

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

19/90

«0»  
الدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
المكتبة -  
BIBLIOTHEQUE -  
Ecole Nationale Polytechnique  
وزارة التعليم العالي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

— «\*» —

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

— «0» —

Département : GENIE CHIMIQUE

— «0» —

# Projet de Fin d'Etudes

## THEME

CONTRIBUTION A LA RECUPERATION DU CINEOL

DE L'HUILE D'EUCALYPTUS GLOBULUS ALGERIEN

Proposé par :

Mme T. DJELAS

Etudié par :

Mr S. YETTOU

Dirigé par :

Mme T. DJELASS

Promotion : 1990

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

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

المدرسة الوطنية للتكنولوجيا  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique  
وزارة التعليم العالي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

— «\*» —

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

— «0» —

Département : GENIE CHIMIQUE

— «0» —

# Projet de Fin d'Etudes

POUR L'OBTENTION D'UN DIPLOME D'INGENIORAT

## THEME

CONTRIBUTION A LA RECUPERATION DU CINEOL

DE L'HUILE D'EUCALYPTUS GLOBULUS ALGERIEN

Proposé par :

Mme T. DJELAS.

Etudié par :

Mr S. YETTOU

Dirigé par :

Mme T. DJELAS.

Promotion : 1990

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

A mes chers parents,

المدرسة الوطنية المتعددة التخصصات  
المكتبة - BIBLIOTHEQUE  
Ecole Nationale Polytechnique

A mes freres et soeurs,

A ceux qui me sont chers,

Je dedie ce memoire

A Maclame Djellal.

Smail

-oOo- /)/) EMBRES DE \_/ URY -oOo-

=====

Président : R.BELABBES Professeur à l' E.N.P.

Examineurs: S.CHERCHARI Maître assistante à l' E.N.P.  
R.DERRICHE Chargée de cours à l' E.N.P.  
T.DJELASS Chargée de cours à l' E.N.P.

## REMERCIEMENTS

الدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
المكتبة — BIBLIOTHEQUE  
Ecole Nationale Polytechnique

Je tiens à remercier vivement Monsieur le Professeur Randane Belabbès qui m'a fait l'honneur d'avoir accepté de présider ce jury. Mes remerciements vont également à Madame S. Cherchari, maître-assistante à l'ENP et Madame R. Derriche, chargée de cours à l'ENP, d'avoir accepté la lourde tâche d'examiner et de juger ce travail.

Au terme de ce modeste travail, qu'il me soit permis de remercier Madame TOURAYA DJELASS, chargée de cours à l'ENP pour son aide, sa gentillesse et sa compréhension, tout au long de ces années d'études. Je tiens aussi à lui exprimer ma profonde reconnaissance pour les précieux conseils qu'elle m'a prodigués.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à l'ensemble de mes enseignants qui ont contribué à ma formation, et plus particulièrement Madame S. Cherchari.

Mes remerciements vont enfin à tous mes amis et plus particulièrement à Djamel Ouzzane et Abdelkrim Bouhired pour leur amitié et le soutien que j'ai toujours trouvé auprès d'eux.

Que chacun trouve ici le témoignage de mon estime et ma profonde gratitude.

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE  
DEPARTEMENT: Genie Chimique

Promoteur: Mme. T. DJELASS  
Elève Ingénieur: Mr. S. YETTOU

المدرسة الوطنية المتعددة الفنون  
المكتبة - BIBLIOTHEQUE  
Ecole Nationale Polytechnique

**الموضوع :** مساهمة في استرجاع سنيول الكاليتوس الكروي الجزائري.

**الملخص :**

ان هذا العمل يهدف الى دراسة استرجاع سينيول الكاليتوس و لهذا الغرض  
استعملنا ثلاثة عمليات :

في المرحلة الاولى استعملنا طريقة الاستخلاص مائع، مائع حيث استعملنا الكحول  
الايثيلي كمذيب و ذلك في ثلاثة مستويات.

و في المرحلة الثانية قمنا بعزل السينيول بواسطة التقطير تحت ضغط  
جوي متبوعا بالتقطير تحت التفريغ.

SUBJECT:

Contribution to recuperate the cineol of  
eucalyptus globulus oil of Algeria

ABSTRACT:

Our work consists in studying the cineol recovery in  
three steps:

The first one was the liquid extraction using the ethyl  
alcohol solvent in three stages followed by an atmospheric  
distillation then vacuum one.

SUJET:

Contribution à la récupération du cinéol de l'huile  
d'eucalyptus globulus Algérien

RESUME:

Notre travail a pour but l'étude de la récupération du  
cinéol. Pour cela nous avons effectué trois opérations:

Dans la première étape, nous avons procédé à une  
extraction liquide-liquide, utilisant l'éthanol comme solvant et  
ce en trois étages. La deuxième opération consiste à isoler le  
cinéol par une distillation atmosphérique suivie d'une  
distillation sous vide.

- INTRODUCTION	1
- PARTIE THEORIQUE	
I- HUILE ESSENTIELLE	3
I-1. Définition	3
I-2. Caractéristiques de l'huile d'eucalyptus globulus	4
I-3. Botanique-Ecologie	5
I-4. Récolte et extraction de l'huile	6
I-5. Propriétés Physiques	8
I-6. Propriété Chimique	11
I-7. Composition Chimique	11
I-7.1. Composition Chimique de l'huile essentielle	11
I-7.2. Composition Chimique de l'huile d'eucalyptus globulus	14
I-8. Intérêts et utilisations	17
II-ETUDE CARACTERISTIQUE DU CINEOL	19
II-1. Définition	19
II-2 Historique	19
II-3 Classification Chimique et Structure	20
II-4 Réaction du Cineol vis-à-vis d'autres produits	21
II-5 Propriétés Physico-Chimiques	22
II-6 Intérêts et utilisations	22
III-TECHNIQUES UTILISEES POUR LA RECUPERATION DU CINEOL	23
III-1 Extraction par solvant	23
III-2 Choix du solvant	23
III-3 Température du milieu	25
III-4 Décantation Statique	25
III-5 Décantation Centrifuge	25
III-6 Distillation Atmosphérique	26
III-7 Distillation Sous Vide	27
III-8 Distillation fractionnée	28
IV-TECHNIQUES DE DOSAGES DE CINEOL	29
IV-1 Méthode à l'acide Bromhydrique	29
IV-2 Méthode à l'acide phosphorique	30
IV-3 Méthode à la resorcin	31
V-TECHNIQUES D'ANALYSE	34
V-1 Chromatographie sur couche mince	34
V-1.1 Définition et appareillage	34
V-1.2 Principe de la technique	34
V-1.3 Choix de l'éluant	35
V-2 Chromatographie en phase gazeuse	37
V-2.1 Définition	37
V-2.2 Principe de la technique	38
V-2.3 Choix des conditions opératoires	38

-PARTIE EXPERIMENTALE

I-Détermination des constantes physico chimiques de l'huile	41
I-1 Densité	41
I-2 Indice de réfraction	42
I-3 Teneur en cinéol	42
I-3-1 Analyse par C P G	42
I-3-2 Appareillage utilisé	43
I-3-3 Conditions d'utilisation du chromatographe	43
I-4 Etude comparative	44
I-5 Solubilité	46
I-6 Pouvoir rotatoire	46
I-7 Indice d'acide	46
II-ESSAI POUR LA RECUPERATION DU CINEOL	48
II-1 Mode opératoire	48
1/ Extraction du cinéol	48
2/ Distillation sous vide	49
II-2 Application de la méthode à l'huile d'eucalyptus globulus	50
II-2-1 Extraction par solvant	50
A- Centrifugation	52
B- Chromatographie sur couche mince	53
II-2-2 Distillation atmosphérique	54
II-3 Amélioration du procédé	57
II-3-1 Détermination du rapport charge/solvant	57
II-3-2 Extraction liquide-liquide	58
II-3-3 Distillation atmosphérique	59
II-3-4 Distillation sous-vide et analyse par C.P.G.	60
- CONCLUSION	62
- BIBLIOGRAPHIE	64

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
مكتبة — BIBLIOTHEQUE  
Ecole Nationale Polytechnique

# INTRODUCTION

Les huiles essentielles , ou encore, les essences naturelles sont des substances odorantes, volatiles de couleur jaunâtre, localisées dans différentes parties des plantes telles que les feuilles, les tiges et les bourgeons, et que certaines plantes renferment en proportions considérables .

Toutefois, ces huiles ne sont pas des combinaisons chimiques bien définies, mais au contraire, des mélanges souvent très complexes de produits organiques appartenant aux classes les plus diverses .

La qualité d'huile essentielle dépend de différents facteurs : la partie de la plante utilisée, son lieu d'origine et la méthode d'extraction.

Leur extraction se fait essentiellement par entraînement à la vapeur, ce procédé permet non seulement d'isoler les huiles essentielles à l'état de pureté, mais encore il fournit un meilleur rendement.

Parmi ces huiles, on trouve l'huile essentielle d'eucalyptus globulus , utilisée plus en pharmacie qu'en parfumerie, pour ses propriétés astringentes, fébrifuges et antiseptiques .

L'objectif de notre travail est de récupérer à partir des huiles essentielles d'eucalyptus globulus , un constituant principal :

"Le CINEOL "

Dans une première étape, nous nous sommes intéressés à l'évaluation des caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'eucalyptus globulus à savoir : la densité, l'indice de réfraction, la teneur en cinéol, le pouvoir rotatoire, la solubilité et l'indice d'acide .

Ces caractéristiques permettent l'identification de l'huile qui a été utilisée dans nos expériences .

La deuxième étape a pour objectif d'appliquer un mode opératoire de récupération du cinéol de l'huile de menthe à l'huile d'eucalyptus globulus .

Pour ce faire, nous avons effectué trois opérations :

- Une extraction par solvant à trois étages .
- Une distillation atmosphérique .
- Une distillation sous vide .

Enfin, l'application de l'analyse chromatographique en phase gazeuse, nous permettra d'identifier le constituant obtenu en utilisant l'étalon, du cinéol pur .

**PARTIE  
THEORIQUE**

## I- HUILE ESSENTIELLE :

### I-1- DEFINITION :

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 Organisation (I.S.O), comme par l'Association Française de Normalisation (A.F.N.O.R) ou l'American 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, avant d'être celui de la chimie industrielle où 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 .

## I-2- CARACTÉRISTIQUES DE L'HUILE ESSENTIELLE

### D'EUCALYPTUS GLOBULUS :

L'essence de l'*eucalyptus globulus* est un liquide très mobile, incolore ou dont la couleur peut aller jusqu'au jaune clair au verdâtre pâle, elle a une odeur agréable et rafraichissante de cinéol, une saveur épicée et réfrigérante. Dans l'essence brute, la présence d'aldéhydes (surtout l'aldéhyde valérianique) se manifeste désagréablement, en ce qu'elle provoque la toux .

Les essences bien purifiées ou rectifiées ne possèdent plus ce caractère fâcheux, ou un degré minime seulement .

MM. SCHIMMEL et C<sup>tes</sup> ont noté, pour les essences qui portent dans le commerce la désignation de *globulus*, portent les caractéristiques suivantes :

- Densité à 15° : 0,910 + 0,930 ;
- Déviation polarimétrique  $\alpha_D$  à droite, jusqu'à + 15° ;
- Indice de réfraction à 20° : 1,460 + 1,469 ;
- Solubles dans 2 à 3 volumes et plus d'alcool à 70° ;

Les essences brutes sont parfois un peu moins solubles,

MM. BACKER et SMITH notent, pour une essence brute :

- Densité à 15° : 0,913 ;
- $[\alpha]_D = + 9^{\circ},2$  ;
- Indice d'acide: 1,1 ;
- Indice d'ester: 1 ;
- Indice de réfraction : 1,470 à 16° ;
- Soluble dans 1,5 volume d'alcool à 70° ;

Plus l'essence est riche en *cinéol* (*eucalyptol*), plus sa densité sera forte et son pouvoir rotatoire faible. Les essences dont le titre en cinéol est très élevé se solidifient en une masse blanche et cristalline lorsqu'on les place dans un mélange réfrigérant formé de glace et de sel de cuisine. [2]. [13].

### I-3- BOTANIQUE-ÉCOLOGIE :

#### I-3-1 PRÉSENTATION DE L'EUCALYPTUS :

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

L'*eucalyptus* est un bel arbre ornemental originaire de l'AUSTRALIE méridionale et de la TASMANIE.

Il mesure en général une trentaine de mètres de hauteur (jusqu'à 100m en AUSTRALIE). Son tronc est lisse et cendré, ses feuilles persistantes polymorphes: ovales et opposées sur les jeunes rameaux; falciformes, coriaces et alternes sur les rameaux âgés. Les fleurs forment une boîte s'ouvrant par un couvercle. Le fruit est une capsule anguleuse.

L'*eucalyptus* est acclimaté en provence, en ESPAGNE, en ITALIE, en AMÉRIQUE du nord (MEXIQUE, FLORIDE, CALIFORNIE), en AMÉRIQUE du sud (BRÉSIL, CHILI). [4].

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

NOM	Constituant principal
<i>Eucalyptus australien</i>	70 à 75 % en cinéol
<i>Eucalyptus globulus</i>	70 à 80 % en cinéol
<i>Eucalyptus polybractea</i>	80 à 88 % en cinéol
<i>Eucalyptus dives</i>	70 à 75 % en cinéol
<i>Eucalyptus dumosa</i>	70 à 75 % en cinéol
<i>Eucalyptus smithii</i>	75 à 80 % en cinéol

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

La période favorable pour la distillation va du mois d'avril au mois de septembre.[5].

*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 8m avec un diamètre de 20 cm environ. A partir de 7 ans l'arbre s'élève à une hauteur d'environ 15m, 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.[5].

#### I-4- RÉCOLTE ET EXTRACTION DE L'HUILE :

On récolte les feuilles en été, on les sèche préalablement à l'ombre sous aération, ensuite on les soumet à un entraînement à la vapeur d'eau. L'extraction des huiles essentielles de produits naturels est un processus simple, mais souvent assez lent. Ces huiles sont sécrétées sous formes de gouttelettes minuscules dans le tissu interne d'une substance naturelle .

La méthode d'extraction la plus répandue aujourd'hui encore et la plus ancienne, est la distillation.[7],[6].

Fondamentalement, la distillation consiste à soumettre les fleurs, les feuilles et tout autre produit naturel à de la vapeur d'eau, puis à faire passer le mélange d'huile essentielle et de vapeur dans un condenseur serpentin refroidit à l'eau courante. La condensation donne deux phases que l'on sépare dans un récipient muni de deux tuyaux de sortie : L'huile essentielle sort par le tuyau supérieur du récipient tandis que l'eau tombe dans le tuyau inférieur .

Parmi les autres méthodes d'extraction des huiles essentielles, deux ont été longtemps utilisées dans le sud de la FRANCE et sont en voie de disparition. Il s'agit de l'enfleurage et de la macération, procédés qui demandent une forte main-d'oeuvre et par conséquent, ne sont plus rentables .

On fait appel à l'enfleurage pour les fleurs telles que le jasmin et la tubéreuse qui continuent à sécréter leurs huiles essentielles après avoir été cueillies. Pour absorber ces dernières, on utilise de la graisse froide; on recourt à la macération pour les fleurs qui cessent de sécréter des huiles essentielles après avoir été cueillies. Pour ce faire, on plonge ces fleurs dans de la graisse chaude qui pénètre dans leurs cellules et absorbe ainsi l'huile, en formant une pommade. Mais enfleurage et macération sont des procédés lents .

L'extraction par solvant appartient beaucoup plus au domaine de la parfumerie scientifique moderne et associée au processus de distillation; comme celle-ci, c'est un procédé très simple et très efficace.

