

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

«O»

21/87

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

«O»

lex

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT : GENIE CHIMIQUE

«O»

المركز الوطني للتوثيق
BIBLIOTHEQUE
Ecole Nationale Polytechnique

PROJET DE FIN D'ETUDES

EN VUE D'OBTENTION DU DIPLOME D'INGENIEUR D'ETAT

SUJET

Extraction de l'Huile essentielle d'Eucalyptus globulus

Proposé par :

Mr R. BELABBES

Étudié par :

Mlle N. YAICI

Dirigé par :

Mme S. BOUCHTAOUI

Mr R. BELABBES

PROMOTION : JUIN 1987

E.N.P. - 10, Avenue Hacén Badi - EL-HARRACH - ALGER

Pa'ci

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

«O»

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

«O»

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT : GENIE CHIMIQUE

«O»

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
المكتبة — BIBLIOTHEQUE
Ecole Nationale Polytechnique

PROJET DE FIN D'ETUDES

EN VUE D'OBTENTION DU DIPLOME D'INGENIEUR D'ETAT

SUJET

Extraction de l'Huile essentielle d'Eucalyptus globulus

Proposé par :

Mr R. BELABBES

Étudié par :

Mlle N. YAICI

Dirigé par :

Mme S. BOUCHTAOUI

Mr R. BELABBES

PROMOTION : JUIN 1987

E.N.P. - 10, Avenue Hacén Badi - EL-HARRACH - ALGER

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR

ÉCOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات

دائرة: الهندسة الكيميائية

Département : Génie - Chimique

الموجه: السيد بلعاباس السيرة: بوشتاوي

Promoteur : Mme BOUCHTAOUI - Mr BELABBES

تلميذ مهندس: ياسين فورية

Elève Ingénieur : Melle YAICI NORA

خلع الزيت الأساسي من الكليبتوس الكروي

خلع الزيت الأساسي من الكليبتوس الكروي تم بطريقتين: التدوير بالهيسر وتقطير. في المرحلة الأولى حاولنا تعيين مختلف العوامل مثل الحجر الزم للبخار، عدد الطبقات وما قبل التجفيف. استعملنا عدة سوائل لخلع الزيت من صباه التقطير. في المرحلة الثانية، تم تقسيم الزيت المخلوع على مفاعل كروما وتحليل مقرب تم تعيين الخواص الفيزيوكيميائية.

Subject : Extraction de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus.

Résumé: L'extraction de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus a été conduite par deux méthodes : entrainement à la vapeur et hydrodistillation. Dans une première étape, nous avons optimisé les différents paramètres tels que débit de vapeur, charge et nature du découpage, nombre de plateaux et pré-séchage. Différents solvants ont été utilisés pour extraire l'huile des eaux de distillation. Enfin, dans une deuxième étape, un fractionnement chromatographique de l'huile extraite et une approche analytique ont permis d'atteindre les propriétés physico-chimiques.

Subject : Extraction of the essential oil of globulus eucalyptus.

Abstract: The extraction of the essential oil from the plant globulus Eucalyptus was performed using two methods : Vapour entrainment, hydrodistillation. On the first step, different parameters such as vapour flow rate, number of plats and predrying have been optimised. Different solvents have been used to extract the oil from the distillat. In the second step, a chromatographic fractionning of the oil extracted ans an analytical approch have allowed us to its physico-chimica properties obtain.

DEDICACES

- /-/ ma très chère mère.
- /-/ mon père.
- /-/ mes frères et soeurs.
- /-/ celui qui m'est très chère.

Durant toute la période de la réalisation de mes travaux,
Madame BOUCHTAOUI et Monsieur BELABBES, m'ont apporté un concours apprécié
aussi bien sur le plan pédagogique que sur le plan matériel.
Aussi je tiens particulièrement à les remercier et qu'ils trouvent ici
l'expression de ma profonde gratitude.

// es membres du jury

- Président / Madame R. DERRICHE, Chargée de cours à l'E.N.P.

- Examineurs / Madame S. CHARHARI, Maitre assistante à l'E.N.P.
Monsieur A. TYCZKOWSKI, Maitre de conférence à l'E.N.P.

- Promoteurs / Madame S. BOUCHTAOUJ, Maitre assistante ~~stagiaire~~ à l'E.N.P.
Monsieur R. BELABBES, Professeur à l'E.N.P.

- Invité / Madame L. IGUERTZIRA, Chef de Département SAIDAL (ex P.C.A.)

REMERCIEMENTS

J'exprime ma sincère reconnaissance à Mme DERRICHE chargée de cours au Département de Génie-chimique de l'E.N.P. pour l'honneur qu'elle me fait de présider les travaux de mon jury.

Que : - Madame S. CHARCHARI Maître assistante à l'E.N.P.

- Monsieur A. TYCZKOWSKI Maître de conférence à l'E.N.P.

trouvent ici l'expression de mes vifs remerciements pour avoir bien voulu accepté de faire partie de ce même jury.

Par ailleurs, je tiens à remercier bien les responsables des institutions où j'ai été souvent amené à solliciter le concours matériel et l'utilisation de leurs équipements scientifiques et techniques en particulier :

- Madame IGURTZIRA Chef de département à la SAIDAL (ex P.C.A.) la **vigerie**.
- Monsieur le responsable du Département foresterie de l'I.N.A.
- Monsieur BOUSSENADJI, chef de Département des analyses **finés** du services des fraudes.

Je ne saurais oublier d'exprimer ma reconnaissance à tous les professeurs du Département de Génie-chimique, parmi lesquels il me plait de mentionner particulièrement :

- Monsieur BOUAMOUD.
- Monsieur BOUMGHAR.
- Monsieur BENNIDIR.

Pour leurs conseils et leurs concours.

Je remercie enfin toutes et tous ceux qui m'ont aidés d'une manière ou d'une autre à la réalisation de ce documents, en particulier ma **cousine** Lefla.

S O M M A I R E.

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
المكتبة — BIBLIOTHEQUE
Ecole Nationale Polytechnique

I - Introduction.

II - Etude bibliographique.

II. 1 Huile essentielle.

II. 2 Matériel botanique.

II. 3 Mode d'obtention.

II. 4 Utilisation des huiles essentielles.

II. 5 Propriétés physico-chimiques.

II. 6 Présentation de l'eucalyptus.

II. 7 Bases théoriques de l'entraînement à la vapeur.

II. 8 Fractionnement de l'huile essentielle.

III - Partie expérimentale.

A - Méthode de travail.

B - Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle
d'eucalyptus globulus.

C - Fractionnement de l'huile d'eucalyptus globulus.

- Annexe.

- Conclusion générale.

Introduction.



On sait depuis l'antiquité que les constituants odorants des plantes peuvent être concentrés sous forme d'"huiles essentielles" par chauffage modéré de la matière végétale.

L'huile essentielle est une matière volatile contenant l'odeur totale d'une substance aromatique.

Plus tard, on a trouvé que l'entraînement à la vapeur est une meilleure méthode de préparation des huiles essentielles, dont une soixantaine étaient déjà connues des pharmaciens en 1592 (4).

Près de 200 genres et plus existent et sont utilisés aussi bien en pharmacie qu'en parfumerie et même en alimentation comme arôme.

L'étude chimique des composants des huiles essentielles au 19^{ème} siècle a permis de découvrir un certain nombre d'hydrocarbures isomères, de formule $C_{10}H_{16}$, et qui furent appelés terpènes (18). On découvrit aussi des terpènes oxygénés (alcools et cétones), ainsi que d'autres constituants moins volatils des plantes, qui contiennent des squelettes en C_{15} , C_{20} ou C_{30} . La nomenclature utilisée pour base une "unité terpénique" en C_{10} .

Vu la diversité des procédés d'extraction et des facteurs les influençant, il a été mis au point un appareillage normalisé permettant l'obtention et le dosage au laboratoire d'huiles essentielles variées dans les conditions bien déterminées (6, 18). Ces dispositifs sont décrits aussi par les pharmacopées (23).

Des études peuvent être faites pour déterminer la période optimale de récolte en fonction du stade de floraison de la plante (10) ou en fonction de la coloration des fleurs (24) afin d'avoir un rendement élevé et une essence de qualité.

Le moment favorable à la coupe se situerait entre la pleine floraison (toutes fleurs ouvertes) et la fin de la floraison (3/4 des fleurs fanées). En dehors de cette période le rendement est faible et le caractère olfactif insuffisant.

Parmi ces essences, l'eucalyptus globulus a été utilisé surtout en pharmacie pour ses propriétés astringentes, fébrifuges, anticatharales et antiseptiques.

L'extraction de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus par distillation à la vapeur d'eau donne un rendement qui dépend de l'appareillage et des conditions opératoires.

Notre étude se fera donc dans ce contexte à savoir noter l'influence de certains paramètres tels que : Débit de vapeur, poids de la charge, état de fraîcheur et différentes parties de la plante. Ensuite l'on tentera d'analyser cette huile par chromatographie en phase gazeuse et donner les propriétés physico-chimiques caractéristiques.

CHAPITRE II

PARTIE THEORIQUE

II. 1 - Huile essentielle.

II. 1. 1 - Définition.

Le terme d'huile essentielle désigne des produits généralement odorants, contenant l'odeur totale ou parfum de chaque substance aromatique d'origine végétale. Cette définition est adoptée par l'international standard organization (I.S.O.), comme par l'association française de normalisation (A.F.N.O.R.), ou l'américain essential oils committee (A.E.O.C.). Ce sont des produits obtenus, soit par entraînement à la vapeur, soit par l'extraction par solvants volatils de végétaux ou de parties de végétaux.

C'est une définition couramment admise aussi bien par les milieux professionnels, par les auteurs, que par les pharmacopées (1).

Jusqu'en 1840 environ, leur fabrication était du domaine de la pharmacie, elle ressortit ensuite à celui de la chimie industrielle, et peu à peu leurs propriétés physico - chimiques furent décrites.

Depuis, cette industrie a pris un essor considérable. Si le parfumeur recherche dans les huiles l'effet olfactif, le pharmacien met à profit leur action thérapeutique et les diverses pharmacopées font largement mention de leurs emplois.

II. 1. 2 - Répartition de l'huile dans la plante.

Les huiles essentielles sont élaborées exclusivement par les organes et les plantes (1).

En botanique, l'huile essentielle est présente dans les poches d'huile, largement réparties dans la plante. Par exemple :

- *- L'arbre d'orange amère d'Amérique du sud et de Méditerranée produit trois huiles différentes (2).
- Les fleurs donnent l'essence de neroli ou de fleurs d'orange.
- Les feuilles, rameaux et fruits verts conduisent à l'essence de petit grain.
- Et enfin les zestes de fruits donnent l'essence d'oranger amère.

Les huiles sont localisées dans les glandes sécrétrices ou dans les canaux intercellulaires.

II. 1. 3 - Composition chimique de l'huile essentielle.

L'étude des huiles essentielles a commencé il y a un siècle. Les composés volatils des huiles essentielles usuellement contiennent 15 atomes de carbone au moins (3). Les huiles contenant de longues chaînes d'acides gras ou d'esters et même de glycérides sont éliminées par la distillation. Les huiles essentielles sont constituées principalement de carbone (huile de térébenthine et de citron) ; d'hydrogène et d'oxygène (camphre, anis) et occasionnellement d'azote et de soufre (amande amère).

La composition de l'huile est très complexe ; Wallach, vers 1880 remarqua en effet qu'un grand nombre de ces composés avaient une formule brute identique $C_{10} H_{16}$ et que leur formule développée pouvait être retrouvée en accordant deux molécules d'isoprène $C_5 H_8$ à la suite l'une de l'autre. Ces composés singuliers recevaient le nom de "terpène" se référant à l'essence de térébenthine.

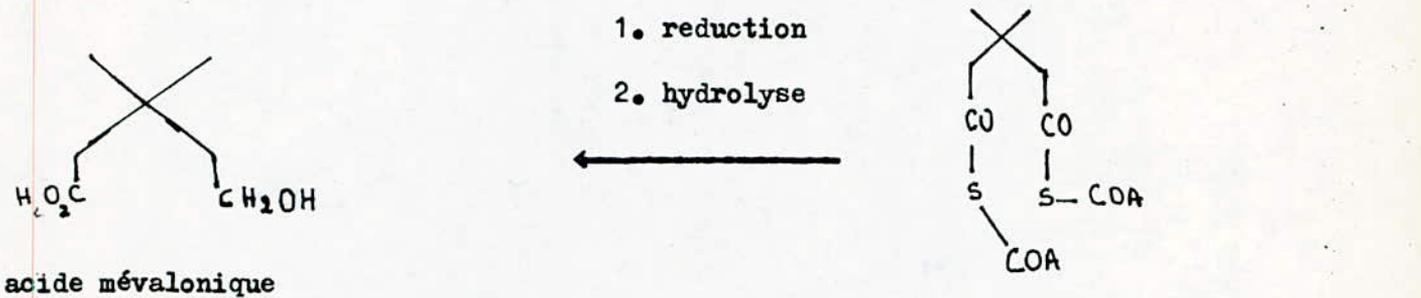
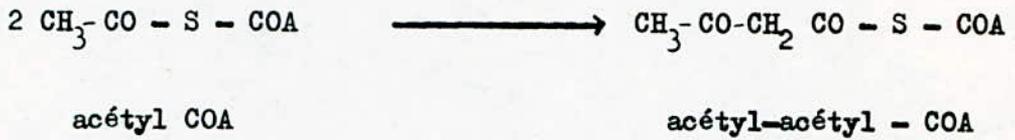
Par la suite d'autres molécules apparentées furent découvertes ; elles pourraient être représentées par deux ou plusieurs "motifs isoprénoides".

- Les monoterpènes $C_{10} H_{16}$.
- Les sesquiterpènes $C_{15} H_{24}$.
- Les diterpènes $C_{20} H_{32}$.
- Les polyterpènes $(C_{10} H_{16})_n$.

On découvrit également des terpènes oxygénés et notamment des alcools et des cétones. Cependant quelques exceptions à la règle sont connues, on pense qu'il s'agit de substances dérivant de terpènes "normaux" ayant perdu un ou plusieurs atomes de carbone (4).

Il y a lieu de remarquer que les terpènes ne sont pas vraiment formés dans la nature à partir de l'isoprène ; ce dernier n'ayant jamais été détecté dans un organisme vivant. Le véritable précurseur universel de tous les terpènes est l'acide mevalonique, connu que depuis 1936.

