

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Ecole Nationale Polytechnique
Département de Génie Chimique

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Option : Génie Chimique

Présentée par : Mme SAHRAOUI Naima

Magister en Energétique des Procédés de l'USTHB

Intitulé

MISE AU POINT D'UN NOUVEAU PROCÉDE D'EXTRACTION D'HUILES ESSENTIELLES ASSISTÉ PAR MICRO-ONDES : APPLICATION A LA VALORISATION DE PLANTES LOCALES ET COMPARAISON AVEC LES PROCÉDES CONVENTIONNELS

Le 18 Février 2013

devant le jury composé de :

Président :	Mr Chems Eddine CHITOUR	Professeur	ENP
Rapporteurs :	Mme Chahrazed BOUTEKEDJIRET	Professeur	ENP
	Mr Farid CHEMAT	Professeur	Université d'Avignon
Examineurs :	Mr Moulay Hacène GUERMOUCHE	Professeur	USTHB
	Mme Meriem BELARBI	Professeur	Université de Tlemcen
	Mme Stoyka CHARCHARI	Professeur	ENP
	Mme Zahia KABOUICHE	Professeur	Université de Constantine

ENP 2012

REMERCIEMENTS

Je tiens à adresser en premier lieu mes plus chaleureux remerciements à ma Directrice de Thèse, Madame Chahrazed. BOUTEKEDJIRET, Professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique d'El Harrach. En plus d'avoir dirigée ma thèse; elle m'a transmis la passion de la recherche et n'a eu de cesse de m'encourager et de me soutenir durant ces cinq années. Je lui suis également reconnaissante pour le temps qu'elle m'a consacré, pour ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa franchise et sa sympathie. J'ai beaucoup appris à ses côtés. J'ai ainsi pu apprécier non seulement sa compétence scientifique, mais aussi sa non moins importante dimension humaine. Je lui réitère ma gratitude.

J'adresse mes profonds remerciements à mon co-directeur de thèse, Monsieur Farid CHEMAT, Professeur à l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et responsable du Groupe de Recherche en Eco-Extraction des produits Naturels (GREEN), LSQPOV, UMR 408. Son attention à chaque instant à mes travaux et ses conseils avisés ont été déterminants pour la bonne réussite de cette thèse.

Je sais gré à Monsieur Chems Eddine CHITOUR, Professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique d'El Harrach, pour l'honneur qu'il me fait d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.

Je remercie très sincèrement Monsieur Moulay Hacène GUERMOUCHE, Professeur à l'USTHB, d'avoir accepté d'examiner ma thèse.

Je suis très honorée que Mesdames Meriem BELARBI Professeur à l'Université de Tlemcen et Zahia KABOUCHE Professeur à l'Université de Constantine, aient accepté de venir de si loin pour faire partie de mon jury.

C'est aussi un honneur d'avoir comme membre du jury Mme Stoyka CHARCHARI, Professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique d'El Harrach.

Que Madame Maryline Abert-Vian, Docteur HDR au sein du Groupe de Recherche en Eco-Extraction des produits Naturels (GREEN), LSQPOV, UMR 408 à l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse trouve ici le témoignage de ma reconnaissance pour sa collaboration dans la réalisation de cette étude.

Je remercie vivement Monsieur Mohamed El Maataoui, Professeur à l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, UMR 406, et Madame Isabelle Bornard Assistante-Ingénieur à l'INRA d'Avignon pour la réalisation des observations en microscopie.

Je suis très heureuse d'exprimer ma gratitude à Madame Amina HELLAL, Professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et m'avoir permis d'y réaliser une partie de mes recherches et de profiter de ses pertinentes remarques et recommandations.

Je tiens également à exprimer ma vive reconnaissance à Monsieur HAZIT Maître de conférences à l'Ecole Nationale supérieure d'Agronomie d'El Harrach pour sa précieuse aide.

Que l'équipe du CRAPC trouve ici l'expression de mes remerciements pour les analyses des huiles essentielles.

Je remercie également Monsieur BOUARAB Chef de Département de l'ex Département des Sciences Fondamentales pour m'avoir autorisé à manipuler dans le laboratoire de chimie de 2^{ème} année.

Je tiens à remercier tous les étudiants que j'ai eu à encadrer pour le PFE et leur mémoire de Master, particulièrement Mademoiselle Fatma Zohra DJEBRI à qui j'exprime mon affection et ma reconnaissance pour sa présence et sa disponibilité.

Je ne saurais oublier mes collègues du Département de Génie des Procédés de l'USTHB et toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin tout au long de la réalisation de ce travail.

Mes remerciements ne seraient pas achevés, sans une pensée affectueuse pour mon mari Ali, mes enfants, Ines, Amazigh, Lyna, Kaci et ma grande amie Nadia CHEKIR. En me demandant constamment quand est-ce que je soutiendrai ma thèse, malgré les angoisses de ce rappel en périodes de doutes, ils m'ont déterminée à ne jamais dévier de mon objectif final.

Avant-propos

Une partie des travaux présentés dans cette thèse a donné lieu à la publication de deux articles scientifiques dans des revues internationales à comité de lecture, ainsi que deux communications orales et une communication par affiche.

I. Publication scientifique dans des revues internationales à comité de lecture

1. *Journal of Chromatography A*. 1210, 229–233, 2008.

«Improved microwave steam distillation apparatus for isolation of essential oils. Comparison with conventional steam distillation».

SAHRAOUL N., ABERT VIAN M., BORNARD I., BOUTEKEDJIRET C., CHEMAT F

2. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 12, 163-170, 2011.

Valorization of *citrus* by-products using Microwave Steam Distillation (MSD)

SAHRAOUL N., ABERT VIAN M., EL MAATAOUI M., BOUTEKEDJIRET C., CHEMAT F

II. Communication orale

1. «Etude des procédés d'extraction d'huiles essentielles par micro-ondes et par entraînement à la vapeur d'eau » *Congrès International sur la Santé et l'Agro – alimentaire* : CISA 2009. Alger, les 30 Novembre et 1^{er} Décembre 2009

C. BOUTEKEDJIRET, **N. SAHRAOUI**, L. LOUCIF, F. CHEMAT

2. « Microwave Steam Distillation of Essential Oil of Orange. A new technique for isolation of essential oil ». The Mediterranean Conference on Natural Products, MCNP'2011, Tipaza, 08 - 10 Octobre 2011.

N. SAHRAOUI, S. BENTALLAA, F. CHEMAT, C. BOUTEKEDJIRET

III. Communication par affiche

1. « Mise au point et optimisation des conditions opératoires d'un nouveau procédé d'extraction d'huiles essentielles assisté par micro-ondes »

Congrès International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales : CIPAM 2009 Djerba. Tunisie, 26.24 Mars 2009.

N. SAHRAOUI, F. CHEMAT, C. BOUTEKEDJIRET

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante	5
Figure 2 : Entraînement à la vapeur d'eau descendante	5
Figure 3 : Extraction par hydrodistillation	6
Figure 4 : Principe schématisé de l'appareillage de turbodistillation (DCF Aromaprocess)	7
Figure 5 : Schéma du montage de l'expression à froid	7
Figure 6 : Bande de fréquence électromagnétique	10
Figure 7 : Four micro-ondes monomode	12
Figure 8 : Four à cavité multimode	12
Figure 9 : Transferts thermiques sous les deux modes de chauffage	13
Figure 10: Différents matériaux pour le chauffage par micro-ondes	13
Figure 11 : Impact moléculaire d'un champ électrique	14
Figure 12 : Tunnel de séchage de céramiques	15
Figure 13 : Décongélation de viande assistée par micro-ondes	16
Figure 14 : Entraînement à l'air assisté par micro-ondes (CAMD)	18
Figure 15 : Hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulsé (VMHD)	19
Figure 16 : Hydrodistillation assistée par micro-ondes (MAHD).	20
Figure 17 : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME)	21
Figure 18 : Extraction sans solvant améliorée assistée par micro-ondes (Improved SFME).	23
Figure 19: Extraction par entraînement à la vapeur accéléré par micro-ondes (MASD)	23
Figure 20 : Hydrodiffusion assistée par micro-onde et gravité (MHG).	24
Figure 21 : Vapo-diffusion assistée par micro-ondes (MSDf).	25
Figure 22 : Schémas du processus de transfert de matière et de chaleur lors de l'extraction d'HE par chauffage micro-ondes (a) et chauffage conventionnel (b)	27
Figure 23 : Entraînement à la vapeur d'eau	32
Figure 24 : Entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes « EVMO »	33
Figure 25 : Variation temporelle du rendement en HE de lavande extraite par EVMO et EV	39
Figure 26.a et a' : Structure d'une fleur de lavande observée au microscope électronique à balayage avant extraction : (a) Fleur entière, (a') Glandes sécrétrices d'HE.	44
Figure 26.b : Structure des fleurs de lavande observées au microscope électronique à balayage après extraction par EV.	46
Figure 26.c : Structure des fleurs de lavande observées au microscope électronique à balayage après extraction par EVMO.	46
Figure 27 : Coupe transversale d'une orange détaillant la structure du péricarpe.	50
Figure 28 : Répartition géographique de la production d'agrumes destinés au marché frais	55

Figure 29 : Evolution du rendement en huile essentielle en fonction du temps	56
Figure 30 : Structure des écorces d'orange non traitées : (OG : Poches à HE, P : Parenchyme)	60
Figure 30 : Structure des écorces d'orange traitées par EVMO (C) et par EV (D).	61
Figure 31 : Représentation du plan composite central en trois dimensions.	66
Figure 32 : Evolution temporelle du rendement en HE de lavande pour différents débits	69
Figure 33 : Evolution temporelle du rendement en HE de lavande pour différentes puissances	70
Figure 34 : Diagramme de Pareto	73
Figure 35 : Effets simples des paramètres	73
Figure 36 : Effets d'interactions Débit - Puissance	74
Figure 37 : Surface de réponse correspondant au couple Débit-Puissance	76
Figure 38 : Evolution temporelle du rendement en HE d'orange pour différents débits	81
Figure 39 : Evolution temporelle du rendement en HE d'orange pour différentes puissances	82
Figure 40 : Taux d'extraction en fonction de la fraction massique en huiles essentielles obtenue par EVMO et EV	91
Figure 41 : Aromatogramme sur boîte de Pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné d'huile essentielle	94
Figure 42 : Diffusion radiale dans une boîte de Pétri d'un puits creusé dans la gélose et rempli d'huile essentielle	95
Figure 43 : Aspect des cultures et des zones d'inhibition en présence de l'HE de lavande	99
Figure 44 : Aspect des cultures et des zones d'inhibition en présence de l'HE d'orange	100
Figure 45 : Lecture de la CMI de <i>Staphylococcus aureus</i> en présence de l'HE de lavande	102
Figure 46 : Lecture de la CMB de <i>Staphylococcus aureus</i> en présence de l'HE de lavande.	102
Figure 47 : Aspect des cultures fongiques et des zones d'inhibition en présence de l'HE de lavande	105
Figure 48 : Aspect des cultures fongiques et des zones d'inhibition en présence de l'HE d'orange	104
Figure 49 : Réaction du radical DPPH avec un antioxydant AH	107
Figure 50 : Capacité d'inhibition de l'HE de lavande extraite par EVMO, Constituants majoritaires, Acide ascorbique, BHA, BHT et Acide gallique	111
Figure 51 : Capacité d'inhibition de l'HE d'écorce d'orange extraite par EVMO, Limonène, Acide ascorbique, BHA, BHT et Acide gallique	111

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Recensement de quelques plantes soumises à une extraction des HE par MAHD et HD	20
Tableau II : Recensement des plantes extraites par SFME et HD	22
Tableau III : Approche de la production mondiale de lavande et de son évolution en tonnes	38
Tableau IV : Caractéristiques physiques et organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill obtenue par EVMO et EV	40
Tableau V : Conditions opératoires des analyses en CG	41
Tableau VI : Conditions opératoires des analyses en CG/SM	41
Tableau VII : Composition chimique de l'HE de lavande obtenue par EVMO et EV	43
Tableau VIII : Production des agrumes en Algérie entre 2000 et 2010	53
Tableau IX : Les principaux producteurs d'agrumes dans le monde	54
Tableau X : Principaux pays importateurs et exportateurs d'agrumes dans le monde	55
Tableau XI : Rendement en HE de dix variétés d'agrumes extraites par ESSAM, CP et HD	57
Tableau XII : Propriétés physiques et organoleptiques de l'HE d'écorces d'orange	58
Tableau XIII : Composition chimique de l'HE d'orange obtenues par EVMO et EV	59
Tableau XIV : Caractéristiques des procédés EVMO, EV, MASD et SFME	62
Tableau XV : Influence du débit de vapeur sur le rendement en HE de lavande	68
Tableau XVI : Influence de la puissance de chauffe sur le rendement en HE de lavande	69
Tableau XVII : Domaines de variation des paramètres opératoires	71
Tableau XVIII : Conditions opératoires et rendement en HE des essais du plan composite central	71
Tableau XIX : Analyse de la variance	72
Tableau XX : Valeurs expérimentales et calculées du rendement	75
Tableau XXI : Conditions opératoires optimales expérimentales et théoriques	76
Tableau XXII : Teneurs relatives des composés majoritaires de l'HE de lavande relatives aux essais du PCC	78
Tableau XXIII : Résultats de l'analyse de la variance des constituants majoritaires de l'HE de lavande	78
Tableau XXIV : Influence du débit de vapeur d'eau sur le rendement en HE	80
Tableau XXV : Influence de la puissance sur le rendement en HE	81
Tableau XXVI : Domaines de variation des paramètres opératoires	83
Tableau XXVII : Conditions opératoires, rendement en HE, constantes de vitesse, temps optimal et teneur relative en limonène	83
Tableau XXVIII : Analyse de la variance et coefficient de régression pour le rendement et la teneur limonène	84

Tableau XXIX : Valeurs expérimentales et calculées du rendement et de la teneur en limonène	85
Tableau XXX : Conditions opératoires optimales expérimentales et théoriques relatives au rendement, et à la teneur en limonène	86
Tableau XXXI : Valeurs des coefficients de transfert de matière globaux et des paramètres de proportionnalité (α)	90
Tableau XXXII : Liste des germes étudiées	97
Tableau XXXIII : Résultats du test de sensibilité	98
Tableau XXXIV : CMI et CMB pour l'huile essentielle de lavande	101
Tableau XXXV : Résultats des tests de sensibilité des HE de lavande et d'orange	103
Tableau XXXVI : Activité de piégeage du radical DPPH[•] par les HE de lavande, d'orange, de leurs constituants majoritaires et des antioxydants de synthèse	110

LISTE DES ABREVIATIONS

A	Variables relative au débit en coordonnées réduites
Å	Angström
A(%)	Activité inhibitrice
Abs	Absorbance
Ac	Accumulation
AFNOR	Association Française de Normalisation
AS	Antioxydant synthétique
ATB	Antibiotiques
ATCC	American Type Culture Collection
B	Variables relative à la puissance en coordonnées réduites
BHA	Butyl hydroxyanisole
BHT	Butyl hydroxytoluène
CCE	Plan central composite
CCFC	Plan composite à faces centrées
CG	Chromatographie en phase gazeuse
CG/SM	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de Masse
CMB	Concentration minimale bactéricide ($\mu\text{L d'HE.mL}^{-1}$)
CMI	Concentration minimale inhibitrice ($\mu\text{L d'HE.mL}^{-1}$)
D	Diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne, (mm)
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
EV	Entraînement à la vapeur d'eau
EVMO	Entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes
f	Fréquence (Hz)
FM	Modulation de fréquences
GHz	Giga Hertz
GO	Grandes ondes
HE	Huile essentielle
MO	Micro-ondes
MT	Millions de tonnes
P	Cellules intérieures de parenchyme
Q	Débit de vapeur d'eau (g.min^{-1})
R.I	indices de rétention
R ²	Coefficient de corrélation
UHF	Ultra haute fréquence

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
PREMIERE PARTIE	
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : LES PROCEDES CONVENTIONNELS D'EXTRACTION	
INTRODUCTION	4
I. ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU	4
II. HYDRODISTILLATION	5
III. EXPRESSION A FROID	7
CHAPITRE II : LA TECHNOLOGIE MICRO-ONDES	
INTRODUCTION	9
I. LES MICRO-ONDES	10
I.1. Définition	10
I.2. Technologie du four micro-ondes	11
I.3. Le chauffage micro-ondes	12
I.4. Les interactions ondes-matière	13
I.5. Les micro-ondes dans l'industrie	15
II. LES PROCEDES D'EXTRACTION ASSISTES PAR MICRO-ONDES	17
II.1. Entraînement à l'air assisté par micro-ondes	17
II.2. Hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulsé	18
II.3. Hydrodistillation assistée par micro-ondes	19
II.4. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes	21
II.5. Extraction sans solvant améliorée assistée par micro-ondes	22
II.6. Entraînement à la vapeur accéléré par micro-ondes	23
II.7. Hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité	24
II.8. Vapodiffusion assistée par micro-ondes et gravité	25
III. COMPREHENSION DE L'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES ASSISTEE PAR MICRO-ONDES	26
III.1. Principe de l'extraction par micro-ondes	26
III.2. Paramètres influençant l'extraction assistée par micro-ondes	27
CONCLUSION	29
DEUXIEME PARTIE	
L'ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU ASSISTE PAR MICRO-ONDES (EVMO)	
CHAPITRE I : MISE AU POINT ET APPLICATION DE L'ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU ASSISTE PAR MICRO-ONDES	
INTRODUCTION	31
I. ELABORATION DU PROCEDE EVMO	32
II. APPLICATION DE L'EVMO A L'EXTRACTION DES HE	33
II.1.LA LAVANDE	34
II.1.1. Notion sur la lavande	34
II.1.2. Extraction de l'huile essentielle	38
II.2. L'ORANGE	48
II.1.2. Notions sur l'orange	48
II.2.2. Extraction de l'huile essentielle	56
III. CONSOMMATION ENERGETIQUE ET IMPACT ENVIRONNEMENTAL	62
CONCLUSION	63

CHAPITRE II : OPTIMISATION DE L'ENTRAÎNEMENT A LA VAPEUR D'EAU ASSISTE PAR MICRO-ONDES

INTRODUCTION	64
I. MODÉLISATION ET OPTIMISATION	64
I.1. Etude paramétrique	64
I.2. Méthodologie des plans d'expériences	64
II. APPLICATION A L'OPTIMISATION DE L'EVMO	68
II.1. LA LAVANDE	68
II.1.1. Etude paramétrique	68
II.1.2. Planification des expériences	70
II.2. L'ORANGE	80
II.2.1. Etude paramétrique	80
II.2.2. Etude par plan d'expériences	82
CONCLUSION	86
CHAPITRE III. COMPREHENSION DES PHENOMENES	
INTRODUCTION	87
I. MODELISATION DES DONNEES CINETIQUES	87
I.1. Bilan de matière sur l'huile essentielle	87
I.2. Détermination du coefficient de transfert de masse K et du paramètre de proportionnalité α	90
CONCLUSION	91
CHAPITRE IV : APPLICATION	
A. ACTIVITE ANTIMICROBIENNE	
INTRODUCTION	93
I. ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES HUILES ESSENTIELLES	93
I.1. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles	93
I.2. Paramètres de l'activité in vitro des huiles essentielles	95
II. APPLICATION AUX HE DE LAVANDE ET D'ORANGE	97
II.1. Etude de l'activité antibactérienne des HE	97
II.2. Etude de l'activité antifongique des HE	103
CONCLUSION	104
B. ACTIVITE ANTIOXYDANTE	
INTRODUCTION	105
I. OXYDATION ET ANTIOXYDANTS	105
II. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE	106
III. APPLICATION AUX HE DE LAVANDE ET D'ORANGE	107
CONCLUSION	112
CONCLUSION GENERALE	113
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	115

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Utilisées à des fins multiples depuis des millénaires, les plantes aromatiques ont toujours eu une place privilégiée à travers les civilisations. En effet, l'Homme a recouru aux plantes et à leurs extraits pour ses besoins alimentaires, pharmaceutiques, cosmétiques et culturels.

Il semblerait que les parfums sous forme d'huiles distillées aient été utilisés pour la première fois par les Egyptiens, il y a de cela plus de 4 000 ans. Mais l'art de la distillation fut incontestablement développé par les arabes. La distillation sèche et celle par l'intermédiaire de l'eau ont été décrites pour la première fois par Geber (721 – 815), alors qu'Ibnou Sina (Avicenne, 930-1037) mis au point l'alambic.

A travers les âges, ce dispositif ainsi que la distillation connurent des améliorations pour aboutir aux divers appareils et techniques utilisés actuellement pour l'extraction des huiles essentielles tels que l'entraînement à la vapeur et l'hydrodistillation. Cependant, ces techniques, même si elles sont faciles d'utilisation, ont pour inconvénients des consommations énergétiques élevées. De plus la qualité des huiles récupérées est parfois altérée en raison des durées de traitement parfois trop longues.

Avec l'augmentation du prix de l'énergie et les restrictions relatives aux émissions de CO₂; ajoutée à cela les exigences du consommateur dont la demande de produits naturels plus sûrs ne cesse d'augmenter, les industriels se sont vus obligés de rechercher des techniques moins énergivores, moins polluantes et dont les produits sont de meilleure qualité. A ce titre, de nouvelles technologies telles que l'extraction par les fluides supercritiques ou par les micro-ondes, ont été développées. Le but recherché est d'obtenir des extraits d'origine végétale de meilleure qualité tout en réduisant les durées de traitement par rapport aux techniques traditionnelles.

Contrairement à l'extraction par fluides supercritiques dont l'utilisation est destinée à certains produits spécifiques à très haute valeur ajoutée notamment dans l'industrie pharmaceutique, la technologie micro-ondes réputée pour ses qualités en terme de spécificité et de rapidité de chauffage, a été très vite introduite et avec succès dans le domaine de l'extraction. C'est ainsi que plusieurs méthodes d'extraction assistées par micro-ondes ont été brevetées et développées depuis les années 1990.

L'entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes (EVMO) a été inspiré de deux techniques à savoir : l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Solvant Free

Microwave Extraction : SFME) et la distillation accélérée par micro-ondes (Microwave Accelerated Steam Distillation : MASD).

La mise au point d'un nouveau procédé a été motivée par les insuffisances observées au niveau de ces deux procédés. En effet, la SFME ne s'applique que pour les plantes fraîches (taux d'humidité de l'ordre de 60 à 70%), alors que pour la MASD, les micro-ondes sont essentiellement utilisés pour le chauffage de l'eau et la production de la vapeur nécessaire à la distillation.

Ce mémoire de thèse composé de deux parties a pour but de présenter le travail effectué pour la mise au point, le développement, la validation et la valorisation de cette nouvelle technique d'extraction assistée par micro-ondes.

La première partie est une synthèse bibliographique présentée en deux chapitres : l'un recensant les procédés d'extraction des huiles essentielles dits traditionnels et le second consacré à la technologie micro-ondes et ses applications particulièrement dans le domaine de l'extraction des huiles essentielles et de manière succincte dans divers domaines de l'industrie.

La seconde partie, consacrée à la démarche expérimentale suivie de la mise au point, la validation et la valorisation du nouveau procédé d'entraînement à la vapeur assisté par micro-ondes comprend quatre chapitres. La mise au point de l'EVMO, son application à l'extraction de deux matrices végétales et la comparaison avec l'entraînement à la vapeur conventionnel seront décrites dans le premier chapitre. Son optimisation fera l'objet du second chapitre. Nous essayerons d'expliquer les phénomènes régissant l'extraction de l'huile essentielle par ce procédé dans le chapitre III. Alors que le chapitre IV sera consacré à l'évaluation des activités biologiques des huiles extraites par ce nouveau procédé.

PREMIERE PARTIE
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Cette partie constitue une synthèse bibliographique présentée en deux chapitres.

Le premier est consacré aux différents procédés conventionnels d'extraction des huiles essentielles.

Le second traite des micro-ondes et de leurs applications dans l'industrie et en laboratoire.

Dans une première partie, nous une approche théorique sera développée afin de discerner les fondements et différences entre énergie électromagnétique et énergie thermique conventionnelle. Dans une deuxième partie, les innovations et applications industrielles majeures de ces dernières années seront brièvement rappelées. La dernière partie traitera des principaux procédés d'extraction assistés par micro-ondes.

CHAPITRE I
LES PROCÉDES CONVENTIONNELS
D'EXTRACTION

INTRODUCTION

Les huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau ou par expression à froid du péricarpe frais de certains Hespérides sont des composés de produits odorants et volatiles d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure [1]. Elles occupent une place considérable sur le marché de la pharmacie, des produits d'hygiène, de l'industrie cosmétique, de la parfumerie ainsi que de nombreuses branches de l'agroalimentaire.

Plusieurs techniques d'extraction des huiles essentielles et des principes aromatiques végétaux sont connues à ce jour. Toutefois, les normes liées à l'utilisation de ces essences limitent en général le choix de la méthode d'extraction. De plus, la localisation histologique des composés aromatiques dans le végétal ainsi que l'utilisation finale du produit extrait peuvent orienter le choix technologique.

Les techniques dites conventionnelles utilisées sont : l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodistillation et l'expression à froid.

I. ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU

Appelé parfois « distillation à la vapeur », l'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour obtenir des huiles essentielles. C'est une technique de séparation et/ou purification. Elle est applicable aux composés peu ou non solubles dans l'eau.

Elle est basée sur le fait que la plupart des composés odorants volatiles (en particulier les huiles essentielles) contenus dans le végétal sont susceptibles d'être entraînés par des aérosols de vapeur d'eau du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Ils ne sont donc ni retenus -par et dans les bio polymères de la plante- ni solubles dans l'eau.

La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille (Figure 1). Durant son passage, les cellules s'effondrent et libèrent l'huile essentielle qui est entraînée et véhiculée vers le réfrigérant où est condensé le mélange composé d'huile essentielle et de vapeur d'eau. L'huile essentielle est récupérée en la séparant de ce que l'on appelle l'hydrolat par simple décantation.

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur (Figure 2). Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la masse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation où il est ascendant.

Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau, ce qui se traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile recueillie.

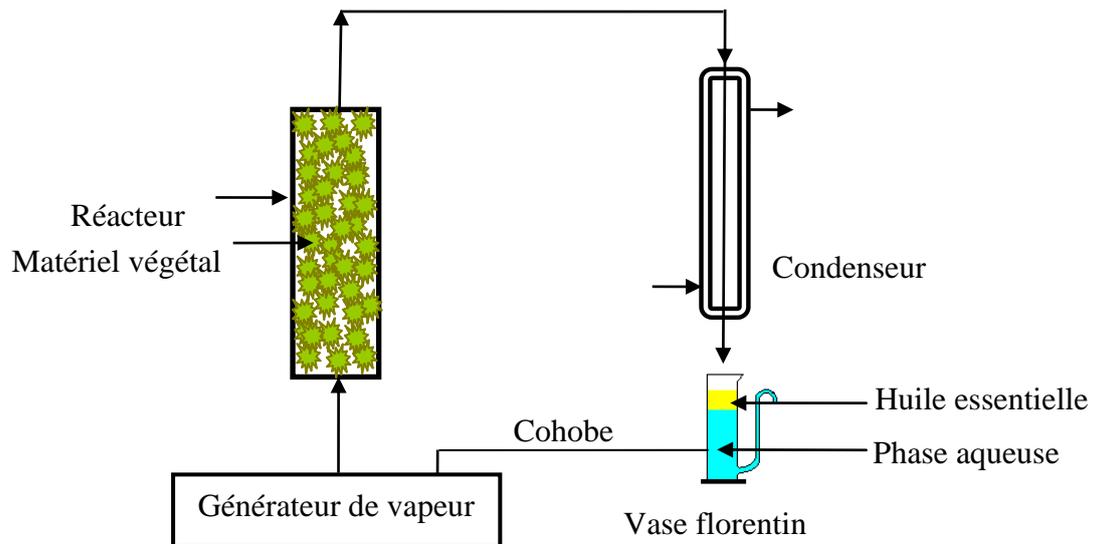


Figure 1 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante

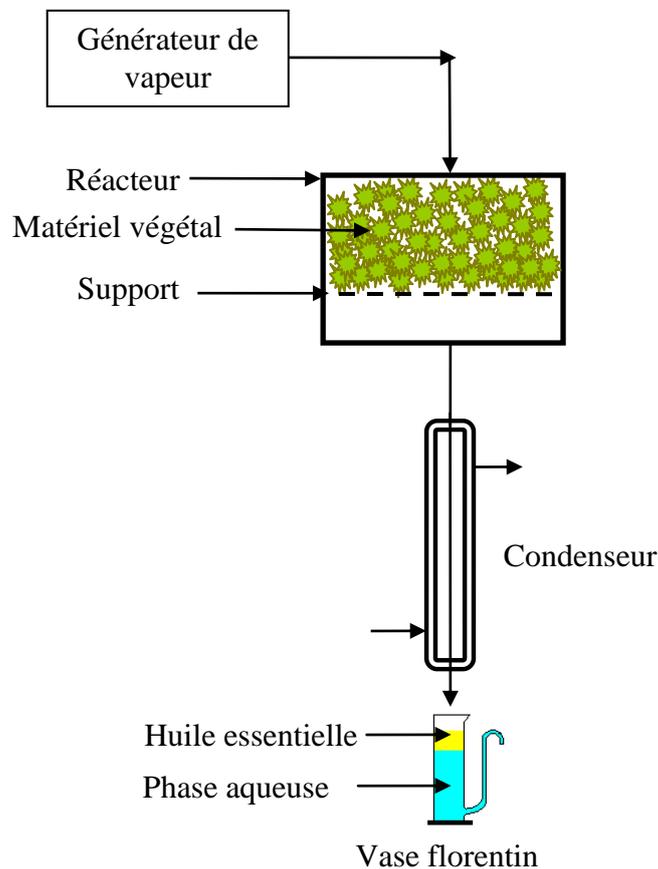


Figure 2 : Entraînement à la vapeur d'eau descendante

II. HYDRODISTILLATION

L'hydrodistillation est une technique très ancienne. Elle est basée sur le même principe que l'entraînement à la vapeur d'eau. La seule différence, dans ce cas, est que la matière végétale baigne dans l'eau. L'ensemble est porté à ébullition, à pression atmosphérique. La chaleur permet

l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. La vapeur d'eau les entraîne vers un système de refroidissement. On obtient, à la fin, un mélange d'eau et d'huile essentielle. Les deux produits ayant des densités différentes et l'huile n'étant pas hydrosoluble, elle est récupérée par décantation. Cependant l'extraction se fait dans des conditions agressives vis à vis de l'huile essentielle. Celle-ci peut subir des réactions secondaires (hydrolyse, élimination, cyclisation, réarrangement), favorisées par la température (100°C), ainsi que par la durée de l'hydrodistillation, ce qui influe sur le rendement et la composition chimique de l'extrait. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le principe de recyclage est communément appelé cohobage. La durée d'une hydrodistillation varie énormément. Elle peut atteindre plusieurs heures selon la matière végétale à traiter. La Figure 3 illustre l'extraction par hydrodistillation.

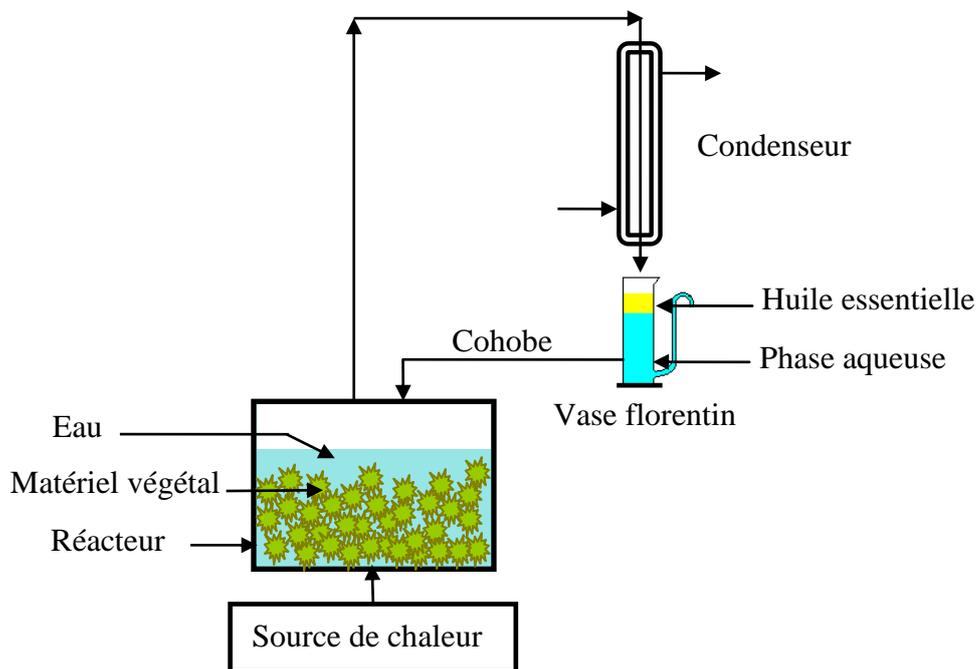


Figure 3 : Extraction par hydrodistillation

La turbodistillation est un procédé d'hydrodistillation accélérée en discontinu c'est une variante qui représente une alternative à des hydrodistillations de longue durée ou en surpression. Développée en France par la société DCF-Aromaprocess, cette technique est prédestinée aux matières premières végétales difficiles à traiter comme les racines, les ligneux ou les graines. C'est le cas pour la badiane de Chine ou les graines de céleri.

Le réacteur contenant la matière végétale est équipé d'une turbine qui permet d'une part, la dilacération des matières végétales et, d'autre part, une agitation turbulente, d'où un meilleur coefficient de transfert thermique et une augmentation de la surface de vaporisation.

Outre le recyclage des eaux de cohobage, ce procédé permet la récupération des fractions les plus volatiles grâce à un système de condensation secondaire. La présence d'une colonne à plateaux contribue à l'enrichissement des vapeurs en huile essentielle, d'où une amélioration du rapport d'entraînement [2-3]. La Figure 4 illustre l'extraction par turbodistillation.

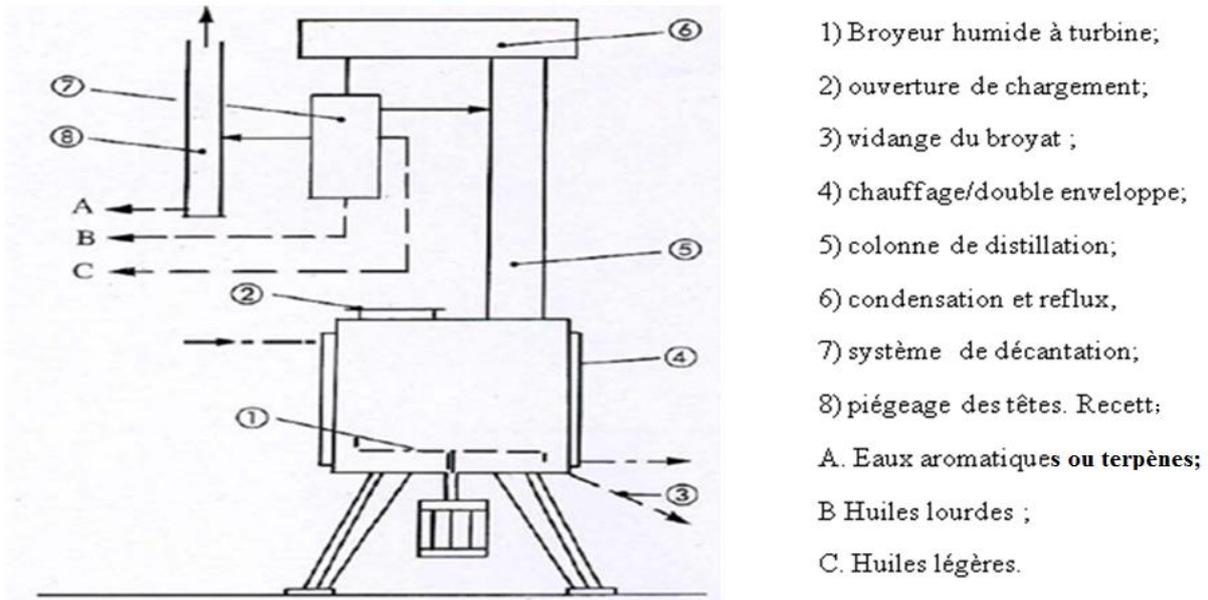


Figure 4 : Principe schématisé de l'appareillage de turbodistillation (DCF Aromaprocess) [4]

III. EXPRESSION A FROID

L'expression à froid est un procédé sans chauffage, totalement différent d'une distillation classique. Il est utilisé spécifiquement dans l'extraction des huiles essentielles de fruits d'hespéridés ou encore d'agrumes qui sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. Ces produits ont une très grande importance dans l'industrie des parfums et des cosmétiques.

Le principe de ce procédé mécanique est basé sur la rupture des péricarpes riches en huiles essentielles contenues dans l'écorce des fruits (Figure 5). L'essence est ensuite entraînée par un courant d'eau froid. L'émulsion formée d'eau et d'essence est ensuite séparée. L'essence est isolée par décantation.

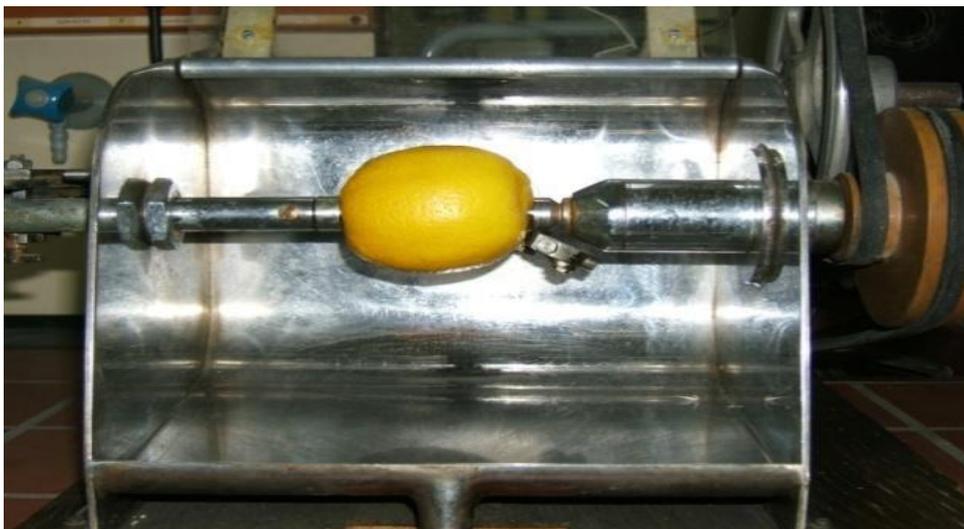


Figure 5 : Schéma du montage de l'expression à froid [5].

L'utilisation de grandes quantités d'eau dans cette technique peut altérer les qualités des huiles essentielles, par hydrolyse, par dissolution des composés oxygénés et par transport de micro-organismes. C'est pour cette raison que les constructeurs cherchent à s'affranchir de l'utilisation de l'eau lors d'une telle extraction. Pour éviter ces altérations, de nouveaux procédés physiques usuels sont apparus. Ils sont basés sur l'ouverture des sacs oléifères par éclatement sous l'effet d'une dépression, ou sur l'utilisation du principe de l'abrasion de l'écorce fraîche [5].

CHAPITRE II
LA TECHNOLOGIE MICRO-ONDES

INTRODUCTION

Le four à micro-ondes est né presque par hasard. C'est en 1946, à Waltham, dans le Massachusetts, que le Dr Percy Spencer et son équipe d'ingénieurs en eurent l'idée. Alors qu'ils travaillaient dans une usine de construction de magnétrons (lampes électroniques de forte puissance utilisées pour les radars) de la société **Raytheon**, ils ont remarqué qu'il y a de la chaleur à proximité d'un magnétron en fonctionnement. Le Dr Spencer constata que la barre chocolatée qui se trouvait dans sa poche, avait fondu.

Intrigué, il disposa des grains de maïs à proximité du tube et vit le pop corn sauter à travers son laboratoire. Après cela, Spencer et un collaborateur placèrent un œuf près du magnétron, l'œuf trembla avant d'exploser à cause de la forte pression interne due à la rapide hausse de température dont il était l'objet. Le chercheur déduisit que ces réactions étaient provoquées par une exposition à de l'énergie provenant des micro-ondes.

Il façonna alors, une boîte métallique dotée d'une ouverture par laquelle pouvaient pénétrer des micro-ondes. Une fois l'énergie dans la boîte, elle ne pouvait plus en sortir ; créant ainsi un champ électromagnétique à haute densité. Lorsque de la nourriture était placée dans la boîte et de l'énergie envoyée, la température des aliments s'élevait très rapidement. Spencer avait alors inventé ce qui allait révolutionner la cuisine et être à la base d'une industrie de centaines de millions de dollars [6]. Durant la même année, Charlie Adams, président de Raytheon, présenta le premier four à micro-ondes mondial et déposa un brevet pour l'utilisation des micro-ondes dans la cuisson des aliments. Toutefois, le premier modèle ne fut commercialisé qu'en 1953, sous le nom de *Radarange*. Il ne s'agissait pas encore d'un appareil domestique car ce modèle primitif était très cher -coûtant l'équivalent de 5000 euros/pièce- et aussi gigantesque, mesurant 1,8 mètres de haut pour un poids de 340 kilogrammes. Autre contrainte, le tube magnétron devait être refroidi à l'eau, occasionnant des travaux de plomberie.

Dans l'objectif de son développement pour un usage plus pratique, les chercheurs et les industriels ont amélioré le produit. Celui-ci devint plus léger, moins cher et un nouveau magnétron refroidi à l'air fût installé. Le premier four domestique utilisant ce procédé apparut en 1967.

Pratique de par sa rapidité, le four à micro-ondes devint un appareil ménager commun. Des options, telle que l'addition de chaleur de convection, de sonde, satisfirent aux besoins de chaque application (cuisson, séchage,...).

Reconnaissant petit à petit le potentiel et la polyvalence de cet instrument, l'industrie alimentaire le mit à l'épreuve. Des tests en tous genres furent effectués pour torréfier des grains de café, griller des cacahuètes, décongeler de la viande et même écosser des huîtres. D'autres secteurs industriels lui trouvèrent diverses autres applications plutôt avantageuses. Il fût utilisé pour sécher liège, céramique, papier, cuir, tabac, textiles, crayons, fleurs, jusqu'au bout en souffre des allumettes. L'appareil était devenu une nécessité sur le marché et ses possibilités semblaient infinies.

Le four à micro-ondes a alors fait son entrée dans les laboratoires devenant un important axe de recherche. Dans les travaux d'Abu- Samra *et coll*, [7] au cours des années 70, cette technologie a servi, pour la première fois, à la préparation d'échantillons pour le dosage d'éléments à l'état de traces provenant de matériaux biologiques

Les applications de ces ondes électromagnétiques ont pu être mises en évidence dans des domaines variés comme : la synthèse organique [8-9], l'environnement [10], l'agroalimentaire [11-12], la médecine [13], l'extraction [14].