Les plantes fraîches sont trempées dans un solvant liquide qui pénètre dans leurs tissus (celui qu'on emploie le plus souvent est l'éther de pétrole, qui s'évapore à basse température). Au cours de ce traitement, l'essence, les cires, les matières colorantes et les autres substances du parfum se dissolvent et toute la solution est alors pompée .

Pour obtenir l'évaporation du solvant volatil, on abaisse la pression atmosphérique presque au niveau du vide . L'huile essentielle, moins volatile, reste sous la forme d'une "concrète" (substance douce et cireuse, contenant l'essence florale mélangée à la cire naturelle). Une fois que l'on a séparé la cire, il ne reste qu'une forme extrêmement concentrée du parfum naturel.[6].

#### I-5- PROPRIETES PHYSIQUES :

L'examen pour cette classe d'essence, se borne essentiellement à la détermination des constantes physiques. Etant donné que pour les huiles essentielles les plus usitées, des observations multiples et établies de longue date, ont fixé des chiffres limites pour leur densité, leur déviation polarimétrique, leur solubilité etc...

L'expert est aujourd'hui mis en garde contre la fraude, lorsqu'il trouve des nombres s'écartant de ceux qui ont été ainsi indiqués .

Du reste les propriétés physiques sont particulièrement en mesure de déceler l'addition des produits étrangers, c'est pourquoi, on devrait toujours débiter par la fixation de ces propriétés, que l'examen des essences soit fait dans un but scientifique ou dans un but pratique.[2].

### I-5-1- DENSITÉ :

C'est le rapport d 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,

$$d'_4 = \frac{\text{poids d'un volume de produit à T}}{\text{poids d'un même volume d'eau à 4°C}}$$

### I-5-2- POUVOIR ROTATOIRE : (9)

Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle, exprimée en milliradian et degré d'angle, est l'angle dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde (583,3±0,3)nm correspondant aux raies D, quand celle-ci traverse une épaisseur de 100mm de l'huile essentielle dans les conditions bien déterminées de température. Si le mesurage est effectué sur une épaisseur différente cette valeur  $\alpha^{\text{D}}$  doit être ramenée, par le calcul à une épaisseur de 100mm .

$$\alpha^{\text{D}} = \frac{A}{l}$$

dans laquelle:

A: est l'angle de rotation, exprimée en degrés.

l: est l'épaisseur d'huile essentielle,

exprimée en décimètres .

### **I-5-3- INDICE DE RÉFRACTION : [9]**

L'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 bien déterminé, passant de l'air dans l'huile essentielle .

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 .

L'indice de réfraction,  $n_D^t$ , à la température de référence  $t$  est donné par la formule :

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0,0004 \cdot (t' - t)$$

où  $n_D^{t'}$  est la valeur de lecture obtenue à la température  $t'$  à laquelle a été effectuée la détermination .

### **I-5-4- 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  $V$  volumes de cet éthanol est limpide et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre, jusqu'à un total de 20 volumes .

## I-6- PROPRIÉTÉ CHIMIQUE :

C'est une analyse chimique caractérise les constituants et surtout ceux qui ont le plus de valeur, nous citerons à titre d'exemple :

### \* INDICE D'ACIDE :

C'est le nombre de milligrammes de potasse (KOH) nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans un gramme de substance .

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

$$I_a = 5,6 \cdot \frac{V}{m}$$

où : m est la masse d'huile essentielle .

V est le volume de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée pour le titrage .

## I-7- COMPOSITION CHIMIQUE :

### I-7-1- COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE :

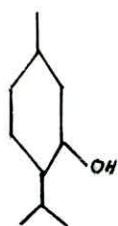
On sait depuis l'antiquité que les constituants odorants des plantes peuvent être concentrés sous forme "d'huile essentielle". L'étude chimique des composants des huiles essentielles au XIX<sup>ème</sup> siècle a permis de découvrir un certain nombre d'hydrocarbures isomères de formule  $C_{10}H_{16}$ , et qui furent appelés terpènes, leur formule développée pouvait être retrouvée en accordant deux molécules d'isoprène  $C_5H_8$  à la suite l'une de l'autre .

On découvrait aussi des terpènes oxygénés et notamment des alcools et des 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 a pour base une "unité terpénique" en  $C_{10}$ .

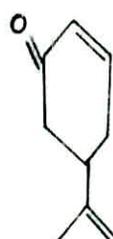
- 1 Les monoterpènes  $C_{10}H_{16}$ .
- 3 Les diterpènes  $C_{20}H_{32}$ .
- 2 Les sesquiterpènes  $C_{15}H_{24}$ .
- 4 Les polyterpènes  $(C_{10}H_{16})_n$ .

Parmi ces terpènes oxygénés, nous citerons également les terpènes mono-oxygénés comprenant par exemple: le menthol, le camphre, la carvone principal constituant aromatique des grains de carvi et le cinéol-1,8, constituant majeur d'essences d'eucalyptus



menthol

(essence de menthe)



carvone

(essence de carvi)



camphre

(essence de camphre)

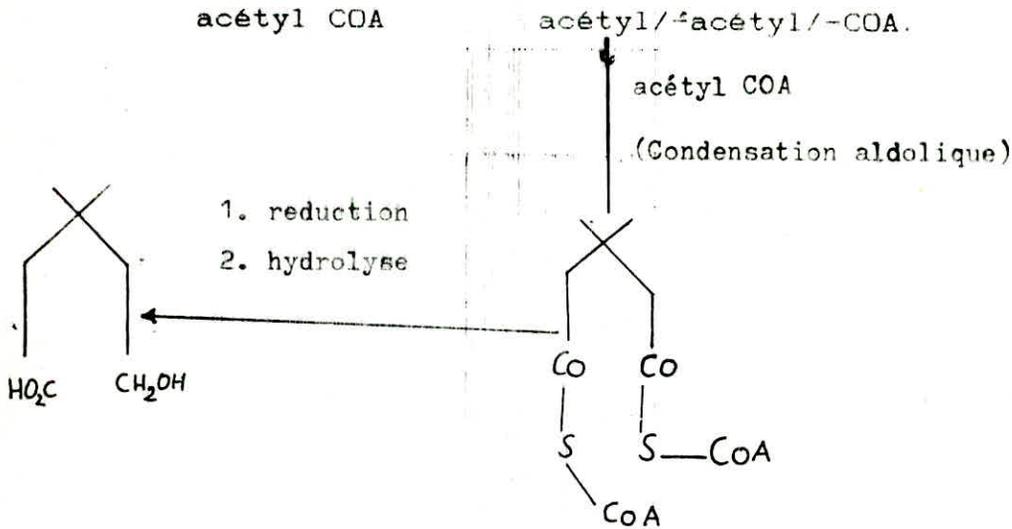
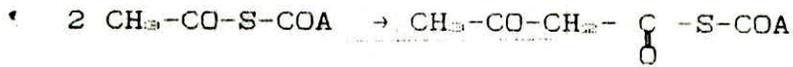


1,8-Cinéol

(essence d'eucalyptus)

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 mévalonique, connu que depuis 1936. [11].

L'acide mévalonique se forme à partir de l'acétyl-CoA. (acétate activée) selon le processus général suivant :



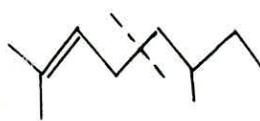
Dans la biosynthèse des terpènes, l'acide mévalonique est activé enzymatiquement par phosphorylation. Une élimination avec décarboxylation donne ensuite le pyrophosphate d'isopenten-3-yle.

### = 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 divers essences, nous citerons entre autres :



Linalol  
(essence de la vande)



Citronellol  
(essence de Cétronnelle)



Myrcène  
(essence de laurier)

- Les alcools proviennent soit des terpènes de formule  $C_{10}H_{18}$ , soit des sesquiterpènes de formule  $C_{15}H_{24}$ .
- Les cétons par contre proviennent des alcools secondaires.
- On trouve enfin des acides et des oxydes [10].

### I-7-2 COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE D'EUCALYPTUS GLOBULUS

La première analyse de l'huile d'*eucalyptus* a été entreprise en 1870 par CLOEZ. Il en retira par distillation fractionnée un corps bouillant à  $175^{\circ}$ , qu'il nomma *eucalyptol* [5].

La faible densité (0,905) ainsi que l'activité optique de cette fraction montrent qu'elle n'était pas pure, c'est pourquoi l'analyse élémentaire de CLOEZ le conduisit à la formule inexacte  $C_{12}H_{22}O$ .

La composition exacte de l'*eucalyptol*, soit  $C_{10}H_{18}O$  a été reconue par M.E JAHNS, la méthode consiste à diriger dans l'essence un courant de gaz chlorhydrique pour en isoler le cinéol à l'état pur.

L'hydrocarbure accompagnant le cinéol, désigné jadis par le terme d'*eucalyptène*, n'est autre que du  $\alpha$ -pinène. MM. O WALLACH & E GILDMEISTER dans la fraction distillant à  $165^{\circ}$  isolèrent le  $\alpha$ -pinène dans la fraction de point d'ébullition  $156^{\circ}$ . MM BOUCHARDAT et TARDY concrétisèrent, le terpinéol, l'isobornéol, et l'alcool fenelyque.

Ils ont toute fois aisément démontré la présence du camphène dans les fractions bouillants vers  $155^{\circ}$  [12].

L'odeur secondaire désagréable et piquante de l'huile d'eucalyptus brute, qui provoque la toux, est due à plusieurs aldéhydes surtout aux aldéhydes valérianique et butylique. Outre ces corps, on trouve dans la première fraction de distillation de l'huile, selon MM. BOUCHARDAI et OLIVIERO, de l'alcool éthylique et de l'alcool amylique bouillant à 131° .

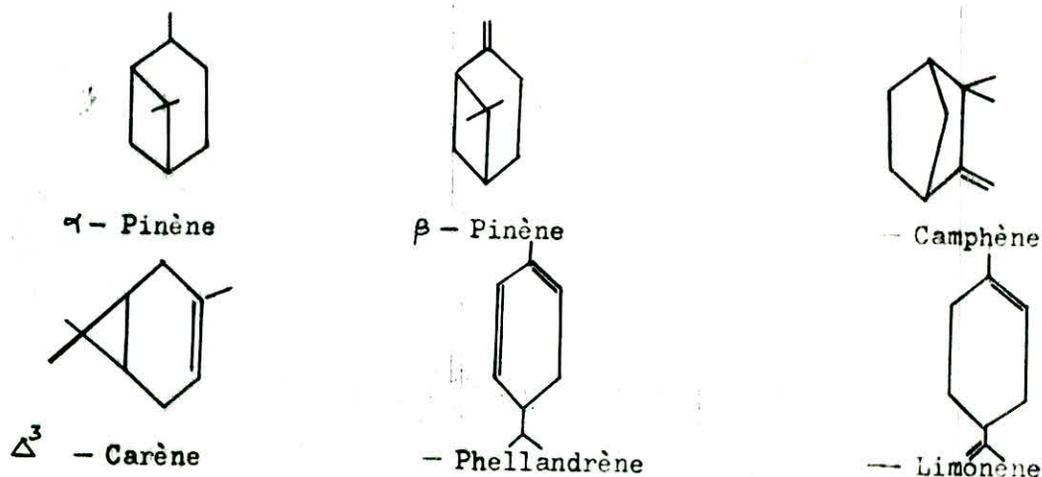
Dans la fraction de queue, MM SCHIMMEL & C<sup>ie</sup> ont identifié le *globulol* ainsi que la présence d'alcools sesquiterpéniques  $C_{15}H_{26}O$ .

Ce dernier provoque la coloration rouge qui apparaît lorsqu'on traite l'huile par l'acide phosphorique [2] .

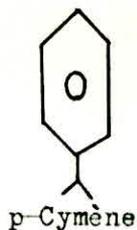
Ces quelques considérations sur la nature des constituants des huiles essentielles montrent que malgré leur similitude de structure, ils forment une famille de composés très variés, aux propriétés disparates .

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 .

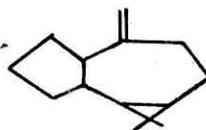
Quelques formules des constituants :



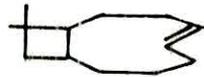
Aromatiques



Sesquiterpènes



Aromadendrène

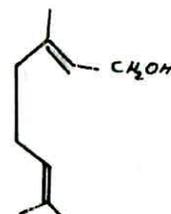


Caryophyllène

Alcools: Aliphatiques



Linalol



Céraniol

Terpènes cycliques

$\alpha$ -Terpinéol

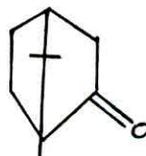


Sesquiterpène



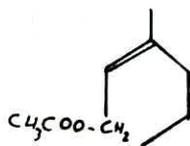
Globulol

Cétones: Terpènes Bicycliques



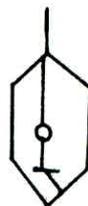
Camphre

Esters: Terpènes



Acétate de Géranyl

Oxydes



Cinéol

## I- 8- INTERETS ET UTILISATIONS :

L'eucalyptus est un excellent antiseptique, notamment des voies respiratoires en usages interne et externe . Il doit son activité à la présence d'une essence riche en eucalyptol .

L'essence est aussi vermifuge par la présence de carvone [14]

L'huile d'*eucalyptus* et l'*eucalyptol* sont très fréquemment employés en médecine aux Etats-Unis et dans la plupart des pays européens de même que plusieurs dizaines de spécialités doivent leur activité à ces composants .

La médecine vétérinaire fait, elle aussi fréquemment appel à la drogue, signalons que les feuilles de l'*eucalyptus* officinal sont hypoglycémiantes et qu'elle contiennent une substance , vraisemblablement un tanin , possédant une action détoxifiante vis-à-vis des toxines diphtériques et tétaniques se montrant antimicrobienne sur les bactéries Gram + [15] .

Les pharmacopées française et britannique donnent pour l'essence officinal les caractéristiques suivantes :

	Pharmacopée française	Pharmacopée britannique
Densité à +15°	0,910 ÷ 0,930	0,920 ÷ 0,930
Déviations polarimétriques à 20°	-0° ÷ 15°	-10° ÷ 10°
Solubilité dans l'alcool à 70°	/	5 volumes
Solubilité limpide alcool à 75°	2 volumes	/
Teneur en cinéole	80%	≥ 55%

L'influence favorable de sa culture sur la sante des populations qui habitent les régions ou règne la malaria est probablement due plus au dessèchement des marais qui en résulte, qu'aux émanations balsamiques produits par l'essence des feuilles de cette arbre .

## II- ETUDE CARACTERISTIQUE DU CINEOL :

### II-1 DEFINITION :

Le cineole est presque le seul oxyde que l'on rencontre dans les huiles essentielles. Le cinéol (eucalyptol) est très répandu dans la nature [2] .

L'essence d'eucalyptus Labillardière doit en renfermer 80% (codex 1973 ). C'est un liquide mobile, incolore, d'odeur rappelant à la fois la menthe et camphre, de densité 0,923 à 0,926, bouillant à 176°; fortement refroidi, il se solidifie en masse cristalline fusible à +1°. Insoluble dans l'eau, il se dissout en toutes proportions dans l'alcool absolu, l'éther, le chloroforme le sulfure, le carbone, l'acide acétique .

Sa solution alcoolique est neutre aux réactifs colorés et il est inactif à la lumière polarisée  $\pm 0^\circ$  .

### II-2 HISTORIQUE

EN 1870 Cloëz détermina par distillation fractionnée un liquide bouillant à 175°, qu'il nomma eucalyptol. La faible densité ainsi que l'activité optique le conduisèrent à la formule inexacte d'eucalyptol  $C_{10}H_{18}O$  .

Quelques années plus tard, soit en 1874, M.E.Jahns, démontra l'identité de ce corps en le rectifiant par distillation, en dirigeant dans l'essence un courant de gaz chlorhydrique pour en isoler le cineole la composition exacte du cinéole (eucalyptol) est  $C_{10}H_{18}O$  .