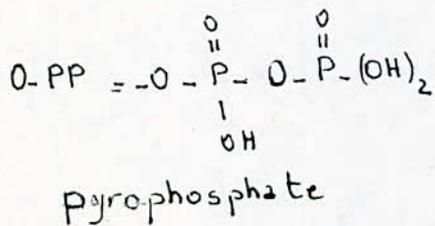
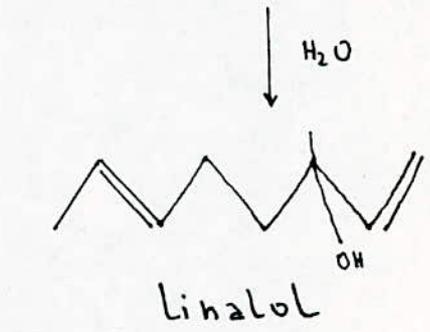
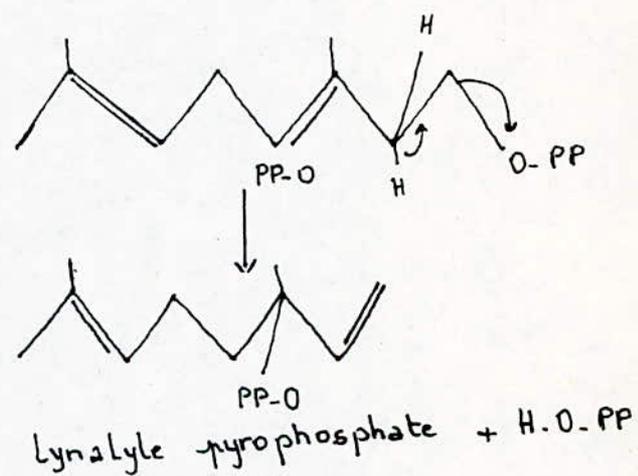
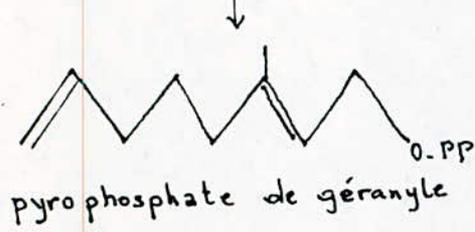
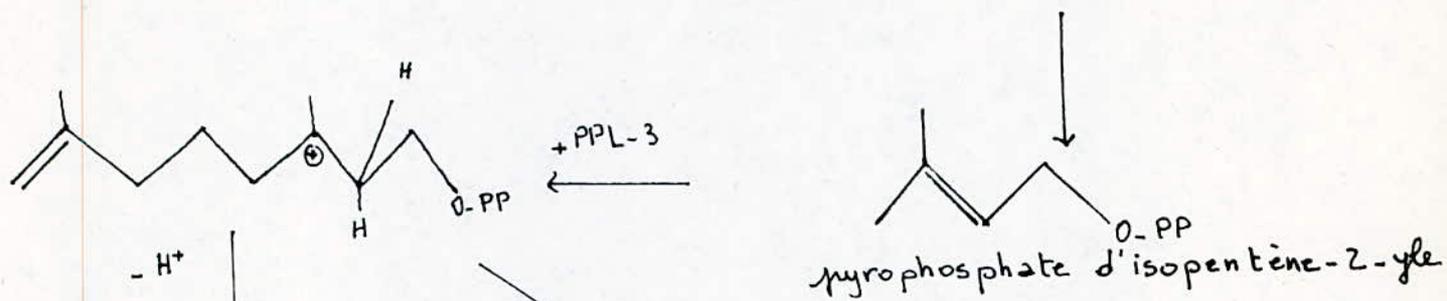
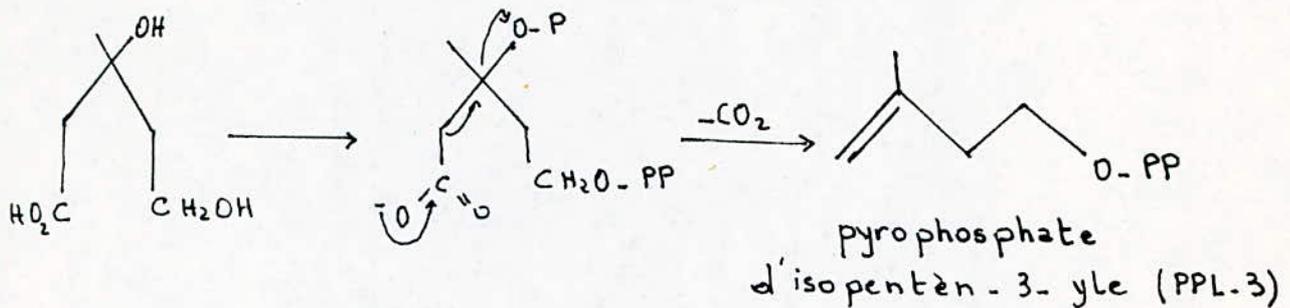
L'acide mévalonique se forme à partir de l'acétyl - COA
(acétate activé) selon le processus général suivant : (4)



Dans la biosynthèse des terpènes, l'acide mévalonique est activé enzymatiquement par phosphorylation. Une élimination avec décarboxylation donne ensuite le pyrophosphate d'isopentèn - 3 - yle

Nous donnons un exemple de réaction de biosynthèse.

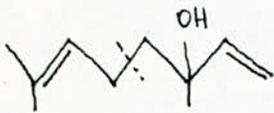
- Formation du géraniol et du linalol.



Le produit initial de réaction, le pyrophosphate de géranyle, peut facilement s'hydrolyser en géraniol. Il peut également conduire à un carbocation susceptible de s'additionner sur une autre molécule de pyrophosphate d'isopentèn - 3 - yle pour donner le pyrophosphate de farnésyle. Le même processus répété un grand nombre de fois, donne un polyisoprène tout - trans, le balata, qui existe dans le latex de certains arbres tropicaux.

- Terpènes complexes.

En plus des terpènes formés directement à partir du pyrophosphate d'isopentényle, divers alcools allyliques isomères, accompagnés de leurs produits d'oxydation ou de réduction existent dans diverses essences. Nous citerons entre autres :



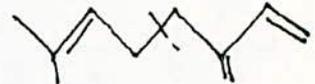
linalol

(essence de lavande)



citronnellol

(essence de citronnelle)



myrcène

(essence de laurier)

(Les différents types de terpènes sont reportés en annexe.)

En plus des terpènes, les huiles essentielles contiennent des aldéhydes qui jouent un rôle important vis à vis de l'intensité du parfum.

- Les alcools proviennent soit des terpènes de formule $C_{10}H_{16}$, soit des sesquiterpènes de formule $C_{15}H_{24}$.
- Les cétones par contre proviennent des alcools secondaires.
- On trouve enfin des acides et des oxydes (5).

Ces quelques considérations sur la nature des constituants des huiles essentielles montrent que malgré leur similitude de structure, ils forment une famille de composés très variés, aux propriétés disparates. La composition d'une huile n'est pas toujours la même puisqu'elle varie selon le mode d'obtention, la durée de distillation et la conservation de l'huile (1).

II. 2 - Le matériel botanique.

Il est rare de trouver dans une population végétale donnée deux individus absolument identiques ; les plantes peuvent inclure des centaines voire des milliers de combinaisons génétiques. Une exception est cependant observée pour le lavandin, sa reproduction est asexuée et se fait par clones (1, 6).

Les modifications peuvent avoir plusieurs sources :

a - Les hybridations : La composition des huiles essentielles de ces hybrides est variable et se situe en général entre celle des huiles essentielles des parents.

b - Les races chimiques : Pour une même espèce botanique, il existe plusieurs races chimiques qui fournissent des huiles essentielles différentes par leur composition.

c - Facteurs écologiques et géographiques : La composition de l'huile se trouve différente aussi bien en qualité qu'en quantité suivant le climat et la saison.

d - Choix de la partie de la plante à extraire : Des différences importantes peuvent apparaître dans le rendement et la composition de l'huile essentielle d'un même matériel végétal (feuilles, tiges, fruits, etc...). On constate que dans les feuilles les constituants principaux sont des terpènes cycliques (camphre, bornéol, eucalyptol), alors que ceux des essences florales sont acycliques (linalol et acétate de linalyle). La composition de l'huile peut varier notablement d'une partie de la plante à une autre et on observe également une évolution tout au long du cycle végétatif (7).

II. 3 - Mode d'obtention des huiles essentielles.

Différents procédés d'extraction des huiles essentielles de la plante existent. Parmi eux, nous citerons les deux principales méthodes admises par la pharmacopée française ainsi que par A.F.N.O.R et I.S.O.

- L'entraînement à la vapeur. Cette opération consiste à envoyer de la vapeur d'eau dans un alambic où est placée la plante. Les composés volatils sont entraînés, condensés puis recueillis sous forme de distillats ; l'huile est séparée par décantation (voir chapitre III(4)).

- L'extraction par solvant. En laissant la plante en contact avec le solvant pendant un temps bien défini, on récupère l'huile solubilisée que l'on séparera par distillation.

II. 4 - Utilisation des huiles essentielles.

Plusieurs applications sont observées pour les huiles en raison de la diversité de ses constituants.

a - En pharmacie : Certaines huiles ont des propriétés antiseptiques.

* Au niveau respiratoire (Eucalyptus, Pin).

* Au niveau des voies urinaires (huile de Buchu).

D'autres huiles agissent au niveau du tube digestif comme cholérétiques (Sauge) ou remèdes carminatifs (Menthe).

D'autres encore sont à usage externe, comme anti-inflammatoire, cicatrisant (lavande, romarin, sauge).

La toxicité des huiles essentielles est connue pour certaines ~~essences seulement~~ lorsqu'elles sont absorbées seules comme médicaments à usage interne.

b - En industrie : Les huiles essentielles sont utilisées en parfumerie et en cosmétologie comme base de certains parfums (Rose, Jasmin,...).

En alimentation ; elles sont utilisées comme arômes pour certains aliments (pâtisseries...).

II. 5 - Propriétés physico-chimiques.

Presque toutes les huiles essentielles sont complètement fluides lorsqu'elles sont fraîchement distillées et ce à une température de 15° C (8)

Les essences sont peu ou insolubles dans l'eau, par contre elles sont solubles dans l'alcool à divers degrés, ainsi que dans l'éther et autres solvants organiques.

Exposées à l'air, elles s'oxydent en se résinifiant, jaunissent et brunissent avec le temps si l'on ne prend pas soin de les mettre à l'abri de la lumière.

Les essences sont généralement de couleur jaune pâle et rarement bleue ou verte. Ces colorations sont dues à des composés organiques encore mal connus.

La détermination des principales propriétés physiques caractérisant les huiles essentielles s'effectue par des mesures de : densité, de solubilité dans un alcool, de points de fusion et d'ébullition, de pouvoir rotatoire et d'indice de réfraction.

Il est à remarquer que ces caractéristiques physiques varient d'une essence à une autre.

L'examen **chimique** consiste en la détermination des constituants principaux et ce par différentes méthodes d'analyse telles que : chromatographie en phase gazeuse, en phase liquide ou sur couche mince, spectroscopie infra-rouge, spectrométrie de masse.

II. 6 - Présentation de l'eucalyptus.

II. 6. 1 - Définition.

Le nom d'eucalyptus vient du grec, eu = bien, kalypto = couvrir ; par référence à l'opérculum qui recouvre les étamines jusqu'à ce qu'elles soient totalement développées.

L'arbre d'eucalyptus est toujours vert donc ses feuilles tombent rarement ; c'est un arbre long avec un tronc blanc - bleu, lisse.

L'une des caractéristiques d'une feuille adulte normale est sa longueur qui varie entre 23 cm et 46 cm le fruit est différent d'une variété à une autre. Cet arbre à croissance extraordinairement rapide peut atteindre près de 150 m de hauteur.

Il a été introduit dans la zone méditerranéenne en 1896. Le bois est dur et résineux excellent pour la construction et le reboisement.

Les écorces de certaines espèces d'eucalyptus riches en tanin sont utilisées pour le tannage des peaux (3).

Des feuilles, on retire l'eucalyptol qui possède des propriétés désinfectantes et qui est assez couramment utilisé en pharmacie.

C'est en 1792 que l'eucalyptus fut observé pour la première fois sur la terre de Van Diemer par Labillardière. Les principales régions productrices sont l'Espagne, le Brésil, l'Australie, etc...

Il existe un grand nombre de variétés d'eucalyptus qui sont employés pour la préparation de l'essence d'eucalyptus.

<u>NOM</u>	<u>CONSTITUANT PRINCIPAL</u>
L'Eucalyptus australiana.....	70 à 75% en cinéole.
L'Eucalyptus globulus.....	70 à 80% en cinéole.
L'Eucalyptus polybratéa.....	80 à 88% en cinéole.
L'Eucalyptus dives, variété "C".....	70 à 75% en cinéole.
L'Eucalyptus dumosa.....	70 à 75% en cinéole.
L'Eucalyptus smithii.....	75 à 80% en cinéole.

Dans son bulletin d'octobre 1904, schimmel a dressé une table complète de toutes les variétés d'eucalyptus avec le nom botanique, indigène et le rendement, il décrit 109 espèces différentes,

II. 6. 2. - L'Eucalyptus globulus.

Cette espèce est la plus utilisée pour l'extraction des huiles essentielles, elle a été décrite par Labillardière en 1799.

II. 6. 2. 1 - Présentation botanique. L'Eucalyptus globulus forme d'immenses forêts toujours vertes. Partout où il pousse, l'eucalyptus globulus est à l'état continu de sève. Il possède une odeur balsamique plus agréable que celle de la térébenthine et qui provient d'une huile essentielle volatile contenue en grande abondance dans ses feuilles.

"Le soir lorsqu'une brise légère agite le feuillage, l'eucalyptus globulus répand au loin des effluves parfumées et salutaires.

II. 6. 2. 2 - Aspect physiologique. La particularité évidente de l'eucalyptus globulus réside dans ses feuilles adultes dont la longueur varie entre 23 cm et 46 cm et son fruit facilement distinguable de la plupart des autres espèces.

Par ailleurs, aucune autre espèce n'a reçu autant d'attention de la part des botanistes et des chimistes.

II. 6. 2. 3 - Ecologie. L'Eucalyptus globulus doit être planté de préférence dans des sols humides et pauvres à des profondeurs de 35 à 40 cm. Quand il a 4 ans, le tronc atteint une hauteur d'environ 8 m avec un diamètre de 20 cm environ. A partir de 7 ans l'arbre s'élève à une hauteur d'environ 15 m, et peut être considéré comme adulte bien que sa taille maximale soit atteinte dans sa dixième année avec des hauteurs de 20 à 25 m.

II. 6. 2. 4 - Influence des saisons. La période favorable pour la distillation va du mois d'avril au mois de septembre car le rendement en huile essentielle est en moyenne de 0,8% et celui en cinéole de 63 à 70%. Par contre, durant l'hiver le rendement en huile baisse à 0,7% et celui en cinéole varie de 60 à 65%

II. 6. 2. 5 - Influence de la partie de la plante. Le rendement le plus élevé en huile provient des feuilles supérieures des arbres, celle-ci a une meilleure solubilité et un plus grand rendement en cinéole que celui des feuilles inférieures. Un arbre de 6 à 8 ans donne environ 20 à 60 kg de feuilles par ans. La distillation effectuée dans un alambic haut de 2 m et 1,6 à 1,8 m de diamètre pouvant contenir jusqu'à 70 - 90 arrobas de feuille végétales. L'opération de distillation dure de 4 à 6 heures et on obtient 200 à 240 litres de condensat (huile + eau) qui sera ultérieurement distillé à son tour. (3)

II.6.2.6 - Utilisation.

L'eucalyptus globulus est très utilisé pour son composé principal; eucalyptol se trouvant en grande quantité dans cette espèce et fort employé en pharmacie.

Par ailleurs, il sert dans le reboisement. Les forêts d'eucalyptus donneraient en 15 ou 20 ans ce que l'on obtiendrait en 100 ou 150 ans dans les forêts ordinaires.

L'eucalyptus est également utilisé comme agent d'assainissement. En effet, les propriétés absorbantes dont jouit l'eucalyptus, les émanations aromatiques qu'il répand autour de lui prévoient qu'il ne peut que jouer un rôle salubre dans les pays marécageux (9). En absorbant l'humidité du sol, en émettant des vapeurs antiseptiques, il réalise un assainissement véritable.

Le bois d'eucalyptus globulus, et cela est très remarquable chez un végétal qui se développe avec une rapidité aussi étonnante, est d'une très grande dureté, d'où son utilisation dans l'industrie. Exposé à l'air sa consistance augmente, aussi peut-on le comparer au bois de teck. Lorsqu'il est jeune, il est élastique, se plie mais ne se brise pas.

Dans le domaine pharmaceutique, l'eucalyptus est utilisé sous forme d'infusion (feuilles) ou d'inhalation (feuilles, huile essentielle généralement associée à d'autres essences).

Son action physiologique se manifeste sous différentes formes : Antiseptique des voies respiratoires et des voies urinaires, anti-rhumatismal, bactéricide. A ces divers titres, on l'emploie dans les affections contagieuses et pulmonaires, contre l'asthme, la grippe et pour combattre la fièvre.

II. 6. 3 - Procédé d'obtention de l'huile essentielle.

II. 6. 3. 1 - Stockage et traitement de la matière végétale.

Le matériel végétal qui va subir une distillation n'est pas toujours traité immédiatement. Des modifications morphologiques et chimiques dues à l'action de l'air, du soleil, de l'échauffement en tas peuvent se produire et être néfastes pour la qualité de l'huile essentielle. Aussi devrait-on stocker le matériel végétal à l'ombre.

Ce traitement, s'il ne modifie pas notablement les caractéristiques de l'huile essentielle, altère cependant le parfum car il entraîne une dessiccation et parfois même des moisissures et une fermentation. La stabilité de l'essence en est également affectée car cette dernière devient plus sensible à l'oxydation (10).

Le procédé d'obtention d'une huile essentielle marque de son empreinte la composition chimique de celle-ci. L'extraction peut se faire soit par distillation, soit par extraction à l'aide d'un solvant volatil.

II. 6. 3. 1 - Distillation.

* Méthodes générales de la distillation :

La distillation est la plus simple et l'une des plus communément utilisées pour obtenir des huiles essentielles à une échelle industrielle.

La majorité des huiles essentielles sont obtenues par distillation à la vapeur d'eau. Or aucune démonstration n'a été développée pour le processus avec lequel la vapeur isole l'huile essentielle des plantes aromatiques.