De manière générale, les micro-ondes permettent d'obtenir un chauffage accéléré, des rendements améliorés, des réactions très rapides, une énergie et des volumes de solvant diminués, des manipulations simplifiées.

Aujourd'hui, les avantages de la technique des micro-ondes pour divers procédés physiques et/ou chimiques, dans l'industrie ou le laboratoire, sont soulignés et reconnus par de nombreux auteurs.

I. LES MICRO-ONDES

I.1. Définition

Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques couvrant les gammes des ondes décimétriques UHF, centimétriques SHF et millimétriques EHF (Figure 6). Dans le spectre électromagnétique, les micro-ondes occupent une bande de fréquence de trois décades de 300 GHz à 300 MHz. Les longueurs d'ondes associées s'étalent de 1 millimètre à 1 mètre. La fréquence la plus utilisée est de 2450 MHz correspondant à celle de la majorité des magnétrons des fours micro-ondes de cuisine qui ont une puissance de 600 à 1000 Watts et une longueur d'onde dans l'air de 12,2 cm [15,16].

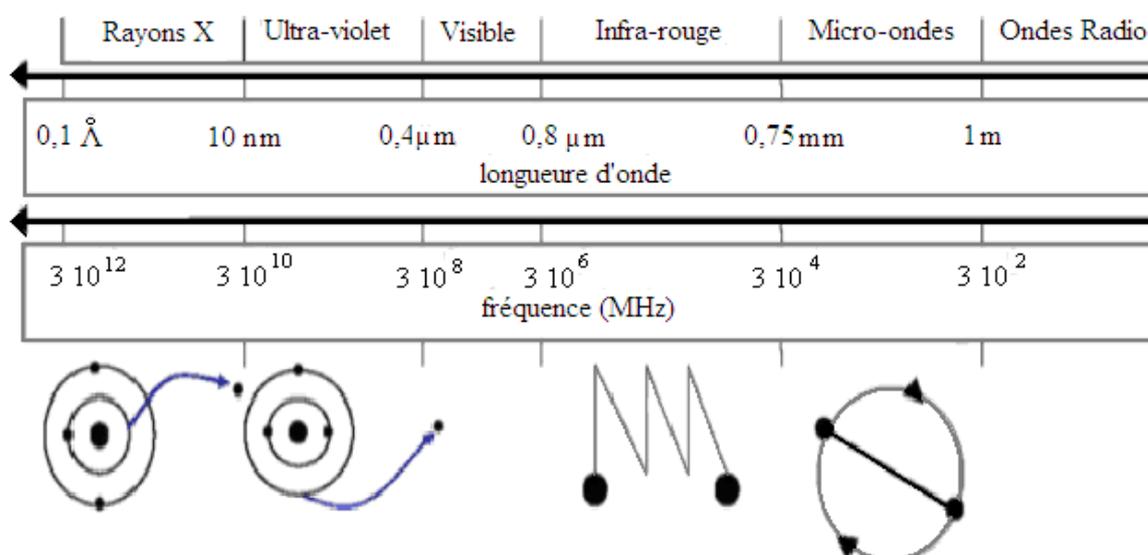


Figure 6 : Bande de fréquence électromagnétique [17]

Comme leur nom l'indique, les ondes électromagnétiques associent un champ électrique \vec{E} et un champ magnétique \vec{B} . Suivant la nature des matériaux qu'elles traversent, on assistera à une dégradation en chaleur de l'énergie véhiculée. Ainsi, pour les matériaux conducteurs, c'est le champ magnétique qui sera à l'origine du transfert de chaleur. Pour les matériaux isolants, c'est le champ électrique qui interférera avec les molécules polaires des matériaux soumis au rayonnement. Ce mécanisme est connu sous le nom de chauffage par pertes diélectriques. La propagation peut être décrite par les lois de l'électromagnétisme de Maxwell. La quasi-totalité du spectre de fréquence est utilisée pour la télécommunication, c'est-à-dire l'échange d'informations. On peut citer de manière non exhaustive : la radio (GO, PO, FM), la télévision, la téléphonie mobile, les radars. Seules quelques bandes de fréquences, très restreintes, restent utilisables pour les applications industrielles, scientifiques et médicales.

I.2. Technologie du four micro-ondes

Un four à micro-ondes est un appareil électroménager permettant la cuisson rapide d'aliments. Il est, de plus, très pratique pour réchauffer des aliments solides ou liquides déjà préparés. Le chauffage s'effectue par agitation des molécules d'eau que contiennent les aliments. Cette agitation résulte de l'oscillation de la molécule d'eau dont le dipôle ou vecteur de polarisation électrique s'oriente passivement dans le champ électrique alternant du rayonnement micro-ondes. Les éléments principaux qui constituent un four micro-ondes sont :

- le générateur micro-ondes ;
- le guide d'ondes ;
- la cavité micro-ondes.

Le générateur micro-ondes appelé aussi magnétron est un tube à vide, sans grille d'arrêt, avec une cathode centrale chauffée par un filament et une anode massive et concentrique dans laquelle sont creusées plusieurs cavités résonnantes. Un champ magnétique axial est généralement créé par deux aimants permanents à chaque extrémité du tube. Le parcours des électrons, en spirale du fait du champ magnétique, se fait à une fréquence accordée aux cavités résonnantes. Ce champ à haute tension est produit par une alimentation électrique, à 220 V, 50 Hz, à partir du secteur redressé.

Le guide d'onde est un tube métallique ou un conducteur cylindrique dont la section droite est limitée par un contour fermé pouvant contenir d'autres contours. Son rôle est de convoier et de guider les ondes émises par le magnétron vers l'applicateur

L'applicateur est une cavité fermée chargée de diffuser correctement les micro-ondes produites par le magnétron sur le produit à traiter. Principalement, on note deux sortes d'applicateurs : les cavités monomodes et les cavités multimodes (Figures 7 et 8). Le choix de l'une de ces technologies dépend de la connaissance des caractéristiques diélectriques, des dimensions et de la nature du produit à traiter. Les cavités monomode sont très utiles dans le cas d'un traitement précis et ponctuel puisqu'elles permettent de connaître avec précision la répartition du champ électromagnétique. Alors que, l'applicateur multimode consiste en une cavité

suffisamment grande afin qu'il existe plusieurs types de configurations de champ. On préfère donc utiliser des applicateurs multimodes pour le traitement des volumes importants, et des matériaux dont les paramètres électriques et magnétiques varient peu.

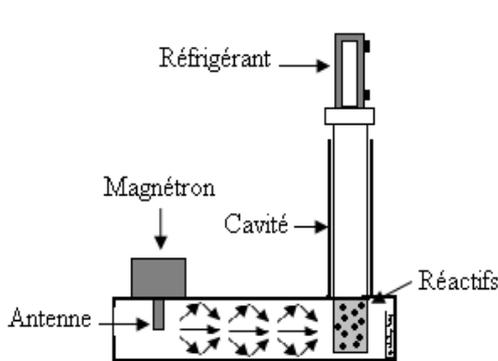


Figure 7 : Four micro-ondes monomode

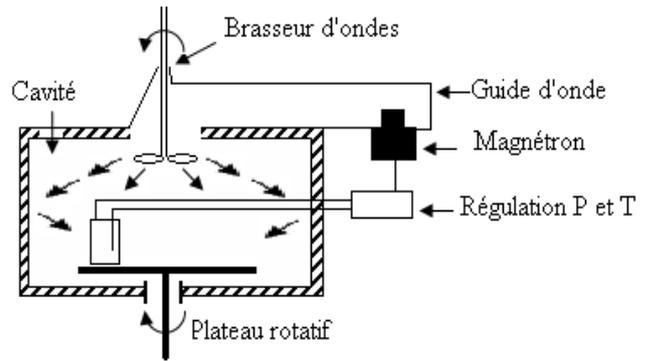


Figure 8 : Four à cavité multimode

I.3. Le chauffage micro-ondes

Contrairement aux techniques classiques de chauffage par conduction ou convection, l'utilisation des micro-ondes implique une interaction directe entre un rayonnement électromagnétique et la matière. Le chauffage par micro-ondes d'un produit résulte ainsi de la conversion en chaleur de l'énergie d'une onde électromagnétique au sein de ce matériau. Le volume traité devient lui même source de chaleur. On parle de dégagement de la chaleur de l'intérieur vers l'extérieur du produit. Dans ce type de chauffage, la paroi externe du réacteur est plus froide que le milieu du réacteur. C'est un mode de chauffage instantané en volume et non en surface. Les phénomènes thermiques de conduction et de convection ne jouent plus qu'un rôle secondaire d'équilibrage de la température. Des surchauffes locales peuvent également se produire. La Figure 9 illustre ce phénomène.

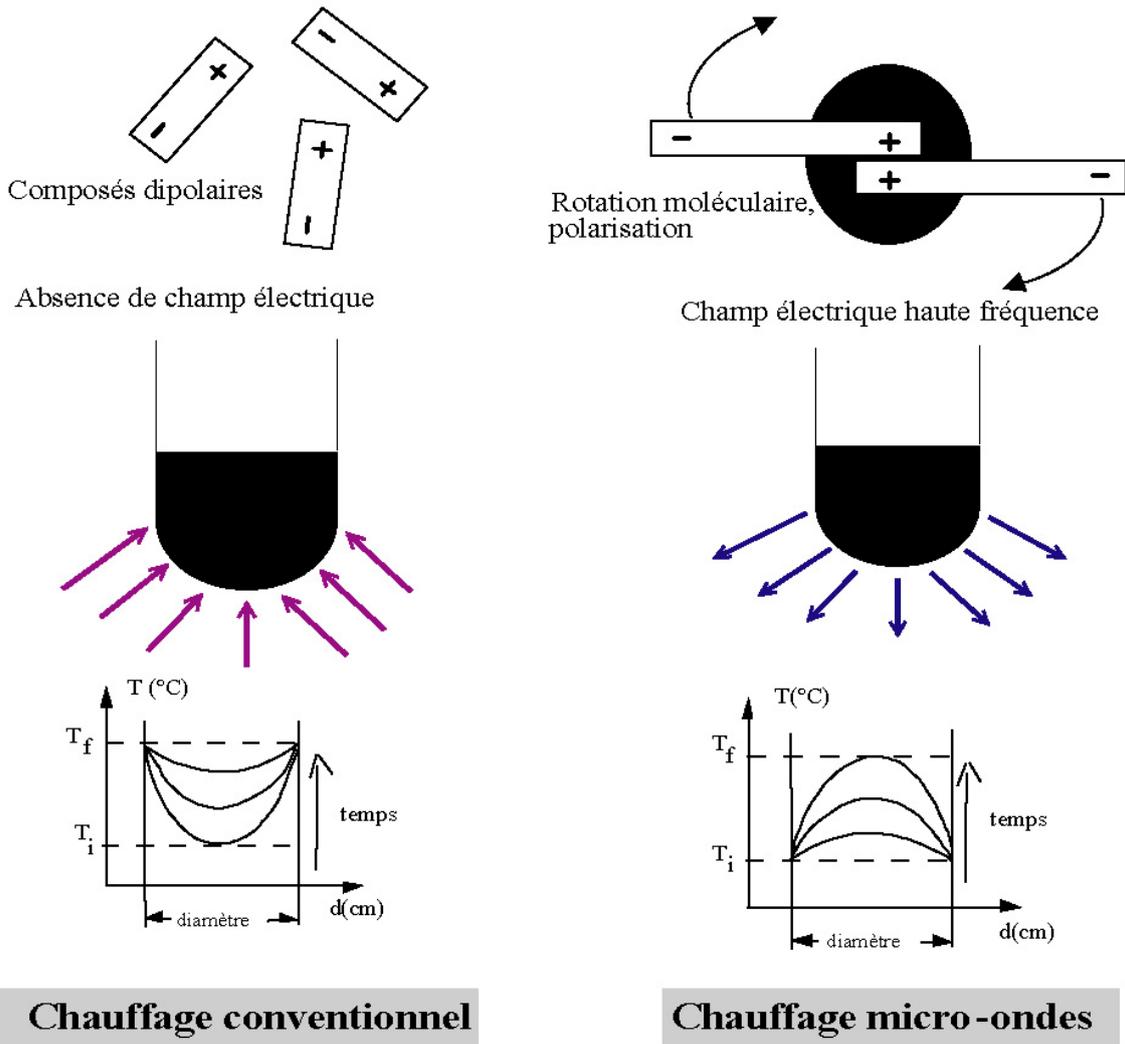


Figure 9 : Transferts thermiques sous les deux modes de chauffage [17]

I.4. Les interactions ondes-matière

Lorsque de la matière est irradiée par une onde électromagnétique, plusieurs comportements sont possibles. Ils dépendront de ses propriétés électriques. (Figure 10) :

- le matériau est transparent, l'onde électromagnétique est transmise sans perte d'énergie (a) ;
- le matériau est conducteur, c'est à dire opaque, l'onde est réfléchiée et ne chauffe pas (b) ;
- le matériau est absorbant, une fraction plus ou moins importante de l'énergie de l'onde est absorbée (c).

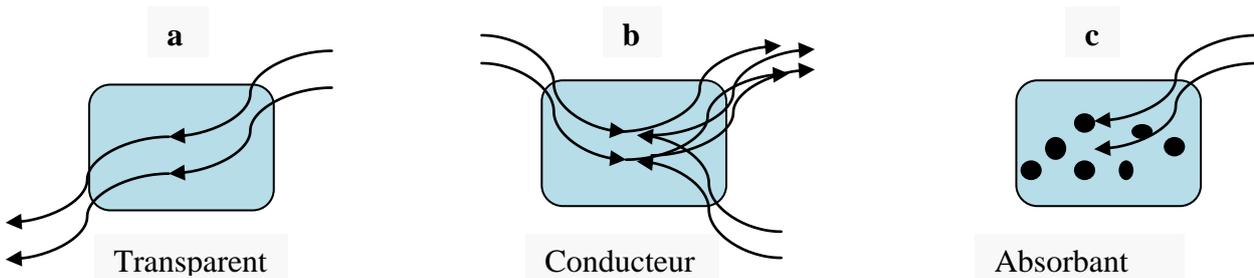


Figure 10 : Différents matériaux pour le chauffage par micro-ondes

Contrairement aux conducteurs dans lesquels les charges peuvent se déplacer librement, un diélectrique est un matériau isolant (papier, mica, verre, etc.) dont les charges sont très fortement liées aux atomes qui le constituent. Il n'existe pratiquement pas d'électrons libres dans les diélectriques ; ces derniers étant de très mauvais conducteurs d'électricité. Leur conductivité est donc très faible et leur résistivité est comprise entre 10^{17} et $10^{19} \Omega \cdot m$.

Un diélectrique est un milieu matériel dans lequel un champ électrique peut exister à l'état stationnaire. L'apparition d'un champ électrique au sein du diélectrique provoque une déformation des molécules ainsi qu'une réorientation de ses moments dipolaires permanents. Plus le champ électrique est intense, moins l'agitation thermique qui tend à désorganiser l'alignement, a d'importance.

Lorsque toutes les molécules sont orientées, il apparaît un moment dipolaire global induit. Sous l'effet d'un champ électrique alternatif de fréquence f , les dipôles s'orientent dans la direction du champ sur une demi alternance, se désorientent lorsque le champ s'annule et se réorientent dans l'autre sens pendant la seconde demi alternance : c'est la rotation dipolaire. [17].

L'énergie électrique est convertie en énergie cinétique par la rotation des dipôles et est transformée partiellement en chaleur. L'alignement des dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par les forces d'interactions entre molécules (les forces de liaison par pont hydrogène et les forces de liaisons de Van der Waals). Ces forces peuvent être assimilées à des forces de frottement internes qui existent dans les contacts solide-solide. Elles s'opposent ainsi à la libre rotation des molécules. De la friction produite, naît le dégagement de chaleur. La dissipation d'énergie par le produit peut être maximale si la fréquence du champ électrique est égale à la fréquence de relaxation [17].

La relaxation peut se résumer par un phénomène général qui consiste en l'existence d'un délai de réponse pour un système soumis à une excitation extérieure. Il y a relaxation diélectrique lorsqu'on supprime brusquement le champ électrique qui polarisait un matériau. Un temps, dit de relaxation, est nécessaire pour que le matériau retourne à son état de désordre moléculaire de départ comme le montre la Figure 11.

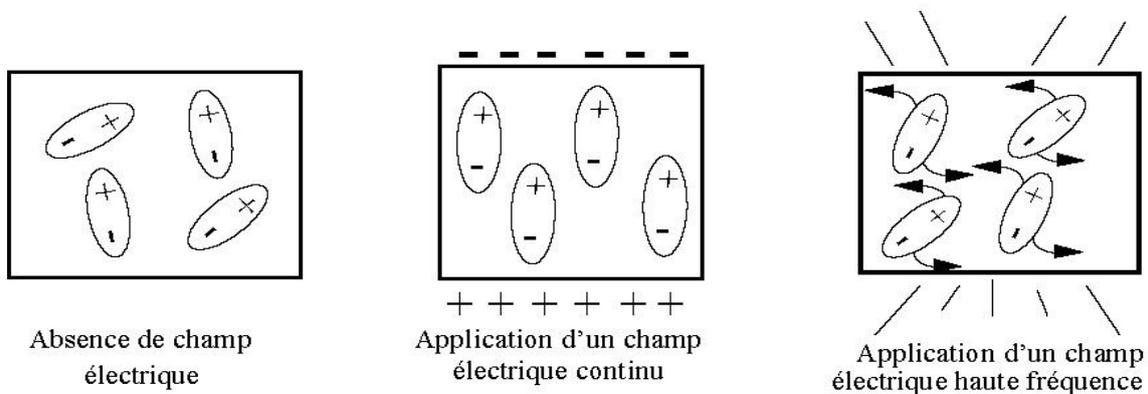


Figure 11 : Impact moléculaire d'un champ électrique

I.5. Les micro-ondes dans l'industrie

Longtemps connues pour leur usage domestique dans les foyers (chauffage, cuisson,), la technologie micro-ondes est aujourd'hui présente dans beaucoup de domaines d'activité industrielle qui se tournent résolument vers l'utilisation ciblée des techniques électromagnétiques : séchage, décongélation, traitement des déchets, réticulations des matières thermodurcissables, extraction...

Le séchage

Les pertes thermiques qui apparaissent dans les matériaux sensibles aux micro-ondes, l'eau par exemple, ouvrent la voie à de nombreuses applications de séchage. Le séchage par micro-ondes peut s'orienter vers de multiples domaines industriels, depuis la papeterie, l'imprimerie jusqu'au bâtiment en passant par le textile.

Pour le séchage du papier, l'emploi des micro-ondes réalise un gain de temps de 100% et une économie énergétique de 50%. C'est une technique qu'on retrouve également dans l'industrie textile pour la fixation des colorants sur tissus.

Le séchage de céramiques et moules de fonderie par micro-ondes a connu un développement significatif permettant ainsi une plus grande propreté et une diminution des dégagements gazeux et, par conséquent, une préservation de l'environnement. Une installation réalisée dans ce domaine est représentée en Figure 12. Elle présente une structure classique, avec l'association d'un magnétron et d'un guide d'ondes au niveau d'un tunnel.

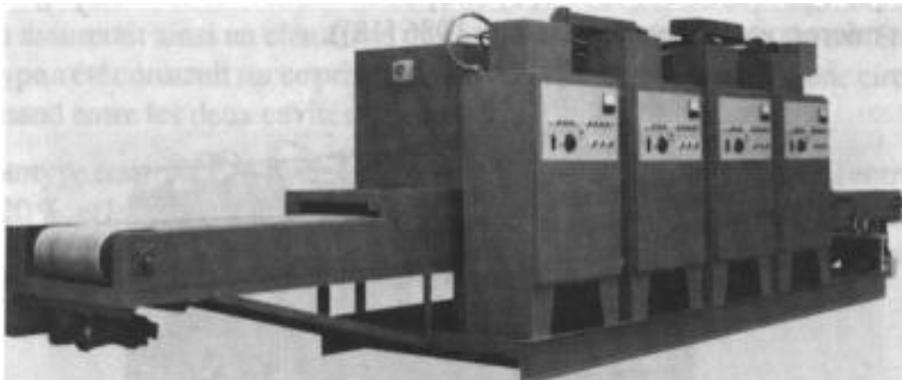


Figure 12 : Tunnel de séchage de céramiques [18].

La décongélation

Un four ordinaire peut constituer un support pour illustrer le principe de la décongélation par micro-ondes. Dans ce cas, l'action des micro-ondes doit être appliquée d'une manière discontinue pour réchauffer progressivement les petites poches d'eau liquides sises à l'intérieur du produit pour ne pas abîmer la matière à décongeler. En effet, une application longue et continue de cette énergie peut y engendrer des écarts de température et de pression susceptibles de détériorer définitivement le produit. De plus, l'eau migrant à la surface risquerait d'absorber les micro-ondes entraînant la cuisson du produit. Il y'a lieu donc d'entrecouper l'action des micro-ondes par un temps de repos entre deux applications.

L'avantage de la méthode de décongélation par micro-ondes réside dans sa rapidité, soient quelques minutes au lieu de plusieurs heures. Le procédé est d'autant plus avantageux qu'il autorise l'adjonction d'un tunnel nécessaire et utile dans le cas d'une chaîne de production en continu. Par ailleurs, il permet de réaliser des économies de main-d'œuvre qui rendent viable le lourd investissement initial. La Figure 13 illustre cette application :



Figure 13 : Décongélation de viande assistée par micro-ondes [19].

Le traitement des déchets

De nombreux procédés thermiques sont utilisés pour détruire rapidement les déchets. L'incinération est la solution la plus communément utilisée. Le traitement par micro-ondes est parmi les autres traitements possibles. En effet, les caractéristiques intéressantes des micro-ondes apparaissent encore à travers leur action au cœur de la matière, la rapidité et l'homogénéité du traitement. Les déchets industriels qu'il sera intéressant de traiter par micro-ondes sont les sols contaminés, les déchets contenant des métaux lourds, le charbon actif à régénérer et les déchets hospitaliers.

Utilisation en chimie et en biologie moléculaire

Les fours à micro-onde sont utilisés depuis la fin des années 1990 dans les laboratoires de chimie (*synthèse assistée par micro-ondes*). La synthèse assistée par micro-ondes a trouvé ses premières applications en chimie organique où certaines réactions se sont révélées 11000 fois plus rapides avec un chauffage micro-ondes qu'avec un chauffage traditionnel (bain d'huile, plaque chauffante, etc). Dans une réaction chimique, les micro-ondes vont activer directement les ions ainsi que la plupart des molécules qui possèdent un moment dipolaire. Étant donné que le transfert d'énergie entre les micro-ondes et les molécules est extrêmement rapide (de l'ordre de la

nanoseconde), les molécules de réactif ou de solvant sont incapables de relaxer complètement (de l'ordre du dixième de microseconde) et d'atteindre l'équilibre thermique. Cela crée ainsi un *état hors-équilibre* qui se traduit par une température instantanée (T_i) des molécules. Cette température n'est pas directement mesurable mais est bien plus grande que celle mesurée (celle du solvant, T_s). Depuis 2000, les travaux se multiplient également dans le domaine de la synthèse de matériaux et nanomatériaux par chauffage micro-ondes. D'autres sont également en cours sur la digestion, assistée par micro-ondes de protéines avant un traitement au spectromètre de masse servant à les identifier. La digestion des protéines par la trypsine est une opération longue et le passage au four à micro-ondes pendant cette phase permet de la raccourcir considérablement (5 minutes au lieu de 16 heures). Cette technique qui n'a été testée que sur des protéines connues, n'est peut-être pas applicable à tous les échantillons [20].

II. LES PROCÉDES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES ASSISTES PAR MICRO-ONDES

L'extraction de molécules issues du matériel végétal par les techniques conventionnelles se révèle comme une étape souvent délicate et très longue nécessitant une consommation importante de solvant et de longues durées de traitement. Cela a pour conséquence d'engendrer des dégradations des extraits récupérés et diminuer les rendements d'extraction.

Le développement de techniques modernes, telle que l'extraction assistée par micro-ondes, a pour but de palier ces difficultés en augmentant l'efficacité, la sélectivité et la cinétique d'extraction ainsi que la quantité des extraits tout en préservant l'environnement par une diminution des consommations d'énergie et des rejets de solvants. C'est dans cette optique que plusieurs procédés ont été développés ces dernières années.

II.1. Entraînement à l'air assisté par micro-ondes «Compressed Air Microwave Distillation (CAMD)»

Proposée par Craveiro et *al.* en 1989, l'entraînement à l'air assisté par micro-ondes (CAMD) est l'une des premières méthodes d'extraction d'huile essentielle par micro-ondes [21]. Inspirée de la distillation, cette méthode consiste à irradier par micro-ondes la plante immergée dans l'eau tout en injectant en continu de l'air comprimé (Figure 14).

La vapeur d'eau chargée de molécules volatiles est entraînée vers un vase de récupération lequel est plongé dans un système de réfrigération situé à l'extérieur du four micro-ondes. Le mélange eau-huile essentielle est condensé et récupéré. Les proportions d'huile essentielle obtenues sont identiques à celles d'un procédé classique. Cette technique a donné, en 5min, des résultats équivalents, sur le plan qualitatif et quantitatif, à ceux obtenus, en 90 min, par la méthode conventionnelle [21, 22].

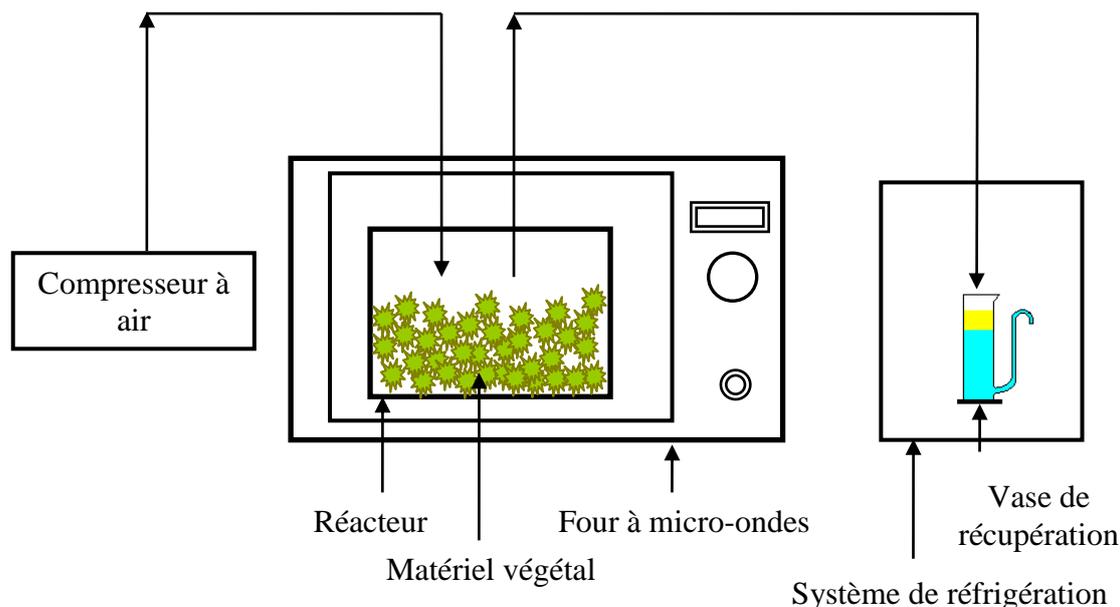


Figure 14 : Entraînement à l'air assisté par micro-ondes (CAMD)

II.2. Hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulsé «Vaccum Microwave Hydrodistillation (VMHD)»

Elaboré et breveté en 1994 par la société Archimex [22, 23], le procédé VMHD est basé sur la combinaison des irradiations par micro-ondes et l'application séquentielle d'un vide pulsé.

Le dispositif est constitué d'un réacteur à double enveloppe contenant la matière végétale à traiter, immergée dans de l'eau. Il est équipé d'un agitateur, d'un générateur micro-ondes servant à chauffer la plante, d'un condenseur et d'un système de régulation de la pression à l'intérieur du réacteur et de la température de la double enveloppe (Figure 15).

Ce procédé d'extraction se déroule en deux étapes. Le matériel végétal à traiter, frais ou sec (auquel cas on lui rajoute une quantité d'eau requise), est d'abord chauffé durant un temps t_1 à l'aide des micro-ondes. Puis, durant un temps t_2 , un vide pulsé (d'environ 100 à 200 mbar) permet l'entraînement azéotropique du mélange eau-huile à une température inférieure à 100°C . Pendant toute la durée de l'extraction, la puissance micro-ondes est maintenue constante.

Sous l'effet des micro-ondes et de la double enveloppe, la température du matériel végétal augmente jusqu'à la température de consigne généralement comprise entre 65 et 80°C .

On applique alors pendant le temps t_1 une pression réduite inférieure à la tension de vapeur d'eau à cette température. En raison de l'effet endothermique de l'évaporation de l'eau, la température du produit baisse. Après le temps t_1 , l'apport d'énergie (micro-ondes et double enveloppe) est insuffisant pour maintenir le débit de condensat ; on revient à la pression atmosphérique et la température se remet à augmenter pendant le temps t_2 jusqu'à atteindre à nouveau la température de consigne T_c . Par définition, un cycle se présente comme la somme $t_1 + t_2$. En quelques cycles, la quasi-totalité de l'huile essentielle est extraite et récupérée sous forme d'eaux blanches aromatiques.

Selon les concepteurs du VMHD, l'extraction serait dix fois plus rapide avec un rendement en extrait équivalent et une composition identique à celui obtenu par le procédé classique, tout en conservant la note « fraîche » du végétal d'origine.

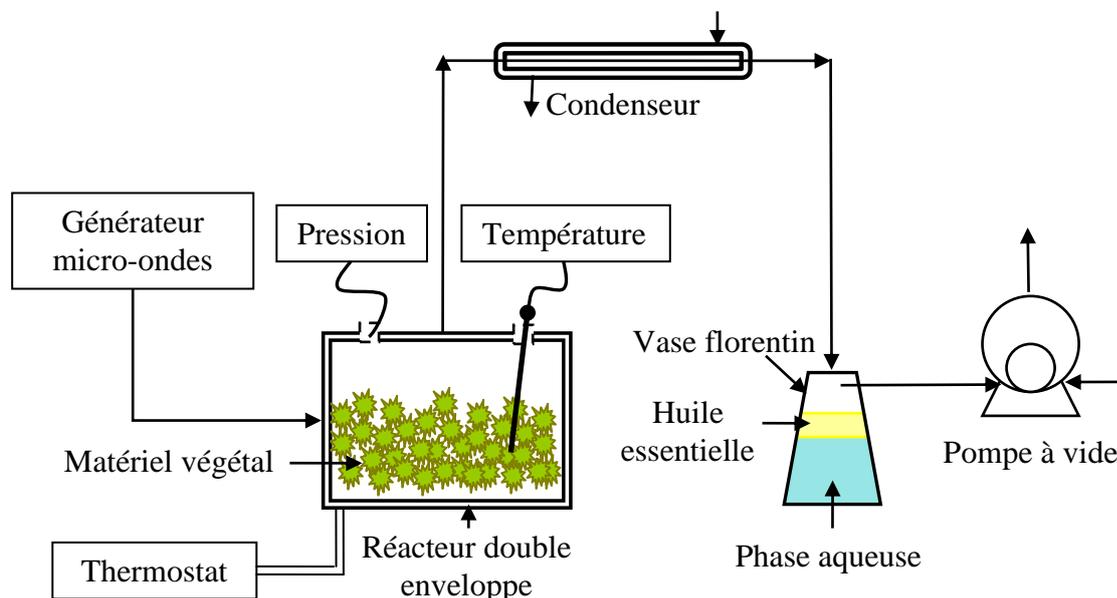


Figure 15 : Hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulsé (VMHD)

II.3. Hydrodistillation assistée par micro-ondes «Microwave Assisted Hydrodistillation (MAHD) »

Développé par Stashenko et *al* [24, 25], l'hydrodistillation assistée par micro-ondes (MAHD) est entièrement basée sur le principe de l'hydrodistillation classique. Elle consiste à placer dans l'enceinte du four micro-ondes un réacteur contenant l'eau et le végétal. Le réacteur est ensuite relié à un système de refroidissement qui à son tour est relié à un vase florentin qui servira à la récupération de l'huile essentielle. Système de refroidissement et vase florentin sont situés à l'extérieur du four micro-ondes (Figure 16). Cette méthode a pour avantage, la rapidité et la similitude de la composition de l'huile en comparaison avec le procédé classique. Le Tableau I regroupe quelques plantes soumises à l'extraction de leurs huiles essentielles (HE) par cette méthode et par hydrodistillation (HD).

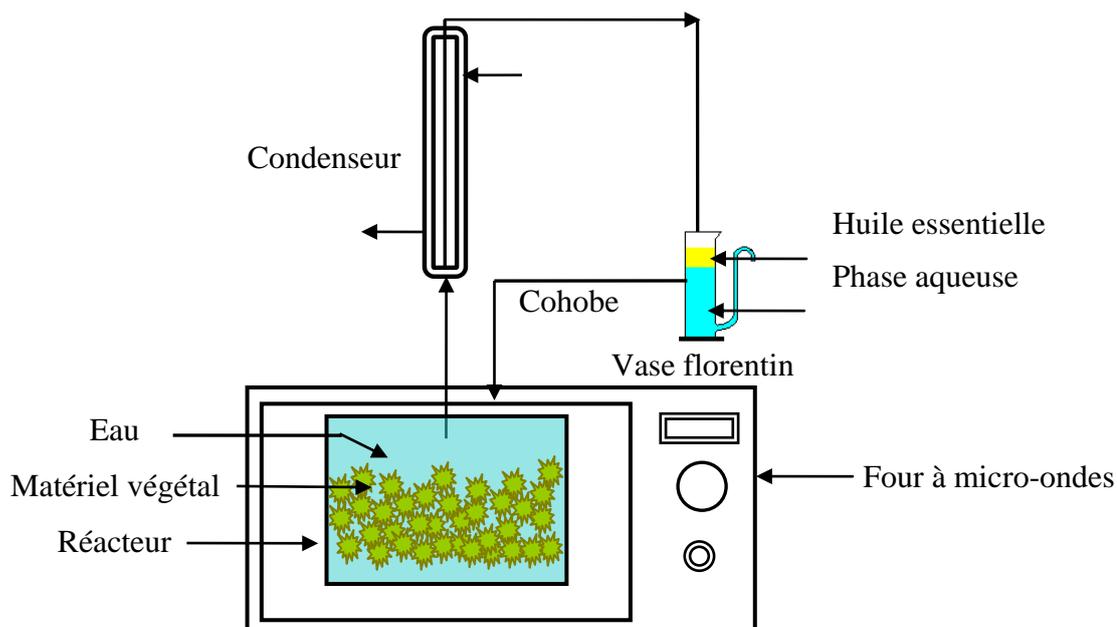


Figure 16 : Hydrodistillation assistée par micro-ondes (MAHD)

Tableau I : Recensement de quelques plantes soumises à une extraction des HE par MAHD et HD

Espèce botanique	MAHD			HD		Réf
	Conditions opératoires		$R_{HE}\%$	Conditions opératoires		
	Temps (min)	Puissance (W)		Temps (min)	$R_{HE}\%$	
<i>Xylopiya aromatica</i> (Lamarck)	30	800	1,50	120	1,50	[24].
<i>Lipia alba</i> (Mill.)	30	800	0,69	120	0,70	[25].
<i>Thymus vulgaris</i> L.	120	990	2,52	240	2,39	[26].
<i>Zataria multiflora</i> Boiss	120	990	3,70	240	3,40	[27].
<i>Satureja hortensis</i>	180	660	3,10	240	3,10	[28].
<i>Satureja montana</i>	90	660	0,70	240	0,70	[28].
<i>Eryngium foetidum</i> L.	27	900	0,061	360	0,053	[29].
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	20	500	7,40	240	7,62	[30].
<i>Anethum graveolens</i> L.	60	500	2,00	180	2,10	[31].
<i>Coriandrum sativum</i> L.	60	500	0,4	180	0,40	[31].

II.4. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes «Solvent Free Microwave Extraction (SFME) »

Développée et brevetée en 2004 par Chemat et *al.* [32, 33], la (SFME) est l'une des techniques les plus récentes utilisées dans l'extraction des huiles essentielles à pression atmosphérique sans ajout d'eau ni de solvant. Ce procédé se rapproche de l'hydrodistillation classique de type « Clevenger ». La matière végétale fraîche est placée dans un réacteur à l'intérieur du four à micro-ondes relié à un réfrigérant à boules, relativement long, orienté verticalement dans lequel passe le flux de vapeur provenant du réacteur servant à garder un taux d'humidité constant tout au long de l'extraction (Figure 17).

Le Tableau II regroupe des plantes soumises à une extraction des HE par les méthodes SFME et HD.

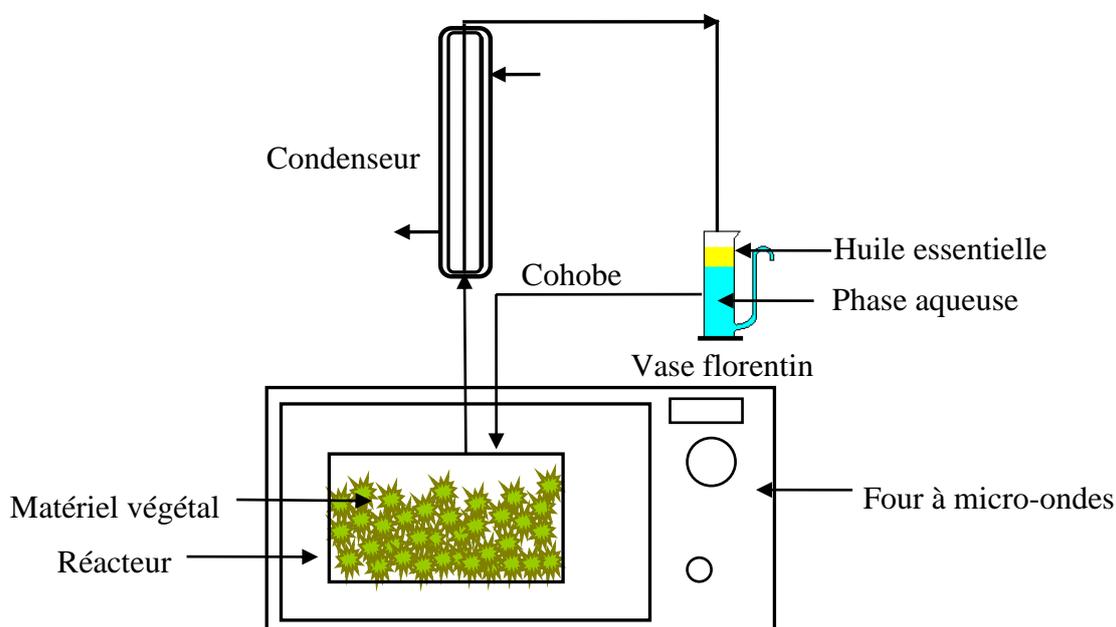


Figure 17 : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME)

Tableau II : Recensement des plantes extraites par SFME et HD

Espèce botanique	SFME		R _{HE} %	HD		Réf
	Conditions opératoires			Conditions opératoires		
	Temps (min)	Puissance (W)	Temps (min)	R _{HE} %		
Basilic (<i>Ocimum basilicum</i>)	30	500	0,029	270	0,028	34
Menthe des jardins (<i>Mentha crispa</i> L.)	30	500	0,095	270	0,095	34
Thym (<i>Thymus vulgaris</i>)	30	500	0,160	270	0,161	34
Ajowan (<i>Carum ajowan</i> L.)	60	500	1,41	480	3,34	35
Cumin (<i>Cuminum cyminum</i> L.)	60	500	0,63	480	1,43	35
Anise étoile (<i>Illicium verum</i>)	60	500	1,38	480	4,16	35
Cardamome (<i>Elletaria cardamomum</i> L.)	75	390	2,70	360	—	36
Orange (<i>Citrus sinensis</i> L.)	30	200	0,42	180	0,39	37
Orange (<i>Citrus sinensis</i> L.)	10	200	0,4	180	0,4	38
Citrus (<i>Citrus limon</i> L.)	30	200	0,24	180	0,21	39
Romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)	30	200	0,57	180	0,57	40
Romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)	40	500	0,39	180	0,31	40
Nigelle (<i>Nigelle sativa</i> L.)	10	850	0,2	150	0,18	41
Origan (<i>Origanum vulgare</i> L.)	35	622	0,054	180	0,048	42
Origan (<i>Origanum glandulosum</i> Desf.)	20	850	3,3	240	4,8	43
Laurier (<i>laurus nobilis</i> L.)	85	622	0,023	195	0,022	44
Thym (<i>Saccocalyx satureides</i> Coss.et Dur.)	20	622	1,9	240	2,3	45
Mélisse (<i>Melissa officinalis</i> L.)	50	85	0,15	180	0,16	46
Laurier (<i>laurus nobilis</i> L.)	50	85	0,42	180	0,41	46
Buplèvre (<i>Bupleurum fruticosum</i> L.)	30	500	0,21	180	1,71	47
Sarriette calment (<i>Calamintha nepeta</i> L.Savi)	40	250	0,38	240	—	48

II.5. Extraction sans solvant améliorée assistée par micro-ondes « Improved solvent free microwave extraction (Improved SFME) »

En 2006, Wang et al [49], proposent une autre technique d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes avec une amélioration qui réside dans l'ajout à la matière végétale d'une poudre de fer carbonyle CIP (Carbonyl iron powders) dans le réacteur (Figure 18). Ces particules sphériques sont capables d'absorber une partie de l'énergie micro-ondes, qu'elles transmettent au milieu sous forme de chaleur. Elles assurent ainsi un chauffage par conduction sans apport d'énergie auxiliaire.

Plusieurs matières capables d'absorber les radiations micro-ondes, ont été utilisées. Nous citerons le graphite GP (graphitepowders), le charbon actif ACP (active charbon powders) et le liquide ionique IL (1- hexyl-3-methylimidazolium Hexafluorophosphate) [50, 51]. L'application de cette méthode à diverses plantes fraîches et sèches telle que les citrus et les herbes aromatiques a été réalisée. Elle présente comme avantage la réduction du temps d'extraction en comparaison aux autres techniques sans faire appel aux prétraitements.

