

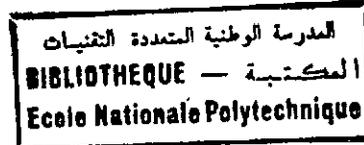
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

M0024/92B

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT DE GENIE CHIMIQUE



THESE

Présentée par :

Mme S. BOUCHTAOUI Née ZEBOUDJ

Ingénieur E.N.P.

Pour l'obtention du diplôme de Magister en Génie Chimique

SUJET

L'ESSENCE D'EUCALYPTUS GLOBULUS D'ALGERIE

Etude Analytique et Essais d'Extraction

Soutenu le 31 Mars 1992 devant le jury composé de :

Monsieur	A. AMAMRIA	Professeur E.N.P. Alger	Président
Monsieur	M.H. GUERMOUCHE	Professeur USTHB Alger	Examinateur
Monsieur	B.Y. MEKLATI	Professeur USTHB Alger	Examinateur
Madame	R. BELABBES	Professeur E.N.P. Alger	Rapporteur
Madame	R. DERRICHE	Chargée de cours ENP Alger	Rapporteur
Madame	T. DJELLAS	Chargée de cours ENP Alger	Rapporteur
Mademoiselle	MAIZI	E.N.A.F.L.A.	Invité

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT DE GENIE CHIMIQUE

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
المكتبة — BIBLIOTHEQUE
Ecole Nationale Polytechnique

T H E S E

présentée par: Mme. **S. BOUCHTAOUI** Née **ZEBOUDJ**
Ingénieur E.N.P
Pour l'obtention du diplôme de Magister en Génie Chimique

S U J E T

L'ESSENCE D'EUCALYPTUS GLOBULUS D'ALGERIE
Etude Analytique et essais d'extraction

Soutenue le Mars 1992 devant le jury composé de:

Monsieur	A. AMAMRIA	Professeur E.N.P Alger	Président
Monsieur	M.H. GUERMOUCHE	Professeur USTHB Alger	Examineur
Monsieur	B.Y MEKLATI	Professeur USTHB Alger	Examineur
Monsieur	R BELABBES	Professeur E.N.P Alger	Rapporteur
Madame	R. DERRICHE	Chargée de cours E.N.P Alger	Rapporteur
Madame	T. DJELLAS	Chargée de cours E.N.P Alger	Rapporteur
Mademoiselle	MAIZI	E.N.A.F.L.A.	Invitée

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
BIBLIOTHEQUE — المكتبة
Ecole Nationale Polytechnique

A ma petite Fella adorée

A mes parents pour leur omniprésence

*A mon mari pour ses encouragements
et son soutien moral*

Mes remerciements,

A Monsieur BELABBES pour son infinie patience pour mener à terme ce travail.

A Monsieur AMAMRIA pour l'aide spontanée qu'il a souvent su m'apporter.

A Madame DERRICHE pour son apport scientifique et les suggestions qu'elle a bien voulu me prodiguer.

A tous les membres du jury

M. A.AMAMRIA président

M. M.H.GUERMOUCHE examinateur

M. B.Y.MEKLATI examinateur

Mme T.DJELLAS examinatrice

Mme R.DERRICHE examinatrice

M. R.BELABBES rapporteur

Melle MAIZI invitée

pour avoir bien voulu juger et critiquer ce travail.

A tous ceux sans qui cette thèse n'aurait pas eu de terme.

M. H.BENSALEM merci pour le temps sacrifié et le soutien moral.

Mme N.LANGLOIS pour avoir bien voulu me recevoir dans son laboratoire de Gif-Sur-Yvette.

M. Zo ANDRIAMIALISOA pour sa sympathique et si fructueuse contribution à ma recherche.

M. AMARA conservateur de la bibliothèque pour sa coopération spontanée à la recherche bibliographique.

A M. K.Naamane, et Melles S.BENMAAMAR, F.Z. ZERFA, A.MOUSSAOUI pour leur contribution et toute leur sympathie.

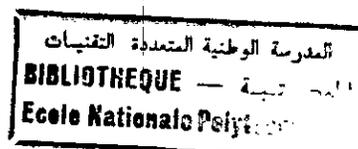
A Mme.O.HAOUCHINE pour tous les fous rires et toutes les larmes du B9.

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
المكتبة — BIBLIOTHEQUE
Ecole Nationale Polytechnique

L'ESSENCE D'EUCALYPTUS GLOBULUS D'ALGERIE

ETUDE ANALYTIQUE ET ESSAIS D'EXTRACTION.

SOMMAIRE



INTRODUCTION.....	2
CHAPITRE I : L'essence d'Eucalyptus.....	5
I.1 : Production, commercialisation et utilisation.....	5
I.2 : Matériel botanique.....	7
CHAPITRE II : Etude analytique de l'huile essentielle d'Eucalyptus Globulus d'Algérie (E.G.).....	10
II.1 : Etude bibliographique.....	10
II.2 : Etude expérimentale.....	26
CONCLUSION.....	50
CHAPITRE III : Procédés d'extraction.....	53
III.1 : Etude bibliographique.....	53
III.2 : Etude expérimentale.....	60
CONCLUSION.....	90
CONCLUSION GENERALE.....	92
BIBLIOGRAPHIE.	
ANNEXE.	
-I- LEGENDES DES FIGURES.	
-II- LEGENDES DES TABLEAUX.	
-III- PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES.	
-IV- METHODE DE DEAN ET STARCK (taux d'humidité).	

INTRODUCTION

Les extraits de végétaux ont fait partie du quotidien de l'homme au cours de toute son histoire.

Toujours à la recherche de l'indispensable et du superflu, ce dernier a eu recours à la médecine traditionnelle puis aux produits pharmaceutiques plus sophistiqués, mais il a également assouvi son besoin de bien-être en s'entourant de produits de luxe que sont les parfums et cosmétiques.

Les techniques extractives d'essences des plantes aromatiques sans cesse perfectionnées ont gardé, au cours des siècles, leur principe de base, seule la technologie ayant pris le pas sur l'artisanat.

Si en Algérie, le secteur des plantes pharmaceutiques et à parfums est considéré comme prioritaire au cours de la dernière décennie, il n'en reste pas moins, malgré un climat tempéré propice à une végétation luxuriante, un secteur peu développé et il n'existe à ce jour que quelques unités industrielles d'extractions de faibles capacités implantées, durant l'occupation coloniale.

Dans le travail présenté, nous avons choisi de nous intéresser à l'Eucalyptus, arbre de grande beauté, si peu connu et qui peut pourtant être si bénéfique, tant sur le plan écologique, médical que dans l'industrie du bois.

Nous nous sommes ainsi penchés sur l'aspect analytique de son huile essentielle, en utilisant les techniques les plus courantes d'analyse instrumentales à savoir la chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.) et la chromatographie gaz couplée à la spectrométrie de masse (C.G./S.M.). Puis nous avons, dans un deuxième temps, essayé de mettre en évidence l'influence des conditions d'extraction sur la qualité de l'huile extraite. Dans ce sens, nous avons contribué à l'amélioration de l'appareillage d'extraction en mettant au point la chaudière conçue au cours d'un travail antérieur au département de génie chimique.

I.1: Production, commercialisation et utilisation.....	5
I.2: Matériel botanique.....	7

CHAPITRE I :

L'ESSENCE D'EUCALYPTUS

I.1. PRODUCTION, COMMERCIALISATION, UTILISATION.

A travers le monde, ce bel arbre ornemental, originaire de Tasmanie a longtemps attiré et attire encore l'attention des botanistes et des chimistes.

Le genre compte 200 espèces et plusieurs centaines de variétés [1] et si, partout on a introduit les Eucalyptus pour assécher les terrains marécageux, en raison de leur croissance extrêmement rapide, on recherche aujourd'hui l'espèce la plus favorable susceptible d'un rendement économique intéressant. Tous aromatiques, ils produisent des huiles essentielles importantes en pharmacie, parfumerie et dans l'industrie [1 à 3].

Selon Boudy [4], l'Eucalyptus occupait, en 1954, une surface de 5855 hectares en Algérie dont plus de la moitié en Oranie.

Mis à part l'Eucalyptus Globulus ou Eucalyptus des pharmaciens, qui est connu et utilisé depuis très longtemps dans le monde entier, en raison des propriétés intéressantes de son huile essentielle, les autres espèces ont des utilisations et des renommées variables selon les pays.

L'essence d'Eucalyptus qui est toxique à forte dose, fait l'objet de 200 préparations pharmaceutiques principalement comme désinfectant des voies respiratoires mais également comme vermifuge, cicatrisant,.... [2].

Si on attribue les principales propriétés de l'essence à l'Eucalyptol, excellent antiseptique pulmonaire, les autres constituants interviennent également en augmentant de façon notable son pouvoir bactéricide. L'Eucalyptus Globulus a été introduit en Algérie, en 1854, par Ramel [5] et il longe aujourd'hui, le littoral à El-kala et Azzefoun et on le retrouve du côté de la Mitidja.

Il est distillé principalement à l'unité ENAFLA de la Chiffa (Blida). Son constituant principal étant le cinéol ou Eucalyptol ou Cajeputol, qu'elle renferme dans la proportion de 60 à 85% , conditionne la valeur marchande de l'huile essentielle d'Eucalyptus Globulus.

Des statistiques publiées par l'Institut de Recherche et de Développement Tropical [6], dévoilent l'impressionnant marché international des essences aromatiques et nous donnent une opinion sur les espérances qu'il est permis de concevoir relativement à l'avenir de cet arbre gigantesque, une merveille du règne végétal, que notre climat tempéré pourrait voir largement prospérer. Le tableau I illustre les principales importations mondiales en huile essentielle d'Eucalyptus, pour les années 1983 -1984 (en tonnes) [6].

TABLEAU I : PRINCIPALES IMPORTATIONS MONDIALES EN HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS (1983-1984) selon l'I.R.D.T. [6].

	Etats-Unis	G. Bretagne	France	R.F.A.	Japon
1983	303	372	513	285	39
1984	384	321	709	363	33

I.2. LE MATERIEL BOTANIQUE.

L'extraordinaire richesse du monde végétal est source de difficultés multiples. En effet, la combinaison de facteurs botaniques, génétiques, géographiques, écologiques et physiologiques rend malaisée l'étude d'une huile essentielle. Ainsi, des différences quantitatives et parfois même qualitatives peuvent exister dans la composition des huiles essentielles de végétaux acclimatés dans des zones géographiques différentes [7, 8].

Fréquemment l'huile essentielle est largement répartie dans la plante et sa composition évolue rapidement au cours du cycle végétatif [9]. Des études de l'évolution saisonnière sur la composition, comme le montre la figure 1, doivent être faites, afin de définir la période optimale de récolte et de traitement [10].

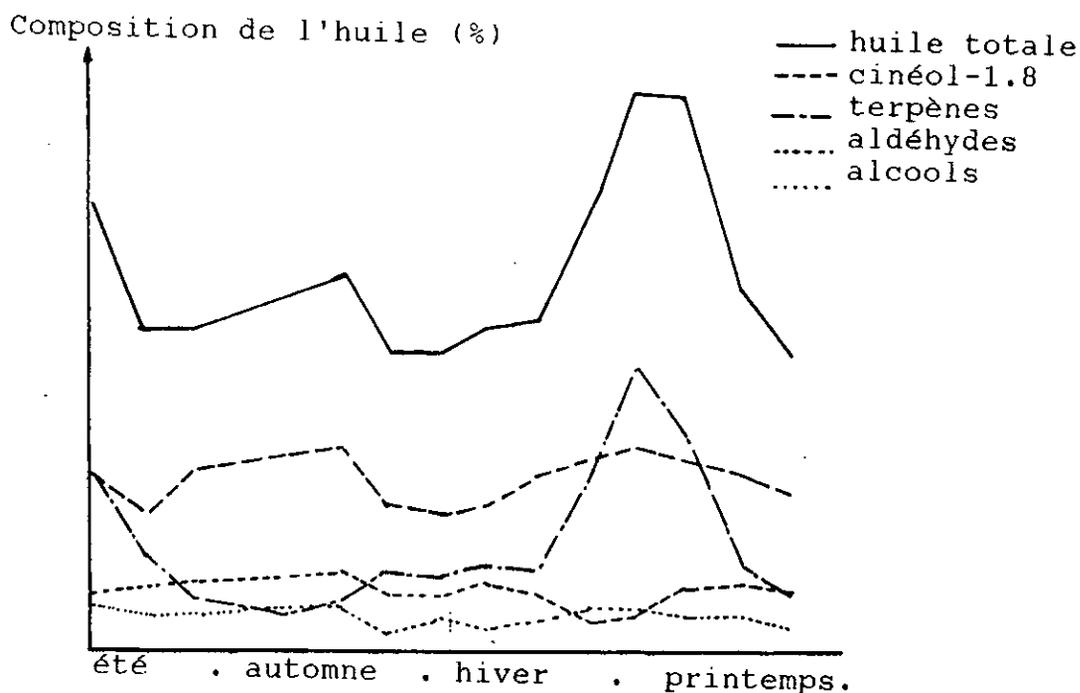
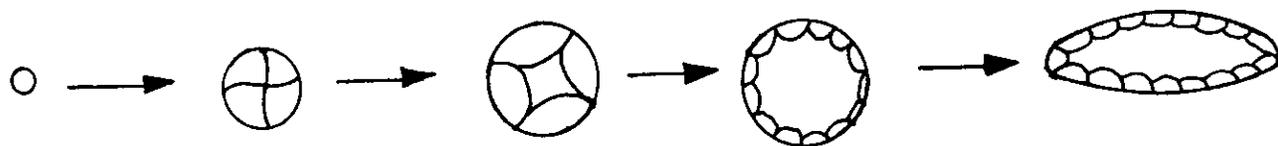


Figure 1: EVOLUTION SAISONNIERE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS Selon Guenther [10]

Selon le site producteur de l'essence, celle-ci peut être très différente par son rendement et sa composition. Il convient de choisir la partie du végétal susceptible de fournir un rendement intéressant en essence. Dans le cas de l'Eucalyptus, ce sont les feuilles qui présentent principalement des poches sécrétrices volumineuses; ceci est observé sur la figure 2 où sont représentées des coupes de feuilles d'Eucalyptus.[3]

En général, les essences sont élaborées dans le cytoplasme vivant puis, n'étant pas miscible à lui, s'en séparent et finissent par constituer une vésicule extracytoplasmique. Une poche sécrétrice est constituée par un massif de cellules qui proviennent du cloisonnement d'une initiale et qui, en s'écartant, laissent entre elles un méat où se déverse l'essence produite par les cellules de bordure.

La cellule se divise d'abord en deux, puis en quatre séparée par deux cloisons perpendiculaires. Ces quatre cellules en s'écartant légèrement, laissent entre elles un méat qui, en s'agrandissant, constituera la poche comme l'indique le schéma ci-dessous.



A maturité, la poche apparaît donc limitée par une seule assise de cellules qui secrètent l'essence [11].

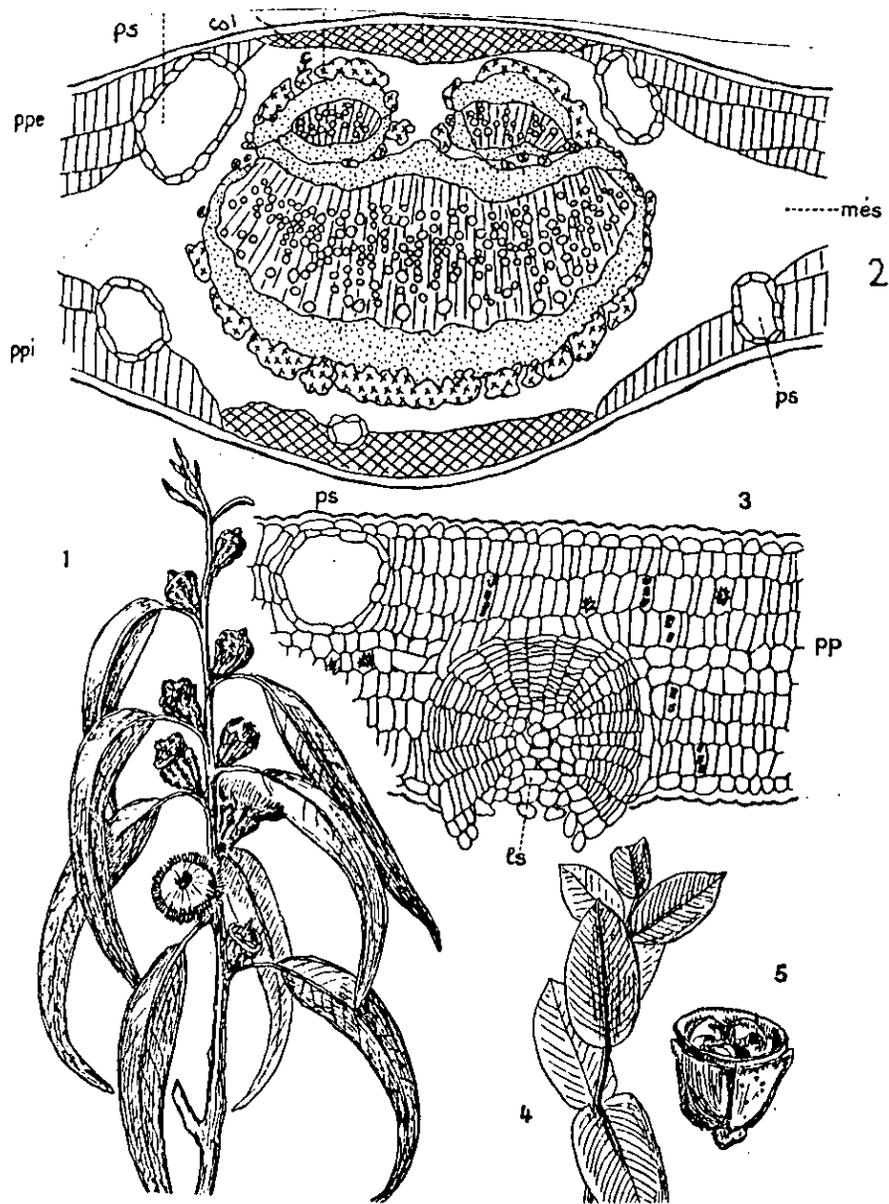


Figure 2 : EUCALYPTUS GLOBULUS.

1. Rameau ancien avec feuilles en faucilles, boutons floraux et fleurs épanouies.

2. Coupe transversale du limbe d'une feuille de rameau âgé passant par la nervure médiane dont le système conducteur comprend un gros faisceau médian légèrement arqué et deux plus petits adossés à la partie supérieure. (col: collenchyme; f: ilots fibreux périlibériens; ppe: parenchyme palissadique de la face supéro-externe à 3 assises; ppi: parenchyme palissadique de la face inféro-interne avec mésophylle entre ces deux couches; ps: poche sécrétrice.)

3. Coupe du limbe d'une feuille en faucille très âgée éclairée des deux faces dont tout le tissu mésophyllien est formé de cellules palissadiques. (ls: lentille subéreuse et nombreux cristaux prismatiques ou mâclés d'oxalate de calcium.)

4. Rameau jeune, avec feuilles connées ovales, non en faucille, leur structure est normale c'est-à-dire avec tissu palissadique à la face supérieure seule.

5. Fruit dont l'opercule est enlevé.

II.1:	Etude bibliographique.....	11
	Introduction.....	11
II.1.A:	Problèmes rencontrés au cours de l'étude de la composition d'une huile essentielle.....	13
II.1.B:	Travaux antérieurs relatifs à l'analyse de l'huile essentielle d'Eucalyptus.....	14
II.1.C:	Méthodes de séparation et d'analyse des huiles essentielles.....	17
	II.1.C.a: Méthodes de séparation.....	17
	II.1.C.a.1: La distillation sous vide.....	17
	II.1.C.a.2: La chromatographie d'adsorption sur colonne.....	19
	II.1.C.b: Méthodes d'analyses.....	20
	II.1.C.b.1: La chromatographie en phase gazeuse.....	21
	II.1.C.b.2: Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (C.G./S.M.).....	24
II.2:	Etude expérimentale.....	26
	Introduction.....	26
II.2.A:	Présentation et protocole opératoire des méthodes de fractionnement et d'analyse.....	28
	II.2.A.a: La distillation sous vide.....	28
	II.2.A.b: La chromatographie d'adsorption sur colonne.....	29
	II.2.A.c: Analyses par chromatographie en phase gazeuse.....	30
	II.2.A.d: Analyses par C.G./S.M.....	31
II.2.B:	Résultats expérimentaux et discussion.....	32
	II.2.B.a: Les caractéristiques physico-chimiques.....	32
	II.2.B.b: La distillation sous vide.....	35
	II.2.B.c: Analyses par C.P.G. et C.G./S.M.....	38
	CONCLUSION.....	50

CHAPITRE II :

ETUDE ANALYTIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS GLOBULUS D'ALGERIE

II.1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.

Introduction

Les huiles essentielles, objet de transactions commerciales souvent importantes en valeur monétaire, doivent répondre à des normes analytiques internationales dont les plus courantes rassemblent les caractéristiques physiques et les caractéristiques chimiques. Cependant, ces analyses ne suffisent pas à elles seules à caractériser totalement la qualité d'une essence. Il s'avère nécessaire d'y ajouter l'étude de sa composition chimique.

Cela nous amène à effectuer une analyse fine qualitative et quantitative qui fait appel à un nombre considérable de méthodes et de techniques. Il s'agira tout d'abord, d'utiliser des techniques de séparations physico-chimiques classiques telles que :

- Solubilisation sélective,
- Distillation sous vide,
- Cristallisation fractionnée,
- Isolement des grands groupes fonctionnels (acides, bases, esters, carbonyles, alcools) et purification ou identification par l'intermédiaire de dérivés cristallins.

Ensuite, la caractérisation pourra être affinée à l'aide de techniques plus modernes d'analyse instrumentale, telles que la chromatographie sous toutes ses formes (chromatographie liquide - liquide, sur papier, en couche mince (C.C.M.) , en phase gazeuse), les méthodes et techniques spectroscopiques Infra-Rouge, Raman, micro-ondes et R.M.N. auxquelles est venue s'ajouter la spectrométrie de masse (S.M.) couplée à la chromatographie en phase gazeuse ou encore d'autres couplages (C.P.G./I.R. à transformée de Fourier) et les spectres de diffraction de rayons X [9]. En citant Peyron [12] " les buts recherchés dans les analyses des huiles essentielles étant multiples, les méthodes et les moyens mis en oeuvre en dépendent. Dans un cas, on cherchera la composition chimique partielle ou totale la plus complète d'une huile essentielle, dans un autre, on en contrôlera la qualité et la pureté ". Tels sont les deux aspects classiques des travaux sur la composition des huiles essentielles. A cela, il y a lieu d'ajouter de nos jours, les aspects liés à la biogénèse et biosynthèse des constituants des huiles essentielles.

De plus en plus, l'intérêt de la recherche va vers le ou les composés olfactifs de l'huile essentielle et celui de connaître le $n^{\text{ième}}$ composé existant à l'état de traces s'estompe, lorsque ce dernier n'est pas caractéristique de l'odeur [13].

II.1.A. Problèmes rencontrés au cours de l'étude de la composition chimique d'une huile essentielle.

Si le procédé d'extraction intervient déjà de façon déterminante sur la composition chimique d'une huile essentielle, la mise en oeuvre de toutes les méthodes physiques et chimiques d'analyse s'accompagne parfois de transformations qui éliminent tout ou partie de certains constituants et en font apparaître d'autres.

Dans ce cas, la composition attribuée à l'huile essentielle peut être très différente de la réalité.

La chromatographie en phase gazeuse n'est pas à l'abri de la production d'artefacts. De nombreux exemples ont été cités par Naves, Vilkas, Teisseire et d'autres auteurs [14,15]. Teisseire [16] par exemple, signale un véritable réarrangement catalysé par le support Chromosorb P ou Chromosorb G de l'époxy-carane. Bates et coll. [17] montrent que la chrysanthénone est convertie en C.P.G. par isomérisation purement thermique.

La chromatographie sur colonne d'alumine ou de silice apporte également des transformations profondes des constituants d'une huile essentielle.

Yo Shihara et coll. [18] montrent que le D-germacrène (dans l'huile d'Ylang Ylang, de sauge, ...) se réarrange thermiquement ou par action du gel de silice en un mélange d'hydrocarbures.

D'autres transpositions ont été constatées au cours de l'étude de l'huile essentielle de verveine de parfumerie dont les hydrocarbures sesquiterpéniques subissent des altérations,

lors de leur élution sur colonne de silice ou d'alumine basique.

Le passage des constituants d'une huile essentielle sur catharomètre, au cours de l'analyse par C.P.G., ou encore le stockage de cette dernière sont autant d'opérations qui provoquent des phénomènes d'altération [12].

II.1.B. Travaux antérieurs relatifs à l'analyse de l'huile essentielle d'Eucalyptus.

De nombreux travaux ont été effectués sur l'essence d'Eucalyptus intéressant la composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles ou des fruits.

Par entraînement à la vapeur des feuilles d'Eucalyptus Globulus, Cloez [19] obtint en 1870, l'essence d'Eucalyptus Globulus dont il sépara par cristallisation l'Eucalyptol. En 1884, Jans [20] dévoila l'identité de l'Eucalyptol $C_{10}H_{18}O$ et le nomma cinéol.

Depuis, de nombreuses études [21 à 24] ont permis d'élucider la nature de la quasi-totalité des composants de l'essence d'Eucalyptus Globulus. Survolant la littérature sur ce sujet, Boelens [25] cite pas moins de 100 constituants dans l'huile, regroupés dans le tableau II et répartis comme suit : hydrocarbures aliphatiques (0.76%), aldéhydes aliphatiques (0.15 %), monoterpènes (21.15 %), éthers monoterpéniques (66.12 %), alcools monoterpéniques (4%), monoterpènes carbonylés (1.4 %), esters (1.1 %), sesquiterpènes (3.1 %), alcools sesquiterpéniques (1 %).

Tableau II : PRINCIPAUX COMPOSES IDENTIFIES DANS L'HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS GLOBULUS selon Boelens [25].

