess.Oils*, 7, 1977, 242
- 10-RECHENBERG, *Theorie der Gewinnung und Trennung der Atherischen Öl durch Destillation*, 1910, 432
- 11-PASSY , *Compt.rendu* , 124, 1897, 783
- 12-PASSY , *Bull.Soc.Chim.*, 17<sup>3</sup> , 1897, 519
- 13-HESS , *Ber* , 34
- 14-HESS , *Ber* , 36, 1903, 1465
- 15-HESS , *Ber* , 37, 1904, 1462
- 16-MEYER-WARNOD , *Perfum. & Flav.*, 9, 1984, 93
- 17-P.F.PAUL & W.S.WISE, *The Principles of Gas Extraction*, Mills & Boon Ltd., London, England, 1971
- 18-D.A.MOYLER , *Perfum. & Flav.*, 9, 1984, 109
- 19-E.G.SCHULTZ & J.N. RANDALL, *Food Technol.* , 24, 1970, 94
- 20-A.B.CARAGAY , *Perfum. & Flav.*, 6, 1981, 43
- 21-CHU CHIN CHIEN; M.CH.KUO; CH.M.WU & CHI TANG , *J.Agr.Food Chem.*, 34, 1986, 477
- 22-D.S.GARDNER , *Chem.Ind;* , 19, 1982, 402
- 23-D.J.LAWS; N.A.BATH & J.A.PICKETT, *ASBC Journal*, 35<sup>4</sup> , 1978, 187
- 24-A.F.PROKOPEUK , *Izv.Vyssh.Pisc.Technol.*, 3, 1974, 7
- 25-W.G.SCHULTZ & J.M.RANDALL , *Food Technol.* , 24, 1970, 1282
- 26-YAMAGUCHI; MURAKAMI; NAKANO; YAMANO, *J.Agr.Food Chem.* , 34, 1986, 904
- 27-J.P.CALAME & R.STEINER , *Chem. Ind.* , 1982, 399
- 28-Y.R.NAVES, *Qu'est-ce-qu'une huile essentielle?*, *Ind.chimique belge* , 1
- 29-J.GARNERO , *Riv.Ital.E.P.P.O.S.* , 1976, 1
- 30-GLICHITCH & NAVES , *Chimie & industrie*, 19, 1928, 482
- 31-a) *Ber. Schimmel & Co* , *Avril* , 1894, 56
- b) *Ber. Schimmel & Co* , *Avril* , 1898, 14
- 32-P.BOUDY, *Economie forestière nord-africaine, monographie et traitement des essences forestières*, Ed.LAROSE, tome II, 1950

- 33-P. WUITTIER, Raffinage et génie chimique, tome I, Ed. Technip  
1972
- 34-NORME A.F.N.O.R., Détermination du pouvoir rotatoire, NPT  
75-113, Juin 1982
- 35-NORME A.F.N.O.R., Huile essentielle, Détermination de  
l'indice de réfraction, NPT 75-112, Aout 1977
- 36-M. GARRIC, Travaux pratiques de chimie, Ed. Dunod, 1964
- 37-NORME A.F.N.O.R., Evaluation de la miscibilité à l'éthanol,  
NPT 75-101, Juin 1982
- 38-E. GUENTHER, The essential oils, vol VI, Ed. Krieger, 3<sup>e</sup> ed,  
1982
- 39-GILDEMEISTER & HOFFMANN, Die Aterischen Öle, 1939
- 40-a) MASSY, Bull. Soc. Sci. natur. Maroc. botan. appl., 16, 1924, n° 1  
b) Ber Schimmel & Co, 5, 1925
- 41-L'essence du Cedrus atlantica, Paris, 3, 1930
- 42-Bull. Imp. Inst., 21, 1923, 501
- 43-ROBERTS, J. Chem. Soc., 109, 1916, 791
- 44-Ber Schimmel & Co, Avril, 1915, 54
- 45-a) RAO, Indian Forest Records, 9, 1922, 111  
b) RAO, J. Soc. Chem. Ind., 42, 1923, 429
- 46-Ber Schimmel & Co, Octobre, 1930, 130