Il a été supposé que la vapeur pénètre le tissu de la plante et vaporise les composés volatils, ce qui paraît simple. Effectivement cela fait intervenir plusieurs processus physico-chimiques, d'où l'introduction de trois types de distillation qui sont :

- La distillation à l'eau ou "hydrodistillation".
- La distillation à la vapeur et à l'eau.
- La distillation à la vapeur d'eau.

a - L'hydrodistillation. Elle est la plus simple et la plus répandue. Lors de l'hydrodistillation d'une plante aromatique, certains composés terpéniques subissent des réactions chimiques d'altération, élimination, cyclisation et réarrangement ; qui dépendent de l'acidité de l'eau dans laquelle est immergé le végétal. Les huiles essentielles recueillies sont en général riches en linalol et en acétate de linalyle, deux composés monoterpéniques.

connus pour leur propension à se transformer sous l'action de la chaleur. Les sévères conditions expérimentales d'une hydrodistillation engendrent tout particulièrement des réactions chimiques de décomposition de certains composés. Une meilleure connaissance des phénomènes fondamentaux, de nature chimique et physico-chimique intervenant lors de ce processus permettrait d'optimiser la qualité d'une huile essentielle.

Deux paramètres sont toujours utiles à étudier ; à savoir l'acidité et la durée de distillation. Dans le montage expérimental utilisé, le végétal est immergé dans une solution aqueuse tamponnée dont l'acidité induit et catalyse des réactions chimiques d'altération qui entraînent la présence d'artéfacts dans les huiles essentielles. En outre, l'étude des différentes fractions d'hydrodistillation nous renseigne sur la cinétique des composés présents dans l'huile essentielle au cours de ce processus, et fournit surtout une image plus réelle de l'évolution de la composition chimique de l'essence au cours du temps. Cette méthode favorise le phénomène d'hydrolyse des esters par exemple ; par contre est favorable pour certaines espèces pour assurer le dédoublement des hétérosides (11).

La distillation peut se faire à la "vapeur humide" (saturée) ou à la "vapeur sèche" (surchauffage) ; elle présente de grands avantages. Les phénomènes d'oxydation et de décomposition thermique au contact de l'air sont diminués (3).

Le phénomène d'acidité touche de très près la composition de l'huile, étant donné qu'il a été montré qu'à $PH = 4$ ou à $PH = 7$, les profils chromatographiques des huiles essentielles sont analogues, alors qu'en milieu plus acide $PH = 2$, la dégradation de certains composés monoterpéniques est plus importante.

Il s'avère donc nécessaire de contrôler et de maintenir le PH de l'eau d'hydrodistillation pour éviter que l'huile essentielle ne soit altérée par la présence d'artéfacts et ne reflète plus l'essence présente dans la plante.

b - Distillation à la vapeur et à l'eau. Cette deuxième méthode consiste à placer la plante sur un plateau perforé à une certaine distance convenable

de la vapeur. La base de l'appareil est remplie d'eau qui ne doit pas toucher la plante ; l'eau est alors chauffée par l'une des méthodes indiquées plus haut c'est à dire vapeur saturée ou sèche.

c - Distillation à la vapeur d'eau. Cette méthode dite encore entraînement à la vapeur d'eau ressemble en quelque sorte à la deuxième méthode sauf que le fond de l'appareil est exempt d'eau.

La vapeur qui est saturée ou surchauffée arrive à une pression plus haute que l'atmosphère (12) dans la cucurbitte à travers un col de vapeur en dessous de la charge.

Du point de vue théorique, il n'y aurait pas une différence fondamentale entre les trois méthodes citées. Par contre dans la pratique on observe une certaine variation dans les résultats obtenus qui dépendent de la méthode utilisée car plusieurs phénomènes interviennent pendant la distillation. Le principe est donc le même, la vapeur extrait l'essence qui est condensée dans des serpentins et est séparée de la phase aqueuse par décantation. L'eau de distillation retient une partie de l'huile essentielle qui peut-être extraite à l'aide d'un solvant ou remise dans l'alambic pour servir à une nouvelle extraction (13).

L'essence recueillie n'est pas identique à celle contenue dans la plante. Certains composants peuvent être plus ou moins soustraits par dissolution dans l'eau, d'autres risquent de subir une transformation au cours de la distillation.

Toutes les parties de l'appareil sont le siège des modifications chimiques parmi lesquelles on peut citer :

L'hydrolyse qui est la plus importante (6) mais aussi formation de produits de dégradations dits "artéfacts" (6, 1).

- Effet accompagnant la distillation.

D'autres effets accompagnant la distillation sont observés dont les principaux sont les suivants :

a - Effet d'hydrodiffusion.

La cinétique d'hydrodistillation des différents composés ne dépend pas, semble-t-il uniquement de leurs températures d'ébullitions mais aussi de leurs polarités (phénomène d'hydrodiffusion) (11). Pendant le stockage du matériel végétal à traiter, les composés volatils montent à la surface de la plante. Ces composés sont donc disponibles à la vaporisation, d'autres arrivent après diffusion de la vapeur à travers le tissu de la plante.

Zeller (14) a constaté lors de l'hydrodistillation des grains de carvi que les fractions oxygénées les moins volatils distillaient avant les hydrocarbures.

Koedam (15) observa le même phénomène sur l'huile essentielle d'aneth, le limonène hydrodistille après son homologue oxygéné, la carvone, alors que leurs températures d'ébullition sont respectivement de 177° C et 230° C.

Dès le début du siècle, Von Rechenberg a tenté d'expliquer ce phénomène en affirmant que durant une distillation, la vapeur pénètre dans les tissus de la plante et solubilise une partie des huiles essentielles contenues dans les glandes sécrétrices. Cette solution aqueuse chargée de composés terpéniques diffuserait ensuite lentement à travers les membranes cellulaires pour atteindre la surface extérieure où l'huile essentielle se vaporiserait et serait entraînée sous forme d'azéotropes par la vapeur d'eau. La plus grande partie de l'huile n'arriverait à la surface qu'après une étape de diffusion à travers une épaisseur de tissu végétal.

Le processus de diffusion, connu et utilisé dans les méthodes électrochimiques a une cinétique lente et influencerait de façon partielle ou totale la cinétique d'hydrodistillation. Les constituants oxygénés plus solubles dans l'eau que les hydrocarbures ont une vitesse de diffusion plus grande.

La vitesse d'hydrodistillation dépend d'au moins deux facteurs cinétiques, l'hydrodiffusion et l'évaporation. Nous ne disposons pas, malheureusement, d'informations sur les autres facteurs cinétiques pouvant intervenir lors de l'hydrodistillation, tel que par exemple la cinétique de rupture de liaisons chimiques échangées dans le végétal entre les composés terpéniques et d'autres molécules.

Si le facteur hydrodiffusion constituait l'étape cinétique lente du procédé d'hydrodistillation (linalol, camphre, acétate de linalyle, myrcène), l'ordre de sortie des composés de l'huile essentielle serait dicté par la polarité et non par la volatilité de ces composés chimiques. Dans le cas des composés terpéniques moins volatils (acétate de néryle et de géranyle), aucun des deux facteurs cinétiques évoqués

précédemment ne serait négligeable et la cinétique d'hydrodistillation ferait alors intervenir la vitesse d'hydrodiffusion et la vitesse de vaporisation.

b - Effet d'hydrolyse.

Lors d'une distillation, une réaction entre l'eau et certains composés de l'huile peut avoir lieu. Cette réaction chimique est dite "hydrolyse". Ces produits se composent dans beaucoup de cas d'esters. En présence d'eau, à température élevée, les esters présents dans l'huile essentielle tendent à réagir avec l'eau ce qui donne naissance à des acides gras et des alcools.

Dans le cas d'hydrodistillation, deux phénomènes importants de ces réactions d'hydrolyse sont à considérer. Le temps de contact entre l'huile et l'eau permettrait un effet d'hydrolyse plus important.

Le deuxième phénomène est que l'eau présente en grande quantité, les quantités d'alcool et d'acide formés peuvent aussi être grandes. On aboutit alors au fait que le rendement en huile pendant une hydrodistillation est décroissant suivant que la quantité d'eau présente dans l'appareil est grande ce qui représente l'inconvénient majeur d'une hydrodistillation.

Dans le cas d'une hydrodistillation couplée à une distillation à la vapeur d'eau le degré d'hydrolyse est moins important. Lors d'une distillation à la vapeur d'eau seulement le phénomène d'hydrolyse atteint son niveau le plus bas, et particulièrement avec une vapeur légèrement surchauffée.

c - Effet de la chaleur.

C'est également un effet important, celui-ci accompagne la distillation et influe sur les huiles essentielles. La pression de distillation qu'elle soit atmosphérique, élevée ou réduite peut être sélectionnée à volonté alors que la température de la vapeur d'eau ou de la vapeur naissante du mélange varie au cours de la distillation. Cette dernière est faible au début de l'opération car les composés à la surface sont vaporisés en premier ; ensuite, elle augmente graduellement pour vaporiser les constituants à haut point d'ébullition, car ceux-ci commencent à prédominer dans les vapeurs et la quantité d'huile dans la vapeur du mélange décroît ; elle atteindra la température de la vapeur saturée à pression donnée. Pratiquement, tous les constituants des huiles essentielles sont quelque peu instables à des températures élevées (3).

Pour conclure, on peut dire que ces trois principales méthodes de distillation peuvent être modifiées pour remédier aux problèmes cités ci-dessus, ou tout du moins atténuer les effets. De nombreux auteurs ont étudié les facteurs modifiant

la qualité d'une huile essentielle obtenue par distillation et les moyens de l'amélioration (18), en changeant la pression de vapeur dans l'alambic en travaillant à pression réduite, atmosphérique ou élevée ou en faisant varier la température de la vapeur qu'elle soit saturée ou surchauffée.

Nous citons quelques conditions optimales d'obtention d'acétate de linalyle : Vapeur sèche, température élevée et durée de distillation courte permettent d'améliorer le rendement en ce dernier. La méthode de distillation influe de très près sur la qualité de l'huile, de même que sur les propriétés physico-chimiques.

D'autre part, la matière végétale (âge, fraîcheur) la durée de distillation, la pression appliquée, la qualité de la vapeur d'eau ainsi que le poids de la charge jouent un rôle important vis à vis de la qualité de l'huile et de son rendement.

II 6. 3. 2 - Extraction.

Pour certaines essences ne pouvant être obtenues par distillation en raison de la facilité de dégradation de leurs constituants, on utilise des méthodes d'extraction par solvant (1, 19).

Ces méthodes s'emploient par exemple pour les substances riches en huile essentielle, comme le zeste d'orange. Parmi elles, nous citerons :

a - L'expression à froid.

Utilisée en parfumerie où la matière végétale (bergamote, citron, orange, etc...) est pressée à froid.

b - L'enfleurage.

Utilisant la propriété qu'ont les graisses à absorber très facilement les émanations parfumées des plantes sans interrompre complètement la vie de la fleur.

c - La macération.

Qui n'est autre qu'une extraction à chaud par un corps gras. Les fleurs à épuiser (oranger, violette...) restent en contact pendant 12 à 48 heures, et sont renouvelées 10 à 15 fois jusqu'à obtention de pommade.

d - L'extraction par solvant.

La matière végétale reste en contact avec le solvant plus longtemps que pour la distillation à l'eau, elle subit ensuite plusieurs lavages successifs (1, 6). On peut aussi obtenir des cires appelées concrètes qui après traitement à l'alcool éthylique à basse température donnent des absolues très appréciées dans l'industrie des parfums.

II 7 - BASES THEORIQUES DE L'ENTRAÎNEMENT A LA VAPEUR.

II 7. 1 - Définition.

La distillation par entraînement à la vapeur est une technique de séparation dans laquelle la vapeur d'eau est en contact directe avec le mélange à séparer. Il s'agit de vaporiser une substance en faisant passer de la vapeur d'eau dans un mélange d'eau et de cette substance (20).

II 7. 2 - Utilisation de la distillation à la vapeur.

On utilise de la vapeur d'eau en raison de son apport d'énergie, de son bas prix et de sa disponibilité. Cette méthode est surtout utilisée dans le cas où :

- Le mélange à distiller est thermiquement instable ou pouvant réagir avec d'autres composés à la température d'ébullition.
- Le mélange à distiller est constitué de deux liquides de point d'ébullition élevé.
- Le mélange contient un constituant volatil.
- Le liquide à distiller est non miscible dans l'eau.

II 7. 2. 1 - Principe de la distillation à la vapeur.

Un système d'eau et d'huile forme un liquide à deux phases. La pression de la phase vapeur est maintenue constante, soit en reliant l'espace vapeur à l'atmosphère, soit par contrôle judicieux pour maintenir la pression réduite ou élevée. Ceci nous ramène à la discussion de la distillation des liquides hétérogènes qui prévoit que la pression totale exercée par un tel mélange est due à la somme des pressions partielles des vapeurs (3).

"Tout se passe comme si chaque substance se vaporisait seule, indépendamment de l'autre. Ainsi la pression partielle de chaque substance est égale à sa pression de vapeur à la température d'ébullition. "

$$P_e = P_e^o \quad \text{avec } P = P_e + P_l$$

$$P_l = P_l^o$$

P : La pression totale.

P_e^o : La pression de vapeur de l'eau.

P_e : La pression partielle de l'eau.

P_l^o : La pression de vapeur du liquide.

P_l : La pression partielle du liquide.

II 7. 2. 2 - Composition de la phase vapeur.

Cas d'un binaire (eau + liquide).

A une pression constante d'une ou quelques atmosphères, il est justifié de considérer que la phase vapeur obéit à la loi des gaz parfaits. Il en résulte que la composition est déterminée en appliquant la loi de Dalton.

$$Y_e = \frac{P_e}{P} = \frac{P_e^0}{P}$$

$$Y_l = \frac{P_l}{P} = \frac{P_l^0}{P}$$

Y_e : Fraction molaire de la vapeur d'eau dans la phase vapeur.

Y_l : Fraction molaire de la vapeur du liquide dans la phase vapeur.

II 7. 2. 3 - Température d'ébullition du mélange.

Pour la détermination de cette température, nous procédons à une résolution graphique.

1er méthode.

Nous traçons un diagramme de la pression de vapeur en fonction de la température avec deux orientations de l'axe des ordonnées.

A partir du point d'ébullition du liquide, nous traçons une parallèle à la courbe de la partie supérieure. L'intersection de cette parallèle avec la courbe se trouvant en dessous de l'axe donne un point et la perpendiculaire à l'axe des abscisses donne la température d'ébullition du mélange (3).

2eme méthode.

On peut prévoir la température d'ébullition du mélange par résolution graphique.

On cherche l'intersection de la droite d'ordonnée $P = 760 \text{ mm Hg}$, par exemple ; avec la courbe somme des pressions de vapeur de l'eau et du toluène (21).

II 7. 3 - Extraction de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus.

Des feuilles d'eucalyptus globulus on retire l'eucalyptol qui possède des propriétés désinfectantes et qui est assez couramment utilisé en pharmacie.

Le rendement en huile essentielle des feuilles et des branches terminales varie entre 0,75% et 1,25% en huile (3).

L'huile brute est un liquide mobile de couleur jaune pâle, avec une odeur prononcée d'aldéhydes volatils et principalement d'isovaléraldéhyde qui se manifeste en donnant des irritations à la toux.

L'huile après réctification n'a plus cette odeur désagréable.

Examinons à présent les propriétés physico-chimiques et la composition chimique.

II 7. 3. 1 - Propriétés physico-chimiques.

Les propriétés physico chimiques d'une huile essentielle différent d'une espèce à l'autre. Pour l'eucalyptus globulus après réctification de l'huile on obtient les caractéristiques suivantes :

- Densité à 15°/15° :	0,910 à 0,930
- Pouvoir rotatoire à 20° C :	+ 0° 18' à 15° 0'
- Indice de réfraction à 20° C :	1,4600 à 1,4800
- Pourcentage en cinéole :	70 à 75%
- Solubilité dans 70% d'alcool (V/V) :	soluble dans 1,5 à 3 volumes

Tableau N° 1. Propriétés physico-chimiques de quelques variétés d'eucalyptus.

N O M	densité à 20°C	Pouvoir rotatoire	Indice de réfraction à 20°C	Solubilité dans l'alcool 70% v/v	Pourcentage en huile	Constituants
<i>Eucalyptus australiana</i>	0,916 à 0,999	1° à 5°	à 1,463 1,465	1,2 à 1,5	3,0 à 3,5%	Cinéole 65 à 72%
<i>Eucalyptus dives</i> "C"	0,917 à 0,923	4°	à 1,4609 1,4640	1 à 1,5	3 à 4%	Cinéole 68 à 75%
<i>Eucalyptus dumosa</i>	0,9016 à 0,9151	2,2° à 16,4°	à 1,4667 1,4703	1,75	1%	Cinéole 65 à 75%
<i>Eucalyptus globulus</i>	0,910 à 0,930	0,3° à 15°	à 1,460 1,470	1,5 à 3,0	0,75 à 1,25%	Cinéole 20 à 50%
<i>Eucalyptus phollandrèna</i>	0,902 à 0,905	13,4° à 28,3°	à 1,466 1,4695	1,3 à 10	3 à 4,5%	Cinéole 20% Péllandrène
<i>Eucalyptus polybractéa</i>	0,922 à 0,927	0,5° à 2,0°	1,458 à 1,4616	1 à 1,2	1,5 à 2,5%	Cinéole 77 à 80%
<i>Eucalyptus rostata</i>	0,8953 à 0,9047	4,7° à 6,4°	1,4839 à 1,4890	1 à 2	0,27%	p-cymène Cinéole 8 à 10%
<i>Eucalyptus smithii</i>	0,9133 à 0,9158	-11,8° -14,5°	1,4616 à 1,4672	1,1 à 1,25	1,94 à 2,2%	Cinéole 70 à 77%

II 7. 3. 2 - Composition chimique.