MONOTERPENES	ALDEHYDES ALIPHATIQUES
α -pinène	3-méthyl butanal
β -pinène	
camphène	ETHERS MONOTERPENIQUES
myrcène	cinéol-1.8
α -fenchène	
pinadiène	MONOTERPENES CARBONYLES
α -phellandrène	α -campholénal
p-cymène	isopinocamphone
limonène	pinocarvone
γ -terpinène	myrténal
terpinolène	verbénone
p-isopropényltoluène	acétyl3isopropylcyclopentène
	carvone
ESTERS	ALCOOLS SESQUITERPENIQUES
isoamylisovalérate	épiglobulol
1,8époxy p-menthyl acétate	globulol
α -terpinyl acétate	β -eudesmol
α -phényl acétate	
phényl éthyl 3-méthyl butyrate	SESQUITERPENES
	gurjunène
ALCOOLS MONOTERPENIQUES	caryophyllène
fenchol	guaiène
transpinocarvéol	aromadendrène
verbénol	humulène
α/γ terpinéol	allo-aromadendrène
bornéol	eremophyllène
terpinèn4-ol	
p-cymène8-ol	
1(7)-8p-menthadiéol	
myrténol	
carvéol	
menthadiéol	

En combinant la C.P.G. analytique et préparative, la chromatographie sur couche mince et les méthodes spectroscopiques (I.R, R.M.N.), les principaux constituants des huiles essentielles extraites des feuilles de cinq espèces d'Eucalyptus acclimatées au Maroc ont été identifiés et

évalués comme suit [26] :

- * E. Globulus (17 composés, 89 % de l'huile),
- * E. Maidenii (17 composés, 86.2 %),
- * E. Sideroxylon (16 composés, 88.9 %),
- * E. Macrorrhyncha (15 composés, 83 %) et
- * E. Salicifolia (13 composés, 91.5 %).

Le cinéol-1.8 est le principal constituant de chacune de ces huiles; sa teneur variant de 47.6 % à 71 % . D'autres composés communs aux cinq huiles ont été identifiés; il s'agit de l' α et du β -pinène, du camphène, de l' α -phellandrène, du p-cymène, du terpinène 1-ol 4 et du globulol.

Garcia Martin [27] faisant également une étude comparative de l'essence d'Eucalyptus Globulus d'Espagne avec celles d'autres essences à eucalyptol, identifia 31 composés dans l'essence d'E.G. dont le d-bornéol et son acétate, l'aldéhyde péryllique, la l-carvone, la d-verbénone, la 3-isopropylidène acétyl - cyclopentanone, l'acétate de myrtényle, l'alloaromadendrène, le lédol et le viridiflorol.

Pascual et coll. [28] identifient l'épiglobulol et Gardoso [29] le S-guaïazulène dans l'essence d'E.G.

Les différences observées dans la composition chimique sont souvent quantitatives et parfois d'ordre qualitatif. Elles proviennent de la variabilité des facteurs tant écologiques que techniques.

II.1.C. Méthodes de séparation et d'analyse des huiles essentielles.

La complexité d'une huile essentielle est telle que, dans bien des cas, nous avons tout intérêt à réaliser un préfractionnement afin d'améliorer la séparation de ses constituants et leur identification par analyses ultérieures.

II.1.C.a. Les méthodes de séparation.

La chromatographie en phase gazeuse, méthode séparative par excellence, serait trop fastidieuse si celle-ci était effectuée directement sur l'huile essentielle. Aussi, des méthodes de fractionnement sont préconisées, parmi lesquelles on citera la distillation sous vide et la chromatographie d'adsorption sur colonne.

II.1.C.a.1. La distillation sous vide.

La distillation est la principale méthode de séparation des constituants d'un mélange liquide. Parmi ses applications, on peut citer l'isolement des composés naturels dont la mise en oeuvre nécessite des conditions particulières. C'est notamment le cas de la séparation d'une huile essentielle dont les composés sont thermolabiles.

La nécessité de travailler sous pression réduite s'impose donc. C'est ainsi que sous une pression de 25 mm de mercure, l'abaissement du point d'ébullition de la plupart des liquides est de l'ordre de 100 à 125°C [30], ce que nous pouvons remarquer sur la figure 3 où est portée l'abaque température -

pression.

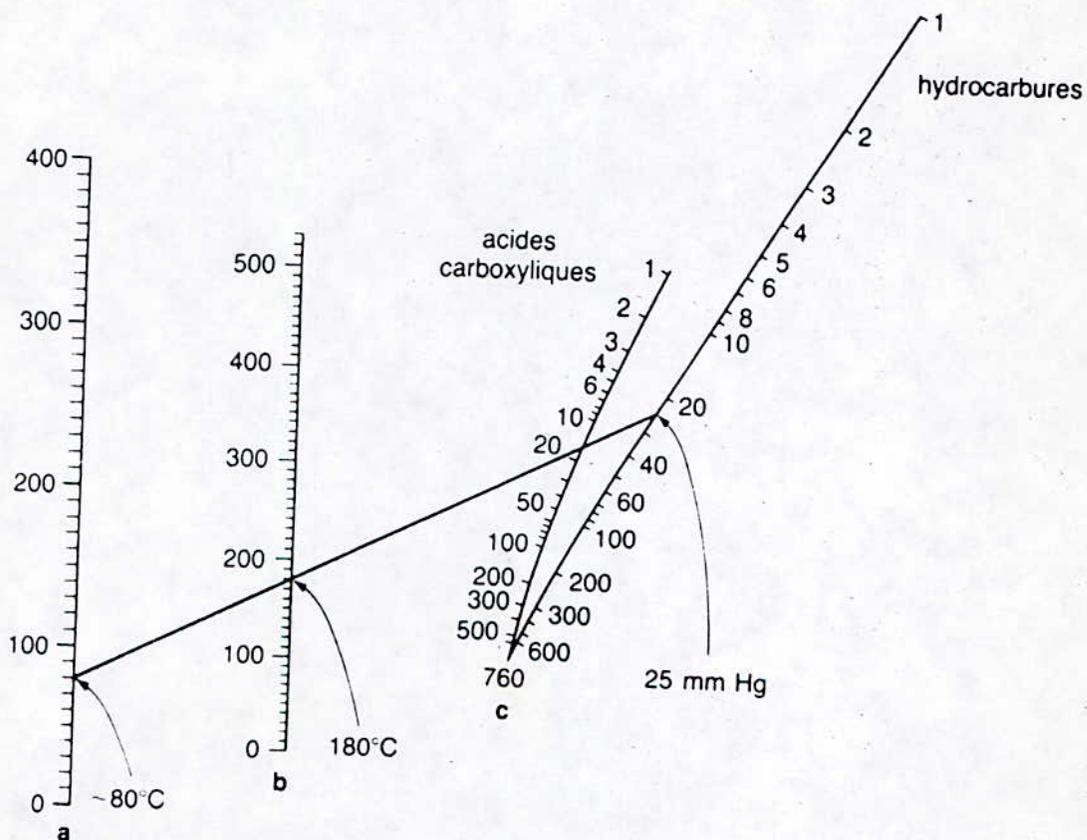


Figure 3: ABAQUE TEMPERATURE - PRESSION.
La détermination graphique d'un point d'ébullition sous pression réduite (colonne a) est effectuée par alignement du point d'ébullition normal (colonne b) avec la pression mesurée (colonne c).

La récupération des fractions peut se faire, soit par suivi de la composition du distillat par l'une des méthodes analytiques de C.P.G. , I.R. , U.V. ou réfractométrie, soit par lecture de la température en tête de colonne. Cette dernière méthode, certe plus facile à réaliser, est cependant moins rigoureuse. La présence de composés à points d'ébullition rapprochés rend difficile la séparation en produits de pureté satisfaisante et la distillation est conduite à l'estime. L'opération doit se faire lentement et le

changement de fraction se fera chaque fois que la température arrive en palier ou quitte un palier .

II.1.C.a.2. La chromatographie d'adsorption sur colonne.

La chromatographie d'adsorption est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases distinctes, l'une stationnaire à grande surface et l'autre fluide et mobile. La séparation des composés entraînés par la phase mobile résulte de leur différence d'adsorption sur la phase stationnaire.

De nombreux travaux ont été consacrés à la mise au point de séparations par chromatographie sur colonne qui, grâce à la diversité de ses phases stationnaires et aux larges gammes de polarités de ses phases mobiles, permet de séparer des composés à points d'ébullition rapprochés difficilement séparables par C.P.G. [31 à 34]. Les phases stationnaires les plus répandues sont les gels de silice [35] et l'alumine [36].

Le fractionnement est réalisé selon la polarité des divers composés, à l'aide d'un ou plusieurs solvants fonctionnant en mode isocratique (composition fixe) ou avec gradient d'éluion (composition modifiée en cours d'analyse). L'utilisation de solvants de polarités croissantes s'adapte bien au fractionnement des huiles essentielles et permet de récupérer différentes classes de fractions : hydrocarbures, esters, cétones, aldéhydes, alcools.

Les phases éluantes les plus courantes sont : l'hexane, le pentane et des mélanges hexane/acétate d'éthyle,

dichlorométhane/acétate d'éthyle. La récupération à la sortie de la colonne se fait par regroupement des fractions de même composition et par évaporation du ou des solvants.

Chaque fraction peut être analysée par C.P.G, H.P.L.C., I.R., U.V., R.M.N. ou plus simplement par chromatographie sur couche mince, technique facile à réaliser mais qui pose le problème de la révélation. En effet, les techniques de chromatographie en phase liquide souffrent de certaines limitations dues essentiellement aux méthodes de détection disponibles [14]. Ainsi, les hydrocarbures monoterpéniques et les alcools correspondants absorbent très peu dans l'U.V. par manque de groupements chromophores. De façon générale, il existe toujours un réactif ou une méthode analytique suffisamment spécifique pour révéler une substance recherchée. Cependant, la présence de groupements fonctionnels multiples dans une huile essentielle nécessite l'utilisation de plusieurs méthodes (U.V., iode, réactifs divers, ...), toutes complémentaires.

II.1.C.b. Les méthodes d'analyses.

Le choix de la méthode analytique à mettre en oeuvre s'est élargi de nos jours, toutefois il dépend des quantités d'huile essentielle disponible pour l'analyse. Parmi les méthodes qui nécessitent des quantités raisonnables, la C.P.G. occupe une place d'élite, son artifice le plus important est l'utilisation des données de rétention dans l'identification des substances, surtout si elle est alliée à d'autres

techniques instrumentales telles que la spectrométrie de masse.

II.1.C.b.1. La chromatographie en phase gazeuse.

C'est à Naves que l'on doit les toutes premières publications sur l'application de la chromatographie en phase gazeuse à l'analyse de la composition chimique d'huiles essentielles [37]. Grâce à cette technique qui a vu à ses débuts, l'utilisation de colonnes remplies puis de colonnes capillaires en verre ou en silice fondue de très grande efficacité, le nombre de constituants séparés s'est considérablement accru.

Le principe même de la chromatographie étant la séparation des constituants du mélange à analyser, les pics du chromatogramme matérialisent cette séparation. Sur une phase stationnaire donnée, chaque composé montre une interaction qui lui est propre et qui variera d'une phase à une autre, d'où l'idée de classer les phases stationnaires en fonction de leur comportement par rapport à certains composés de référence. La base de ce système de classification que l'on doit en tout premier lieu à Rohrschneider puis affiné par Mc Reynolds, utilise les indices de Kovats [38,39].

Ces indices représentent une méthode d'expression des temps de rétention relatifs des produits analysés. Tout pic chromatographique, au cours d'une analyse isotherme, peut être encadré par deux alcanes linéaires, comme le montre la figure 4.

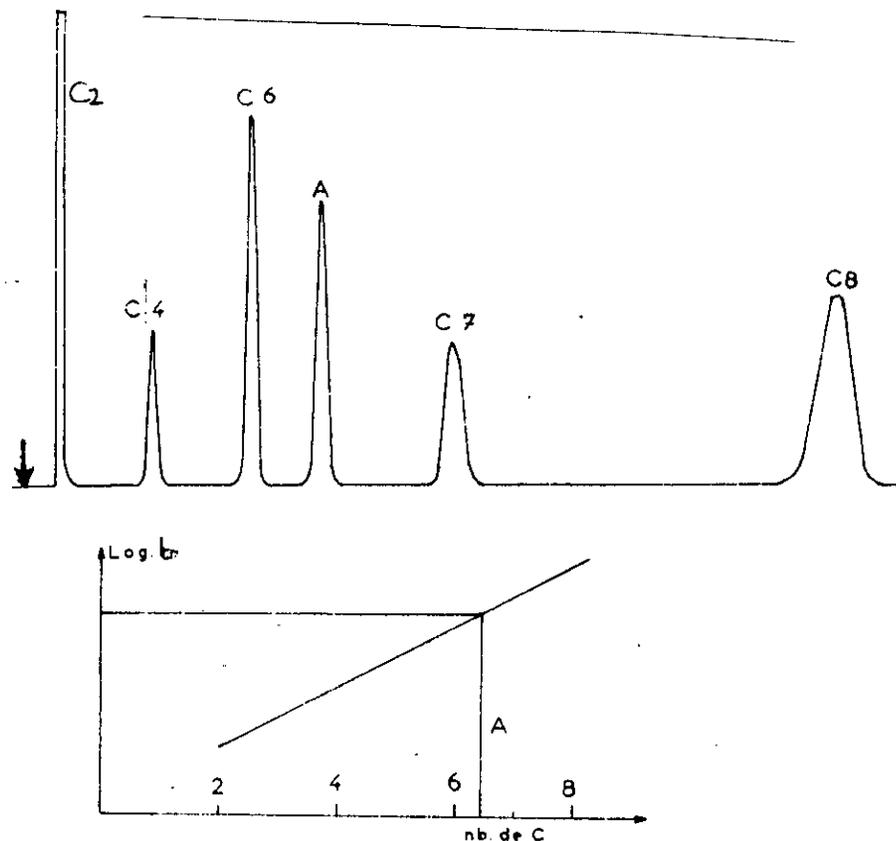


Figure 4: ELUTION D'UN COMPOSE DANS UNE FAMILLE D'ALCANES SATURES.

L'indice de Kovats est alors déterminé selon la relation (1) suivante :

$$I_x = 100 z + 100 [\lg t'_{R,x} - \lg t'_{R,z}] / [\lg t'_{R,z+1} - \lg t'_{R,z}] \quad (1)$$

où

$t'_{R,x}$ désigne le temps de rétention corrigé du constituant x dont on mesure l'indice et $t'_{R,z}$ et $t'_{R,z+1}$ les temps de rétention corrigés des alcanes homologues à z et $z+1$ atomes de carbone. Cette relation est applicable à condition que

$$t'_{R,z} < t'_{R,x} < t'_{R,z+1} .$$

Van den Dool et Kratz [40] ont étendu cette relation aux cas d'éluion en programmation linéaire de température qui s'écrit alors:

$$I_{\text{prog}} = 100z + 100(T_{R,x} - T_{R,z}) / (T_{R,z+1} - T_{R,z}) \quad (2)$$

où .

$$T_R, \text{ température de rétention, s'écrit : } T_R = T_0 + r t_R \quad (3)$$

avec respectivement :

T_0 , la température initiale de la colonne en °C

r , le gradient de température en °C/ mn et

t_R , le temps de rétention en minutes.

Il importe dans ce cas de s'assurer que le logarithme du temps de rétention des n-alcanes utilisés varie linéairement en fonction de leur nombre d'atomes de carbone. Cette linéarité dépend de la vitesse de programmation choisie et de la température initiale [41,42]. Aussi, choisissons-nous de faibles vitesses de programmation comprises entre 1°C et 3°C/mn. Les indices de rétention obtenus dont la précision peut être évaluée à 1 ou 3 unités d'indice sur colonne polaire et à plus ou moins 0.5 ou 1 unité d'indice sur colonne apolaire [43], ont été répertoriés pour un grand nombre de produits .

Cependant, même si le temps de rétention d'un composé est une caractéristique physico-chimique de ce dernier, dans bien des cas, même sur une colonne capillaire, des substances chimiques différentes peuvent présenter le même temps de rétention . Aussi, est-on amené à utiliser d'autres techniques complémentaires.

Les spectroscopies U.V., I.R. et la R.M.N. apportent des renseignements très précieux sur la nature et parfois même sur la structure d'une substance organique; toutefois, ces techniques nécessitent d'isoler la substance à l'état pur. Aussi, est-il souhaitable de disposer d'une méthode

d'identification très sensible qui puisse être couplée à la C.P.G.. La technique de spectrométrie de masse s'est avérée la méthode de choix . En effet , toute substance organique éluée de la colonne chromatographique pénètre directement dans la source d'ions du spectromètre et son spectrogramme de masse est enregistré en quelques secondes.

II.1.C.b.2. Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse.

La spectrométrie de masse reste sans conteste, la technique d'identification la plus couramment utilisée car, en plus des développements récents qui en ont étendu le domaine d'application, elle peut être couplée avec les différentes techniques chromatographiques et rendre de grands services dans l'étude des mélanges complexes tels que les huiles essentielles. Actuellement, les spectromètres de masse les plus couramment employés pour l'analyse des gaz et des composés organiques, utilisent comme sources d'ionisation soit l'impact électronique (E.I.) soit l'ionisation chimique (C.I.).

L'ensemble de l'appareillage de C.G./S.M. est considéré comme l'un des outils d'investigation analytique les plus puissants pour l'identification de substances organiques présentes dans les mélanges les plus complexes. Cependant, même cette méthode présente des contraintes qui peuvent entraver l'identification des molécules séparées.

En effet, il peut arriver que, malgré tous les efforts réalisés pour améliorer la séparation, on se trouve en présence d'un mélange de deux composés qui rend

l'interprétation du spectre obtenu difficile. On est alors contraint de rechercher des conditions chromatographiques permettant de séparer les substances présentes dans le mélange. Lorsque le spectre obtenu correspond à une substance unique, on le compare à ceux répertoriés et on peut raisonnablement considérer la molécule comme identifiée, si les données chromatographiques (indices de Kovats) ne viennent pas contredire l'hypothèse avancée.

Cependant, tout en présentant de grandes similitudes, deux spectres peuvent différer par l'abondance relative de leurs ions. Ceci s'explique par le fait que la fragmentation d'une molécule, dans la source d'un spectromètre de masse, n'est jamais exactement reproductible et peut varier en fonction de la géométrie, de la température ou du type de source [44]. On ne pourra alors qu'émettre en toute probabilité, une hypothèse plus ou moins hardie sur l'identité de la molécule.

Le cinéol-1.8 et la famille monoterpénique représentent près de 90% des composés de l'essence, et leur présence masque celle des composés minoritaires qui peuvent pourtant être de qualité olfactive et thérapeutique importante. Il semblerait qu'un fractionnement s'impose et qu'il pourrait donner du relief à ces composés de faible concentration. Nous avons choisi de procéder à un fractionnement de notre huile par distillation sous vide, suivi d'une séparation sur colonne de gel de silice, pour deux des fractions recueillies.

La distillation sous vide permet de séparer l'huile en diverses familles, selon leurs intervalles d'ébullition. Le tableau IV présenté ultérieurement montre qu'il est possible de séparer notre huile en deux familles : les monoterpènes avec le cinéol-1.8 dont les températures varient de 156°C à 185°C, et les sesquiterpènes avec les composés oxygénés dont les températures vont de 198°C à 261°C. La séparation sur colonne de gel de silice permettrait de séparer les fractions recueillies par distillation, en familles, par affinité chimique. Ces séparations seront suivies d'analyses de ces fractions, par la détermination de leurs propriétés physico-chimiques et des analyses par chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (C.G./S.M.).

Notre étude analytique a été menée sur un échantillon d'huile essentielle d'Eucalyptus Globulus d'Algérie extraite et commercialisée par l'unité ENAFLA de la Chiffa.

II.2.A. Présentation et protocole opératoire des méthodes de fractionnement et d'analyses.

II.2.A.a. La distillation sous vide.

20 g d'huile essentielle d'Eucalyptus Globulus sont soumis à la distillation sous une pression réduite de 25 mm de mercure, dans le montage représenté sur la figure 6 . Le chauffage est assuré par un chauffe-ballon muni d'un régulateur de température. Le ballon de charge est surmonté d'une colonne Vigreux de 20 cm de longueur.

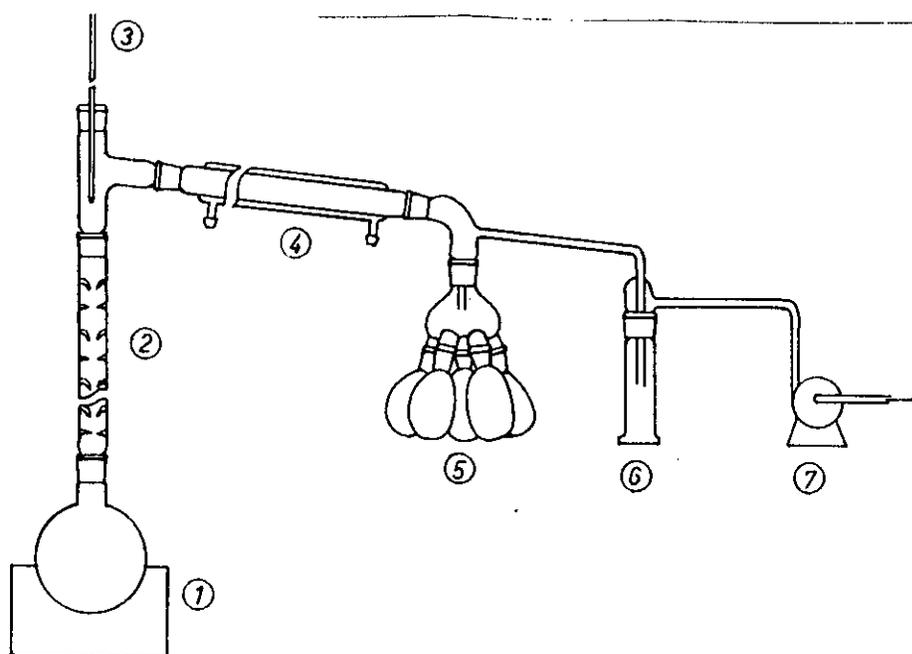


Figure 6 : SCHEMA DU MONTAGE UTILISE POUR LA DISTILLATION SOUS PRESSION REDUITE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS GLOBULUS.

- | | |
|-------------------------|--------------------------|
| 1. Chauffage électrique | 2. Colonne Vigreux |
| 3. Thermomètre | 4. Réfrigérant |
| 5. Collecteur rotatif | 6. Piège à azote liquide |
| 7. Pompe à vide | |

La collecte des fractions se fait chaque fois qu'il y a variation de température en tête de colonne. L'observation des températures nous renseigne sur la nature plus ou moins complexe des vapeurs. Une fois le vide établi, la température de chauffage est augmentée lentement jusqu'à l'obtention de la première goutte de distillat. A cet instant, nous observons une brusque augmentation de température de 60 à 70°C, ce qui nous permet de recueillir la première fraction. Pour une augmentation de 72 à 76°C, nous obtenons la fraction 2, puis la stabilisation à un palier de 78°C nous donne la fraction 3. Au passage de 80 à 81°C distille la fraction 4, puis le palier à 82°C permet de recueillir la fraction 5. La distillation est alors arrêtée pour éviter d'éventuelles réactions de dégradation. Pour les différentes fractions obtenues, nous déterminons leurs propriétés physico-chimiques.

II.2.A.b. La chromatographie d'adsorption sur colonne.

Tous les fractionnements se feront en respectant un rapport de 30 parties de gel de silice pour une partie de mélange à séparer. Le remplissage se fait par voie sèche (la colonne est partiellement remplie de solvant et l'adsorbant en poudre est ajouté par portions successives).

L'échantillon à séparer est disposé au sommet de la colonne de diamètre intérieur 14 mm et de hauteur 800 mm.

Afin de limiter les réactions radicalaires dues à l'exposition à la lumière du mélange à séparer, il est conseillé de travailler avec du gel de silice imprégné de

nitrate d'argent, lors de la séparation de ce dernier.

La colonne remplie de ce support sera protégée par du papier aluminium. Ainsi, 90g de gel de silice MERCK 60 de granulométrie (70-230 mesh) sont mélangés à 100 ml d'une solution de nitrate d'argent à 10%. L'eau est ensuite éliminée à l'évaporateur rotatif. Ce support sera utilisé pour les deux fractionnements que nous réaliserons.

L'élution s'est faite d'abord à l'hexane puis au mélange hexane/acétate d'éthyle dans les rapports volumiques respectifs suivants: (97/3) ; (95/5) ; (90/10) ; (80/20) ; (50/50) et (0/100). Le changement de solvant se fait quand l'analyse par C.C.M. ne révèle pas de composé sortant.

Des fractions de 8ml sont récupérées à la sortie de la colonne et analysées par chromatographie sur couche mince sur des plaques de gel de silice Merck 60 .

La révélation se fait à l'U.V. et à la vanilline. Les fractions similaires sont rassemblées pour être analysées par chromatographie en phase gazeuse.

II.2.A.c. Analyses par chromatographie en phase gazeuse.

Les séparations chromatographiques ont été réalisées sur un appareil de type PYE UNICAM série 304 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et d'un enregistreur-intégrateur de type 4810. Nous avons travaillé sur deux colonnes capillaires de polarité différente, dans les conditions opératoires générales suivantes :

- Colonne capillaire en silice fondue de 25m de long et 0.32 mm de diamètre intérieur, sur les parois internes de

laquelle est greffée une couche de phase stationnaire BP5 équivalente à une P.E.G. 20M , d'épaisseur 0.22 μm ;

- Colonne capillaire en silice fondue gainée d'aluminium de 25 m de long et 0.33 mm de diamètre intérieur, sur les parois de laquelle est greffée une couche de phase stationnaire BP1 équivalente à une OV-101, de 0.25 μm d'épaisseur;

- débit d'hydrogène: 30 ml/mn;

- débit d'air: 300 ml/mn;

- débit de gaz vecteur: 2 ml/mn d'azote;

- programmation de température :

* colonne OV-101 de 80 à 200°C, à raison de 2°C/mn;

* colonne PEG 20M de 70 à 170°C, à raison de 2°C/mn;

- températures:

* injecteur splitless: 200°C;

* détecteur: 300°C;

* quantité injectée: 0.1 μl .

II.2.A.d. Analyses par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (C.G./S.M.).