- 47-MASSY, Chimie & Industrie, 8, 1922, 464
- 48-HUDDLE, J. Ind. Eng. Chim., 28, 1936, 18
- 49-POOL, Chemurgie Digest, 7, 1948, 7
- 50-Ber Schimmel & Co, Octobre, 1911, 105
- 51-MACCOLOCH, J. Soc. Chem. Ind., 38, 1919, 364T
- 52-BECKLEY, East african Agr. J., 2, 1936, 127
- 53-GRIMAL, Compte rendu de l'Ac. des Sc. (Paris), 175 582, 1902,  
1057
- 54-a) PFAU, Helv. Chim. Acta, 15, 1932, 1481  
b) PFAU & PLATTNER, Helv. Chim. Acta, 17, 1934, 129
- 55-VON BREDEBERG & ERDTMANN, Acta. Chim. Scand., 15, 1961, 685
- 56-SUKH DEV & JOSEPH, Tetrahedron, 24, 1968, 3809
- 57-PLATTIER & TEISSEIRE, Recherches, 19, 1974, 153
- 58-PLATTIER & TEISSEIRE, Recherches, 24 3, 1974, 167
- 59-LAWRENCE, Parfum. & Flav., 5, 1980, 63
- 60-RUNEBERG, Acta. Chim. Scand., 14, 1960, 1288
- 61-WENNINGER; YATES & DOLINSKY, J. A. O. A. C., 50, 1968, 1304
- 62-WALKER, Parfum. Ess. Oil Record, 59, 1968, 347
- 63-WENNINGER & YATES, J. A. O. A. C., 53, 1970, 949.
- 64-KITCHENS; DORSKY & KAISER, Givaudanian, 1, 1971, 3
- 65-LAWRENCE, Parfum. & Flav., 5, 1980, 63
- 66-KRISHNA; SUKH DEV & GUHA, J. Ind. Chem. Soc., 29, 1952, 721
- 67-JOSEPH & SUKH DEV, Tetrahedron Letters, 6, 1961, 216
- 68-BELLAMY, Infrared Spectra of complex molecules, Methuen  
Londres, 1958

- 69-BLADON; HENBEST & WOOD, *J. Chem. Soc.*, 1952, 2737
- 70-a) HALSALL, *Chim. Ind.*, 1951, 867
- b) WHEELER & MATEOS, *J. Org. Chim.*, 21, 1956, 1110
- 71-APPLEWHITE & MICHELI, *Tetrahedron Letters*, 1961, 560
- 72-ISSADI, *Projet de fin d'études, E.N.P.*, 1981
- 73-WRIGHT & CONNERY, *ASBC Proceedings*, 1951, 87
- 74-TOUAHRIA, *Projet de fin d'études, E.N.P.*, 1986
- 75-DIOURTE, *Projet de fin d'études, E.N.P.*, 1985
- 76-ZEMANSKY, *Heat and Thermodynamics*, 4<sup>th</sup> Ed., Mc Graw & Hill, New-York, 1957
- 77-R. DELANGE, *Essence naturelle & parfums*, Ed. A. Colin, 1930
- 78-G. VERNIN; M. PETITJEAN & METZGER, *Capillary Gas Chromatography in Essential Oils Analysis*, Ch. X, Ed. Sandia & Bicchi, Huthig Verlag, Heidelberg, 1987, 287
- 79-S. R. HELLER, In *Proceedings of the Nato-CANO ASI on computer Representation and Manipulation of Chemical Information*, John Wiley, New-York, 1974, 175
- 80-P. C. JURIS, *Computer Representation and Manipulation of Chemical Informations*, J. Wiley, New-York, 1974, 265
- 81-D. H. SMITH; L. M. MASINTER & N. S. SRIDHARAN, *Computer Representation and Manipulation of Chemical Information*, Eds. W. T. WIPKE, S. R. HELLER, R. J. FELDMANN & H. HYDE, J. Wiley, New-York, 1974, 287