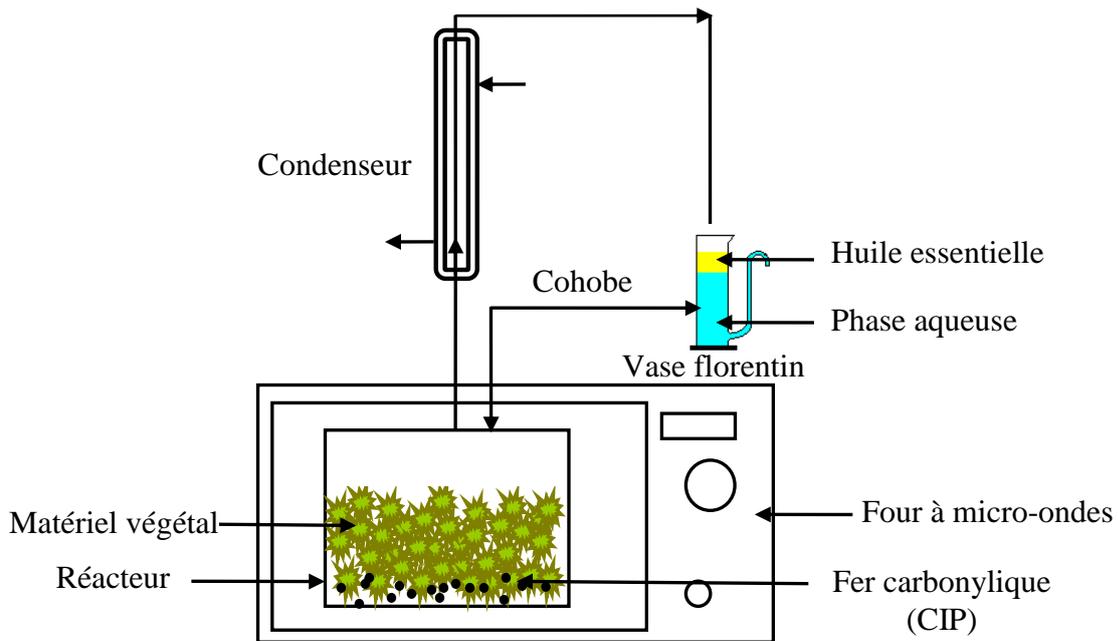


Figure 18 : Extraction sans solvant améliorée assistée par micro-ondes (Improved SFME).

II.6. Entraînement à la vapeur accéléré par micro-ondes « Microwave Accelerated Steam Distillation (MASD) »

En 2006 ce procédé a été amélioré et appelé microwave accelerated steam distillation (MASD). Il a été proposé par Chemat et *al.* [52]. Le matériel végétal est disposé sur une grille en Teflon à l'intérieur du réacteur micro-ondes (Figure 19). La vapeur produite par l'eau se trouvant au fond du réacteur au dessous de la grille - chauffée à l'aide des micro-ondes - passe à travers la matière végétale et entraîne huile essentielle. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle. L'eau et la matière végétale ne sont pas en contact.

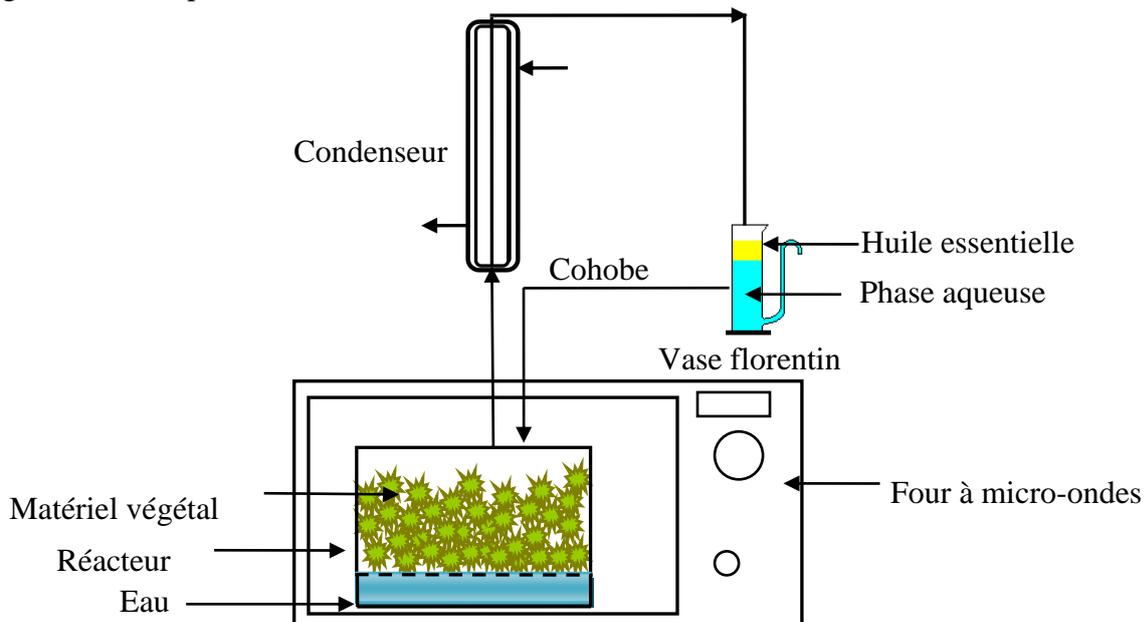


Figure 19 : Extraction par entraînement à la vapeur accéléré par micro-ondes (MASD)

II.7. Hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité «Microwave Hydrodiffusion and Gravity (MHG) »

L'hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité (MHG) a été conçue et brevetée en 2008 par Chemat et *al.* [53-54] pour l'extraction des huiles essentielles des plantes.

La technique repose sur une extraction écologique des composés naturels par micro-ondes suivie d'une récupération des composés désirés par simple écoulement de la phase liquide extraite à l'aide de la gravité naturelle. Dans cette technique, le four micro-ondes muni d'un orifice sur sa face supérieure, traditionnellement employé pour certaines distillations par micro-ondes est renversé de manière à être utilisé tel un alambic en s'aidant de la gravité de la terre.

Le matériel végétal est placé dans un réacteur à l'intérieur du four à micro-ondes, sans ajouter ni eau ni solvant organique. L'huile et l'eau contenues dans la plante s'échauffent et sont libérées sous l'action des micro-ondes puis conduites sous l'action de la gravité vers un système de refroidissement à l'extérieur du four à micro-ondes pour la condensation du distillat (Figure 20). Ce procédé appliqué à plusieurs types de plantes telles que des plantes aromatiques et des citrus [55-56], a montré un avantage certain dans les rendements, le temps d'extraction, l'énergie utilisée et la composition de l'huile.

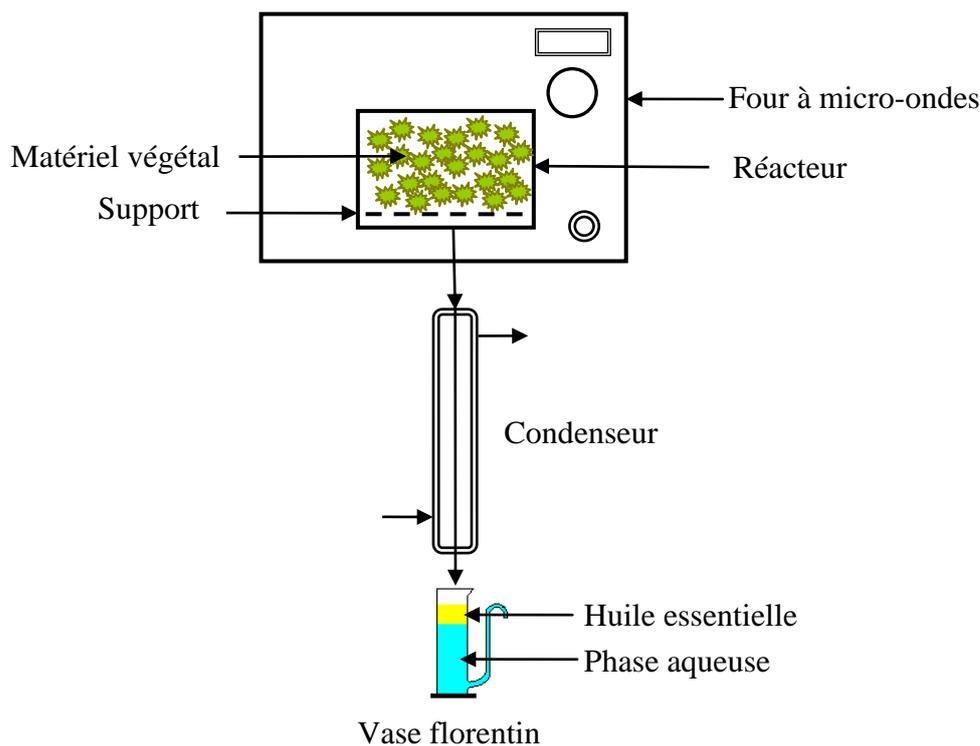


Figure 20 : Hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité (MHG).

II.8. Vapodiffusion assistée par micro-ondes et gravité « Microwave steam diffusion (MSDf) »

La vapo-diffusion assistée par micro-ondes (MSDf) a été développée par Farhat *et al.* en 2009 [57], (Figure 21). Le procédé MSDf consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur à l'intérieur d'un four à micro-ondes. Le flux de vapeur fournie par le générateur de vapeur traverse la matière végétale solide de haut en bas. L'application des rayonnements magnétiques durant le passage de la vapeur au travers de la matrice solide, permet un transfert de chaleur au sein du matériel végétal, ce qui provoque l'éclatement des glandes renfermant l'huile essentielle. Celle-ci diffuse alors avec la vapeur sous l'action de la chaleur. L'ensemble est véhiculé par la suite vers un système de refroidissement puis un vase florentin où sont recueillies l'eau et l'huile. Elles seront séparées par décantation.

Ce procédé a été appliqué pour l'extraction de l'huile essentielle de fleurs de lavande et des écorces d'orange. Il offre des avantages importants par rapport à la technique traditionnelle tels que des temps d'extraction plus courts, l'obtention d'une huile essentielle de qualité et des impacts environnementaux moindres (économie d'énergie).

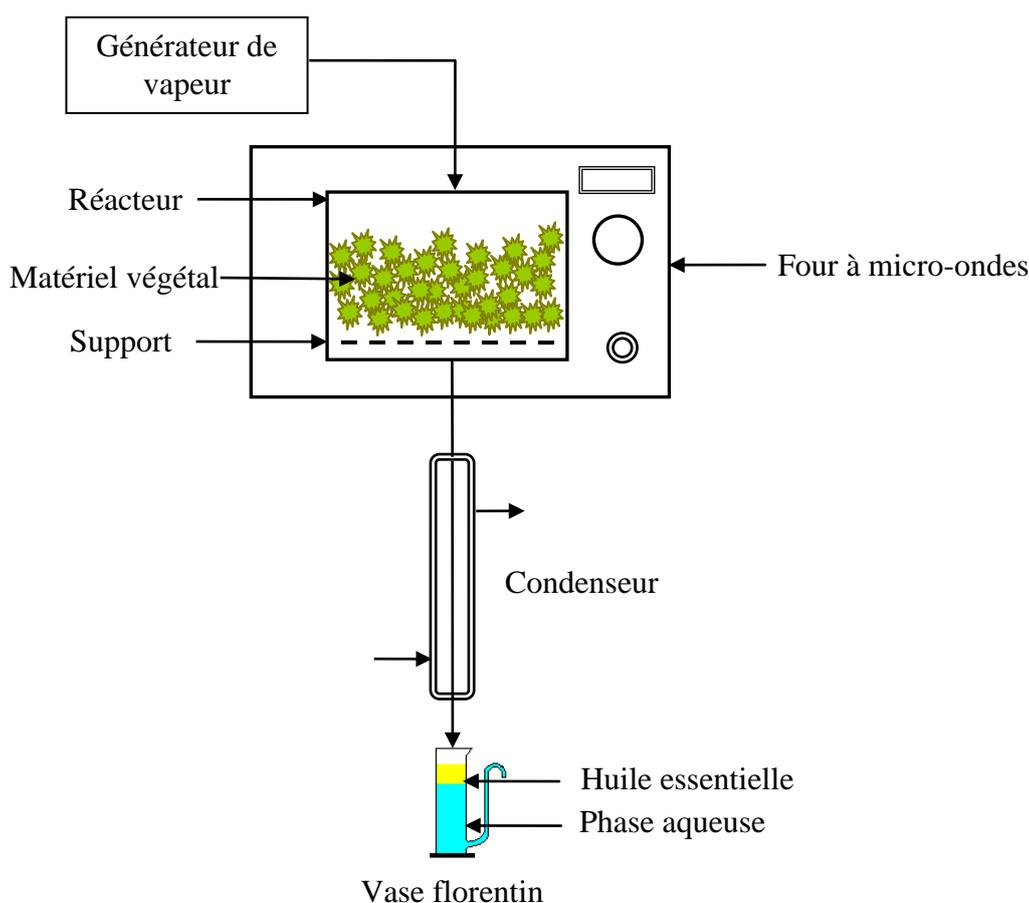


Figure 21 : Vapo-diffusion assistée par micro-ondes (MSDf).

III. COMPREHENSION DE L'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES ASSISTEE PAR MICRO-ONDES

III.1. Principe de l'extraction solide

Dans les processus d'extraction et de séparation de molécules spécifiques (molécules actives) présentes dans un milieu solide, l'opération fait souvent appel, à la diffusion au sein du solide d'un fluide (liquide) porteur dit solvant d'extraction. L'extraction se présente ainsi comme une interaction solide- liquide.

Le solvant, capable de « mettre en solution » un ou plusieurs composants solides, cristallisés ou liquides, dénommés solutés [58], génère une solution ou un extrait (solvant+soluté). Le transfert de ces molécules actives, vers le milieu extérieur a lieu grâce à une diffusion ayant pour élément moteur le gradient de concentration en soluté entre la solution au voisinage intime de la phase solide (plus concentrée) et la phase liquide (moins concentrée). A la fin de l'opération, le système tend vers l'équilibre, et la diffusion est quasi nulle.

Par contre, si la phase liquide est continuellement renouvelée, la diffusion se poursuit jusqu'à épuisement de la phase solide [59]. A la fin de l'opération, le solide épuisé appelé résidu - inerte ou insoluble- contient très peu ou pas de soluté. En règle générale, c'est la solution qui constitue la phase noble mais il se peut que ce soit le résidu solide insoluble qui présente la vraie valeur économique [60]. Les solvants utilisés dans les procédés de séparation des produits végétaux sont généralement l'eau, les alcools, les solvants organiques, mais ces derniers sont de plus en plus interdits du fait de leurs impacts environnementaux.

Concernant le mécanisme d'extraction des huiles essentielles notre étude a pour objectif :

- d'identifier le processus limitant ;
- d'intensifier l'extraction de l'HE par l'introduction des micros-ondes.

Cette intensification peut être définie en deux processus : interne et externe.

L'augmentation du gradient de température durant l'extraction d'huiles essentielles par distillation classique engendre l'intensification du processus de transfert externe. Cependant, une telle opération pourrait, en raison de sa durée, causer une dégradation, quelquefois trop importante, de la qualité de l'huile essentielle.

Le processus de transfert interne des l'huiles essentielles contenues au sein du matériel végétal est nettement plus complexe. Si ces huiles sont sous forme liquide, elles vont migrer par diffusion ; le coefficient de diffusion dépendra de la structure, de la porosité et de la tortuosité des matrices végétales étudiées. Si ces huiles sont sous forme gazeuse, leur extraction nécessite une pression partielle à la surface interne du matériel végétal, inférieure à celle qui existe au cœur de ce même matériel végétal.

L'application des micro-ondes comme source de chauffage est une bonne alternative pour améliorer le processus de transfert interne.

Le gradient de température qui est alors instauré, du cœur du matériel végétal vers la périphérie, implique un gradient de pression partielle des composés volatils (huile essentielle), allant dans le même sens et agissant ainsi en vue de contribuer à leur extraction. La Figure 22 représente le

processus de transfert de matière et de chaleur lors de l'extraction d'HE par chauffage par micro-ondes et par chauffage conventionnel [61].

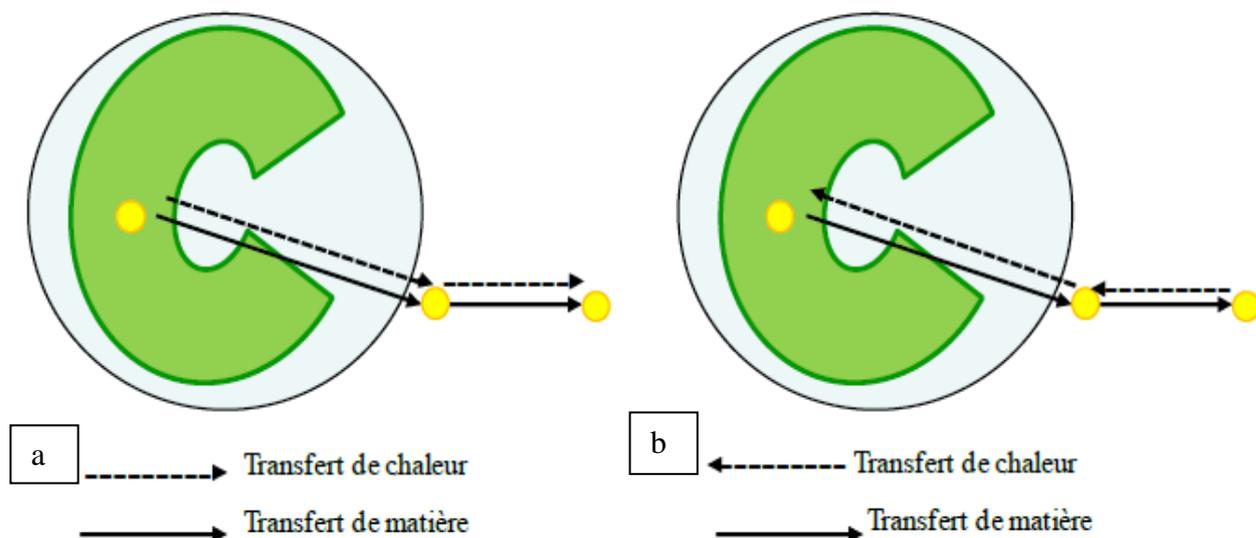


Figure 22. Schémas du processus de transfert de matière et de chaleur lors de l'extraction d'HE par chauffage micro-ondes (a) et chauffage conventionnel (b)

III.2. Paramètres influençant l'extraction assistée par micro-ondes

Comme tout processus d'extraction, l'extraction des huiles essentielles sous chauffage micro-ondes peut être affectée par plusieurs facteurs tels que : la puissance micro-ondes, le temps d'extraction, la température et la texture de la matière végétale.

III.2.1. Puissance micro-ondes

Un bon choix de la puissance micro-ondes s'impose étant donné l'étroite relation qui lie le temps d'extraction, la température de la matrice et la puissance appliquée pour une quantité donnée de matière végétale à traiter. En effet, une grande puissance de chauffe peut engendrer une température de traitement de la matrice élevée ce qui conduirait à la dégradation des huiles essentielles.

On distingue deux gammes de puissances énergétiques en fonction de la cavité du four à micro-ondes. La puissance appliquée dans le cas des cavités multi-modes varie en général de 600 à 1000W. Pour les cavités monomodes où les ondes sont focalisées, le chauffage étant plus efficace, le système requiert des puissances faibles de l'ordre de 300W.

III.2.2. Temps d'extraction

La rapidité d'extraction des huiles essentielles est un paramètre crucial qui suscite l'intérêt des chercheurs. Plus la méthode est rapide et efficace, plus elle est performante.

Plusieurs études ont montré que l'intervention du chauffage par micro-ondes dans l'extraction des huiles essentielles permet une réduction remarquable du temps d'extraction [5, 17, 37, 39].

Cependant, il faut savoir concilier les conditions opératoires qui ne doivent pas affecter la qualité de l'extrait, en trouvant un compromis entre la durée de l'extraction, son efficacité sur le plan quantitatif et la puissance de chauffe.

III.2.3. Température

L'influence de la température sur l'extraction est difficile à cerner. En effet, dans la plupart des cas, les températures élevées sont favorables au rendement d'extraction car la chaleur facilite la perméabilité des parois cellulaires, augmente la solubilité des matières à extraire, fait croître les coefficients de diffusion et diminue la viscosité des solvants d'extraction, facilitant ainsi le passage du solvant à travers le substrat solide.

D'autre part, la vitesse de la montée de la température a une influence majeure sur la cinétique d'extraction par micro-ondes ainsi que dans la dégradation de la qualité des huiles essentielles extraites. Par conséquent, la température opératoire et la puissance utilisée lors des extractions assistées par micro-ondes doivent obéir aux conditions imposées par le respect de la qualité du produit à obtenir.

III.2.4. Matière végétale

Le solide végétal a une double influence sur le transfert de matière lors de l'extraction des huiles essentielles, l'une par sa taille, l'autre par sa structure. La matière végétale a une microstructure complexe et variable, formée de cellules, d'espaces intercellulaires, de capillaires et de pores. Sa description par les outils classiques de génie chimique n'est pas toujours aisée. Généralement, dans le cas de l'extraction des huiles essentielles par micro-ondes, une différence de taille des particules, lors de l'extraction, modifie la vitesse d'extraction. La cinétique d'extraction est plus rapide à son début car les huiles essentielles contenues dans les petites particules et les couches superficielles sont facilement accessibles.

L'établissement d'un équilibre entre les deux phases dépend ensuite de la taille du matériel végétal. Plus elles sont grosses, plus l'équilibre sera long à établir car l'étape de diffusion à travers la matrice végétale est très lente, donc limitante. L'extraction des huiles essentielles par micro-ondes de certains organes est plus rapide que pour d'autres. En effet le temps d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes, des fleurs ou des feuilles, est de trois à quatre fois plus rapide que celui des graines [9, 17]. Cependant, le transfert de matière est amélioré en intervenant sur la taille des matrices par des prétraitements comme le broyage ou le découpage.

En effet, tous les auteurs s'accordent sur l'effet généralement positif du broyage sur les opérations d'extraction. Le broyage du solide permet d'intensifier les phénomènes de transfert du solvant à travers l'augmentation de la surface spécifique (surface d'échange entre le solvant et le solide) mais également la réduction de la distance de pénétration dans le matériel. D'autre part, dans les opérations de transfert de matière par diffusion (Fick ; etc.), le gradient de concentration

augmente directement avec la diminution de la taille de la particule et le temps de traversée nécessaire intervient généralement proportionnellement au carré de la distance traversée [58].

On est cependant limité dans la finesse des particules car la présence de fines peut induire une réduction notable de la perméabilité du lit de solides au solvant, ce qui entraîne l'établissement de courants préférentiels bloquant ainsi le processus d'extraction dans certains endroits où le solvant ne peut plus circuler [59, 63].

III.2.5. Solvant d'extraction

Le choix du solvant pour les extractions assistées par micro-ondes est fonction de la solubilité des extraits d'intérêt par l'interaction entre le solvant et la matrice végétale et, finalement, par les propriétés absorbantes de micro-ondes du solvant, déterminées par sa constante diélectrique.

Csiktusnadi Kiss, Forgacs et al, [64] ont étudié l'efficacité et la sélectivité de l'extraction assistée par micro-ondes (EAM) pour l'extraction des colorants de poudre de paprika en utilisant 30 mélanges de solvants d'extraction. Leurs résultats ont prouvé que l'efficacité et la sélectivité de l'EAM dépendent de manière significative de la constante diélectrique du solvant d'extraction.

CONCLUSION

Les procédés d'extraction conventionnels des huiles essentielles et extraits aromatiques sont peu nombreux et sont basés sur des techniques relativement anciennes. De plus, que ce soit l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur, l'expression à froid ou les extractions par solvants volatils, ces techniques bien qu'universelles possèdent des limites.

L'extraction des huiles essentielles a beaucoup évolué depuis 1986 avec les premiers travaux d'extraction assistée par micro-ondes.

Aujourd'hui la possibilité d'utiliser des techniques innovantes permet de diminuer les temps d'extraction et les consommations énergétiques. Les micro-ondes ont permis de réelles avancées dans ce domaine et présentent des possibilités d'instrumentation variées.

DEUXIEME PARTIE
L'ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU
ASSISTE PAR MICRO-ONDES
(EVMO)

Le nombre de travaux relatifs à l'extraction assistée par micro-ondes pour l'obtention de molécules aromatiques d'origine végétale ne cesse de croître. Le but recherché est de trouver un procédé d'extraction plus rapide, plus efficace et dont la mise en œuvre reste simple.

Afin de progresser dans la compréhension du processus de l'extraction assistée par micro-ondes et de proposer de nouvelles alternatives aux procédures déjà connues, le travail relaté dans les chapitres suivants consiste en la mise au point et la réalisation d'une nouvelle méthode d'extraction des huiles essentielles : l'entraînement à la vapeur assisté par micro-ondes (EVMO) et sa comparaison avec le procédé conventionnel (EV).

Dans le but de réaliser une étude aussi complète que possible, nous avons effectué :

- le suivi cinétique des deux procédés,
- l'analyse de la composition des huiles essentielles obtenues,
- l'évaluation de l'impact des deux procédés sur la morphologie des plantes et sur la consommation énergétique,
- une optimisation afin d'approcher les conditions optimales de fonctionnement de l'installation,
- une étude des phénomènes intervenant lors de l'extraction,
- et enfin l'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles récupérées.

CHAPITRE I

***MISE AU POINT ET APPLICATION DE
L'ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU
ASSISTE PAR MICRO-ONDES***

INTRODUCTION

L'objectif de ce travail est la mise au point d'un nouveau procédé d'extraction d'huile essentielle: l'Entraînement à la Vapeur Assisté par Micro-Ondes (EVMO).

L'idée de la mise au point de l'entraînement à la vapeur assisté par micro-ondes vient de la nécessité d'améliorer les systèmes déjà existants. En effet, bien que récents, les procédés assistés par micro-ondes développés dans le chapitre II de la première partie, présentent quelques inconvénients. L'entraînement à l'air assisté par micro-ondes (CAMD), l'hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulsé (VMHD) et l'hydrodistillation assistée par micro-ondes (MAHD) mettent en présence la matière végétale à extraire et l'eau. Or, la présence de l'eau peut engendrer des transformations chimiques pouvant altérer la qualité des huiles essentielles récupérées.

Pour s'affranchir des problèmes causés par le contact direct matière végétale – eau, Chemat et al. [32, 33], ont développé et breveté, en 2004, le procédé d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Solvent Free Microwave Extraction : SFME) (Figure 17, Chapitre II). Cette technique décrit une distillation sèche assistée par micro-ondes qui consiste à placer le matériel végétal frais dans un réacteur micro-ondes sans ajouter ni eau ni solvant organique. Le chauffage de l'eau de constitution de la matière première permet la rupture des glandes contenant l'huile essentielle. L'huile essentielle ainsi libérée est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite à partir de l'eau intrinsèque de la matière végétale. Le mélange vapeur d'eau - huile essentielle est condensé par un système de refroidissement situé à l'extérieur du four micro-ondes. L'humidité propre de la matrice végétale est maintenue grâce au retour de l'excès d'eau à l'intérieur du réacteur. L'avantage essentiel de ce procédé est qu'il n'utilise aucun solvant, mais son inconvénient est qu'il ne peut être appliqué pour les matières sèches.

Pour résoudre ce problème, Chemat et al. [52], améliorent, en 2006, la SFME pour donner le Microwave Accelerated Steam Distillation (MASD), destiné pour les matrices sèches. Le principe de cette technique réside en l'utilisation du montage de la SFME en rajoutant de l'eau au fond du réacteur, sans que celle-ci soit en contact avec la plante (Figure 19, Chapitre II). Le matériel végétal est disposé sur une grille en Teflon à l'intérieur du réacteur micro-ondes au dessus de l'eau. La vapeur produite par le chauffage de cette eau à l'aide des micro-ondes passe à travers la matière végétale et entraîne l'huile essentielle. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du mélange vapeur d'eau - huile essentielle. L'eau étant très polaire, elle absorbera la quasi-totalité des micro-ondes. Ces derniers ne serviront donc qu'à accélérer son chauffage et la production de la vapeur qui servira à entraîner l'huile essentielle.

Tenant compte des avantages et inconvénients des différents procédés existants, nous avons essayé de mettre au point un nouveau procédé qui puisse servir aussi bien pour l'extraction des matières végétales fraîches que sèches où la matière végétale ne doit pas être en contact directe avec l'eau, et où les micro-ondes ne seraient pas entièrement absorbés par l'eau pour son chauffage.

I. ELABORATION DU PROCEDE EVMO

L'entraînement à la vapeur a été réalisé à l'échelle laboratoire. L'installation comporte un chauffe ballon et un ballon d'une capacité de deux litres servant à produire de la vapeur d'eau. Le ballon est surmonté d'une colonne en verre de 20 cm située à l'intérieur du four micro-ondes. Celle-ci est reliée à un réfrigérant. La vapeur formée dans le ballon passe dans la colonne contenant la plante et entraîne l'huile essentielle. Le distillat (mélange huile essentielle-eau) est récupéré dans un vase florentin après condensation. Après séparation des deux phases, l'huile essentielle est récupérée (Figure 23).

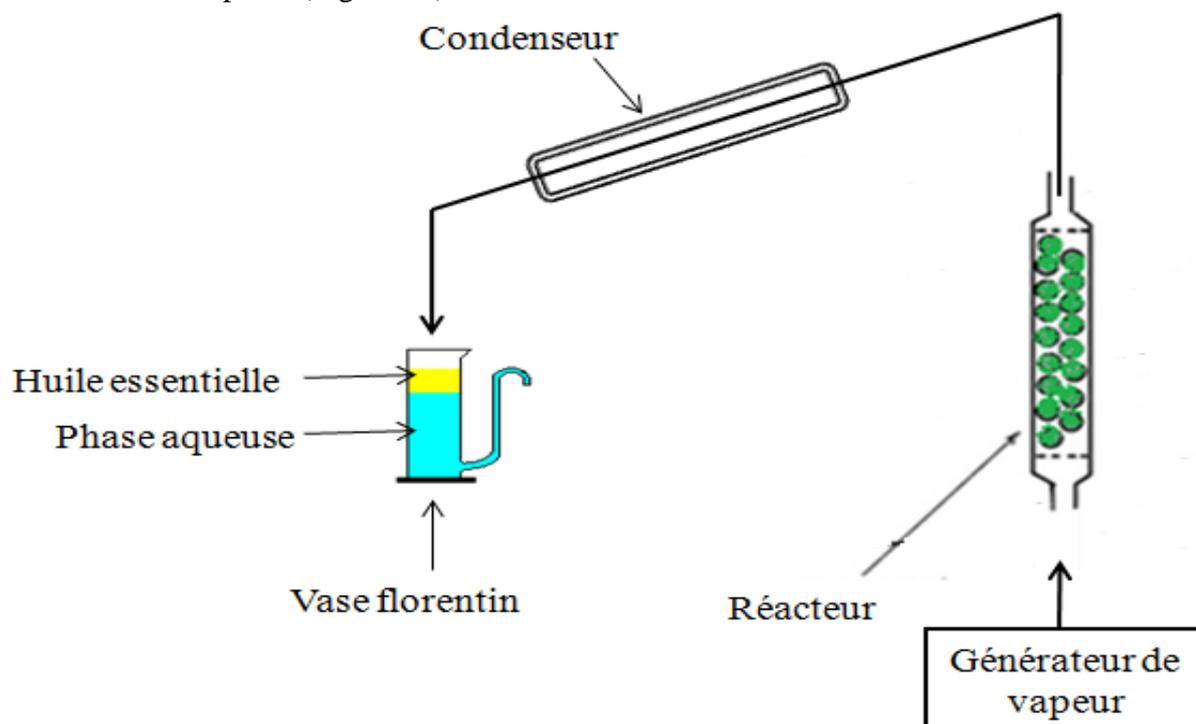


Figure 23 : Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes est basé sur l'entraînement à la vapeur classique. La différence entre les deux procédés réside dans le fait que le réacteur d'extraction contenant la matière végétale se trouve à l'intérieur du four micro-ondes. Le générateur de vapeur, le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération de l'huile essentielle sont placés à l'extérieur du four micro-ondes (Figure 24).

Dans cette nouvelle approche de la distillation à la vapeur améliorée par micro-ondes, l'aspect important est que seule la matière végétale est soumise à l'irradiation hertzienne ayant pour résultat un chauffage sélectif.

Sous l'action des micro-ondes, les glandes d'huile essentielle se distendent et finissent par éclater pour laisser échapper l'huile essentielle. Cette dernière est entraînée par la vapeur vers le système de réfrigération où elle sera condensée puis récupérée dans un vase florentin où elle sera séparée de l'eau par simple décantation.

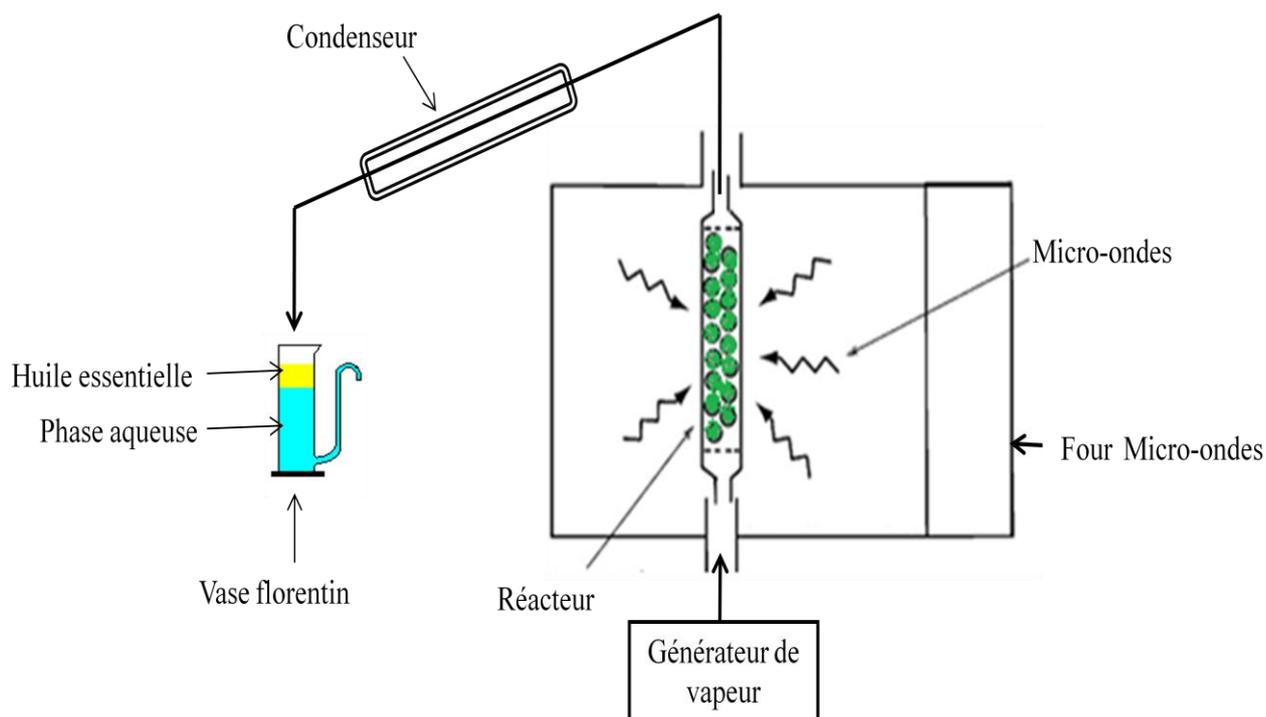


Figure 24 : Entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes « EVMO »

Pour une comparaison rigoureuse, l'entraînement à la vapeur d'eau conventionnel a été réalisé avec le même dispositif que l'entraînement à la vapeur assisté par micro-ondes. La seule différence est que le réacteur contenant la matrice végétale n'est pas soumis à l'action des micro-ondes.

II. APPLICATION DE L'EVMO A L'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

L'entraînement à la vapeur assisté par micro-ondes a été appliqué et comparé au système conventionnel pour deux matrices.

La lavande (*Lavandula angustifolia* Mill) : plante prise comme modèle de plante sèche qui nous servira à appréhender le fonctionnement du système [65].

Les écorces d'oranges : un modèle de plante fraîche pour une application industrielle [66].

La comparaison entre les deux procédés a porté sur les rendements en huile essentielle, la durée d'extraction, la qualité de l'huile essentielle, l'impact du procédé sur la structure histologique des matrices utilisées ainsi que sur son impact environnemental.

II.1. LA LAVANDE



Le choix de la lavande a été motivé par le fait qu'il fallait prendre une matrice riche en huile essentielle pour pouvoir maîtriser le fonctionnement du dispositif mis en place.

La lavande est la plus populaire des plantes aromatiques, pour ses senteurs et ses couleurs admirables. On lui reconnaît des vertus thérapeutiques; ses usages en aromathérapie sont innombrables.

Le mot «lavande» (*lavandula*) aurait vu le jour au Moyen Âge par dérivation du verbe latin «lavare» qui veut dire «laver»; mais l'usage de cette plante date d'une époque bien antérieure. Les Egyptiens et les Romains profitaient déjà de ses qualités aromatiques dans les thermes, ils en parfumaient leurs bains ainsi que leurs vêtements.

II.1.1. Notion sur la lavande

La lavande appartient à la famille des *Lamiacées*, sa classification botanique est la suivante :

- Règne : *Plantae*
- Embranchement : *Spermaphytes* ;
- Sous-embranchement : *Angiospermes* ;
- Classe : *Magnoliopsida* ;
- Sous-classe : *Asteridae* ;
- Famille : *Lamiacées*;
- Genre : *Lavandula*.

Les lavandes sont des arbrisseaux typiques de la région méditerranéenne (climat chaud et sec pendant plusieurs mois en été, pluies hivernales et printanières) et se développent bien dans les terrains calcaires en moyenne et basse altitude (0 à 800 m).

Il existe plusieurs espèces de lavandes : la lavande officinale (*Lavandula. Angustifolia. Mill*) et des formes hybrides naturelles ou fruits de sélections agronomiques :

- les lavandins : *Lavandula intermedia* ou *Lavandula hybrida* est un hybride issu d'un croisement naturel entre la lavande vraie et aspic. Cette hybridation est due aux insectes butineurs et notamment aux abeilles. C'est la troisième des lavandes provençales. Découverte un peu par hasard, elle a été cultivée à partir de 1930. Le lavandin est aujourd'hui l'espèce la plus cultivée car sa fleur est plus productive en huile essentielle que la lavande vraie. Elle est utilisée dans la parfumerie industrielle. Etant hybride, le lavandin est stérile. Sa reproduction est réalisée par bouturage;

- les hybrides ou les variétés de cultures (*cultivars*) sont l'objet de cultures industrielles notamment en Provence (France) (rendement en huile essentielle amélioré, variétés à huile essentielle de composition chimique précise (chénotypée)) ;

- *Lavandula stoechas* est une autre espèce commune en France dans les jardins. Elle possède des fleurs de plus grande taille avec un feuillage décoratif.

Les lavandes méditerranéennes ont été répandues et sont cultivées dans le monde entier mais il existe d'autres lavandes indigènes en Asie, au Moyen-Orient et en Afrique du Nord [67].

II.1.1.1. Caractéristiques botaniques

La lavande appartient à la famille des *Lamiacées*. Très odorantes, elle porte des feuilles entières et des fleurs violacées disposées en épis cylindriques et pédonculés. C'est un arbrisseau à souche ligneuse, courte, rameuse. Les tiges de 20 à 50 centimètres, rameuses dès la base sont allongées grêles, blanchâtres. Elles portent des feuilles opposées, lancéolées, aiguës, persistantes, velues et blanchâtres. Les fleurs violacées visibles en juin-juillet, sont regroupées en épis au sommet de hampes florales. La corolle, formée à base de cinq pétales, est soudée en forme de tube et s'insère dans un calice dont les cinq sépales sont également soudées.

II.1.1.2. Utilisation médicinale

Au Moyen Âge, ses pouvoirs désinfectants étaient reconnus et on en faisait des fumigations et des emplâtres destinés à combattre la peste. Au XVI^e siècle, ses usages médicaux ont fait l'objet d'études à la Faculté de Médecine de Montpellier. Tonique réputé, celle-ci est aussi appréciée comme antidiabétique dans certaines régions d'Espagne. Au début du XX^e siècle, un parfumeur-chimiste qui s'était brûlé les mains avait pu empêcher la gangrène de s'installer en les rinçant à l'essence de lavande. Dans les hôpitaux français, on utilisa pendant plusieurs décennies des huiles essentielles, dont celle de lavande, pour désinfecter l'air et enrayer ainsi les infections microbiennes et fongiques. Elle est aussi utilisée en médecine ayurvédique, en Inde, pour soulager les états dépressifs accompagnés de troubles digestifs, ainsi que par les médecins bouddhistes tibétains pour traiter certains troubles mentaux. Au Chili, elle sert à réguler le flux menstruel. Ses nombreuses indications et son innocuité font de l'huile essentielle de lavande un des fleurons de l'aromathérapie moderne.

II.1.1.3. Composition chimique de l'huile essentielle de lavande

Comme beaucoup d'espèces de la famille des *Lamiacées*, la composition de l'huile essentielle varie fortement selon l'espèce culturale, le sol, le climat, les heures et périodes de récolte et les techniques d'extractions. Les composés majoritaires et communs à la plupart des lavandes sont le linalool, l'acétate de linalyl, le camphre et le 1,8-cinéole.

Lavandula stoechas L. ou Spanich lavender renferme comme composés majoritaires : le alpha-pinène, le bêta-pinène, le bêta-santalène, le bornéol ; le camphre, le caryophyllène, la coumarine, le géraniol, le limonène, le linalool et le 1,8-cinéole[68].

La lavande de Turquie possède un rendement en huile essentielle de 1,33% de chémotype pulégone (40,37 %) et avec comme autres composés majoritaire, le menthol (18,09 %) et la mentone (12,57 %) [69].

Les huiles essentielles de différentes populations biogénétiques de *Lavandula stoechas L.ssp.* de Grèce, analysées au stade de pleine floraison, contiennent l'alpha pinène, la fenchone, le camphre et l'acétate de myrtényl comme principaux constituants avec une variation quantitative considérable entre les différentes populations. Trois de celles-ci sont de type fenchone/ camphre et une de type 1,8-cinèole / fenchone. La variation de composition quantitative en huile essentielle entre les feuilles et les inflorescences sont également significatives.

Les inflorescences ont plus de fenchone, d'acétate de myrtényl et d'alpha pinène, tandis que les feuilles sont plus riches en 1,8-cinèole et en camphre [70].

II.1.1.4. Structure des sites d'huile essentielle de la lavande

La lavande possède des cellules renfermant une huile essentielle très odorante emmagasinée dans des structures cellulaires spécifiques appelées « glandes sécrétrices ».

Ces glandes sont réparties sur l'ensemble de la plante. Rares sur les faces supérieures des feuilles et des tiges, elles sont un peu plus nombreuses sur le dessous des feuilles mais elles abondent surtout sur le calice des fleurs de forme tubulaire striée de sillons longitudinaux.

Un épais feutrage de poils, les trichomes tecteurs, recouvre les côtes donnant à la plante son aspect "duveteux".

Les glandes sécrétrices sont formées en général de 8 cellules, groupées pour former une "tête" portée par un large pied unicellulaire qui la fixe à l'épiderme du calice.

La tête pluricellulaire de la glande sécrétrice est recouverte d'une "peau" appelée cuticule. Leur activité se traduit par la synthèse de tous les constituants des huiles essentielles puis, ultérieurement, par leur stockage durable [71].