Les analyses ont été effectuées d'une part, sur un chromatographe Varian 3400 couplé à un spectromètre de masse Finningan Mat Incos 50 à source à impact électronique, dans les conditions chromatographiques suivantes:

-Colonne capillaire SE-30 de 25m de long, 0.32mm de diamètre intérieur et 0.25 μm d'épaisseur;

-Température de l'injecteur: 250°C;

-Programmation linéaire de température de colonne de 70 à 250°C, à raison de 7°C/mn;

-Température du détecteur: 250°C.

et d'autre part, sur un chromatographe en phase gazeuse HP 5890 série II, couplé à un détecteur de masse HP 5971 A dans les conditions opératoires suivantes:

-Colonne capillaire BP1 soit OV-101 (25mx 0.33mmx 0.25µm),

-Colonne capillaire BP5 soit P.E.G.20M (25mx 0.32mmx 0.22µm),

-Débit de gaz vecteur: 0.5ml/mn d'hélium,

-Source d'ionisation: E.I.(70 eV),

-Injecteur: 250°C avec diviseur d'entrée 1/100.

Les conditions chromatographiques sont identiques à celles précédemment utilisées en C.P.G..

II.2.B. Résultats expérimentaux et discussion.

II.2.B.a. Caractéristiques physico-chimiques.

Une première évaluation de l'huile essentielle peut se faire par la détermination de ses caractéristiques physico-chimiques dont les principales sont définies en annexe III .

Pour notre échantillon d'huile essentielle d'Eucalyptus Globulus, nous avons rassemblé dans le tableau III, ces principales caractéristiques physico-chimiques déterminées selon les normes AFNOR [45] .

TABLEAU III: CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS GLOBULUS D'ALGERIE.

Caractéristique	valeurs données par les normes	valeurs Expérimentales
densité d_4^{20}	0.906 à 0.925	0.918
indice de réfraction n_D^{20}	1.4590 à 1.4670	1.4640
pouvoir rotatoire θ_D^{20}	0° à 10°	2°30'
miscibilité dans l'éthanol à 70 % V/V	5	1
teneur en cinéol - 1.8 (%)	min.70 %	78.24

L'examen de ce tableau montre que les valeurs expérimentales obtenues sont conformes à celles données par les normes. Par ailleurs, ces valeurs moyennes observées sont en fait la somme des contributions individuelles de chacun des composés de l'huile aux propriétés physico - chimiques, telles que densité et indice de réfraction, toutes deux additives.

Pour essayer de cerner ces contributions, nous avons regroupé dans le tableau IV les principales caractéristiques (d_4^{20} , n_D^{20} , masse molaire M et température d'ébullition T°C) de certains constituants probables de l'huile essentielle d'Eucalyptus Globulus [46].

TABEAU IV: PRINCIPALES CARATERISTIQUES DE CERTAINS COMPOSES DE L'HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS GLOBULUS.

	Formule brute	n_D^{20}	d_4^{20}	M	T° C
monoterpènes	$C_{10}H_{16}$				
α -pinène		1.4658	0.8580	136.24	156.2
camphène		1.4548	0.8650	136.24	160.0
β -pinène		1.4762	0.8694	136.24	164.0
myrcène		1.4722	0.7972	136.24	167.0
α -fenchène		1.4713	0.8660	136.24	-
α -phellandrène		1.4777	0.8463	136.24	175.0
p-cymène		1.4909	0.8503	136.24	177.1
limonène		1.4746	0.8422	136.24	177.6
δ -terpinène		1.4784	0.8502	136.24	177.2
terpinolène		1.4883	0.8623	136.24	185.0
sesquiterpènes	$C_{15}H_{24}$				
caryophyllène		1.4988	0.9075	204.36	-
aromadendrène		1.4970	0.9120	204.36	261.0
monoterpènes carbonylés	$C_{10}H_{14}O$				
verbénone		1.4961	0.9731	150.22	253.5
carvone		1.4988	0.9593	150.22	231.0
alcools monoterpéniques	$C_{10}H_{18}O$				
α -terpinéol		1.4831	0.9337	154.26	220.0
linalol		1.4636	0.8700	154.26	198.0
ou éther oxyde					
cinéol-1.8		1.4562	0.8998	154.26	178.0

Ainsi, pour l'huile essentielle d'Eucalyptus Globulus composée principalement de cinéol-1.8 (70%) et de monoterpènes, ses valeurs de densité et d'indice de réfraction reflètent bien sa composition. En effet, la propriété d'additivité des densités et des indices de

réfraction fait que chaque composé contribue par sa valeur propre et sa teneur relative dans le mélange, à la valeur globale de la propriété physique considérée.

Ainsi, la connaissance des caractéristiques physiques d'une huile permet de nous renseigner sur sa tendance à être monoterpénique, sesquiterpénique,

A titre d'exemple, l'huile de cyprès [47] riche en composés monoterpéniques et principalement en α - pinène possède une densité égale à 0.8803 et un indice de réfraction de 1.4768. Pour l'huile de cèdre marocain [48], à tendance sesquiterpénique, sa densité varie de 0.945 à 0.969 et son indice de 1.512 à 1.517 .

Il en est de même pour l'huile de cèdre algérien dont les valeurs de densités et d'indices de réfraction varient respectivement entre 0.9487 et 0.9604, et 1.5097 et 1.5155 dénotant sa tendance sesquiterpénique.

II.2.B.b. La distillation sous vide.

Les fractions obtenues par distillation sous pression réduite ont été analysées. Les résultats obtenus en évaluant leurs caractéristiques physiques et leurs teneurs relatives en cinéol-1.8, par C.P.G., sont regroupés dans le tableau V ci-après.

TABLEAU V : RESULTATS D'ANALYSE DES FRACTIONS OBTENUES PAR DISTILLATION SOUS UNE PRESSION REDUITE DE 25 MM DE Hg.

Fraction N°	T °C vapeurs	couleur	masse (g) recueillie	n_D^{20}	d_4^{20}	% de cin. (C.P.G.)
1	60-70	incolore	5.305	1.4576	0.8802	37.67
2	72-76	incolore	1.506	1.4570	0.8839	86.02
3	78	incolore	2.602	1.4568	0.8881	89.12
4	80-81	incolore	5.068	1.4566	0.8905	94.92
5	82	incolore	2.051	1.4560	0.8920	92.57
6 résidu	-	jaune	3.095	1.4822	0.9337	05.03

Les valeurs des propriétés physico-chimiques de ces fractions révèlent une forte tendance monoterpénique des premières fractions qui semblent similaires. La fraction résiduelle est quant à elle, à tendance sesquiterpénique. En effet, les résultats quantitatifs de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse et les chromatogrammes obtenus dont deux exemples sont portés en figures 7 et 8, confirment bien la nature monoterpénique des cinq premières fractions.

En revanche, la sixième fraction résiduelle est riche en composés plus lourds, le pic du cinéol-1.8 étant très atténué.

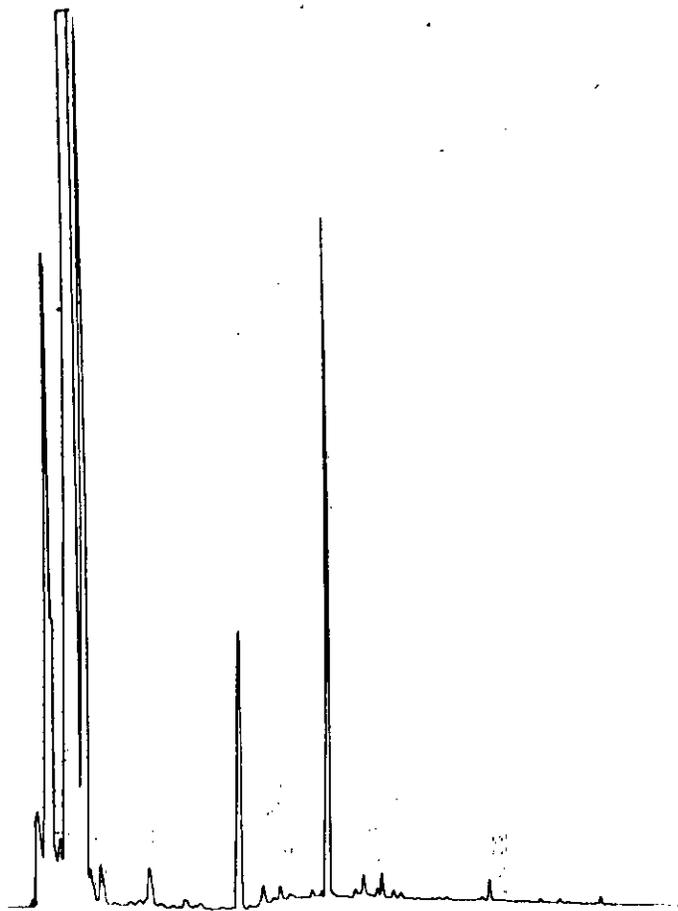


Figure 7: CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION 4 ELUEE SUR COLONNE CAPILLAIRE P.E.G. 20 M DE 25 M DE LONG EN PROGRAMMATION DE TEMPERATURE DE 70 A 170°C A RAISON DE 2°C/MN.

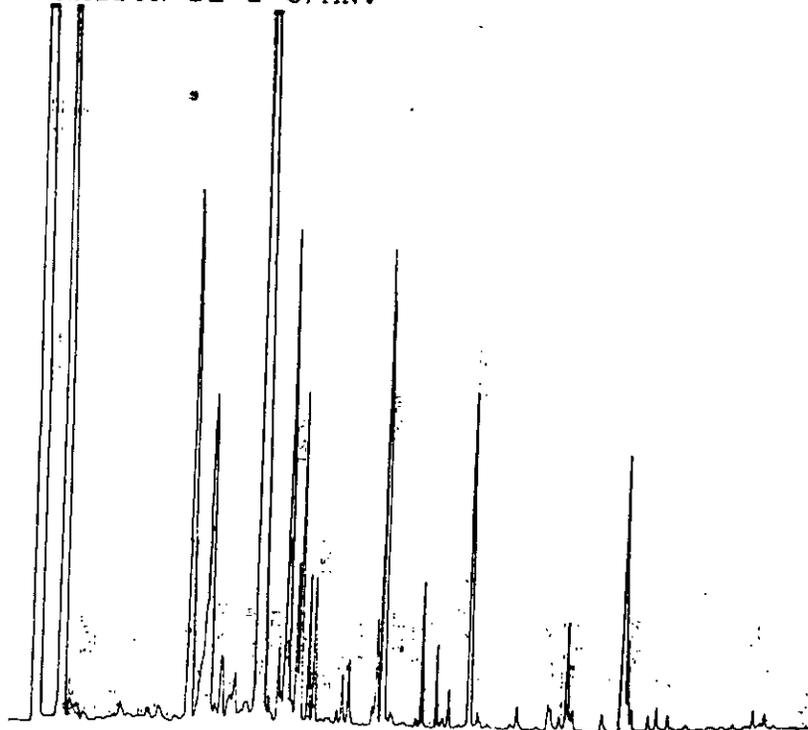


Figure 8: CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION 6 ELUEE SUR COLONNE CAPILLAIRE P.E.G. 20 M DE 25 M DE LONG EN PROGRAMMATION DE TEMPERATURE DE 70 A 170°C A RAISON DE 2°C/MN.

Il semble donc, qu'une distillation bien menée peut aboutir à un fractionnement qui enrichirait l'huile en cinéol-1.8 (jusqu'à 94% pour la fraction 4) et en monoterpènes. La fraction résiduelle appauvrie en cinéol-1.8 (5,03%) et dont les caractéristiques physiques se rapprochent de celles des sesquiterpènes et des composés oxygénés, pourrait servir à d'autres fins (pharmaceutiques ou cosmétiques).

Afin d'approfondir notre étude analytique, nous avons choisi de faire subir aux fractions 4 et 6 qui regroupent à elles seules, tous les composés de l'huile essentielle, une séparation sur colonne de gel de silice.

II.2.B.c. Analyses par C.P.G. et par C.G./S.M..

Les fractions 4 et 6 soumises à la chromatographie d'adsorption sur colonne de gel de silice sont analysées par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. L'identification des divers constituants a été menée simultanément à l'aide de la spectrométrie de masse et des indices de rétention I_{prog} de Van den Dool. Les résultats sont regroupés dans les tableaux VI et VII. Certains spectres de masse sont illustrés par les figures 9 à 16. L'identification s'est faite par comparaison, soit avec des spectres de masse obtenus pour des substances étalons, soit avec ceux répertoriés par Sylverstein [49] ou par Jennings et Shibamoto [50].

TABLEAU VI: IDENTIFICATION DES COMPOSES ISSUS DE LA FRACTION 4 ELUEE SUR P.E.G. 20 M PAR C.P.G. ET C.G./S.M.

N° pic	Composé	Iprog exp	Iprog [50]	spectre de masse (principaux fragments)
1	α -pinène	1039	1039	93, 92, 91, 77, 79, 121
2	camphène	1086	1083	93, 121, 107, 79, 136, 91
3	β -pinène	1124	1124	93, 41, 69, 91, 79, 77
4	Δ^3 -carène	1150	-	93, 91, 136, 77, 121, 119
5	α -phellandrène	1177	1177	93, 91, 136, 90, 77, 119
6	limonène	1203	1206	68, 93, 67, 136, 121, 94
7	cinéol-1.8	1228	1228	41, 139, 81, 83, 71, 154
8	σ -terpinène	1256	1251	93, 136, 91, 121, 77, 119
9-	p-cymène	1270	1272	119, 134, 91, 107, 120, 40
10	linalol	1509	1506	71, 93, 41, 43, 55, 69
11	C ₁₅ H ₂₄ (1)	1561	-	41, 91, 67, 81, 93, 204
12	aromadendrène	1570	1570	40, 91, 93, 79, 105, 161
15	terpinène 4-ol	1626	1628	71, 93, 111, 43, 41, 69
16	α -terpinéol	1663	1661	59, 136, 93, 121, 81, 43
17	sabinol	1682	1683	92, 91, 81, 41, 79, 109
18	bornéol	1697	1698	95, 110, 41, 43, 93, 55

(1) sesquiterpène non identifié.

TABLEAU VII: IDENTIFICATION DES COMPOSES ISSUS DE LA FRACTION
RESIDUELLE 6 ELUEE SUR P.E.G. 20 M PAR C.P.G.
ET C.G./S.M.

N° pic	Composé	Iprog exp	Iprog [50]	spectre de masse (principaux fragments)
10	linalol	1509	1506	71, 93, 41, 43, 55, 69
11	C ₁₅ H ₂₄ (1)	1561	-	41, 91, 67, 81, 93, 204
12	aromadendrène	1570	1570	40, 91, 93, 79, 105, 161
13	fenchol	1576	1574	81, 80, 40, 43, 41, 69
14	caryophyllène	1618	1617	93, 69, 133, 79, 107, 41
15	terpinène4-ol	1626	1628	71, 93, 111, 43, 41, 69
16	α-terpinéol	1663	1661	59, 136, 93, 121, 81, 43
17	sabinol	1682	1683	92, 91, 81, 41, 79, 109
18	bornéol	1697	1698	95, 110, 41, 43, 93, 55
19	géraniol	1795	1797	69, 41, 68, 39, 93, 67
20	globulol	2022	2020	41, 43, 69, 105, 93, 79
21	C ₁₅ H ₂₄ (2)	2051	-	43, 41, 67, 55, 69, 78

(1) et (2) sont des sesquiterpènes non identifiés.

Par ailleurs, nos résultats de spectrométrie de masse nous font également soupçonner la présence de :

- la pinocarvone (Figure 15),
- la transpinocarvone (Figure 16) et
- l'α-farnesène,

composés dont nous ne possédons pas de données de rétention pour leur confirmation.

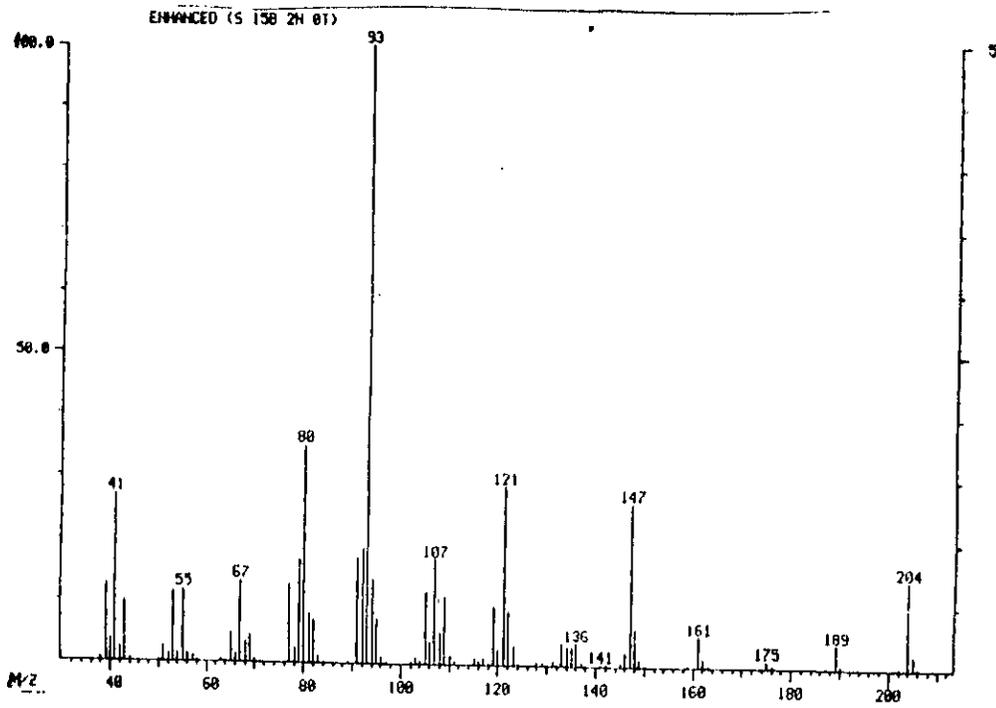


Figure 9 : Spectre de masse du Caryophyllène.

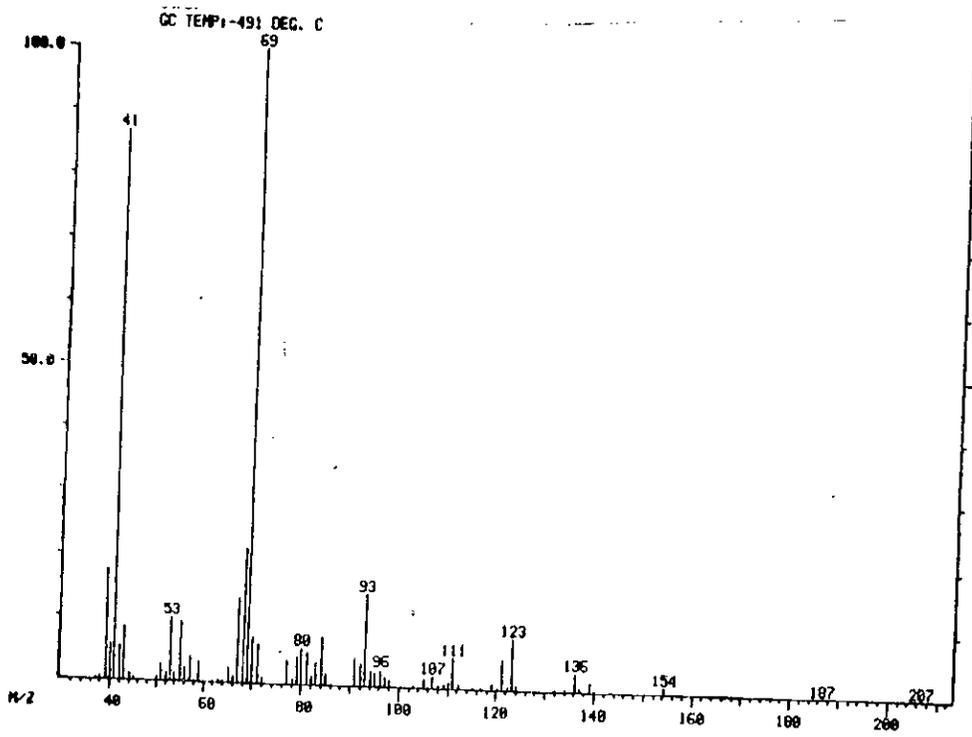


Figure 10 : Spectre de masse du Géraniol.

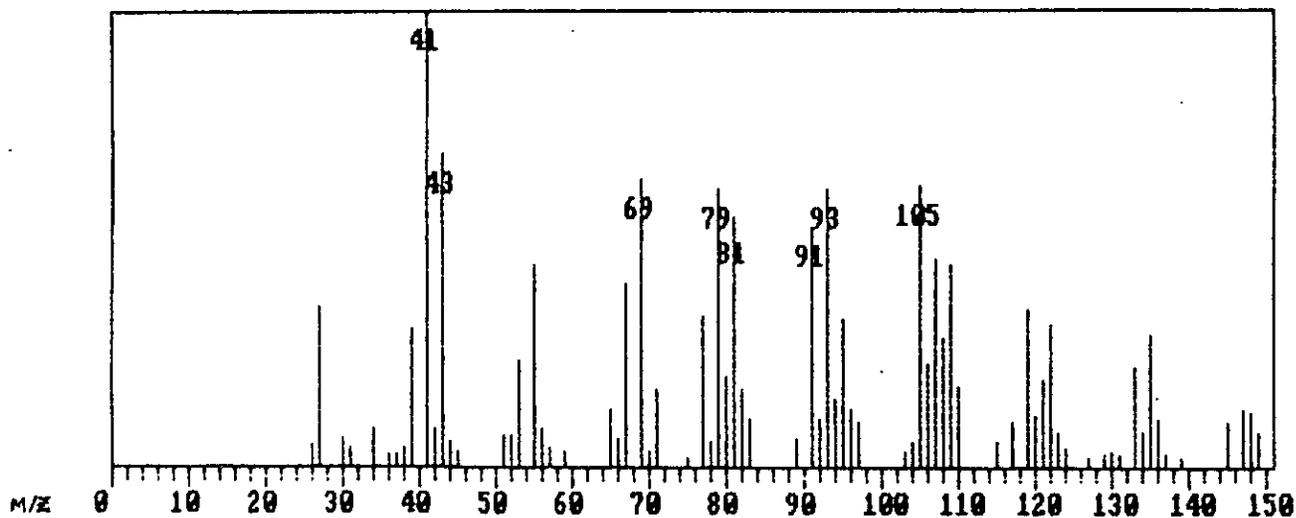


Figure 11 : Spectre de masse du globulol.

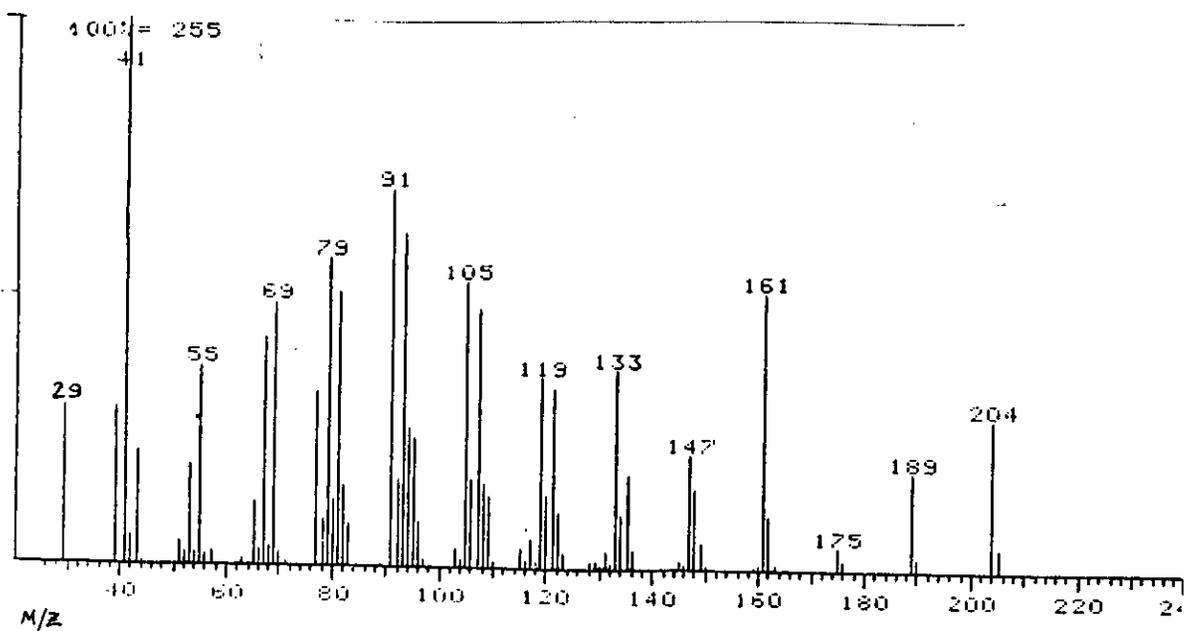


Figure 12 : Spectre de masse de l'aromadendrène.