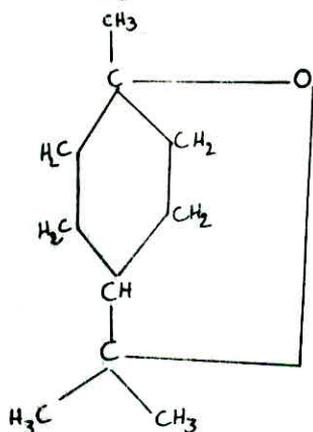
## II-3 CLASSIFICATION CHIMIQUE ET STRUCTURE

Les oxydes comptent de très rares représentants parmi les constituants des huiles essentielles ; ceux qui appartiennent à la série *aliphatiques* n'y ont même jamais été décelés. On connaît par contre, quelques oxydes préparés par voie de synthèse, et notamment le pinol  $C_{10}H_{18}O$ , qui possède d'étroits rapports avec le pinène .

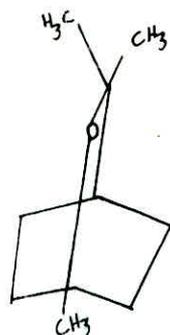
Un autre oxyde qui a été préparé artificiellement est le 1,4 cineol. Il constitue un liquide bouillant de  $172^{\circ}$  à  $173^{\circ}$  qui, au contraire du cineol ordinaire, ne se solidifie pas sous l'action du froid. De densité  $d=0,987$ , et son indice de réfraction  $=1,4485$ .

Par contre le cineol est le seul éther-oxyde terpénique que l'on trouve dans les huiles essentielles, et qui représente le constituant principal de formule  $C_{15}H_{26}O$ .

Sa structure est donnée par :



Sa configuration absolue est connue, la représentation en perspective est :



CINEOL 1.8

[11]

#### LI-4 REACTION DU CINEOL VIS A VIS D'AUTRE PRODUITS :

Le cinéol prend naissance par ébullition du *terpénéol* ou de l'*hydrat de terpine* avec les acides dilués. Il fournit des produits d'addition facilement décomposables avec le brome, l'iode, les acides chlorhydrique et bromhydrique gazeux, l'acide phosphorique, l'acide arsenieux et la résorcine .

Le cinéol donne avec les agents déshydratants du *dipentène* ou, dans certaines autres conditions appropriées, directement des dérivées de terpène.

En oxydant à chaud le cinéol par une solution de permanganate de potassium, il se forme un acide bibasique, l'acide *cinéolique*  $C_{10}H_{16}O_5$ , fusible de  $196^{\circ}$  à  $197^{\circ}$  . [2] [5]

Le cinéol est très stable vis à vis des agents réducteurs M. MOLLE a constaté que seul l'acide iodhydrique est susceptible de provoquer la réduction. En chauffant ces deux corps à  $220^{\circ}$  ou  $225^{\circ}$  pendant une heure en tubes scellées et en présence de mercure métallique comme fixateur de l'iode, il obtint un hydrocarbure  $C_{10}H_{16}$  qu'il appela *cinéolène*, son point d'ébullition est  $165^{\circ}$  à  $170^{\circ}$ , en même temps qu'un hydrocarbure polymère  $(C_{10}H_{16})_n$  .

### III-2 TECHNIQUES UTILISEES POUR LA RECUPERATION DU

#### CINÉOL

##### III-2-1 EXTRACTION PAR SOLVANT :

Généralement, on met en contact intime la solution d'alimentation contenant les constituants à séparer (solutés) avec un autre liquide appelé solvant qui extrait préférentiellement un ou plusieurs des solutés .

Le solvant qui contient alors le ou les solutés est désigné sous le terme d'extrait, la solution d'alimentation ayant perdu la majeure partie de ces mêmes constituants est appelée raffinat .

En pratique, l'utilisation d'un procédé liquide requiert deux opérations successives :

- La mise en contact intime des deux liquides durant un temps suffisant à l'obtention de l'équilibre pendant lequel le ou les solutés sont transférés de la phase d'alimentation dans le solvant à l'équilibre .

- Le rapport des concentrations du soluté dans l'extrait et le raffinat, appelé coefficient de distribution, donne une mesure de l'affinité relative du soluté pour les deux phases. [18].

##### III-2-2 CHOIX DU SOLVANT :

Le solvant doit être sélectif, posséder une grande capacité de dissolution, un point d'ébullition peu élevé, une faible viscosité, être ininflammable et non explosif .

Un bon solvant, sélectif et volatil, fournit des solutions riches en soluté désiré, n'exigeant que des frais d'évaporation réduite .

Le choix d'un solvant de basse viscosité et de faible densité est à recommander en vue de faciliter la diffusion du solvant, l'agitation et la séparation mécanique .

Les principaux solvants utilisés sont l'eau, les alcools, l'acétone, les hydrocarbures (essence, benzène) et les solvants halogénés ( $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CHCl}_3$  etc ...).

### III-3 TEMPERATURE DU MILIEU

L'élévation de la température a une influence favorable, car elle accroît souvent la solubilité et la facilité de diffusion du soluté et diminue la viscosité du liquide. Toutefois, des températures trop hautes sont à éviter car, dans ces conditions, il peut y avoir détérioration des substances extraites .

### III-4 = DECANTATION STATIQUE : [19]

On appelle décantation le déplacement, dans un milieu fluide (liquide ou gazeux), de particules solides ou de gouttes de liquide (non miscible) sous l'action d'un champ d'accélération gravitaire .

La décantation, en quelque sorte est la séparation de la totalité (ou quasi-totalité), des solides d'une suspension en milieu liquide .

### III-5 DECANTATION CENTRIFUGE : [20]

Dans la décantation centrifuge, la séparation des phases est due à la différence de densités des constituants soumis au champ centrifuge .

La décantation centrifuge obéit à des lois analogues à celles de la décantation statique, appelée aussi décantation gravitaire. Cependant, le champ de la pesanteur est remplacé par un champ de forces beaucoup plus intenses, ce qui permet de réduire la durée de séparation .

La décantation centrifuge sera ainsi avantageusement préférée à la décantation statique :

- Lorsqu'on souhaite arrêter ou limiter une transformation physico-chimique ou biologique dans l'une ou plusieurs des phases en présence .
- Lorsque la séparation implique le respect de conditions de températures ou de pressions très strictes, ou lorsque les produits traités possèdent un coût élevé .

En revanche, on s'orientera vers la décantation statique lorsqu'il s'agira de traiter des débits importants de liquides contenant de faibles quantités de solides à vitesses de sédimentation élevée. Mais les deux techniques peuvent aussi être complémentaires : on pourra par exemple effectuer une première séparation par décantation gravitaire et traiter par centrifugation la phase épaisse .

### III-8- DISTILLATION ATMOSPHERIQUE :

Exploitant les différences de volatilité des constituants d'un mélange, la distillation permet la séparation ou, comme l'on dit généralement, le fractionnement de ces constituants en fonction de leur température d'ébullition. [8] .

La distillation est la séparation physique de divers constituants d'un mélange liquide. La phase vapeur est produite par évaporation en fournissant de la chaleur au système .

L'opération se fait dans un appareil (voir schéma 2 ) dans lequel la charge, placée dans le bouilleur, est portée à l'ébullition; la vapeur qui en résulte se condense dans un condenseur et constitue le distillat. La phase liquide recueillie au fond du ballon constitue le résidu. [21] .

### III-2-7 DISTILLATION SOUS VIDE :

La distillation sous vide est réservée au fractionnement de produits d'hydrocarbures dont les températures d'ébullitions normales seraient supérieures au seuil de craquage.[8].

Un liquide bout lorsque sa pression de vapeur saturante est égale à la pression imposée, la température d'ébullition peut être abaissée par réduction de la pression imposée. C'est ainsi que sous une pression de 25 mm Hg, l'abaissement du point d'ébullition de la plupart des liquide est de l'ordre de 100 à 125°C .

Bien que la technique soit plus compliquée que celle appliquée sous la pression atmosphérique, une distillation sous pression réduite présente plusieurs avantages :

- Possibilité de distiller des composés dont le point d'ébullition à la pression normale est élevée, pour lesquels l'apport calorifique, à l'aide des moyens habituels, serait insuffisant sous la pression atmosphérique.
- Distillation de compés qui seraient instables à la pression atmosphérique, soit parcequ'ils se dégradent thermiquement, soit parcequ'ils s'oxydent à l'air .
- Dans la plupart des cas, amélioration de la séparation .

En pratique, les composés dont le point d'ébullition normale est supérieur à une température de l'ordre de 150°C, sont généralement distillés sous pression réduite. [21].

### III-2-8 DISTILLATION FRACTIONNÉE :

L'essence à examiner est soumise au fractionnement et les portions recueillies de 2 en 2 degrés, sont placées dans un mélange réfrigérant de -15° à -18°C.

On essaie ensuite de les solidifier, soit par agitation, soit par introduction d'un cristal de cinéole. Après une heure de réfrigération la portion restée liquide est enlevée au moyen d'une pipette bien effilée .

On obtient ainsi une masse cristalline sèche, dont on peut encore enlever les dernières traces de liquide en agitant bien les cristaux à plusieurs reprises. Les portions cinéoliques sont enfin réunies et pesées.

Comme une certaine quantité de cinéole reste en dissolution dans la portion terpénique, il est impossible de la séparer intégralement par ce procédé. Aussi, ce dernier n'est-il applicable que dans le cas où il s'agit de trouver parmi plusieurs essences, celle qui est la plus riche en cinéol .

#### IV- TECHNIQUES DE DOSAGES DE CINEOL :

Outre la distillation fractionnée, on a préconisé pour la détermination quantitative du cinéole différentes méthodes, qui toutes sont basées sur la propriété que possède cette oxyde de fournir avec certains composés de produits d'addition.

Nous allons décrire ci-dessous ces différents procédés.

##### IV-1- METHODE A L'ACIDE BROMHYDRIQUE :

Cette méthode consiste à faire passer un courant d'acide bromhydrique gazeux rigoureusement sec, dans un mélange composé de 10 cm<sup>3</sup> d'essence et 40 cm<sup>3</sup> d'ether de pétrole léger (P.E de 35° à 40°C), placé dans un mélange réfrigérant.

L'opération est prolongée jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de précipités. Le bromhydrate de cinéol formé ( $C_{10}H_{18}OHBr$ ) est aussitôt essoré à la trompe et lavé à l'éther de pétrole froid.

On dirige à nouveau le courant de gaz bromhydrique dans le liquide ainsi séparé et au cas où il se forme encore un peu de précipité, on le rajoute à la portion principale.

Dans le but d'éliminer l'ether de pétrole, on maintient alors le bromhydrate du cinéol pendant un quart d'heure sous une cloche où l'on fait le vide, et on le fait ensuite passer, en s'aidant d'un jet d'alcool, dans un petit ballon à aldéhydes, où on le décompose par l'eau.

Le cinéole mis en liberté est amené, par une nouvelle addition d'eau, dans l'intervalle des graduations du cinéol, on l'évalue facilement son volume .

#### **IV-2 METHODE A L'ACIDE PHOSPHORIQUE :**

(prescrite par la nouvelle pharmacopée américaine)

On dissout 10 cm<sup>3</sup> d'essence dans 50 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole et on ajoute peu à peu en remuant, à la solution fortement refroidie par un mélange réfrigérant, de l'acide phosphorique concentré jusqu'à ce que la combinaison blanche ( $C_{10}H_{16}O.H_3PO_4$ ) qui se dépose, prend une teinte jaunâtre ou rougeâtre. On essore alors à la pompe à air la masse cristalline que l'on lave avec de l'éther de pétrole et on élimine les dernières particules de liquide par compression entre des plaques d'argile. Enfin, on décompose par l'eau, on détermine la volume du cinéole ainsi mis en liberté.

Les deux méthodes déjà décrites, offrent le même inconvénient c'est à dire que les produits d'addition que les acides bromhydrique et phosphorique forment avec le cinéole se décomposent très aisément, ce qui rend difficile leur séparation quantitative. Il en résulte, ainsi que MM. SHIMMEL et C<sup>ie</sup> l'ont montré en se basant sur une série d'essais effectués sur des mélanges dont la teneur en *eucalyptol* était connue, que les résultats fournis par ces deux méthodes sont peu sûrs, et s'écartent même parfois très notablement de la réalité. Quoi qu'il en soit, on pourra parfois appliquer avec avantage la méthode à l'acide bromhydrique lorsqu'il s'agira de doser de petites quantités de cinéole, car dans ce cas spécial aucune des autres méthodes ne conduit à des résultats satisfaisants .

#### IV-3 METHODE A LA RESORCINE [2]

Un nouveau mode de dosage a été découvert par MM SCHIMMEL et Cie, basé sur le fait que le cinéole fournit avec la résorcine un produit d'addition soluble dans un excès de solution concentrée de résorcine .

Le dosage s'exécute de la façon suivante :

On introduit exactement 10 cm<sup>3</sup> de l'essence à examiner, dans un petit ballon à aldéhydes de 100 cm<sup>3</sup> de capacité et on ajoute une solution de résorcine à 50% en quantité suffisante pour remplir le ballon aux 4/5 à peu près. On agite vigoureusement le mélange pendant 5 mn et on ajoute à nouveau de la solution de résorcine jusqu'à ce que l'essence non entrée en réaction soit amenée dans le col du ballon. En imprimant à celui-ci un nouveau mouvement de rotation lent tout en donnant de place en place des légers coups, on arrive à détacher les gouttelettes huileuses qui auraient pu rester adhérentes aux parois et à leur faire gagner la surface .

Lorsque la solution de résorcine sera complètement clarifiée, ce qui exige en général plusieurs heures, on lit le volume de la couche huileuse. En déduisant celui-ci de 10, on a la quantité de cinéol contenue dans 10 cm<sup>3</sup> d'essence et en multipliant ce chiffre par 10, on obtient enfin, en centièmes de volume, la teneur en cinéol de l'essence . Il sera bon de diluer d'abord les essences très riches en cinéol avec un volume égal d'essence de *térébenthine*, car sans cette précaution, il pourrait arriver que le cinéol résorcine cristallise et provoque la solidification de tout le liquide, rendant ainsi le dosage impossible .

La méthode, telle qu'elle vient d'être décrite, n'est applicable qu'aux essences ne contenant pas de composés oxygénés autre que le cinéol (alcools, aldéhydes), du moins en quantité importante; la résorcine, en effet, dissout également ces composés et l'on obtient alors des résultats trop élevés .

Dans tous les autres cas, on effectuera la détermination, non pas sur l'essence primitive, mais sur la fraction renfermant le cinéol .

A cet effet, on distille 100 cm<sup>3</sup> d'essence dans un ballon de Ladenburg à trois boules en conduisant l'opération de telle sorte qu'il passe environ une goutte par seconde .

On recueille à part la fraction distillant en 170° et 190°, qui renferme la totalité du cinéol, et on détermine le volume on dose ensuite le cinéol contenu dans cette fraction, en opérant sur 10 cm<sup>3</sup>, et on calcule enfin la teneur en cinéol de l'essence primitive. MM. Wegend & Lehmann ont montré, en appliquant cette méthode à des mélanges dont la teneur en cinéol était connue, que les erreurs atteignent au maximum 2% .

Lorsqu'on ne dispose que d'une faible quantité d'essence, on peut modifier le dosage en ce sens que le cinéol est séparé à l'état de combinaison résorcine solide, laquelle est ensuite décomposée. On peut obtenir de cette manière des résultats acceptables quoique moins certains que ceux fournis par la méthode du fractionnement décrite dans ce qui précède.

En tout cas ce procédé par isolement devra être préféré à la méthode à l'acide phosphorique, car le produit d'addition cinéol-résorcine est bien plus stable que celui fourni par l'acide phosphorique .