II.1.1.5. Culture de la lavande

a) En France

Grâce à l'ampleur que prit l'utilisation de la lavande, notamment dans le milieu médical pendant la première guerre mondiale, le prix de l'essence de lavande passa de 30 F/kg en 1914 à 100 Francs en 1918 pour une production de 100 tonnes environ. Dès la fin de la guerre, la production diminua pour arriver à moins de 60 tonnes en 1920. Elle repartira, alliée au lavandin dans les années 1925. Entre 1920 et 1960, la production de lavande a largement contribué à la richesse de certaines zones de montagne sèche du Sud-Est de la France. En 1960, plus de 150 tonnes d'huiles essentielles étaient produites.

Par la suite, avec la concurrence des importations et des produits de synthèse, la production connut le creux de la vague en 1992.

Grâce à la mise en œuvre de deux plans successifs (1994/1998 et 2000/2005) de relance de la production de lavande, cette culture est aujourd'hui dans une nouvelle dynamique de croissance [72].

Le lavandin, hybride naturel de la lavande fine et de la lavande aspic, s'étend sur 15000 ha ; c'est la première production de la filière française. Le Sud-Est de la France (Alpes-de-Haute-Provence, Vaucluse et Drome) détient 95% de cette superficie.

La lavande est cultivée sur approximativement 4000 ha, dans les mêmes départements que le lavandin. Si les superficies se sont fortement développées jusqu'en 2005, elles ont eu tendance à régresser depuis, sous l'effet des sécheresses successives mais aussi du phénomène de dépérissement de l'action d'un phytoplasme.

Le Vaucluse détient les plus importantes superficies en Lavande de population, même si cette spécificité française a tendance à disparaître au profit des lavandes clonales principalement implantées dans les Alpes de Haute-Provence. La production qui était montée à près de 90 tonnes, en 2005, n'a pas excédé les 40 tonnes en 2009.

b) En Algérie

Malgré toutes nos recherches, nous n'avons pu trouver de documentation sur la culture de la lavande en Algérie. Il semble bien que cette culture, présente sous l'occupation coloniale ait été progressivement abandonnée. À travers certains forums internet, nous avons néanmoins appris qu'il existe de petits projets de culture et d'extraction d'huile essentielle de lavande dans les régions de Tipaza et de Tlemcen.

II.1.1.6. Marché des huiles essentielles de lavande dans le monde

Unique source d'approvisionnement sur le marché international de la lavande et du lavandin jusqu'aux années 1970, la France produit des huiles essentielles surtout pour l'exportation. Après la deuxième guerre mondiale, le marché des matières premières de parfumeries s'est beaucoup développé dans ses phases de production, de consommation et d'échanges.

Aujourd'hui, ces marchés incluent des qualités, des origines et des variétés différentes d'une même essence et traitent aussi bien les versions naturelles que synthétiques.

Du fait de sa grande facilité de substitution et de son prix resté compétitif par rapport aux substituts de synthèse, le lavandin reste largement utilisé par l'industrie des détergents.

Cependant, malgré l'internationalisation du marché des essences, le négoce français ne subit presque aucune concurrence dans le lavandin, l'Espagne produisant moins de 60 tonnes.

Pour la lavande, la France domine encore largement le marché mais la situation tend à changer. La Bulgarie, la Chine et dans une moindre mesure l'Ukraine, commercialisent une partie de cette huile essentielle directement auprès des utilisateurs, situation pouvant à terme affaiblir la position du négoce français.

Afin de concurrencer les lavandes étrangères, la production française s'est réorientée, cette dernière décennie, principalement vers la lavande clonale.

L'évolution de la production mondiale présentée ci-dessous témoigne des difficultés de ces productions depuis cinq ans, notamment les sécheresses successives et/ou variations climatiques ainsi que les problèmes sanitaires particulièrement en France. Le Tableau III présente une approche de la production mondiale de lavande et de son évolution entre 2005 et 2009.

Tableau III : Approche de la production mondiale de lavande et de son évolution en tonnes [72]

Pays/année	2005	2006	2007	2008	2009
France	80	60	50	40	40
Bulgarie	60	50	35	30	26
Chine	40	40	15	5	9
Ukraine	40	20	15	15	7
Moldavie	5	5	5	5	2,5
Total	225	175	120	95	84,5
Prix moyen	28-30€	32-34€	35-44€	50-55€	55-63€

II.1.2. Extraction de l'huile essentielle

La Lavande utilisée pour les essais d'extraction de l'étude paramétrique a été récoltée au mois de Juillet 2008 et celle de l'étude par plan d'expérience au mois de Juillet 2009, au sud de la France (Avignon). Elle a été identifiée à l'INRA d'Avignon et l'ENSA (ex INA d'Alger) comme étant la (*Lavandula angustifolia*. Mill.).

Afin d'éliminer l'influence des paramètres autres que ceux étudiés, les essais ont été réalisés sur un même lot de plante, conservé dans les mêmes conditions et aux mêmes taux d'humidité à l'abri de la lumière.

- **Echantillonnage par la méthode de quartage**

Cette méthode est ancienne et facile à réaliser. Il suffit d'étaler le lot de plante sur une surface plane en forme de carré qui sera par la suite divisé par des diagonales en quatre lots triangulaires. Les triangles opposés seront retenus pour former le nouvel échantillon. Ce dernier sera étalé et partagé comme précédemment et ainsi de suite jusqu'à l'obtention de plusieurs échantillons homogènes.

Le procédé EVMO a été appliqué pour l'extraction de l'huile essentielle de lavande (*Lavandula angustifolia*, Mill.). Une étude préliminaire nous a permis de déterminer deux facteurs qui influent particulièrement sur la cinétique d'extraction de l'huile essentielle, à savoir le débit de vapeur et la puissance de chauffe par micro-ondes.

II.1.2.1. Cinétique d'extraction

Après avoir maîtrisé l'extraction de l'huile essentielle par EVMO nous nous sommes intéressés à la cinétique d'extraction de ce nouveau procédé et l'avons comparé à celle de l'EV conventionnel. Pour cela, les essais ont été réalisés en fixant la masse de matière végétale à 20g ; le débit de vapeur à $8 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ et la puissance de chauffe par micro-ondes à 200 W. Le rendement en huile essentielle a été calculé par rapport à la matière sèche. Son taux d'humidité déterminé par la méthode de Dean et Starck [73] est égal à $(10,50 \pm 0,05) \%$.

Le rendement en huile essentielle est de $(2,7 \pm 0,1)\%$ pour les deux procédés.

Les variations des rendements en fonction du temps illustrées par la Figure 25 montrent des différences dans les cinétiques d'extraction.

Nous remarquons que l'entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes est nettement plus rapide que l'entraînement à la vapeur d'eau conventionnel. En effet, 6 minutes suffisent à extraire la totalité de l'huile par ce procédé alors qu'il faut plus de 30 minutes pour le procédé conventionnel.

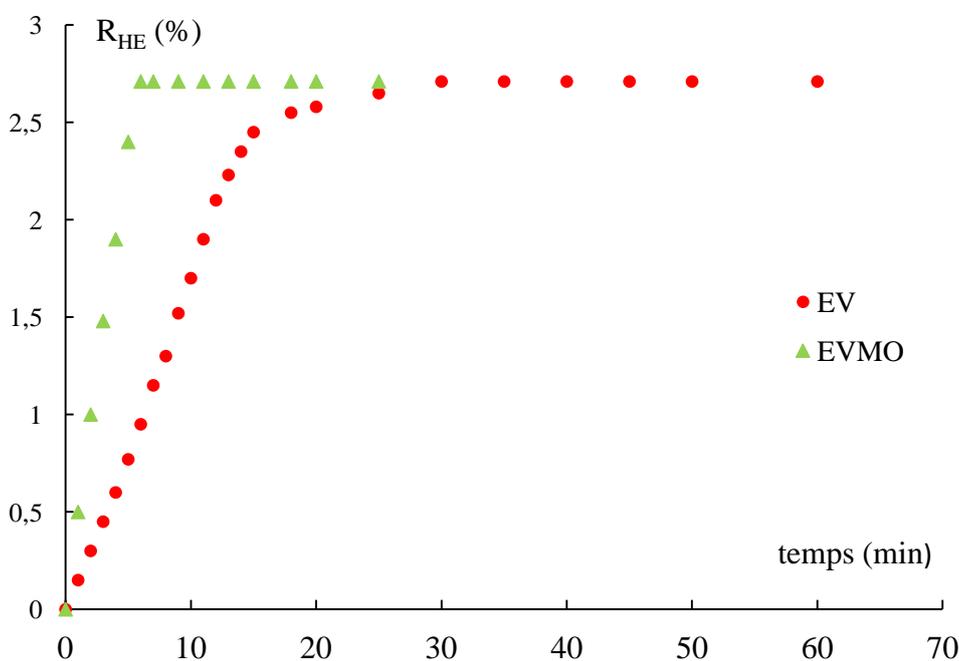


Figure 25 : Variation temporelle du rendement en HE extraite par EVMO et EV

La cinétique d'extraction de l'huile essentielle de fleurs de lavande extraite par EVMO présente une seule étape. La courbe peut être divisée en deux parties :

- Une première partie où le rendement augmente rapidement et la totalité de l'huile essentielle est récupérée, ce qui suggère que les sites d'HE sont exogènes.
- Une deuxième partie où le rendement est constant, ce qui correspond à la fin du processus d'extraction.

Concernant l'entraînement à la vapeur d'eau, on peut subdiviser la courbe en trois parties : la première, de 0 à 12 min, où on observe une augmentation rapide du rendement suivie d'une deuxième partie de 12min à 30min où l'on observe un ralentissement de l'extraction qui correspond à l'épuisement de la plante de son huile essentielle.

La troisième partie pendant laquelle le rendement est constant correspond à la fin du processus.

L'étude de la cinétique d'extraction a mis en évidence l'efficacité de ce nouveau procédé.

En effet, il est cinq fois plus rapide que le procédé conventionnel. Ce résultat est très intéressant, particulièrement dans le cas d'une application industrielle où un gain important peut être réalisé aussi bien d'un point de vue production de l'huile essentielle que frais de fonctionnement de l'installation. Par ailleurs, la comparaison des cinétiques d'extraction de l'EVMO et du MASD [52] nous permet de conclure que l'EVMO est plus performant avec une diminution de la durée d'extraction de 40% (6 minutes contre 10 minutes).

II.1.2.2. Caractérisation des huiles essentielles

a) Caractéristiques physiques et organoleptiques

Les constantes physiques ont été déterminées en utilisant les normes AFNOR [74]. Le Tableau IV regroupe les résultats obtenus.

Tableau IV : Caractéristiques physiques et organoleptiques de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* Mill obtenue par EVMO et EV

		EVMO	EV
Constantes physiques	Densité à 20°C	0,930	0,925
	indice de réfraction à 20°C	1,481	1,486
	Miscibilité à l'éthanol	1vol /1vol	1vol /1vol
Caractéristiques organoleptiques	Aspect	Liquide mobile limpide	
	Couleur	Incolore	
	Odeur	Caractéristique, fraîche de la plante	

Les deux huiles ont le même aspect et la même couleur, la seule différence est l'odeur. En effet, l'huile extraite par EVMO présente une note fraîche qui rappelle l'odeur originelle de la fleur de lavande, alors que l'odeur de l'huile essentielle extraite par EV ne possède pas cette note fraîche.

b) Composition chimique

Dans le but d'identifier les constituants des huiles essentielles récupérées par les deux procédés, nous avons procédé à leurs analyses par chromatographie en phase gazeuse (CG) à l'aide d'un chromatographe Hewlett Packard 6890 et par couplage de celui-ci au spectromètre de masse « appareil Hewlett Packard 5973A ». Deux colonnes capillaires, l'une polaire « Stabilwax » et l'autre apolaire « HP5 MS »; ont été utilisées. Les Tableaux V et VI, ci-après, regroupent les différentes conditions d'analyses.

Tableau V : Conditions opératoires des analyses en CG

Paramètres	HP5 MS	Stabilwax
Colonne capillaire	HP5 MS	Stabilwax
Longueur	30 m	60 m
Diamètre interne	0,25 mm	0,25 mm
Epaisseur de la phase	0,25 µm	0,25 µm
Température du détecteur (FID)	320°C	320°C
Température de l'injecteur	250 °C	250°C
Température de la colonne		
Température initiale	60°C pendant 8 min ;	60°C pendant 8 min ;
Température finale	280°C; pendant 15 min ;	280°C ; pendant 15 min ;
Vitesse de chauffe	2°C /min de 60 à 280°C	2°C/min de 60 à 280°C
Gaz vecteur	Azote	Azote
Débit	0,3 mL/min	0,3 mL/min
Volume injecté	1 µL	1 µL
Mode d'injection	Split 1 : 20	Split 1 : 20

Tableau VI : Conditions opératoires des analyses en CG/SM

Paramètre		
Mode de détection : impact électronique		
Tension d'ionisation	70 Ev basse résolution	70 Ev basse résolution
Colonne capillaire	HP5 MS	Stabilwax
Longueur	30 m	30 m
Diamètre interne	0,25 mm	0,25 mm
Epaisseur de la phase	0,25 µm	0,25 µm
Gaz vecteur	Hélium	Hélium
Débit	0,3 mL/min	0,3 mL/min
Pression	10 ⁻⁷ mbar	10 ⁻⁷ mbar
Température d'interface	280°C	280°C
Température de l'injecteur	250°C	250°C
Température de la colonne		
Température initiale	60°C pendant 8 min ;	60 °C pendant 8 min ;
Température finale	280°C ; pendant 15 min ;	280 °C ; pendant 15 min ;
Vitesse de chauffe	2 °C /min de 60 à 280°C	2 °C/min de 60 à 280°C
Volume injecté	0,1 µL	0,1 µL
Mode d'injection	Split 1 : 20	Split 1 : 20

L'identification des composés a été effectuée par comparaison de leurs indices de rétention et des spectres de masse obtenus à ceux inventoriés dans les banques de bibliothèques spectrales (Wiley 7, Nist 2002) [75].

Les huiles essentielles sont constituées d'un nombre très important d'isomères et/ou de groupements fonctionnels (hydrocarbures, acides, carboxyles, esters, aldéhydes) dont les spectres de masse sont souvent très voisins en impact électronique. L'utilisation des données de rétention en CG sera donc très utile comme méthode complémentaire à l'analyse effectuée par la spectrométrie de masse seule.

Les temps de rétention relatifs dépendent beaucoup des conditions expérimentales et n'ont pas d'étalons normalisés.

Les indices de rétention I_p , introduits par **KOVATS** en 1958, suscitent plus d'intérêts. Ils sont moins soumis à des variations d'une manipulation à une autre, car ils utilisent des grandeurs relatives à des étalons voisins des pics étudiés et analysés sous les mêmes conditions opératoires. L'indice le plus utilisé pour les huiles essentielles est celui préconisé par **Van Den Dool** et *al.* [76]. Il est basé sur le fait que la température de rétention et le temps de rétention varient linéairement avec le nombre d'atomes de carbone dans une série homologue.

L'indice de rétention d'un soluté donné peut être obtenu à partir du chromatogramme d'un mélange du soluté et au moins de deux alcanes normaux qui encadrent l'indice de rétention de ce soluté. Ceci revient à considérer les alcanes comme les étalons sur lesquels nous basons l'échelle des indices de rétention.

Par définition, l'indice de rétention d'un alcane normal est égal à 100 fois le nombre d'atomes de carbone présents dans le composé indépendamment du remplissage de la colonne, de la température et des autres conditions. Il est calculé par la relation suivante :

$$I_p(\%) = 100 \frac{z + \frac{tr(x) - tr(z)}{tr(z+n) - tr(z)} \times 100}{n} \quad (I.1)$$

Avec :

$tr(x)$: temps de rétention de soluté(x) étudié,

$tr(z)$: temps de rétention de l'alcane à z atomes de carbone qui précède (x) ;

$tr(z+n)$: temps de rétention de l'alcane à $(z+n)$ atomes de carbone qui suit (x) ;

n : différence du nombre d'atomes de carbone entre les alcanes ($n = 1$).

Une fois les indices de rétention des différents composés calculés, ils sont comparés à ceux de la littérature [77].

Le Tableau VII résume les constituants identifiés dans les huiles de lavande. (*Lavandula Angustifolia*. Mill.). Nous constatons que qualitativement, les huiles essentielles extraites par ces deux procédés sont comparables. Les constituants majoritaires sont respectivement pour l'EVMO et l'EV : le linalool (42,52% et 40,43%), le 1,8-cinéole (14,40% et 13,71%), le bornéol (9,38% et 10,21%), le camphre (8,11% et 7,54%) et l'acétate de linalyl (3,90% et 4,04%).

Tableau VII : Composition chimique de l'HE de lavande obtenue par EVMO et EV

	Constituant	R.I	EVMO	EV
Monoterpènes			3,18	2,60
1	α -Pinène	928	0,67	0,49
2	Camphène	943	0,77	0,60
3	Sabinène	968	0,24	0,18
4	β -Pinène	971	0,79	0,58
5	(Z)- β -Ocimène	1035	0,25	0,24
6	(E)- β -Ocimène	1045	0,46	0,51
Monoterpènes oxygénés			87,97	84,69
7	1,8-Cinéole	1033	<u>14,40</u>	<u>13,71</u>
8	Sabinène hydrate-cis	1064	0,25	0,27
9	Cis- Linalool Oxyde	1069	1,37	1,51
10	Oxyde de Trans- Linalool	1085	0,66	0,93
11	Linalool	1093	<u>42,52</u>	<u>40,43</u>
12	Camphre	1151	<u>8,11</u>	<u>7,54</u>
13	Citronellal	1150	1,93	2,34
14	Pinocarvone	1163	0,08	0,08
15	Bornéol	1176	<u>9,38</u>	<u>10,21</u>
16	Térpinène-4-ol	1179	0,11	0,45
17	α -Terpinéol	1189	0,11	0,14
18	Hexyl butirate	1194	1,14	1,11
19	Verbénone	1200	0,09	0,07
20	Acétate d'isobornyle	1227	0,33	0,34
21	carvone	1236	0,32	0,29
22	Acétate de linalyle	1259	<u>3,90</u>	<u>4,04</u>
23	Acétate de bornyle	1284	0,05	0,05
24	Acétate de lavandulyle	1289	0,28	0,31
25	Hexyltiglate	1329	0,60	0,56
26	Acétate de géranyle	1377	0,03	0,02
27	Hexyl hexanoate	1383	0,31	0,29
Sesquiterpènes			0,89	0,88
28	Caryophyllène (E)	1417	0,47	0,45
29	α -Santalène	1427	0,01	0,01
30	α -Bergamotène- trans	1439	0,02	0,01
31	(E)- β -Farnesène	1453	0,26	0,26
32	Germacrène -D	1479	0,12	0,14
33	ar-Curcumène	1481	0,01	0,01
Sesquiterpènes oxygénés			1,75	1,71
34	Oxyde de Caryophyllène	1589	<u>1,41</u>	<u>1,32</u>
35	α -Cadinol	1651	0,03	0,03
36	α -Bisabolol	1683	0,31	0,36
Autre composés oxygénés			1,67	1,40
37	Hexanol	863	0,27	0,23
38	Octan-3-one	983	1,40	1,17
% des Composés identifiés			95,46	91,28
Temps d'extraction (min)			6	30
Rendement (%)			2,71 \pm 0,10	2,71 \pm 0,10

R.I: indices de rétention calculés par rapport à la série d'alcane C_6-C_{26} *n*- pour la colonne capillaire HP5MS.

La même conclusion a été rapportée par Chemat et *al.* [52] pour l'huile essentielle de fleurs de lavande isolée par distillation à la vapeur et par MASD. Dans cette application, l'irradiation des micro-ondes accélère le processus d'extraction, sans provoquer des changements considérables dans la composition chimique de l'huile essentielle, phénomène également décrit par Paré et Bélanger [78].

II.1.2.3. Impact du procédé d'extraction sur la structure des fleurs de lavande

Afin de pouvoir expliquer les phénomènes au niveau cellulaire lors de l'extraction des huiles essentielles par les deux procédés étudiés, nous nous sommes intéressés à l'observation de l'impact du procédé sur les cellules sécrétrices des fleurs de lavande.

Pour cela, plusieurs observations par microscopie électronique à balayage ont été réalisées: avant extraction (Figures 26 a et a'), après extraction par EV (Figure 26 b) et par EVMO (Figure 26 c).

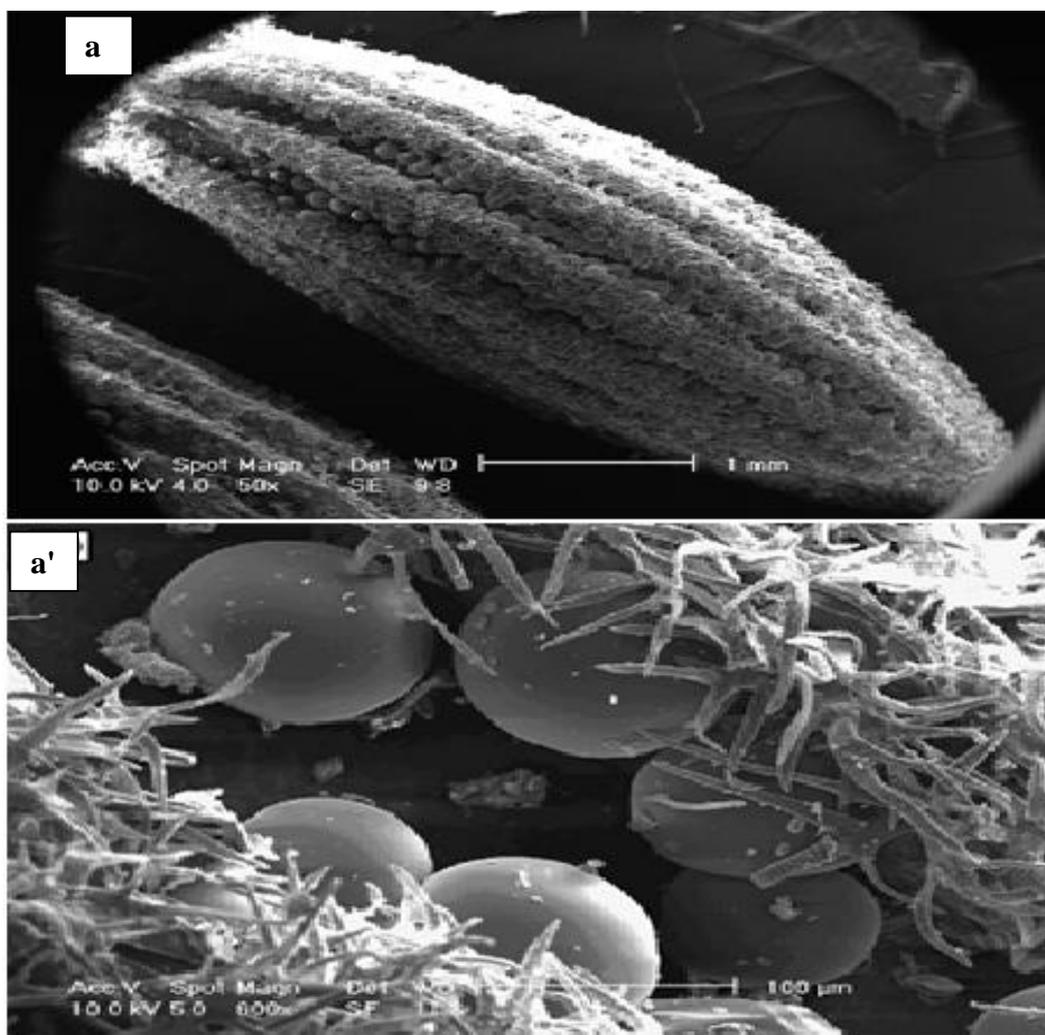


Figure 26.a et a' : Structure d'une fleur de lavande observée au microscope électronique à balayage avant extraction : (a) Fleur entière, (a') Glandes sécrétrices d'HE

L'analyse de la microscopie électronique à balayage de la lavande avant traitement (Figure 26 a et a'), nous a permis d'observer que les glandes d'huile essentielle sont très abondantes et se trouvent sur toute la surface de la fleur dans les creux des sillons. Un épais feutrage de poils protecteurs-les trichomes tecteurs- recouvre les côtés. Ces glandes apparaissent sous forme sphérique et sont de différentes tailles sur toute la fleur (Figure a). La Figure 26 a' montre un agrandissement de ces glandes sécrétrices.

La micrographie des fleurs de lavande soumises à une extraction par EV (Figure 26 b) montre que les parois cellulaires ne sont pas endommagées. En effet, nous pouvons observer que, pour chaque glande, les poches contenant l'huile, sont vidées de leur contenu et ne font que "s'effondrer" sur les cellules de la tête glandulaire, sans se déchirer. Cela peut s'expliquer par le fait que le stress thermique se produit progressivement.

A l'inverse, l'observation des fleurs de lavande extraites par EVMO (Figure 26 c), montre des cellules très endommagées ainsi que la destruction et la disparition de l'alignement des poils sécréteurs, conséquence de l'augmentation rapide de la température. En effet, quand les glandes sont sujettes à un stress thermique très sévère et à de hautes pressions localisées induites par un chauffage spécifique de type micro-ondes, la pression interne dans les glandes peut excéder leur capacité d'expansion extrême, ce qui entraîne leur destruction.

Ces observations nous permettent d'expliquer les différences observées dans les cinétiques d'extraction des deux procédés.

En effet, dans le cas de l'EVMO, les cellules sécrétrices sont rapidement détruites par l'action des micro-ondes et libèrent l'huile essentielle. Celle-ci est alors accessible à la vapeur d'eau qui l'entraîne plus facilement, ce qui se traduit par une diminution de la durée d'extraction. Dans le cas de l'EV, les parois cellulaires ne sont pas détruites et la vapeur doit donc diffuser à travers ces parois pour atteindre l'huile essentielle et l'entraîner, ce qui augmente la durée d'extraction.

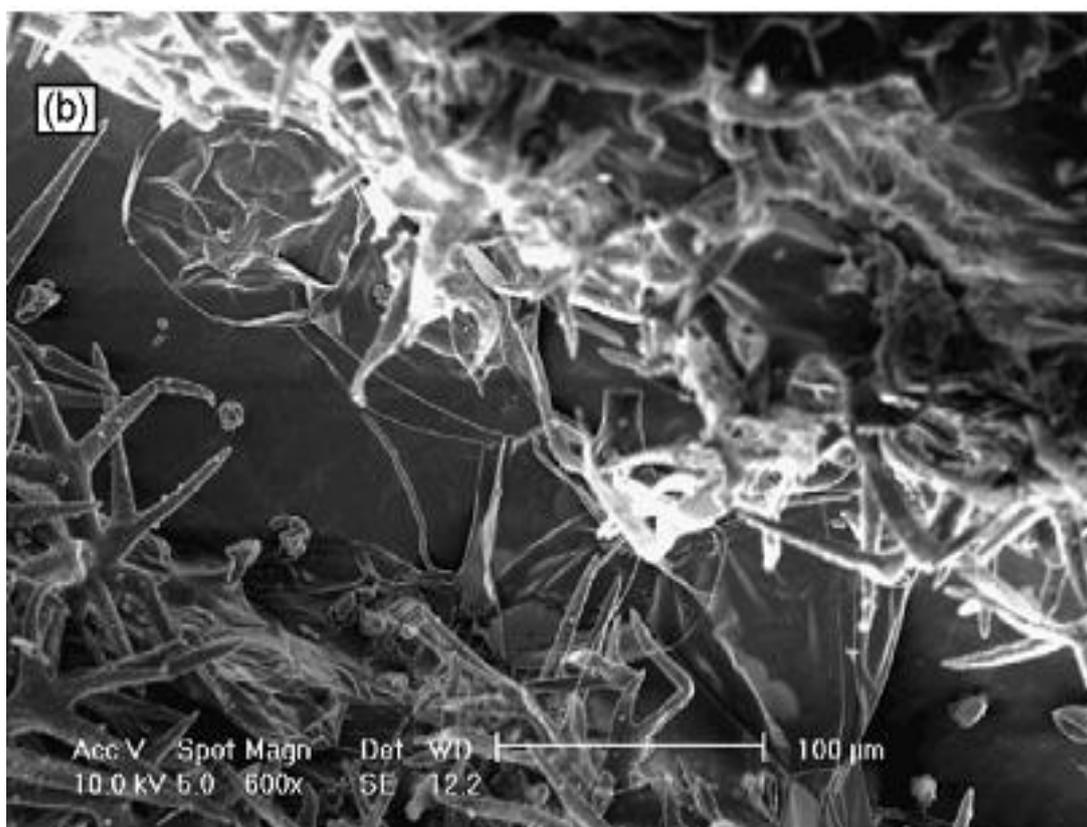


Figure 26.b: Structure des fleurs de lavande observées au microscope électronique à balayage après extraction par EV

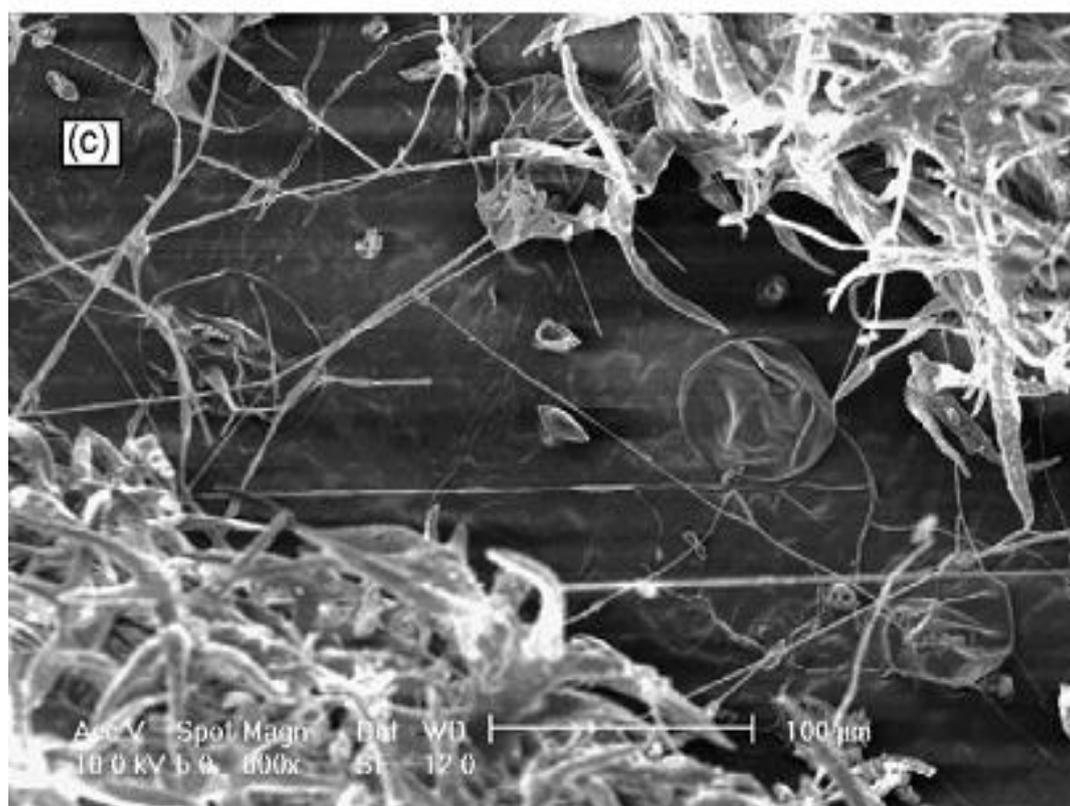
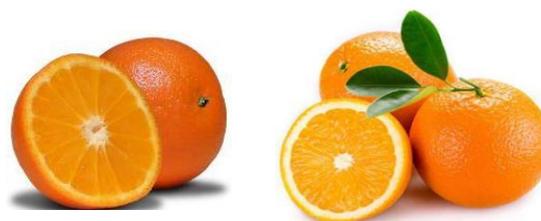


Figure 26.c: Structure des fleurs de lavande observées au microscope électronique à balayage après extraction par EVMO

En conclusion, les deux techniques d'extractions utilisées produisent des changements distincts dans la structure de la matière végétale traitée. Des observations similaires ont été rapportées dans la littérature par Paré et Belanger pour l'extraction du romarin [78] ; Iriti et *al* [30] et Ferhat et *al* [57] pour l'extraction de fleur de lavande par des procédés conventionnels et assistés par micro-ondes.

II.2. L'ORANGE



Après avoir testé l'EVMO sur les fleurs de lavande et montré son efficacité à récupérer des huiles essentielles, nous nous sommes proposés de l'appliquer à une matrice fraîche dans le but d'une généralisation à des applications industrielles [66]. Pour cela, nous avons choisis, les écorces d'orange. Ce choix a pour objectif la valorisation d'un co-produit de l'industrie agro-alimentaire.

II.2.1. Notions sur l'orange

L'importance déjà prépondérante des jus d'agrumes ne cesse d'augmenter dans le monde, en particulier dans les grandes sociétés de consommation. Ce secteur brasse des centaines de millions voire des milliards de dollars. Parmi les agrumes, l'orange est le plus rentable pour la production de jus car on peut en obtenir près de la moitié du poids du fruit naturel.

Cette importante industrie de transformation génère des déchets considérables qui sont autant de coproduits de l'orange (des agrumes) comme la pulpe, l'écorce et le pépin. Périssables, sujets à la putréfaction, à la fermentation et au moisissement, en particulier pour la pulpe très riche en eau et en sucres solubles, ces coproduits du jus d'orange restent, le plus souvent, inutilisés, posant un réel problème d'environnement. En Afrique du Nord, c'est par dizaines de milliers de tonnes que ces déchets sont jetés dans la Méditerranée, les oueds ou en pleine nature.

Pour autant, malgré que le volume des résidus de production du jus d'orange représente plus de la moitié du poids initial des fruits traités et que le transport de ces déchets engendre des surcoûts importants, l'intérêt de la récupération de ces résidus, particulièrement pour la production d'huiles essentielles, reste entier. De plus, malgré son caractère limité, la transformation de ces déchets est une réalité.

Préférant, par économie de frais de transport, sécher sur place les résidus de pulpe, les usines de production de jus en obtiennent un produit granulé ou aggloméré particulièrement nutritif comme aliment de bétail [79].

Cette récupération- transformation est aussi possible pour les pépins très riches en matières azotées, extrait étheré et autre huile aux qualités antimicrobiennes avérées.

Les écorces d'oranges sont également susceptibles de transformation en essences odorantes, en pectines et en huiles essentielles utilisables dans les industries agroalimentaires (saveurs et arômes pour boissons et autres aliments), pharmaceutiques, cosmétiques et de détergents (savons) et autres produits d'entretien domestique. Le d-limonène que les écorces recèlent en grande quantité est utilisé comme solvant écologique dans l'industrie et comme réactif de synthèse de produits chimiques.

Toutefois, ces possibilités de transformation des résidus d'écorces en huiles essentielles trouvent une limite objective à cause de difficultés inhérentes à la méthode d'extraction

classique - l'expression à froid- en usage pour l'orange et les agrumes. En effet, de par les quantités élevées d'eau qu'il nécessite, ce procédé est économiquement onéreux outre que ce fort volume d'eau altère la qualité de l'huile essentielle ainsi obtenue. Cette méthode est également très coûteuse sur le plan de la maintenance. Ce problème de rentabilité a amené plusieurs pays à se détourner de la production d'essences d'agrumes.

L'Argentine et le Mexique, deux géants mondiaux de la production d'agrumes, ont abandonné ce procédé au profit de celui de l'entraînement à la vapeur pour l'extraction d'huiles essentielles de lime, de citron, de pamplemousse et d'orange amère. Cependant, cela n'élimine pas pour autant le risque d'altération de la qualité du produit, les huiles essentielles d'agrumes étant très sensibles à la chaleur inhérente à toute distillation.

II.2.1.1. Caractéristiques botaniques

L'orange appartient à la famille des *Rutaceae*, sa classification botanique est la suivante :

- Règne : *Plantae*
- Ordre : Gèraniales
- Famille : *Rutaceae* ;
- Sous-famille : *Auranrioideae* ;
- Genre : *Citrus sinensis*.

L'oranger ou *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. est l'espèce du genre *Citrus* la plus importante, tant par le nombre de variétés qu'elle renferme, que par l'importance de ses productions. Pour Tanaka [79], la culture de l'Oranger se serait implantée en Chine vers le III^{ème} siècle après J. C. Son introduction tardive, à la fin du 16^{ème} Siècle, dans le bassin méditerranéen, est due aux portugais et cette espèce porte encore leur nom, «Bourtoügan» en arabe, «Pörthogal» en persan. Il existe plusieurs variétés dites «portugaises» sur la côte européenne de la Méditerranée.

L'oranger est un agrume très décoratif, pouvant atteindre 10 mètres environ, avec un feuillage vert sombre persistant. Il nécessite une température moyenne de 14°C. Les fruits sont de forme et de coloration variables suivant les espèces, ce qui permet de classer les oranges en quatre groupes : les oranges blondes Navel, les oranges blondes, les oranges sanguines et les oranges sans acidité [79].

Deux grandes classifications existent et sont généralement utilisées pour le genre *Citrus* : celle du japonais Tanaka [79], comprend 156 espèces et celle de Swingle [80] qui n'en distingue que 16. Tanaka élève au rang d'espèces de nombreux hybrides intra- ou interspécifiques et sa classification liste toutes les variétés d'agrumes existantes en leur attribuant leurs noms latins. Cela a pour but de standardiser et d'identifier les nombreuses variétés fruitières d'agrumes.

Les agrumes appartiennent à la famille des *Rutaceae*, sous-famille des *Aurantioideae*, tribu des *Citreae* et sous-tribu des *Citrinae* [81]. Dans cette dernière, on distingue trois groupes dont les agrumes vrais et parmi ceux-ci, les trois genres botaniques les plus connus : *Citrus*, *Poncirus* et *Fortunella*.

Le genre *Poncirus* ne contient qu'une espèce *Poncirus trifoliata*. Elle présente des fruits impropres à la consommation mais sa grande résistance au froid lui confère des propriétés intéressantes de porte-greffe.

Le genre *Fortunella* comprend deux à quatre espèces désignées sous le nom commun de « Kumquats » et servant essentiellement à la fabrication de fruits confits.

Le genre *Citrus* est constitué d'un large éventail d'agrumes dont les principaux sont les oranges, les mandarines, les clémentines, les citrons, les limes, les cédrats, les pomelos, les pamplemousses, les bigaradiers et les bergamotes.

II.2.1.2. Structure morphologique de l'orange

Les *Citrus* sont des arbustes de couleur verte, de longueur variant de 3 à 15 m et dont le bois est très dur. A l'aisselle des pétioles ailés peuvent apparaître deux épines obtuses ou aigues. Les fruits sont de couleur vive, généralement jaune ou orange; leur chair est composée de vésicules à jus ou pulpe. L'écorce du fruit possède des poches sécrétrices contenant des essences pouvant être extraites selon différents procédés. Leur taille est également très variable et leur poids peut atteindre un kilogramme. Le mésocarpe, en général assez épais par rapport à la taille du fruit, peut en constituer la plus grande part. Il renferme dans sa partie externe le flavedo (8 à 10% du fruit) coloré par des pigments caroténoïdes et l'albédo (30% du fruit) qui est une couche blanche et spongieuse plus ou moins épaisse.

Selon le type d'agrumes, l'épicarpe et le mésocarpe adhèrent plus ou moins fortement à l'endocarpe. Ainsi, à maturité, le zeste de la mandarine est totalement séparé de l'endocarpe. Ce dernier est formé de quartiers remplis de vésicules, gorgés de jus, il est appelé «pulpe», représentant 40 à 45% du fruit comme le montre la Figure 27. Les matières insolubles sont estimées de 20 à 30% du fruit [82].

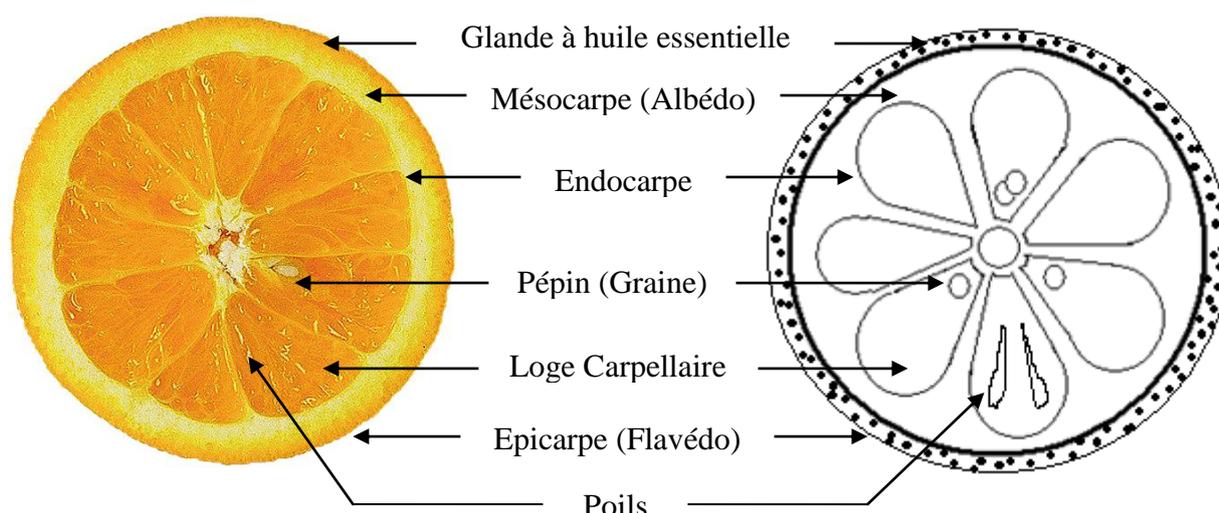


Figure27 : Coupe transversale d'une orange détaillant la structure du péricarpe.

II.2.1.3. Composition chimique de l'huile essentielle d'orange

L'essence d'orange possède en général une teneur en hydrocarbures monoterpéniques que l'on peut évaluer à environ 90%. Le composant dominant de la fraction monoterpénique est le *d*-limonène, suivi de loin par le myrcène, le sabinène et le α -pinène. Les composants oxygénés sont responsables du parfum caractéristique de l'essence avec notamment l'aldéhyde décylrique qui a une odeur d'orange.

Les essences d'orange douce et de pamplemousse possèdent respectivement 96,5% et 92,5% d'hydrocarbures terpéniques dont 95% de limonène.

L'essence de bergamote a un pourcentage beaucoup plus faible en dérivés terpéniques : 38,5% dont 25% de limonène. Les alcools terpéniques constituent 22,5% de l'huile essentielle, avec 20% de linalool. C'est l'acétate de linalyle (un ester) qui, avec un pourcentage élevé (30%) peut, sans conteste, être considéré comme le principal élément de l'essence de bergamote.

L'essence de néroli bigarade a une composition chimique très voisine de celle de l'essence de bergamote : 35% de dérivés terpéniques, 30% de linalool, 4% d'esters. Le linalool est également présent de façon notable dans les autres essences d'agrumes : 0,5% dans l'orange douce, 2% dans la mandarine et 5% dans l'orange amère.