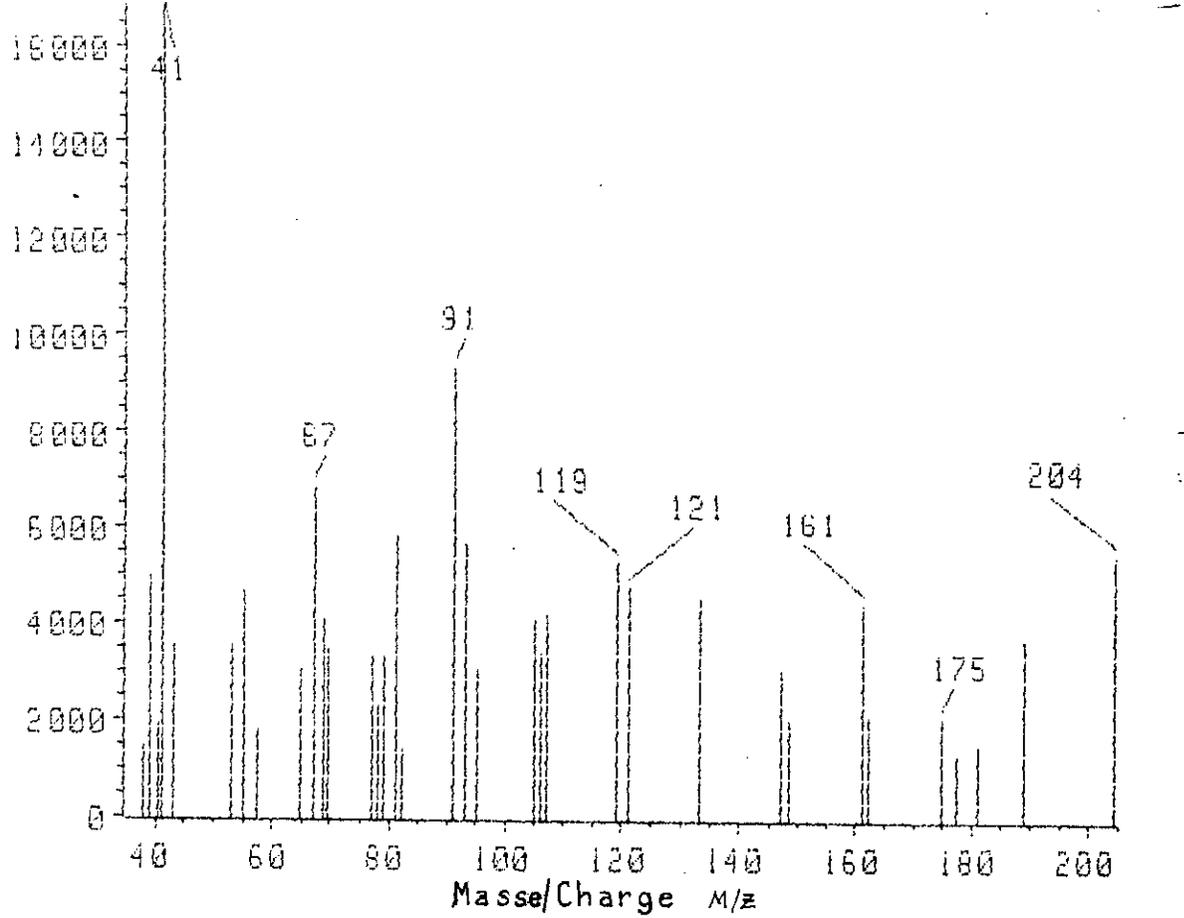


Figure 13 : Spectre de masse du sesquiterpène C₁₅H₂₄ (1).

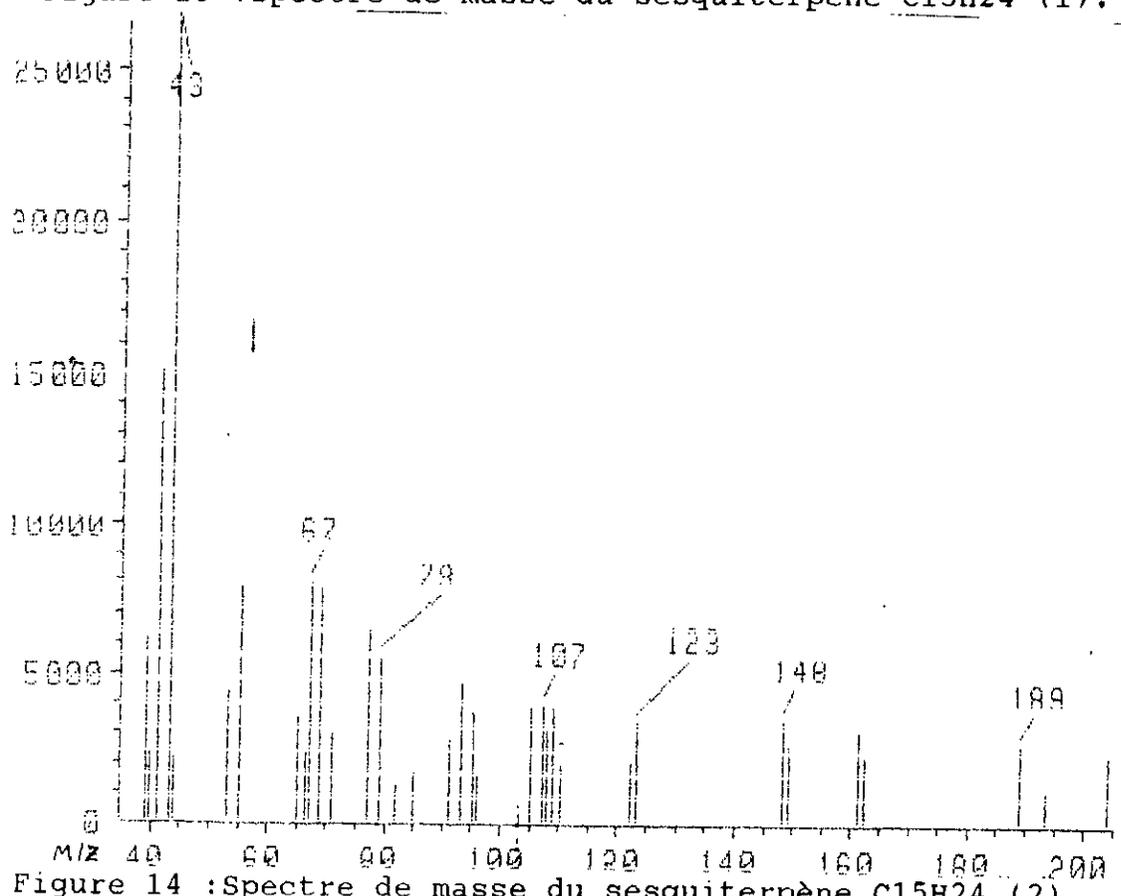


Figure 14 : Spectre de masse du sesquiterpène C₁₅H₂₄ (2).

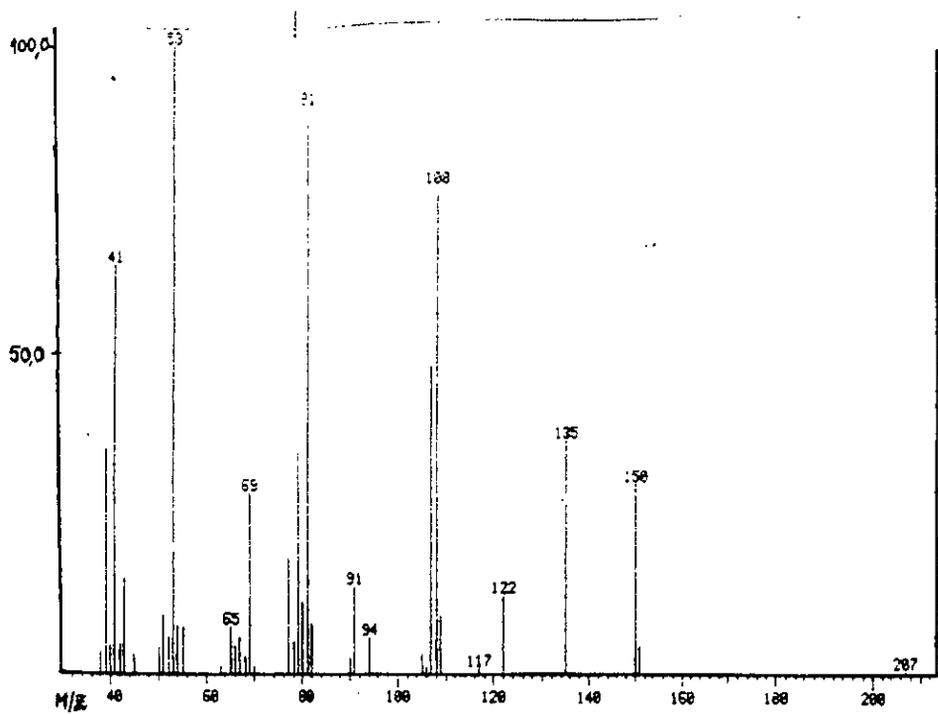


Figure 15 : Spectre de masse de la pinocarvone.

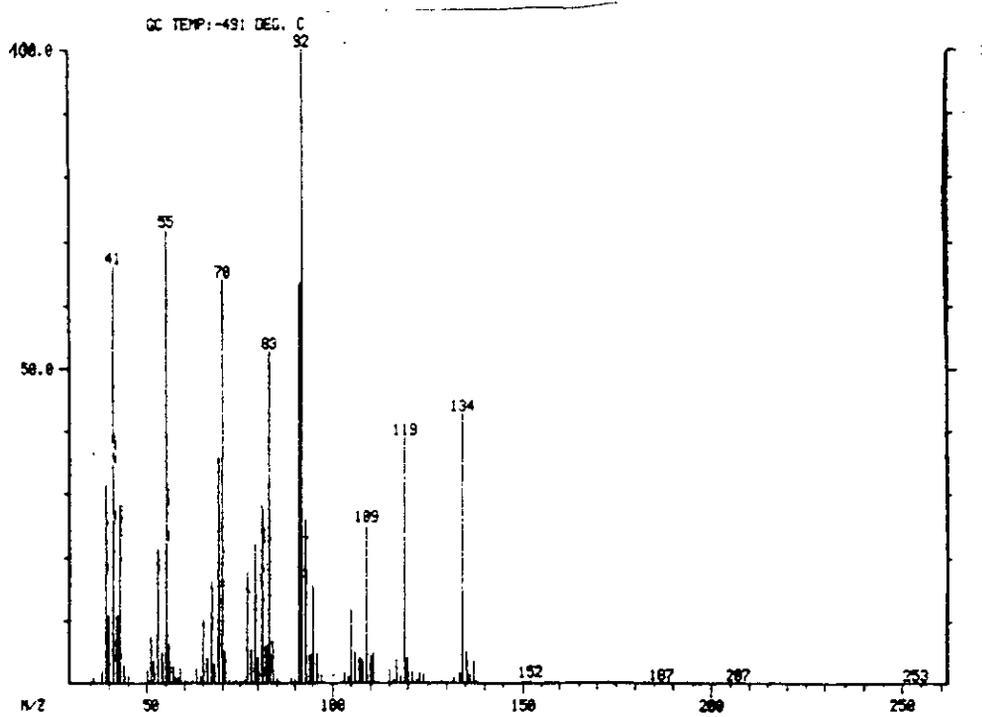


Figure 16 : Spectre de masse de la transpinocarvone.

Les résultats ainsi obtenus par les différentes analyses nous ont amené à faire plusieurs constatations:

Premièrement, l'identification des monoterpènes de la fraction 4 s'est faite principalement sur la fraction de tête obtenue par chromatographie sur colonne, comme l'illustre le chromatogramme ci-dessous de la figure 17.

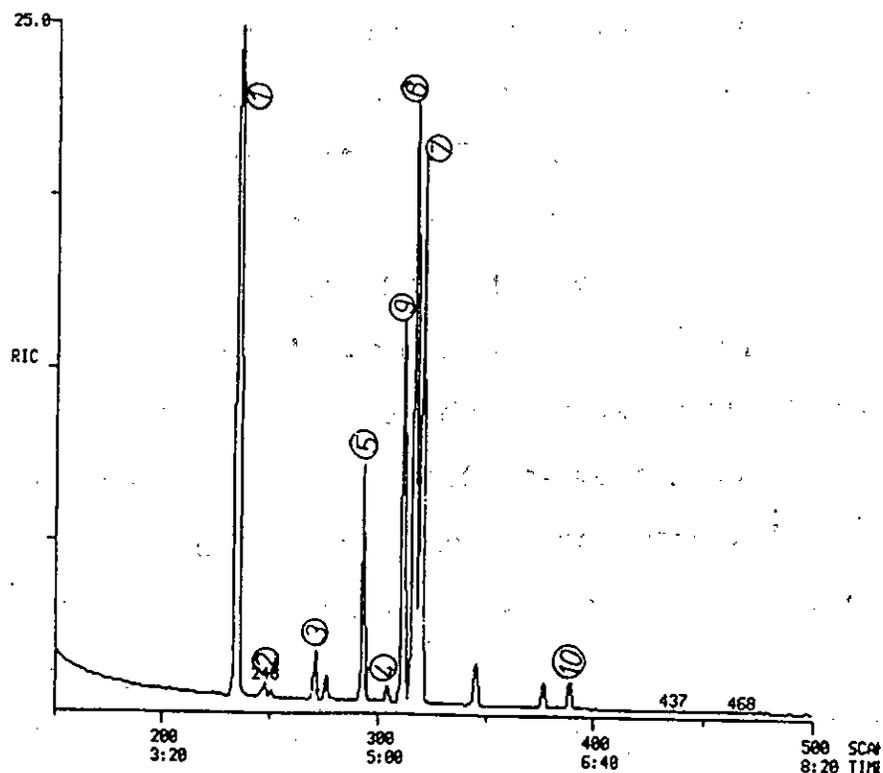


Figure 17: CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION DE TETE OBTENUE APRES CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE DE LA FRACTION 4, ET ELUEE SUR COLONNE SE-30 DE 25 M DE LONG EN PROGRAMMATION DE TEMPERATURE DE 70 A 250°C A RAISON DE 7°C/MN.

Le calcul des indices de rétention révèle des écarts entre les valeurs expérimentales et celles données par Jennings et Shibamoto [50]. Ces écarts sont d'autant plus

fréquents que les composés sont à bas points d'ébullition tels que γ -terpinène (5 unités), camphène (3 unités), limonène (3 unités), p-cymène (2 unités). Si la bibliographie ne prévoit que des écarts d'indice pouvant aller jusqu'à 2, 3 unités, nos résultats présentant de grandes différences ont été confirmés par injection, en C.P.G., de substances étalons. La fraction 6 par contre, riche en composés oxygénés et en sesquiterpènes a pu donner des fractions bien séparées en C.P.G. et des écarts d'indice n'excédant pas 2 unités.

Par ailleurs, il est à noter que plusieurs composés sont communs aux deux fractions 4 et 6. C'est le cas pour du linalol, de l'aromadendrène, du terpinène 4-ol, de l' α -terpinéol, du sabinol, du bornéol, ainsi que d'autres composés qui n'ont pu être identifiés. Ceci souligne l'importance de la distillation sous vide, étape essentielle de la séparation d'une huile essentielle. Celle-ci devra être menée de façon très minutieuse.

Le manque de références a quelque peu empêché l'exploitation des chromatogrammes très riches obtenus pour certaines fractions; aussi la composition proposée ne peut que paraître limitée.

Deuxièmement, la séparation sur colonne de gel de silice menée sur la fraction 4 riche en monoterpènes, ne nous a pas permis d'isoler ces composés monoterpéniques. En effet, l' α -pinène, le camphène, le β -pinène, le Δ^3 -carène, l' α -phellandrène, le limonène, le gamma-terpinène et le para-cymène sont tous rassemblés dans la première fraction de

tête recueillie; c'est dire qu'ils sont tous élués ensemble.

On distingue dans cette famille de monoterpènes, les terpènes bicycliques de type pinanique (bicyclo(3,1,1) heptane:



α -pinène



β -pinène



camphène
[bicyclo(2,2,1)heptane]

et les terpènes cycliques dérivant pour la plupart du cyclohexane à divers degrés d'hydrogénation:



α -phellandrène



p-cymène



limonène



γ -terpinène

Tous de formule brute $C_{10}H_{16}$ et de polarité très proche, ils n'ont pu être isolés sur colonne de gel de silice. Ne pouvant changer de solvant (l'hexane étant parmi les moins polaires dans la série éluotrope) pour améliorer la séparation, nous préconisons une séparation par chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC) dont les phases greffées pourraient se révéler plus efficaces.

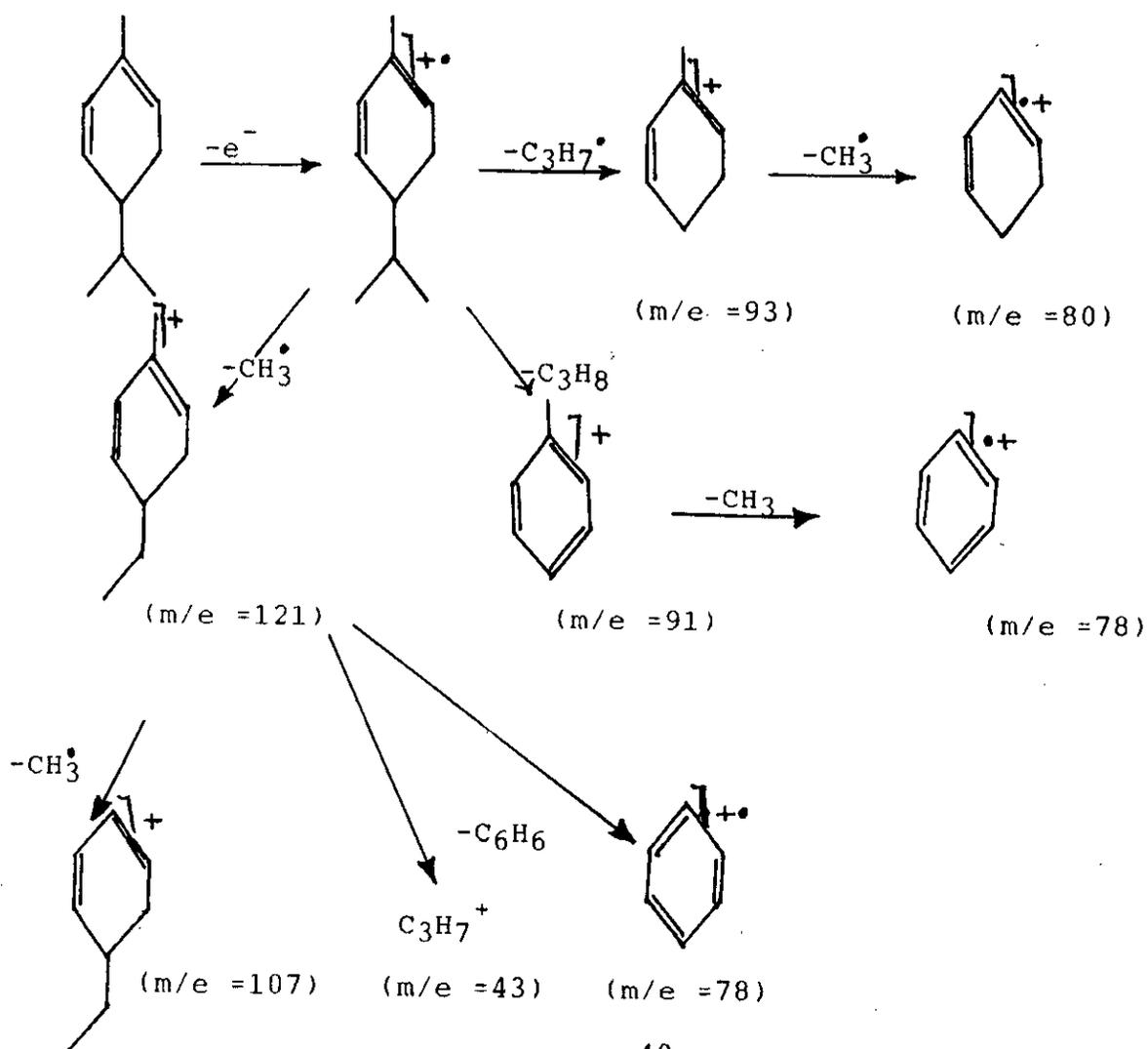
Troisièmement, les analyses par C.G./S.M. telles que reportées dans les tableaux VI et VII, nous permettent de constater que, pour une même famille de composés, la

fragmentation engendre des groupements caractéristiques. Ainsi pour la famille monoterpénique, les fragments les plus souvent observés sont les suivants:

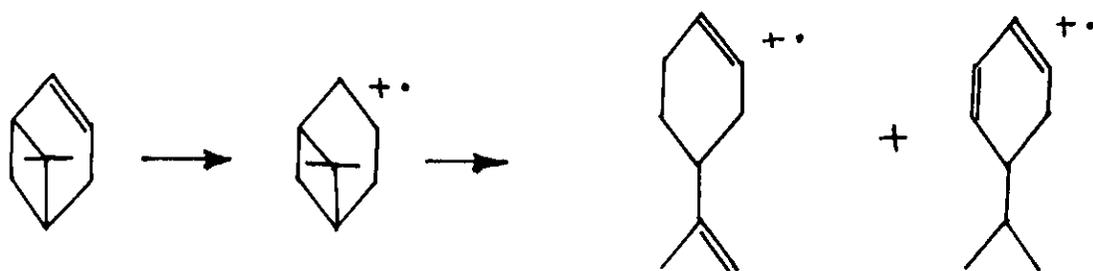
- $C_3H_5^+$ (m/e = 41)
- $C_3H_7^+$ (m/e = 43)
- $[M-C_2H_5]^+$ (m/e = 121)
- $[M-C_3H_7]^+$ (m/e = 93)
- $[M-(C_3H_5-CH_3)]^+$ (m/e = 80)

Un schéma de fragmentation probable pour un monoterpène tel que l' α -phellandrène serait:

M = 136



Dans une étude structurale des monoterpènes pinaniques, Badjah Hadj Ahmed [51] propose des mécanismes de fragmentation pour 25 composés. Les principales voies de décomposition concordent bien avec les fragments donnés par le spectromètre de masse. Par ailleurs, dans le squelette bicyclique, on observe un réarrangement de l'ion moléculaire qui conduit à une espèce monocyclique plus stable.



Les monoterpènes présentent donc un schéma de fragmentation proche de celui de l'alpha-phellandrène.

En ce qui concerne les cétones et les alcools, l'introduction d'un groupement oxygéné exerce une influence importante sur les chemins de fragmentation, les spectres obtenus en sont, par conséquent, plus complexes. Il est donc difficile de proposer un schéma de fragmentation pour ces composés oxygénés, comme il en est de même pour les sesquiterpènes qui ne présentent pas tous une structure chimique uniforme.

CONCLUSION.

Lors de cette étude qualitative, nous avons tenté d'approcher, au mieux la composition de l'huile essentielle d'Eucalyptus Globulus d'Algérie et ce, en procédant à deux fractionnements, le premier par distillation sous pression réduite et le second par percolation sur colonne de gel de silice, dans le but de réduire le nombre de composés par fraction à analyser et par la même améliorer les conditions d'analyse. Les analyses par C.P.G. des différentes fractions, ont été exploitées à l'aide des valeurs calculées d'indices de rétention de Van den Dool, les résultats obtenus confortent ceux acquis par C.G./S.M.. Aussi, dirons-nous que l'utilisation des indices de rétention apporte une réelle contribution à l'identification des constituants d'une huile essentielle.

Toutefois, les tables d'indices répertoriées, étant établies dans des conditions chromatographiques précises, deviennent difficiles à adapter à l'ensemble des mélanges complexes élués par C.P.G.. Aussi, les analyses par spectrométrie de masse viennent en aide à la résolution de tels problèmes, sous réserve d'une bonne connaissance des fragments possibles.

En tenant compte de ces remarques, notre contribution à la connaissance de la composition de l'essence d'Eucalyptus Globulus d'Algérie, se résume aux composés identifiés suivants:

- α -pinène, camphène, β -pinène, Δ^3 -carène, α -phellandrène, limonène, γ -terpinène, p-cymène.

- cinéol-1.8, linalol, terpinèn-4ol, α -terpinéol,

sahinol, bornéol, fenchol, géraniol, globulol.

- aromadendrène, caryophyllène, C₁₅H₂₄ (1) et (2).

Une forte présomption de la présence de pinocarvone, de transpinocarvone et d' α -farnesène dans l'huile a, par ailleurs, été établie.

La prudence menée dans nos conclusions nous a fait éliminer plusieurs composés identifiés par l'une ou l'autre uniquement de ces deux méthodes.

III.1: Etude bibliographique.....	53
Introduction.....	53
III.1.A: L'entraînement à la vapeur.....	55
III.1.B: L'hydrodistillation.....	58
III.2: Etude expérimentale.....	60
Introduction.....	60
III.2.A: Mise au point de l'appareillage d'extraction...	61
III.2.B: Résultats expérimentaux.....	66
III.2.B.a: Rendements d'extraction.....	69
III.2.B.a.1: Influence de la masse M de végétal et de la puissance de chauffe P sur le rendement en huile essentielle R.	69
III.2.B.a.2: Influence de l'état de la plante sur le rendement en huile essentielle R.	73
III.2.B.a.3: Influence du mode d'extraction sur le rendement en huile essentielle R.	77
III.2.B.b: Influence des paramètres d'extraction sur la composition de l'huile essentielle.....	79
III.2.B.b.1: Mode d'extraction.....	79
III.2.B.b.2: Etat de la plante et son degré de division.....	83
III.2.B.b.3: Evolution du pourcentage en cinéol-1.8.....	87
CONCLUSION.....	90

CHAPITRE III :

PROCEDES D'EXTRACTION

III.1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.

Introduction

Au sens strict de leur obtention, les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés organiques obtenus :

- par distillation à la vapeur d'eau de végétaux frais ou secs [10],
- par extraction par solvant à froid (enfleurage) ou à chaud (macération) [52],
- par extraction au dioxyde de carbone liquide ou supercritique [53,54],
- par extraction au foranne 113 (trichloro 1,1,2 trifluoro 1,2,2 éthane) [55].

L'essence parfumée peut exister soit dans la plante entière (thym, lavande, romarin), les pétales de fleurs (rose, violette, jasmin, tubéreuse, ylang-ylang), les feuilles (géranium, patchouli, lemon grass), les racines (iris, ail, valériane), le bois (santal, cèdre), le fruit (orange, citron, coriandre), la semence (anis), ou dans les sucs résineux (térébenthine de la gemme de pin) [56].

Ces différentes parties de la plante mettent en oeuvre des procédés d'extraction différents, chacun d'eux marquant de son empreinte, la composition chimique de l'essence obtenue [57,58].

La majorité des huiles essentielles est obtenue par distillation à la vapeur d'eau. On distingue :

- l'hydrodistillation (water distillation),
- l'hydrodistillation couplée à la distillation à la vapeur d'eau (water and steam distillation),
- la distillation à la vapeur d'eau ou entraînement à la vapeur (steam distillation).

Le choix du procédé est limité par des normes liées à l'utilisation industrielle des extraits. Nous nous intéresserons, particulièrement, à l'hydrodistillation et à l'entraînement à la vapeur, tous deux préconisés pour les extraits de feuilles et de tout matériel végétal pouvant être réduit en poudre (bois, branche, feuille, graine, racine,...) [10]. Les normes françaises et internationales définissent, comme méthode d'extraction pour l'essence d'Eucalyptus Globulus, l'entraînement à la vapeur [45].