La composition chimique de l'essence d'eucalyptus globulus a été déterminée par M. Cloëz. Le liquide distillant en premier lieu entre 170° et 178° n'est pas pur. En le réctifiant par distillation avec de la potasse et du chlorure de calcium, on obtient un liquide très fluide, incolore, bouillant régulièrement à 175° et que M. Cloëz nomme eucalyptol. C'est un principe immédiat bien défini. Il est plus léger que l'eau, d'une densité de 0,905 et dévie à droite le plan de polarisation de la lumière, peu soluble dans l'eau, mais soluble en toutes proportions dans l'alcool.

L'odeur tient de la menthe et du camphre. Les études faites jusqu'à présent intéressant la composition des huiles essentielles en général et d'eucalyptus globulus en particulier, restent très fragmentaires. Elles se sont limitées la plupart du temps, à l'identification et au dosage des composés majeurs tels que :

Dans la première fraction de distillation de l'huile, BOUCHARDAT et OLIVIERO (3) ont isolé l'alcool éthylique, ainsi que les aldéhydes isovalérique, butyrique qui seraient responsables de l'odeur suffocante.

WALLACH et GILDEMEISTER (3) dans la fraction distillant à 165° C isolèrent le α -pinène.

Dans la fraction de point d'ébullition 155° C, Schimmel et Cie caractérisèrent le camphène.

Plus récemment par spectrométrie infra-rouge on a identifié le β -pinène, le β -phélandréne, le para-cymène et le limonène.

Parmi les composés oxygénés monoterpéniques, JAHNS (4) identifia par la méthode de l' α -crésol, le 1,8 cinéole. Ensuite le (+) terpinéol fut identifié par SCHMIDT (4) au point d'ébullition 113° C.

Le géraniol est rapporté par GANDINI (3) comme étant constituant principal de la fraction alcoolique.

J.L WILLIS, (3) caractérisa l'acétate de géranyle.

Dans la queue de distillation on a pu identifier le globulol ainsi que la présence d'alcools sesquiterpéniques.

Quelques constituants identifiés dans les essences d'eucalyptus globulus sont répertoriés en annexe.

II 8 - FRACTIONNEMENT D'UNE HUILE ESSENTIELLE.

II 8. 1 - Introduction.

Vu le grand nombre de constituants présents dans une essence et leur diversité, il s'avère souvent difficile, voire impossible de mener une étude qualitative et quantitative sur l'huile essentielle en nature. En effet en plus de leur diversité chimique, les composants sont présents dans des proportions très variables ; on en trouve qui sont majoritaires et d'autres présents à l'état de traces. Si au début les investigations ont eu pour but d'identifier les principaux d'entre eux, elles se sont orientées de plus en plus vers la recherche des constituants mineurs mais olfactivement intéressants ou présentant une activité pharmacologique particulière.

Pour ce faire, il est toujours utile de procéder à une séparation préalable en deux ou plusieurs fractions ayant une composition plus restreinte, plus homogène et donc se prêtant mieux à une analyse fine et poussée comme méthodes de fractionnement nous pourrions citer :

- La distillation fractionnée sous vide.
- L'entraînement des produits volatils par l'azote et la condensation à basse température.
- L'adsorption sélective sur charbon, alumine ou silice.
- L'extraction à l'aide d'un solvant approprié.
- Chromatographie sur colonne.
- L'extraction au moyen d'une réaction chimique sélective.
- Et récemment la chromatographie liquide à haute pression.

En plus de sont intérêt pour l'analyse, le fractionnement est utilisé industriellement pour la séparation d'"essences déterpénées".

II 8. 2 - La chromatographie d'adsorption.

C'est l'une des méthodes du fractionnement qui s'applique à la séparation des composés présentant des groupements fractionnels différents et de certains isomères. Elle met en oeuvre des phases stationnaires adsorbantes, telles que les gels de silice poreuse et les gels d'alumine.

II 8. 3 - Choix de la phase stationnaire.

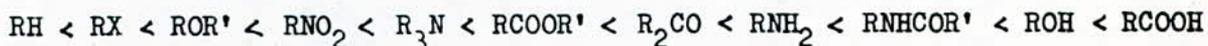
Pour la séparation des solutés qui sont des bases (amine aliphatiques et aromatiques), l'expérience montre que la silice convient le mieux. Par contre l'alumine conviendrait pour la séparation des solutés acides, comme les phénols et les acides carboxyliques.

Les silices greffées apolaire et polaire sont parfois utilisées mais, la majorité des auteurs font appel aux gels de silice.

II 8. 4 - Choix de la phase mobile.

La durée d'une séparation ainsi que la sélectivité dépendent de la nature de la phase mobile. Le choix d'un solvant dépend d'abord des contraintes pratiques (miscibilité des solvants, solubilité des solutés, faible viscosité) et puis de sa force éluante c'est à dire l'énergie d'adsorption des molécules de solvant sur la surface de l'adsorbant.

Les composés contenus dans un mélange forment une série éliotrope. Dans cette série participe aussi le solvant dans lequel est solubiliser le mélange à séparer. Pour cela, il est nécessaire de connaître les proportions et la polarité des solvants. Les différentes classes des composés organiques forment la série éliotrope suivante :



Lorsqu'on utilise un adsorbant polaire le choix du solvant se fait en fonction de la série éliotrope dans laquelle les solvants sont placés par ordre croissant de leur polarité (voir tableau). (35)

Tableau n° 2 : Série éliotrope des solvants, ordre croissant de polarité.

:	:	:
: Hexane	: Ether diéthylique	:
:	:	:
: Heptane	: Tetrahydrofuranne (THF)	:
:	:	:
: Ether de pétrole	: Acétate d'éthyle	:
:	:	:
: Cyclohexane	: Acétone	:
:	:	:
: Carbure de soufre (CS ₂)	: Méthyl éthyl cétone	:
:	:	:
: Tetrachlorométhane (CCL ₄)	: Butanol 1	:
:	:	:
: Trichloroéthylène	: Propanol 1	:
:	:	:
: Dichloroéthane	: Ethanol	:
:	:	:
: Benzène	: Eau	:
:	:	:
: Dichlorométhane	: Acide acétique glacial	:
:	:	:
: Chloroforme	: Péridine	:
:	:	:

Pour conclure, les phases éluantes les plus courantes sont l'hexane, le pentane et des mélanges hexane/acétate d'éthyle. Le choix de la phase éluante pour la séparation des constituants d'une huile essentielle diffère d'un auteur à un autre.

Cependant aucune étude approfondie n'a été faite afin de déterminer l'affinité d'un solvant donné avec une famille de terpène donnée ; de même qu'aucune optimisation n'a encore été étudiée dans ce sens.

En fait la composition de l'huile essentielle étant tellement complexe que l'utilisation d'un mélange de solvants (polaire et apolaire ou peu polaire) en composition déterminée est le meilleur moyen d'arriver à éluer les différentes familles de terpènes de l'huile essentielle considérée.

CHAPITRE III

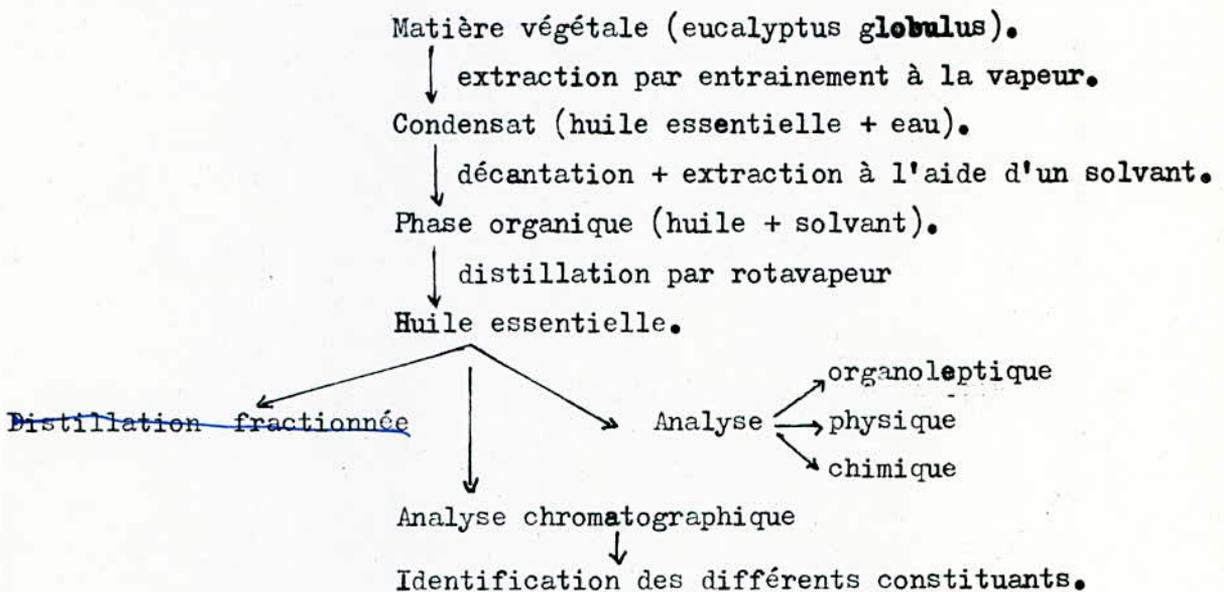
PARTIE EXPERIMENTALE

Introduction.

Le but de notre travail est de pouvoir déterminer les conditions opératoires optimales d'un appareil de distillation réalisé au Département de Genie - Chimique E.N.P. (26). Cette extraction sera appliquée pour l'eucalyptus globulus d'Algérie.

Après cela, on procédera à l'analyse de l'huile ainsi extraite aussi bien du point de vue physico-chimique que composition chimique.

On peut se référer au schéma ci-dessous, représentant les différentes étapes principales de notre travail.



A. Méthode de travail.

A. 1 - Description de l'appareillage.

Les principales parties de l'appareil distillatoire sont les suivantes :

a - Chaudière : Alimentant l'alambic en vapeur d'eau et de débit réglable (5,4 l/h et 10,8 l/h). Le chauffage se faisant grâce à 6 résistances alimentées par une tension de 230 volts.

b - Alambic : Partie principale pour l'extraction, il a été réalisé en cuivre (le métal le plus utilisé pour ce type de montage quoique pouvant se retrouver en trace dans les huiles extraites et les eaux de distillation). Les plateaux circulaires perforés au nombre de quatre constitueront les supports pour la charge végétale. La vapeur arrivant de la chaudière est distribuée dans la cucurbite à l'aide d'un distributeur de vapeur placé à quelques centimètres du fond pour éviter le contact eau - matière botanique, un autre distributeur permet de maintenir le mélange eau - huile à l'état de vapeur.

c - Condenseur : C'est un cylindre en cuivre muni d'un serpentin dont la surface d'échange est suffisante pour condenser totalement les vapeurs.

A. 2 - Matériel botanique. "Eucalyptus globulus".

Les expériences ont été réalisées sur des feuilles, rameaux et grains, Jeune et adulte, d'eucalyptus globulus labillardière, provenant d'une plantation de Ben Aknoun et parfaitement identifiés par le département de botanique de l'institut national d'agronomie I.N.A.

A. 3 - Extraction de l'huile essentielle.

a - Par entraînement à la vapeur : L'huile essentielle d'eucalyptus globulus est obtenue par entraînement à la vapeur sur l'appareillage décrit précédemment. La vapeur d'eau entraînant les constituants de l'huile sera ensuite condensée et récupérée sous forme de condensat (huile essentielle + eau), l'huile surnageante sera séparée par simple décantation.

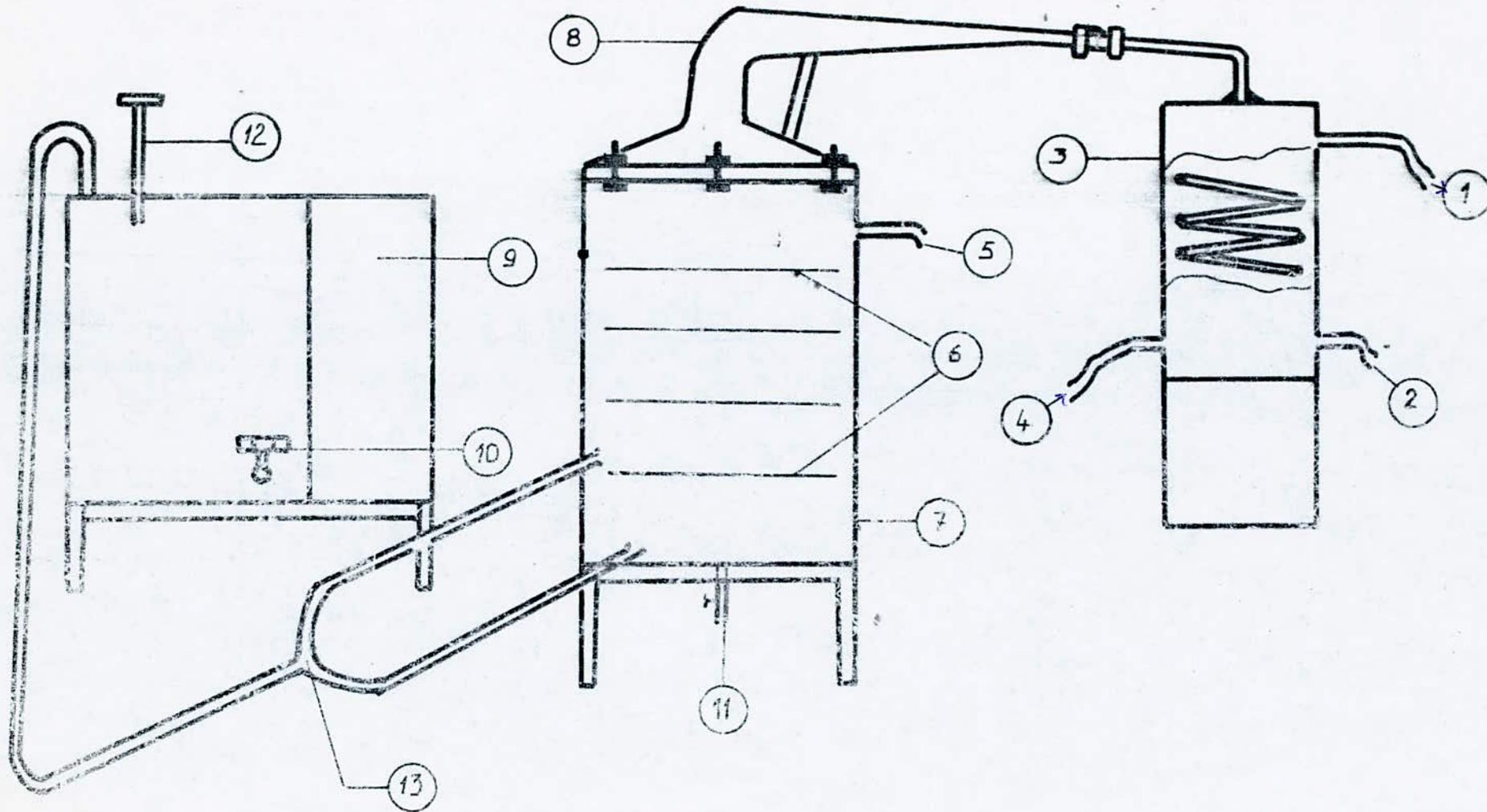


FIG-1

APPAREIL DISTILLATOIRE

LEGENDE

- ① Entrée d'eau 4
- ② Récupération du distillat
- ③ Condenseur
- ④ Sortie d'eau 1
- ⑤ Sortie de vapeur
- ⑥ Plateaux
- ⑦ Alambic
- ⑧ Chapiteau à col de cygne
- ⑨ Chaudière
- ⑩ Vanne
- ⑪ Purge
- ⑫ Sonde thermométrique
- ⑬ Conduite de vapeur

APPAREIL DISTILLATOIRE

FIG-2

b - Par solvant : L'extraction par solvant de l'huile essentielle absorbée par l'eau s'impose du fait que cette quantité semble être suffisamment importante.