On mélange 10 cm<sup>3</sup> d'essence avec 20 cm<sup>3</sup> de solution de résorcine à 50% puis on triture la masse cristalline obtenue -quelque fois seulement après addition d'un fragment du cinéol-résorcine solide- jusqu'à ce qu'elle forme une bouillie homogène. On essore alors fortement et on presse entre des doubles à filtrer, pour éliminer les dernières traces d'essence .

On place ensuite le gâteau ainsi obtenu dans un vase de Bohême et on le décompose par une lessive alcaline en chauffant avec précaution; le liquide est enfin versé intégralement dans un petit ballon à aldéhydes .

Pour se transvaser on fait usage d'un petit entonnoir à douille longue, arrivant jusqu'au fond du ballon .

On remplit d'eau, pour amener la partie surnageante dans l'intervalle de la graduation du col, on lit, le volume du cinéol qui s'est séparé et on le multiplie par 10, ce qui donne sa proportion en centième de volume .

La résorcine ayant servi au dosage peut être régénérée . On sépare dans ce but la portion d'essence non entrée en réaction, puis on soumet le liquide aqueux à l'action entraînée d'un courant de vapeur d'eau .

Le cinéol distille, la solution de résorcine est évaporée et la résorcine qu'elle laisse comme résidu pourra servir à de nouvelles déterminations. [2].

## V- TECHNIQUES D'ANALYSE :

### V-1 CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE :

#### V-1-1- DEFINITION ET APPAREILLAGE :

La chromatographie sur couche mince repose principalement sur des phénomènes d'adsorption, la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon était déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant .

L'adsorbant le plus employé est le gel de silice, environ 85% de tout les travaux réalisés en chromatographie sur couche mince l'ont été sur gel de silice. On utilise également l'alumine, cellulose et KIESELGHUR. Les adsorbants sont employés respectivement pour séparer les substances ayant un caractère basique et les substances très polaires comme les acides aminés et les sucres .[21].

#### V-1-2- PRINCIPE DE LA TECHNIQUE :

Lorsque la plaque, sur laquelle on a déposé l'échantillon, est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant.

Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la phase stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile .

Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption .

Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires .

#### V-1-3- CHOIX DE L'ÉLUANT :

L'éluant est formé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvant .

Les critères généraux peuvent servir de guide :

- Un éluant qui entraîne tous les composants de l'échantillon est trop polaire, celui qui empêche leur migration ne l'est pas suffisamment ;
- Le *trichlorométhane (chloroforme)* et le *benzène* sont des solvants de polarité intermédiaire et sont fréquemment employés pour l'analyse d'une grande variété de groupement fonctionnels .
- Pour l'analyse d'hydrocarbure, l'*hexane*, l'*ether de pétrole* ou de *benzène* constituent un bon choix d'éluants .

- L'hexane ou l'ether de pétrole mélangée en proportions variables avec du benzène ou de l'ether ethylique, forment un éluant de polarité moyenne utilisé pour l'analyse des groupements fonctionnels simples .

- Avec des composés polaires, on utilise un éluant comme l'éthanoate d'éthyle, le propanone (acétone) ou le méthanol .

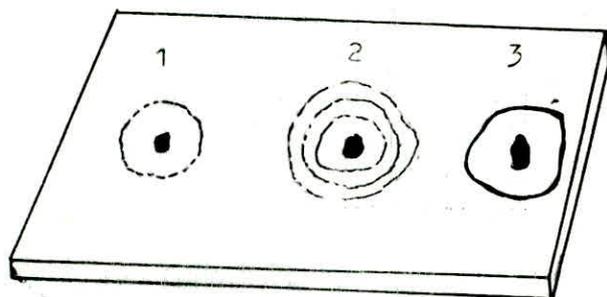
A titre indicatif, le tableau suivant présente quelques systèmes de solvants employés en chromatographie sur couche mince.

SUBSTANCES ANALYSEES	SOLVANT
cétones aliphatiques (Plus de 8 carbones)	Toluène- éther diéthylique proportion 4/1
Aldéhydes et cétones aromatiques	Hexane- ethanoate d'éthyle (4/1)
Acides carboxyliques	Benzène méthanol, - acide éthanoïque (45/8/8)
Alcools aliphatiques (plus de 8 carbones)	Ether de pétrole-éther diéthylique- acide éthanoïque (90/10/1)
Amines	éthanol (95%)-NH <sub>3</sub> (25%) (4/1)
Sucres	Propanol-1-NH <sub>3</sub> conc-eau (6/2/1)

NOTE : L'adsorbant est le gel de silice; les chiffres entre parenthèses indiquent la proportion en volume des divers solvants .

Une méthode simple pour trouver l'éluant approprié consiste à déposer une solution des substances à analyser en plusieurs points séparés d'environ 2 cm. Après séchage, on applique au centre de chaque point une micro-pipette remplie de solvant, après diffusion, l'éluant qui convient sépare les solutés .

Cette méthode peut être illustrée par le schéma suivant :



1. Tétrachlorométhane
2. Benzène (le meilleur éluant)
3. Dichlorométhane

- choix de l'éluant en chromatographie sur couche mince

## V-2 ANALYSE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

(C.P.G.)

### V-2-1 DEFINITION :

C'est une méthode analytique très pratique, les séparations exigeant des quantités de l'ordre du milligramme seulement, parfois même du microgramme. En outre, la technique permet la séparation des mélanges très complexes et l'analyse quantitative des résultats est aisée .

C'est une technique dont les développements sont remarquables; la mise au point progressive de détecteurs variés (détecteurs à capture d'électrons, à photométrie de flamme, etc...) de colonnes plus performantes (le capillaire) de dispositifs permettant la programmation de température et d'intégrateurs .

La chromatographie en phase gazeuse a fournie les meilleurs résultats pour la connaissance des arômes et des huiles

essentielles dans le sens le plus large avec la chromatographie sur couche mince, elle constitue une technique usuelle employée dans les laboratoires de recherche, industriels et universitaires.

### **V-2-2 PRINCIPES DE LA TECHNIQUE (21)**

En chromatographie en phase gazeuse, la phase mobile est un gaz, appelé gaz recteur ou gaz porteur, généralement de l'azote ou de l'hélium et parfois de l'hydrogène. Ce fluide traverse une colonne renfermant des granules poreux, imprégnés d'un liquide très peu volatil qui constitue la phase stationnaire, il s'agit dans ce cas d'une chromatographie gaz-liquide (il existe également la chromatographie gaz-solide, dans laquelle le matériau de remplissage est un adsorbant constitué uniquement d'un granulé poreux). Lorsque l'échantillon à analyser est injecté dans la colonne, il est vaporisé puis ses constituants sont entraînés à des vitesses inégales par le gaz recteur.

A la sortie de la colonne, se trouve un détecteur relié à un enregistreur; lorsqu'un constituant du mélange le traverse, un pic apparaît sur l'enregistreur.

### **V-2-3 CHOIX DES CONDITIONS OPERATOIRES :**

Pour l'étude des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse se pose le problème des conditions opératoires les plus appropriées.

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 qu'il dépend du mélange à analyser. Pour faire (par exemple) l'analyse chromatographique de substances polaires, on utilise habituellement une phase polaire car ces substances y sont solubles, donc fortement retenues; dans ce cas, l'ordre de sortie des composés d'une série homologue est l'ordre croissant de leur point d'ébullition. Si des substances peu polaires se trouvent dans le mélange analysé, elles sont peu retenues par la phase stationnaire polaire, car elles y sont peu solubles: elles apparaissent donc avant les substances polaires ayant le même point d'ébullition, sur une phase non polaire l'inverse se produit.

Les tableaux suivants donnent un exemple du rapport entre l'ordre d'éluion de substances et la nature des phases employées pour les séparer.

Tableau N°1 :

ordre d'éluion des composants d'un mélange sur une phase polaire

Substance	Propanol-1	Butanol-1	Pentanol-1	Heptane-1
P.E en °C	97	117	137	98
ordre de sortie	2	3	4	1

Tableau N°2 :

ordre d'éluion des composants d'un mélange sur une phase non polaire

Substance	Heptane	Octane	Nonane	Propanol
P.E en °C	98	126	151	97
ordre de sortie	2	3	4	1

**PARTIE  
EXPERIMENTALE**

L'huile essentielle utilisée dans les différentes expériences provient de l'entreprise nationale des fruits et légumes algériens (E.N.A.F.L.A).

Cette huile essentielle, en l'occurrence l'huile d'eucalyptus globulus, a été extraite à partir de la matière végétale (eucalyptus globulus) par entraînement à la vapeur d'eau.

Les constituants de l'huile sont entraînés par la vapeur d'eau, puis sont condensés et récupérés sous forme de condensat (mélange d'eau et d'huile essentielle) dans un récipient placé à la sortie du condenseur.

L'huile, surnageante, est séparée par simple décantation, dans une ampoule à décanter.

L'évaluation des caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle, telles que la densité, l'indice de réfraction la teneur en cinéol, le pouvoir rotatoire, la solubilité et l'indice d'acide, est nécessaire.

Elle permettra de comparer notre huile avec les différentes huiles essentielles d'eucalyptus globulus de divers pays.

**I-DETERMINATION DES CONSTANTES**  
**PHYSICO-CHIMIQUES**

**I-1 DENSITE :**

La densité à 20°C d'une huile essentielle est donnée par la formule suivante :

$$d_{4}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

La mesure de cette constante physique a été déterminée à l'aide d'un micropycnomètre de capacité 1 ml à 20°C

Où  $m_0$  est la masse en gramme du pycnomètre vide;

$m_1$  est la masse en gramme du pycnomètre rempli d'eau distillée

$m_2$  est la masse en gramme du pycnomètre rempli d'échantillon.

La mesure des différentes masses a été effectuée à la température de 22°C, donc la valeur de la densité trouvée est ensuite corrigée à l'aide de la formule suivante :

$$d_{4}^{20} = d_{4}^t \pm 0,0006(t-20) \quad [8].$$

Les différents résultats sont regroupés dans le Tableau -1-

$m_0$ (g)	$m_1$ (g)	$m_2$ (g)	Densité mesurée	Densité corrigée
3,1514	4,1389	4,0569	0,9169	0,9181

## **I-2 INDICE DE REFRACTION :**

La détermination de l'indice de réfraction est effectuée à l'aide d'un réfractomètre muni d'un bain thermostaté dans le but de maintenir la température constante et égale à 20°C.

La valeur de l'indice de réfraction est :

$$n_D^{20} = 1,4640.$$

## **I-3 LA TENEUR EN CINEOL :**

Nous déterminons la teneur en cinéol au moyen du chromatogramme (Chr-1) de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus. Pour cela nous avons fait appel à la chromatographie en phase gazeuse .

### **I-3-1 ANALYSE PAR C.P.G :**

D'une manière générale la chromatographie en phase gazeuse est une technique de séparation pour des substances volatiles, basée sur les différences de coefficient de partage des produits à séparer entre la phase gazeuse et la phase fixe solide, disposée dans une colonne traversée par un courant gazeux.

Les huiles essentielles renferment de nombreux constituants qui diffèrent par leur volatilité, polarité et concentration. La C.P.G. nous a permis de mettre en évidence la composition de l'huile essentielle .

### I-3-2 APPAREILLAGE UTILISE :

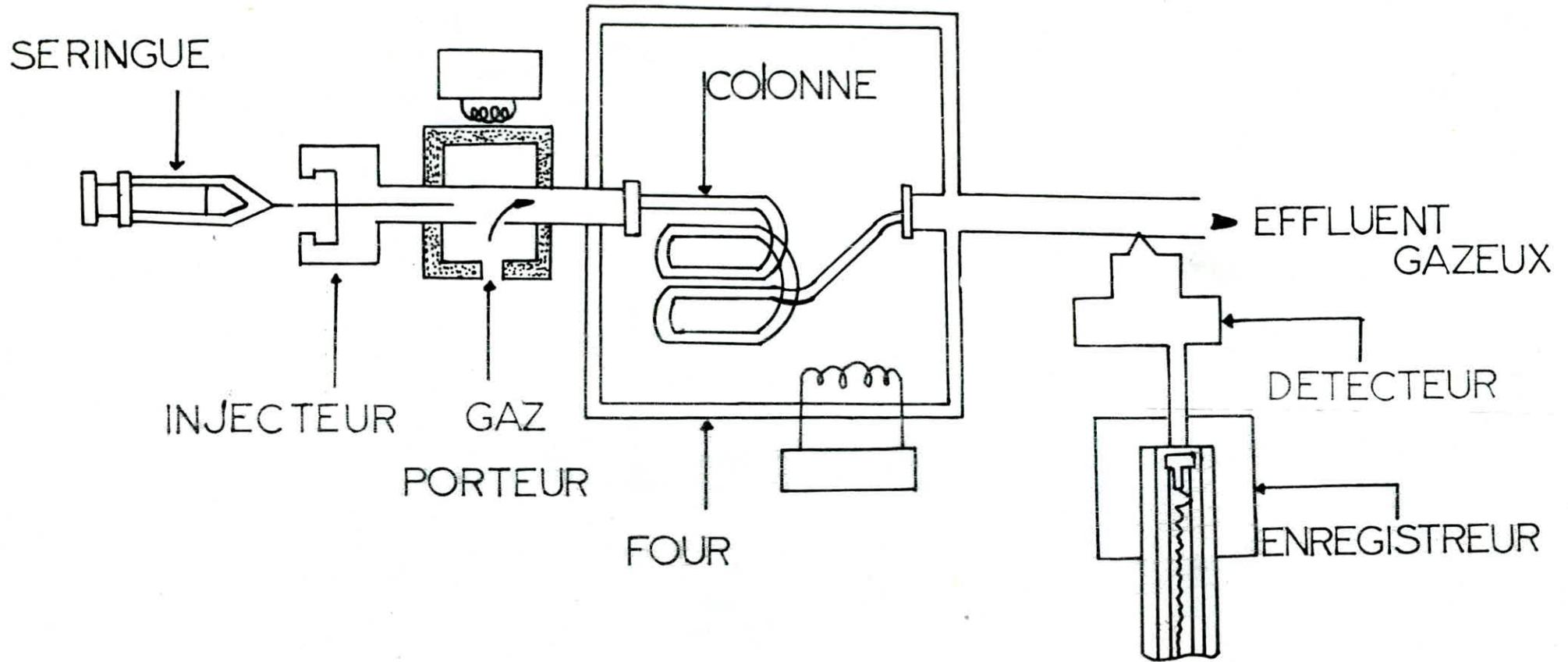
- \* Chromatographie type PYE-Unicam Série 304
- \* Enregistreur et intégrateur électriquette PYE-Unicam 4810  
computing intégrateur PHILIPS .
- \* Détecteur à ionisation de flamme F.I.D.

### I-3-3 Conditions d'utilisation du chromatographe

Nos analyses ont été faites sur la colonne P.E.G. 20 M avec les conditions citées ci dessous

- Colonne	P.E.G 20M
-Phase Stationnaire	0,32 mm de diamètre et 25 m DE longueur Poly-éthylène-glycol
- Gaz vecteur	Hélium
Débit	50 ml/mn
- température injecteur	200°C
- température détecteur	300°C
débit: H <sub>2</sub>	30 ml/mn
Air	330 ml/mn
- température de la colonne	
début	50° C
fin	200° C
vitesse	4° c/mn
Volume injecté	0,1 µl
Atténuation	32
Vitesse du papier	0,5 cm/mn
Sensibilité	10 <sup>2</sup>

# SCHEMA SIMPLIFIE D'UN CHROMATOGRAPHE A GAZ



- La méthode d'identification du pic majoritaire, en l'occurrence le cinéol, est basée sur la méthode d'analyse de l'étalon, elle consiste à analyser l'échantillon et l'étalon, et de comparer les temps de rétention dans les mêmes conditions. C'est une méthode simple et cohérente.