Les autres essences d'agrumes possèdent également, en faible quantité, des dérivés de la benzopyrone comme le citroptène (5,8-diméthoxy-coumarine) et le bergaptène (5-méthoxypsoralène) [79].

II.2.1.4. Orange et agrumiculture en Algérie

Les agrumes présentent une importance économique considérable en tant que culture pour la consommation interne et produit d'exportation chez de nombreux pays.

Parmi les pays producteurs du bassin méditerranéen, les plus importants, l'Espagne et l'Italie représentent, à eux deux, plus de 50% de la production de la région.

Pour apprécier la part de l'Algérie dans cet ensemble de pays producteurs d'agrumes, il est utile de rappeler l'historique du développement de cette culture dans notre pays.

L'agrumiculture algérienne a progressé en trois étapes successives.

La première commence en 1850, date d'introduction du mandarinier. A cette époque, on note de modestes tentatives d'exportations sur Marseille, en France. Au premier recensement algérien, les exportations étaient de 13 tonnes.

En 1858, on dénombre 170 hectares d'orangeries avec 22330 arbres dont la plupart se trouvent dans la région de Blida. La cadence d'exportation s'accélère pour atteindre 1000 tonnes, en 1913, pour une superficie couverte de 4000 hectares.

Quelques années plus tard, elle passait à plus de 8000 hectares et, en 1928, on commence à exporter la clémentine, nouvelle espèce obtenue par le Père Clément, par croisement, en 1902, à Misserghin.

La deuxième période démarre en 1936, année qui vit une amélioration de la situation agrumicole par la mise en eau de grands barrages permettant une appréciable extension des cultures irriguées et par le coup d'arrêt donnée à la viticulture par l'interdiction de plantation de la vigne. On assiste alors à une véritable ruée vers les plantations d'agrumes qui évoluaient à un rythme de 2000 à 3000 hectares par an.

En 1938, le Comité National des Agrumes est instauré avec pour tâche l'étude de la question de la limitation des plantations. En 1941, on dénombre 20000 hectares mais à partir de 1942, l'insuffisance des moyens de travail vient freiner à nouveau les plantations.

La dernière période enfin, est celle qui se déroule après la deuxième guerre mondiale. Dès 1946, les plantations repartent de plus belle, stimulées par de nombreux facteurs (besoins alimentaires, utilisation de techniques nouvelles, etc). La préférence est accordée aux oranges pouvant supporter les voyages, (oranges de demi-saison et tardives). Depuis, la demande française se faisant toujours plus grande, l'accroissement des plantations connut un rythme accru jusqu'en 1956. La superficie cultivée était alors de 35000 hectares représentant plus de 9 millions d'arbres et une production de 360 000 tonnes par an. Par la suite, le développement se ralentit en raison de la révolution algérienne. Pour autant, à l'indépendance, la superficie plantée sera quand même de 42500 hectares pour une production de 450000 tonnes.

Nous pouvons constater à travers cette esquisse historique que l'agrumiculture algérienne, née de la colonisation, s'est donc faite essentiellement en fonction des besoins du marché français [83].

Cette culture va longtemps périlcliter avant de reprendre, depuis une dizaine d'années, un essor sans cesse croissant mais somme toute, très relatif, classant en 2004 l'Algérie au dixième rang des producteurs dans le bassin méditerranéen.

Etabli par le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, le Tableau VIII récapitule la production nationale ainsi que les superficies cultivées pour les différentes espèces d'agrumes durant la période 2000-2010.

On remarque que cette production passe de 432635 tonnes en 2000 (moins qu'en 1962), pour atteindre le pic de 844495 tonne en 2009.

La part de l'orange dans ces statistiques passe de 299583 tonnes, en 2000, pour une superficie de 30500 ha, à 626090,5 tonnes, en 2009, pour une superficie de 468840.

Tableau VIII: Production des agrumes en Algérie entre 2000 et 2010 [84, 85]

Année	2000		2001		2002		2003		2004		2005	
	Sup. ha	Prod. qx	Sup. Ha	Prod. qx	Sup. ha	Production qx	Sup. ha	Prod. qx	Sup. ha	Prod. qx	Sup. ha	Prod. qx
Oranges	30 500	2 995 830	32 700	3 270 830	36 430	3 624 900	40 100	3 893 720	42 603	4 171 500	45 492	4 352 360
Clémentines	10 110	841 250	10 230	907 350	10 120	949 330	2 180	253 070	2 190	300 210	1 924	334 220
Mandarines	1 950	182 670	1 970	193 520	2 180	215 360	10 290	1 033 510	10 357	1 142 500	10 096	1 098 920
Citrons	3 300	292 810	3 640	316 440	3 880	389 660	3 970	401 670	4 122	459 190	4 520	473 050
Pomélos	150	13 790	100	11 460	100	15 340	100	17 330	96	17 710	94	15 510
Total agrumes	46 010	4 326 350	48 640	4 699 600	52 710	5 194 590	56 640	5 599 300	59 368	6 091 110	62 126	6 274 060

Année	2006		2007		2008		2009		Prébilan 2010	
	Sup. ha	Prod. qx	Sup. ha	Prod. qx	Sup. ha	Prod. qx	Sup. ha	Prod. qx	Sup. ha	Prod. qx
Oranges	45 834	4 744 530	46 310	4 909 150	46 900	5 029 910	46 663	6 260 905	46 884	5 824 958
Clémentines	2 140	321 975	2 144	379 250	2 155	264 855	2 140	266 228	2 206	290 020
Mandarines	10 466	1 238 935	9 074	1 149 455	10 439	1 233 620	10 340	1 305 326	10 299	1 228 221
Citrons	4 365	472 710	5 671	446 715	4 425	434 845	4 351	601 103	4 344	521 356
Pomélos	97	25 300	97	10 100	97	10 435	95	11 388	92	16 555
Total agrumes	62 902	6 803 450	63 296	6 894 670	64 016	6 973 665	63 589	8 444 950	63 825	7 881 110

Sup : Superficie

Prod : Production

ha : hectare

qx : quintaux

II.2.1.5. Marché des agrumes dans le monde

Les agrumes occupent aujourd'hui la seconde place dans les échanges mondiaux des produits végétaux, avec environ 105 millions de tonnes, sur la période 2000-2004. Les oranges constituent plus de la moitié (58%) de la production d'agrumes. A titre d'exemple, nous reportons les tonnages respectifs pour l'année 2004 :

- a) Oranges : 57,9 millions de tonnes (MT);
- b) Mandarines, clémentines et tangerines : 15,9 MT;
- c) Citron, limes : 9,3 MT;
- d) Pamplemousses et pomelos : 4,9 MT [81].

La production d'agrumes est très répandue autour du globe. Selon les données statistiques de la FAO (Food & Agriculture Organisation), en 2004, plus de 140 pays produisaient des agrumes. Cependant, la majeure partie de la production se concentre dans certaines zones géographiques. La plupart des agrumes sont cultivés dans l'Hémisphère Nord, comptant pour environ 70% de la production totale. Les principaux pays producteurs sont le Brésil (15 MT), les Etats-Unis (9MT) et la Chine (4 MT) [81].

Le bassin méditerranéen est en tête pour la production d'oranges douces et amères ; il partage la première place avec l'Asie pour les mandarines et avec l'Amérique du Nord pour les pamplemousses.

Si la région méditerranéenne offre des conditions excellentes pour la croissance des *Citrus*, l'Amérique du Nord peut également être considérée comme une grande région de culture pour ces arbustes, produisant un quart de la récolte mondiale de citrons, d'oranges douces et de mandarines [82].

Seuls le Bergamotier, le Bigaradier et le Limettier semblent préférer, à celui de l'Amérique du Nord, le climat équatorial de la Côte d'Ivoire également propice pour le citronnier.

Le Tableau IX regroupe les pays producteurs des différents agrumes et la Figure 28 représente la répartition géographique de la production d'agrumes destinés au marché frais dans le monde

Tableau IX : Les principaux producteurs d'agrumes dans le monde

Agrumes	Pays producteurs
Oranges	Brésil, Etats Unis, Mexique, Inde, Espagne, Chine, Iran, Italie, Egypte, Indonésie.
Petits agrumes	Nigeria, Chine, Syrie, Guinée, Japon, Arabie Saoudite, Inde, Sierra Leone, Angola, Tunisie.
Citrons et citrons verts	Mexique, Inde, Iran, Espagne, Argentine, Brésil, Etats-Unis, Chine, Italie, Turquie.
Pamplemousses	Etats Unis, Chine, Afrique du sud, Mexique, Cuba, Argentine, Inde, Turquie, Tunisie.

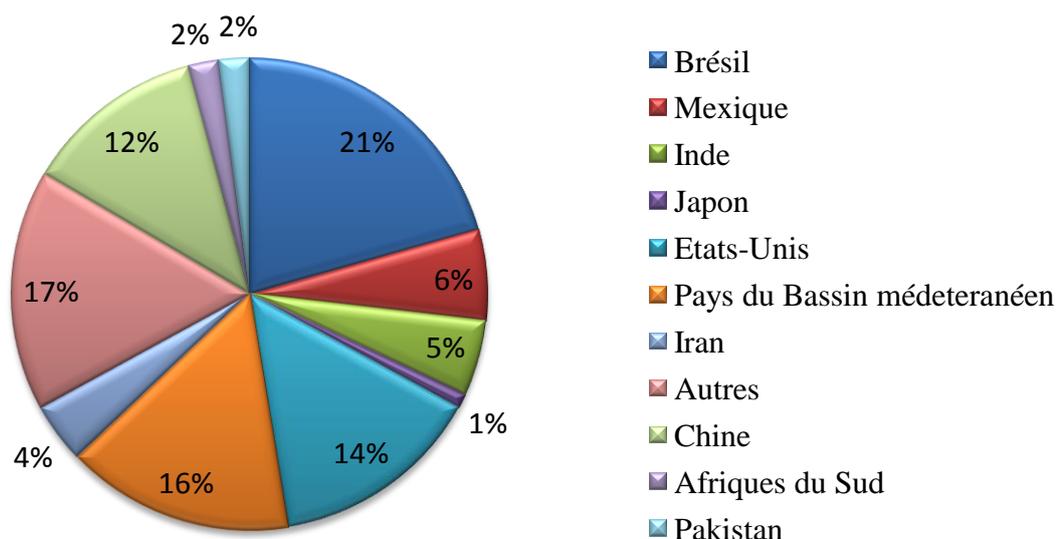


Figure 28 : Répartition géographique de la production d'agrumes destinée au marché frais [83]

Les exportateurs d'agrumes frais représentent environ 8% de la production mondiale d'agrumes. La majeure partie des exportateurs d'agrumes frais se situe dans l'hémisphère nord et représente 62% des exportateurs mondiales. La région méditerranéenne occupe 60% du volume globale. La production est localisée dans dix pays (Turquie, Chypre, Egypte, Israël, Grèce, Italie, France, Espagne, Portugal et Maroc).

Les pays de l'hémisphère sud, comme l'Argentine, l'Australie et l'Afrique du sud ont renforcé leur présence dans le commerce mondial en fournissant des agrumes hors-saison. Cette situation a été favorisée par les améliorations apportées tant au niveau du stockage que du transport.

Nous avons regroupés dans le Tableau X les principaux pays importateurs et exportateurs des agrumes durant la dernière saison 2009/2010, d'après les statistiques des Nations Unis (2010) relatives au marché des fruits d'agrumes.

Tableau X : Principaux pays importateurs et exportateurs d'agrumes dans le monde (Source : Nation unis, 2010) [86]

Pays importateurs	Valeurs marchandes (\$US)	Pays exportateurs	Valeurs marchandes (\$US)
France	12507615,00	Israël	41137000,00
Allemagne	12413000,00	Hollande	32164180,00
Danemark	10414032,00	Zimbabwe	16445389,00
Canada	9501910,00	Chine	11545901,00
Hollande	9169013,00	Inde	7662604,00
Autres	76305983,00	Autres	76085275,00
Total des importations	130311553,00	Total des exportations	185040349,00

II.2.2. Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle des écorces d'orange a été réalisée selon la même procédure adaptée pour la lavande. Des essais préliminaires nous ont permis de fixer la masse de matière végétale à 100g, le débit de vapeur à $14\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$ et la puissance des micro-ondes à 500W.

Le rendement a été calculé par rapport à la matière sèche. Son taux d'humidité est égal à $(75,00 \pm 0,01)\%$.

II.2.2.1. Cinétique d'extraction

L'orange provient de la station expérimentale d'arboriculture de Boufarik et a été identifiée aussi bien au niveau de cette station qu'au niveau de L'ENSA (ex INA) comme étant l'espèce *Washington navel*. Les lots utilisés ont été cueillis à la même période (janvier – février 2008) pour les différents essais réalisés.

- **Échantillonnage**

Avant chaque série d'essais, les plantes ont été échantillonnées selon la méthode de quartage. Les écorces d'orange ont été découpées en cube à l'aide d'un couteau. Elles ont été utilisées fraîches. La détermination du taux d'humidité a, à chaque fois, été réalisée en parallèle avec les essais d'extraction.

Lors de cette étude, un suivi cinétique de l'extraction de l'huile essentielle par les deux procédés a été réalisé. La Figure 29 représente l'évolution du rendement en huile essentielle en fonction du temps.

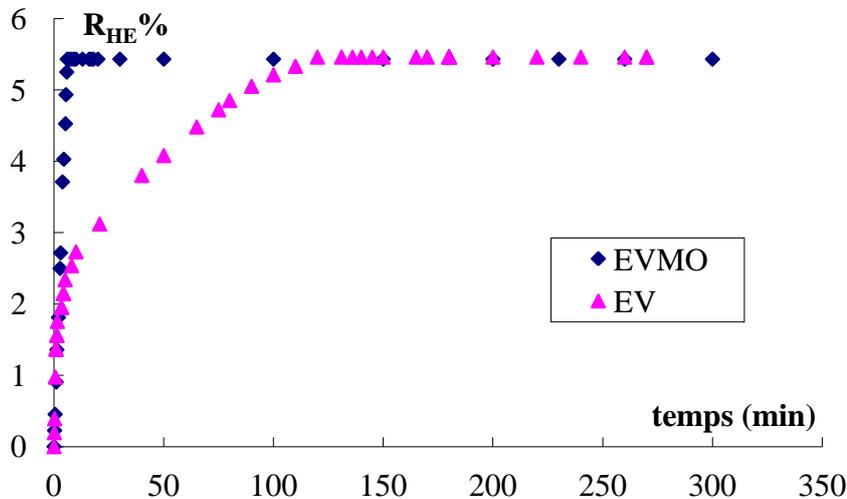


Figure 29 : Evolution du rendement en huile essentielle en fonction du temps

L'évolution temporelle du rendement en huile essentielle montre que les rendements obtenus par les deux procédés sont du même ordre de grandeur, $(5,43 \pm 0,03\%)$ et $(5,45\% \pm 0,04)$ respectivement pour l'EVMO et l'EV.

Par ailleurs, nous remarquons que l'entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro ondes est nettement plus rapide que l'entraînement à la vapeur d'eau conventionnel. En effet, plus de 93% d'huile essentielle sont extraits en 6 min alors qu'il faut plus de 120 min pour extraire la même quantité par entraînement à la vapeur d'eau conventionnel.

Deux phases sont observées dans le processus d'extraction assisté par micro-ondes (EVMO).

La première étape est représentée par une augmentation rapide du rendement suivie par une seconde étape qui correspond à un palier qui marque la fin de l'extraction.

L'augmentation rapide du rendement au cours de cette étape suggère que l'huile essentielle est facilement accessible par la vapeur. En effet, les micro-ondes distendent les cellules végétales et conduisent à la rupture des glandes contenant l'huile essentielle.

Pour l'extraction à la vapeur d'eau classique (EV), trois parties sont observées. La première est représentée par une augmentation durant laquelle environ 57% du rendement sont obtenu après 20 min d'extraction de l'huile essentielle située au voisinage de la surface de la matière végétale. Cette phase est suivie par une deuxième qui correspond à l'extraction de l'HE située dans les glandes endogènes situés plus en profondeur dans la structure de la plante. Lors de cette étape (réalisée en 100 min), la quantité d'huile extraite représente près de 43% du rendement global. La troisième partie correspond à un palier qui marque la fin du processus d'extraction qui est atteint après 120 min.

Ferhat.M.A. et al [5]. ont trouvé que les rendements en huiles essentielles de dix variétés d'agrumes obtenues par extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME) et par hydrodistillation sont comparables mais différent de ceux obtenus par expression à froid (CP) (Tableau XI). Cette observation rejoint nos résultats, à savoir que les micro-ondes permettent de diminuer les durées d'extraction sans affecter les rendements en huile essentielle.

Par ailleurs, l'étude cinétique de l'extraction de l'huile essentielle d'orange montre que l'EVMO est plus performant que la SFME, la durée d'extraction est divisée par 5 (6 minutes contre 30 minutes) ; ce qui induit un gain considérable en coût d'exploitation.

Tableau XI : Rendement en HE de dix variétés d'agrumes extraites par SFME, CP et HD [5]

Technique d'extraction	ESSAM	HD	CP
Rendement de l'extraction en % (g HE/100g fruit)			
Valencia Late	0,42	0,38	0,16
Washington Navel	0,10	0,13	0,05
Tarocco	0,17	0,15	0,04
Sorbonne	0,29	0,35	0,01
Citronnier Villa França	0,29	0,26	0,03
Marsh Seedless	0,10	0,11	0,03
Rhobs el-arsa	0,19	0,14	0,01
Tangelo Seminol	0,22	0,22	0,04
Bouquetier de Nice à fruit dur	0,10	0,11	0,01
Eurêka	0,24	0,21	0,054
Temps d'extraction	30	180	90

II.2.2.2. Caractérisation de l'huile essentielle

a) Caractéristiques physiques et organoleptiques

Le Tableau XII regroupe les valeurs des constantes physiques ainsi que les propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'écorces d'orange extraite par EV et EVMO déterminées en utilisant la norme AFNOR [74].

Tableau XII : Propriétés physiques et organoleptiques de l'HE d'écorces d'orange

		EV	EVMO
Constantes physiques	Densité à 20°C	0,855	0,860
	Indice de réfraction à 20°C	1,431	1,493
	Miscibilité à l'éthanol à 95%	1vol /1,5vol	1vol /1,5vol
Caractéristiques organoleptiques	Aspect	Liquide mobile	Liquide mobile
	Couleur	Liquide incolore à jaune clair	Liquide incolore
	odeur	bouillie plate sans relief	Fraiche citronnée naturelle bien nette

Nous constatons que les densités et les indices de réfraction des huiles essentielles recueillies par les deux procédés ont des valeurs relativement proches et comparables, alors que leurs odeurs sont différentes. En effet, contrairement à l'huile extraite par EV qui dégage une odeur de bouillie ; plate sans relief, l'huile extraite par EVMO, est fraîche et rappelle l'odeur naturelle de l'orange.

b) Composition chimique

Les analyses par CG et CG/SM réalisées dans les mêmes conditions que pour l'huile essentielle de lavande, ont permis d'identifier 26 et 23 composés représentant 99,46% et 98,83% de l'huile essentielle récupérée par EVMO et EV respectivement (Tableau XIII).

Les compositions chimiques des huiles essentielles obtenues par les deux procédés sont comparables. Elles sont principalement constituées d'un hydrocarbure monoterpénique, le limonène avec 96,2 % pour l'EVMO et 95,6 % pour l'EV.

Comme pour la lavande, les micro-ondes ont amélioré la cinétique d'extraction sans affecter la composition de l'huile récupérée.

TableauXIII : Composition chimique de l'HE d'orange obtenue par EVMO et EV

N°	Constituant	I R	Teneur relative (%)	
			EVMO	EV
	Monoterpènes		98,9	98,02
1	α -Pinène	928	0,60	0,39
2	Sabinène	968	0,23	0,24
3	β - Myrcène	988	1,81	1,73
4	3-Carène	1001	tr	0,04
5	δ -3-Carène	1007	0,05	0,01
6	Limonène	1034	96,20	95,6
7	α -Terpinolène	1087	0,01	0,01
	Monoterpènes oxygénés		0,27	0,32
8	Linalool	1093	0,17	0,23
9	Oxyde de Trans-Limonène	1135	0,02	0,01
10	Citronellal	1150	0,02	0,04
11	β -Citronellol	1227	0,06	0,04
	Sesquiterpènes		0,11	0,18
12	α -Copaène	1372	0,01	0,01
13	β -Cubébène	1382	tr	0,01
14	β -élèmène	1386	0,01	0,03
15	Caryophyllène (E)	1417	0,01	0,02
16	α -Humulène	1452	0,05	--
17	Germacrène -D	1479	tr	0,01
18	Valencène	1490	0,01	0,09
19	Germacrène -A	1503	0,01	--
20	γ -Cadinène	1513	tr	--
21	δ -Cadinène	1520	0,01	0,01
	Sesquiterpènes oxygénés		tr	0,03
22	Elémol	1549	tr	--
23	Oxyde de Caryophyllène	1589	tr	0,01
24	Cis, trans -Farnésol	1694	--	0,01
25	α -Sinensal	1754	tr	0,01
	Autres composés oxygénés		0,18	0,28
26	Décanal	1203	0,16	0,27
27	n-Dodécanal	1404	0,02	0,01
% des Composés identifiés			99,46	98,83
Temps d'extraction (min)			6	120
Rendement (%)			5,43 \pm 0,03	5,45 \pm 0,04

R.I: indices de rétention calculés par rapport à la série d'alcane C₆-C₂₈ n- pour la colonne capillaire HP5MS.

II.2.2.3 Impact du procédé d'extraction sur la structure des écorces d'orange

Comme pour les fleurs de lavande, nous avons effectué des observations au microscope électronique à balayage de coupes d'écorces d'orange non traitées et ayant été soumises aux deux procédés d'extractions.

L'analyse microscopique des sections réalisées sur des échantillons d'écorces non traitées montre une structure typique du fruit des *Citrus* (Figure 30). De l'extérieur vers l'intérieur, on distingue un épiderme doublé d'une importante couche de cuticule, un parenchyme compact, formé de cellules à parois épaisses au sein duquel sont aménagées les poches à huile essentielle, et un parenchyme lacuneux qui forme l'essentiel de l'albédo.

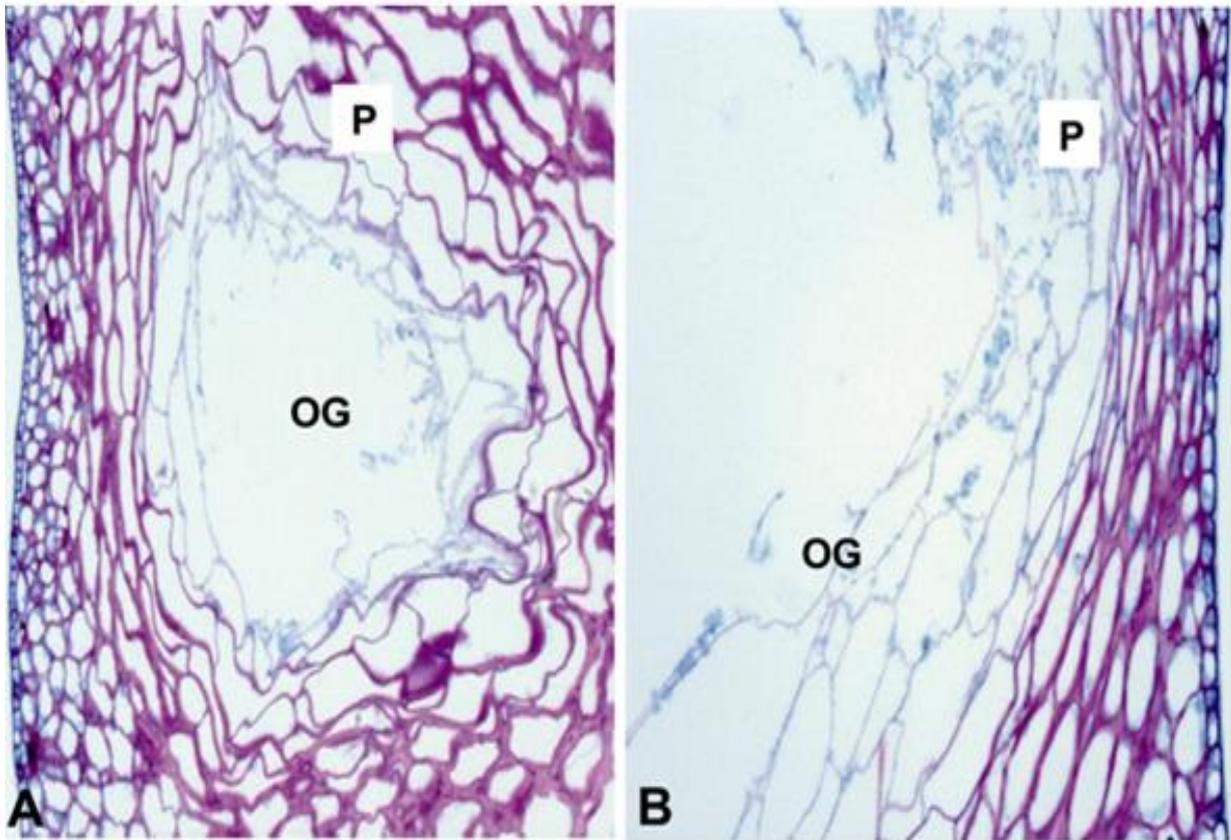


Figure 30 : Structure des écorces d'orange non traitées
(OG : Poche à HE, P : Parenchyme)

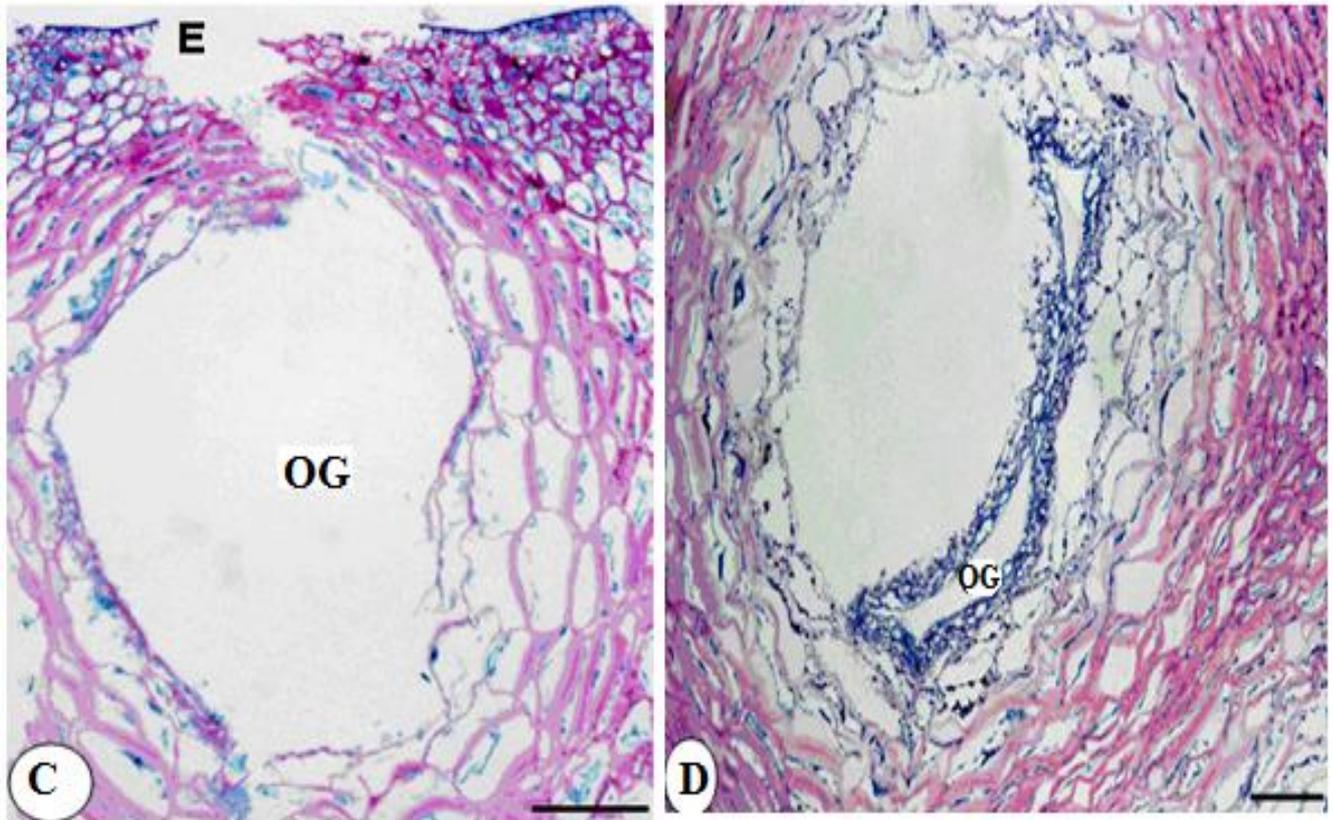


Figure 30 : Structure des écorces d'orange traitées par EVMO (C) et par EV (D)
(OG : Poche à HE, E = épiderme)

Les coupes effectuées sur les échantillons traités par EVMO et EV révèlent qu'il y'a des modifications cytologiques.

L'échantillon traité par EVMO (Figure 30 C), montre une structure très aérée avec destruction du tissu cellulaire et des poches à huiles essentielle. En revanche, pour l'échantillon soumis à l'EV (Figure 30 D), la structure des cellules est fortement comprimée mais sans être détruite.

Ces résultats montrent que les micro-ondes induisent des effets plus destructeurs et plus ciblés sur les éléments cellulaires qui synthétisent et accumulent l'huile essentielle. En effet, l'augmentation brutale des températures provoquée par les micro-ondes à l'intérieur des cellules riches en eau, engendre une pression interne qui fait exploser les poches d'huile essentielle ayant pour conséquence le largage de l'huile essentielle qui se trouve alors plus accessible à la vapeur d'eau.

Ces observations permettent d'expliquer et de comprendre aisément les différences constatées dans les cinétiques d'extraction des deux procédés étudiés. Des résultats similaires sont rapportés pour l'extraction de l'huile essentielle d'orange par le procédé MAD (Microwave Apparatus for Distillation) [37], ainsi que pour l'extraction des pectines suite à un prétraitement des écorces d'orange [87].

III. CONSOMMATION ENERGETIQUE ET IMPACT ENVIRONNEMENTAL

Après avoir mis au point l'EVMO et montré qu'il pouvait être appliqué à l'extraction de matières végétales aussi bien sèche que fraîche, nous avons essayé d'évaluer, à titre indicatif et de manière globale, son impact environnemental. Il est clair que pour avoir une estimation réelle du coût d'une installation d'extraction, une étude technico- économique rigoureuse doit être menée.

Le Tableau XIV, résume les durées d'extraction, la consommation électrique ainsi que les rejets en CO₂ pour l'étude menée.

Tableau XIV : Caractéristiques des procédés EVMO, EV, MASD et SFME

Matière végétale	Lavande			Orange			
	Procédé	EVMO	EV	MASD [52]	EVMO	EV	SFME [5]
Durée d'extraction (min)		6	30	10	6	120	30
Consommation Electrique (KWh/g d'HE)		0,05	0,30	0,13	0,06	1,44	0,25
Rejet en CO ₂ (g)/g d'HE		40	240	104	48	1152	200

Comparé à l'EV, la durée d'extraction par EVMO est divisée par 5 pour l'huile essentielle de lavande et par 20 pour celle d'orange. Alors qu'un gain de temps de 40% est observé par rapport au procédé MASD pour la lavande et de 80 % par rapport à la SFME pour l'orange.

La durée d'extraction étant directement liée à la consommation énergétique, celle-ci se trouve automatiquement affectée. Nous remarquons ainsi que l'énergie requise pour extraire l'huile essentielle de lavande par EV est six fois plus importante que celle nécessaire pour l'extraction par EVMO; le rapport est de 2,6 avec le procédé MASD. Pour les écorces d'orange, le rapport entre l'EVMO et l'EV est de 24, il est de 4,2 avec la SFME. Les mesures de la consommation énergétique ont été réalisées à l'aide d'un Wattmètre placé sur les prises de courant électrique à l'entrée du four micro-ondes et des chauffages électriques par conduction utilisé pour la production de la vapeur.

La mesure de la consommation énergétique a tenu compte de l'énergie du chauffage par micro-ondes et celle pour la production de la vapeur.

L'impact environnemental a été évalué sur la base de la quantité de dioxyde de carbone rejetée dans l'atmosphère. Les calculs ont été effectués selon les données de la littérature [88] : pour obtenir 1KWh à partir de charbon ou de fuel; 800 g de dioxyde de carbone sont émis dans l'atmosphère lors de la combustion de l'énergie fossile.

CONCLUSION

Le but de l'étude relatée dans ce chapitre était de proposer une nouvelle technique d'extraction d'huiles essentielles : l'entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes (EVMO). Cette technique consiste en une combinaison originale d'un mode de chauffage innovant : les micro-ondes, et de l'entraînement à la vapeur d'eau conventionnel.

Les résultats de cette étude ont montré que l'EVMO est nettement plus performant que le procédé conventionnel (EV) ainsi que les procédés MASD et SFME dont il a été inspiré. Les aspects économiques et écologiques de cette technique ont été mis en évidence et permettent de souligner l'approche «verte» véhiculée par le dispositif.

C'est une méthode d'extraction qui pourrait être utilisée aussi bien dans les laboratoires comme technique de contrôle de routine de la qualité des huiles essentielles que pour la production d'huiles essentielle dans des unités d'extraction.

CHAPITRE II
OPTIMISATION DE L'ENTRAINEMENT A LA
VAPEUR ASSISTE PAR MICRO-ONDES

INTRODUCTION

Après avoir mis en œuvre le procédé d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes et testé son efficacité à extraire les huiles essentielles, nous avons procédé à son optimisation.

Pour ce faire, nous avons dans un premier temps réalisé une étude paramétrique afin de délimiter le domaine expérimental de variation des paramètres opératoires. S'en est suivie dans une seconde étape, une optimisation par plan d'expériences. Le but de cette dernière est de vérifier l'existence d'interactions entre les paramètres opératoires et de déterminer les conditions optimales de fonctionnement de notre installation.

I. MODÉLISATION ET OPTIMISATION

Les expériences en laboratoire ou en contexte industriel concernent généralement l'étude de l'influence de nombreux paramètres sur le résultat d'un phénomène ou d'un procédé. Aussi est-il nécessaire de modéliser et d'optimiser ces processus afin d'aboutir aux meilleurs résultats.

La modélisation des processus est une opération fondamentale. Elle peut rendre compte du comportement du système et permet de faire des prévisions, de formuler des recommandations et d'ouvrir la voie aux problèmes d'optimisation [89].

L'optimisation d'un processus peut se faire par une étude paramétrique, ou par une planification des expériences.

I.1. Etude paramétrique

L'étude paramétrique est la première étape à réaliser pour l'optimisation d'un procédé. Son principe consiste à faire varier un des paramètres en gardant les autres constants et à estimer son influence sur la réponse du système étudié. Cette méthode est facile mais a pour inconvénient le nombre élevé d'essais. De plus elle ne donne pas d'information sur les interactions entre les paramètres.

I.2. Méthodologie des plans d'expériences

La théorie des plans d'expériences est née de la multitude des problèmes pratiques dans tous les domaines des sciences expérimentales où le besoin d'organiser une expérience afin d'améliorer les résultats sans en augmenter le coût, est indispensable. L'utilisation de cette méthode permet de définir la séquence d'essais à réaliser pour l'étude d'un problème donné afin d'obtenir un maximum de précisions sur les résultats visés.

Ces résultats seront soumis à des analyses algébriques et statistiques qui permettront d'étudier tous les facteurs du système en même temps et d'en déduire ceux dont l'effet est le plus important, de détecter les éventuelles interactions entre eux et enfin de les optimiser et les modéliser mathématiquement.

Dans le domaine industriel, il est souvent question d'identifier tout d'abord le ou les facteurs les plus influents dans un processus de fabrication car pour un système étudié, on peut disposer d'un nombre important de variables intervenant au cours de la conception.

Pour qu'un expérimentateur puisse choisir ces facteurs, il est nécessaire d'avoir un minimum de connaissances préalables du phénomène étudié. Ces connaissances peuvent être acquises en général par une étude bibliographique. Elles peuvent également être élargies par des expériences ou des observations préliminaires afin de fixer certains paramètres [89].

De manière générale, les plans d'expériences permettent une meilleure compréhension des phénomènes impliqués dans les nouveaux procédés développés et permettent d'appréhender une variable réponse rapidement. Aujourd'hui, de nombreux auteurs traitent de l'utilisation des plans d'expériences dans des domaines divers et variés dans le but d'étudier, d'optimiser, de comparer ou d'estimer divers critères [90-94].

Plusieurs types de plans d'expériences sont proposés en fonction des objectifs et de la situation. Pour une étude exploratoire dont l'objectif principal est de sélectionner les facteurs les plus influents, un plan factoriel fractionnaire est bien adapté. Pour affiner l'étude de facteurs décelés comme influents et modéliser plus précisément leur relation avec la réponse étudiée (qualité, performance), un plan pour surface de réponse peut être utilisé [89].

Dans cette étude, notre objectif, après avoir défini les paramètres les plus influents, est de cerner, au moindre coût d'expérimentation, le domaine d'exploitation des paramètres. C'est pour cette raison, que nous avons opté pour le plan composite centré.

Les plans composites centrés ont été proposés pour la première fois par Box, Hunter et al. [93]. Ils permettent d'estimer efficacement un modèle du 2nd degré en assignant aux facteurs plus de 2 niveaux.

Un plan composite centré se compose de trois parties principales :

1. Le plan factoriel : C'est un plan factoriel complet ou fractionnaire à deux niveaux par facteur. Il permet de former la base du plan composite à partir des variables codées à leurs niveaux hauts et bas. Selon le nombre de facteurs étudiés, les points d'expériences sont situés aux sommets de carrés ou de cubes.
2. Les points en étoile : ils sont sur les axes qui représentent les facteurs et sont situés à la même distance (α) du centre du domaine d'étude. Ces points expérimentaux permettront de définir les paramètres quadratiques du modèle mathématique (effet pouvant impliquer la courbure des surfaces de réponse). La valeur de (α) est calculée de manière à obtenir une isovariance par rotation. Ainsi, les réponses calculées avec le modèle issu du plan composite centré (PCC) auront une erreur de prévision identique pour tous les points équidistants du centre du domaine expérimental.
3. Les points au centre du domaine d'étude : Ces points dont le nombre est fixé par l'expérimentateur, permettent d'estimer la répétabilité des essais.

Le nombre total N d'essais à réaliser est la somme des :

$$\left. \begin{array}{l} - \text{essais du plan factoriel : } n_f = 2^k \\ - \text{essais du plan en étoile : } n_\alpha = 2k \\ - \text{essais au centre : } n_0 \end{array} \right\} N = n_f + n_\alpha + n_0 \quad (\text{II.1})$$

k est le nombre de paramètres ;

La valeur de α est fixée par la méthode statistique, selon le nombre de paramètres expérimentaux. Elle peut être calculée par la relation suivante :

$$\alpha = \sqrt[4]{n_f} \quad (\text{II.2})$$

Le nombre de niveaux pour chaque paramètre est donc cinq ($-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$).

Si les points en étoile sont sur les faces du cube, on parle de plan central composite à faces centrées ou CCFC. S'ils sont à l'extérieur du domaine cubique, on parle de plan central composite extérieur ou CCE. Le plan composite central est représenté sur la Figure 31.

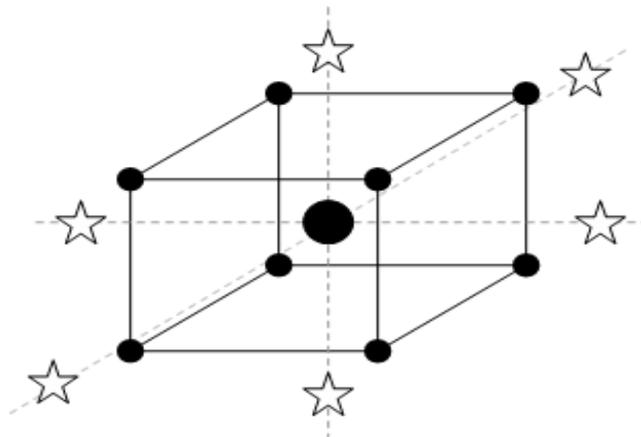


Figure 31 : Représentation du plan composite central en trois dimensions.

Le traitement des résultats est réalisé à l'aide du logiciel STATGRAPHICS Plus. La méthodologie des surfaces de réponses va permettre de modéliser les réponses étudiées sous la forme d'une équation polynomiale du second degré présentée ci-après.

$$Y = b_0 + b_i X_i + b_{ij} X_i X_j + \dots \alpha_{ij \dots n} X_i X_j \dots X_n + e \quad (\text{II.3})$$

Où :

- **Y** : représente la réponse ou critère d'optimisation étudié;
- **b₀** : représente la moyenne des réponses obtenues aux réplifications du centre du domaine expérimental;
- **b_j** : représente le nombre de variables impliquées dans le modèle;

- **b_{ij}** : sont des constantes représentant les coefficients de régression du modèle mathématique adopté. Ils ne sont pas connus et seront déterminés à partir du traitement des résultats expérimentaux;
- **X_i** : illustre les variables opératoires impliquées dans le modèle mathématique, **X** représente le niveau attribué au facteur *i* par l'expérimentateur afin de réaliser un essai;
- **e** : représente l'erreur expérimentale.

Le logiciel statistique concédera la réalisation de différentes opérations fondées sur l'analyse de la variance permettant, *in fine*, de proposer un modèle polynomial comme présenté ci-dessus.

Cette analyse de la variance concédera la détermination des divers coefficients de régression du modèle mathématique et permettra d'évaluer si une variable quantitative est significativement influente ou non.

L'analyse de la variance consiste à tester une hypothèse nulle (les moyennes sont égales entre elles) contre l'hypothèse alternative (au moins une moyenne différente). Le principe est alors de comparer la variance de diverses répétitions d'un échantillon à la variance des moyennes entre tous les échantillons.

Le rapport entre ces deux variances est appelé ratio-*F*. Cette valeur est comparée à une table statistique permettant l'acceptation ou le rejet de l'hypothèse nulle de départ. Pour chacun des paramètres, la significativité des effets linéaires, quadratiques et des interactions intervenant entre les variables est ainsi testée puis représentée sur un diagramme dit Diagramme de Pareto. Ces tests permettront de juger de la pertinence des variables.

L'adéquation du modèle par rapport aux mesures expérimentales pourra être exprimée à l'aide d'un coefficient de détermination R^2 (le modèle sera d'autant plus adapté que la valeur de R^2 sera proche de 1).

Enfin, le modèle mathématique pourra être représenté graphiquement à l'aide de surfaces de réponses permettant de visualiser, en fonction des effets des facteurs, l'évolution de la variable réponse étudiée ainsi que les zones où elle est maximale [89, 95].