Le choix de ce solvant étant cependant très difficile nous avons opté pour quatre solvants de polarité différentes.

L'ether de pétrole qui se trouve en début de la série éliotrope (voir chapitre fractionnement) donc apolaire, le benzène et l'ether diéthylique, qui sont moyennement polaire et l'ether.

On étudiera l'influence de ces solvants sur la composition chimique de l'huile essentielle. La phase organique contenant le solvant et l'huile sera séparée par décantation et par évaporation nous récupérerons séparément l'huile et le solvant.

La conservation des échantillons de l'huile est effectuée dans des flacons en verres fumés, à l'abri de la lumière et à basse température dans un réfrigérateur, afin de limiter les éventuels réarrangements.

A. 4 - Analyses.

A. 4. 1 - Caractéristique des huiles essentielles.

Les huiles essentielles sont des produits d'une grande valeur, on conçoit aisément que la sophistication de tels produits est une mine inépuisable. L'huile essentielle est caractérisée par trois types de propriétés.

a - Propriétés organoleptiques : Elles sont aussi indispensables que les autres analyses, telles qu'elles soient fournies par la perception sensorielle : apparence, couleur, goût et odeur.

b - Propriétés physiques :

b. 1 - Densité ou poids spécifique : C'est le rapport du poids d'un certain volume d'échantillon à une température donnée T au poids du même volume d'eau à une température standard. L'état standard est pris à 4° C qui permet d'identifier les chiffres mesurant la densité (27).

$$d_4^T = \frac{\text{poids d'un volume de produit à T}}{\text{poids du même volume d'eau à 4° C}}$$

b. 2 - Indice de réfraction : D'une huile essentielle est le rapport du sinus de l'angle d'incidence au sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle (28). La température de référence est 20° C, lorsque l'échantillon n'est pas à l'état liquide à cette température on adoptera une température de 25° C ou 30° C.

b. 3 - Pouvoir rotatoire : Ou la déviation polarimétrique d'une huile essentielle est l'angle dont tourne le plan de polarisation de la lumière, quand celle-ci traverse une certaine épaisseur d'huile essentielle dans les conditions bien déterminées (29). Elle est mesurée sous un décimètre ou bien sous une épaisseur différente et ramenée à un décimètre, il est donné par l'expression suivante :

$$\alpha_D^{20^\circ \text{ C}} = \frac{A}{l}$$

dans laquelle :

A est l'angle de rotation observé, exprimé en degrés.

l est l'épaisseur d'huile essentielle, exprimée en décimètres.

b. 4 - Point de congélation : Le point de congélation d'une huile essentielle est la température constante ou maximale observée pendant la phase de libération de la chaleur latente de solidification, lorsque cette huile essentielle à l'état liquide est refroidie suivant la méthode décrite dans les normes AFNOR (30). Il est exprimé en celsius.

b. 5 - Solubilité dans l'alcool : 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 de 1 volume de l'huile essentielle considérée avec V volume de cet éthanol est limpide et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre, jusqu'à un total de 20 volumes (31).

c - Propriétés chimiques : C'est une analyse chimique qui caractérise les constituants et surtout ceux qui ont le plus de valeur. On effectue des dosages qui permettent d'analyser certains constituants présents dans l'huile essentielle, nous citerons à titre d'exemple :

- Les indices d'acide et d'ester.
- L'indice de saponification.
- Le dosage des aldéhydes et des cétones.
- Le dosage des phénols.
- Les indices de méthyle et d'éthyle.

Dans notre étude, nous nous limiterons à la détermination des indices d'acide et d'ester à cause de la complexité des modes opératoires et du manque de produits nécessaires.

c. 1 - Indice d'acide : C'est le nombre de milligrammes de potasse (KOH) nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans 1 gramme de substance (32).

L'indice d'acide est donné par la formule :

$$IA = 5,6 \frac{n_1 - n_2}{m}$$

où m est la masse d'huile essentielle

n_1 est le nombre de cm^3 de potasse utilisée pour le virage dans la fiole A

n_2 est le nombre de cm^3 de potasse utilisée pour le virage dans la fiole B

c. 2 - Indice d'ester : Est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1 gramme d'huile essentielle (32).

Il est donné par l'expression suivante :

$$IE = 28 \frac{n - n_1}{m} 10^3 \quad (34)$$

dans laquelle :

m est la masse d'huile essentielle

n_1 est le nombre de cm^3 de solution chlorhydrique nécessaire pour le virage

$(n - n_1)$ le nombre de cm^3 qu'a saponifié la masse d'huile

A. 4. 2 - Analyse par chromatographie en phase gazeuse.

A. 4. 2. 1 - Définition.

C'est une méthode d'analyse basée sur les vitesses de migration des solutés le long de la colonne. Il est indéniable que parmi toutes les techniques d'analyse c'est la chromatographie en phase gazeuse qui a connue le développement le plus rapide, touchant tous les domaines de la chimie organique, biochimie et la pharmacie.

C'est la chromatographie en phase gazeuse qui a fournis les meilleurs résultats pour la connaissance des arômes et des huiles essentielles dans le sens le plus large. Le dernier cri étant bien entendu le couplage chromatographie gazeuse - spectrométrie de masse. Il convient aussi de rappeler que c'est au cours de travaux sur les huiles essentielles que Kovats a imaginé le concept d'indice de rétention, notion qui fut et reste si féconde tant du point de vue théorique que dans la pratique journalière de la chromatographie gazeuse.

A. 4. 2. 2 - Choix des conditions opératoires.

Pour l'étude des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse se pose le problème du choix du procédé le plus approprié à mettre en oeuvre ainsi que les conditions opératoires les plus adéquates. Les huiles essentielles ont une constitution complexe. Les composés qui les constituent sont de volatilité, de polarité et de concentration différentes.

Le choix de la phase stationnaire est primordial, c'est le principal facteur intervenant dans la séparation et il dépend du mélange à analyser. En général, la polarité de la phase doit correspondre à celle des constituants de la substance. Un échantillon contenant des composés peu polaires, une phase apolaire est tout indiquée. Pour une fraction polaire ou pauvre en terpène une phase polaire s'impose telle que la polyéthylène glycol (carbowax) notamment la P.E.G. 20 M.

Au cours de notre étude trois types de colonnes ont été utilisées dont l'une est classique O.V.17, l'autre est capillaire carbowax 20 M et enfin la P.E.G. 20 M qui est aussi classique. Nous aurons à définir celle qui nous donnera une meilleure séparation des constituants de l'huile essentielle.

A. 4. 2. 3 - Appareillage utilisé.

- * Chromatographe type Pye - Unicam série 304 chromatograph.
- * Enregistreur et integrateur électronique type Pye - Unicam 4810 computing integrateur philips.
- * Détecteur à ionisation de flamme FID.
- * Colonnes.

A. 4. 2. 4 - Conditions d'utilisation du chromatographe.

Nos analyses ont été faites principalement sur la colonne O.V17 avec les conditions citées ci-dessous :

:- Colonne	: Colonne classique en verre 1,5 m de long diamé-	:
	: tre intérieur 4 mm.	:
:- Phase stationnaire	: O.V17.	:
:- Gaz vecteur	: Azote.	:
Débits : colonne	: 30 ml/mn	:
:- Température injecteur	: 200° C	:
:- Détecteur	: Ionisation de flamme.	:
Débits : hydrogène	: 33 ml/mn	:
Air	: 300ml/mn	:
Température détec-	: 300° C	:
teur		:
:- Température de la colonne	: Programmation linéaire	:
début	: 80° C	:
fin	: 180° C	:
vitesse	: 2° C/mn	:
:- Volume injecté	: 0,5 µl	:
:- Atténuation	: 32	:
:- Vitesse du papier	: 0,5 cm/mn	:
:- Sensibilité	: 10 ³	:

Afin de déterminer le meilleur type de colonne donnant une bonne séparation des constituants de l'huile essentielle, nous avons procédé par la comparaison de deux colonnes en polyéthylène glycol 20 M, l'une capillaire et l'autre classique.

: - Colonne	: colonne capillaire en silice fondue 25 m de long
:	: de diamètre intérieur 0,22 mm
: - Phase stationnaire	: carbowax 20 M (P.E.G.)
: - Gaz vecteur	: hydrogène
: Débit	: 1,5 ml/mn
: - Température injecteur	: 260° C
: - Détecteur	: Ionisation de flamme
: Débit: Azote	: 33 ml/mn
: Air	: 300 ml/mn
: Température détecteur	: 300° C
: - Température colonne	: programmation linéaire
: début	: 30° pendant 3 mn
: fin	: 190° C
: vitesse	: 3° C/mn
: - Volume injecté	: 0,5 ul
: - Atténuation	: 32
: - Vitesse du papier	: 0,5 cm/mn

:	:	:
:- Colonne	: colonne classique en verre 1,5 m	:
:	:	:
:	: de long, diamètre intérieur 4 mm	:
:	:	:
:- Phase stationnaire	: carbowax 20 M	:
:	:	:
:- Gaz vecteur	: Azote	:
:	:	:
Débit	: 30 ml/mn	:
:	:	:
:- Température injecteur	: 200° C	:
:	:	:
:- Détecteur	: Ionisation de flamme	:
:	:	:
Débit :	:	:
Hydrogène	: 63 ml/mn	:
:	:	:
Air	: 400 ml/mn	:
:	:	:
Température détecteur	: 300° C	:
:	:	:
:- Température de colonne	: Programmation température	:
:	:	:
Début	: 80° C	:
:	:	:
Fin	: 180° C	:
:	:	:
Vitesse	: 2° C/mn	:
:	:	:
:- Volume injecté	: 0,5 ul	:
:	:	:
:- Atténuation	: 32	:
:	:	:
:- Vitesse du papier	: 0,5 cm/mn	:
:	:	:

Nous constatons que la polyéthylène - glycol classique ne donne pas une bonne séparation, surtout pour les constituants lourds. Par contre, la O.V17 donne des résultats proches de ceux de la capillaire. Les temps de rétentions sont très voisins et le pourcentage des constituants est presque le même. La capillaire est donc la colonne la plus conseillée pour les huiles essentielles constituées de composés de différentes volatilités et de concentrations. A défaut d'une colonne capillaire que l'on ne possède pas au Département, nous pourrions opter pour la O.V17 de même efficacité.

B - Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus.

Plusieurs paramètres peuvent influencer sur le rendement et la composition de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus.

Pour trouver les conditions opératoires optimales d'extraction de l'huile essentielle, nous devons déterminer l'influence simultanée de plusieurs paramètres, nous citons la charge par plateau, le débit de vapeur qui est lui même relié à la puissance de chauffe. Le seul paramètre fixe est le temps de distillation qui est de quatre heures, conformément aux données de la pharmacopée française pour l'eucalyptus globulus.

B. 1 - Influence de la charge et du débit de vapeur sur le rendement, les propriétés physiques et la composition de l'huile essentielle.

La charge utilisée est formée d'un mélange de feuilles, rameaux et de grains, le matériel botanique est coupé grossièrement et fraîchement cueilli.

La charge est prise telle que le plateau soit recouvert uniformément sans être tassé.

Le débit de vapeur obtenu à partir de résistance chauffante ; en actionnant sur les disjoncteurs 1 ou 2 suivant la puissance désirée.

Les dimensions de l'alambic ne nous permettent pas d'utiliser plus de 4 plateaux, nous pourrions étudier l'influence de ce dernier paramètre sur le rendement en huile essentielle, pour ce nous prendrons les autres paramètres constants.

En ce qui concerne l'influence sur la composition, nous nous intéresserons au pourcentage du constituant le plus important de notre essence, à savoir, le 1-8 cinéole.

Tableau N° 2:

N° de la manipulation	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Conditions opératoires									
Charge/Plateau (gr)	400	600	800	1000	600	600	600	600	600
Débit de vapeur (l/h).	5,4	5,4	5,4	5,4	10,8	5,4	5,4	5,4	5,4

Ce tableau regroupe toutes les manipulations représentatives.

1, 2, 3 et 4 désignent l'influence de la charge.

6 désigne l'influence du débit.

2, 6, 7 et 8 désignent l'influence des plateaux.

9 désigne l'influence de l'hydrodistillation.

Tableau N° 3 : Influence des conditions opératoires sur le rendement en huile essentielle, les propriétés physico - chimiques et le pourcentage en 1,8 - cinéole.

N° de La manipulation conditions opératoires	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Rendement en huile %	0,94	1,04	0,60	0,45	0,16	1,11	1,08	1,13	0,98
Pourcentage en Cinéole	65,30	64,81	65,18	64,36	56,17	65,01	65,48	65,34	74,39
densité à 15°C	0,9248	0,9254	0,9251	0,9252	0,9218	0,9253	0,9251	0,9251	0,9229
Indice de réfraction à 20°C	1,4675	1,4672	1,4675	1,4674	1,4630	1,4672	1,4675	1,4678	1,4661
Pouvoir rotatoire à 20°C	1° 43'	1° 50'	1° 47'	1° 44'	0° 38'	1° 48	1° 53'	1° 47'	1° 40
Point de congélation °C	-7,1	-7,5	-7,2	-7,9	-7,6	-7,2	-7,8	-7,0	-7,9
Indice d'acide	3,5	3,4	3,5	3,8	4,1	4,2	3,6	3,5	3,2
Indice d'ester	12,5	12,7	12,1	13,0	12,8	12,5	13,1	12,8	12,6
solubilité dans l'alcool à 70% v/v à 20°C	2,3	2,8	2,7	3,4	3,0	3,1	2,9	2,8	2,8

B. 2 - Influence de l'hydrodistillation.

Vu l'intérêt que nous avons porté au 1,8 cinéole et les phénomènes d'hydrolyse qui semble aller dans le sens de la synthèse de ce constituant, nous avons réalisé une expérience illustrant cet aspect. Pour cela nous avons réalisé un montage d'hydrodistillation.

Une charge de 600 g est plongée dans l'eau au fond de l'alambic, constituant ainsi un plateau théorique. Le tout étant chauffé par la vapeur d'eau. De même qu'on a fait varier le nombre de plateau en plus du plateau du fond. **Les résultats pour un plateau supplémentaire ou plus étant les mêmes.** Les résultats de ces différentes manipulations sont regroupés dans le tableau n° 3.

Interprétation :

Il semblerait que la charge de 600 g de matière végétale pour un plateau assure une meilleure diffusion de l'huile à travers le tas. Cette masse serait suffisante pour que la plante soit bien répartie sur le plateau sans que la plante ne s'entasse et empêcherait la vapeur d'eau de s'infiltrer à travers les trous et entraînerait une diminution du rendement de l'huile.

Le résultat est renforcé lors de la variation du nombre de plateau où cette même masse de 600 g déposée respectivement sur 1, 2, 3 et 4 plateaux donne des rendements voisins aux erreurs de manipulations près. Donc la quantité d'huile extraite est proportionnelle à la charge totale utilisée et ce pour des conditions opératoires bien déterminées correspondant au tassement optimal de la plante. Au vu de ces résultats, nous utiliserons pour la suite de nos expériences un plateau seulement pour éviter le gaspillage de la matière végétale. Par ailleurs, les résultats de la variation du débit de vapeur prouvent qu'un grand débit brusque le phénomène d'entraînement à la vapeur. En effet, ce dernier est nettement plus grand que pour la chauffe modérée, donc crée des chemins préférentiels et d'où le contact avec la matière est amoindri.

Le pourcentage en cinéole ne varie pas beaucoup avec la charge; par contre un grand débit donne un pourcentage assez faible en cinéole.

- La charge n'influe pas sur la composition de l'huile, nous ne constatons qu'une légère variation. Nous pourrions penser que quelque soit la masse végétale utilisée l'huile étant extraite de la même façon, le pourcentage des constituants ne varie pas dans celle-ci. Ils seront extraits dans les mêmes proportions.

- Par contre, un débit élevé influe considérablement sur le pourcentage. Nous pourrions dire que les composés volatils créent d'autres chemins préférentiels.

- D'après nos résultats, le nombre de plateaux ne modifie pas la composition de l'huile extraite, vu que la méthode d'extraction de l'huile est la même et que seule la charge varie selon le nombre de plateaux utilisés.

- Dans l'expérience d'hydrodistillation, le rendement total de l'huile varie légèrement par rapport à celui de l'entraînement à la vapeur et seule une légère baisse due à la présence d'eau entraîne la diminution du rendement (effet d'hydrolyse).