- 82-J. R. CHAPMAN, *Computers in Mass Spectrometry*, Ac. Press, New-York, 1978, 101
- 83-I. K. NUM & Mc LAFFERTY, *Supercomputers in Chemistry*, *Advances in Chemistry Series*, vol 173, 1981, 117
- 84-B. PETERSON & R. RYHAGE, *Anal. Chem.*, 39, 1967, 970
- 85-R. L. CRAWFORD & J. D. MORRISON, *Anal. Chem.*, 40, 1968, 1464
- 86-J. F. O'BRIEN & J. D. MORRISON, *Aust. J. Chem.*, 26, 1973, 785
- 87-N. A. B. GRAY, *Org. Mass. Spectrom.*, 10, 1975, 507
- 88-N. A. B. GRAY & T. O. GRÖNNEBERG, *Anal. Chem.*, 47, 1975, 419
- 89-K. S. KWOK; R. VENKATARAGHAVAN & F. W. Mc. LAFFERTY, *Anal. Chem. Soc.*, 95, 1973, 4185
- 90-I. K. NUM; R. VENKATARAGHAVAN & F. W. Mc. LAFFERTY, *Anal. Chem.*, 53, 1981, 179
- 91-ABRAHAMSON; S. STENHAGEN & E. STENHAGEN, *Biochem. J.*, 92, 1964
- S. ABRAHAMSON, *Science Tob.*, 14, 1967, 129
- 92-M. PETITJEAN, "Mass. Spectra and Kovat's Indices Bank of Heterocyclic Flavouring Compounds", *Faculté des Sciences & Techniques, Marseille*, PhD, 1982
- 93-G. VERNIN; M. PETITJEAN & J. METZGER, *Enzymes Technol. Aliment. Symp. Int.*, *Tec. Soc. Lavoisier, France*, 1982, 25

- 94-M. PETITJEAN; G. VERNIN & J. METZGER, Instrumental Analysis of  
Foods, Recent Progress, vol I, Academic Press, New-York,  
1983, 97
- 95-S. L. GROTCHE, Anal. Chem., 42, 1970, 1214.
- 96-B. A. KNOCK; I. C. SMITH; D. E. WRIGHT; R. G. RIDLEY & W. KELLY,  
Anal. Chem., 42, 1970, 1516
- 97-H. S. HERTZ; R. A. HITES & K. BLEMAN, Anal. Chem., 43, 1971, 681
- 98-L. E. WANGEN; W. S. WOORWARD & T. L. ISENHOUR, Anal. Chem., 43,  
1971, 1605
- 99-R. G. RIDLEY, Biochemical Applications of Mass Spectrometry,  
ch. VI, John Wiley, New-York, 1972
- 100-S. FARBMAN; R. I. REED; D. H. ROBERTSON & M. E. F. SILVA, Int. J. Mass  
Spectrom. Ion Phys., 12, 1973, 123
- 101-R. J. MATHEWS & J. D. MORRISON, Aust. J. Chem., 27, 1974, 2167
- 102-G. VERNIN; M. PETITJEAN; J. C. POITE & J. METZGER, Computer aids  
to Chemistry, Ellis Horwood Ltd., Chichester, ch. VII, 1986  
294
- 103-D. D. TUNNICLIFF & P. A. WADSWORTH, Anal. Chem., 37<sup>9</sup>, 1965,  
1082
- 104-F. W. Mc. LAFFERTY; R. H. HERTEL & R. D. WILCOCK, Org. Mass. Spectr.,  
9, 1974, 690
- 105-G. T. RASMUSSEN; B. A. HÖHNE; R. C. WIEBOLT & T. L. ISENHOUR, Anal.  
Chim. Acta, 112, 1979, 151
- 106-B. E. BLAISDELL & C. C. SWEELY, Anal. Chim., 117, 1980, 17
- 107-B. R. KOWALSKI & C. F. BENDER, Anal. Chim., 44, 1972, 1405
- 108-J. B. JUSTICE & T. L. ISENHOUR, Anal. Chim., 46, 1974, 223
- 109-M. CHIEN, Anal. Chim., 57, 1985, 348
- 110-M. CHIEN, non publié, 1987