Le pic du cinéol sort avec un temps de rétention de 5,33 mn, ce dernier est en conformité avec le cinéol pur (Chr-1), et un pourcentage considérable égal 78% (Chr-2).

#### I-4 ETUDE COMPARATIVE :

Les différentes valeurs ainsi obtenues sont représentées dans le Tableau N°=2, et comparées avec celles des différentes valeurs données par les normes A.F.N.O.R.

	Valeurs expérimentales	Valeurs A.F.N.O.R
Densité à 20°C	0,9181	(min) 0,9060 (max) 0,9250
Indice de réfraction 20°C	1,4640	(min) 1,4590 (max) 1,4670
% en cinéol	78,243	(min) 70
pouvoir rotatoire à 20°	2°,5	(min) - 0° (max) + 15°

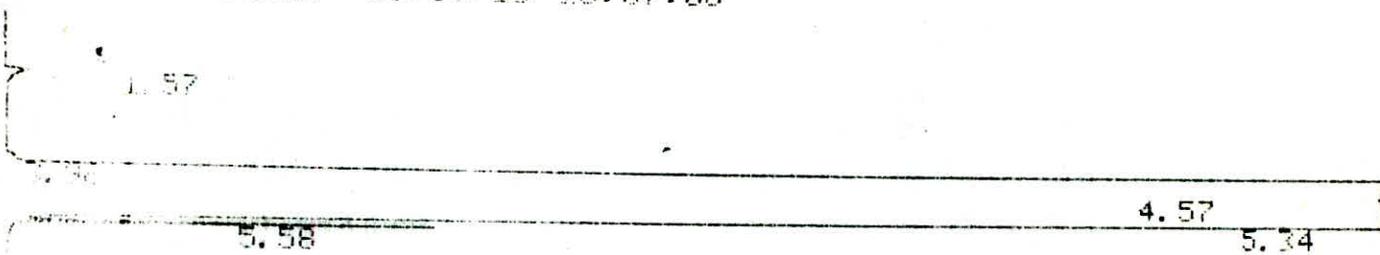
Tableau -2-

(chr.1)

cinéol pur

RT= 64  
991 997 1000 1000 1000PT EVAL:  
PT= 12.  
PT=130

CHANNEL A INJECT 09/06/19 15:07:08



09/06/19 15:07:08 CH= "A" PS= 1.

FILE	1.	METHOD	0.	RUN	5	INDEX	5
PEAK#		AREA%		RT		AREA	BC
1		0.015		1.57		11598	01
2		0.009		3.98		6956	02
3		98.963		4.57		13573214	02
4		01.917		5.34		61481051	02
5		3.091		5.58		66204	03
6		4.001		8.91		642	01
7		0.002		9.16		1773	01
8		0.001		9.48		716	01
TOTAL		100				75144154	

globulus  
(chr.2.)

2.51

13.06  
1  
12  
11  
10  
9  
8  
7  
6  
5  
4  
3  
2  
1

28/05/90 12:15:39

CH= "A" PS= 1.

FILE	METHOD	Q.	RUN	INDEX
1	0.009	1.77	348	02
2	0.702	2.02	12284	02
3	10.536	2.51	448566	02
4	0.128	3.16	5187	02
5	0.257	3.37	10453	02
6	0.138	4.01	5630	02
7	28.243	5.33	1181116	02
8	0.241	5.44	9808	02
9	1.295	5.81	52635	02
10	0.047	5.94	1892	02
11	0.003	6.17	412	02
12	0.069	6.7	2902	03
13	0.002	6.78	100	02
14	0.077	6.86	3112	03
15	0.003	7.25	111	01

D'après le Tableau N°:2 , nous remarquons que nos valeurs expérimentales à savoir la densité, l'indice de réfraction et le pourcentage en cinéol sont comprises dans l'intervalle de valeurs données par les normes A.F.N.O.R pour l'huile essentielle d'eucalyptus globulus .

L'étude comparative de ces valeurs avec celles des différentes huiles essentielles d'eucalyptus globulus de divers pays, est illustrée dans le Tableau N°=3 suivant :

	Australie [5]	Espagne [23]	Expériences	Colombie[5]
Densité à 20° C	0,920	0,917	0,9181	0,907
Indice de réfraction	1,4628	1,4630	1,4640	1,4644
Teneur en cinéol	75	71,3	78,243	55,42

Tableau -3-

Nous remarquons, d'après ce Tableau, que nos valeurs expérimentales ( la densité, l'indice de réfraction ) se rapprochent de celles de l'huile d'Espagne, dont la position géographique et les conditions climatiques sont peu proches de l'Algérie .

### I-5 SOLUBILITE :

Pour déterminer la solubilité de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus dans l'alcool (éthanol), nous avons procédé de la manière suivante:

- Un volume  $V = 5 \text{ cm}^3$  d'huile essentielle est mis dans bécher maintenu à la température ambiante . . . .

- On y ajoute au moyen d'une burette  $V' = 5 \text{ cm}^3$  d'éthanol (99,8 %) et on agite pendant 10 minutes, après décantation, nous observons la formation d'un trouble qui disparaît graduellement au fil du temps. Même après addition d'un volume d'éthanol égal à 20 fois le volume d'huile ( $V' = 20V$ ), la solution reste toujours limpide : l'huile d'eucalyptus globulus est donc soluble dans l'éthanol .

### I-6 POUVOIR ROTATOIRE :

La valeur du pouvoir rotatoire de l'huile d'eucalyptus globulus a été mesurée à l'aide d'un polarimètre; en mélangeant de l'éthanol pur, qui est optiquement inactif, avec une certaine quantité de l'huile. La valeur obtenue est :

$$\alpha_D^{20} = 2^{\circ},5.$$

### I-7 INDICE D'ACIDE :

#### Principe :

La détermination de l'indice d'acide consiste en une neutralisation des acides libres par une solution éthanolique

d'hydroxyde de potassium (0,1 N). Pour ce faire, nous préparons une solution d'hydroxyde de potassium (0,5 N).

En faisant dissoudre 28,05 g DE KOH en pastille dans 30 ml d'eau distillée et après refroidissement, en complétant avec l'éthanol à 95% jusqu'au trait de jauge d'une fiole d'un litre. La neutralisation des acides libres se fait par la solution de KOH 0,1 N que nous préparons, en prélevant un volume de 20 ml de la solution d'hydroxyde de potassium déjà préparée (0,5 N) et en complétant à 100 ml avec l'éthanol (95 %) jusqu'au trait de jauge; après quoi, nous procédons à la neutralisation de la prise d'essai comme suit :

- Une masse m de 0,1 g d'huile essentielle est mise dans un bécher, en y ajoute 1 ml d'éthanol et 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine, au moyen d'une microburette de 10 ml, nous effectuons la neutralisation de la prise d'essai avec KOH(0,1N), jusqu'au virage de la couleur (du rose à l'incolore). Les résultats sont regroupés dans le tableau -4-

	masse d'huile (g)	volume de KOH 0,1 N	Ia (l'expérience)	Ia (théorie)	Ecart	Ecart moyen	Valeur moyen
Essai N°=1	0,1062	0,030	1,53	1,1	0,40	0,27	1,4
Essai N°=2	0,1097	0,025	1,27	1,1	0,15		

Tableau -4-

D'après le tableau -4- , nous constatons que l'écart entre la valeur expérimentale et celle de la théorie est un peu élevée, ceci peut être attribué, au mode de séchage de l'huile .

## **II- ESSAI POUR LA RECUPERATION DU CINEOL :**

Notre travail consiste à récupérer, à partir de l'huile d'eucalyptus globulus le cinéol que l'on retrouve en plus grande proportion pour cela, nous nous sommes inspiré d'un mode opératoire trouvé en bibliographie utilisé pour la récupération du cinéol de l'huile essentielle de menthe [24] .

### **II-1- MODE OPERATOIRE :**

( à partir de l'huile essentielle de menthe )

Le mode opératoire que nous avons utilisé se résume par :

- 1) Une extraction du cinéol par l'éthanol et sa séparation à partir de la solution alcoolique .
- 2) Une distillation sous-vide .

#### **1) Extraction du cinéol :**

Dans une ampoule à décanter, une partie en volume d'huile essentielle est mélangée à quatre parties d'éthanol à 70% volumiques .

La solution est agitée énergiquement pendant 15 minutes et décantée pendant 3 à 4'.

La couche inférieure (contenant le cinéol et l'éthanol) est alors récupérée tandis que la couche supérieure est traitée de la même manière avec l'éthanol à 65% dans le rapport 1/1 .

Les solutions alcooliques sont mélangées et l'éthanol est distillé à la pression atmosphérique de préférence avec une colonne vigreux, à une température de vapeur qui ne doit pas dépasser 80-85°C .

Dans le ballon de recette, on récupère le solvant (éthanol), et dans le résidu, il se forme deux couches: une couche supérieure contenant le cinéol, l'autre l'eau.

Ces deux couches sont séparées à l'aide d'une ampoule à décanter .

## 2) Distillation sous vide .

Le cinéol ainsi obtenu est distillé sous vide à  $26,6 \cdot 10^2$  Pa (20 mm Hg).

Le cinéol distille de 67 à 70°C à cette pression .

La fraction recueillie avant cette intervalle contiennent l'éthanol, l'eau et les hydrocarbures ( terpéniques ).

Les dernières fractions après cet intervalle un peu de cinéol, dérivés terpéniques, oxigénés (exp. menthol).

Le cinéol obtenu est de pureté 90% .

## II-2 APPLICATION DE METHODE A L'HUILE D'EUCALYPTUS :

### II-2-1 Extraction par solvant :

L'application de l'extraction par solvant, a pour objectif de séparer le cinéol de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus .

Le solvant le plus approprié et dans lequel le cinéol est parfaitement soluble est l'éthanol .

Dans cette première étape, nous avons employé de l'alcool éthylique comme solvant d'extraction, à 2 différentes concentrations à 70% et à 65% volumique . Ces deux solutions alcooliques sont préparées à partir de l'éthanol concentré dont les caractéristiques sont les suivantes

CARACTERISTIQUES				
	densité à 15°C	température d'ébullition	indice de réfraction	pureté % massique
Solvant	0,7943	78,3	1,3614	99,8

**\* PREPARATION DE L'ALCOOL ETHYLIQUE A 70 % VOLUMIQUE :**

1000 g de la solution contient 998 g d'éthanol

Pour pouvoir passer du pourcentage massique au pourcentage volumique nous divisons ces masses par leur propres masses volumiques c'est à dire ,

$$\frac{1000}{0,79} \text{ ml de la solution contient } \frac{998}{0,7943} \text{ ml d'éthanol .}$$

donc: 1265,82 ml de la solution contient 1256,45 ml d'éthanol

x ml de la solution contient 700 ml d'éthanol

$$\text{d'où : } x = \frac{700 \times 1265,82}{1256,45} = 705,2 \text{ ml}$$

donc, nous préparons 705 ml d'éthanol de la solution à 99,8 %, et nous complétons à 1 litre avec de l'eau distillée dans une fiole jaugée.

de la même manière, nous procédons à la préparation de l'alcool éthylique à 65 % volumique, c'est à dire, nous prelevons encore un volume de 655 ml d'éthanol à 99,8 pour cent, et complétons à un litre avec de l'eau distillée dans une fiole jaugée de capacité un litre.

Une fois les solutions préparées, on procède ensuite à l'extraction par solvant. La méthode consiste à mettre dans une ampoule à décanter de capacité 250 ml, 50 ml d'huile essentielle et 200 ml d'éthanol à 70 %, et nous agitons énergiquement pendant 15 minutes, pour augmenter la surface de contact entre les deux liquides. On procède ensuite à une décantation pendant 4 heures, pour que l'alcool éthylique et le cinéol puissent se séparer de l'huile.

A ce niveau, nous n'avons pas obtenu les deux phases, qui auraient dû apparaître dans l'ampoule à décanter, par contre, nous avons observé une solution en émulsion. Afin d'avoir une séparation nette de la solution, nous avons fait appel à la centrifugation .

#### **AZ CONDITIONS D'UTILISATION DE LA CENTRIFUGEUSE :**

L'appareil dans lequel l'opération de centrifugation a été effectuée est du type Sigma 3.K.2 avec les conditions suivantes:

- nombre de tours :  $2 \cdot 10^3$  tr/mn
- température :  $20^{\circ}\text{C}$
- temps d'agitation : 10 minutes.

Après un temps d'agitation de dix minutes, nous avons obtenu une phase liquide et un précipité au fond des tubes de l'appareil, au moyen d'une pipette, ces deux phases sont séparées. La phase liquide ainsi obtenue est traitée de la même manière que précédemment avec l'éthanol à 65 % dans le rapport 1/1, dans une ampoule à décanter de capacité 500 ml (240 ml de la phase liquide pour 240 ml d'éthanol à 65%) .

Du fait que la séparation n'était pas nette, nous avons utilisé une deuxième fois la centrifugation, avec les mêmes conditions opératoires, puis la phase liquide est analysée par chromatographie sur couche mince afin de déterminer la présence du cinéol ..

## **B/ CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE :**

### **a/ Appareillage et réactifs :**

La cuve chromatographique est, un récipient habituellement en verre, fermé par un couvercle étanche (voir schéma -1-).

La phase stationnaire est constituée d'une couche mince d'environ 0,25 mm de gel de silice fixée sur une plaque de verre. Elle est préparée en agitant jusqu'à homogénéisation d'un mélange de 16 g de gel de silice et 32 ml d'eau distillée; ce mélange est ensuite étalé sur la plaque en verre, en une couche mince, et séché pendant 10 minutes à l'air puis pendant 30 minutes dans l'étuve à une température de 105°C .

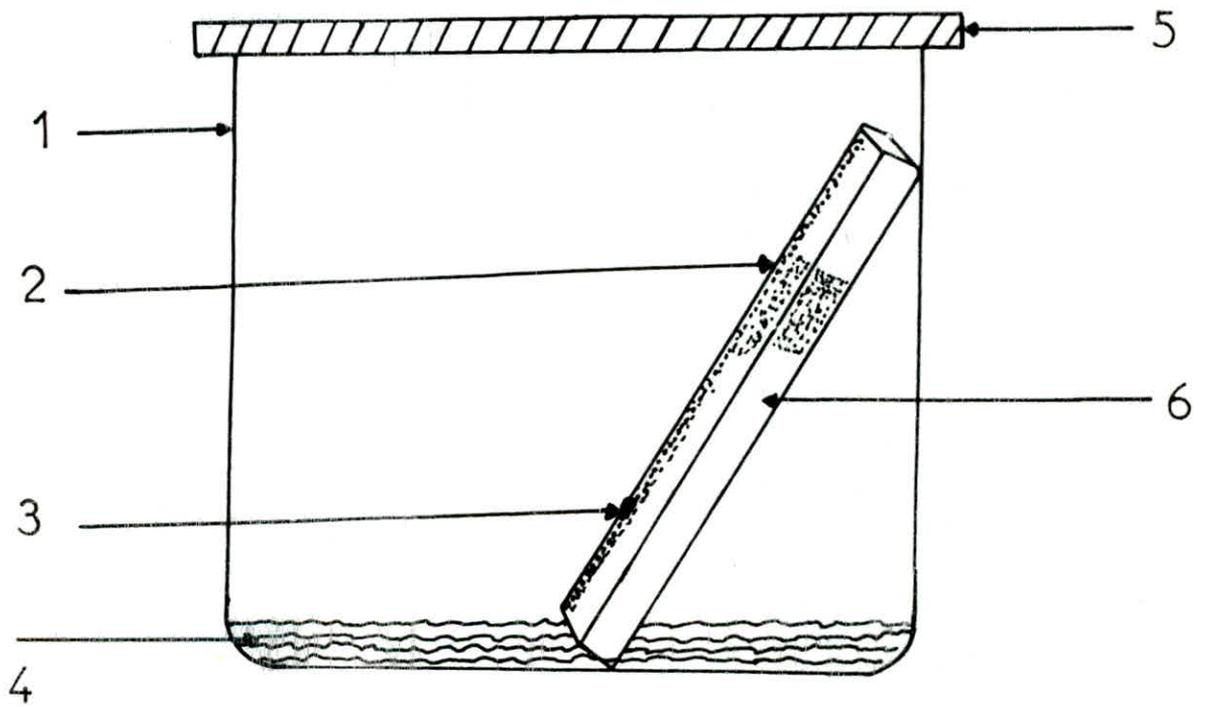
L'échantillon sous forme d'un microlitre de la substance à analyser est déposé en un point repère situé au dessus de la surface de l'éluant .