Par contre, le pourcentage en cinéole passe de 65,05% (entraînement à la vapeur) à 74,39% (hydrodistillation).

L'industrie (E.N.A.F.L.A.) portant un intérêt tout particulier à ce constituant, il est donc judicieux de procéder à l'extraction de l'huile essentielle par cette méthode (ce qui est d'ailleurs réalisé à l'unité ENAFLA de la Chiffa).

- En conclusion, afin d'obtenir un meilleur rendement et surtout un pourcentage élevé en cinéole, il est recommandé de réaliser les conditions optimales suivantes :

- Méthode d'extraction : Hydrodistillation.
- Charge par plateau : 600 Gr.
- Temps de distillation : 4 H.
- Débit de vapeur : 5,4 L/H.

B. 3 - Influence du séchage, division et nature de la plante.

Dans les mêmes conditions opératoires optimales déjà citées, nous réaliserons les expériences dont les résultats sont regroupés dans le tableau N° 5.

Interprétation du tableau N° 5 :

Il semblerait (16) que la plante renferme une grande quantité d'eau :

Feuilles de jeunesse : 10,1%

Feuilles adultes : 9,6%

Le séchage préalable de la plante provoque une perte en poids des feuilles de 30 à 40% (17). Par conséquent, l'extraction effectuée sur la plante (feuilles, rameaux, graines) fraîche ou séchée donne des rendements différents. Nous constatons également que plus les feuilles sont sèches plus le rendement augmente. Il est donc probable que le séchage permet une diffusion aussi faible soit-elle des constituants volatils de l'huile à la surface de la plante, pour cela la température de séchage ne doit pas être excessive afin de préserver la fraction volatile. On observe par ailleurs une variation du pourcentage du cinéole dans l'huile en fonction du temps de séchage de la matière végétale. On peut donc penser que le séchage, même modéré, provoque l'évaporation facile des constituants volatils.

En tout état de cause, aucune affirmation ne peut-être faite à ce sujet à notre niveau. Les rendements en huiles extraites pour différentes divisions des feuilles prouvent que l'utilisation des feuilles entières est plus raisonnable, d'autre part le rendement est amoindri pour une plus petite division, ceci est peut-être dû au fait que les composés de l'huile se volatilisent pendant le stockage des feuilles coupées. Pour cela il serait préférable d'utiliser ces dernières dès qu'elles sont coupées.

Tableau N° 4 : Influence du séchage, division et nature de la plante.

N° de la manipulation	1	2	3	4	5	6	7	8
Etat de la plante	Fraîche	sèche (2 mois)	Sèche (6 mois)	Fraîche	Fraîche	Fraîche	Fraîche	Fraîche
Division de la plante	Entières	Entières	Entières	Entières	coupées	striées	Entières	Entières
Nature de la plante	rameaux + feuilles + grains	rameaux + feuilles + grains	rameaux + feuilles + grains	feuilles	feuilles	feuilles	rameaux	grains

Tableau N° 1 : Influence du séchage, division et nature de la plante.

N° des manipulations Conditions opératoires		1	2	3	4	5	6	7	8
- Débit de vapeur = 5,4 l/h.	Rendement en huile. %	1,04	1,45	2,05	1,23	0,92	0,86	0,25	0,16
- Charge par plateau = 600g.	Pourcentage en cinéole	65,30	69,11	74,55 x	64,00	60,82	34,62	0,097	0,011
- Nombre de plateau = 4.	Densité à 15°C	0,9231	0,9243	0,9241	0,9233	0,9235	0,9225	0,9221	0,9223
- Temps de distillation = 4h.	Indice de réfraction à 20°C	1,4672	1,4678	1,4675	1,4681	1,4668	1,4598	1,4596	1,4576
	Pouvoir rotatoire à 20°C	1° 48	1° 58	1° 45'	1° 57'	1° 45'	1° 52	1° 36'	1° 33'
	Point de congélation °C	-7,5	-7,8	-7,0	-6,9	-7,2	-6,7	-6,5	-6,4
	Indice d'acide	3,65	3,70	3,50	3,25	3,69	3,75	4,25	4,10
	Indice d'ester	12,0	12,8	13,5	13,1	12,5	12,4	12,2	12,4
	Solubilité dans l'alcool 70% v/v à 20°C	2,4	2,6	2,9	2,5	2,1	3,1	2,0	2,2

On pourrait interpréter les résultats autrement car il serait possible que le découpage des feuilles provoque des changements dans les structures moléculaires des constituants d'où une diminution aussi importante du pourcentage en cinéole, puisqu'il passe de 60,82% pour les feuilles entières à 34,62% pour les feuilles striées. Aucun travail élaboré n'a encore été fait dans ce sens, cet aspect de l'extraction n'étant pas pris en considération. Toujours, est-il que l'utilisation de la plante entière pour l'extraction de l'huile essentielle qui a pour application majeure la production de l'huile à l'échelle industrielle engendre un gain non négligeable aussi bien en temps qu'en investissement (appareil pour découpage) et une amélioration en rendement aussi légère soit-elle.

B. 3 - Extraction par solvant de l'huile dans les eaux de distillation.

Les eaux de distillation (phase aqueuse récupérée après décantation) sont mélangées à chacun des solvants choisis (éther de pétrole, éther diéthylique, benzène, éther). Les extractions sont menées sur 3 étages dans des mélangeurs-décanteurs (empoules à brome). Après séparation de la phase organique, le solvant est évaporé dans l'évaporateur rotatif et les différentes caractéristiques de l'huile essentielle recueillie sont données dans le tableau n° 6, ainsi que l'analyse chromatographique. D'autres facteurs sont à considérer, à savoir l'efficacité du solvant à extraire l'huile, donc la quantité d'huile essentielle obtenue avec chaque solvant. Un autre facteur important est le pourcentage de récupération du solvant, sa disponibilité. Quatre solvants cités précédemment ont été étudiés pour les conditions optimums.

Interprétation du tableau n° 6.

Nous constatons que la variation des divers constituants est assez importante. Nous citerons, l'éther de pétrole ainsi que l'éther diéthylique qui extraient les composés légers. L'huile extraite par l'éther de pétrole est riche en cinéole (50, 16%) ; celle extraite par l'éther diéthylique est plutôt riche en β -pinène, le benzène par contre extrait les composés lourds ainsi que l'éther dont un composé important non identifié est en grand pourcentage (42, 59%). Vu le pourcentage important en cinéole et celui de récupération du solvant, l'éther de pétrole est le plus approprié pour cette opération malgré sa toxicité élevée.

D'après les résultats recueillis durant nos expériences, nous avons remarqué que les propriétés physico-chimiques ne diffèrent pas beaucoup pour les différentes manipulations.

Tableau N° 6 : Influence du solvant en fonction du rendement, propriétés physico-chimiques et pourcentage en Cinéole.

Solvants Conditions opératoires		Ether de pétrole	Ether diéthyli- que	Benzène	Ether
- Débit de vapeur = 5,4 l/h - Charge / plateau 600 g - temps de distillation = 4 h	Rendement en huile %	1,98	1,86	1,41	0,98
	Pourcentage en Cinéole	50,16	24,75	37,81	00,00
	densité à 15°C	0,9223	0,9205	0,9201	0,9158
	Indice de réfraction 20°C	1,4678	1,4650	1,4687	1,4605
	Pouvoir rotatoire 20°C	1° 20'	1° 16'	1° 25'	1° 08'
	Point de congélation °C	-7,2	-7,0	-6,8	-7,5
	Indice d'acide	4,5	4,2	4,8	5,2
	Indice d'ester	13,8	14,2	13,6	13,5
	Solubilité dans l'alcool 70% V/V à 20°C	3,5	3,2	3,8	2,7
	Pourcentage récupéré	90,5	50,8	86,7	79,9
	Toxicité	élevée	moins élevée	très élevée	moins élevée

Tableau N° 7 : Composition de l'huile essentielle extraite dans les eaux de distillation par les différents solvants.

No des pics	Nature des Composés	Composition en %			
		Ether de pétrole	Ether diéthylique	Benzène	Ether
1	Ether de pétrole	17,725	-	-	-
2	Ethanol	0,135	-	-	5,112
6	α -pinène	0,339	-	5,668	-
7	Camphène	0,006	-	0,091	-
10	β -pinène	0,014	48,561	0,022	-
12	Limonène	0,008	-	-	-
13	phélandrène	0,195	0,090	1,767	-
14	1,8 cinéole	50,160	24,744	37,809	-
15	p-cymène	0,015	0,203	0,008	0,001
17	Linalol	0,028	-	0,064	-
18	Camphre	0,012	-	0,065	0,036
19	non identifié	0,156	5,219	0,145	-
25	α terpinéol	0,174	0,045	-	0,003
26	γ terpinéol gauche	0,161	0,052	1,690	-
35	caryophyllène	0,709	0,733	1,193	-
36	acétate de géranyl	0,119	0,198	2,074	-
37	géraniol	0,305	0,131	-	-
39	non identifié	0,308	0,222	1,592	42,587
47	globulol	0,223	2,159	2,087	0,110
	Totaux	70,847	82,578	54,274	47,849

Le tableau n° 7 nous donne la composition de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus extraite des eaux de distillation par les différents solvants.

Chaque solvant extrait une famille de composés ~~suivant~~ son affinité pour ces derniers.

Nous constatons que l'ether extrait un composé non identifié en grand pourcentage (42,59%).

On peut donc dire que l'ether extrait des composés oxygénés.

L'ether de petrole est un mélange d'hydrocarbures, pour cela il extraira plutôt les hydrocarbures.

Afin de déterminer l'affinité de chaque solvant pour une famille de composés donnée on doit identifier tous les pics et donner leurs structures moléculaires. Par exemple, le benzène qui est un solvant neutre extrait les hydrocarbures, effectivement on remarque que le pourcentage en - pinène est de 5,66%.

Remarque :

Les étalons purs nous ont permis d'identifier quelques composés par comparaison des temps de rétention et par la méthode des rajouts.

C - Fractionnement de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus.

Pour la séparation et l'identification des composés constituant l'huile essentielle d'eucalyptus globulus, nous avons utilisé la chromatographie d'adsorption sur colonne. Le mélange à analyser est introduit par le sommet de la colonne constituée d'un tube en verre remplie d'un adsorbant ou "phase stationnaire."

La phase stationnaire est composée de gel de silice 60 Merck et de nitrate d'argent (fig 3) et sa masse est de 30 fois celle de l'huile à analyser. L'élution est effectuée par l'acétate d'éthyle, finalement on recueille 17 fractions de 20 ml chacune que l'on analyse par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie sur couche mince.

Le principe de la chromatographie sur couche mince consiste à révéler les composés sur des plaques en verre recouvert par du gel de silice, les gouttes (des différentes fractions) sont placées sur une ligne horizontale, un solvant permet la migration des composés sur la plaque qui seront localisés à l'aide d'un dispositif à la lumière Ultra-violette de courte longueur 254 μm (appareil GAMAG - U.V Betrachter.).

Les constituants du mélange sont identifiés par leur facteur de rétention $R_f = a/b$ où a : est la distance en (cm) entre la ligne de start et le centre de la tâche.

b : est la distance en (cm) entre la ligne de start et la ligne du front.

Le facteur de rétention dépend de la nature des composés analysés, de l'adsorbant et des solvants ainsi que de la concentration de ces derniers.

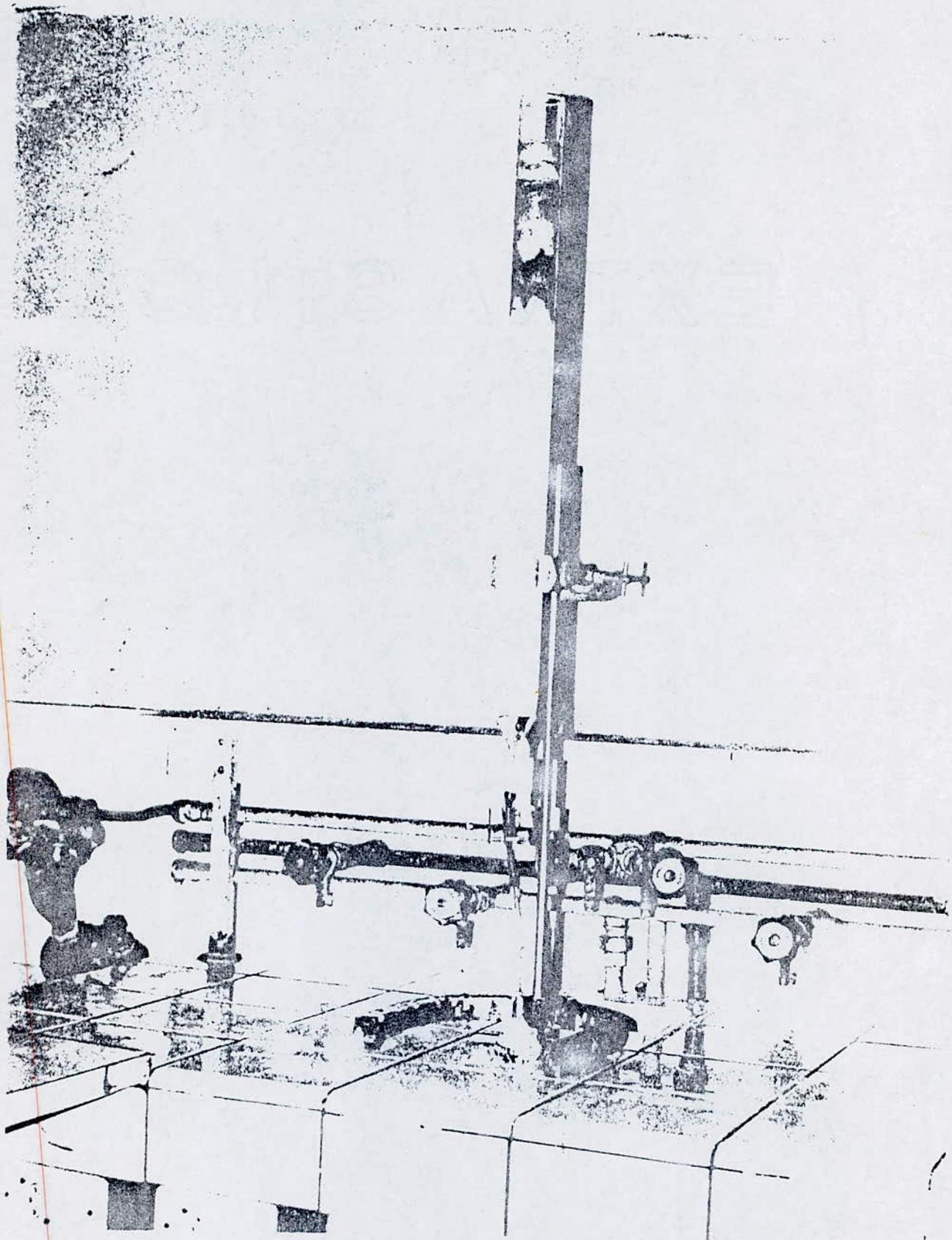


FIG. -3

COLONE CHROMATOGRAPHIQUE

Il est indépendant de la largeur de la plaque.

Lorsque deux composés ont le même R_f , ils sont identiques.

C. 1 - Expérience.

Les fractions étant recueillies au nombre de 7 ont subies les analyses sur couche mince par la méthode indiquée précédemment.

Nous avons observé, après révélation, une seule tâche pour chacune des fractions de 0 à 7 sur toute la première plaque, alors que les fractions de 8 à 17 ne présentaient pas de tâches.