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés volatils, liquides et solides présents en proportions plus ou moins importantes. Chaque composé est caractérisé par sa tension de vapeur à la température du milieu. L'intensité de l'odeur émanant d'une plante aromatique est la manifestation de cette volatilité, et chaque composé apporte une contribution relative à l'arôme global. La distillation est définie comme la séparation des composés d'un mélange de deux ou plusieurs liquides, basée sur leurs différences de volatilité [10].

Pratiquement, cette séparation se fait, soit par immersion de la plante dans l'eau et en portant le tout à ébullition

(hydrodistillation), soit en faisant passer un courant de vapeur d'eau à travers la plante (entraînement à la vapeur).

L'huile essentielle est emprisonnée dans les glandes et diffuse à travers les tissus de la plante, jusqu'à la surface pour être entraînée par la vapeur d'eau.

III.1.A: L'entraînement à la vapeur d'eau.

Les phénomènes régissant l'entraînement à la vapeur sont complexes et peu connus à ce jour. Tous les travaux semblent se référer à la théorie de Von Rochenberg reprise par Guenther, dans son ouvrage sur les huiles essentielles.

Selon Von Rochenberg [59] et Guenther [10], le mode de récupération de l'huile essentielle à partir des cellules végétales, au cours de l'entraînement à la vapeur, suit deux processus : l'osmose ou la diffusion libre.

Le terme diffusion désigne un déplacement des différentes substances jusqu'à l'équilibre du système, déplacement qui serait dû au mouvement des molécules à l'intérieur des tissus de la plante, sous l'effet de la chaleur.

Les échanges de vapeurs (eau ou huile essentielle) à travers les tissus de la plante dépendent de la perméabilité de ces derniers. Des études microscopiques [10] semblent prouver que les parois cellulaires sont imperméables et emprisonnent les huiles essentielles, aux températures ordinaires. Seule une faible quantité de composés volatils arrive à s'échapper.

Au cours de l'entraînement à la vapeur, les conditions de température et de pression augmentent considérablement le

mouvement des molécules dans la plante. Par ailleurs, d'après les résultats d'un travail non publié [60], l'extraction solide-liquide, en milieu aqueux et à régime élevé de température, provoque une augmentation synchrone, dans chaque cellule, de la perméabilité de la membrane cytoplasmique, sous l'influence de la chaleur. Ce phénomène, appelé dénaturation cellulaire, apparaît lorsque la température choisie dépasse le seuil de stabilité thermique des protéines composant la membrane cytoplasmique, sans toutefois exercer de dégradation de la texture du végétal ou de l'extrait.

Cette hypothèse expliquerait les phénomènes de diffusion ou migration des composés de l'huile essentielle qui, ayant acquis une énergie suffisante, s'insinuent à travers la paroi cellulaire, par effet d'osmose jusqu'à la surface de la plante où ils seront entraînés sous forme d'azéotropes par la vapeur d'eau.

Toujours d'après Rothenberg, à la température d'ébullition de l'eau, une partie des composés volatils de l'huile sont solubilisés dans l'eau qui aurait pénétrée dans les tissus de la plante. La solution aqueuse ainsi obtenue diffuse jusqu'à la surface de la plante.

Une étude plus récente faite sur des graines [61] confirme l'existence de deux étapes: osmose dans le cas d'un matériel végétal intact, les parois cellulaires ralentissant la cinétique d'extraction, et diffusion libre dans le cas d'un matériel broyé, le broyage détruisant toute barrière entre l'huile essentielle et la vapeur d'eau.

Les composés de l'essence contenue dans les glandes : terpènes, produits oxygénés, sesquiterpènes,... ont leurs tensions de vapeur propres, à la température du milieu, et leurs solubilités propres dans la vapeur d'eau condensée dans les glandes. La vitesse d'entraînement de ces composés dépendra de l'état du végétal.

Si les cellules sont intactes (matériel végétal non découpé), le mouvement des molécules est ralenti par la présence des parois cellulaires; aussi les constituants distilleront dans l'ordre de leurs solubilités dans l'eau chaude. Dans ce cas, le phénomène prédominant est l'osmose, la plus grande partie de l'huile n'arrive à la surface qu'après une étape lente de diffusion à travers les parois cellulaires, étape qui régit donc la vitesse d'extraction.

Lorsque le matériel végétal est finement découpé, les parois cellulaires sont détruites et l'entraînement de l'huile se fait exclusivement par diffusion libre. Dans ce cas, les constituants de l'huile distillent dans l'ordre de leurs volatilités [59]. Le processus de distillation est accéléré et la durée totale d'extraction peut ainsi être considérablement réduite. Le recours au découpage est donc conseillé; il diminue le chemin de l'essence, à travers le tissu de la plante, jusqu'à la surface et évite les phénomènes de diffusion à cinétique lente.

D'autre part, d'après Garner [58], il semblerait que, pour un matériel végétal intact, les composés polaires soient entraînés plus vite que les composés apolaires. Ainsi, les hydrocarbures monoterpéniques sortiraient après les alcools

monoterpéniques. Or, la considération des températures d'ébullition n'explique pas cet ordre de sortie. Seule la théorie de Guenther [10] trouverait une interprétation de ce phénomène. En effet, pour les composés oxygénés plus solubles dans l'eau, la vitesse de diffusion est plus grande. En revanche, la cinétique d'extraction des composés volatils moins solubles dans l'eau est ralentie. Ces résultats prouveraient que les composés de l'huile se solubilisent dans la vapeur d'eau à l'intérieur de la plante.

III.1.B: L'hydrodistillation.

La matière végétale est mise dans ce cas, en contact direct avec l'eau bouillante. Procédé particulièrement brutal, puisque la plante est immergée en moyenne pendant trois heures, dans l'eau maintenue à 100°C. Ces conditions expérimentales sévères engendrent des réactions de décomposition de certains composés terpéniques (hydrolyse, élimination, cyclisation, réarrangement). Ces réactions dépendent de l'acidité de l'eau dans laquelle la plante est immergée. Or, en milieu aqueux le matériel végétal développe un pH entre 4 et 7 [62], en présence d'eau et à température élevée, les esters réagissent avec l'eau et forment les alcools et acides correspondants. Ainsi donc, le pH des eaux de distillation est un paramètre important à maîtriser [63,64].

Dans les huiles riches en acétate de linalyle (lavande, bigaradier, sauge scarlée,...), Crabalona et Naves [65] ont observé l'apparition de composés terpéniques tels que le limonène, le myrcène, le terpinolène, des alcools et des

esters qui ne doivent leur origine qu'à la dégradation de l'acétate de linalyle, au cours de l'hydrodistillation. Plusieurs autres travaux ont prouvé l'altération de certains composés terpéniques, en milieu acide [66,67].

D'autre part, le temps ou la durée d'hydrodistillation n'est pas un paramètre de moindre importance, pour la qualité de l'extrait obtenu. Le contact prolongé de la plante avec l'eau, fait durer l'effet de la température et augmente les risques de réarrangements des molécules.

L'étude de ces deux paramètres, que sont le pH et le temps d'hydrodistillation, ne doit donc pas être menée de façon indépendante, car le rôle néfaste de l'acidité sera d'autant plus perçu que les composés sont entraînés lentement.

III.2. ETUDE EXPERIMENTALE.

Introduction

Dans le domaine de la distillation des plantes aromatiques, les techniques classiques d'entraînement à la vapeur d'eau sont fort bien connues, mais ont été peu travaillées.

Le principe de la distillation en alambic classique repose sur le passage d'un flux ascendant de vapeur, au travers d'une masse de plantes contenue dans une cuve étanche et reposant sur une grille perforée. La vapeur se charge progressivement d'huile essentielle et s'échappe par un orifice pratiqué dans la partie supérieure de l'appareil; cette vapeur est ensuite condensée.

Cette technique très ancienne, présente l'avantage d'une grande rusticité et d'un emploi facile, mais présente aussi l'inconvénient principal d'être consommatrice d'énergie et de main d'oeuvre, car il est impératif de maîtriser la régularité de la production de vapeur et par la même, la qualité et le rendement de la distillation.

C'est cependant, ce principe de base qui a permis l'initiation d'autres techniques utilisées aujourd'hui. En fait, l'investissement dans un matériel d'extraction se décide aussi bien sur un critère financier que technique. Il n'y a pas de matériel polyvalent, il y a des solutions souples ou adaptées.

L'appareillage que nous avons utilisé est de conception très simple adapté aux moyens existants. Nous avons eu à

compléter le montage par l'installation d'une chaudière électrique munie d'un système de régulation permettant d'avoir des débits de vapeur stables.

III.2.A. Mise au point de l'appareillage d'extraction.

La génératrice de vapeur et l'extracteur, parties principales de l'appareillage, ont été conçus et réalisés aux départements de Génie chimique et Génie mécanique de l'E.N.P. Alger [68,69,70].

La vapeur d'eau nécessaire à l'extraction est produite par une chaudière de capacité 125 l et dirigée vers l'extracteur. Le corps de la chaudière représentée sur la figure 18, est un cylindre réalisé en acier inoxydable résistant à la corrosion. Il se termine à sa partie supérieure, par une conduite de vapeur en forme de L et à sa partie inférieure, par une conduite en acier doux pour l'alimentation en eau. En outre, la chaudière est munie d'accessoires de sécurité, en l'occurrence d'un manomètre, d'une soupape de sécurité, d'un indicateur de niveau et d'un thermomètre. La chaleur nécessaire à la vaporisation de l'eau est assurée par deux types de résistances immergées:

- Deux résistances de 2 kw chacune, de marque Candy,
- Quatre résistances de 4 kw chacune, de marque Eltron Ltd.

La puissance totale utile ainsi disponible est de 12kw alimentée en 220 V.

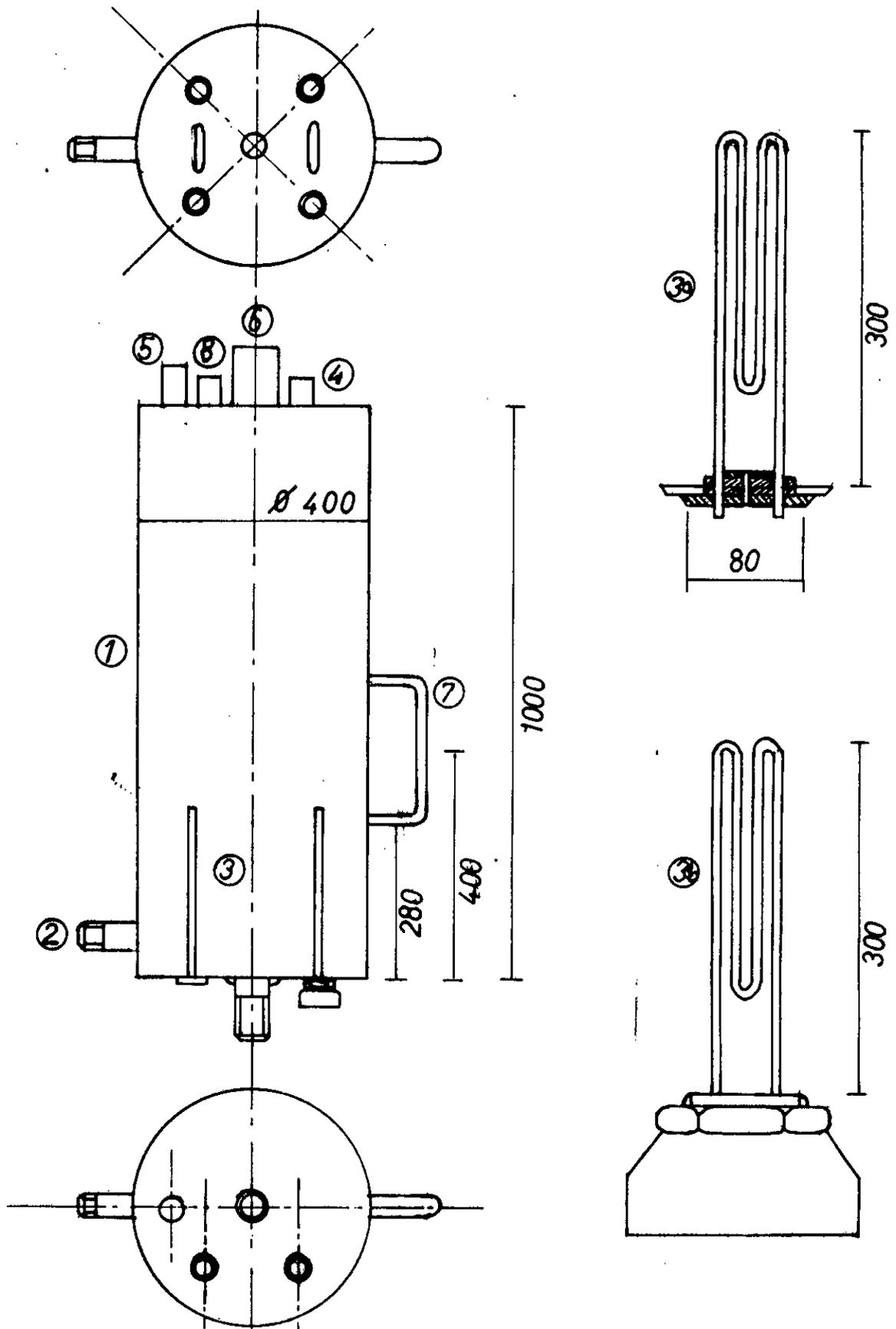


Figure 18 : SCHEMA DE LA CHAUDIERE

- | | |
|--|---|
| 1. Corps de la chaudière | 2. Robinet d'alimentation d'eau |
| 3.a: résistance électrique type Candy | |
| 3.b: résistance électrique type Eltron Ltd | |
| 4. thermomètre | 5. manomètre |
| 6. sortie de vapeur | 8. système de régulation muni de sa soupape de sécurité |

Dans le souci de limiter les pertes de chaleur, une couche de liège de 6 mm recouvre le corps de la chaudière. Le paramètre débit de vapeur étant primordial pour assurer une distillation rigoureuse, un système de régulation automatique a été réalisé et monté sur la chaudière, afin de limiter les fluctuations de débit.

L'extracteur, tel que représenté sur la figure 19, est composé de deux parties : un alambic où se déroule la distillation et un condenseur où les vapeurs chargées d'huile essentielle sont condensées et récupérées dans un cylindre de recettes.

L'alambic ou cucurbite est constitué d'un cylindre de diamètre légèrement inférieur à sa hauteur et muni de deux grilles servant de support au matériel végétal. Afin de nous assurer d'un contact optimal entre la plante et la vapeur, nous avons adapté des plateaux en cuivre grillagés dont les dimensions des mailles sont de 1 x 1 cm.

A l'intérieur du cylindre est disposé un distributeur de vapeur enroulé en spirale. Celui-ci est un tube de cuivre muni de trous permettant une répartition uniforme de la vapeur dans la cucurbite. L'alambic se termine à sa partie supérieure, par un chapiteau tronconique muni d'un col de cygne (tube légèrement recourbé descendant avec une faible pente vers le condenseur) et à sa partie inférieure, par une calotte hémisphérique munie d'un robinet de purge permettant l'évacuation des eaux de condensation.

Par ailleurs, une double paroi a été prévue pour le corps de l'alambic, dans laquelle est disposé un second distributeur

de vapeur qui chauffe ainsi les parois internes de l'alambic. Ceci permet de minimiser la condensation des vapeurs à l'intérieur de la cucurbite et de chauffer l'eau dans le cas où la distillation mixte ou l'hydrodistillation sont utilisées. Pour éviter que les vapeurs chargées d'huile ne se condensent dans le chapiteau, celui-ci est enveloppé d'amiante.

A la sortie du col de cygne, les vapeurs arrivent au niveau du condenseur qui est composé d'un bac de réfrigération cylindrique en cuivre muni d'un serpentín en cuivre enroulé en spirale. Il comporte une entrée et une sortie d'eau de refroidissement et, à sa partie inférieure, la sortie du serpentín pour les condensats.

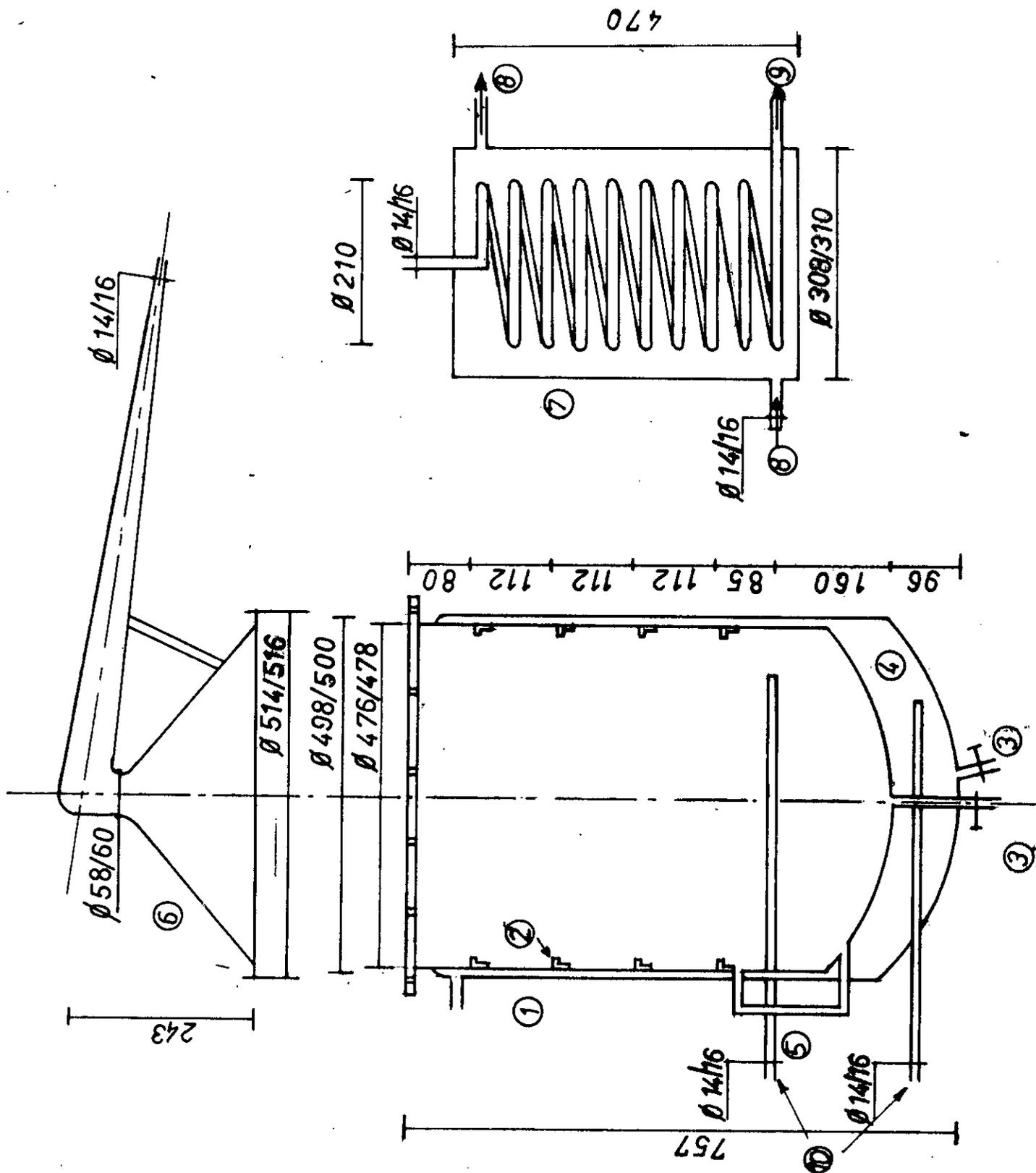


Figure 19 : SCHEMA DE L'EXTRACTEUR

- | | |
|-------------------------|----------------------------------|
| 1. Alambic | 2. Ergots (supports de plateaux) |
| 3. Robinets de vidange | 4. Double paroi |
| 5. Indicateur de niveau | 6. Chapiteau tronconique |
| 7. Condenseur | 8. Entrée et sortie |
| 9. Sortie du condensat. | 10. Distributeur de vapeur. |

III.2.B. Résultats expérimentaux.

Les extractions ont été réalisées à l'aide de l'appareil décrit en III.2.A. L'optimisation de certains critères d'ordre qualitatif et/ ou quantitatif, et donc économique, passe par la maîtrise de paramètres d'extraction dont les plus importants sont

- La quantité de vapeur,
- La durée d'extraction,
- La partie et l'état de la plante.

Nous avons choisi de cerner ces paramètres, en suivant l'évolution du rendement et de la composition de l'huile essentielle extraite, en fonction de la durée d'extraction et ce, par deux méthodes:

l'entraînement à la vapeur et l'hydrodistillation.

Les expériences ont été réalisées sur des feuilles d'Eucalyptus Globulus cueillies aux Pins Maritimes (El-harrach) et parfaitement identifiées par le département de botanique de l'Institut National Agronomique d'Alger.

Les taux d'humidité déterminés par la méthode de Dean et Starck [71] (cf annexe IV) et rassemblés dans le tableau VIII, ne varient pas au bout de 24 heures. En effet, les feuilles cueillies en décembre 1990 ont été conservées dans un endroit aéré, non ensoleillé et à des températures comprises entre 9 et 11°C. Les extractions ont été effectuées le lendemain de chacune des cueillettes, de sorte que le paramètre taux d'humidité est resté constant, pour tous nos échantillons.

TABEAU VIII: VARIATION DU TAUX D'HUMIDITE EN FONCTION DU TEMPS.

Temps de séchage	24 h	48 h	8 jours	15 jours	30 jours
Taux d'humidité%	33.9	33.9	27.4	21.4	15.9

Des travaux antérieurs [72] nous ont permis de limiter la durée d'extraction à 4 heures, temps au bout duquel le rendement devient très faible.

La masse de végétal à traiter est déposée à l'intérieur de l'extracteur. Pour l'entraînement à la vapeur, les feuilles sont déposées et uniformément réparties sur les deux plateaux. Pour l'hydrodistillation, les feuilles sont immergées dans l'eau, au bas de l'alambic. La vapeur d'eau ascendante entraîne l'huile essentielle.

L'extraction est menée avec une puissance de chauffe choisie et nous récupérons le distillat, pendant 4 heures. L'eau chargée d'huile essentielle est ensuite relarguée par addition de NaCl et l'essence est extraite à l'éther de pétrole (fraction 35 -70°C), puis séchée sur sulfate de sodium anhydre. Le solvant est évaporé sous vide dans un évaporateur rotatif.

La détermination des rendements d'extraction a été faite par simple pesée de l'huile extraite et ramenée à la masse de feuilles séchées utilisées. Il est bon de ramener le rendement R à la masse de plante séchée, afin de pouvoir comparer les valeurs de R entre elles.

Afin d'être fixés sur les régimes du flux de vapeur, nous avons mesuré les débits Q de distillat pour différentes

puissances de chauffe P choisies 6kw ,8kw et 10kw. Les résultats sont regroupés dans le tableau IX et représentés sur la figure 20.

TABLEAU IX: DEBITS DE DISTILLAT Q EN LITRES/HEURE POUR DIFFERENTES PUISSANCES DE CHAUFFE P CHOISIES.

t (mn)	5	10	15	30	45	60	90	120
P = 6 Kw	1.53	1.97	2.24	2.28	2.42	2.48	2.93	2.93
P = 8 Kw	4.34	5.07	5.29	5.71	5.71	5.71	5.71	5.71
P = 10 Kw	4.72	5.17	6.27	7.66	7.66	7.66	7.66	7.66

Le régime permanent étant atteint au bout de 30mn en moyenne, nous avons ainsi choisi de faire des prélèvements séquentiels au bout de 30 mn, 60 mn, 90 mn, 120 mn, 180 mn et 240 mn .

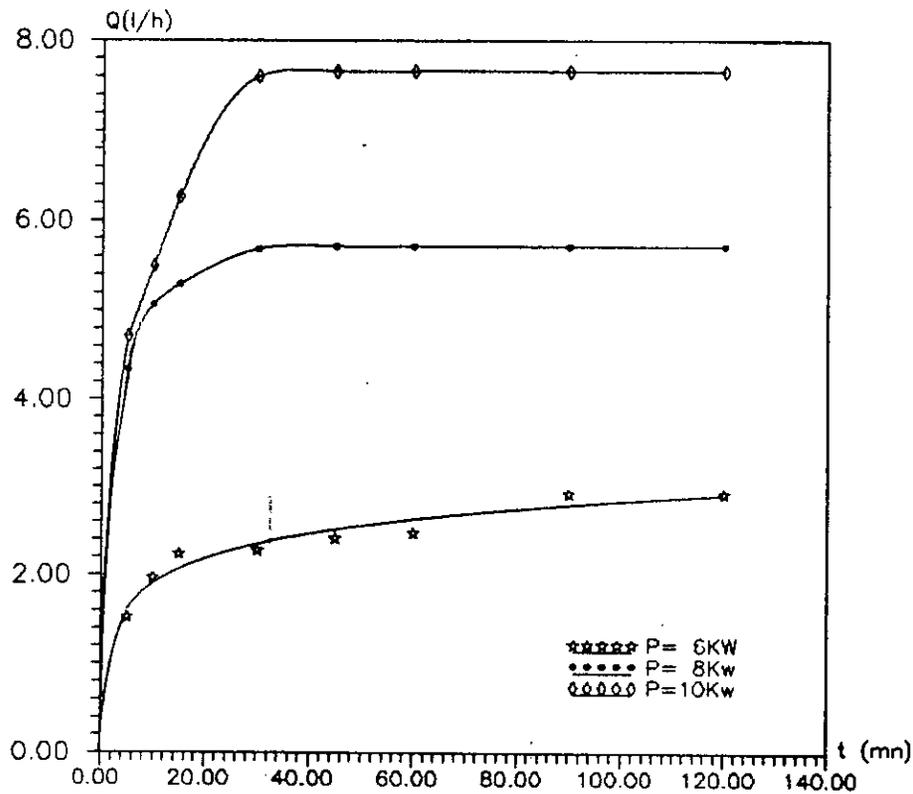


Figure 20: INFLUENCE DE LA PUISSANCE DE CHAUFFE SUR LE DEBIT DE DISTILLAT Q.