II. APPLICATION A L'OPTIMISATION DE L'EVMO

L'optimisation a concerné aussi bien l'extraction de l'huile essentielle de lavande que celle d'écorces d'oranges. Les paramètres opératoires choisis sont le débit de vapeur d'eau et la puissance de chauffe par micro-ondes.

II.1. LA LAVANDE



L'extraction de l'huile essentielle de lavande par EVMO a été réalisée par une étude paramétrique suivie d'une planification des expériences. Pour tous les essais, la durée d'extraction a été fixée à 6 minutes sur la base des résultats de l'étude cinétique (Chapitre I) et la masse de matière végétale à 20g, valeur imposée par le réacteur utilisé.

II.1.1. Etude paramétrique

Cette étude va nous permettre d'évaluer l'influence des paramètres opératoires choisis sur le rendement en huile essentielle et de délimiter le domaine expérimental pour la planification des expériences.

II.1.1.1. Influence du débit de vapeur d'eau sur le rendement en HE

Les essais sont menés pour quatre débits : 4, 6, 8 et 12 g.min⁻¹ et P = 0W. Les valeurs des débits sont imposées par le dispositif expérimental. Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau XV et illustrés par la Figure 32.

Tableau XV: Influence du débit de vapeur sur le rendement en HE de lavande.

Conditions opératoires	Q (g.min ⁻¹)	R _{HE} (%)
Masse de matière végétale	4	4,55 ± 0,02
M = 20g	6	4,79 ± 0,01
Taux d'humidité	8	5,07 ± 0,02
H= (10,50 ± 0,05) %	12	4,17 ± 0,01

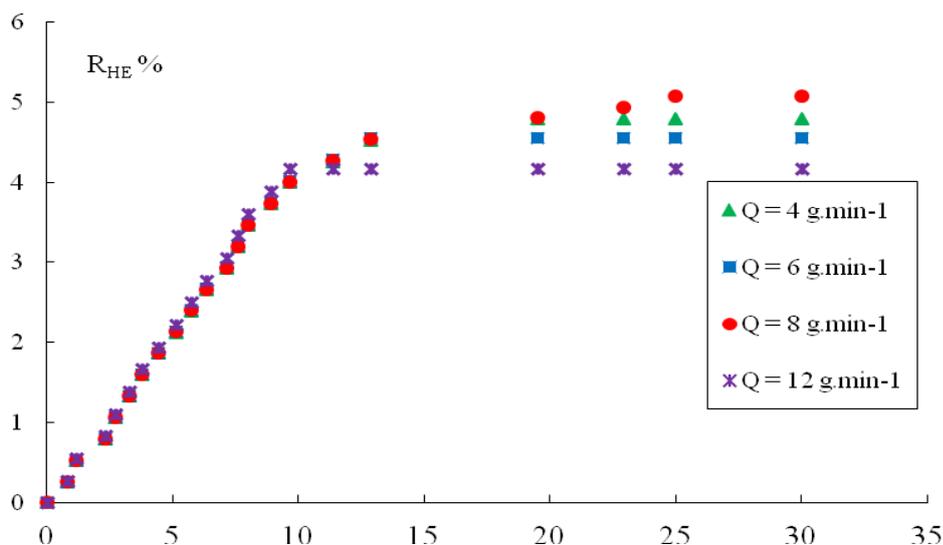


Figure 32 : Evolution temporelle du rendement en HE de lavande pour différents débits

Le rendement augmente pour atteindre sa valeur optimale pour un débit de $8 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ puis diminue. Cette diminution serait due à la création de chemins préférentiels.

Le débit de $8 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ nous permet d'obtenir le meilleur rendement. Par conséquent, nous avons adopté cette valeur pour la suite des essais.

II.1.1. 2. Influence de la puissance de chauffe sur le rendement en HE

L'influence de la puissance de chauffe du four micro-ondes a été étudiée en fixant le débit à la valeur optimale obtenue par l'étude de l'influence du débit. Cinq puissances ont été testées : 200, 300, 400, 500 et 700W. Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau XVI et illustrés par la Figure 33.

Tableau XVI: Influence de la puissance de chauffe sur le rendement en HE de lavande

Conditions opératoires	P (W)	R _{HE} (%)
Masse de matière végétale M = 20g	200	4,63 ± 0,01
	300	4,72 ± 0,01
	400	4,79 ± 0,02
Taux d'humidité H= 10,50 ± 0,05 %	500	5,21 ± 0,01
	700	4,94 ± 0,01

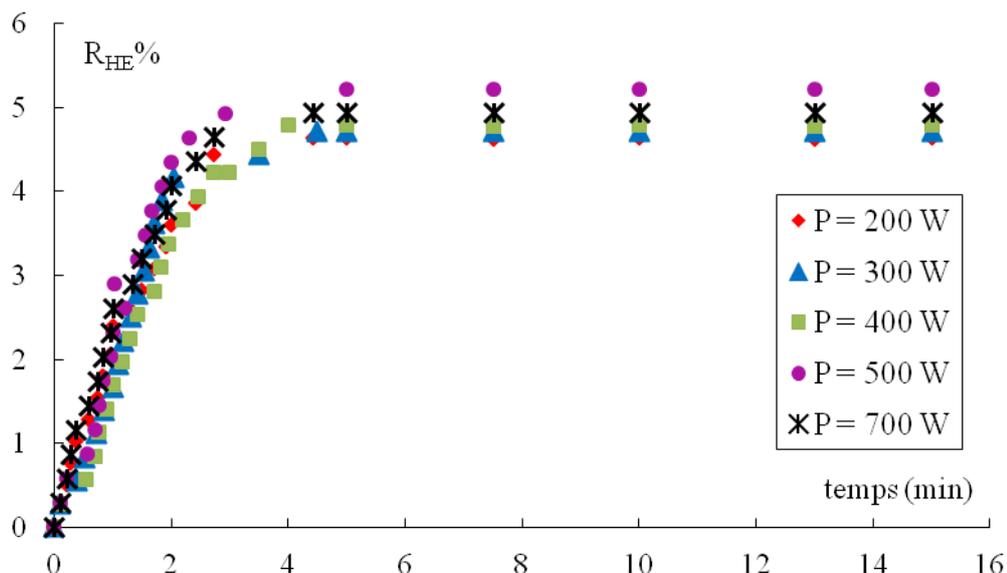


Figure 33 : Evolution temporelle du rendement en HE de lavande pour différentes puissances

Le rendement augmente pour atteindre sa valeur optimale pour une puissance de 500 W puis diminue. Cette diminution serait probablement due à une destruction de l'huile suite à la détérioration de la matière végétale.

Le meilleur rendement est obtenu pour 500 W.

Les conditions optimales de fonctionnement de notre installation obtenues par l'étude paramétrique sont :

Puissance de chauffe : **P = 500W** ; Débit de vapeur d'eau : **Q = 8 g.min⁻¹**

Afin d'évaluer d'éventuelles interactions entre les paramètres, une étude par plan d'expériences a été entreprise.

II.1.2. Planification des expériences

L'optimisation des extractions par entraînement à la vapeur assisté par micro-ondes a été étudiée à l'aide de la méthodologie des surfaces de réponses basée sur un plan composite centré (PCC)

Le domaine de variation des paramètres opératoires (Tableau XVII), représenté par un carré, a été fixé sur la base des résultats de l'étude paramétrique. Leur nombre étant de paramètre étant de deux, les essais du plan d'expériences à réaliser sont de 12, avec $\alpha = \pm 1,414$. Or l'installation expérimentale ne nous permet pas de régler les valeurs réelles des paramètres opératoires correspondant à $\pm 1,414$ ($P = 217, 2$ et $853W$) et ($Q = 13,656$ et $2,344$ g.min⁻¹) ; nous avons donc pris $\alpha = \pm 1$.

Les paramètres réponses sont le rendement en huile essentielle et les teneurs des composés majoritaires de l'huile essentielle déterminées par CG.

Tableau XVII : Domaines de variation des paramètres opératoires

Facteurs	Niveaux				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Débit ($\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$)	4	4	8	12	12
Puissance (W)	300	300	500	700	700

Le Tableau XIX regroupe les conditions opératoires des essais du plan d'expériences et les rendements en huile essentielle obtenus.

Tableau XVIII : Conditions opératoires et rendement en HE des essais du plan d'expériences

Essai	Variables réelles		Variables réduites		R_{HE} (%)
	Q ($\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$)	P (W)	A	B	
1	4	300	-1	-1	5,12
2	12	300	1	-1	4,22
3	4	700	-1	+1	4,99
4	12	700	1	+1	4,10
5	4	500	-1	0	5,12
6	12	500	+1	0	4,58
7	8	300	0	-1	4,71
8	8	700	0	+1	4,94
9	8	500	0	0	5,21
10	8	500	0	0	5,19
11	8	500	0	0	5,17
12	8	500	0	0	5,18

Les conditions optimales sont : **Q = 8 $\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$** et **P = 500 W**

En comparant les valeurs du rendement d'extraction obtenues pour les essais dont un paramètre est constant alors que le second varie, nous avons abouti aux conclusions suivantes :

- lorsque la puissance est à son niveau inférieure (-1) ou supérieure (+1), le rendement, diminue avec l'augmentation du débit ;
- lorsque la puissance est au niveau zéro, le rendement augmente pour atteindre sa valeur optimale pour un débit de $8 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ puis diminue ;

- lorsque le débit est au niveau zéro, le rendement augmente pour atteindre sa valeur optimale pour une puissance de 500W puis diminue ;
- les résultats obtenus pour les essais relatifs aux répétitions au centre montrent une bonne reproductibilité des résultats.

Les résultats du plan composite central ont été analysés par le logiciel STATGRAPHICS Plus. Cette analyse a pour but de déterminer les effets simples et quadratiques de chaque paramètre, leurs effets d'interactions ainsi que l'élaboration du modèle mathématique décrivant le comportement du système étudié.

Nous développerons dans un premier temps les résultats relatifs au rendement en huile essentielle et présenterons ceux obtenus pour les teneurs relatives des constituants majoritaires de l'huile essentielle de manière plus succincte.

II.1.2.1. Rendement en huile essentielle

- Analyse de la variance

Les résultats de l'analyse de la variance sont donnés dans le Tableau XIX. Cette analyse montre que l'effet simple le plus significatif est celui du débit de vapeur. Parmi les effets quadratiques, celui de la pression est le plus significatif suivi de celui du débit de vapeur. Rappelons qu'un effet est significatif si son val-P est inférieur à 5%.

Tableau XIX : Analyse de la variance

Paramètre	Val-P
A : Débit	0,0002
B : Puissance	0,9242
AA	0,0100
AB	0,9690
BB	0,0074

Les effets des paramètres peuvent être schématisés graphiquement à l'aide du diagramme de Pareto-Chart, Figure 34. Ils sont significatifs s'ils dépassent la valeur symbolisée par le trait vertical avec un risque d'erreur de 5%. Nous rappelons que l'effet standardisé est exprimé par l'effet observé rapporté à l'écart type estimé de l'effet.

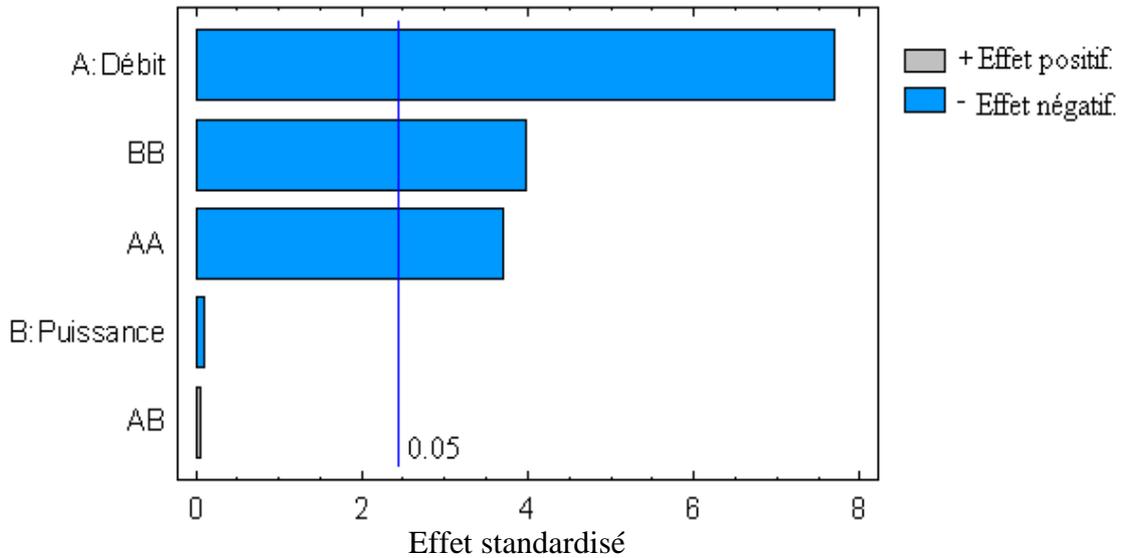


Figure 34 : Diagramme de Pareto

- Effets simples

Les effets des paramètres représentent le passage d'un paramètre de son niveau inférieur à son niveau supérieur, les autres étant à leur niveau zéro.

L'examen de la Figure 35, montre que les effets simples de la puissance et du débit influent sur le rendement. En effet, le rendement augmente pour de faibles puissances, passe par un maximum situé autour du niveau zéro puis diminue, alors qu'il varie dans le sens contraire au débit de vapeur avec un optimum situé au voisinage du niveau (-1).

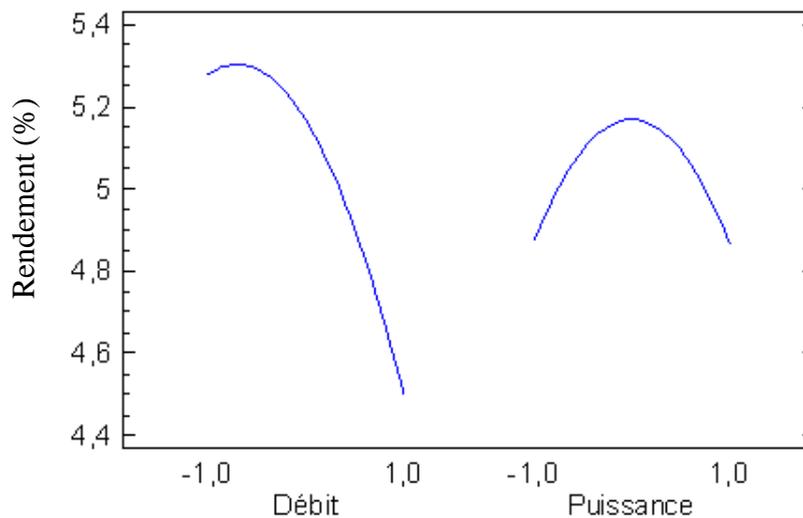


Figure 35 : Effets simples des paramètres

- Effets d'interaction

Ces effets sont significatifs lorsque les signes des pentes des courbes représentant leurs variations sont différents. Il y a donc interaction entre les paramètres considérés.

La Figure 36, illustrant la représentation graphique des effets d'interactions Débit-Puissance, révèle des pentes de même signe. Par conséquent, ces deux paramètres n'interagissent pas entre eux.

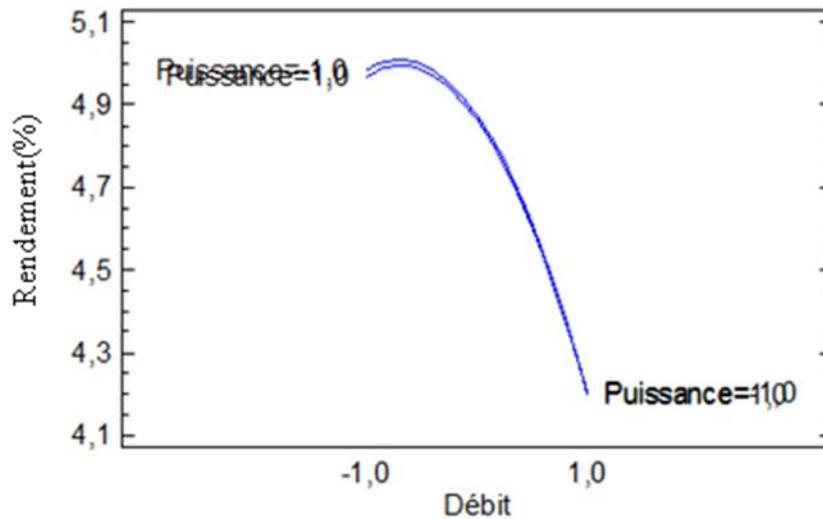


Figure 36 : Effets d'interactions Débit - Puissance

- **Coefficient de corrélation R^2**

Le coefficient de corrélation R^2 indique la qualité de l'ajustement des estimations de l'équation de régression. Il est égal à **94,53%**, ce qui signifie que le modèle décrit bien le système étudié dans le domaine expérimental considéré.

- **Détermination du modèle mathématique**

Le traitement mathématique des résultats par le logiciel STATGRAPHICS Plus nous a permis d'aboutir aux modèles suivants :

➤ **En coordonnées réduites :**

$$R_{HE} = 5,16833 - 0,388333 A - 0,005 B - 0,28 AA + 0,0025 AB - 0,3 BB$$

Où **A** est la variable réduite relative au débit de vapeur et **B** la variable réduite relative à la puissance de chauffe par micro-ondes.

➤ **En variables réelles:**

$$R_{HE} = 2,975 + 0,181354 Q + 0,00745 P - 0,0175 QQ + 0,000003125 QP - 0,0000075 PP$$

Les effets simple du débit et d'interaction Puissance – débit n'étant pas significatifs, les équations précédentes peuvent être réduites à :

➤ **En coordonnées réduites :**

$$R_{HE} = 5,16833 - 0,388333 A - 0,28 AA - 0,3 BB$$

➤ **En variables réelles:**

$$R_{HE} = 2,975 + 0,181354 Q - 0,0175 QQ - 0,0000075 PP$$

L'ajustement du modèle peut être vérifié en comparant les valeurs expérimentales obtenues avec les valeurs prédites par les modèles. Plus les valeurs sont proches, plus l'ajustement du modèle est satisfaisant et donc le modèle décrit bien le comportement du système étudié. Ces valeurs sont regroupées dans le Tableau XX.

Tableau XX : Valeurs expérimentales et calculées du rendement

Essai	Rendement	
	R _{HE} (%)	
	Valeur expérimentale	Valeur calculée
1	5,12	5,27
2	4,22	4,20
3	4,99	4,97
4	4,10	4,20
5	5,12	4,98
6	4,58	4,50
7	4,71	4,87
8	4,94	4,86
9	5,21	5,17
10	5,19	5,17
11	5,17	5,17
12	5,18	5,17

La comparaison des valeurs expérimentales avec celles prédites par le modèle montre qu'elles sont proches. Par conséquent, nous pouvons conclure que l'ajustement du modèle est bon et qu'il décrit bien le comportement du système étudié dans le domaine expérimental choisi.

Le logiciel utilisé nous a également permis de déterminer les conditions opératoires optimales pour chaque variable réponse (Tableau XXI). Ces valeurs ont été comparées aux valeurs expérimentales.

Tableau XXI : Conditions opératoires optimales expérimentales et calculées à partir du modèle mathématique

Réponse	Conditions Opératoire Optimales	
	Expérimentales	calculées
R_{HE} (%)	(8 g.min ⁻¹ ; 500 W) $R_{HE} = 5,21$	(5,22 g.min ⁻¹ ; 498 W) $R_{HE} = 5,30$

Nous remarquons que les valeurs des conditions optimales théoriques et expérimentales sont comparables pour la puissance, alors que pour le débit de vapeur, la valeur théorique est plus faible, ce qui suppose que la valeur expérimentale est surévaluée.

- **Les surfaces de réponse**

Les surfaces de réponse sont des représentations graphiques à trois dimensions de la réponse du système étudié en fonction d'un paramètre, le deuxième étant fixé à son niveau zéro (central). Ce type de représentation permet de rechercher des régions expérimentales pour lesquelles la réponse est optimale.

La Figure 37 représentant les variations du rendement en fonction du couple Débit-Puissance montre que le rendement optimal se situe dans la zone de l'espace correspondant aux valeurs du centre du domaine expérimental de coordonnées (0, 0) en variables réduites et (8 g.min⁻¹, 500 W) en variables réelles, plus exactement au point (-0,69; 0) de l'espace des variables réduites, correspondant au point (5,22 g.min⁻¹; 498 W) de l'espace des variables réelles du domaine expérimental.

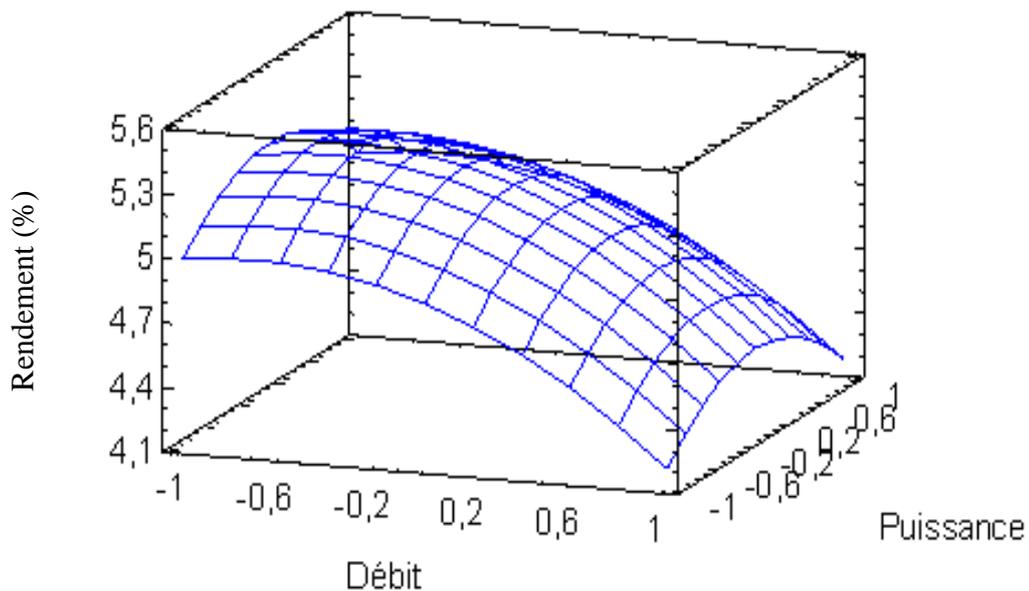


Figure 37 : Surface de réponse correspondant au couple Débit-Puissance

II.1.2.2. Teneur relative des composés majoritaires de l'HE

Les résultats des analyses par CG des échantillons de l'huile essentielle de lavande extraite par EVMO relatives aux constituants majoritaires correspondant aux 12 essais programmés par le plan composite central, sont donnés dans le Tableau XXII.

Nous remarquons que la composition chimique de l'huile essentielle de lavande est influencée par les conditions opératoires. En effet, les teneurs relatives des composés majoritaires considérées varient d'un essai à l'autre.

Ce résultat est très intéressant, dans la mesure où il nous permet de réaliser des extractions sélectives d'un composé donné en choisissant les conditions expérimentales permettant de l'obtenir en pourcentage élevé dans l'huile essentielle.

- Analyse de la variance

Les résultats de l'analyse de la variance (Tableau XXIII) montrent que les effets significatifs sont l'effet simple du débit pour l'extraction du 1,8-cinéole, du camphre et de l'acétate de linalyle, et l'effet d'interaction Débit – Puissance pour l'extraction du bornéol.

Par ailleurs, aucun des effets simples, quadratiques ou d'interaction ne semblent avoir d'influence sur l'extraction du linalool et du térpinène-4-ol dans le domaine expérimental étudié.

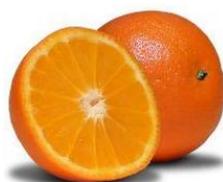
Tableau XXII : Teneurs relatives des composés majoritaires de l'HE de lavande relatives aux essais du PCC

Essai	Débit (g.min ⁻¹)	Puissance (W)	1,8-cinéole (%)	Linalool (%)	Camphre (%)	Bornéol (%)	Acétate de linalyle (%)	Térpinène-4-ol (%)
1	<u>-1</u>	<u>-1</u>	<u>5,05</u>	31,24	7,65	4,81	24,45	5,83
2	<u>1</u>	<u>-1</u>	2,85	32,66	7,58	<u>5,36</u>	26,46	<u>6,36</u>
3	<u>-1</u>	<u>+1</u>	4,68	30,98	<u>8,25</u>	5,20	24,55	5,71
4	<u>1</u>	<u>1</u>	4,03	29,77	7,06	4,30	<u>26,70</u>	6,22
5	-1	0	4,93	31,12	8,02	5,12	24,33	6,08
6	+1	0	2,84	32,28	7,27	5,12	26,60	6,19
7	0	-1	2,62	31,73	6,92	5,15	26,35	6,05
8	<u>0</u>	<u>+1</u>	3,27	<u>32,99</u>	7,55	5,16	26,27	6,25
9	0	0	4,50	29,67	8,00	5,05	25,19	4,99
10	0	0	4,57	29,04	8,02	5,04	25,41	5,30
11	0	0	4,62	29,68	8,14	5,12	25,22	5,27
12	0	0	4,37	29,40	8,02	5,06	25,44	5,18

Tableau XXIII : Résultats de l'analyse de la variance des constituants majoritaires de l'HE de lavande

Variable Réponse	Val-P					
	1,8-cinéole	Linalool	Camphre	Bornéol	Acétate de linalyle	Térpinène-4-ol
A:Débit	<u>0,0196</u>	0,6926	<u>0,0359</u>	0,3490	<u>0,0290</u>	0,2798
B:Puissance	0,3851	0,5946	0,3817	0,0990	0,1946	0,9538
AA	0,4875	0,5533	0,9954	0,3078	0,1985	0,1332
AB	0,2699	0,3740	0,1153	<u>0,0017</u>	0,1394	0,9756
BB	0,1484	0,2069	0,0699	0,5160	0,4909	0,1240

Notre objectif étant d'optimiser le fonctionnement de notre installation, nous recommandons donc l'utilisation des conditions obtenues théoriquement car plus faibles, ce qui aura pour conséquence une diminution de la consommation énergétique de l'installation.



II.2. L'ORANGE

L'optimisation de l'extraction de l'huile essentielle d'écorces d'orange a été réalisée selon la même procédure adoptée pour la lavande. Pour tous les essais, la masse de la matière végétale a été fixée à 100g (valeur imposée par le réacteur) et la durée d'extraction à 6 minutes (valeur fixée sur la base des résultats de l'étude cinétique (Chapitre I)).

II.2.1. Etude paramétrique

Elle a porté sur l'étude de l'influence du débit de vapeur et de la puissance de chauffe par micro-ondes sur le rendement en huile essentielle.

II.2.1.1. Influence du débit de vapeur d'eau sur le rendement en HE

Les essais ont été menés pour différents débits 2 ; 4 ; 6 ; 8 ; 10 ; 14 et 18 g.min⁻¹, P = 0W. Les résultats sont regroupés dans le Tableau XXIV. L'évolution du rendement d'extraction, en fonction du temps, est illustrée par la Figure 38.

Tableau XXIV : Influence du débit de vapeur d'eau sur le rendement en HE

Débit (g.min ⁻¹)	Rendement en huile R _{HE} (%)	Temps optimal d'extraction (min)
2	5,10 ± 0,07	190
4	5,20 ± 0,02	190
6	5,40 ± 0,07	140
8	5,41 ± 0,07	131
10	5,41 ± 0,07	80
14	5,46 ± 0,07	60
18	5,46 ± 0,07	80

Nous remarquons que le rendement en huile essentielle n'est pas très influencé par le débit de vapeur. Cependant, si l'on observe les variations du rendement en fonction du temps (Figure 38), nous constatons que la cinétique d'extraction est affectée par ce paramètre. Elle est plus lente pour les faibles valeurs de débit. Ceci peut être dû au fait qu'il n'y a pas assez de vapeur d'eau et que l'entraînement de l'huile essentielle est donc plus lent. Lorsque le débit augmente, la quantité de vapeur d'eau est plus importante, le contact matière végétale – vapeur d'eau est amélioré et par conséquent la cinétique d'extraction est plus rapide. Nous avons choisi comme valeur optimale 14 g. min⁻¹, valeur relative à la cinétique la plus rapide (permettant un gain considérable en temps d'extraction).

Remarque :

- Le temps optimal correspond au temps où la plante est épuisée de son huile. Il est déterminé graphiquement à partir du tracé des courbes cinétiques.
- Le débit maximal délivré par l'installation utilisée étant de $18 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$; des valeurs supérieures à celle-ci n'ont pu être testées.

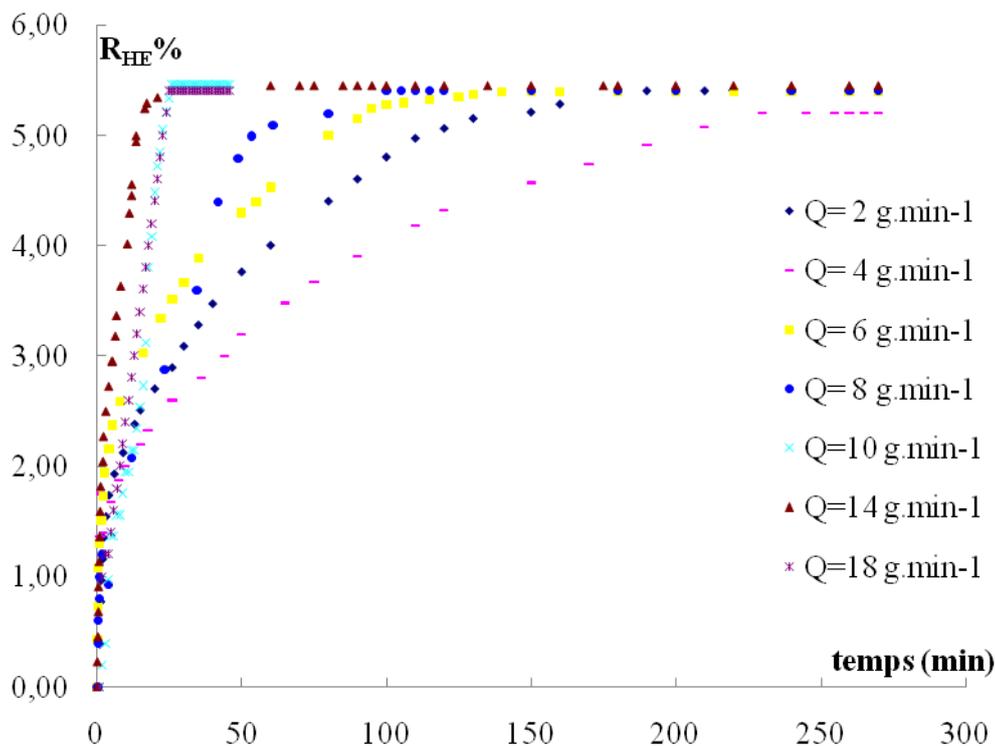


Figure 38 : Evolution temporelle du rendement en HE d'orange pour différents débits

II.2.1.2. Influence de la puissance sur le rendement en HE

S'agissant du deuxième paramètre opératoire à savoir la puissance de chauffe par micro ondes, cinq valeurs ont été testées : 200, 300, 400, 500 et 700W. Le Tableau XXV regroupe les rendements. L'évolution du rendement en fonction de la puissance est représentée par la Figure 39.

Tableau XXV : Influence de la puissance sur le rendement en HE

Puissance (W)	Rendement en huile R_{HE} (%)	Constantes de vitesses (min^{-1})	Temps optimal d'extraction (min)
200	$5,40 \pm 0,07$	0,62	8,3
300	$5,42 \pm 0,07$	0,64	8,0
400	$5,44 \pm 0,07$	0,72	7,3
500	$5,45 \pm 0,07$	0,90	6,0
700	$5,45 \pm 0,07$	0,90	6,0

Comme pour le débit de vapeur, nous constatons que la puissance de chauffe influe sur la cinétique d'extraction. L'augmentation de la puissance de chauffe par micro-ondes induit une pression interne dans les glandes ayant pour conséquence leur destruction et la libération de l'huile essentielle qui est alors plus accessible à la vapeur. Cela se traduit par une augmentation de la vitesse d'extraction. La cinétique la plus rapide correspond à une puissance de 500 W, nous avons donc choisi cette valeur comme puissance optimale.

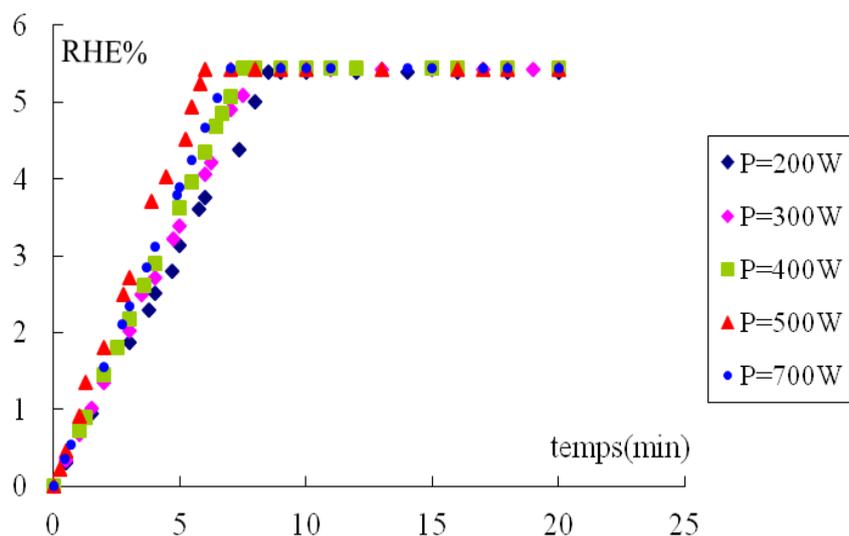


Figure 39 : Evolution temporelle du rendement en HE d'orange pour différentes puissances

Les conditions optimales obtenues par l'étude paramétrique sont les suivantes :

Débit de vapeur d'eau : $Q = 14 \text{ g.min}^{-1}$; Puissance de chauffe : $P = 500\text{W}$

Comme pour la lavande, nous avons entrepris une étude par planification des expériences pour évaluer les interactions entre les paramètres opératoires.

II.2.2. Etude par plan d'expériences

L'optimisation de l'extraction par EVMO de l'huile essentielle d'orange a été menée selon la même méthodologie que celle appliquée à l'huile essentielle de lavande avec $\alpha = \pm 1$ au lieu de $\alpha = \pm 1,414$, car l'installation expérimentale ne nous permet pas de régler les valeurs réelles des paramètres opératoires correspondant à $\pm 1,414$ ($P = 217, 2$ et 853W) et ($Q = 8,344$ et $19,60 \text{ g.min}^{-1}$).

Pour tous les essais, la durée d'extraction a été fixée à 6 minutes et la masse de matière végétale à 100g.

Le domaine de variation des paramètres fixé sur la base des résultats de l'étude paramétrique, est donné dans le Tableau XXVI.

Tableau XXVI : Domaine de variation des paramètres opératoires

Facteurs	Niveaux				
	- α	-1	0	+1	- α
Débits (g.min ⁻¹)	10	10	14	18	18
Puissance (W)	300	300	500	700	700

Les conditions opératoires ainsi que les résultats des différents essais sont consignés dans le Tableau XXVII.

Tableau XXVII : Conditions opératoires, rendement en HE, constante de vitesse, temps optimal et teneur relative en limonène

Essais	Variables réelles		Variables réduites		R _{HE} (%)	K _v (min ⁻¹)	Temps optimal (min)	Limonène (%)
	Q (g.min ⁻¹)	P (W)	A	B				
1	10	300	-1	-1	5,40	0,54	10,3	91,53
2	18	300	+1	-1	5,41	0,71	7,5	92,86
3	10	700	-1	+1	5,41	0,56	9,2	88,14
4	18	700	+1	+1	5,44	0,80	6,5	87,01
5	10	500	-1	0	5,42	0,58	8,2	92,71
6	18	500	+1	0	5,45	0,81	6,5	89,10
7	14	300	0	-1	5,43	0,64	8,0	96,39
8	14	700	0	+1	5,45	0,90	6,3	91,46
9	14	500	0	0	5,45	0,90	6,0	96,03
10	14	500	0	0	5,46	0,90	6,0	96,40
11	14	500	0	0	5,45	0,90	6,0	96,14
12	14	500	0	0	5,46	0,90	6,0	96,10

Nous constatons que les valeurs du rendement en huile essentielle sont du même ordre de grandeur, ce qui signifie que quelles que soient les conditions opératoires fixées, nous obtenons la même quantité d'huile. Nous avons donc déterminé les constantes de vitesse pour tous les essais pour voir si la cinétique d'extraction est affectée par les conditions opératoires et confirmer le résultat trouvé par l'étude paramétrique.

Les constantes de vitesses calculées varient selon les conditions opératoires utilisées, ce qui confirme les résultats de l'étude paramétrique. En effet, le passage des deux paramètres opératoires de leurs niveaux inférieurs à leurs niveaux supérieurs entraîne une augmentation de la constante de vitesse. Nous pouvons donc conclure que c'est la cinétique d'extraction qui est le plus affectée dans l'extraction de l'huile essentielle d'orange par EVMO.

L'extraction du limonène est également influencée par les conditions opératoires. La teneur de ce composé augmente lorsque le débit varie de son niveau inférieur à son niveau supérieur et diminue dans le cas du passage de la pression de son niveau inférieur à son niveau supérieur.

Les résultats obtenus pour les essais au centre montrent une bonne reproductibilité des essais.

Les conditions optimales correspondent aux coordonnées des essais au centre:

Débit de vapeur d'eau : $Q = 14 \text{ g.min}^{-1}$; Puissance de chauffe : $P = 500\text{W}$

Les résultats de l'analyse par le logiciel STATGRAPHICS Plus des deux paramètres réponses sont consignés dans le Tableau XXVIII.

Tableau XXVIII : Analyse de la variance et coefficient de corrélation pour le rendement et la teneur en limonène

Paramètre	Val-P	
	Rendement	Limonène
A:Débit	0,0012	0,1974
B:Puissance	0,0027	0,0009
AA	0,0003	0,0002
AB	0,0924	0,2472
BB	0,0012	0,0347
R ² (%)	96,93	95,71

L'analyse de la variance montre que pour le rendement, tous les effets sont significatifs à l'exception de l'effet conjugué Débit - Puissance.

Concernant la teneur relative en limonène, les effets significatifs sont l'effet simple de la puissance et les effets quadratiques des deux paramètres opératoires.

Les coefficients de corrélation R² sont proches de 1, ce qui signifie que les modèles proposés décrivent bien le système étudié dans le domaine expérimental étudié.

Les équations de ces modèles sont données ci-dessous :

➤ **En coordonnées réduites :**

$$R_{HE} = 5,45583 + 0,0116667A + 0,01B - 0,0225AA + 0,005AB - 0,0175BB$$

$$\% \text{Limonène} = 95,9126 - 0,5685A - 2,3635B - 4,62125AA - 0,61575AB - 1,59925BB$$

➤ **En variables réelles :**

$$R_{HE} = 5,04274 + 0,0397917 Q + 0,000408929 P - 0,00142857 QQ + 0,00000625 QP - 0,0000004464 PP$$

$$\% \text{Limonène} = 31,7861 + 8,33319Q + 0,0389863P - 0,288945QQ - 0,000769688QP - 0,0000400281PP$$

En ne tenant pas compte des effets non significatifs, ces équations se réduisent à :

➤ **En coordonnées réduites :**

$$R_{HE} = 5,45583 + 0,0116667A + 0,01B - 0,0225AA - 0,0175BB$$

$$\% \text{Limonène} = 95,9126 - 2,3635B - 4,62125AA - 1,59925BB$$

➤ **En variables réelles :**

$$R_{HE} = 5,04274 + 0,0397917 Q + 0,000408929 P - 0,00142857 QQ - 0,0000004464 PP$$

$$\% \text{Limonène} = 31,7861 + 0,0389863P - 0,288945QQ - 0,0000400281PP$$

Les valeurs expérimentales et prédites par les modèles pour les deux réponses (Tableau XXIX), sont comparables. Nous pouvons conclure que l'ajustement de ces modèles est bon et qu'ils décrivent bien le comportement du système dans le domaine expérimental choisi.

Tableau XXIX : Valeurs expérimentales et calculées du rendement et de la teneur en limonène

Essai	Rendement		% Limonène	
	R _{HE} %			
	exp	calculée	exp	calculée
1	5,40	5,40	92,86	92,10
2	5,41	5,41	91,46	91,95
3	5,41	5,41	96,03	95,91
4	5,44	5,44	96,10	95,91
5	5,42	5,42	96,14	95,91
6	5,45	5,45	96,40	95,91
7	5,43	5,43	87,01	86,14
8	5,45	5,44	89,10	90,72
9	5,45	5,45	88,14	88,51
10	5,46	5,45	96,39	96,68
11	5,45	5,45	91,53	92,01
12	5,46	5,45	92,71	91,86

Les conditions optimales obtenues expérimentalement et calculées à partir du modèle mathématique par le logiciel sont regroupées dans le Tableau XXX.

Tableau XXX : Conditions opératoires optimales expérimentales et calculées relatives au rendement, et à la teneur en limonène

Réponse	Conditions Opératoires Optimales	
	Expérimentales	Calculées
R _{HE} (%)	(14 g.min ⁻¹ ; 500 W)	(15,18 g.min ⁻¹ ; 566 W) R _{HE}
	R _{HE} = 5,46 %	R _{HE} = 5,46 %
(%)	(14 g.min ⁻¹ ; 500 W)	(13,95 g.min ⁻¹ ; 353 W)
Limonène	Teneur = 96,40 %	Teneur = 96,79 %

Nous remarquons que les valeurs des conditions optimales théoriques et expérimentales sont légèrement différentes. Dans ce cas également, le choix doit tenir compte de la consommation énergétique de l'installation.

CONCLUSION

Ce chapitre a été consacré à l'optimisation de l'entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes. Les résultats obtenus pour l'extraction de l'huile essentielle de lavande ont mis en évidence l'influence des conditions opératoires aussi bien sur le rendement que sur la composition de l'huile. Alors que dans le cas de l'orange, les conditions opératoires influent beaucoup plus sur la cinétique d'extraction de l'huile et de son composé majoritaire que sur le rendement en huile. Nous pensons que ce résultat pourrait être lié à la nature de la plante qui, rappelons le, a été utilisée à l'état frais (taux d'humidité égal à 75%). Cette hypothèse doit être confirmée ou infirmée par une étude plus approfondie sur d'autres matrices fraîches.

Les résultats de cette étude ont été modélisés sous forme d'équations pouvant prédire avec une bonne précision le comportement du système étudié dans le domaine expérimental choisi. Des conditions opératoires pour un fonctionnement optimal de notre installation ont été déterminées. Cependant, un compromis dans le choix de ces conditions doit être adopté pour une rentabilité effective de l'installation.