L'éluant utilisé est un mélange d'hexane et d'acétate d'éthyle dans le rapport volumique 90/10. [21] .

### **b/ Mode opératoire :**

Après avoir tracé la ligne du départ à environ deux centimètres du bord de la plaque. Une goutte de l'échantillon, à savoir la phase liquide récupérée et une goutte de l'étalon du cinéol, sont disposées sur la plaque qui est placée dans la cuve chromatographique contenant déjà le solvant; la plaque est

1	CUVE CHROMATO GRAPHIQUE	4	PHASE MOBILE
2	PHASE STATION- NAIRE	5	COUVERCLE
3	ECHANTILLON	6	PLAQUE de VERRE



SCHEMA 1.

APPAREILLAGE SERVANT A LA  
CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

retirée de la ligne de départ, et séchée à l'air. La ligne du front est tracée au crayon, puis nous procédons à la révélation des tâches en utilisant l'iode comme révélateur chimique; les tâches sont ensuite cerclées au crayon, et la plaque est séchée à l'air libre .

L'évaluation qualitative de cette analyse est donné par le facteur de rétention  $R_f$  défini comme étant le rapport de la distance de migration du constituant (a) et celle parcourue par le solvant (b) .

$$R_f = \frac{a}{b}$$

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau -5-

échantillon \ distances (cm)	a	b	$R_f$
cinéol pur	6,2	10	0,62
phase liquide	6,1	10	0,61

TABLEAU-5-

Nous remarquons dans ce tableau que les valeurs des facteurs de rétention du cinéol et de la phase liquide sont approximativement les memes. L'analyse chromatographique sur couche mince a ainsi confirmé la présence de cinéol dans la phase liquide et nous a permis de passer à la seconde étape qui est la séparation du cinéol de la solution alcoolique .

### II-2-2- DISTILLATION ATMOSPHERIQUE :

La solution alcoolique obtenue par extraction liquide-liquide est soumise à une distillation atmosphérique, à

une température de vapeur qui ne doit pas dépasser 80-85°C afin de distiller le maximum d'éthanol, dont la température d'ébullition est de 78,3°C.

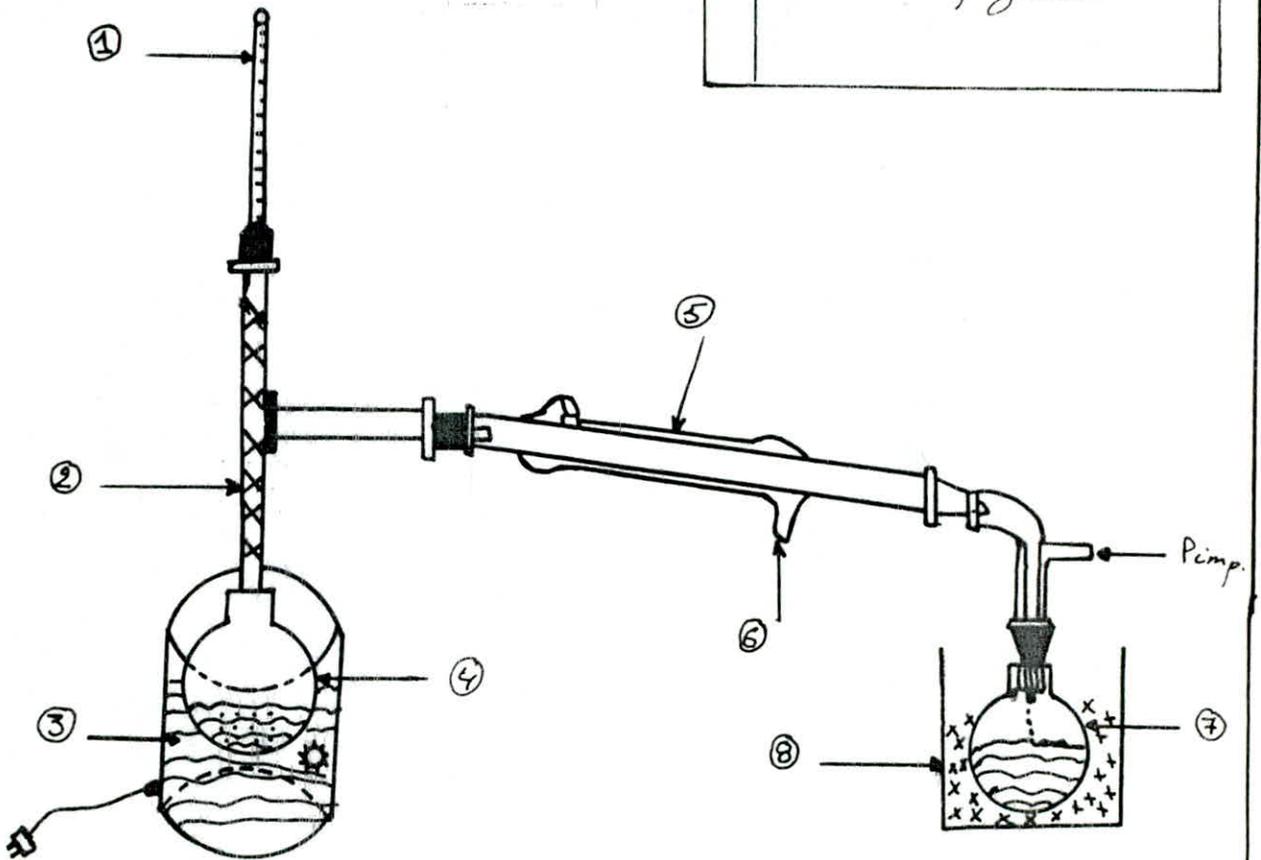
L'appareillage que nous avons utilisé (voir schéma-2-) comporte les éléments suivants :

- Un bain d'huile muni d'un système de régulation de température .
- Un ballon de capacité 500 ml avec un rodage (29/32).
- Une colonne vignaux rodée (29/32) .
- Un thermomètre .
- Un réfrigérant .
- Un ballon de récupération .

Après avoir ouvert le robinet d'eau de réfrigération, nous avons chauffé le bain d'huile afin de maintenir la température de vapeur dans la colonne entre 80 et 85°C. Les premières gouttes de distillat ont été obtenues à la température de vapeur égale à 82°C. Cette température est restée constante pendant toute la durée de récupération du distillat. Nous avons arrêté la manipulation, lorsque la température de vapeur a brusquement chuté à 60°C. Nous avons alors observé dans le bouilleur la présence de trois phases :

- Une phase inférieure peu transparente .
- Une phase intermédiaire de couleur blanchâtre .
- Une phase supérieure de couleur jaunâtre .

légende	
1	- Thermomètre
2	- Colonne vigreux
3	- Bain d'huile
4	- Bouilleur
5	- Réfrigérant
6	- Entrée d'eau
7	- Ballon de recette
8	- Bain réfrigérant



SCHEMA 2

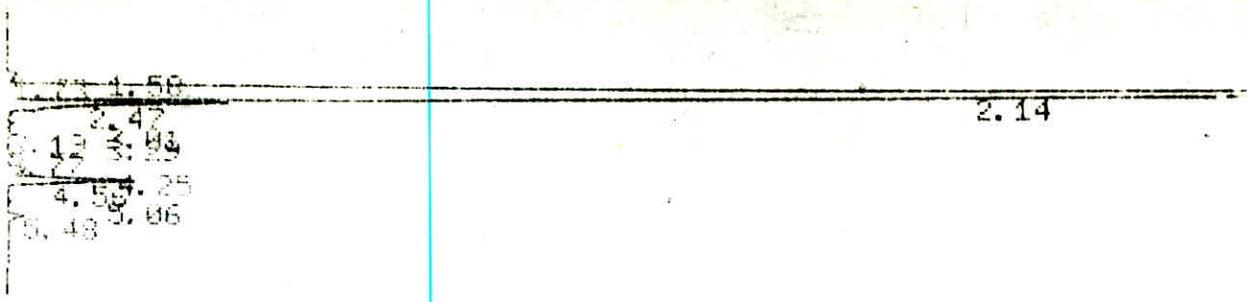
Ces trois phases, ainsi que le distillat ont été analysées par la chromatographie en phase gazeuse sur colonne PEG20M.

L'analyse chromatographique du distillat (voir chr-3-) confirme la présence d'éthanol dont le pic sort à un temps de rétention de 2,14 mm.

Son pourcentage (89,88 %) est considérable par rapport aux autres constituants .

Le chromatogramme de la phase inférieure du résidu (chr-4-) révèle aussi la présence d'éthanol et d'une plus grande quantité de constituants .

L'analyse chromatographique des phases intermédiaires (chr-5-) et supérieure (chr-6-) montre l'existence de plusieurs pics, témoins de deux mélanges complexes. Nous pouvons donc affirmer que les expériences effectuées n'ont pas conduit à une bonne séparation, notamment à la récupération du cinéol. Ces résultats et la formation du précipité pendant l'extraction à l'éthanol, nous ont conduit à une amélioration du procédé de récupération du cinéol. Pour cela nous avons étudié l'influence de la quantité de solvant sur la quantité de la charge mise en jeu .



28/05/90 10:19:57

CH= "A" PS=

NO	RT	AREA	BC
1	1.58	152	02
2	1.73	7949	02
3	2.14	2528970	02
4	2.47	154576	08
5	3.01	1517	06
6	3.19	1234	06
7	3.29	1106	07
8	3.77	1922	06
9	4.25	11064	06
10	4.56	93419	03
11	5.06	1675	01
12	5.48	9898	01

distillat ( dis.atm.)

chr.3.

residu de la phase  
inférieure (chr.4.)

INJECT 28/05/90 14:00:43

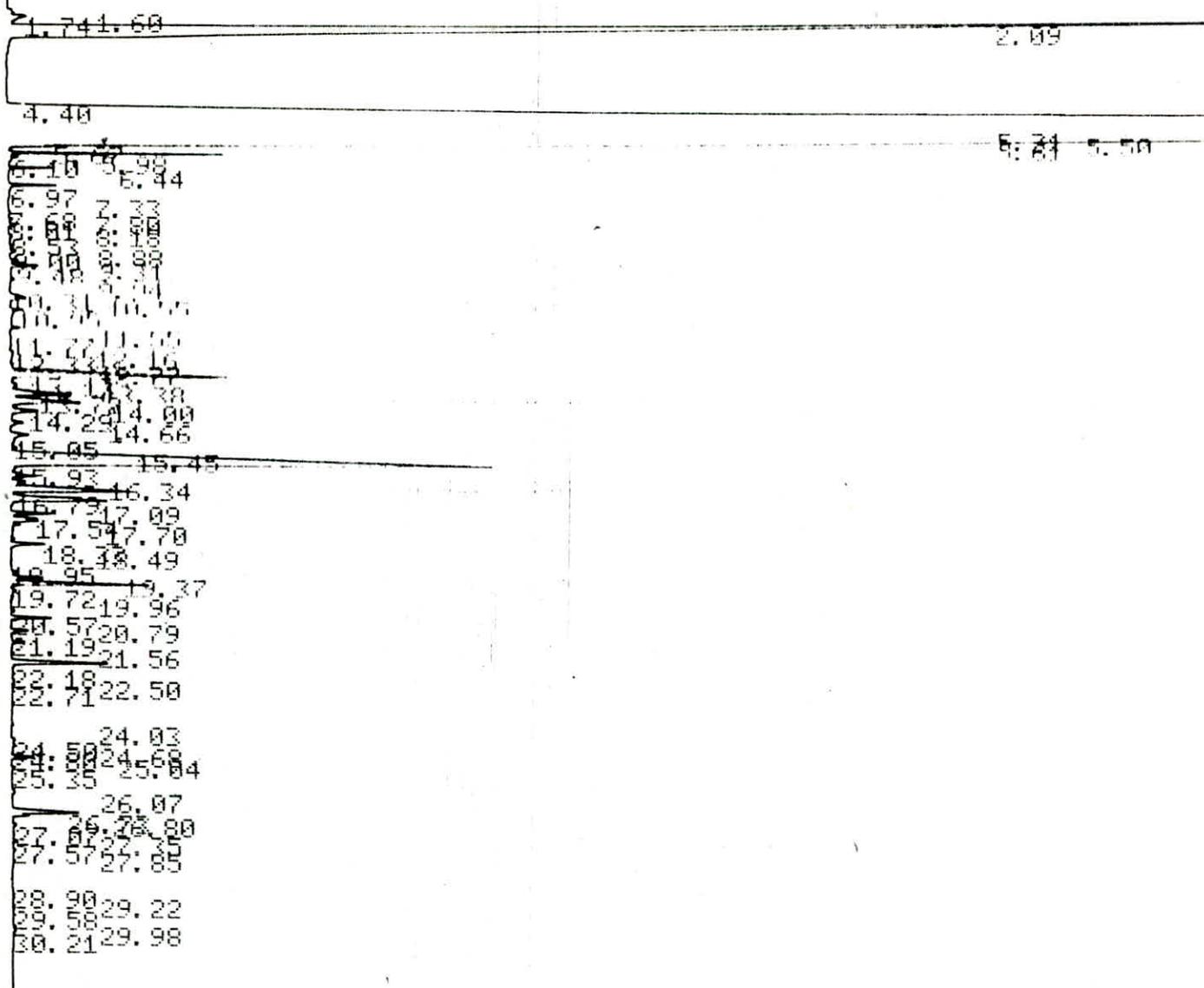
1.61	2.68				2.14
3.93	4.73	4.50			
6.66					
12.87	13.65				
17.61					
18.46	19.60				
19.65					
21.20					
22.14					

28/05/90 14:00:43 CH= "A" PS= 1.

FILE	METHOD	Q.	RUN	INDEX
1			9	9

PK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.056	1.61	707	02
2	0.861	1.78	10809	02
3	88.647	2.14	1112467	02
4	0.004	2.68	51	03
5	0.012	2.98	155	01
6	0.013	3.93	159	02
7	0.023	3.96	289	03
8	9.389	4.5	117832	08
9	0.121	4.73	1520	05
10	0.012	5.33	146	01
11	0.007	6.66	89	01
12	0.126	12.87	1579	01
13	0.015	13.65	191	01
14	0.011	14.18	144	01
15	0.494	15.6	6205	01
16	0.008	16.29	99	01
17	0.029	16.59	366	01
18	0.05	16.99	631	01
19	0.008	17.44	104	01
20	0.015	17.61	192	01
21	0.008	18.46	96	01
22	0.009	19.5	106	02
23	0.043	19.75	535	03
24	0.008	20.78	105	01
25	0.007	21.2	82	01
26	0.022	22.14	282	01



28/05/90 13:16:41 CH= "A" PS= 1.