III.2.B.a. Rendements d'extraction.

Afin d'arrêter des conditions optimales de travail qui sont, pour certains paramètres, spécifiques à notre appareillage, nous avons eu à déterminer la masse optimale de végétal à déposer par plateau ainsi que le débit de vapeur nous permettant de mener au mieux nos extractions par entraînement à la vapeur d'eau.

III.2.B.a.1: Influence de la masse de végétal et de la puissance de chauffe sur le rendement en huile essentielle.

Les essais ont été effectués d'abord en maintenant la masse M de végétal constante à 0,6kg répartie sur un plateau et en faisant varier la puissance de chauffe P. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau X et illustrés par la figure 21.

Les rendements globaux sont donnés en grammes d'huile essentielle par kilogramme de feuilles sèches exemptes d'humidité.

TABLEAU X: INFLUENCE DE LA PUISSANCE DE CHAUFFE P SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.

Q (l/h)	t (mn)	30	60	90	120	180	240
P = 6 Kw	m (g)	0.060	1.192	1.315	1.440	1.953	2.016
Q = 2.90	R(g/Kg)	0.15	3.00	3.31	3.63	4.92	5.08
P = 8 Kw	m (g)	0.140	1.156	2.430	3.725	7.451	7.658
Q = 5.70	R(g/Kg)	0.35	2.91	6.13	9.39	18.78	19.31
P = 10 Kw	m (g)	3.360	4.301	4.860	5.244	5.533	5.703
Q = 7.66	R(g/kg)	8.47	10.84	12.25	13.22	13.95	14.38

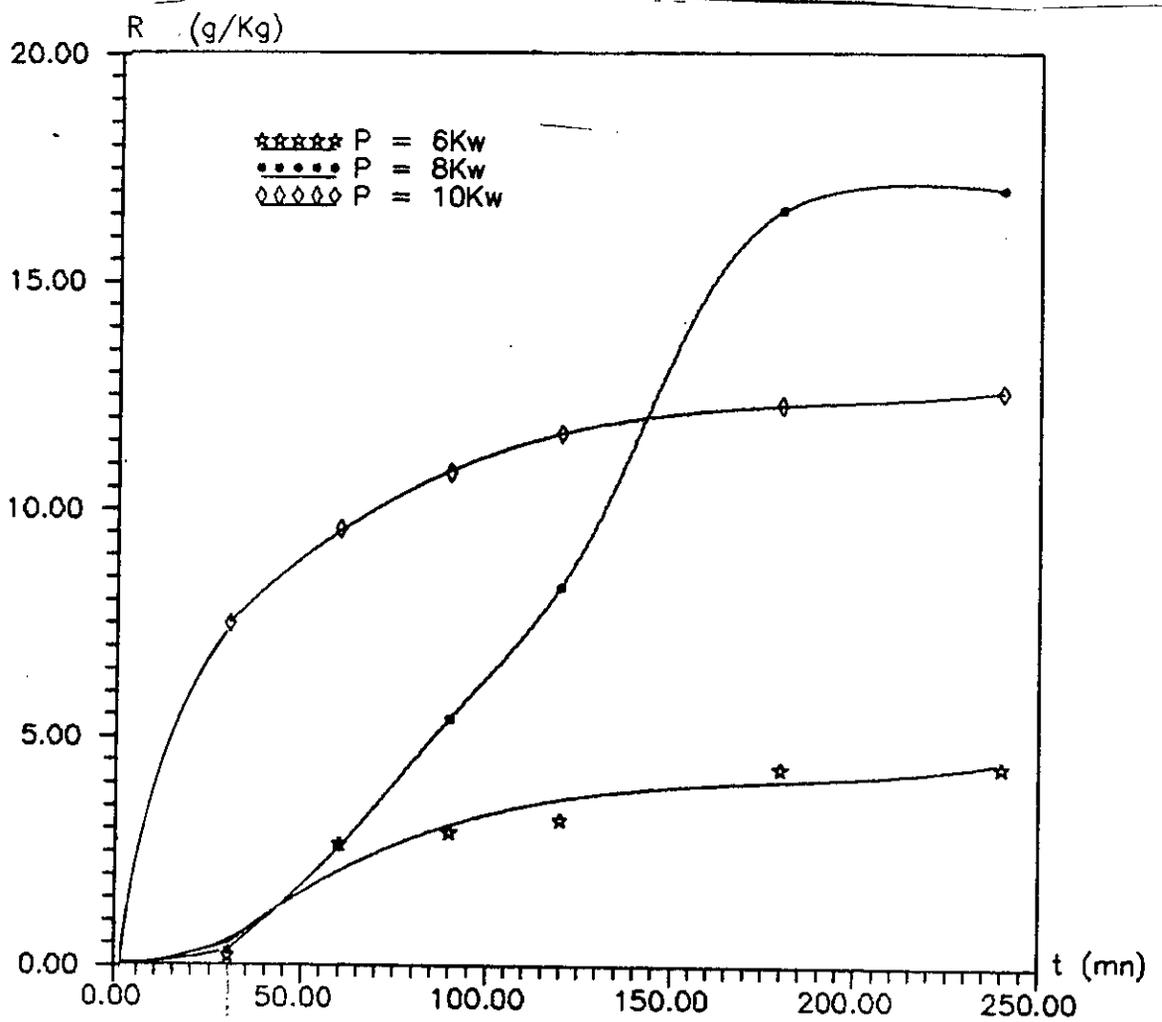


Figure 21: INFLUENCE DE LA PUISSANCE DE CHAUFFE SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R .

Pour la puissance de chauffe P et donc le débit de vapeur donnant un rendement maximal en huile essentielle, nous avons fait varier la masse M de végétal répartie sur un plateau. Ainsi, pour des feuilles fraîches et une puissance de chauffe P de 8 Kw, nous obtenons les résultats suivants, regroupés dans le tableau XI et illustrés par la figure 22.

TABLEAU XI: INFLUENCE DE LA MASSE M DE VEGETAL SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.

M (Kg)	t (mn)	30	60	90	120	180	240
0.4	m (g)	2.005	2.265	2.640	2.976	3.050	3.132
	R (g/Kg)	7.58	8.56	9.98	11.25	11.53	11.84
0.6	m (g)	0.140	1.156	2.430	3.725	7.451	7.658
	R (g/Kg)	0.35	2.91	6.13	9.39	18.78	19.31
0.8	m (g)	2.616	3.468	3.810	4.042	4.356	4.720
	R (g/kg)	4.94	6.55	7.20	7.64	8.23	8.92

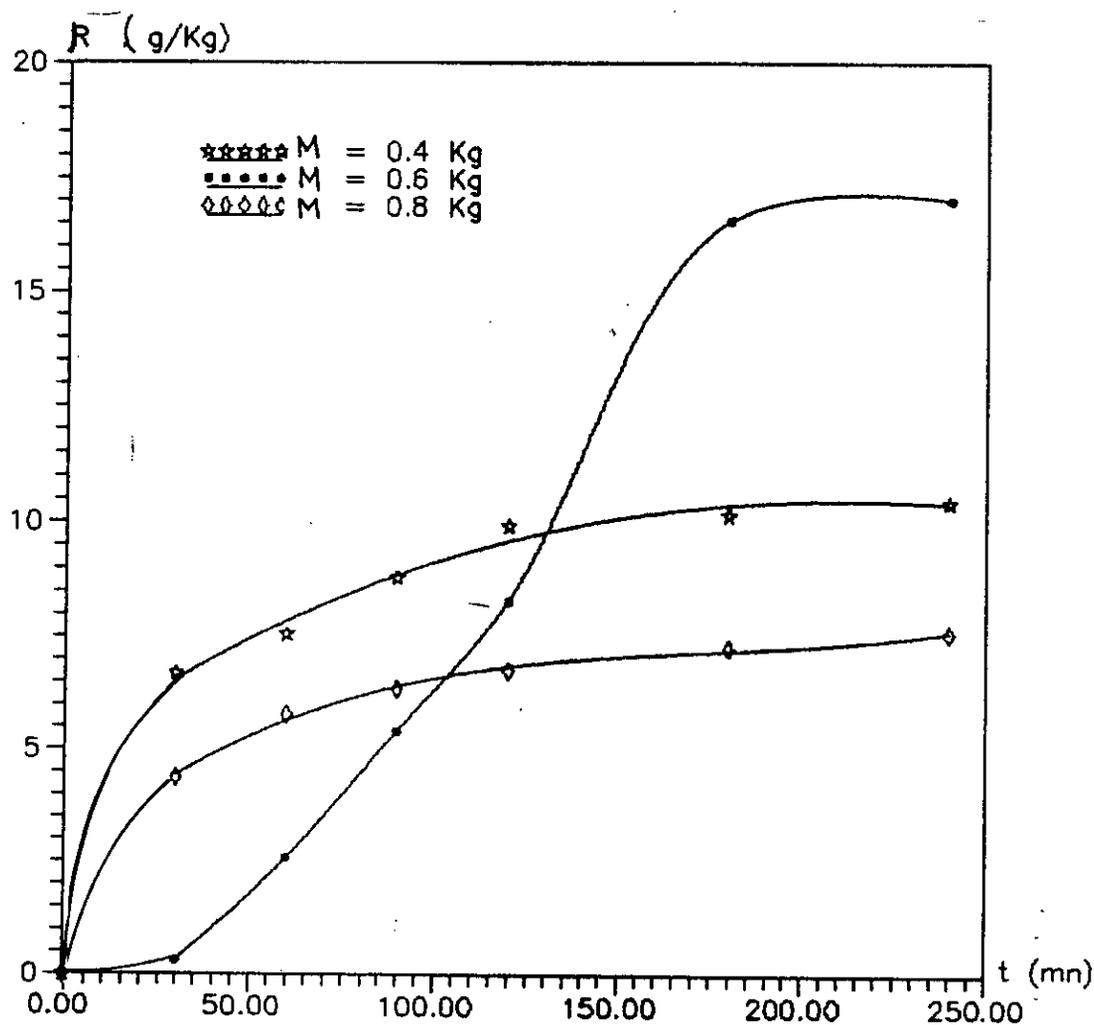


Figure 22 : INFLUENCE DE LA MASSE DE VEGETAL SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.

Les courbes ainsi obtenues de $R = f(t)$ présentent toutes des valeurs maximales de rendement global en huile essentielle. Toutefois, l'allure de certaines d'entre elles, en forme de S, c'est précisément les cas observés pour une masse de végétal M égale à 0.6 Kg et pour deux puissances de chauffe $P = 6$ Kw et $P = 8$ Kw, prouve l'existence d'une étape limitante diffusionnelle, durant la première heure d'extraction.

Cette étape de diffusion lente, ralentissant l'entraînement de l'huile essentielle, pourrait être due, selon la théorie de Von Rochenberg, à l'existence des parois cytoplasmiques, jouant le rôle de membranes osmotiques.

En revanche, pour une plus grande valeur de puissance de chauffe, $P = 10$ Kw, la vitesse d'extraction suit un modèle du premier ordre. Il est probable que la dénaturation cellulaire ait atteint sa valeur limite, aussi les transferts de matière par diffusion de l'intérieur vers la surface de la plante s'effectuent sans barrière.

D'un point de vue rendement, le maximum ($R \approx 19$ g/Kg) est obtenu au bout de 3 heures d'extraction pour une puissance de chauffe P de 8 Kw et une masse M de végétal de 0.6 Kg.

Par ailleurs, si nous faisons varier cette fois, la masse M de végétal, en maintenant la puissance de chauffe P donnant un rendement optimal ($P = 8$ Kw), nous obtenons un faible rendement pour une plus grande masse de végétal ($M = 0.8$ Kg). Le tassement important des feuilles gênerait le passage de la vapeur d'eau et privilégierait la création de chemins préférentiels, ce qui diminuera la surface d'échange vapeur/plante. De la même manière, le rendement obtenu pour une masse

M = 0.4 Kg, reste cependant, assez faible. Il s'expliquerait par un tassement relativement insuffisant.

Aussi, en conclusion, nous constatons que le rendement est d'autant plus faible que l'huile extraite rencontre des difficultés à diffuser à travers le tas de plantes.

III.2.B.a.2. Influence de l'état de la plante sur le rendement en huile essentielle R.

Le degré de division ainsi que le séchage de la plante peuvent intervenir, de façon notable, sur le rendement et la qualité de l'huile essentielle obtenue. En nous plaçant dans les conditions d'extraction optimales (M= 0.6 Kg et P= 8 Kw), nous avons choisi de comparer les rendements obtenus, pour deux degrés de division de la plante, en l'occurrence

- des feuilles découpées en lamelles de 1cm et
- des feuilles broyées finement.

Dans ce dernier cas, pour éviter les pertes, nous avons laissé la plante pendant 24 heures, à -4°C, puis elles ont été broyées .

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau XII et sur la figure 23 .

TABLEAU XII: INFLUENCE DU DEGRE DE DIVISION SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.

	t (mn)	30	60	90	120	180	240
Feuilles entières (F.E)	m (g)	0.140	1.156	2.430	3.725	7.451	7.658
	R(g/Kg)	0.35	2.91	6.13	9.39	18.78	19.31
Feuilles coupées (F.C)	m (g)	1.320	2.026	2.640	2.580	3.240	3.298
	R(g/Kg)	3.33	5.10	6.65	7.18	8.16	8.31
Feuilles broyées (F.B)	m (g)	0.590	2.300	4.740	5.614	11.038	11.146
	R(g/kg)	1.50	5.79	11.94	14.15	27.81	28.09

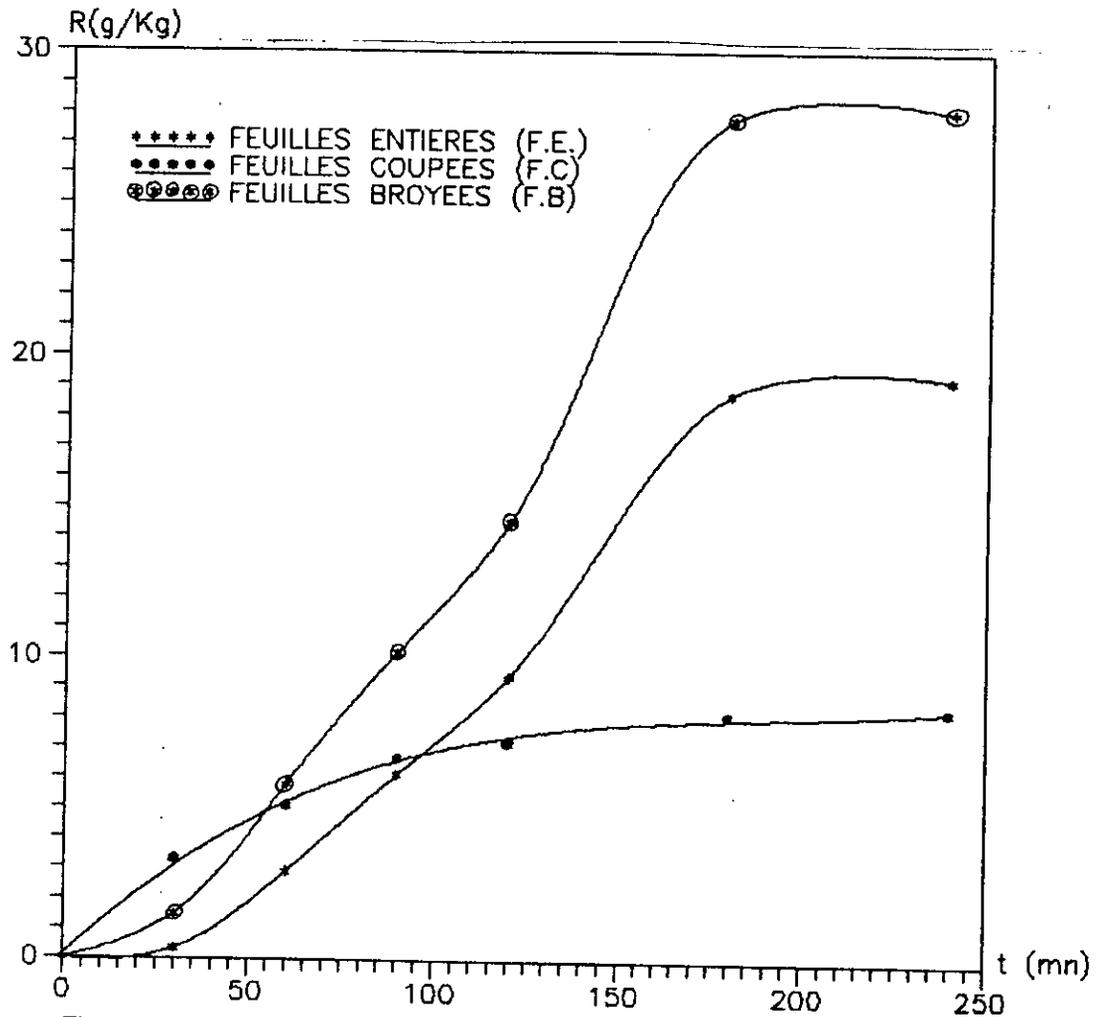


Figure 23 : INFLUENCE DU DEGRE DE DIVISION SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.

Le découpage, augmentant la surface d'échange et détruisant tout ou partie des parois cytoplasmiques, accélère l'étape de diffusion, dans le phénomène d'extraction. C'est ce que l'on observe dans le cas des feuilles coupées dont la cinétique est plus rapide que celle des feuilles entières. En revanche, pour les feuilles broyées, cette cinétique paraît plus lente.

En fait, dans la préparation de la plante, par broyage, il nous a semblé utile de congeler la plante, afin d'éviter l'évaporation des composés volatils. Cependant, la congélation semble être un moyen de dénaturation cellulaire, au cours de laquelle des cristaux de glace se forment intercellulairement et soutirent leur eau à la cellule. Il s'ensuit une élévation de la concentration du suc cellulaire. L'activité des ions, particulièrement celle des ions hydrogène, se renforce augmentant ainsi le degré d'acidité [60]. Cette acidité peut être à l'origine de dégradations de certains composés qui distilleraient relativement vite et dont la disparition influerait de manière sensible sur la vitesse d'extraction. Le rendement en huile essentielle correspondant aux feuilles broyées est nettement amélioré par rapport à celui des feuilles entières (1.74 fois plus). Ceci est probablement dû à un épuisement maximal de l'huile essentielle contenue dans les glandes sécrétrices, totalement détruites par broyage. Un rendement relativement plus faible est observé avec des feuilles coupées (0.47 fois moins que le rendement obtenu avec des feuilles entières). Il serait dû à une évaporation importante lors du découpage.

Une autre étude a concerné la comparaison des rendements obtenus avec des feuilles fraîches entières et des feuilles entières séchées, pendant 4 semaines, dans les conditions de stockage précédemment citées.

Les résultats de l'extraction par entraînement à la vapeur, menée dans les conditions optimales, sont présentés dans le tableau XIII et illustrés par la figure 24.

TABLEAU XIII: INFLUENCE DU SECHAGE SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R

	t (mn)	30	60	90	120	180	240
Feuilles fraîches (F.E.)	m (g)	0.140	1.156	2.430	3.725	7.451	7.658
	R(g/Kg)	0.35	2.91	6.13	9.39	18.78	19.31
Feuilles séchées (F.S.)	m (g)	0.090	0.320	1.844	2.560	4.680	5.360
	R(g/Kg)	0.23	0.81	4.65	6.45	11.79	13.51

La conservation des feuilles, bien que s'étant faite à l'abri de la lumière, semble avoir affecté une partie importante des composés de l'huile. Le rendement global en huile essentielle R obtenu passe de 19.31% à 13.51% soit correspondant à une perte d'environ 30% par rapport au rendement observé avec les feuilles fraîches.

L'influence du séchage sur le rendement en huile essentielle a attiré l'attention de plusieurs chercheurs [73,74].

En effet, Guenther [10] note que si des végétaux frais contiennent beaucoup d'eau, ils perdent, au cours du séchage, non seulement leur eau mais aussi une partie de leurs composés volatils. D'autre part, la perte d'eau entraîne des réactions

chimiques, notamment des oxydations, et l'apparition de résines. La composition chimique de l'huile obtenue en est par conséquent complètement modifiée.

III.2.B.a.3. Influence du mode d'extraction sur le rendement en huile essentielle R

Une étude, similaire à celle effectuée par entraînement à la vapeur, a été menée par hydrodistillation, sur une même masse M de 0,6 kg de feuilles fraîches déposées au fond de l'alambic. L'action du pH sur la qualité de l'huile essentielle étant importante, nous avons suivi son évolution, pendant l'extraction, en faisant des prélèvements des eaux de distillation. Les résultats de cette extraction sont reportés dans le tableau XIV et comparés à ceux obtenus par entraînement à la vapeur comme le montre la figure 24.

TABLEAU XIV: INFLUENCE DE L'HYDRODISTILLATION SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.

t (mn)	10	30	60	90	120	180	240
m (g)	-	1.152	5.276	5.840	10.092	10.242	10.276
R (g/Kg)	-	2.90	13.29	19.72	23.43	25.81	25.89
pH	6.60	6.600	6.200	5.800	5.300	5.050	5.00

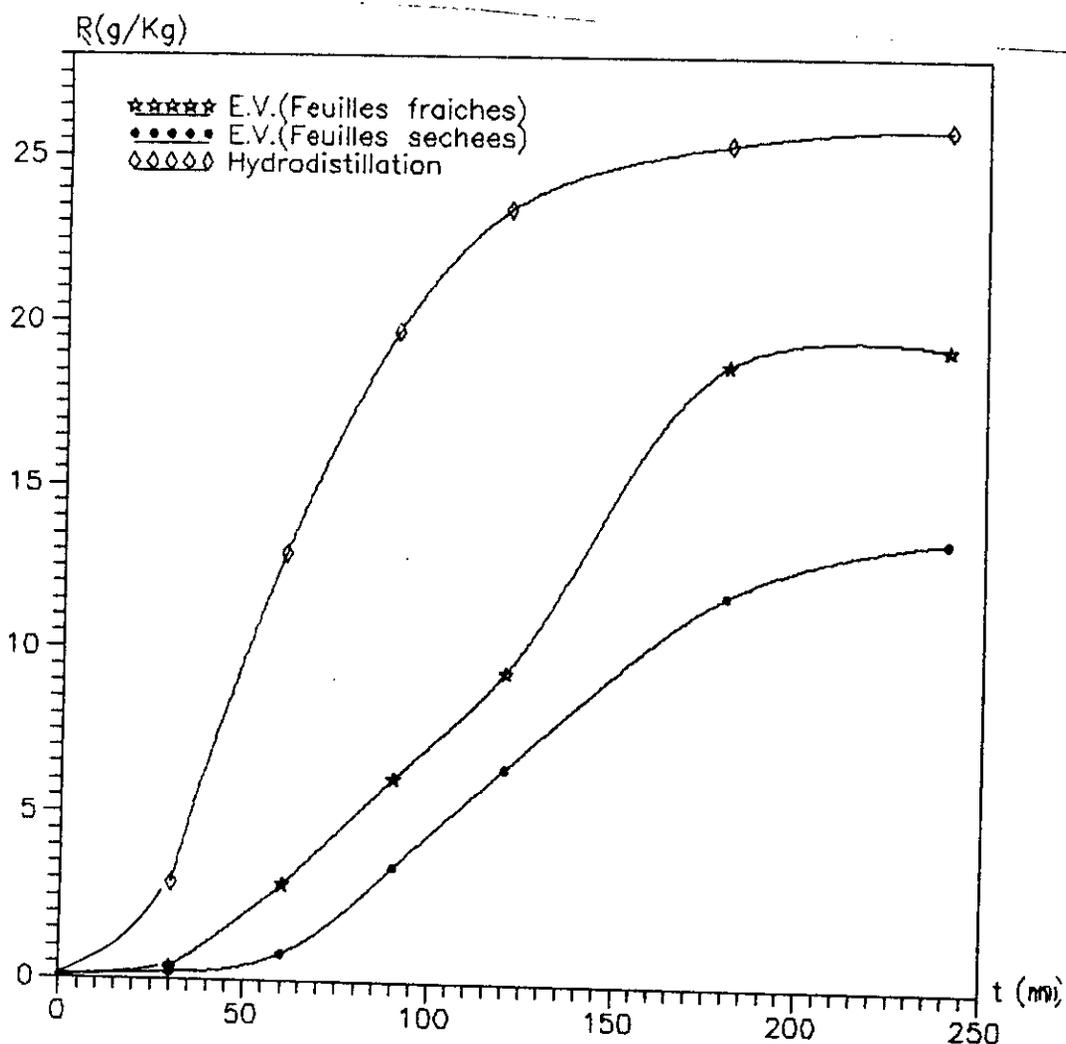


Figure 24: INFLUENCE DU SECHAGE ET DU MODE D'EXTRACTION SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R

Nous remarquons principalement que le rendement maximal en huile est obtenu au bout de deux heures d'extraction dans le cas de l'hydrodistillation, tandis que l'entraînement à la vapeur nécessite 3 heures pour atteindre le rendement maximal.

Ce mode d'extraction, très étudié, peut être recommandé pour favoriser la présence de certains composés dans l'essence.

En effet, l'hydrodistillation est un phénomène brusque au cours duquel la plante, immergée dans l'eau, dès le début de l'extraction, est soumise à une température importante, pendant 3 à 4 heures et à un effet du pH qui peut être considérable.

III.2.B.b. Influence des paramètres d'extraction sur la composition de l'huile essentielle.

III.2.B.b.1. Mode d'extraction.

Pour compléter l'étude d'extraction et expliquer les phénomènes de distillation, nous avons analysé nos différents extraits par chromatographie en phase gazeuse. Pour cela, nous avons choisi de suivre l'évolution de quelques composés types représentatifs des principales familles présentes dans l'huile. Le choix de ces composés s'est fait sur la base de leur assez bonne séparation par C.P.G., afin d'éviter les interférences. Nous avons donc suivi leur évolution, au cours des extractions effectuées selon les deux modes : entraînement à la vapeur et hydrodistillation. Les résultats sont rassemblés dans le tableau XV et représentés sur les figures 25 et 26.