CHAPITRE III
COMPREHENSION DES PHENOMENES

INTRODUCTION

La maîtrise et l'optimisation d'un procédé industriel passe obligatoirement par la connaissance des phénomènes intervenant au cours des différents processus. Aussi la modélisation de ces phénomènes est essentielle. Plusieurs travaux relatifs à la modélisation de l'extraction des huiles essentielles sont rapportés dans la littérature.

Denny [96] a analysé les processus de diffusion des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita* et *polybractea Eucalyptus*, et a proposé une méthodologie d'optimisation du temps d'extraction pour chaque plante.

Morin et al. [97] ont proposé une cinétique du premier ordre pour modéliser l'extraction de *Lavandula angustifolia* et Benyoussef et al. [98] ont étudié l'extraction de l'huile essentielle des fruits de coriandre et ont proposé deux modèles, l'un basé sur la diffusion et l'autre sur une cinétique de premier ordre. Ils ont constaté que ce dernier modèle décrit mieux les résultats expérimentaux.

I. MODELISATION DES DONNEES CINETIQUES

Dans le cadre d'une meilleure compréhension des phénomènes mis en jeux lors de l'extraction de l'huile essentielle d'écorces d'orange par EVMO et EV, nous avons essayé de modéliser le mécanisme de transfert de matière de la phase solide vers la phase liquide en nous basant sur les travaux relatés dans la littérature [99, 100].

Plusieurs hypothèses ont été émises:

- l'huile essentielle est assimilée à un soluté unique, dans ce cas le limonène vu qu'il représente plus de 95% de l'huile;
- la pression et la température sont maintenues constantes, le long du réacteur;
- le système se comporte comme un lit fixe;
- les particules solides sont assimilées à des sphères poreuses isotropiques ;
- le transfert de masse se fait entre les particules solides (structure poreuse) et le gaz (vapeur d'eau) ;
- la répartition initiale en huile essentielle est homogène;
- La condensation interne de la vapeur et sa diffusion à l'intérieur des particules solides sont négligeables.

I.1. Bilan matière sur l'huile essentielle

Le bilan matière sur le réacteur peut s'écrire de la manière suivante :

Entrée - Sortie = Accumulation

$$E - S = A$$

$$G_v y_0 - G_v y(t) = \frac{dm}{dt} \quad (\text{III.1})$$

Avec :

G_v : débit de vapeur (kg.s^{-1}),

y_0 : composition massique initiale en huile essentielle dans la phase vapeur,

$y(t)$: composition massique en huile essentielle dans la phase vapeur à un instant t ,

m : masse d'huile essentielle contenue dans la matière végétale

A l'entrée de la colonne, la vapeur d'eau est pure, d'où $y_0 = 0$, l'équation (III.1) s'écrit

$$y(t) = - \frac{1}{G_v} \frac{dm}{dt} \quad (\text{III.2})$$

Soient

M : la masse de la matière végétale

M_i : la masse de l'inerte dans la matière végétale (à l'exclusion de l'huile essentielle)

à chaque instant t , on peut écrire que :

$$M_i = M (1 - x(t)) \quad (\text{III.3})$$

Avec : $x(t)$: la fraction massique d'HE dans la matière végétale à l'instant t .

$$M = \frac{M_i}{1-x(t)} \quad (\text{III.4})$$

La masse instantanée d'HE dans la matière végétale le long de la colonne d'extraction, $m(t)$ s'exprime alors :

$$m(t) = M x(t) + \varepsilon \rho V_c y(t) \quad (\text{III.5})$$

En remplaçant (M) par son expression (équation (III.4)) dans l'équation (III.5), et après dérivation on obtient :

$$dm = M_i \frac{dx}{(1-x)^2} + \varepsilon \rho V_c dy \quad (\text{III.6})$$

avec

ε : Degré de vide du réacteur

ρ : Masse volumique de la vapeur d'eau (Kg.m^{-3})

V_c : Volume de la colonne (m^3)

La combinaison de l'équation (III.2) et (III.6) donne l'expression du bilan de matière en fonction de x :

$$-G_v y(t)dt = M_i \frac{dx}{(1-x)^2} + \varepsilon \rho V_c dy \quad (\text{III.7})$$

L'intégration de l'équation (III.7) entre l'instant initial et une durée d'épuisement (t) nous permet de déterminer $x(t)$ en fonction de la fraction massique $y(t)$ de l'huile essentielle dans la phase vapeur :

$$\int_0^t y(t)dt = -\frac{M_i}{G_v} \int_{x_0}^x \frac{dx}{(1-x)^2} - \frac{1}{G_v} \varepsilon \rho V_c \int_{y_0}^y dy \quad (\text{III.8})$$

avec x_0 : fraction massique initiale d'HE , égale à la valeur de la fraction maximale contenue dans la matière végétale : $x_0 = 0,0136$ (déterminée expérimentalement)

L'équation (III.8) devient :

$$\int_0^t y(t)dt = -\frac{M_i}{G_v} \left(\frac{1}{1-x} - \frac{1}{1-x_0} \right) - \frac{1}{G_v} \varepsilon \rho V_c (y - y_0) \quad (III.9)$$

Sachant que :

$$M_i = M_0(1 - x_0) \quad (III.10)$$

M_0 étant la masse initiale de matière végétale au temps initiale $t=0$

L'équation (III.9) s'écrit alors:

$$\int_0^t y(t)dt = -\frac{M_0}{G_v} \left(\frac{1-x_0}{1-x} - 1 \right) - \frac{1}{G_v} \varepsilon \rho V_c (y - y_0) \quad (III.11)$$

Par la suite l'expression de $x(t)$ est sous la forme suivante :

$$x(t) = 1 - \frac{1-x_0}{1 - \frac{G_v}{M_0} \int_0^t y(t)dt - \frac{\varepsilon \rho V_c}{M_0} (y-y_0)} \quad (III.12)$$

La cinétique d'extraction de l'huile essentielle transférée dans la phase vapeur peut être exprimée en fonction d'un coefficient global de transfert de matière et la différence entre la fraction massique de l'huile dans la phase liquide (x) en équilibre avec sa fraction massique dans phase gazeuse (x^*), tel que :

$$-\frac{dm}{dt} = K\Omega(x - x^*) \quad (III.13)$$

avec :

K : Coefficient de transfert de matière global ($g \cdot m^{-2} \cdot min^{-1}$)

Ω : Surface d'échange entre la matière végétale et la vapeur d'eau (m^2)

x^* : Fraction d'HE dans la matière végétale en équilibre avec celle dans la phase vapeur.

La détermination de x^* est inaccessible, on est alors amené à poser x^* comme étant proportionnel à la tension de vapeur de l'HE à une température donnée. Or l'huile essentielle d'orange est composée de plus 95% de limonène, on peut donc assimiler sa pression de vapeur à celle de ce dernier et écrire que :

$$x^* = \alpha P^0 \quad (III.14)$$

où α est un paramètre de proportionnalité entre la fraction du limonène dans la matière végétale en équilibre avec celle dans la phase vapeur et P^0 la pression de vapeur du limonène à la température T .

En remplaçant x^* par son expression dans l'équation III.13 on obtient :

$$-\frac{dm}{dt} = K\Omega(x - \alpha P^0) \quad (III.15)$$

d'où à partir de l'équation (III.6) et (III.15) on peut écrire :

$$M_i \left(\frac{1}{(1-x)^2} \frac{dx}{dt} \right) + \varepsilon \rho V_c \frac{dy}{dt} = -K\Omega(x - \alpha P^0) \quad (III.16)$$

En posant : $a = \frac{\Omega}{M_0}$ défini comme la surface spécifique d'échange entre la matière végétale et la vapeur ($m^2 \cdot kg^{-1}$) et (s) défini par ($s = \varepsilon \rho V_c / M_0$) en kg de vapeur par kg de matière végétale. L'équation (III.16) peut être réécrite comme suit :

$$\frac{1-x_0}{(1-x)^2} \frac{dx}{dt} + s \frac{dy}{dt} = -Kax + \alpha KaP^0 \quad (\text{III.17})$$

L'équation (III.17) peut être simplifiée, on posant que x et x_0 sont négligeables par rapport à 1. x_0 est la valeur maximale que peut prendre x , elle est déterminée expérimentalement. Dans notre cas, x_0 est égal à 0,0136.

$$\frac{dx}{dt} + \frac{s}{G_S} \frac{dy}{dt} = -\frac{Ka}{G_S} x + \frac{\alpha Ka}{G_S} P^0 \quad (\text{III.18})$$

Les valeurs de Ka et α ont été déterminés par la conjugaison des résultats expérimentaux avec l'équation (III.17). En effet, la représentation graphique du terme de gauche de cette équation en fonction de x , se traduit par une droite de pente $-Ka$ et d'ordonnée à l'origine αKaP^0 . est prise égale à celle du $P_{\text{limonène}}^0 = 0,093325$ bar.

I.2. Détermination du coefficient de transfert de masse K et du paramètre de proportionnalité α

La représentation graphique de l'équation (III.17) combinée avec nos résultats expérimentaux nous a permis de déterminer la valeur de la tangente (Ka).

Nous remarquons que le coefficient global de transfert de matière (K) (Tableau XXXI) obtenu pour l'EVMO est quatre fois plus grand que celui obtenu pour l'EV. Le paramètre de proportionnalité (α), est aussi plus important dans le cas de l'extraction par EVMO.

Tableau XXXI : Valeurs des coefficients de transfert de matière globaux et des paramètres de proportionnalité (α)

Procédé	EVMO	EV
K (g.m ² .s ⁻¹)	25,703	6,42
α (bar ⁻¹)	0,031	0,027

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus lors de la cinétique d'extraction (Figure 29), où on avait constaté que l'extraction de l'huile essentielle d'orange par EVMO est plus rapide que celle par EV.

Pour mieux illustrer la rapidité de cette nouvelle technique, les données expérimentales obtenues durant la cinétique d'extraction sont converties en taux d'extraction N (g HE extrait min⁻¹m⁻²), N s'exprime comme suit :

$$N = \frac{-M_i \Delta x}{\Omega \Delta t} \quad (\text{III.18})$$

La Figure 40 illustre le taux d'extraction N en fonction de la fraction massique en huile essentielle obtenue par EVMO et EV.

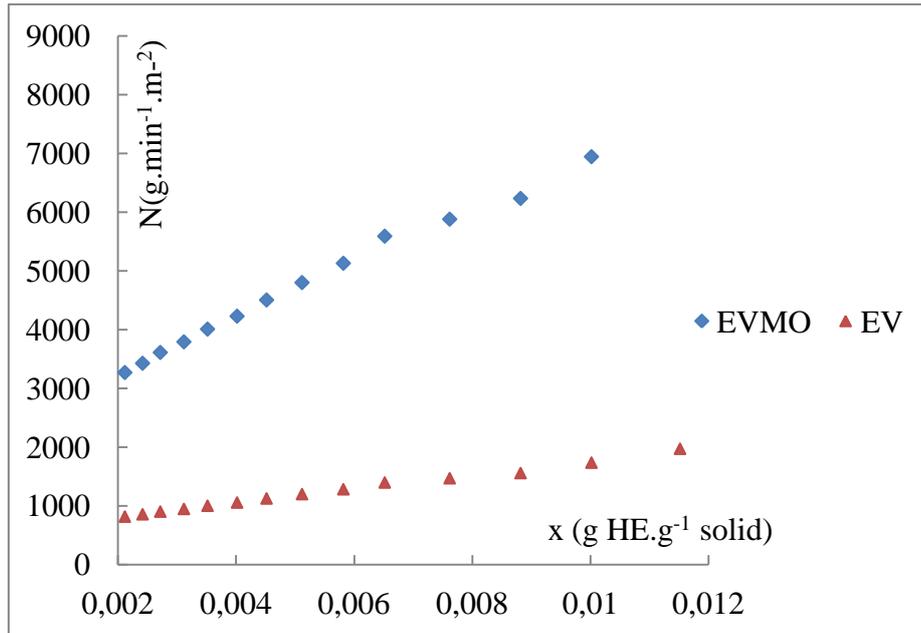


Figure 40. Taux d'extraction en fonction de la fraction massique en huiles essentielles obtenue par EVMO et EV.

L'examen de cette figure montre que le taux d'extraction de l'huile essentielle d'orange par EVMO est nettement plus important et que le processus s'effectue en une seule étape.

Alors que pour l'extraction par EV met on évidence deux étapes de pentes voisines :

- Une première étape correspondant à la partie de la courbe de plus grande pente suggère que l'huile essentielle est facilement accessible à la vapeur, ayant pour conséquence une augmentation rapide du rendement. C'est la phase d'extraction de l'huile essentielle superficielle.
- La deuxième partie où la pente est légèrement plus faible, relative à l'extraction de l'huile essentielle située dans les sites endogènes.

Ces résultats sont en accord avec les observations au microscope électronique à balayage de la matière végétale traitée par ces deux procédés.

CONCLUSION

La synthèse des diverses études réalisées sur l'effet de l'extraction sous micro-ondes en terme de cinétique d'extraction, de morphologie des écorces d'oranges traitées, de modélisation de la cinétique d'extraction, a permis de répondre à la principale question qui se pose tout au long de cette étude (pourquoi les opérations d'extraction de l'huile essentielle d'oranges sont accélérées par EVMO ?) et a fait ressortir un mécanisme spécifique à ce procédé EVMO.

CHAPITRE IV
APPLICATIONS

Les huiles essentielles trouvent des applications dans divers domaines tel que l'industrie du parfum qui est le débouché principal mais aussi dans les industries chimiques et pharmaceutiques, en particulier dans le domaine des antiseptiques externes et plus généralement pour l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à être administrées par voie orale. Elles sont également utilisées en phytothérapie pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne et fongique.

Dans les domaines agro-alimentaire et phytosanitaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient être employés comme agents de protection contre les phénomènes d'oxydations, les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires.

Pour compléter notre étude, nous avons essayé d'envisager une application des huiles essentielles de lavande et d'orange extraites par EVMO. Pour cela, nous nous sommes proposés d'évaluer leurs activités antimicrobiennes (antibactérienne et antifongique) et antioxydante.

A. ACTIVITE ANTIMICROBIENNE

INTRODUCTION

L'utilisation et la généralisation des antibiotiques à la fin des années 1940, a aidé les médecins à vaincre les maladies infectieuses qui ravageaient l'humanité.

Dans la crainte qu'un mauvais usage de la pénicilline ne conduise à sélectionner et à propager des formes mutantes de bactéries résistantes au médicament, le bactériologiste britannique, Alexander Fleming, a lancé un avertissement, en ce sens, dans un article publié dans le New York Times, dès 1945. En effet, à la fin des années quatre-vingt, les antibiotiques ont commencé à ne plus être la solution miracle qu'ils étaient 40 ans plus tôt. Une alternative à leur utilisation s'imposa.

Les études montrent que les huiles essentielles pourraient bien constituer une bonne alternative. En effet, leur activité antimicrobienne est connue de façon empirique depuis des siècles. Sa confirmation scientifique est récente et ne date que du début du siècle dernier.

Des études expérimentales ont été entreprises en France, dès 1885 et de nombreuses études in vitro ont été réalisées par des médecins et des pharmaciens avec des résultats concluants. Dans son livre «Antiseptiques essentiels», publié, en 1938, en France, le Dr Gattefossé, le père de l'aromathérapie, décrit la considérable avancée de la recherche dans ce domaine. Depuis, de nombreux travaux, essentiellement de laboratoire, sont venus renforcer ces résultats et expliquer les modes d'actions de certaines huiles essentielles et de leurs composants.

I. ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES HUILES ESSENTIELLES

La recherche de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles consiste, entre autres, à estimer l'inhibition de la croissance des microorganismes (bactéries et levures) en présence de ces huiles.

Les huiles essentielles possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches et bactéries mais, d'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

- attaque de la membrane plasmique par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires;
- acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure;
- destruction du matériel génétique conduisant à la mort de la bactérie.

I.1. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

La détermination du profil de sensibilité des bactéries présumées pathogènes, vis à vis de différents antibiotiques, donne des réponses sous forme qualitatives : sensible, intermédiaire ou résistant. Elles résultent d'une détermination semi quantitative du pouvoir bactériostatique des antibiotiques. C'est l'un des tests les plus simples et le plus ancien, il a été développé dans les années 1940.

Cette technique a été adaptée aux huiles essentielles et fût appelée aromatoigramme.

On évalue l'activité antibactérienne des huiles essentielles par un aromatoigramme de la même façon qu'on réalise un antibiogramme avec des antibiotiques classiques. C'est une méthode qui permet de tester, en milieu de culture, l'action d'une huile essentielle sur une souche bactérienne. Elle donne donc des indications sur l'efficacité in vitro de cette huile.

La technique utilisée pour déterminer cette activité est une technique de contact directe. Elle consiste à mettre en présence l'HE et les microorganismes puis à observer la croissance de ces derniers. Le contact peut avoir lieu en milieu gélosé ou liquide.

Deux types de techniques par contact direct sont utilisés : l'aromatoigramme par méthode des disques et la technique des puits creusés.

I.1.1. Technique des disques

Ce test est effectué par dépôt sur un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec 0,1 mL d'une culture microbienne, d'un disque stérile de cellulose de 6 mm de diamètre (Whatman N°1) imprégné d'une quantité de solution d'huile essentielle (50 µL). Le volume de la culture microbienne est étalé à l'aide d'un râteau de manière à avoir une répartition uniforme. Pour chaque souche, une culture-témoin est réalisée en déposant un disque imbibé de 50 µL d'éthanol. L'huile essentielle diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. Après incubation d'une durée de 48 heures à l'étuve à 37°C (Figure 41), chaque disque apparaît entouré d'une zone d'inhibition de la croissance. La lecture des résultats se fait par mesure des diamètres en millimètres de ces zones. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits. Les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité [101] :

- Résistant : $D = 6 \text{ mm}$;
- Intermédiaire : $6 \text{ mm} \leq D \leq 13 \text{ mm}$;
- Sensible : $D > 13 \text{ mm}$.

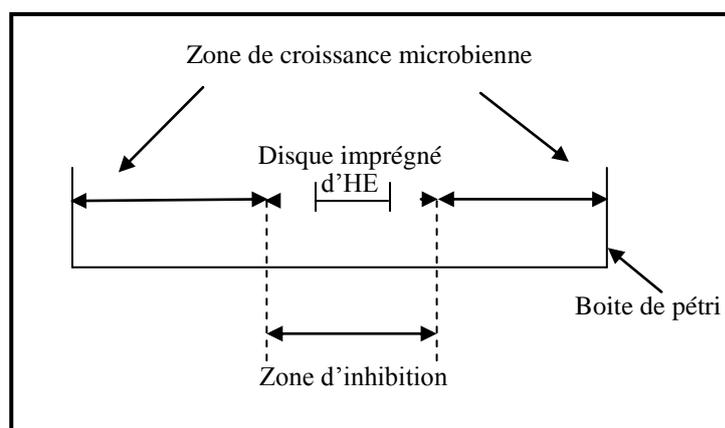


Figure 41 : Aromatoigramme sur boîte de Pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné d'huile essentielle.

I.1.2. Technique des puits

Proposée par Cooper et Woodman en 1946 [102], puis reprise par Shroder et Messing en 1949 [103], elle permet de mesurer une diffusion radiale de l'HE à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable.

Cette technique consiste à découper un trou (puits) circulaire de 6 mm de diamètre dans le milieu gélosé en utilisant un poinçon de gel et à y verser une quantité d'huile essentielle 50 μ L (Figure 42). L'huile essentielle, diffusant radialement, crée une zone d'inhibition circulaire à la surface du milieu gélosé préalablement ensemencé avec une suspension microbienne. L'estimation de l'activité antimicrobienne est basée sur une échelle qui classe le pouvoir antimicrobien en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne [104]:

- Fortement inhibitrice : $D > 28$ mm ;
- Modérément inhibitrice : $16 < D < 28$ mm ;
- Légèrement inhibitrice : $10 < D < 16$ mm ;
- Non inhibitrice : $D < 10$ mm.

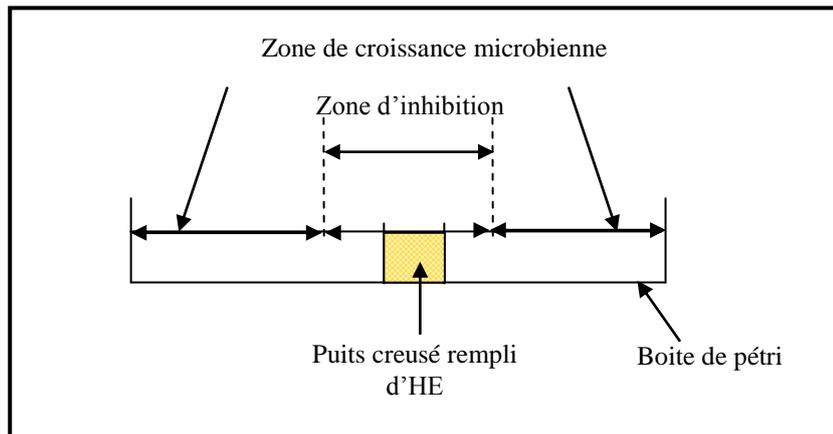


Figure 42 : Diffusion radiale dans une boîte de Pétri d'un puits creusé dans la gélose et rempli d'huile essentielle

I.2. Paramètres de l'activité in vitro des huiles essentielles

Lorsque l'on parle d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets : une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique. Deux mesures sont à la base de toutes les techniques d'étude de l'activité antimicrobienne : la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).

I.2.1. Concentration Minimale Inhibitrice CMI

La Concentration Minimale Inhibitrice (**CMI**) est la concentration d'huile essentielle la plus faible à laquelle il n'y a pas de croissance visible. Ainsi, la CMI est la concentration d'huile essentielle dans le premier tube ne présentant pas de croissance visible. C'est le paramètre le plus souvent utilisé, car c'est avec lui que les corrélations cliniques ont été les mieux établies [103, 105].

I.2.2. Concentration Minimale Bactéricide CMB

La Concentration Minimale Bactéricide (**CMB**) est la concentration d'huile essentielle la plus faible à laquelle il n'y a que 0,1 ou 0,01 % de bactéries survivantes [105].

I.2.3. Rapport CMI / CMB

Ce rapport peut être utilisé pour distinguer les huiles essentielles bactéricides ($CMB/CMI \leq 2$), des huiles essentielles bactériostatiques (CMB très éloignée de la CMI). Il définit également la tolérance d'une souche. La souche est dite tolérante quand ce rapport est supérieur ou égal à 32 [103].

II. APPLICATION AUX HE DE LAVANDE ET D'ORANGE EXTRAITES PAR EVMO

L'étude de l'activité antimicrobienne a porté sur des souches bactériennes et des souches fongiques (Tableau XXXII) provenant de l'Institut Pasteur d'Alger à l'exception de *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger* et *Rhizopus stolonifer* provenant de la collection du laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement (LSTE) de l'ENP. Elles ont été conservées au réfrigérateur à 4°C sur gélose inclinée de conservation.

Tableau XXXII : Liste des germes étudiés

Souches de référence
<i>Aspergillus niger</i> LSTE22
<i>Candida albicans</i> IPA7
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603
<i>Listeria monocytogenes</i> IPA 32
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 1533
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Rhizopus stolonifer</i> LSTE15
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> LSTE1
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922

ATCC: American Type Culture Collection

II.1. Etude de l'activité antibactérienne des HE

Les tests de sensibilité, effectués suivant la méthode de Corner et Beuchat [106], et Adam et *al.* [107] pour l'aromatogramme, et la méthode de Chao et *al.* [108] pour celle des puits, ont permis de mesurer les diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne causée par la présence des huiles essentielles.

Les bactéries ont été classées en différentes catégories suivant leur degré de sensibilité.

Cette classification servira de référence pour réaliser une sélection des souches présentant une sensibilité importante pour la détermination des paramètres de l'activité antibactérienne CMI et CMB.

Les mesures des diamètres des zones d'inhibition sont regroupées dans le Tableau XXXIII et les photos des cultures bactériennes en présence de disques imbibés d'huiles essentielles et celles en présence des puits remplis, sont représentées successivement par les Figures 43 a et 43 b pour l'huile essentielle de lavande et par la Figure 49 pour l'huile essentielle d'orange.

Tableau XXXIII : Résultats du test de sensibilité

Souche bactérienne	Diamètre moyen d'inhibition (mm)		
	LAVANDE		ORANGE
	Méthode des disques	Méthode des puits	Méthodes des puits
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,00 ± 0,00	09,50 ± 0,50	06,00 ± 0,00
<i>Enterococcus faecalis</i>	6,00 ± 0,00	11,50 ± 0,50	07,00 ± 0,81
<i>Escherichia coli</i>	-----	11,50 ± 0,50	08,00 ± 1,41
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7,00 ± 0,00	12,50 ± 0,50	08,33 ± 0,62
<i>Listeria monocytogenes</i>	7,25 ± 0,20	13,50 ± 0,50	06,00 ± 0,00
<i>Salmonella typhimurium</i>	8,74 ± 0,25	14,00 ± 0,00	08,66 ± 2,05
<i>Salmonella enteritidis</i>	6,25 ± 0,25	16,50 ± 0,50	06,00 ± 0,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,00 ± 0,00	19,00 ± 2,00	06,00 ± 0,00
<i>Micrococcus luteus</i>	9,50 ± 0,50	20,50 ± 0,50	06,16 ± 0,23

Les résultats obtenus par la méthode des disques montrent qu'à l'exception d'*Enterococcus faecalis* et *Pseudomonas aeruginosa* qui présentent une croissance bactérienne normale et sont donc résistantes à l'huile essentielle de lavande, une zone d'inhibition est observée pour toutes les autres souches testées.

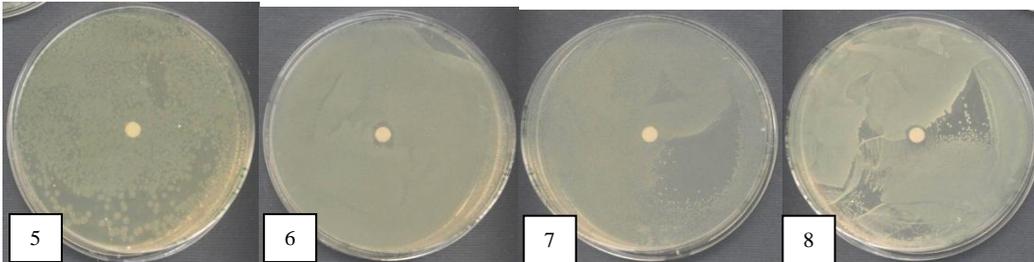
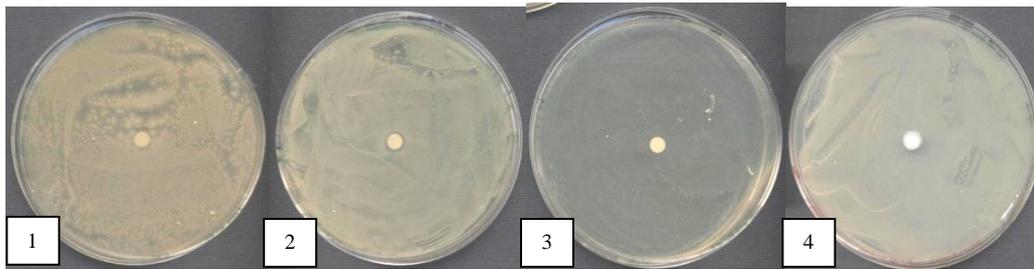
Les diamètres des zones d'inhibition étant compris entre (6,00 ± 0,00 mm et 9,50 ± 0,50 mm), l'huile essentielle de lavande présente donc un pouvoir d'inhibition intermédiaire vis-à-vis de ces souches.

S'agissant de la méthode des puits, *Pseudomonas aeruginosa* présente une zone d'inhibition inférieure à 10 mm; elle développe donc une résistance à cette huile. Les diamètres d'inhibition obtenus pour *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, étant compris entre 10 et 16 mm, l'huile essentielle peut être considérée comme légèrement inhibitrice vis-à-vis de ces souches. Elle est modérément inhibitrice pour *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus luteus* vu que les zones d'inhibition présentent des diamètres compris entre 16 et 28 mm.

Enterococcus faecalis a été légèrement inhibée lors des tests, par la méthode des puits alors qu'elle a développé une résistance à l'huile essentielle pour les tests réalisés par la technique des disques. Cette différence peut être expliquée par la présence d'une quantité d'huile suffisante (concentration critique) à partir de laquelle la souche est inhibée. Ce seuil n'ayant pas été atteint par la quantité d'huile essentielle présente dans le disque en papier, la bactérie a eu une croissance normale.

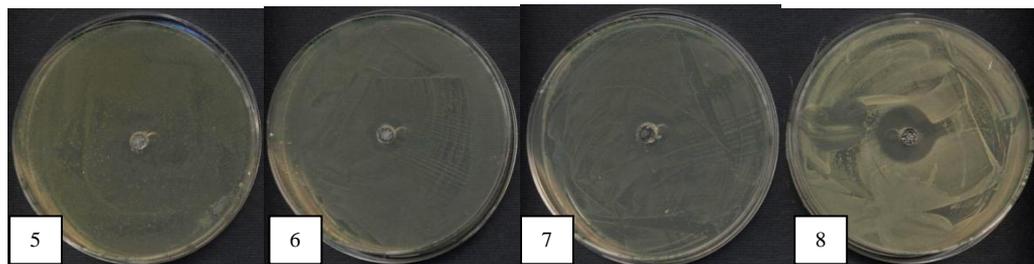
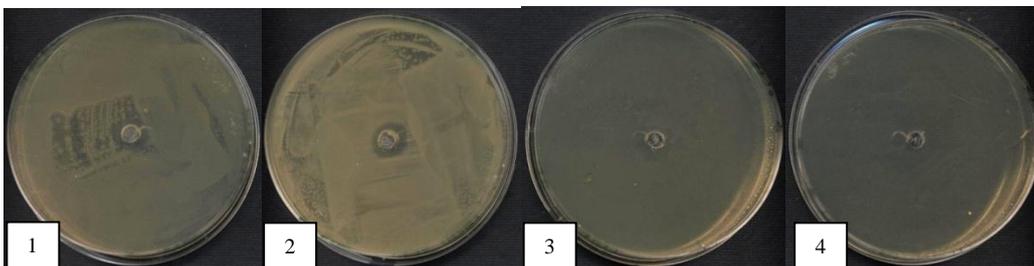
Cette étude montre que l'huile essentielle de lavande possède une activité antimicrobienne moyenne. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par, Kaloustian et al. [109] pour leur étude sur l'activité de l'huile essentielle de lavande sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Concernant l'huile essentielle d'orange, les diamètres des zones d'inhibition étant compris entre 6,00 ± 0,00 mm et 8,66 ± 2,05 mm, il apparaît clairement que cette huile ne possède pas d'activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées et peut être considérée comme non inhibitrice. Par conséquent, il est inutile d'approfondir l'étude de cette huile.



- | | | |
|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 1: <i>Enterococcus faecalis</i> | 4: <i>Micrococcus luteus</i> | 7: <i>Salmonella enteritidis</i> |
| 2: <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 5: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 8: <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 3: <i>Listeria monocytogene</i> | 6: <i>Salmonella typhimurium</i> | 9: <i>Escherichia coli</i> |

a) Méthode des disques



- | | |
|-----------------------------------|----------------------------------|
| 1 : <i>Enterococcus faecalis</i> | 6: <i>Salmonella typhimurium</i> |
| 2 : <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 7: <i>Salmonella enteritidis</i> |
| 3 : <i>Listeria monocytogene</i> | 8: <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 4 : <i>Micrococcus luteus</i> | 9: <i>Escherichia coli</i> |
| 5 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | |

b) Méthode des puits

Figure 43 : Aspect des cultures et des zones d'inhibition en présence de l'HE de lavande

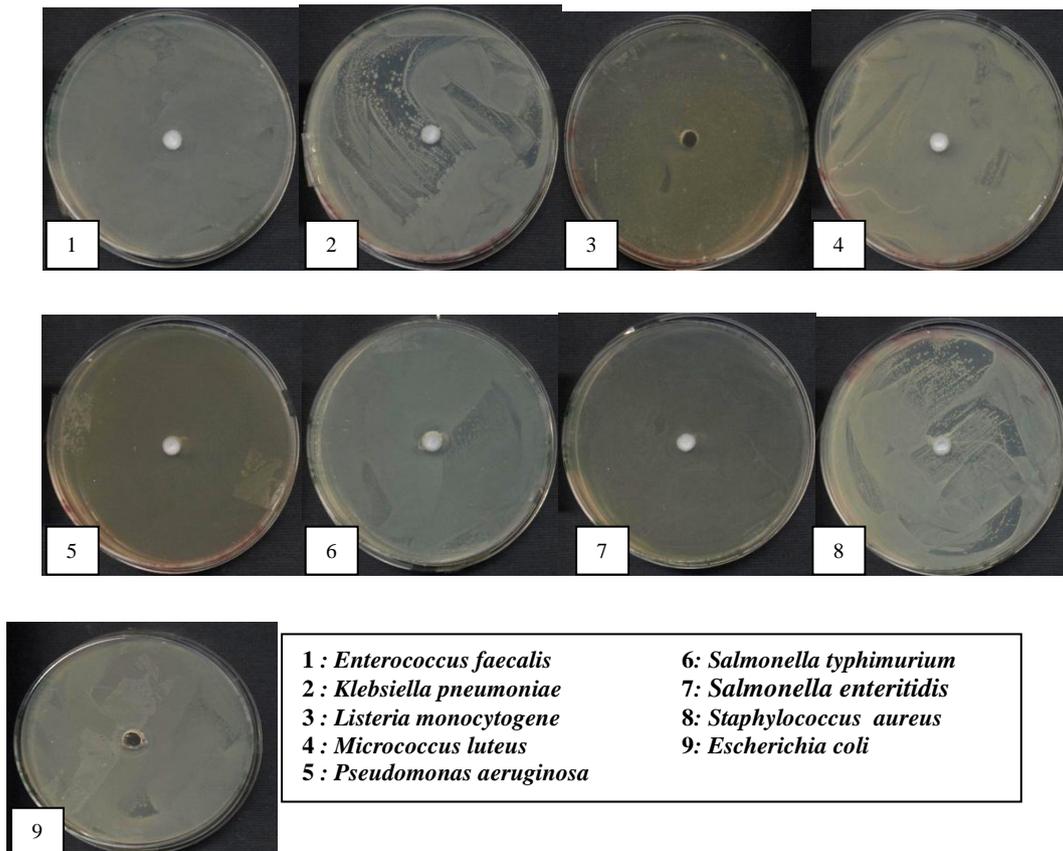


Figure 44 : Aspect des cultures et des zones d'inhibition en présence de l'HE d'orange (Méthode des puits)

II.1.1. Détermination des CMI et CMB pour l'huile essentielle de lavande

A l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui a développé une résistance à l'huile essentielle de lavande, les CMI et CMB en milieu liquide ont été déterminées pour toutes les autres souches par un suivi de l'évolution de l'inhibition bactérienne en fonction de la concentration en huile essentielle. Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau XXXIV. Les Figures 45 et 46 illustrent, respectivement, un exemple de lecture de la CMI et de la CMB effectuée sur *Staphylococcus aureus* en présence de l'huile essentielle.

Tableau XXXIV : CMI et CMB pour l'huile essentielle de lavande

Souche bactérienne	CMI ($\mu\text{L d'HE.mL}^{-1}$)	CMB ($\mu\text{L d'HE.mL}^{-1}$)	Rapport CMI / CMB
<i>Escherichia coli</i>	0,937	1,875	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,468	1,875	4
<i>Salmonella typhimurium</i>	1,875	7,500	4
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,937	Croissance bactérienne observée pour toutes les dilutions	Le rapport ne peut être défini en absence de CMB
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,875	3,750	2
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,468	15,00	32
<i>Salmonella enteritidis</i>	0,468	3,7501	8

a : les concentrations sont données en $\mu\text{L d'HE}$ par mL de milieu de culture.

Les résultats obtenus par l'étude de la CMI montrent que l'huile essentielle de lavande est plus efficace sur *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella enteritidis* qui présentent une inhibition à une concentration de $0,468 \mu\text{L d'HE.mL}^{-1}$.

Escherichia coli et *Enterococcus faecalis* sont inhibées à une concentration de $0,937 \mu\text{L d'HE.mL}^{-1}$, alors que *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhimurium* sont les moins sensibles avec une CMI de $1,875 \mu\text{L d'HE.mL}^{-1}$.

Les CMB obtenues pour *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* montrent que l'huile essentielle possède un pouvoir bactéricide plus important avec une concentration de $1,875 \mu\text{L d'HE.mL}^{-1}$. Il est moins important pour *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis* (CMB = $3,750 \mu\text{L d'HE.mL}^{-1}$) et pour *Listeria monocytogenes* (CMB = $15,000 \mu\text{L d'HE.mL}^{-1}$). Pour *Enterococcus faecalis*, une croissance bactérienne a été observée pour tous les tubes, ce qui indique que l'huile essentielle de lavande ne possède pas d'effet bactéricide sur cette souche.

Le rapport CMB/CMI indique que l'huile essentielle de lavande est bactéricide envers *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (CMB/CMI ≤ 2), et bactériostatique envers *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* et *Salmonella enteritidis* ($2 < \text{CMB/CMI} < 32$). Tandis que *Listeria monocytogenes* montre une résistance à l'huile (CMB/CMI ≥ 2).

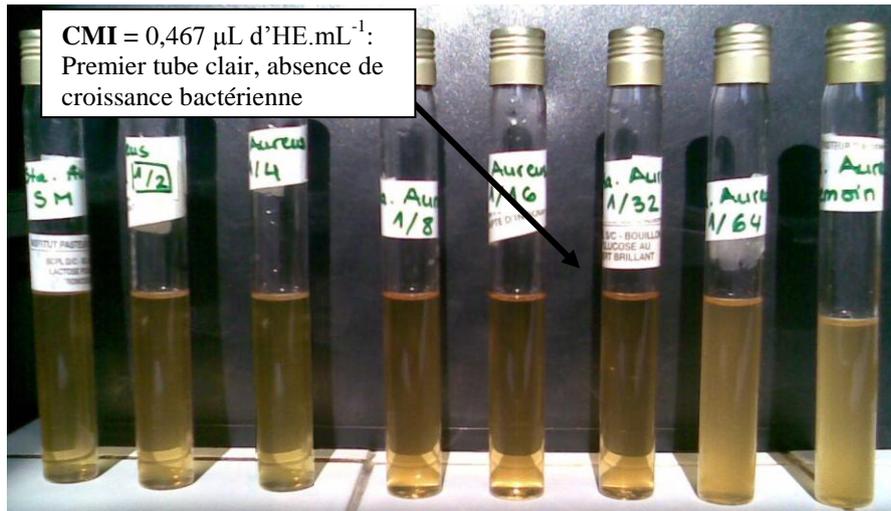
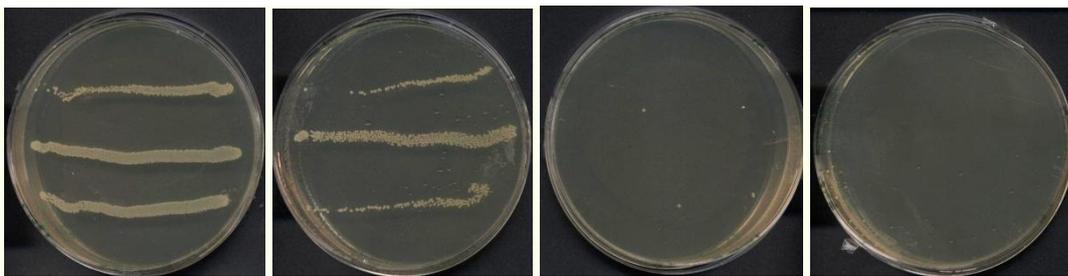
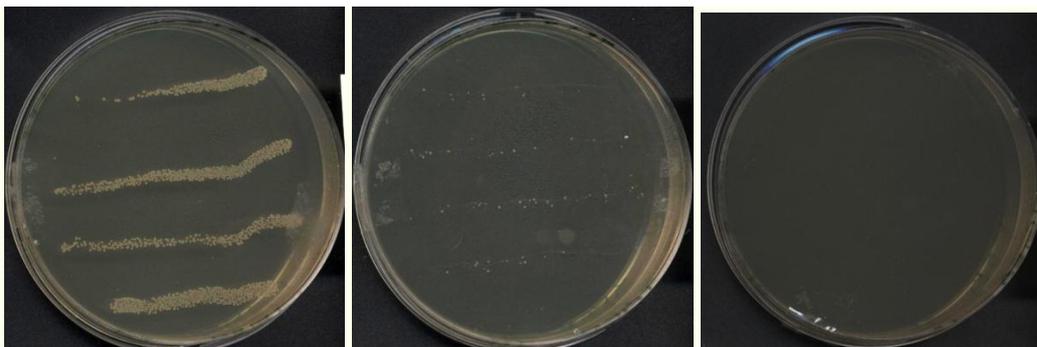


Figure 45 : Lecture de la CMI de *Staphylococcus aureus* en présence de l'H.E de lavande.



Pur Dilué au 1/10 Dilué au 1/100 Dilué au 1/1000

Ensemencements réalisés à partir des dilutions du tube témoin de croissance



Dilution 1/32 Dilution 1/16 Dilution 1/8
 (0,468 µL d'HE.mL⁻¹) (0,937 µL d'HE.mL⁻¹) (1,875 µL d'HE.mL⁻¹)

Ensemencements réalisés à partir des tubes restés clairs

Figure 46 : Lecture de la CMB de *Staphylococcus aureus* en présence de l'H.E de lavande.

II.2. Etude de l'activité antifongique des HE

L'activité antifongique a été évaluée pour deux levures (*Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*) et deux moisissures (*Aspergillus niger* et *Rhizopus stolonifer*).

Les tests ont été réalisés en effectuant l'aromatogramme par la méthode des puits. Les mesures des diamètres des zones d'inhibition sont portées dans le Tableau XXXV. Les Figures 47 et 48 regroupent les photos des cultures fongiques en présence des puits remplis.

Tableau XXXV: Résultats du test de sensibilité des HE de lavande et d'orange

Souche fongique		Diamètre moyen d'inhibition (mm)	
		Lavande	Orange
Levure	<i>Candida albicans</i>	15,00 ± 1,00	26,00 ± 1,00
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12,66 ± 0,47	40,66 ± 2,05
Moisissure	<i>Aspergillus niger</i>	15,66 ± 0,94	Absence de zone d'inhibition (6,00 ± 0,00)
	<i>Rhizopus stolonifer</i>	35,33 ± 3,68	Absence de zone d'inhibition (6,00 ± 0,00)

Les souches fongiques testées présentent toutes une sensibilité à l'huile essentielle de lavande. Cependant *Rhizopus stolonifer* a été la plus inhibée, avec une zone d'inhibition d'un diamètre de $35,33 \pm 3,68$ mm.