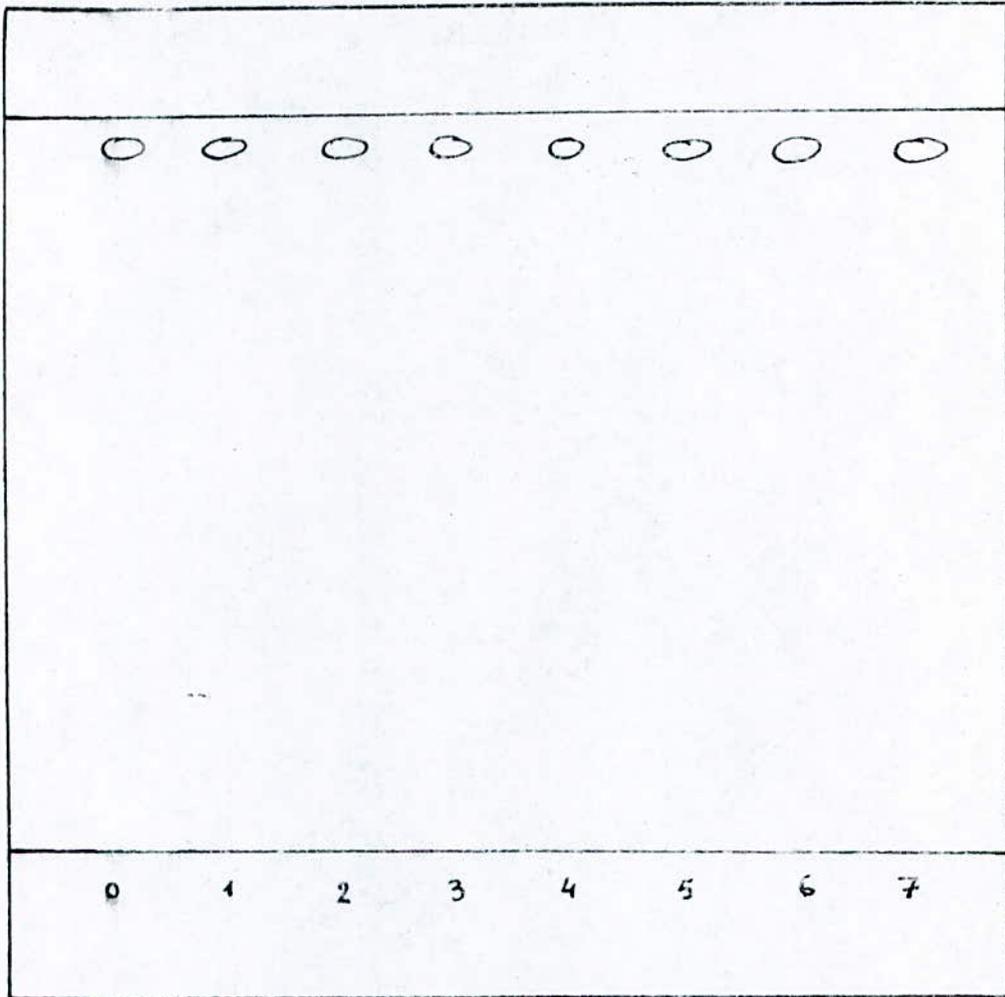
Toutes les tâches étant alignées, nous avons conclu que les fractions de 0 à 7 contiennent un seul et même composé.

Donc l'analyse chromatographique sur couche mince, nous a permis de localiser les fractions contenant le composé recherché.

D'autre part, nous avons remarqué que le solvant acétate d'éthyle provoque au cours du développement des plaques, la migration du composé jusqu'à la ligne de front (fig 4)

Après évaporation complète du solvant de ces fractions, nous avons obtenu un produit de couleur jaune pâle, consistant.

FIG N°4



CHROMATOGRAPHIE
SUR
COUCHE MINCE

C. 2 - Identification du composé isolé.

Pour identifier le composé isolé, nous avons déterminé son facteur de rétention $R_f = 0,94$.

Avec cette analyse seulement nous ne pourrions identifier le composé isolé. Pour pouvoir identifier ce dernier il aurait fallu déterminer ces caractéristiques physiques, sa température de fusion par exemple, d'autre part examiné les spectres infra-rouge de chaque fraction recueillies pour avoir une structure approximative du composé.

Par contre ; nous avons examiné les chromatogrammes sur colonne capillaire des fractions de 0 à 7 après évaporation du solvant. Cependant, ces informations ne sont pas suffisantes pour définir le composé isolé.

Il est évident que d'autres méthodes d'identifications du composé isolé s'imposent : Une analyse élémentaire, son poids moléculaire, son pouvoir rotatoire, sa température de fusion ainsi que les différents types d'analyses instrumentales à savoir la R.M.N, les spectrométries I.F, U.V et de masse.

Conclusion :

Dans notre travail, nous avons examiné, du point de vue quantitatif et qualitatif l'extraction de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus, Labill. en provenance d'un peuplement bien défini de Ben-Aknoun.

L'optimisation des conditions opératoires par entraînement à la vapeur consistait à déterminer l'influence de la charge, du débit de vapeur, du nombre de plateaux ainsi que celle du séchage et du découpage. Il apparaît que le rendement en huile et le pourcentage en cinéole sont optimums pour une charge de 600 gr par plateau et ceci avec un débit de vapeur modéré.

L'hydrodistillation améliore cependant le pourcentage en 1,8 cinéole grâce aux phénomènes d'hydrolyse.

Par ailleurs le rendement en huile augmente après pré-séchage de la plante entière (feuilles, rameaux, grains.).

Les résultats obtenus pour le découpage montrent que la matière première doit être utilisée entière pour l'amélioration du rendement en huile essentielle ainsi que le pourcentage en 1,8 cinéole, ce qui est rentable pour l'industrie, à savoir un gain de temps et d'investissements fructueux.

Différents solvants ont été utilisés pour l'extraction de l'huile des eaux de distillation; nous avons constaté que l'ether de pétrole est

le solvant qui extrait plus d'huile riche en cinéole.

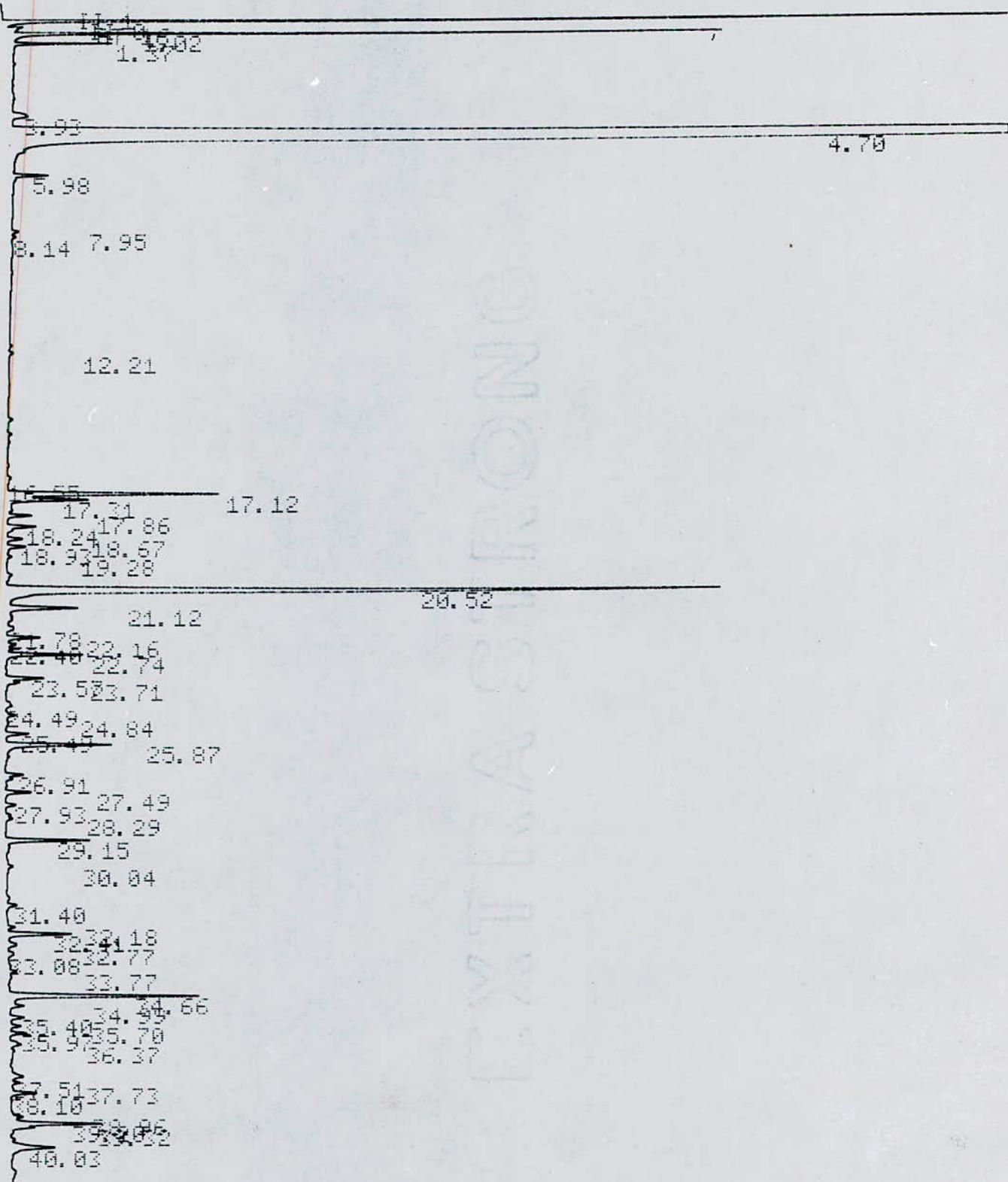
L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse, bien qu'encore très partielle, a permis l'identification de quelques composés, à savoir l'éthanol, α -pinène, le camphène, β -pinène, limonène, phélandrène, 1,8 cinéole, p-cymène, linalol, camphre, terpinéol, caryophyllène, acétate de géranyle, géraniol et le globulol.

Une étude comparative nous montre que la colonne capillaire est la plus conseillée pour les huiles essentielles.

L'utilisation de la chromatographie d'adsorption sur colonne et la chromatographie sur couche mince nous ont permis d'isoler un composé non identifié par manque de temps et de certaines analyses nécessaires à son identification.

Une approche analytique des extraits a été réalisée.

A N N E X E



Chromatogramme n° 1 "hydrodistillation".

Colonne Capillaire

FIG-5

FILE 1. METHOD 0. RUN 1 INDEX 1 CH= 01:27:37

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	2.595	1.02	48574	01
2	0.427	1.37	7991	01
3	0.246	3.93	4599	01
4	74.385	4.7	1392294	01
5	0.222	5.98	4162	01
6	2.011	17.12	37650	02
7	0.8	17.31	14966	03
8	0.182	17.86	3410	01
9	0.214	18.24	4007	01
10	0.14	18.67	2614	01
11	0.149	18.93	2783	01
12	9.044	20.52	169285	01
13	0.644	21.12	12057	01
14	0.107	21.78	2004	02
15	0.292	22.16	5470	02
16	0.711	22.74	13306	03
17	0.317	23.57	5928	02
18	0.111	23.71	2073	03
19	0.182	25.49	3403	01
20	0.891	25.87	16670	01
21	0.211	26.91	3944	01
22	0.204	27.49	3825	01
23	0.127	28.29	2374	01
24	0.681	29.15	12746	01
25	0.637	32.41	11926	01
26	0.135	32.77	2518	03
27	1.87	34.66	35004	01
28	0.13	35.4	2427	01
29	0.145	35.97	2716	01
30	0.144	36.37	2689	01
31	0.163	37.51	3054	02
32	0.26	38.1	4865	03
33	0.876	39.2	16395	02
34	0.164	39.32	3064	03
35	0.585	40.03	10947	01

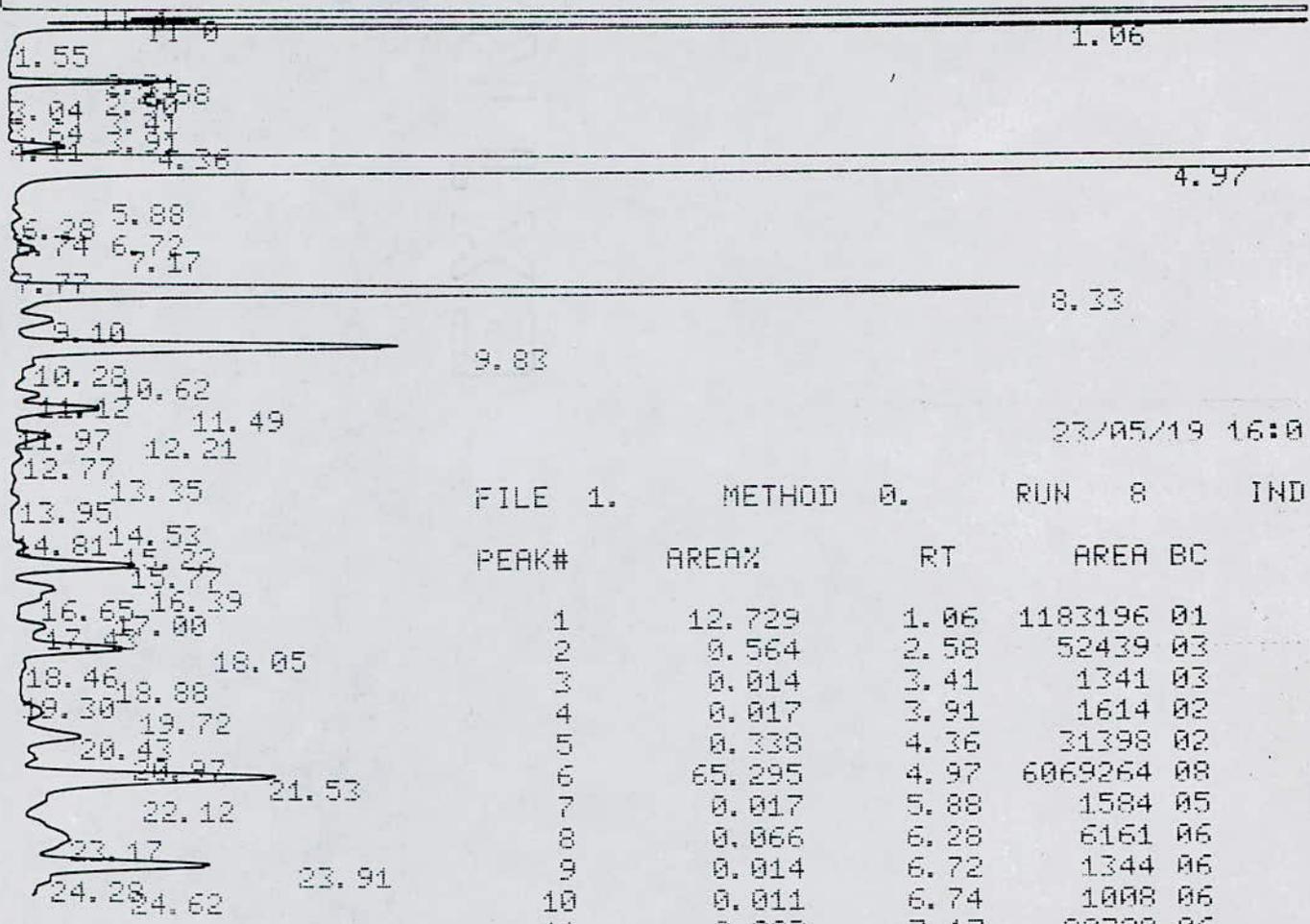
TOTAL 100.

1871740

ECHANTILLON EUCALYPTUS GLOBULUS (ENPA)

fig n°-6

'Colonne capillaire'



23/05/19 16:0

FILE	1.	METHOD	0.	RUN	8	IND
PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC		
1	12.729	1.06	1183196	01		
2	0.564	2.58	52439	03		
3	0.014	3.41	1341	03		
4	0.017	3.91	1614	02		
5	0.338	4.36	31398	02		
6	65.295	4.97	6069264	08		
7	0.017	5.88	1584	05		
8	0.066	6.28	6161	06		
9	0.014	6.72	1344	06		
10	0.011	6.74	1008	06		
11	0.223	7.17	20720	06		
12	0.028	7.77	2642	06		
13	6.86	8.33	637660	06		
14	0.399	9.1	37088	06		
15	2.906	9.83	270123	06		
16	0.17	10.28	15819	06		
17	0.116	10.62	10806	06		
18	0.216	11.12	20094	06		
19	0.667	11.49	61960	06		
20	0.04	11.97	3728	06		
21	0.33	12.21	30707	06		
22	0.118	12.77	10958	06		
23	0.048	13.35	4424	06		
24	0.073	13.95	6783	07		
25	0.013	14.53	1197	02		
26	0.103	15.22	9550	02		
27	0.96	15.77	89268	02		
28	0.337	16.39	31323	02		
29	0.167	16.65	15558	02		
30	0.012	17.	1088	02		
31	0.265	17.43	24645	02		
32	0.902	18.05	83873	02		
33	0.063	18.46	5894	02		
34	0.253	19.72	23535	02		
35	0.597	20.43	55464	02		
36	0.102	20.97	9435	02		
37	2.491	21.53	231547	02		
38	0.117	22.12	10839	02		
39	0.776	23.17	72113	02		
40	1.467	23.91	136373	02		
41	0.113	24.28	10534	03		

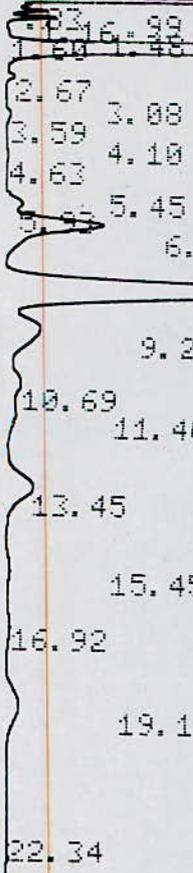
Chromatogramme n°2

Entraînement à la
vapeur

colonne OV 17

FIG-7

TOTAL 100. 9295097



.68

1.90

00:34:38 CH= "A" PS= 1.