TABLEAU XV: INFLUENCE DU MODE D'EXTRACTION SUR LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE

t (mn)	30	60	120	180	240
Entraînement à la vapeur					
γ-terpinène	0.112	0.155	0.176	0.968	0.290
linalol	1.597	1.176	1.143	1.140	1.022
α-terpinéol	6.203	4.195	4.168	3.760	3.608
C ₁₅ H ₂₄ (1)	0.119	0.126	0.150	0.805	0.417
C ₁₅ H ₂₄ (2)	0.171	0.177	0.217	1.653	1.532
Hydrodistillation					
γ-terpinène	2.342	0.593	0.496	0.019	0.010
linalol	1.016	1.115	1.489	1.297	1.033
α-terpinéol	2.529	3.322	5.320	5.184	4.538
C ₁₅ H ₂₄ (1)	5.575	7.513	3.220	1.367	1.099
C ₁₅ H ₂₄ (2)	3.388	4.101	3.041	2.494	2.009

⊗ relatif en composé i

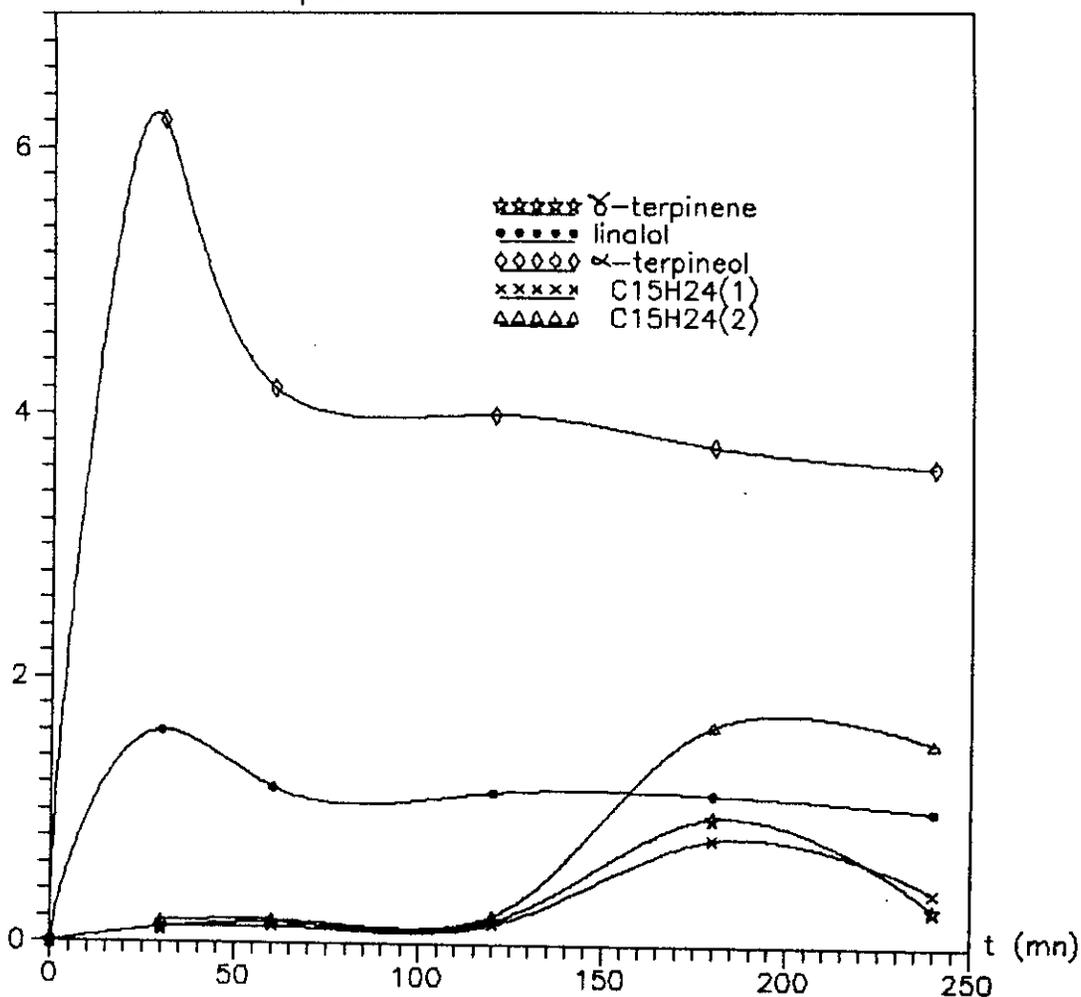


Figure 25 : INFLUENCE DU MODE D'EXTRACTION SUR LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE
Entraînement à la vapeur

Lors de l'entraînement à la vapeur, il semble bien, comme mentionné précédemment en partie théorique, que les monoterpènes distillent après les composés oxygénés. En effet, la distillation commence lentement pour les monoterpènes puisque leurs valeurs maximales ne sont atteintes qu'au bout de 2 à 3 heures (cas du γ -terpinène). En revanche, les composés oxygénés tels que linalol et α -terpineol distillent rapidement dès la première demi heure.

Ces résultats sont en accord avec la littérature qui explique ce phénomène par la solubilisation plus importante des composés oxygénés dans l'eau [10].

Pour les composés sesquiterpéniques, peu solubles, nous observons une distillation lente qui donne un rendement maximum au bout de 3 heures.

Les résultats de l'hydrodistillation montrent par contre que les hydrocarbures terpéniques distillent avant les composés oxygénés et les sesquiterpènes. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les composés oxygénés, solubilisés dans les eaux de distillation, hydrodistillent dans l'ordre de leur température d'ébullition et non plus de leur polarité

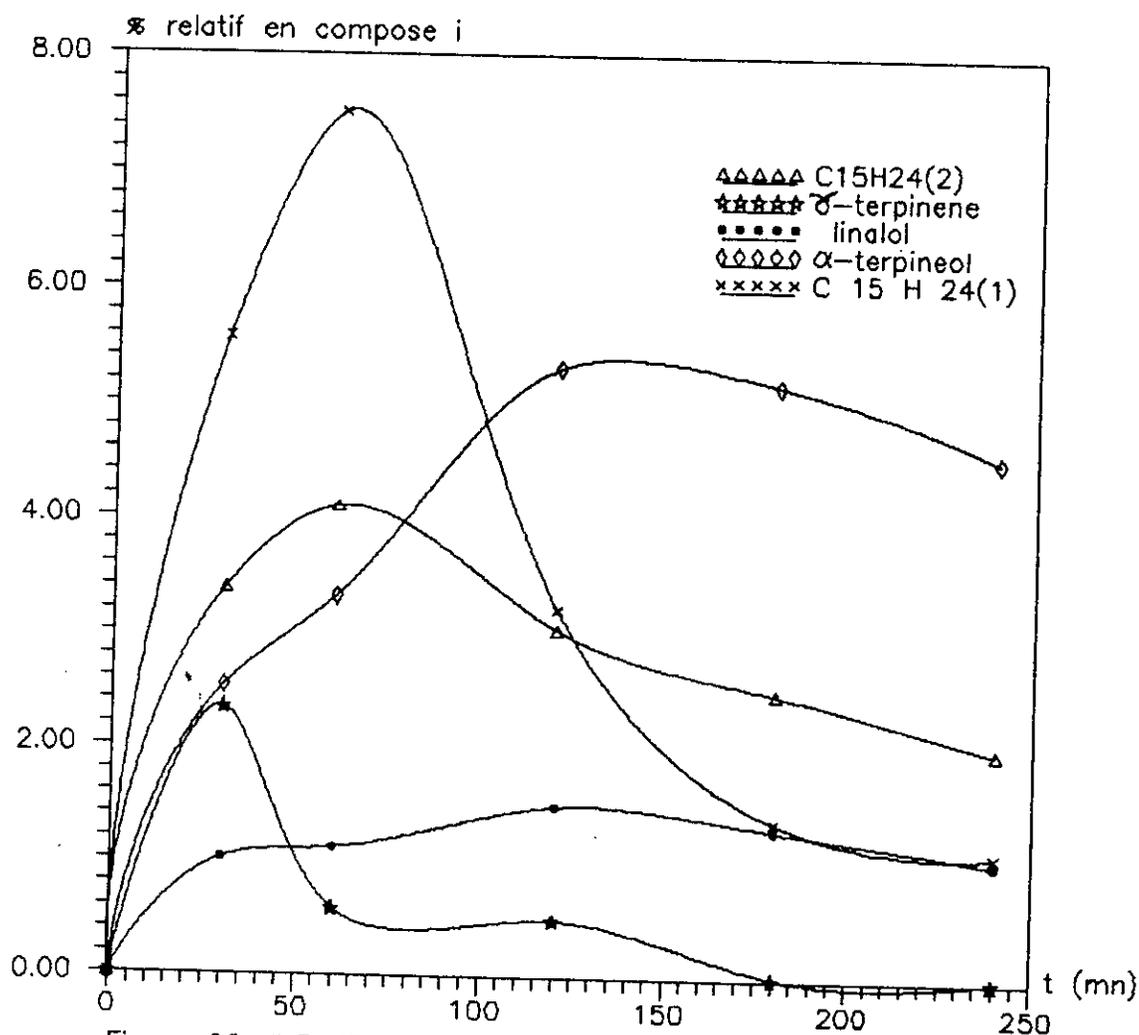


Figure 26 : INFLUENCE DU MODE D'EXTRACTION SUR LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE
Hydrodistillation

Ainsi, les eaux de distillation retiennent une partie de l'huile essentielle dont l'importance dépend, qualitativement et quantitativement, de la conduite de la distillation et de la décantation. Aussi, Granger et coll. [75] ont montré que, dans le cas du romarin, certains constituants comme le camphre, le bornéol et la verbénone demeurent en partie dans l'eau d'entraînement.

Du point de vue quantitatif, les composés oxygénés apparaissent avec des pourcentages légèrement inférieurs à ceux observés au cours de l'entraînement à la vapeur, ce qui est dû en toute probabilité, à des décompositions en monoterpènes sous l'action du pH. En effet, nous avons vérifié que l'acidité de l'eau augmente, au cours de l'hydrodistillation, passant du pH 7 à 5, en 4 heures d'extraction.

D'autre part, l'huile essentielle, extraite et décantée, reste, tout au long de l'extraction, au contact de l'oxygène.

Or, l'action du pH, conjuguée à celle de l'oxygène, a fait l'objet de plusieurs études [63,64] dans lesquelles ont été constatées les transformations du linalol en α -terpinéol, de l'acétate de linalyle en myrcène, limonène, ocimène cis, ocimène trans, terpinolène,...

Des travaux, réalisés pour mettre en évidence l'effet du pH sur la composition d'une huile essentielle, ont été publiés par Koeddam [66,67] dans lesquels il révèle que le contact prolongé plante -eau donne lieu à des réarrangements, pouvant modifier considérablement la composition de l'huile extraite. De la même façon, Pickett et coll [62] traitant le

TABLEAU XVI: EVOLUTION DE LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE
EXTRAITE PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR, SOUS
L'INFLUENCE DE L'ETAT DE LA PLANTE
ET DE SON DEGRE DE DIVISION.

t (mn)	30	60	120	180	240
Feuilles fraîches coupées					
δ-terpinène	0.079	0.183	0.413	0.404	0.110
linalol	1.673	1.368	1.362	1.257	1.220
α-terpinéol	6.510	4.576	3.680	2.860	2.550
C ₁₅ H ₂₄ (1)	0.515	0.377	0.213	0.072	0.120
C ₁₅ H ₂₄ (2)	0.865	1.143	1.383	0.781	0.320
Feuilles fraîches broyées					
δ-terpinène	0.216	0.893	2.758	1.689	0.108
linalol	1.465	2.411	1.809	1.793	1.154
α-terpinéol	5.422	9.759	5.911	3.366	2.494
C ₁₅ H ₂₄ (1)	0.608	0.733	10.432	20.953	16.164
C ₁₅ H ₂₄ (2)	0.234	1.269	3.576	21.750	10.490
Feuilles séchées					
δ-terpinène	0.089	0.122	0.210	0.328	0.010
linalol	2.156	1.434	1.250	1.210	0.712
α-terpinéol	5.788	5.493	4.182	3.211	2.310
C ₁₅ H ₂₄ (1)	0.035	0.321	1.409	1.124	0.041
C ₁₅ H ₂₄ (2)	0.656	0.781	3.625	1.639	0.055

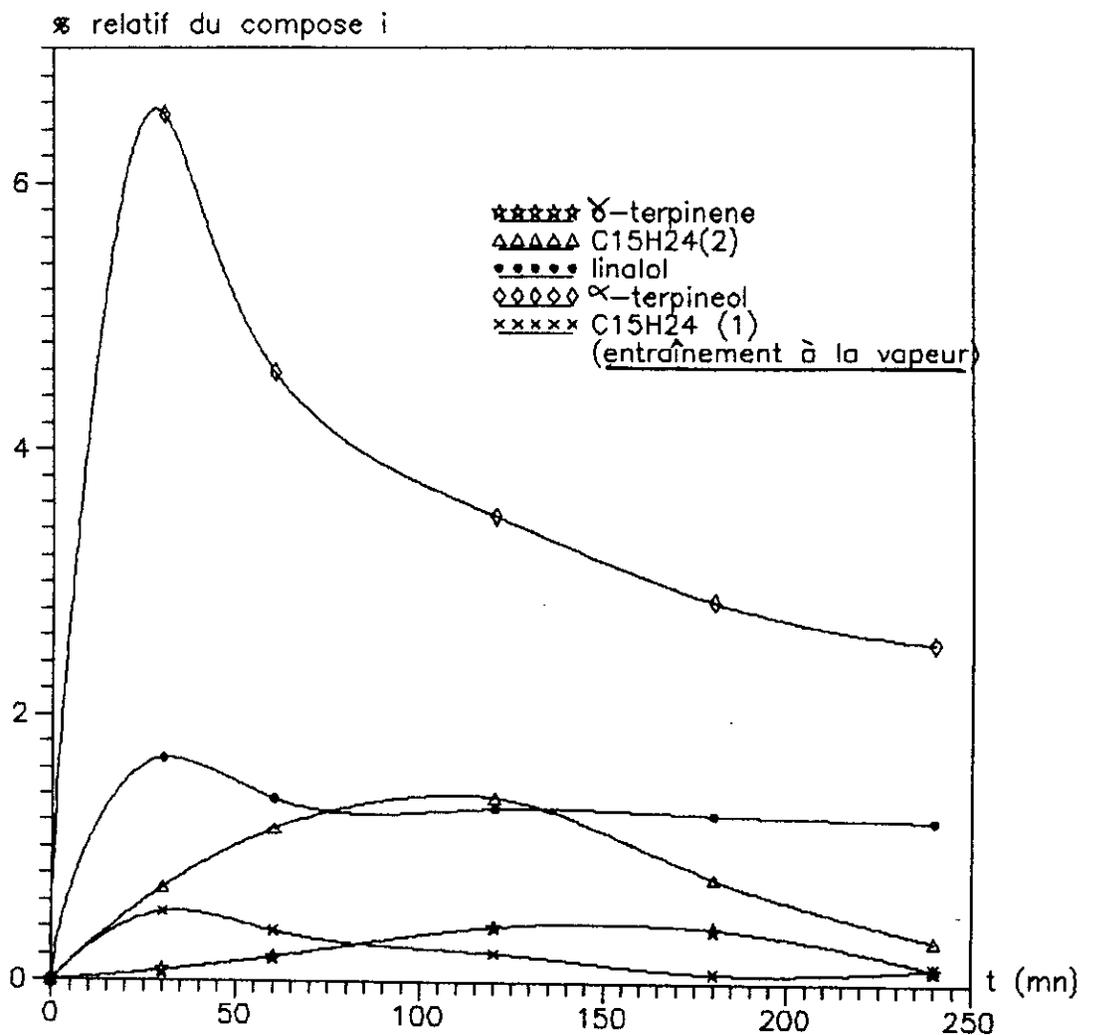
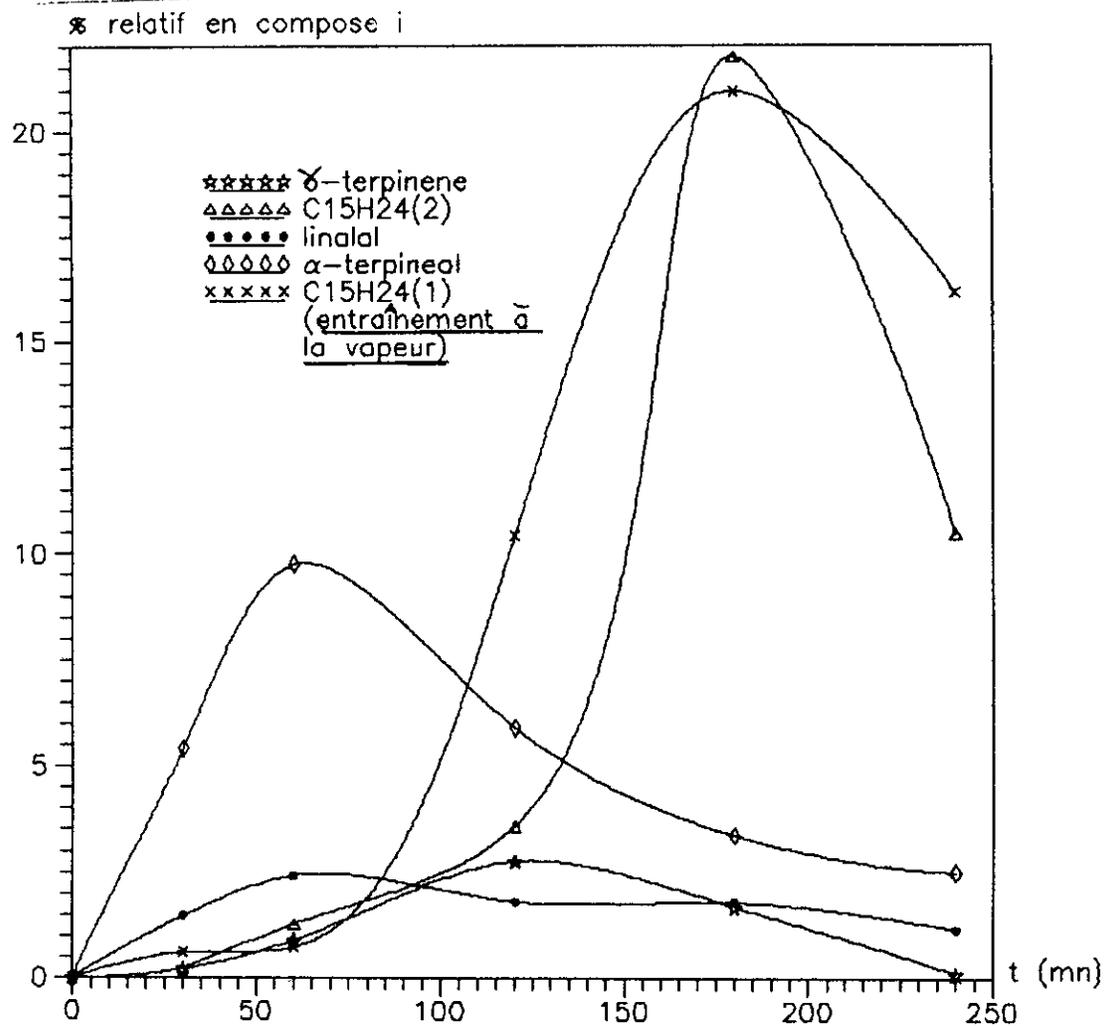


Figure 27 :EVOLUTION DE LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE
 SOUS L'INFLUENCE DE L'ETAT DE LA PLANTE, ET DE SON
 DEGRE DE DIVISION (feuilles fraîches coupées)

Pour les feuilles fraîches broyées, la figure 28 montre une augmentation accrue de la teneur en composés sesquiterpéniques et plus légère en composés oxygénés monoterpéniques.

Ceci est en accord avec ce que nous avons constaté, précédemment. La présence, en quantité importante, de composés sesquiterpéniques et autres proviendrait de l'état de division de la plante.

En effet, le broyage détruisant les parois cytoplasmiques, libère tous les composés et notamment les plus lourds qui sont entraînés par la vapeur d'eau.



Le séchage, quant à lui, semble avoir affecté tous les composés à l'exception de ceux oxygénés . En effet, comme le montre les résultats du tableau XVI illustrés sur la figure 29, le γ -terpinène et de manière générale, les monoterpènes se retrouvent en plus faible quantité comparés à leur présence dans les feuilles fraîches.

Cette diminution nous semble être due à l'évaporation des composés monoterpéniques, lors du séchage de la plante. Ce séchage expliquerait également la diminution du rendement global en huile et son augmentation sensible en composés sesquiterpéniques, ce qui confirmerait le fait que la perte d'eau engendrerait l'apparition de résines.

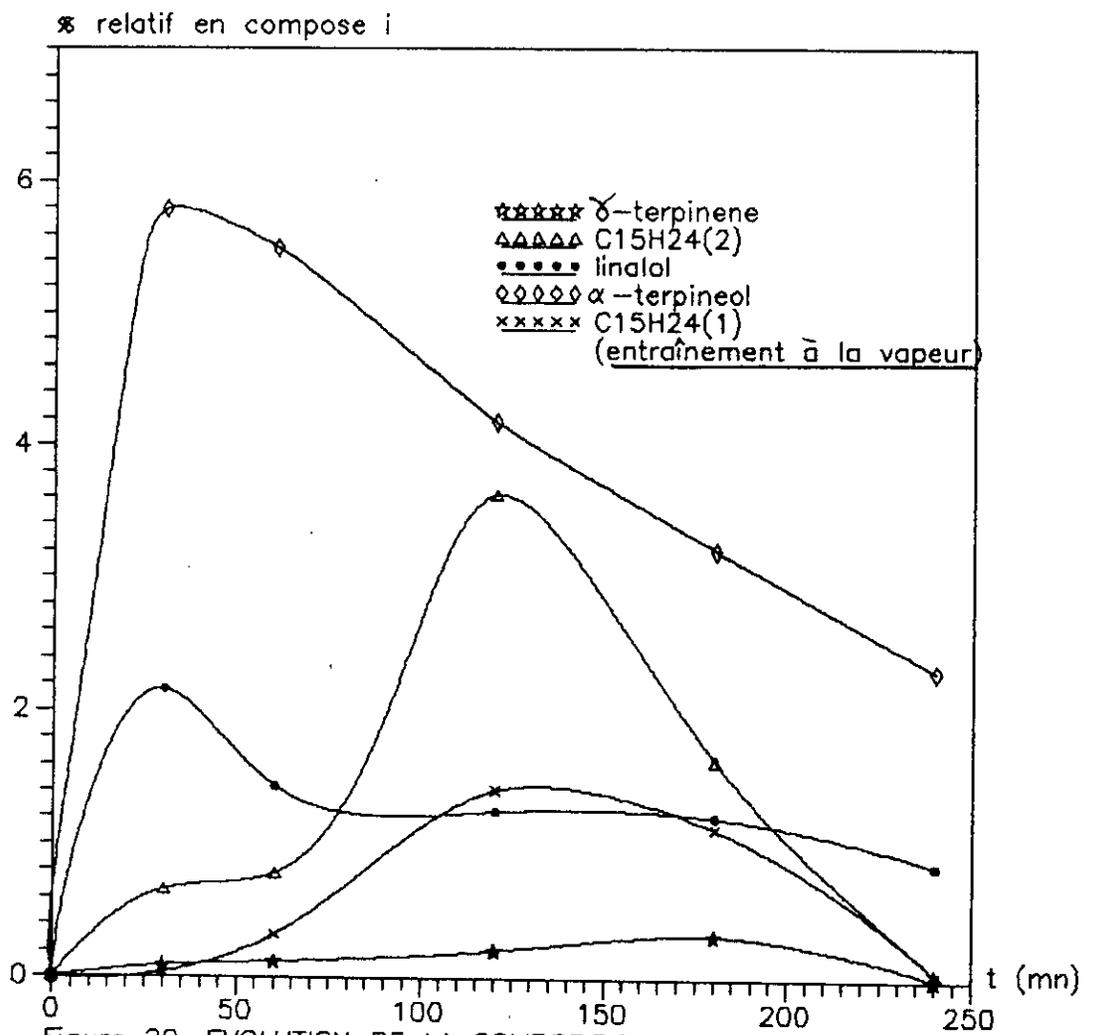


Figure 29 :EVOLUTION DE LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE
SOUS L'INFLUENCE DE L'ETAT DE LA PLANTE
(feuilles séchées entières)

III.2.B.b.Evolution du pourcentage en cinéol-1.8.

Lors de toute cette étude sur les différents paramètres d'extraction, (extraction menée dans les conditions optimales), nous avons suivi en fonction du temps, l'évolution du pourcentage relatif en cinéol-1.8, constituant important de l'huile essentielle d'Eucalyptus Globulus.

Les principaux résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau XVII et représentés sur la figure 30.

TABLEAU XVII: EVOLUTION DU POURCENTAGE RELATIF EN CINEOL 1.8 EN FONCTION DES DIFFERENTS PARAMETRES D'EXTRACTION (extraction menée dans les conditions optimales).

t (mn)	30	60	120	180	240	H.E.
Entraînement à la vapeur (F.F.)	86.78	90.04	90.97	81.25	78.77	83.47
Hydrodistillation (F.F.)	63.93	69.90	75.01	75.52	25.82	64.06
Entraînement à la vapeur (F.S.)	84.02	82.42	81.82	78.20	34.80	55.89
Entraînement à la vapeur (F.F.C.)	83.53	86.61	86.48	69.73	38.60	46.40
Entraînement à la vapeur (F.F.B.)	89.23	73.88	52.53	40.05	06.90	57.75

L'examen de ce tableau XVII et de la figure 30 montre que ce composé oxygéné distille rapidement et en quantité fort appréciable, en début d'extraction. La teneur maximale est atteinte en deux heures d'extraction, lors de l'entraînement à la vapeur avec des feuilles fraîches entières (90.97%). Par contre, nous observons une décroissance rapide de cette teneur en cinéol- 1.8, dans le cas des feuilles broyées. Ceci pourrait être dû à son épuisement dans la plante, au-delà de 4 heures. Enfin, l'altération de l'huile par l'opération de séchage semble avoir également affectée la teneur globale en cinéol 1.8.