FILE 1.	METHOD 0.	RUN 8	INDEX 8
PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.02	1.6	1526 02
2	0.083	1.74	6243 02
3	8.833	2.09	667186 03
4	0.018	4.4	1344 02
5	42.477	5.31	3208399 02
6	15.583	5.5	1176996 02
7	14.649	5.61	1106439 02
8	7.311	5.67	552187 08
9	0.415	5.98	31333 06
10	0.018	6.1	1356 07
11	0.076	6.44	5746 01
12	0.094	6.97	7068 01
13	0.003	7.33	197 01
14	0.003	7.68	246 02
15	0.004	7.8	307 02
16	0.012	8.01	915 02
17	0.019	8.18	1418 03
18	0.013	8.53	950 01
19	0.01	8.88	792 02
20	0.022	9.0	1628 03

résidu de la phase  
intermédiaire  
(chr.5)

3.36

2.08

4.36

10.50  
 11.50  
 12.50  
 13.50  
 14.50  
 15.50  
 16.50  
 17.50  
 18.50  
 19.50  
 20.50  
 21.50  
 22.50  
 23.50  
 24.50  
 25.50  
 26.50  
 27.50  
 28.50  
 29.50  
 30.50  
 31.50  
 32.50  
 33.50  
 34.50  
 35.50  
 36.50  
 37.50  
 38.50  
 39.50  
 40.50  
 41.50  
 42.50  
 43.50  
 44.50  
 45.50  
 46.50  
 47.50  
 48.50  
 49.50  
 50.50  
 51.50  
 52.50  
 53.50  
 54.50  
 55.50  
 56.50  
 57.50  
 58.50  
 59.50  
 60.50  
 61.50  
 62.50  
 63.50  
 64.50  
 65.50  
 66.50  
 67.50  
 68.50  
 69.50  
 70.50  
 71.50  
 72.50  
 73.50  
 74.50  
 75.50  
 76.50  
 77.50  
 78.50  
 79.50  
 80.50  
 81.50  
 82.50  
 83.50  
 84.50  
 85.50  
 86.50  
 87.50  
 88.50  
 89.50  
 90.50  
 91.50  
 92.50  
 93.50  
 94.50  
 95.50  
 96.50  
 97.50  
 98.50  
 99.50  
 100.50

15.91

177

32.08

28/05/90 10:54:12 CH= "A" PS= 1.

FILE 1. METHOD 0. RUN 4 INDEX 4

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.104	1.75	5978	02
2	9.871	2.08	567772	03
3	0.016	3.36	943	01
4	0.009	3.77	541	02
5	0.023	4.36	1326	02
6	78.992	5.45	4543565	02
7	0.416	5.85	23932	02
8	3.024	6.08	1364	02
9	0.003	6.34	4760	03
10	0.003	6.79	158	02
11	0.006	6.89	4945	03
12	0.003	7.25	158	01
13	0.006	7.61	352	02
14	0.005	7.75	264	02
15	0.013	7.94	729	02
16	0.02	8.12	1160	02
17	0.016	8.48	912	02
18	0.015	8.81	896	02
19	0.024	8.93	1391	03
20	0.025	9.25	1424	02

résidu de la phase  
supérieure  
(chr.6)

### III-3- AMELIORATION DU PROCEDE :

#### III-3-1- DETERMINATION DU RAPPORT CHARGE/SOLVANT :

Le rapport charge/solvant a été déterminé, suivant le procédé de la détermination de la solubilité .

En premier lieu, nous avons fixé la quantité de la charge, ensuite nous avons procédé au titrage avec l'éthanol à 70 %. Chaque addition de l'éthanol est suivie d'une agitation pendant un temps  $t$  et une décantation, jusqu'à l'apparition de la zone d'immiscibilité. Dans notre cas, la zone d'immiscibilité apparaît, lorsque le rapport charge/solvant est égal à l'unité. Après décantation et séparation des phases, la couche supérieure est traitée d'une façon identique, avec l'éthanol à 65% : la zone de non solubilité apparaît pour un rapport charge-solvant égal à deux (un volume de la charge pour un demi volume d'éthanol à 65 %). L'addition graduelle de l'éthanol à 65%, nous permis d'observer la formation du précipité .

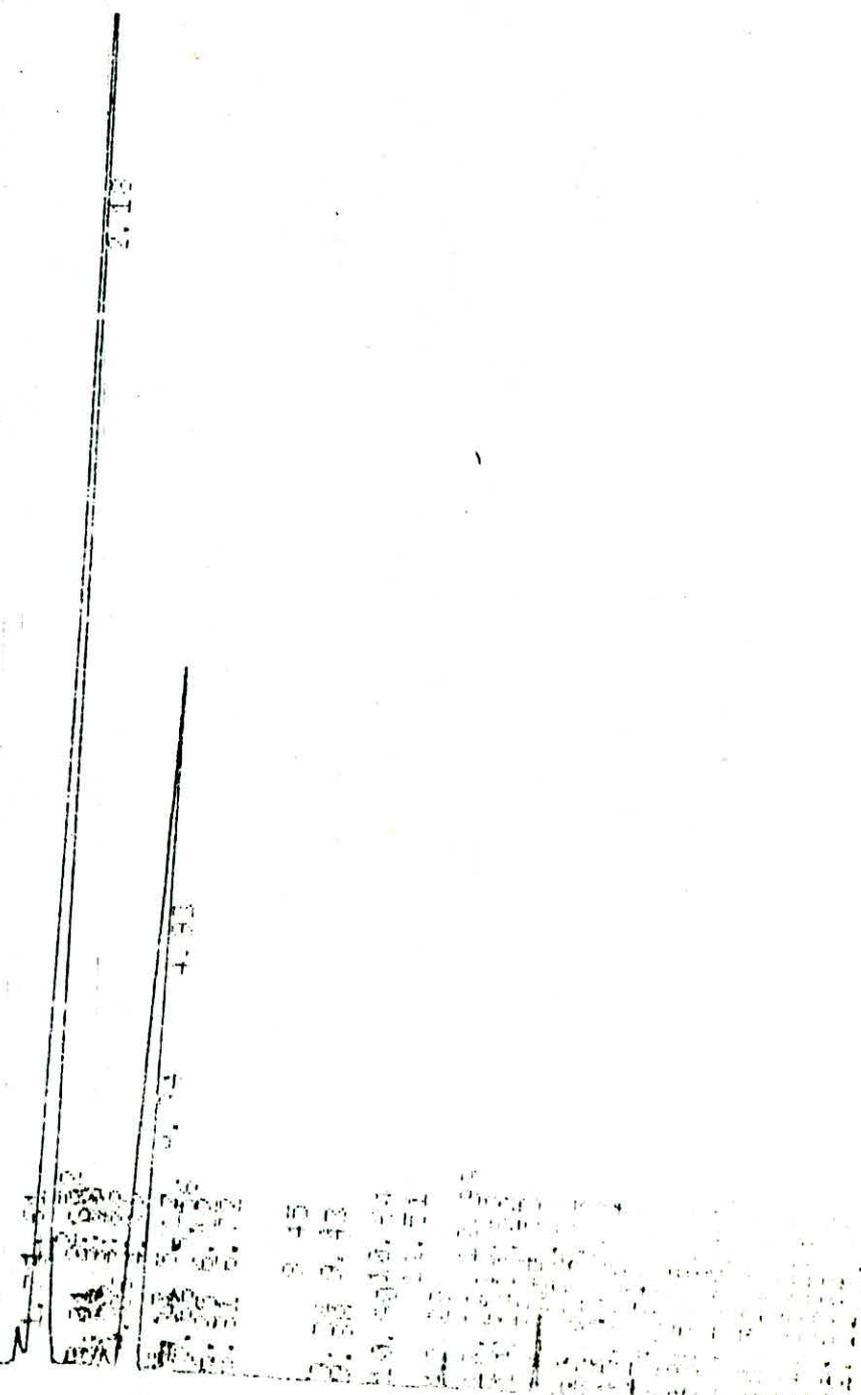
L'analyse chromatographique de la phase inférieure obtenue au premier étage de l'extraction (c'est à dire avec l'éthanol à 70%), dans les conditions opératoires du paragraphe (1.3.3), révèle la présence de cinéol dans la solution alcoolique, dont le pic sort à un temps de rétention de 4,93 mn (voir chr-7-). Nous pouvons donc procéder à la récupération du cinéol comme indiqué dans le paragraphe (II-1) mais avec de nouvelles conditions pour l'extraction .

solution alcoolique

(chr.7.)

994 995 997 998 999 1000 1000 1000PT EVAL:  
PT= 15.

CHANNEL A INJECT 19/05/90 10:57:10



### II-3-2- EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE DU CINEOL :

Le premier étage d'extraction est réalisé avec 50 ml d'huile essentielle et 50 ml d'alcool éthylique à 70 % .

Le mélange est agité pendant 20 minutes à température ambiante, pour augmenter la surface de contact entre les deux liquides.

Après une décantation de 3 à 4 heures, deux phases apparaissent :

- La phase inférieure incolore de volume égal à 24 ml .
- La phase supérieure de couleur jaunâtre de volume égal à 76 ml .

Une deuxième extraction est faite sur la couche supérieure avec l'éthanol à 65 % volumique, dans le rapport 2/1, c'est-à-dire à 76 ml de la solution on ajoute 38 ml d'éthanol.

Après agitation et décantation du mélange, deux nouvelles phases sont apparues, de la même façon qu'à la première extraction, la couche inférieure de volume 23 ml et la couche supérieure de couleur encore jaunâtre et de volume de 93 ml .

Pour être sûr que tout le cinéol est extrait de l'huile, une troisième extraction est réalisée sur la phase supérieure avec l'éthanol à 65 % volumique dans le rapport 2/1 .

On observe alors la formation d'un précipité qui peut être attribué à un excès d'éthanol. A ce niveau l'extraction est arrêtée et les phases inférieures incolores des deux étages d'extraction sont mélangées afin de passer à la seconde étape qui est la distillation atmosphérique .

### II-3-3- DISTILLATION ATMOSPHERIQUE :

La distillation s'effectue de la même manière que précédemment, et sous les conditions déjà citées au paragraphe (II.2.2). L'éthanol est distillé, à la pression atmosphérique, à une température de vapeur variant de 80 à 85°C .

Il y a lieu de noter que la température dans le bain d'huile est de 135°C. Après la distillation de l'éthanol à cette température de vapeur, il se forme dans le bouilleur, deux phases qui sont séparées à l'aide d'une ampoule à décanter:

- Une phase supérieure d'un jaune très pâle, de volume 5ml.
- Une phase inférieure incolore de volume 20 ml .

La phase supérieure ainsi obtenue a été analysée par la chromatographie sur couche mince, dans les mêmes conditions données au paragraphes (B).

Les valeurs des facteurs de retention sont représentées dans le tableau suivant :

échantillon \ distance (cm)	a	b	R <sub>f</sub>
cinéol pur	4,55	10	0,455
phase supérieure	4,50	10	0,45
phase inférieure	1,90	10	0,19

-Tableau N°6-

D'après le tableau N°6, nous remarquons que les facteurs de rétention du cinéol et de la phase supérieure sont relativement identiques, par contre la phase inférieure montre l'absence de cinéol.

Pour cette phase les valeurs de la densité  $d_4^{20}=0,9865$  et de l'indice de réfraction  $n_D^{20}=1,3430$  se rapprochant de celles de l'eau pure .

De plus son taux d'humidité égale à 70 % confirme la présence de l'eau .

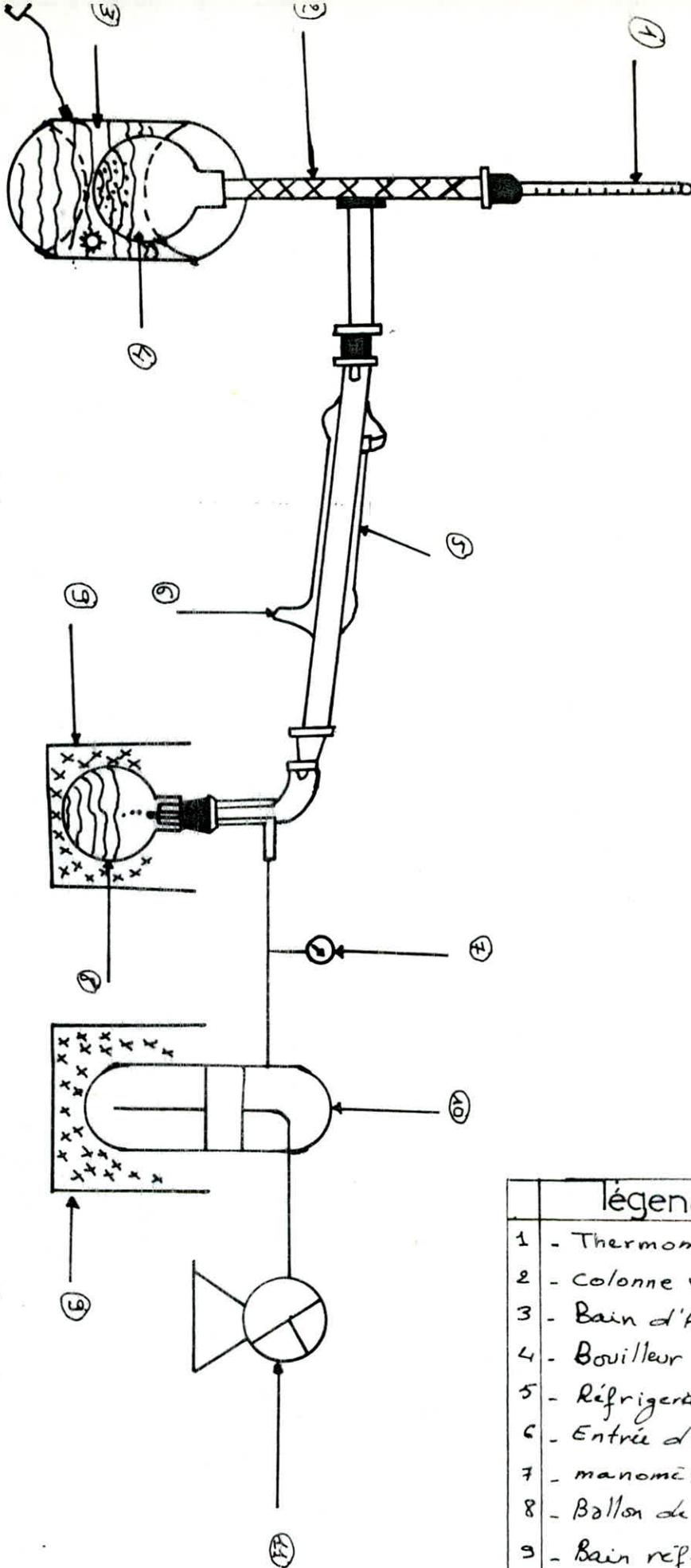
La chromatographie en phase gazeuse révèle la présence de cinéol dans la phase supérieure: le temps de rétention de celui-ci est de 5,13 mn et son pourcentage est de 89,348 (chr8). Afin de purifier le cinéol, nous avons procédé à la distillation sous vide de la phase supérieure .

#### II-3-4- DISTILLATION SOUS VIDE :

La phase supérieure obtenue par la distillation atmosphérique, est distillée sous vide à une pression de 40 mm Hg (voir schéma-3-)

Après avoir obtenu le vide dans l'appareillage, les premières gouttes de distillat sont recueillies à la température de vapeur égale à 76°C, et pour une température de bain d'huile de 125°C. La distillation est poursuivie jusqu'à une température de vapeur égale à 66°C .

Le distillat est incolore, tandis que, dans le bouilleur le résidu est de couleur jaune pâle .



SCHEMA \_3\_

Légende	
1	- Thermomètre
2	- Colonne vigreux.
3	- Bain d'huile
4	- Bouilleur
5	- Réfrigérant
6	- Entrée d'eau
7	- manomètre
8	- Ballon de recette
9	- Bain réfrigérant
10	-
11	- Pompe à vide.