FILE	METHOD	Q.	RUN	INDEX
1.			7	7
PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	14.963	0.68	1380683	02
2	0.13	0.83	11988	02
3	0.22	0.99	20307	02
4	0.284	1.16	26233	02
5	0.033	1.48	3014	02
6	0.027	1.6	2501	02
7	66.396	1.9	6126411	08
8	0.077	2.67	7143	05
9	0.003	3.08	291	02
10	0.091	3.59	8357	02
11	0.01	4.1	883	02
12	0.062	4.63	5677	02
13	0.043	5.45	3924	02
14	0.327	5.93	30156	02
15	2.541	6.5	234479	02
16	9.463	8.21	873118	02
17	1.643	9.24	151645	02
18	0.623	10.69	57524	02
19	0.287	11.4	26515	02
20	1.31	13.45	120887	02
21	0.254	15.45	23446	02
22	0.306	16.92	28241	02
23	0.84	19.11	77496	03
24	0.066	22.34	6116	01
TOTAL	100.		9227035	

FIG-83

Chromatogramme n° 3
polyéthylène glycol classique

10"47

FAULT

5

HUILE ESSENTIELLE EUCALYPTUS GLOBULUM (NPA). 17/05/87

CHANNEL A

INJECT

03:21:27

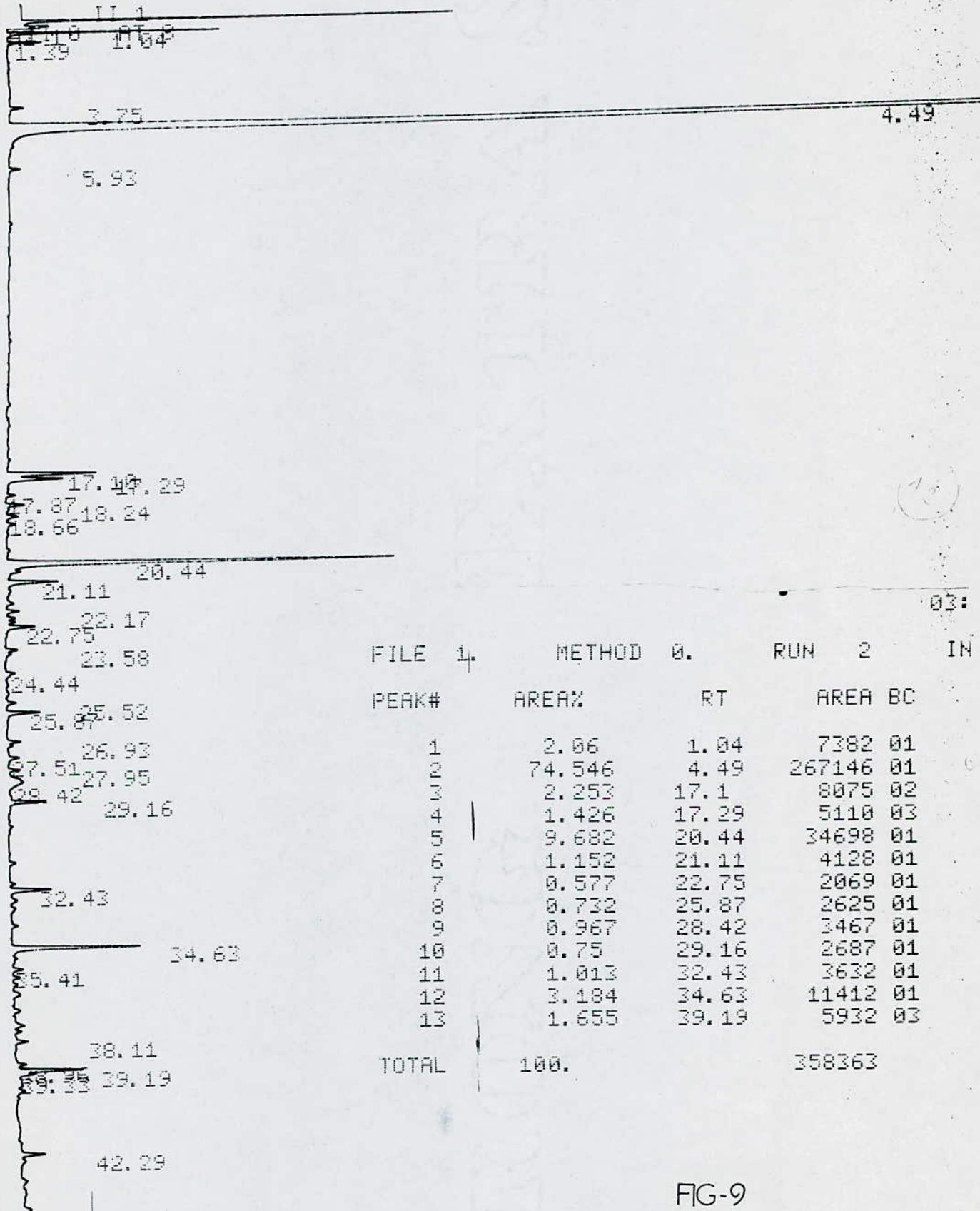
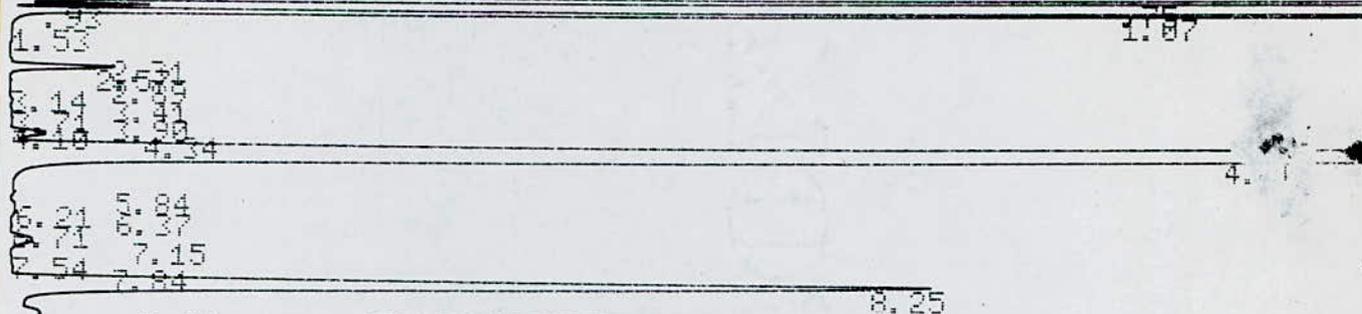


FIG-9

Chromatogramme n° 4
"colonne capillaire"



PEAK#	AREA%	RT	AREA	RC
- 1	17.715	0.75	1766544	00
- 2	0.135	0.93	13415	06
3	13.209	1.07	1317195	07
4	0.002	1.53	221	05
5	0.004	2.31	442	02
- 6	0.339	2.57	33827	02
- 7	0.006	2.89	598	02
8	0.002	3.14	217	03
9	0.015	3.41	1526	02
-10	0.014	3.71	1415	02
11	0.018	3.9	1802	02
-12	0.008	4.1	750	02
-13	0.195	4.34	19435	02
-14	50.16	4.9	5001907	08
-15	0.015	5.84	1478	05
16	0.021	6.21	2104	06
-17	0.028	6.37	2814	06
-18	0.012	6.71	1186	06
-19	0.156	7.15	15558	06
20	0.022	7.54	2204	06
21	0.026	7.84	2608	06
22	5.639	8.25	562296	06
23	0.358	9.05	35655	06
24	2.402	9.75	239525	06
-25	0.174	10.34	17343	06
-26	0.119	10.75	11898	06
27	0.212	11.13	21148	06
28	0.642	11.46	64056	06
29	0.056	12.12	5557	06
30	0.341	12.29	34041	06
31	0.245	12.87	24389	06
32	0.123	13.33	12244	06
33	0.274	13.96	27369	06
34	0.023	14.73	2314	06
-35	0.161	15.06	16007	06
-36	0.709	15.59	70676	06
-37	0.305	16.22	30446	06
38	0.201	16.46	20070	06
-39	0.38	17.25	37935	06
40	0.706	17.85	70395	06
41	0.171	18.6	17066	06
42	0.334	19.46	33304	06
43	0.16	19.73	15985	06
44	0.378	20.23	37675	06
45	0.05	20.82	4955	06
-46	1.643	21.32	163853	06
-47	0.223	21.95	22206	06
48	0.706	22.99	70442	06
49	1.104	23.68	110094	06
50	0.057	24.51	5646	07

Chromatogramme n° 5

huile extraite par
L'ether de pétrole
(référence)

FIG 10

QUELQUES CONSTITUANTS IDENTIFIES DANS LES ESSENCES

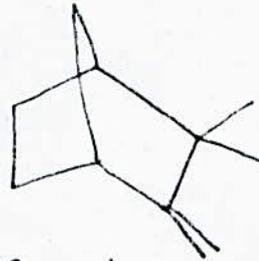
D' EUCALYPTUS GLOBULUS.



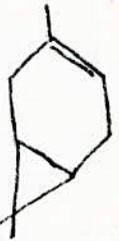
α -pinène



β -pinène



Camphène



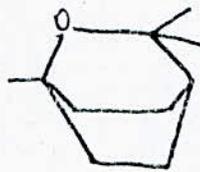
Δ^3 carène



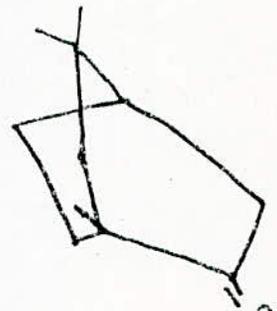
Limonène



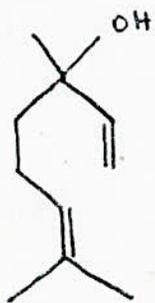
γ -terpinène



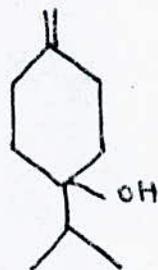
eucalyptol



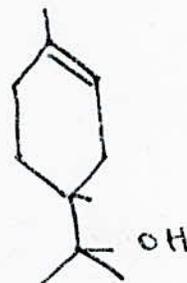
Camphre



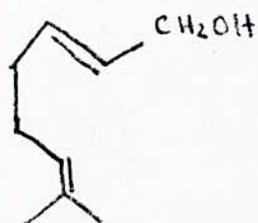
Linalol



terpinène 1ol 4



α -terpinéol



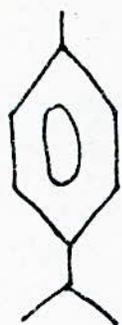
géraniol



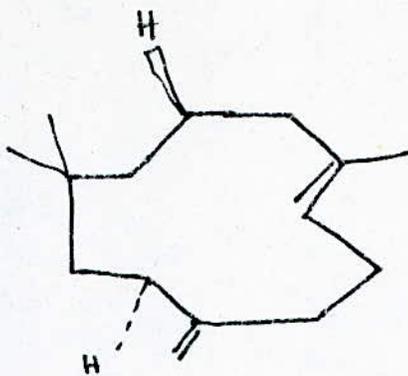
Carvone



terpinolène

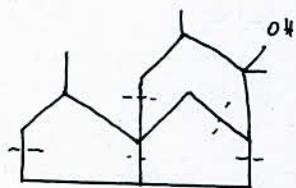


p-cymène

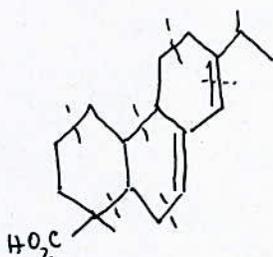


β -caryophyllène.

DIFFERENTS TYPES DE TERPENES



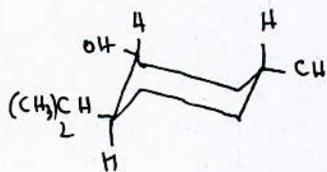
Cédrol
(bois de cèdre)



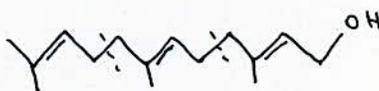
Acide abiétique
(résine de pin)



Myrcène
(essence de Laurier)



(-)-Menthol
(essence de menthe)



Farnésol

Bibliographie.

- 1 - Y.R NAVES : Technologie et chimie des parfums naturels.
Edition Masson et Cie (1974).
- 2 - T. BASSERI : Introduction à l'étude des parfums.
Edition Masson et Cie (1960).
- 3 - E. GUENTHER : The essential oil tome IV.
Edition R.E. KRIEGER (1972).
- 4 - ALLINGER, GANA, JOHNSON : Chimie organique tome 3.
Edition Mac Graw Hill (1983).
- 5 - H. TATUS : Industrie moderne des parfums.
Edition librairie J.B. Baillière et fils (1932).
- 6 - Précis de technologie et de chimie industrielle. ×
- 7 - J. GARNERO, R. JABBACHI : Contribution à l'étude de la composition chimique
de l'huile essentielle des rameaux de cyprès Algérien
Riv. Ital. B.P.P.O.S. 1-50, 1975.
- 8 - M.P. OTTO : "L'industrie des parfums".
2 édition, Dunod, 1961.
- 9 - J.P. DURVELLE : "Fabrication des essences et des plantes à parfums."
J. FRITSCH, Editeur Paris 1893.
- 10 - Y. BADI AHMED : Extraction de l'huile essentielle de lavande.
Thèse de Magister 1976.

- 11 - Connaissance des substances aromatisantes.
Labo pharma-P. Malangeau et P. Charanne. Problèmes et Technique. X
- 12 - E. GUENTHER : The essential oils.
Vol. I, History-origine in plants. Production - analysis.
Edition Robert E. KRETGER, 1948.
- 13 - F. HOFFMANN : Les huiles essentielles Tome I
Edition Paris J.B. Baillière et fils. 1912. Tome II 1914.
- 14 - G. CASTAN : Labo-pharma. Problèmes et Techniques 1975, 244, 578.
- 15 - M. M. CARMO : VIème Congrès international des huiles essentielles 1974,4,305.
- 16 - R. CHENNOUFI : Contribution à la connaissance de l'huile essentielle
X d'eucalyptus globulus cultivé au Maroc.
Thèse de magister décembre 1975.
- 17 - F. KHEIFANE, A. Yousfi : Extraction de l'huile essentielle d'eucalyptus
globulus.
Projet de fin d'étude Janvier 1987.
- 18 - M. BERNER : Labo-pharma. Problèmes et techniques (1979).
- 19 - Pharmacopée française. nouvelle.
- 20 - M. VAN. WINKLE : Distillation (chemical séries)
Edition Mac Graw-Hill 1967.
- 21 - E. S. PERRY - A. WEISSBERGER : Distillation (Technique of organic chemistry
Vol. IV).
Edition interscience publishers 1965.

- 22 - TAKAYUKI SHIBAMOTO : (Université de Californie, Davis, Californie). *
- 23 - Pharmacopée française 1965 VIIIème édition.
- 24 - C. LOZZI : Parfums, cosmet, savon, (1965).
- 25 - P. ROURNIER : Le livre des plantes médicinales et vénémeuses Tome II.
Edition, Paul Lechevalier (1948).
- 26 - DIOHTEB: Extraction de l'huile essentielle de cèdre entrainement à la
vapeur. E.N.P. Génie-chimique.
Projet de fin d'étude 1986.
- 27 - P. WUTHIER : Le pétrole, Raffinage et génie-chimique.
Edition, Technique, Paris. Tome I 1972.
- 28 - AFNOR : Détermination de l'indice de réfraction. N. F. T75 -- 112 Août 64.
- 29 - AFNOR : Détermination du pouvoir rotatoire N.F. T75 113 Juin 82.
- 30 - AFNOR : Détermination du point de congélation N.F. T75 102 Septembre 69.
- 31 - AFNOR : Détermination de la solubilité dans l'alcool. N.F. T75 101 Août 69.
- 32 - AFNOR : Détermination de l'indice d'acide N.F. T75 103 Juin 82.
- 33 - AFNOR : Détermination de l'indice d'ester N.F. T75 104 Juin 82.
- 34 - M. GARRIC : T.P de chimie. Edition Dumod 1964.
- 35 - Guide de travaux pratiques de chimie organique.
P. BOEVA (1980) page 88 - 89. BXTI - Bourgas.