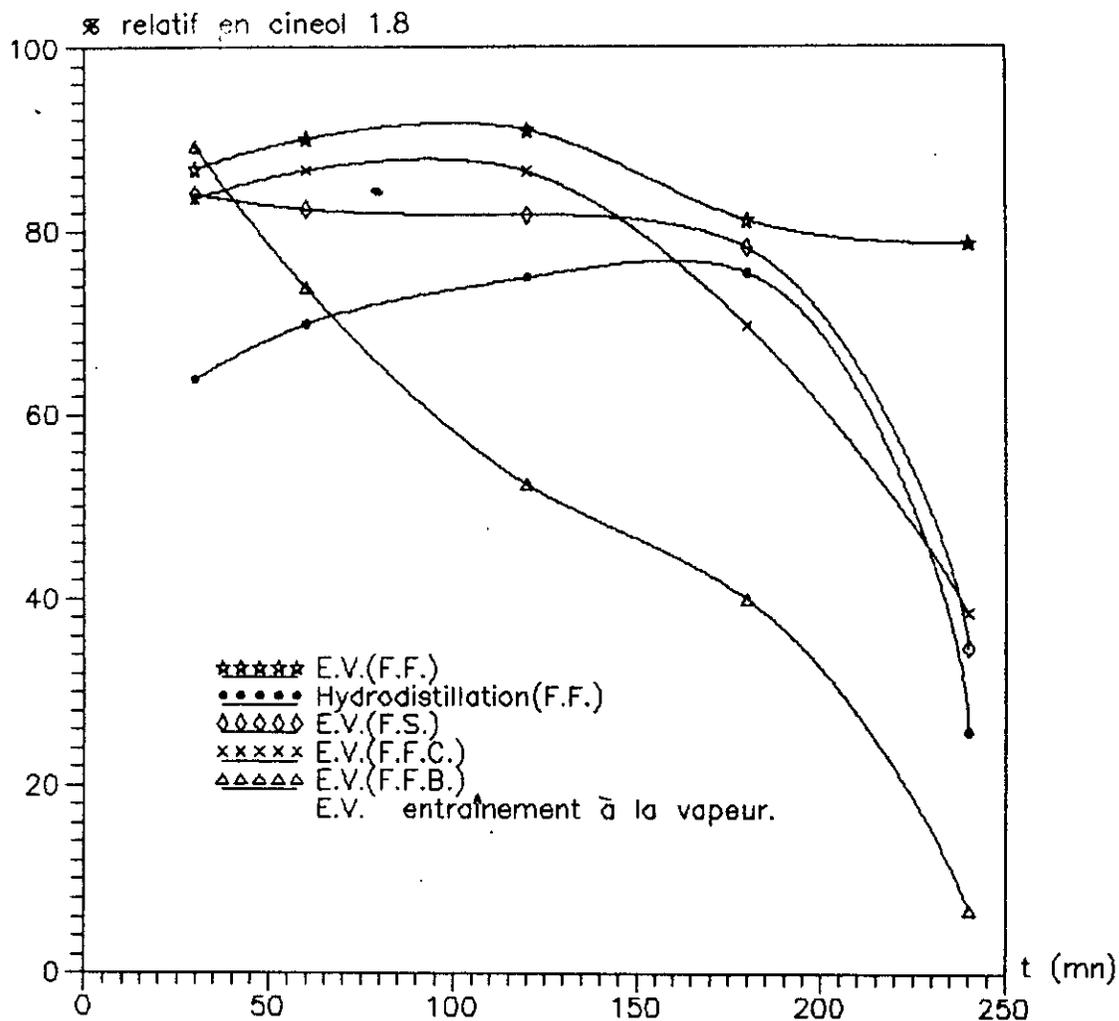


Figure 30:EVOLUTION DU POURCENTAGE RELATIF EN CINEOL 1.8
EN FONCTION DES DIFFERENTS PARAMETRES D'EXTRACTION

CONCLUSION

Dans cette étude des paramètres d'extraction de l'essence d'Eucalyptus, deux critères principaux ont motivé notre travail: Le rendement global en huile essentielle et la teneur relative en cinéol-1.8. Or, nous avons pu observer que l'influence du mode d'extraction se reflète aussi bien sur le rendement que sur la composition de l'essence obtenue.

Ainsi, si l'hydrodistillation favorise une cinétique relativement rapide, nous avons pu constater qu'elle donne, en 3 heures d'extraction, un rendement en essence de 25.81 g/Kg et une teneur en cinéol-1.8 évaluée à 75.52%, tandis que l'entraînement à la vapeur fournit, au bout de 4 heures d'extraction, un rendement en huile essentielle de 19.31 g/Kg et une teneur de 83.47 % en cinéol-1.8.

D'autre part, l'état de la plante, qu'il s'agisse de feuilles fraîches coupées ou de celles entières séchées, conduit à de faibles rendements en huile essentielle respectivement 8.31 et 13.51g/Kg et ce, en raison des pertes occasionnées par évaporation ou dégradation de composés majeurs, au cours du prétraitement de la plante. Par contre, les feuilles fraîches broyées donnent un rendement maximal en huile essentielle évalué à 28.09g/Kg avec une teneur relativement faible en cinéol-1.8 de 57.75%. La composition de l'huile obtenue dans ce cas est affectée par le prétraitement et l'on constate la prépondérance de composés sesquiterpéniques, ce qui n'avantage pas la qualité de l'huile.

En général, il semble que la cinétique d'extraction soit liée à la composition de l'essence contenue dans la plante, comme l'illustre le tableau XVIII résumant les principaux résultats obtenus.

TABLEAU XVIII : PRINCIPAUX RESULTATS DE L'EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR ET PAR HYDRODISTILLATION.

		30	60	90	120	180	240	H.E
Entraînement	R(g/Kg)	0.35	2.91	6.13	9.39	18.78	19.31	-
à la vapeur (F.F.)	%cinéol	86.78	90.04	-	90.97	81.25	78.77	83.47
Hydro- distillation (F.F.)	R(g/Kg)	2.90	13.29	19.72	23.43	25.81	25.89	-
	%cinéol	63.93	69.90	-	75.01	75.52	25.83	64.06
Entraînement à la vapeur (F.S.)	R(g/Kg)	0.23	0.81	4.65	6.45	11.79	13.51	-
	%cinéol	84.02	82.42	-	81.82	78.20	34.80	55.89
Entraînement à la vapeur (F.F.C.)	R(g/Kg)	3.33	5.10	6.65	7.18	8.16	8.31	-
	%cinéol	83.53	86.61	-	86.48	69.73	38.60	46.40
Entraînement à la vapeur (F.F.B.)	R(g/Kg)	1.5	5.79	11.94	14.15	27.81	28.09	-
	%cinéol	89.23	73.88	-	52.53	40.05	6.90	57.75

Le découpage augmente la surface d'échange vapeur-plante et confère donc à l'extraction une cinétique rapide, mais diminue la teneur en composés volatils.

D'autre part, nous constatons que la conservation et le séchage des végétaux entraînent une perte en eau et en produits volatils.

CONCLUSION GENERALE

L'étude entreprise dans le présent travail a permis d'approcher la composition chimique de l'huile essentielle d'Eucalyptus Globulus d'Algérie, composition tributaire des différentes techniques de séparation et d'analyse utilisées. Les deux fractionnements effectués, par distillation sous pression réduite et par percolation sur colonne de gel de silice, nous ont permis de séparer notre huile essentielle en plusieurs fractions et, ainsi 23 composés ont pu être identifiés avec suffisamment de précision grâce à leurs spectres de masse et à leurs indices de rétention de Van den Dool. Ces deux paramètres peuvent être considérés comme suffisants et complémentaires pour une substance donnée, l'un déterminant la structure chimique et la masse moléculaire et l'autre son comportement au cours de l'élution sur colonne chromatographique en phase gazeuse.

La distillation sous pression réduite pourrait être affinée et menée avec une précision de 0.1°C , afin de permettre des séparations plus nettes en différentes familles de composés.

Par ailleurs, des analyses par H.P.L.C. pourraient être préconisées en utilisant d'autres méthodes de détection complémentaires simultanément, afin de pallier les limites de détection par U.V.

Par ailleurs, la considération des différents paramètres d'extraction a été faite dans le but de nous aider à mieux comprendre les phénomènes régissant l'entraînement à la vapeur et l'hydrodistillation, et les répercussions de leurs

variations autour des valeurs optimales d'extraction.

Faisant varier les paramètres d'extraction par entraînement à la vapeur, chauffage, tassement, découpage, séchage, et considérant le phénomène d'hydrodistillation, il en ressort que le rendement optimal 28.09 g/Kg est obtenu pour les feuilles fraîches broyées avec une faible teneur en cinéol-1.8 57.75%, tandis que les feuilles fraîches entières conduisent à un rendement de 19.31 g/Kg d'huile essentielle avec une teneur en cinéol-1.8 de 83.47%. L'hydrodistillation fournit une essence à 64.06% en cinéol-1.8 avec un rendement de 25.89 g/Kg. Toutes ces considérations nécessitent le choix d'un compromis, suivant l'utilisation ultérieure de l'huile extraite.

L'appareil distillatoire est le siège de modifications chimiques d'autant plus accusées que la distillation est longue, la température élevée et que le contact de l'huile essentielle avec la vapeur humide ou les eaux de distillation est important.

Il est clair que l'huile essentielle extraite ne renferme qualitativement et quantitativement qu'une partie des composés contenus dans la plante. Selon Naves, toutes les fois que les conditions économiques le permettent, il faudrait préférer l'extraction de la matière végétale par un solvant volatil chimiquement inerte. Il serait ainsi intéressant de procéder à des extractions par solvant et par entraînement à l'aide de vapeurs de solvant qui permettraient de mieux comprendre les phénomènes d'entraînement et confirmer toutes les hypothèses émises lors de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] R.PARIS, H.MOYSE , "Matière Médicale", tome II, 2° édition
Masson, (1981)438.
- [2] L.BEZANGER-BEAUQUESNE , "Les plantes dans la thérapeutique
moderne".Edition révisée Maloine, (1986)206.
- [3] E.PERROT , "Matières premières usuelles du règne végétal",
tome II, thérapeutique-hygiène industrie, (1943)1573.
- [4] P.BOUDY , "Economie forestière Nord-africaine", tome IV
(1955)826.
- [5] A.METRO , "Les Eucalyptus dans le reboisement", (1954)324.
- [6] R.C.PISANO , Perfumer and Flavorist, oct-nov 1986, 11.
- [7] P.PESNELLE, B.CORBIER, P.TEISSEIRE , France et ses parfums,
66, (1969)412.
- [8] P.PESNELLE, B.CORBIER, P.TEISSEIRE , La recherche, 18,
(1971)45.
- [9] J.GARNERO , Rivista Italiana E.P.P.O.S., (1975)105.
- [10] E.GUENTHER , "The essential oils", tome 1, édition
R.E.KRIFGER, (1972).
- [11] G.DEYSSON , "Eléments d'anatomie des plantes vasculaires",
Sedes Paris, (1965)74.
- [12] L.PEYRON , 3° Congrès international des huiles essentielles,
Plovdiv, 26-28 mai 1968.
- [13] J.GARNERO , Rivista Italiana E.P.P.O.S, LX6, (1978)329.
- [14] Y.R.NAVES , J.Soc.Cosm.Chem., 9, (1958)29.
- [15] P.TEISSEIRE , France et ses parfums, (1960)252.
- [16] P.TEISSEIRE , La recherche, 17, (1969)37.
- [17] R.B.BATES, M.J.ONORE, S.K.PKNIKAR, C.STEELINK,
E.P.BLANCHARD : Chem.Comm., (1967)1037.
- [18] K.YOSHIHARA, Y.OHTA, T.SAKAI, Y.HIROSE , Tetrahedron
letters, (1969)2263.
- [19] CLOEZ , Compte rendu, Liebigs Ann (1870).

- [20] E.JANS , Arch. Pharm., 223 (1885) 52.
- [21] A.ZOLA, J.P.LEVANDA , Parfums, Cosm, Arômes, 7, (1976)31.
- [22] H.NISHIMURA,M.CALVIN , J. Agri. Food Chem , 27, (1979)432.
- [23] R.DAYAL, K.S.AYYAR , Planta Medica, (1986) 162.
- [24] R.CHENNOUFI , Thèse de doctorat 3° cycle, université Paris Sud (1975).
- [25] M.N.BOELENS : Perfumer and flavorist, 9, dec-jan 1985,1.
- [26] J.BELLAKHDAR, A.AHMADOUCH, M.BERRADA,C.DENIER,R.PINEL , Fitoterapia , LVI, N°4, (1985) 209.
- [27] D.GARCIA MARTIN, Thesis Doctoral Fac.Cienc.Quim.Univ. Complutense, Madrid, (1977).
- [28] J.D.PASCUAL, J.G.URONES, G.MATEOS, Ann. Quim., 73 (1977)
- [29] J.CARDOSO DO VAL, A.PROENCA DA CUNH A, Bol.Fac.Farm.Univ. Coimbra, Ed. Cient, 31,(1972), 238.
- [30] M.CHAVANNE, A.JULLIEN , "Chimie organique expérimentale", Modulo éditeur, (1986)201.
- [31] R.HUET , Ind.alim.agr., N°5, (1970)529.
- [32] S.BITTEUR , Analysis, 12, N°2, (1984)51.
- [33] J.GARNERO, P.BUIL, D.JOULAIN, R.TABACCHI, Rivista Italiana E.P.P.O.S.,(1978)..
- [34] J.BRICOUT , Bios., 8, N°3, (1977)10.
- [35] C.L.TEITELBAUM , J.Agri. Food. Chem., 25,(1977)466.
- [36] K.YOSHIHARA, Y.OHTA, Y.HIROSE ,Bull.chem.soc.Japan, (1973)46.
- [37] Y.R.NAVES , J.Soc.Cosm.Chem., 9, (1958)101.
- [38] E.KOVATS , Adv. chromatog., 1, (1965).
- [39] L.S. ETTRE , Chromatographia,6, (1973) et 7, (1978).
- [40] J.KRUPCICK, D.REPKA, T.HEVESI , J. of Chromatog.,406, (1987)2.
- [41] W.JENNINGS , " Gaz chromatography with glass capillary columns", 2°ed, (1980) 126.

- [42] G.LAVOUE, P.CHEBROUX, M.PROST, M.RIGAUD, "Les nouvelles dimensions de la chromatographie en phase gazeuse", lab France éditeur (1982).
- [43] TECHNIQUES DE L'INGENIEUR, P1485, (1980),1.
- [44] J.ADDA, P.JOUNELA ERIKSON, "Cahiers de nutrition et diététiques", N°2, (1979)115.
- [45] AFNOR, "Recueil de normes françaises des huiles essentielles", éd.AFNOR (1982).
- [46] HANDBOOK OF CHEMISTRY AND PHYSICS, 57° edition, CRC Press (1976-1977).
- [47] J.GARNERO, P.BUIL, D.JOULAIN, R.TABACCHI, Perfumer and Flavorist, 3, oct-nov 1978, 1.
- [48] E.GILDEMEISTER et F.HOFFMAN, Die Ätherische öle, vol III A, Academic Verlag (1939).
- [49] R.M.SYLVERSTEIN et A.A.SWIGAR, "monoterpènes", Aldrich Chemical Company Inc., (1981).
- [50] W.JENNINGS, T.SHIBAMOTO, "Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gaz chromatography", Academic press (1980).
- [51] A.Y.BADJAH HADJ AHMED, Thèse de doctorat d'état, USTHB Alger, juin 1987.
- [52] Y.R.NAVES, "Technologie et chimie des parfums naturels", éd Masson et cie.(1974).
- [53] L.PEYRON, "Problèmes techniques", éd.Labo.pharma. (1984) 343.
- [54] L.PEYRON, Parfums, Cosm.Arômes, (1984)55.
- [55] P.PELLERIN, Parfums, Cosm.Arômes, (1988)84.
- [56] P.BAUD, "Traité de chimie industrielle", tome III, éd Masson, (1951) 704
- [57] Y.R.NAVES, Parfums, Cosm.Savons de France, 9 (1966)200.
- [58] J.GARNERO, Rivista Italiana E.P.P.O.S., 58 (1976)105.
- [59] C.Von ROCHENBERG, "Theorie der gewinning und trennung der ätherischen öl durch destillation", Selbst-verlag Von Shimmel (1910) 432.
- [60] Anonyme.

- [61] N.N. GOKHALE, Y.MASADA , International congress ess. oils, 7,(1977), 242.
- [62] J.A. PICKETT, J. COATES, F.R.SHARPE , Chemistry and industry (1975),571.
- [63] A.KOEDAM; J.J.C.SHEFFER, A.B.SVENDSEN, Chem.Mikrobiol. Technol. Lebensm. , 6, (1979)1..
- [64] P. MORIN, H.RICHARD , Progress in flavor research, 9-11 mai 1984, 563.
- [65] L.CRABALONA , France et ses parfums, 12,(1959) 27.
- [66] A.KOEDAM, A.LOOMAN , Planta Médica, (1980) 22.
- [67] A.KOEDAM, Aromatic plants, (1982)229.
- [68] G.DIOURTE, Projet de fin d'études, E.N.P. Alger, 1986.
- [69] R.KEDJOUAR, Projet de fin d'études, E.N.P. Alger, 1985.
- [70] N.BEDDEK, Projet de fin d'études, E.N.P. Alger, 1990.
- [71] Méthodes d'essai des produits pétroliers, éd Afnor, (1971) 439.
- [72] N.YAICI, projet de fin d'études, E.N.P. Alger, 1987.
- [73] H.RICHARD, symposium inter. aromes alimentaires, Paris, 22 avril 1975.
- [74] I.FOURASTE , E.STANISLAS, Plantes médicinales et phytothérapie, XVI, (1983) 96.
- [75] R.GRANGER, J.PASSET, G.ARBOUSET, Parfums, Cosm. Savons de France, 3, (1973) 133.

A N N E X E

LEGENDES DES FIGURES.

1. EVOLUTION SAISONNIERE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS GLOBULUS, selon Guenther.
2. EUCALYPTUS GLOBULUS .
3. ABAQUE TEMPERATURE-PRESSION.
4. ELUTION D'UN COMPOSE DANS UNE FAMILLE D'ALCANES SATURES.
5. CHROMATOGRAMME DE L'HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS GLOBULUS. ELUEE SUR COLONNE CAPILLAIRE P.E.G. 20M DE 25 M DE LONG, EN PROGRAMMATION DE TEMPERATURE DE 70 A 170°C A RAISON DE 2°C/MN.
6. SCHEMA DU MONTAGE UTILISE POUR LA DISTILLATION SOUS PRESSION REDUITE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS GLOBULUS.
7. CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION 4 ELUEE SUR COLONNE CAPILLAIRE P.E.G. 20M DE 25 M DE LONG EN PROGRAMMATION DE TEMPERATURE DE 70 A 170°C A RAISON DE 2°C/MN.
8. CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION 6 ELUEE SUR COLONNE CAPILLAIRE P.E.G. 20M DE 25 M DE LONG EN PROGRAMMATION DE TEMPERATURE DE 70 A 170°C A RAISON DE 2°C/MN.
9. SPECTRE DE MASSE DU CARYOPHYLLENE.
10. SPECTRE DE MASSE DU GERANIOL.
11. SPECTRE DE MASSE DU GLOBULOL.
12. SPECTRE DE MASSE DE L'AROMADENDRENE.
13. SPECTRE DE MASSE DU SESQUITERPENE C₁₅H₂₄(1).
14. SPECTRE DE MASSE DU SESQUITERPENE C₁₅H₂₄(2).
15. SPECTRE DE MASSE DE LA PINOCARVONE.
16. SPECTRE DE MASSE DE LA TRANSPINOCARVONE.
17. CHROMATOGRAMME DE LA FRACTION DE TETE OBTENUE APRES CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE DE LA FRACTION 4 ET ELUEE SUR COLONNE SE-30 DE 25 M DE LONG, EN PROGRAMMATION DE TEMPERATURE DE 70 A 250°C A RAISON DE 7°C/MN.

18. SCHEMA DE LA CHAUDIERE.
19. SCHEMA DE L'EXTRACTEUR.
20. DEBITS DE DISTILLAT Q POUR DIFFERENTES PUISSANCES DE CHAUFFE P CHOISIES.
21. INFLUENCE DE LA PUISSANCE DE CHAUFFE P SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.
22. INFLUENCE DE LA MASSE DE VEGETAL M SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.
23. INFLUENCE DU DEGRE DE DIVISION SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.
24. INFLUENCE DU SECHAGE ET DU MODE D'EXTRACTION SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.
25. INFLUENCE DU MODE D'EXTRACTION SUR LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE (entraînement à la vapeur).
26. INFLUENCE DU MODE D'EXTRACTION SUR LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE (hydrodistillation).
27. EVOLUTION DE LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE SOUS L'INFLUENCE DE L'ETAT DE LA PLANTE ET DE SON DEGRE DE DIVISION (feuilles fraîches coupées F.F.C).
28. EVOLUTION DE LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE SOUS L'INFLUENCE DE L'ETAT DE LA PLANTE ET DE SON DEGRE DE DIVISION (feuilles fraîches broyées F.F.B).
29. EVOLUTION DE LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE SOUS L'INFLUENCE DE L'ETAT DE LA PLANTE (Feuilles sèches F.S).
30. EVOLUTION DU POURCENTAGE EN CINEOL-1.8 EN FONCTION DU TEMPS.

LEGENDES DES TABLEAUX.

- I. PRINCIPALES IMPORTATIONS MONDIALES EN HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS(1983-1984), selon l'I.R.D.T.
- II. PRINCIPAUX COMPOSES IDENTIFIES DANS L'HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS GLOBULUS, Selon BOELENS.
- III. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'HUILE ESSENTIELLE D'EUCALYPTUS GLOBULUS d'Algérie.
- IV. PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DE CERTAINS COMPOSES DE L'HUILE ESSENTIELLE D'E.G.
- V. RESULTATS D'ANALYSE DES FRACTIONS OBTENUES PAR DISTILLATION SOUS UNE PRESSION REDUITE DE 25 MM DE Hg.
- VI. IDENTIFICATION DES COMPOSES ISSUS DE LA FRACTION 4 ELUEE SUR P.E.G. 20M PAR C.P.G. ET C.G./S.M.
- VII. IDENTIFICATION DES COMPOSES ISSUS DE LA FRACTION 6 ELUEE SUR P.E.G. 20M PAR C.P.G. ET C.G./S.M.
- VIII. VARIATION DU TAUX D'HUMIDITE EN FONCTION DU TEMPS.
- IX. DEBITS DE DISTILLAT Q EN LITRES PAR HEURES POUR DIFFERENTES PUISSANCES DE CHAUFFE P CHOISIES.
- X. INFLUENCE DE LA PUISSANCE DE CHAUFFE P SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.
- XI. INFLUENCE DE LA MASSE DE VEGETAL M SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.
- XII. INFLUENCE DU DEGRE DE DIVISION SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.
- XIII. INFLUENCE DU SECHAGE SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.
- XIV. INFLUENCE DE L'HYDRODISTILLATION SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE R.
- XV. INFLUENCE DU MODE D'EXTRACTION SUR LA COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE .
- XVI. EVOLUTION DE LA COMPOSITION DE HUILE ESSENTIELLE EXTRAITE PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR SOUS L'INFLUENCE DE L'ETAT DE LA PLANTE ET DE SON DEGRE DE DIVISION.

XVII. EVOLUTION DU POURCENTAGE RELATIF EN CINEOL-1.8 EN FONCTION DES DIFFERENTS PARAMETRES D'EXTRACTION (extraction menée dans les conditions optimales).

XVIII. PRINCIPAUX RESULTATS DE L'EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR ET PAR HYDRODISTILLATION.

CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

A/ CARACTERISTIQUES PHYSIQUES:

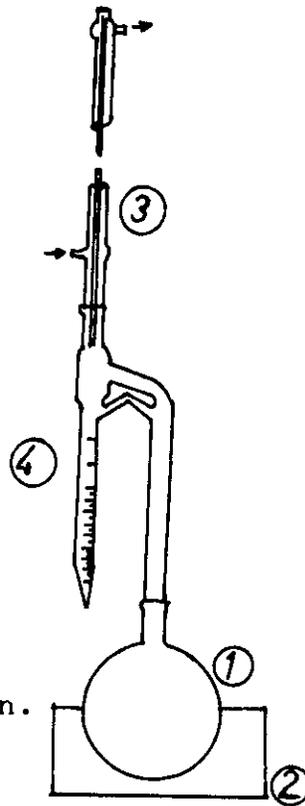
- a: Coloration.
- b: Déviation polarimétrique: $[\alpha]_D^T = 100\alpha / l.c$
 - où α : angle de déviation
 - l: longueur du tube en dm
 - c: concentration poids/volume
- c: Densité d_4^{20}
- d: Indice de réfraction n_D^{20}
- e: Solubilité dans l'alcool éthylique dilué: permet de déceler rapidement certaines falsifications grossières (addition d'huile essentielle de térébenthine, de pétrole, de terpènes ou de sesquiterpènes) ou l'état de fraîcheur d'une essence.
- f: Viscosité.
- g: Point de fusion.

B/ CARACTERISTIQUES CHIMIQUES:

- a: Indice d'acide (IA)
- b: Indice d'ester (IE)
- c: Indice d'ester par acétylation classique ($IE_{ac, classique}$): permet de doser les alcools primaires, secondaires et tertiaires.
- d: Indice de carbonyle: permet de doser les aldéhydes, les cétones ainsi que d'autres dérivés.
- e: Dosage des aldéhydes et cétones.
- f: Dosage des phénols.

Détermination du taux d'humidité
par la méthode de DEAN et STARCK [71].

L'eau contenue dans l'échantillon est entraînée par distillation à reflux de xylène dans le montage représenté ci-dessous. Après condensation, l'eau se sépare du solvant et s'accumule dans le tube de recette gradué. Le xylène retourne dans le récipient de distillation.



1. Récipient de distillation.
2. Dispositif de chauffage.
3. Réfrigérant droit.
4. Tube de recette de 10 ml avec les graduations suivantes:
0 ml à 1 ml: graduation de 0.1 ml (erreur de 0.05 ml)
à partir de 1 ml: graduation de 0.2ml(erreur de 0.1ml)