TOTAL 100. 86717521

résidu de la phase

999 1001 999 1000 1000  
PT=100

supérieure

CHANNEL A INJECT 08/06/90 12:25:44

chr. 8

1.56  
2.21

3.39

5.13

5.44

5.57

6.39

6.51

6.55

08/06/90 12:25:44 CH= "A" PS= 1.

FILE 1. METHOD 0. RUN 7 INDEX 7

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.884	1.56	47018	02
2	0.528	1.84	294575	02
3	0.524	2.21	292391	03
4	0.818	3.01	9930	01
5	0.082	3.39	1227	01
6	0.811	3.95	6301	02
7	89.348	5.13	49828090	02
8	0.589	5.44	216919	02
9	0.819	5.57	10360	03
10	0.882	5.76	904	02
11	0.851	5.89	28448	03
12	0.106	6.39	59357	01
13	0.853	6.55	1035	02

Le distillat ainsi que le résidu ont été analysés par la chromatographie en phase gazeuse, dans les conditions décrites au paragraphe (I.3.3).

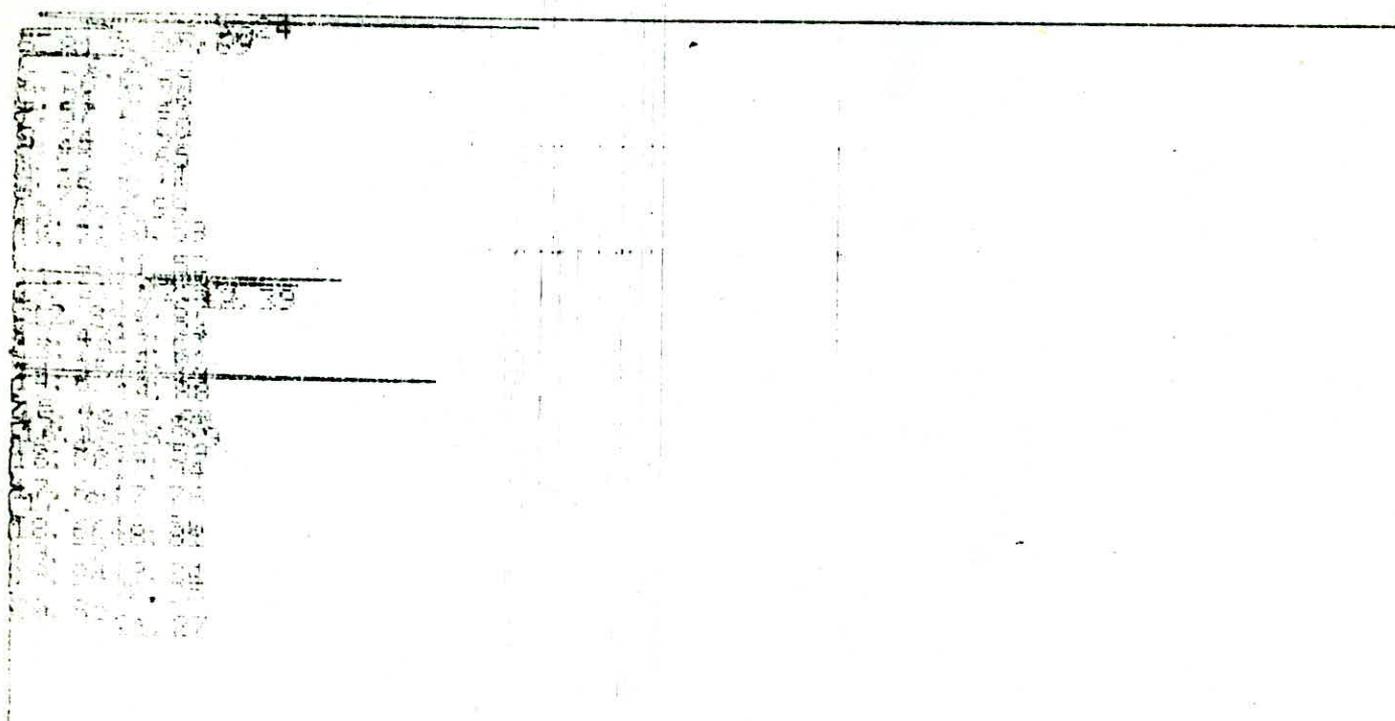
Le chromatogramme du distillat (voir chr-9-) confirme la présence de cinéol qui sort avec un temps de rétention égal à 5,24 mn, et un pourcentage plus élevé de 96,545 % .

L'analyse chromatographique du résidu (chr 10) révèle aussi la faible teneur en cinéol (0,331 %), ce chromatogramme a montré l'existence de plusieurs pics, témoins de la complexité du résidu par rapport au distillat .

distillat (D.S.V.)  
(chr.9)

CHANNEL A INJECT 08/06/90 08:59:06

2.96  
2.19

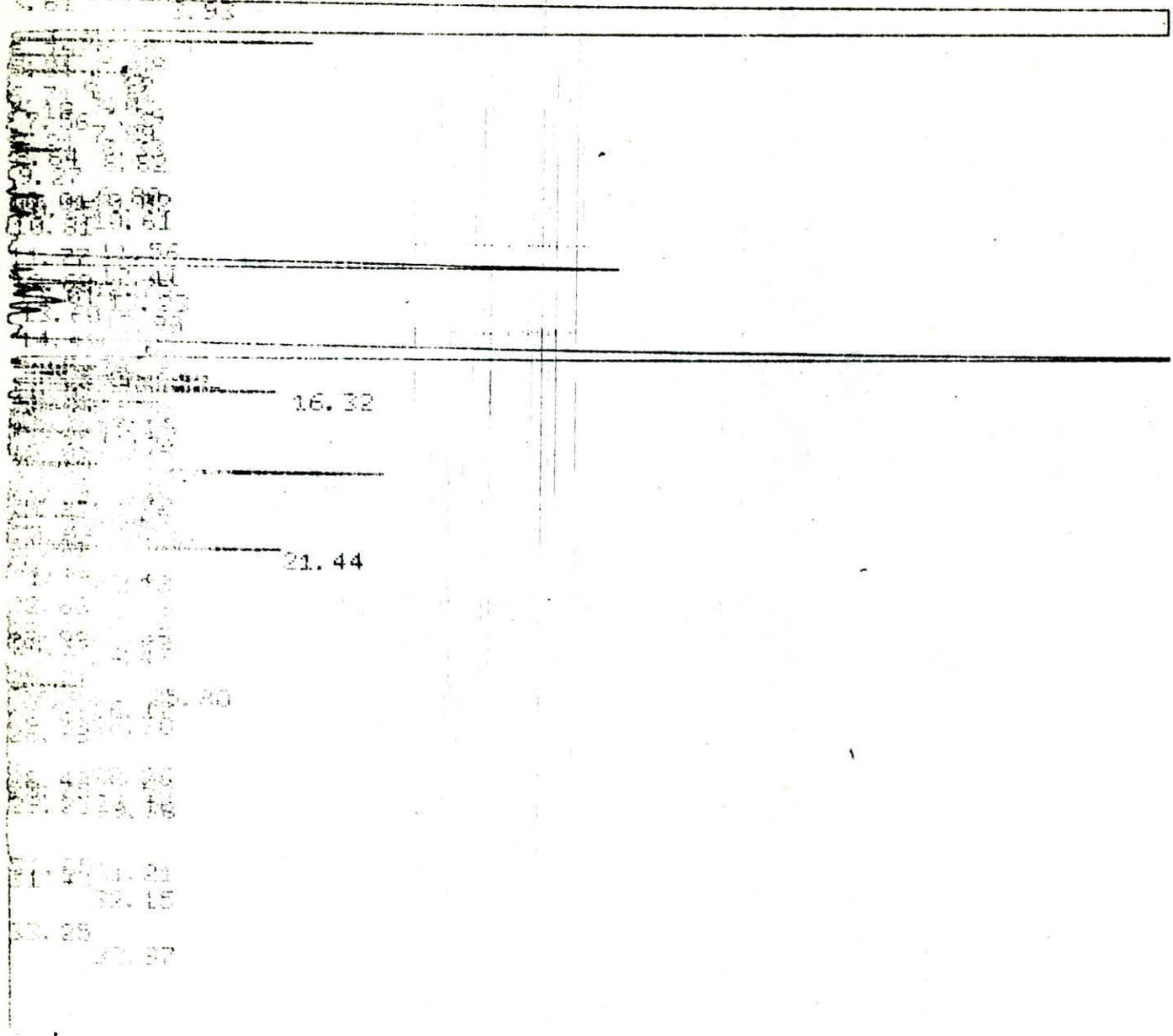


08/06/90 08:59:06 CH= "A" PS= 1.

File No. 087400 B. RUN 2 INDEX 2

PKT	RT	AREA	BC
1	0.056	1.38	38480 02
2	0.024	1.52	16301 02
3	0.019	1.66	13259 02
4	0.09	1.81	61785 02
5	0.515	2.19	354615 02
6	0.066	2.98	45677 03
7	0.006	3.9	4208 02
8	06.545	5.24	65418666 02
9	0.363	5.5	249894 02
10	0.166	5.66	114002 02
11	0.069	5.69	47294 02
12	0.002	5.81	1254 02
13	0.018	5.91	12305 03
14	0.079	6.41	54473 01
15	0.003	6.65	1843 02
16	0.006	6.71	4350 03
17	0.004	7.08	2668 02
18	0.01	7.21	7094 03
19	0.002	7.42	1423 02
20	0.007	7.57	5017 03
21	0.026	7.98	17624 01
22	0.01	8.24	6562 02
23	0.01	8.36	6783 02

L. 56



08/06/90 11:33:49 CH= "A" PS= 1.

LE	1.	METHOD	0.	RUN	6	INDEX	6
PKT		AREA	RT	AREA	BC		
1		0.007	1.41	9308	02		
2		0.027	1.56	12801	02		
3		0.021	1.85	9772	03		
4		0.01	3.61	4445	02		
5		0.012	3.93	5593	02		
6		79.272	4.93	37033732	08		
7		0.331	5.33	154553	06		
8		0.017	5.47	8066	06		
9		0.001	5.69	632	06		
10		0.087	5.81	40808	06		
11		0.001	6.06	642	07		
12		0.155	6.33	72594	01		
13		0.002	6.61	843	02		
14		0.004	6.71	1005	03		

CHANNEL A INJECT 03/05/90 11:24:28

1.35  
1.57  
1.74  
2.21  
3.06

2.21

03.05/90 11:24:28 CH="A" PS=11.

FILE	1.	METHOD	0.	RUN	2	INDEX	-2
PK#	AREA	RT	AREA	BC			
1	0.005	1.35	194	02			
2	0.062	1.57	2292	02			
3	0.035	1.74	1287	02			
4	99.855	2.21	3699705	02			
5	0.043	3.06	1586	03			
TOTAL	100.		3705064				

# CONCLUSION

L'étude bibliographique que nous avons faite a permis, d'une part, de choisir le procédé de récupération du cinéol de l'huile d'*eucalyptus globulus*, d'autre part de caractériser le constituant récupéré à savoir le cinéol.

Dans l'étude précitée des caractéristiques physico-chimiques de l'huile, nous avons révélé la forte teneur de cette dernière en cinéol (78,243 %).

Dans la deuxième partie de notre travail, nous avons procédé à l'application du mode opératoire décrit au paragraphe (II).

Néanmoins, l'utilisation textuel de ce procédé n'aboutit pas à de bons résultats, notamment à la récupération du cinéol. Ces résultats nous ont conduit à une amélioration du procédé. Pour cela nous avons essayé en premier lieu de changer complètement le solvant, nous avons utilisé le tetrachlorure de carbone et le méthanol.

Toutefois, cette huile est soluble dans ces deux solvants. Nous avons alors étudié l'influence de la quantité d'éthanol sur la quantité de la charge mise-en-jeu, c'est-à-dire la détermination du rapport charge-solvant. Ensuite nous avons procédé à une extraction liquide à trois étages, afin d'obtenir la maximum de cinéol dans la phase alcoolique (voir chr-6-).

Dans ce chromatogramme, nous révélons deux pics majoritaires, de temps de rétention 2,18 mn et 4,93 mn correspondant respectivement à l'éthanol et au cinéol.

La seconde étape, à savoir la distillation atmosphérique a permis d'isoler le cinéol de la solution alcoolique avec un pourcentage de 84,348 %.

Dans le but de purifier le cinéol, nous avons été amené à utiliser la distillation sous vide; le pourcentage obtenu à une pression de 40 mm Hg est de 96,545 %. Il est à signaler que la littérature préconise un vide de 20 mm Hg, pression que nous n'avons pas pu atteindre; il est à noter également que le rendement obtenu est estimé faible, les manipulations effectuées étant insuffisantes pour en donner une valeur exacte. C'est pourquoi, cette étude reste inachevée et nécessite une continuation dans le cadre d'un autre travail de recherche.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] Y. R. NAVES : Technologie et Chimie des parfums naturels  
Edition Masson (1974)
- [2] GILDMEISTER, HOFFMAN: Les huiles essentielles Tome I et III  
2<sup>e</sup> Edition, E. GILDMEISTER (1919)
- [3] MM BAKER, SMITH: The eucalyptus of TASMANIA  
HOBART (1912), p. 16
- [4] L. BEZANGER-BEAUQUESNE: Les plantes dans la thérapeutique  
moderne, Moleine-PARIS (1977)
- [5] E. GUENTHER: The essential oils Tome IV  
Edition R. E. KRIEGER (1972)
- [6] R. T. BAKER, N. Y. SMITH: Quelques eucalyptus de l'Australie  
occidentale (jour. de Londres, 1905)
- [7] EM. PERROT: Matières premières usuelles du règne végétal,  
thérapeutique-hygiène industrie Tome II,  
(1943-1944)
- [8] P. WHITHIER: Raffinage et génie chimique Tome I,  
Edition Technip
- [9] AFNOR: Huiles essentielles, recueil de normes françaises  
Edition AFNOR (1986)
- [10] H. TATUS: Industrie moderne des parfums,  
Edition Librairie J. B. BAILLIERE & fils (1982)
- [11] ALLINGER, GANA, JOHNSON: Chimie organique Tome III,  
Edition Mac Graw hill (1983)
- [12] SCHIMMEL: LIEBGS ANNALEN, 225, p. 291, (1984)
- [13] A. ZIMMERMAN: Der pflanzer, Rev. 9, 107, (1913)
- [14] N. R. FARNSWORTH, G. A. CORDELL,  
Uydia (1978), 39, pp. 420-455
- [15] V. YA POCHINOV: Farmatsevi. Zh., 20, pp 70-71, (1965)
- [16] L. TRABUT: Culture et utilisation des eucalyptus dans  
l'Afrique du nord, Rev. Bot., (1928)
- [17] R. R. PARIS, H. MOYSE: Matière médicale,  
2<sup>e</sup> édition Masson, (1981)
- [18] C. LORRAIN: Extraction liquide-liquide, Techniques de  
l'ingénieur, J. 2755, (1967)

- [19] M. ENTAT: Décantation. Techniques de l'ingénieur, A 5450, (1982)
- [20] M. ROBATEL, P. BOREL: Centrifugation, Techniques de l'ingénieur, A 5550, (1982)
- [21] M. CHAVANNE, A. JULLIEN: Chimie organique expérimentale, Edition Gaston J. Beaudoin, (1987)
- [22] H. KREMER: Le genre eucalyptus, Am. J. of pharmacy, (1904)
- [23] D. GARCIA-MARTIN, M.C. GARCIA VALIEJO: Comparative study of Spanish essential oil of eucalyptus globulus, (1978)
- [24] E. GUEORGUIEV: Technologie de la production des huiles essentielles, Edition de l'Inst. Sup. de l'industrie alimentaire, Ploudiv (1988)
- [25] L.M. GRANERYE: Dictionnaire de chimie, Edition Dunod, Paris, (1962)