L'huile essentielle d'orange quant à elle, est également inhibitrice vis-à-vis des deux levures testées, *Saccharomyces cerevisiae* étant la plus sensible avec un diamètre de $40,66 \pm 2,05$ mm. Par contre, les deux moisissures ont eu une croissance normale et semblent développer une résistance à cette huile.

La comparaison de l'activité antifongique des deux huiles montre que l'huile essentielle d'orange est la plus efficace sur les levures testées (diamètres d'inhibition plus importants), alors que l'huile essentielle de lavande l'est sur les moisissures testées.

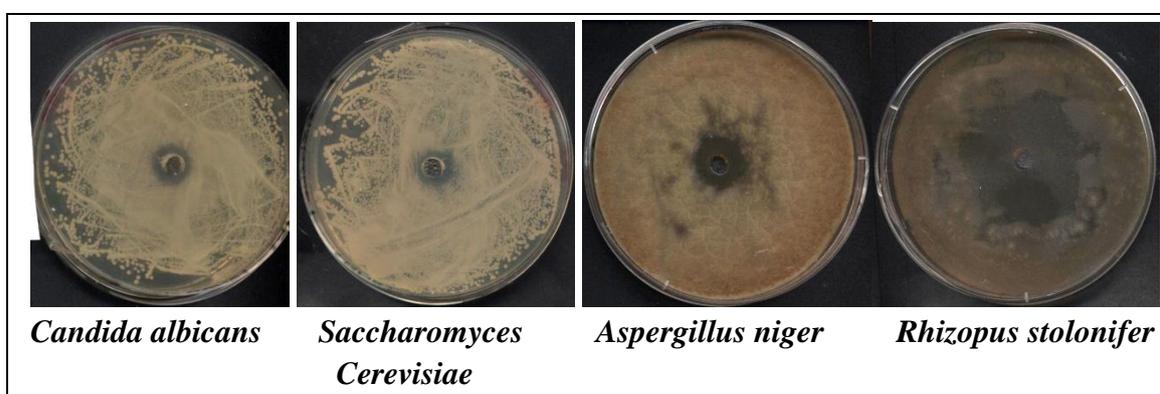


Figure 47 : Aspect des cultures fongiques et des zones d'inhibition en présence de l'HE de lavande

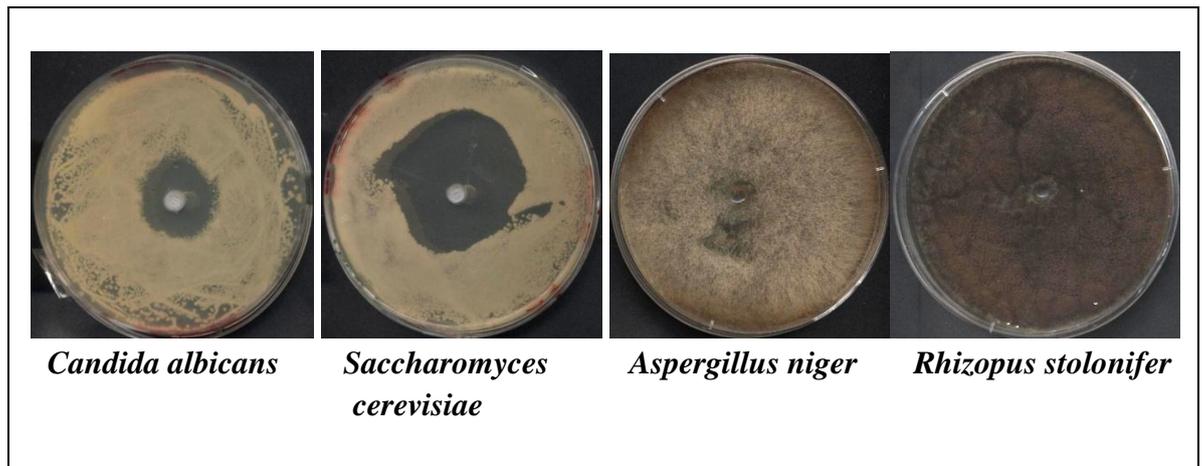


Figure 48 : Aspect des cultures fongiques et des zones d'inhibition en présence de l'H.E d'orange

CONCLUSION

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de lavande et d'écorces d'orange extraites par entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes. Les résultats obtenus ont mis en évidence une activité antimicrobienne moyenne pour l'huile essentielle de lavande alors qu'elle est nulle pour l'huile essentielle d'orange.

Ces huiles présentent également une activité antifongique, l'huile essentielle d'orange est plus efficace sur les levures testées, alors que l'huile essentielle de lavande l'est sur les moisissures testées.

B. ACTIVITE ANTIOXYDANTE

INTRODUCTION

Depuis plusieurs années, l'un des soucis majeur de l'Homme est la lutte contre les effets du vieillissement et la préservation de sa santé. Cet objectif ne peut être atteint sans le respect d'une hygiène de vie afin de se protéger des agressions extérieures.

L'oxygène, principale source de vie, peut devenir un ennemi en provoquant des phénomènes d'oxydation, processus impliqué dans le vieillissement des cellules et dans certaines maladies dégénératives, cardiovasculaires et certains cancers.

Le phénomène d'oxydation peut également attaquer certains aliments tels que les corps gras, les fruits et les légumes lorsqu'ils sont mal conservés.

Pour se protéger contre ces phénomènes d'oxydation, l'Homme a depuis l'antiquité eu recours à des agents protecteurs appelés antioxydants. Il a exploité de façon empirique les propriétés antioxydantes de certaines plantes et de leurs extraits. Puis avec le développement de ses connaissances, il a utilisé des produits de synthèse très efficaces mais qui ont montré, ces dernières années, leur limites en raison de leurs effets négatifs aussi bien sur la santé que sur l'environnement. Cet état de fait a obligé les chercheurs à orienter leurs travaux vers des composés d'origine naturelle efficaces et plus sûres.

Les huiles essentielles dont l'activité antioxydante est connue de façon empirique depuis des siècles peuvent être une bonne alternative aux antioxydants de synthèse. En effet, de nombreux travaux, sont venus renforcer ces observations empiriques et expliquer leurs modes d'actions et de leurs composants.

I. OXYDATION ET ANTIOXYDANTS

D'un point de vue chimique, l'oxydation est générée par des radicaux libres; espèces chimiques neutres ou chargées, instables et très rapides qui se propagent en cascade et cherchent à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état stable. Ils ciblent tous les corps gras comme les phospholipides, les membranes cellulaires mais aussi les protéines [110].

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques [111]. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs [112].

La raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en plus réactifs tels que le superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le peroxyde d'hydrogène (ROO^{\bullet}), l'oxygène singulet (O_2^{\bullet}), et les radicaux hydroxyles (OH^{\bullet}), collectivement connus sous le nom d'oxygène actif [111]. Ils agissent en formant des produits finis non radicaux, d'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci puisse réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur.

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. En même temps, les antioxydants arrêtent la réaction, la plupart du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable [112].

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants ont été proposées. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres [113].

En plus de ces antioxydants d'origine naturelle que l'on retrouve dans le règne végétal (plantes aromatiques et médicinales, fruits et légumes), il existe des antioxydants de synthèse parmi lesquels nous pouvons citer le butyl-hydroxy-anisole (BHA), le butyl-hydroxy-toluène (BHT), le ter-butyl-hydroxy-quinone (TBHQ), l'anhydride sulfureux et les sulfites.

II. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Toutes les méthodes de mesure du pouvoir antioxydant d'un principe actif consistent à provoquer une oxydation sur une matrice sensible, et à mesurer ensuite le ralentissement de dégradation de cette matrice protégée par l'antioxydant par rapport à un témoin sans protection [110].

Les tests de mesure de l'activité antioxydante peuvent être classés principalement en deux groupes :

- les tests relatifs à l'évaluation de la peroxydation des lipides dans lesquels le substrat est un lipide ou lipoprotéine placé dans des conditions standards et où l'inhibition est mesurée;
- les tests permettant de mesurer le pouvoir de piégeage des radicaux libres (Scavenging of free radical).

III. APPLICATION AUX HUILES ESSENTIELLES DE LAVANDE ET D'ORANGE EXTRAITES PAR EVMO

Pour étudier l'activité antioxydante des huiles essentielles des fleurs de lavande et des écorces d'orange, nous avons opté pour la méthode de piégeage du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole décrit par Mansouri et *al.* [114]. Ce test qui permet la mesure du pouvoir de piégeage par l'antioxydant des radicaux libres du DPPH est facile à réaliser et donne des résultats très reproductibles. Il est préconisé pour la mesure de l'activité antioxydante des huiles essentielles, des jus de fruits, des légumes et d'autres extraits de plantes.

Le radical **DPPH[•]** de couleur violette, fixe un radical **H[•]** qu'il arrache à l'antioxydant **AH** et se réduit en **DPPH-H** (le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) de couleur jaune dont l'intensité est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Figure 49) [115].

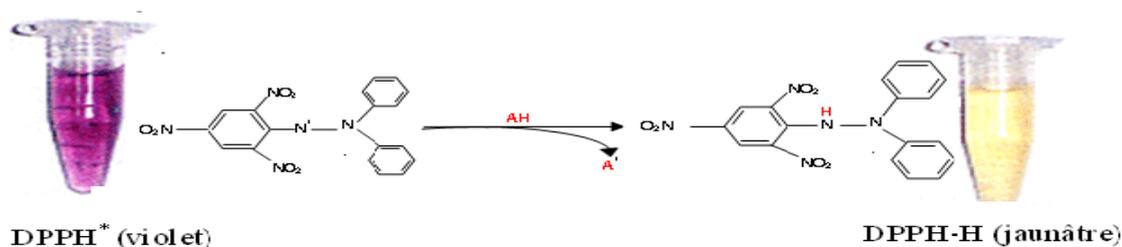


Figure 49 : Réaction du radical DPPH* avec un antioxydant AH.

Pour réaliser ce test, des solutions à plusieurs concentrations dans l'éthanol d'HE de lavande et d'orange extraites par EVMO et de leurs constituants majoritaires purs ont été préparées. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Le contrôle négatif se fait avec la solution de DPPH, alors que pour le contrôle positif, on a utilisé des solutions d'antioxydants standards (acide ascorbique, acide gallique, BHA et BHT). Le blanc représente la solution à tester sans ajout de DPPH.

Trois essais ont été réalisés pour chaque solution testée (huiles essentielles, constituants majoritaires et contrôles).

L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans l'éthanol. Elle est donnée par les relations suivantes :

$$(A \%) = [(Abs_{517 \text{ contrôle}} - Abs_{517 \text{ échantillon}}) / Abs_{517 \text{ contrôle}}] \times 100.$$

Avec : A : activité antioxydante, Abs : Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm.

$Abs_{517 \text{ contrôle}}$: absorbance mesurée à 517 nm pour le contrôle (l'éthanol).

$Abs_{517 \text{ échantillon}}$: absorbance mesurée pour l'échantillon testé (HE, antioxydants de synthèse et composés majoritaires).

Les résultats obtenus exprimés en termes de pourcentage d'inhibition sont consignés dans le Tableau XXXVI et représentés respectivement sur les Figures 50 et 51 pour la lavande et l'orange.

Tableau XXXVI: Activité de piégeage du radical **DPPH[•]** par les HE de lavande, d'orange, de leurs constituants majoritaires et des antioxydants de synthèse

Concentration (mg.L ⁻¹)		% Inhibition					
		100	200	400	600	800	1000
Lavande	HE	9,24 ± 0,80	9,69 ± 0,30	9,83 ± 0,22	9,87 ± 0,23	10,57 ± 0,16	10,77 ± 0,14
	Linalool	5,45 ± 0,10	5,50 ± 0,18	6,12 ± 1,30	6,27 ± 0,79	6,34 ± 0,39	8,59 ± 0,66
	Camphre	4,92 ± 0,97	5,31 ± 1,04	5,45 ± 0,39	5,87 ± 0,262	6,00 ± 0,81	6,35 ± 0,57
	1,8-cinéole	6,17 ± 0,04	8,76 ± 1,42	17,62 ± 1,08	17,78 ± 0,30	18,78 ± 1,5	19,33 ± 1,27
Orange	HE	7,51 ± 0,99	7,56 ± 0,64	8,38 ± 0,07	8,85 ± 0,17	9,84 ± 1,36	11,2 ± 1,45
	Limonène	4,00 ± 1,00	5,67 ± 1,25	6,47 ± 0,71	7,00 ± 0,80	7,35 ± 0,20	7,50 ± 0,60
Antioxydant de synthèse	Acide ascorbique	96,60 ± 0,03	96,83 ± 0,27	96,88 ± 0,59	96,9 ± 0,18	96,97 ± 0,20	97,00 ± 0,07
	BHA	88,07 ± 1,03	88,41 ± 0,51	88,76 ± 0,49	90,8 ± 1,055	91,20 ± 0,89	91,50 ± 0,01
	BHT	91,11 ± 0,30	91,53 ± 1,04	91,75 ± 0,35	92,86 ± 0,36	93,04 ± 1,82	93,13 ± 0,11
	Acide gallique	95,32 ± 0,75	95,65 ± 1,10	95,75 ± 0,48	95,83 ± 0,75	95,85 ± 0,16	96,75 ± 0,37

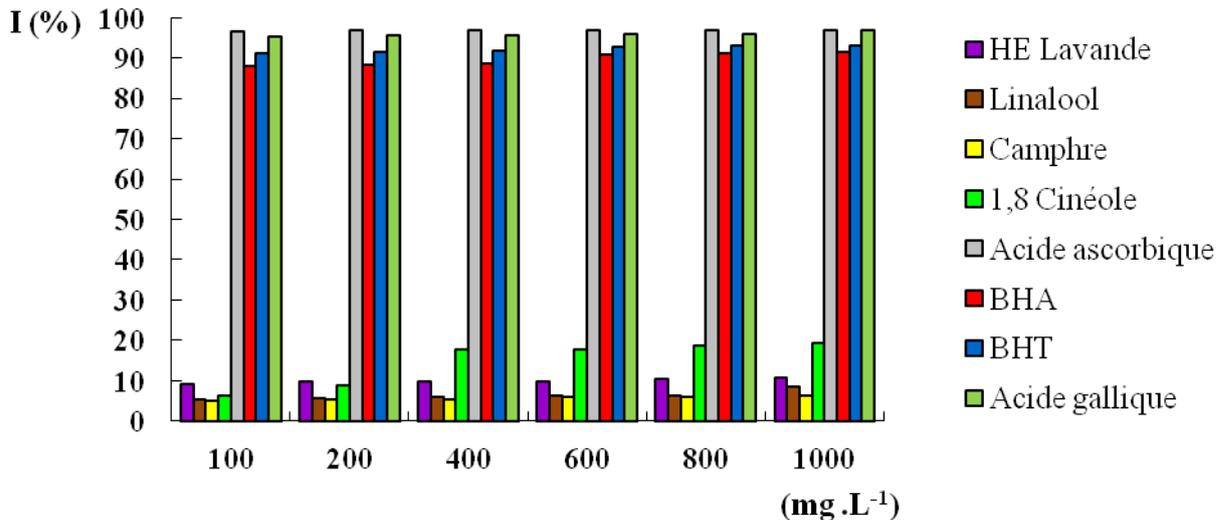


Figure 50 : Capacité d'inhibition de l'HE de lavande extraite par EVMO, Constituants majoritaires, Acide ascorbique, BHA, BHT et Acide gallique

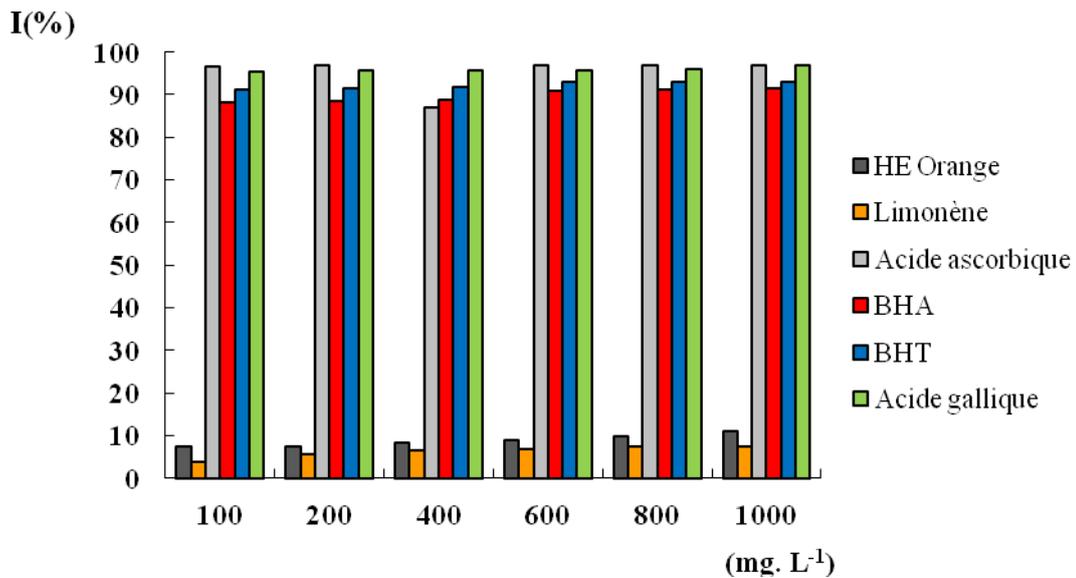


Figure 51 : Capacité d'inhibition de l'HE d'écorce d'orange extraite par EVMO, Limonène, Acide ascorbique, BHA, BHT et Acide gallique

Les résultats montrent que le pouvoir de piégeage du radical DPPH par les huiles essentielles de lavande et d'orange est relativement faible et qu'il varie très peu avec la concentration. Il atteint une valeur maximale de 10,77 % pour l'huile de lavande et 11,2 % pour celle d'orange, pour une concentration de 1000 mg.L⁻¹.

L'activité antioxydante de l'huile de lavande est supérieure à celles du linalool et du camphre pour toutes les concentrations testées, et celle du 1,8-cinéole pour de concentrations inférieures à 400 mg.L⁻¹. Le limonène, composé majoritaire de l'huile essentielle d'orange, présente un pouvoir d'inhibition plus faible que l'huile essentielle pour toutes les concentrations testées. Ces résultats

suggèrent que l'activité de ces huiles, même si elle reste faible, serait due à un synergisme entre les constituants majoritaires et ceux en plus faibles concentrations. Des observations similaires ont été rapportées dans la littérature tels que les travaux de Lahlou [116], qui a montré que l'activité des huiles essentielles est supérieure à celle de leurs composés majoritaires testés séparément. Alors que Didry, et al. [117], ont trouvé que des composés purs comme le thymol et le carvacrol ont un net effet synergique, ce qui expliquerait les différentes activités des chémotypes de Thyms.

Comparées aux antioxydants de synthèse pris comme contrôles positifs, les huiles essentielles de lavande et d'orange ainsi que leurs constituants majoritaires ont un pouvoir antioxydant très faible dans le domaine de concentrations utilisées.

CONCLUSION

Cette étude nous a permis de constater que les huiles essentielles de lavande et d'orange présentent une activité antioxydante assez faible, probablement liée à leurs compositions chimiques. Ces activités étant différentes de celles de leurs composés majoritaires testés séparément, il est donc difficile d'attribuer cette activité à un seul composé puisqu'un effet de synergie entre les différents composés peut avoir lieu.

CONCLUSION GENERALE

Les objectifs de ce travail ont consisté en la réalisation, l'optimisation et l'application d'un nouveau dispositif d'extraction d'huiles essentielles : l'entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes (EVMO). Cette technique inspirée de procédés déjà existant (SFME et MASD), consiste en une combinaison originale d'un mode de chauffage innovant : les micro-ondes, et de l'entraînement à la vapeur d'eau conventionnel (EV).

Plusieurs étapes ont permis de parvenir à l'élaboration et à la validation de ce nouveau système d'extraction assisté par micro-ondes.

Dans un premier temps, des essais ont permis de tester, d'ajuster et de maîtriser le fonctionnement de l'appareillage en l'appliquant à une plante modèle : les fleurs de lavande riches en huile essentielle. Par la suite, son application a été élargie à une plante fraîche : les écorces d'orange. L'objectif recherché étant la valorisation d'un co-produit de l'industrie agroalimentaire.

L'EVMO, permet d'obtenir une huile comparable à celle obtenue par le procédé conventionnel (EV) aussi bien quantitativement que qualitativement, la seule différence étant la durée de traitement. En effet, l'étude de la cinétique d'extraction a montré que les durées d'extraction sont nettement diminuées (elles sont divisés par 5 pour l'huile essentielle de lavande et par 20 pour celle d'orange). Cette diminution a pour conséquence un gain considérable dans la consommation énergétique.

L'optimisation de ce procédé, menée selon une étude paramétrique suivie d'une étude par méthodologie des surfaces de réponses basée sur un plan d'expérience avec $\alpha = (\pm 1)$, a permis d'évaluer l'impact des variables opératoires (débit de vapeur et puissance micro-ondes) et de définir les conditions optimales d'extraction. Les résultats ont montré que dans le cas de la lavande, les conditions opératoires influent sur le rendement en huile essentielle. Alors que dans le cas de l'orange, l'influence des conditions opératoires est observée sur la cinétique d'extraction de l'huile et sur son composé majoritaire, le rendement en huile n'étant pas affecté. Ce résultat pourrait être lié au fait que la plante est fraîche (taux d'humidité égal à 75%). Cette hypothèse doit être confirmée ou infirmée par une étude plus approfondie sur d'autres matrices fraîches.

Des modèles mathématiques décrivant avec une bonne précision le comportement du système, pour les deux plantes étudiées, ont été proposés aussi bien pour le rendement en huile essentielle que pour la teneur du composé majoritaire de l'HE d'orange. Enfin, des conditions opératoires pour un fonctionnement optimal de notre installation ont été déterminées. Cependant, un compromis dans le choix de ces conditions doit être adopté pour une rentabilité effective de l'installation.

Dans le but de mieux comprendre les phénomènes mis en jeu lors de l'extraction des huiles essentielles d'oranges par EVMO, nous avons déterminé un coefficient de transfert de matière globale. Les résultats obtenus montrent que celui obtenu pour EVMO est quatre fois plus grand que celui déterminé pour l'EV.

Ces résultats sont confortés par les observations au microscope électronique à balayage réalisées sur les deux matrices avant et après traitement par les deux procédés. En effet, au niveau cellulaire, les deux méthodes d'extractions produisent des changements distincts sur la morphologie de la matière végétale. Alors que l'EV ne fait que vider les sites d'huile de leur contenu tout en gardant la structure des cellules intacte, l'EVMO provoque un éclatement des parois cellulaires ce qui permet le largage de l'huile qui sera récupérée par simple évaporation.

La dernière étape de notre étude relative à l'évaluation des propriétés biologiques (antibactérienne, antifongique et antioxydante) des huiles récupérées par EVMO, a montré que l'huile essentielle de lavande se caractérise par une activité antimicrobienne moyenne, alors que celle de l'orange ne possède qu'une activité antifongique contre les levures testées. Le pouvoir antioxydant des deux huiles est très faible par rapport à celui des antioxydants de synthèse (BHA et BHT) et d'autres plantes.

Comparé aussi bien à la méthode traditionnelle (EV) souvent longue et fastidieuse qu'aux techniques innovantes dont il a été inspiré (SFME et MASD), l'entraînement à la vapeur d'eau assisté par micro-ondes présente de nombreux avantages pour l'obtention d'huiles essentielles de qualité. Les aspects économiques (rapidité d'exécution et diminution de la consommation énergétique) et écologiques (diminution des rejets en CO₂) ainsi que sa mise en œuvre facile ont été mis en évidence et permettent de souligner l'approche «verte» véhiculée par le dispositif.

Loin d'avoir apporté toutes les réponses aux questions soulevées, ce travail mériterait d'être poursuivi et approfondi notamment par :

- L'application à d'autres types de plantes : fraîches, sèches, graines,
- Une étude approfondie des phénomènes régissant l'extraction des huiles essentielles,
- Une étude technico-économique,
- Il serait important d'exploiter les résultats obtenus à l'échelle laboratoire pour les transférer à l'échelle pilote et industrielle et d'étudier la faisabilité de transformer les installations existantes en incluant des sondes à micro-ondes ou bien de construire des alambics à micro-ondes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. E. GUENTHER. The essential oils. Edition D. Van Nostrand, New York 1948.
- [2]. F. PERINEAU, H. ZIOUANI, M. DELMAS, A. GASET, G. LEVY. Huile essentielle de Céleri – Turbo-extraction industrielle. *Parfums, Cosmétiques, Arômes*, 1989/1990, pp 85-92.
- [3]. J.Q. Cu, H. ZIOUANI, J.P. MARTEL, F. PERINEAU. Production d'huile essentielle de Badiane de Chine par turbo-distillateur. *Parfums, Cosmétiques, Arômes*, 1990, 93, pp 67-74.
- [4]. M.C. MARTINI, M. SEILLER. *Actifs et additifs en cosmétologie. Procédés d'extraction des huiles essentielles*. Editions Tec et Doc, Editions médicales internationales, 1999, p 563.
- [5]. M.A. FERHAT, B.Y. MEKLATI, F. CHEMAT. Comparison of different isolation methods of essential oil from *Citrus* fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave dry distillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 2007, 22, pp 494-504.
- [6]. M. HELLIER, *Techniques Micro-ondes (Structures de guidage, dispositifs passifs et tubes micro-ondes)*. Cours de Supélec, collection Technosup, Ellipses, Paris, 2001.
- [7]. A. ABU-SAMRA, J.S. MORRIS, S.R. KOIRTYOHANN. Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry, 1975, 47, p 1475.
- [8]. A. LOUPY. *Microwaves in Organic Synthesis*. 2eme Edition, Tomes I et II. Wiley-VCH, Weinheim, 2006.
- [9]. K.T. J. LOONES, B.U. W. MAES, G. ROMBOUTS, S. HOSTYN, G. DIELS. Microwave-assisted organic synthesis : scale-up of palladium-catalyzed aminations using single-mode and multi-mode microwave equipment. *Tetrahedron*, 2005, 61, pp 10338–10348.
- [10]. X. ZHANG, D. HAYWARD. Applications of microwave dielectric heating in environment-related heterogeneous gas-phase catalytic systems. *Inorganica Chimica Acta*, 2006, 359, pp 3421–3433.
- [11]. M.H. LAU, J. TANG. Pasteurization of pickled asparagus using 915 MHz microwaves. *Journal of Food Engineering*, 2002, 51, pp 283–290.
- [12]. E. CHIAVARO, M.T. RODRIGUEZ-ESTRADA, E. VITTADINI, N. PELLEGRINI. Microwave heating of different vegetable oils: Relation between chemical and thermal parameters. *LWT - Food Science and Technology*, 2010, 43, pp 1104-1112.
- [13]. J. C. LANTIS, K. L. Carr, R. GRABOWY, R. J. CONNOLLY, S. D. SCHWAI TZBERG. Microwave applications in clinical medicine. *Surgical Endoscopy*, 1998, 12, pp 170–176.
- [14]. VALERIE CAMEL. Recent extraction techniques for solid matrices-supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls *Analyst*, 2001, 126, pp 1182–1193.
- [15]. Federal communications commission. Washington D.C., 1972, 2, Part. 2, pp 7-84.
- [16]. H.M. KINGSTON et L.B. JASSIE. "Introduction to Microwave Sample Preparation", ACS Professional Reference Book. Amer Chemical Society 1988

- [17]. M.E. LUCCHESI. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes. Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de la Faculté des Sciences et Technologies. Université de la Réunion, France. 2005.
- [18]. ERIK TORRINGA, ERIK ESVELD, ISCHA SCHEEWE, ROBERT VAN DEN BERG, PAUL BARTELS. [Osmotic dehydration as a pre-treatment before combined microwave-hot-air drying of mushrooms](#). *Journal of Food Engineering*, 2001, 49, pp 185-191.
- [19]. N. SEYHUN, H. RAMASWAMY, G. SUMNU, S. SAHIN, J. AHMED. Comparison and modeling of microwave tempering and infrared assisted microwave tempering of frozen potato puree. *J. Food Eng.*, 2009, 92, p 339.
- [20]. WEI SUN, SHIJUAN GAO, LINJIE WANG, YONG CHEN, SHUZHEN WU, XIAORONG WANG, DEXIAN ZHENG, AND YOUHE GAO. Microwave-assisted Protein Preparation and Enzymatic Digestion in Proteomics. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2006, 5.4, pp 769-776.
- [21]. A.A. CRAVEIRO, F.J.A. MATOS, J.W. ALENCAR, M.M. PLUMEL. Microwave oven extraction of an essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 1989, 4, pp 43-44.
- [22]. P. MENGAL, B. MOMPON. Procédé et installation d'extraction sans solvant de produits naturels par micro-ondes. Brevet international, 1994, WO 94/26853.
- [23]. P. MENGAL, B. MOMPON. Procédé et installation d'extraction sans solvant de produits naturels par micro-ondes. Brevet Européen, 1996, EP 698 076 B1.
- [24]. E.E. STASHENKO, B.E. JARAMILLO, J.R. MARTINEZ. Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopiya aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1025, pp 105-113.
- [25]. E.E. STASHENKO, B.E. JARAMILLO, J.R. MARTINEZ. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1025, pp 93-103.
- [26]. M.T. GOLMAKANI, K. REZAEI. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*, 2008,109, pp 925-930.
- [27]. M.T. GOLMAKANI, K. REZAEI. Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from *Zataria multiflora boiss*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2008, 110, pp 448-454.
- [28]. S. REZVANPANAHA, K. REZAEI, S. HADI RAZAVI, S. MOINI. Use of Microwave-assisted Hydrodistillation to Extract the Essential Oils from *Satureja hortensis* and *Satureja Montana*. *Food Science and Technology Research*, 2008,14, pp.311-314.
- [29]. N.D.T. THI, T.H ANH, L.N. THACH. The essential oil composition of *Eryngium foetidum* L. in South Vietnam extracted by hydrodistillation under conventional heating and microwave irradiation. *Journal of essential oil bearing plants*, 2008, 11, pp 154-161.

- [30]. M. IRITI, G. COLNAGHI, F. CHEMAT, J. SMADJA, F. FAORO, F.A. VISINONI. Histo-
cytochemistry and scanning electron microscopy of *lavender* glandular trichomes following
conventional and microwave-assisted hydrodistillation of essential oils : a comparative study.
Flavour and Fragrance Journal, 2006, 21, pp 704-712.
- [31]. M. KOSAR, T. ÖZEK, F. GÖGER, M. KÜRKCÜOĞLU, K.H. CAN BASER. Comparison of
Microwave-Assisted Hydrodistillation and Hydrodistillation Methods for the Analysis of Volatile
Secondary Metabolites. *Pharmaceutical Biology*, 2005, 43, pp 491-495.
- [32]. F. CHEMAT, J. SMADJA, M.E. LUCCHESIE. Solvent Free Micro-wave extraction of
volatile natural compound. Brevet Européen, 2004, EP 1 439218 B1.
- [33]. F. CHEMAT, M.E. LUCCHESIE, J. SMADJA. Solvent Free Microwave Extraction of
volatile natural substances. Brevet Américain, 2004, US 0187340 A1.
- [34]. M.E. LUCCHESIE, F. CHEMAT, J. SMADJA. Solvent-free microwaves extraction of
essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of
Chromatography A*, 2004, 1043, pp 323-327.
- [35]. M.E. LUCCHESIE, F. CHEMAT, J. SMADJA. Solvent-Free microwaves extraction of
essential oil from spices. *Flavour and Fragrance Journal*, 2004, 19, pp 134-138.
- [36]. M.E. LUCCHESIE, J. SMADJA, S. BRADSHAW, W. LOUW, F. CHEMAT. Solvent free
microwave extraction of *Elleteria cardamom* L.: A multivariate study of a new technique for the
extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering*, 2007, 79, pp 1079-1086.
- [37]. M.A. FERHAT, B.Y. MEKLATI, J. SMADJA, F. CHEMAT. An improved microwave
Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *Journal of Chromatography
A*, 2006, 1112, pp 121-126.
- [38]. M.A. FERHAT, B.Y. MEKLATI, F. VISINONI, M. ABERT VIAN, F. CHEMAT. Solvent
free microwave extraction of essential oils Green chemistry in the teaching laboratory. *Chimica
Oggi Chemistry Today*, 2008, 26, pp 48-50.
- [39]. N. TIGRINE-KORDJANI, B.Y. MEKLATI, F. CHEMAT, Microwave. dry distillation as an
useful tool for extraction of edible essential oils. *International Journal of Aromatherapy*, 2006, 16,
pp 141-147.
- [40]. O.O. OKOH, A.P. SADIMENKO, A.J. AFOLAYAN. Comparative evaluation of the
antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation
and solvent free microwave extraction methods. *Food Chemistry*, 2010, 120, pp 308-312.
- [41]. F. BENKACI-ALI, A. BAALIOUAMER, B.Y. MEKLATI, F. CHEMAT. Chemical
composition of seed essential oils from Algerian *Nigella sativa* extracted by microwave and
hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 2007, 22, pp 148-153.
- [42]. B. BAYRAMOĞLU, S. SAHIN, G. SUMNU. Solvent-free microwave extraction of essential
oil from oregano. *Journal of Food Engineering*. 2008, 88, pp 535-540.

- [43]. M. BENDAHO, A. MUSELLI, M. GRIGNON-DUBOIS, M. BENYOUCEF, J.M. DESJOBERT, A.F. BERNARDINI, J. COSTA. Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*, 2008, 106, pp 132-139.
- [44]. B. BAYRAMOGLU, S. SAHIN, G. SUMNU. Extraction of Essential Oil from Laurel Leaves by Using Microwaves. *Separation Science and Technology*, 2009, 44, pp 722-733.
- [45]. M. BENDAHO, M. BENYOUCEF, A. MUSELLI, J.M. DESJOBERT, J. PAOLILI, A.F. BERNARDINI, J. COSTA. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. Essential Oil and Extract Obtained by Microwave Extraction. Comparison with Hydrodistillation. *Journal of Essential Oil Research*, 2008, 20, pp 1041-2905.
- [46]. B. UYSAL, F. SOZMEN, B.S. BUYUKTAS. Solvent-free Microwave Extraction of Essential Oils from *Laurus nobilis* and *Melissa officinalis*: Comparison with Conventional Hydro-distillation and Ultrasound Extraction. *Naturel Product communications*, 2010, 5, pp 111-114.
- [47]. K. LIU, M.L. LOTA, J. CASANOVA, F. TOMI. The Essential Oil of *Bupleurum fruticosum* L. from Corsica: A Comprehensive Study. *Chemistry and Biodiversity*, 2009, 6, pp 2244-2254.
- [48]. S. RIELA, M. BRUNO, C. FORMISANO, D. RIGANO, S. ROSSELLI, M.L. SALADINO, F. SENATORE. Effects of solvent-free microwave extraction on the chemical composition of essential oil of *Calamintha nepeta* (L.) Savi compared with the conventional production method. *Journal of Separation Science*, 2008, 31, pp 1110-1117.
- [49]. Z. WANG, L. DING, T. LI, X. ZHOU, L. WANG, H. ZHANG, L. LIU, Y. LI, Z. LIU, H. WANG, H. ZENG, H. HE. Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. and *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1102, pp 11-17.
- [50]. Z.M. WANG, L. DING, L. WANG, J. FENG, T.C. LI, X. ZHOU, H.Q. ZHANG. Fast Determination of Essential Oil from Dried Menthol Mint and Orange Peel by Solvent Free Microwave Extraction Using Carbonyl Iron Powder as the Microwave Absorption Medium. Chinese. *Journal of Chemistry*, 2006, 24, pp 649-652.
- [51]. Z. WANG, L. WANG, T. LI, X. ZHOU, L. DING, Y. YU, A. YU, H. ZHANG. Rapid analysis of the essential oils from dried *Illicium verum* Hook. f. and *Zingiber officinale* Rosc. by improved solvent-free microwave extraction with three types of microwave-absorption medium. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2006, 386, pp 1863-1868.
- [52]. F. CHEMAT, M.E. LUCCHESI, J. SMADJA, L. FAVERETTO, G. COLNAGHI, F. VISINONI. Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: A rapid, clean and environmentally friendly approach. *Analytical Chemistry*. Acta., 2006, 555, p 157.
- [53]. M. ABERT VIAN, X. FERNANDEZ, F. VISIONI, F. CHEMAT. Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1190, pp 14-17.
- [54]. F. CHEMAT, M. VIAN, F. VISIONI. Microwave hydrodiffusion for isolation of natural products. Brevet Européen, 2008, EP 1 955 749 A1.

- [55]. N. BOUSBIA, M. ABERTVIAN, M.A. FERHAT, B.Y. MEKLATI, F.CHEMAT. A new process for extraction of essential oil from *Citrus* peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering*, 2009, 90, pp 409-413.
- [56]. N. BOUSBIA, M. ABERTVIAN, M.A. FERHAT, E. PETICOLAS, B.Y. MEKLATI, F.CHEMAT, Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chemistry*, 2009, 14, pp 355-362.
- [57]. A. FARHAT, C. GINIES, M. ROMDHANE, F. CHEMAT. Eco-friendly and cleaner process for isolation of essential oil using microwave energy : Experimental and theoretical study. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216, pp 5077-5085.
- [58]. P. MAFART and E. BELIARD. Génie Industriel Alimentaire techniques séparatives. Techniques et Documentation-Lavoisier. Paris, 1993.
- [59]. K. DIBERT, E. CROS, J. ANDRIEU. Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee. *Journal of Food Engineering*, 10,3, 1989, Pages 199-214.
- [60]. J.J.BINBENET, A.DUQUENOY G. TRYSTRAM . Génie des procédés alimentaires des bases aux applications. Dunod, Paris. .W. L. Mc Cabe, J. C. Smith, P. Harriott 1993.
- [62]. LEYBROS, JEAN. et PIERRE. FREMEAUX. « Extraction solide-liquide » Aspects théoriques, [Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés](#) 1990, 21, pp [1762-8725](#),
- [63]. F. CHEMAT, Essential oils and aromas Green Extraction and Applications. Har krishan Bhalla et Sons, India "*Journal of Essential Oil-Bearing Plants*", 2009.
- [64]. A. GERGELY, CSIKTUSNADI. KISS, ESTHER. FORGACS, TIBOR. CSERHATI, TERESA. MOTA, HELENA. MORAIS, ANA. RAMOS. Optimisation of the microwave-assisted extraction of pigments from paprika (*Capsicum annuum* L.) powders. *Journal of Chromatography A*, 2000, 889, pp 41–49.
- [65]. N. SAHRAOUI, M. ABERT VIAN, I. BORNARD, C. BOUTEKEDJIRET, F. CHEMAT. Improved microwave steam distillation apparatus for isolation of essential oils Comparison with conventional steam distillation. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1210, pp 229-233.
- [66]. N. SAHRAOUI, M., VIAN, M. A. EL MAATAOUI. C BOUTEKEDJIRET, F. CHEMAT. Valorization of *citrus* by-products using Microwave Steam Distillation (MSD). *Innovative Food Science and Emerging Technology* , 2011, 12, pp 163–170.
- [67]. C. AHMET, GÖRENA, GÜLAC, TOPCU, GÖKHAN BILSELA, MINE BILSELA, ZEYNEP AYDOGMUS, AND JOHN M. PEZZUTOC. The chemical constituents and Biological Activity of Essential Oil of *Lavandula stoechas ssp Stoechas*. *Zeitschrift für Naturforschung, Journal of Chemical Sciences*, 2002, 57c, pp 797-800.
- [68]. RAYMOND CHAILLAN. .INRA: *National Agronomy Research Institute* Paris, 30 Mars, 2009.

- [69]. [ESIYOK D.](#), [OTLES S.](#), [AKCICEK E.](#) Herbs as a Food Source in Turkey. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2004, 5, pp 334-339.
- [70]. M. SKOULA, C. ABIDI AND E KOKKALOU. Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L.ssp.*Stoechas* growing wild in Crete. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1996, 24 (3), pp 255-260.
- [71]. R. HARDMAN. Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles, volume 29: *Lavender*. Taylor and Francis, London, 2002.
- [72]. Direction Départementale des Territoires de la Drôme : Chambre d'Agriculture de la Drôme – S. E. F. – Pôle végétal Filière « Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales » Janvier 2010.
- [73]. AOCS Official Method Ja 2a-46, American Oil Chemist' Society, Champaign, IL (1993).
- [74]. Association Française de Normalisation, détermination physico-chimique des huiles essentielles, .Ed. Afnor, Paris 1999.
- [75]. National Institute of Standards and Technology (Nist 2002), la librairie, Wiley 7
- [76] Van Den Dool. H, Kratz. F D. *Journal of Chromatography*, Vol. 11, pp.: 453, (1963)
- [77]. R.P. ADAMS. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publ, Carol Stream, IL, 2005.
- [78]. J.R.J. PARE, J.M.R. BELANGER. Instrumental Methods in Food Analysis. Elsevier, Amsterdam, 1997.
- [79]. J.C. PRALORAN, Les agrumes. Edition. MAISONNEUVE et LAROSE, P 565, Paris, 1971.
- [80]. W.T SWINGLE., P.C REECE. The Botany of *Citrus* and Relatives in “The *Citrus* Industry “. University. of California, Berkeley, W.Reuther, L.D. Batchelor et H.J. Webber, Editors, 1967, 1, pp 190-430.
- [81]. DE ROCCA SERRA D., OLLITRAULT P. L'Amélioration des Agrumes : les Ressources Génétiques, *Fruits*, 1992, 47, pp 115-134.
- [82]. L. BLONDEL. Classification botanique des espèces du genre *Citrus*. FRUITS, Centre de Documentation REGARDS Maison des Suds, 1978, 33, 11, pp. 695-720.
- [83]. Secrétariat de la CNUCED d'après les données statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture : Part de la production mondiale annuelle de 2000 à 2004.
- [84]. Ministère de l'Agriculture d'Algérie, 2006.
- [85]. Ministère de l'Agriculture d'Algérie, 2011.
- [86]. Nations Unies, 2010: World trade data of *citrus*.URL: <http://www.un.org>.

- [87]. M KRATCHANOVA, E. PAVLOVA, and PANCHEV, I. The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin. *Carbohydrate Polymers*, 2004, 56, pp 181-186.
- [88]. J BERNARD, *Science et Vie*, 2001, 214, pp. 68-70.
- [89]. J.GOUPY. Pratiquer les plans d'expériences. Edition Dunod, Paris, 2005, 551, pp 353-394.
- [90]. P DAGNELIE. Principe d'expérimentation : planification des expériences et analyse de leurs résultats. Edition : les presses agronomiques de Gembloux .Belgique 2003.
- [91]. J WANG, W WAN. Experimental design methods for fermentative hydrogen production: A review, *International Journal of Hydrogen Energy*, 2009, 34, pp. 235-244.
- [92]. G.CUOCO, C. MATHE, P ARCHIER, F. CHEMAT AND C VIEILLES CAZES. A multivariate study of the performance of an ultrasound assisted madder dyes extraction and characterization by liquid chromatography-photodiode array detection, *Ultrasonics Sonochemistry*, 2009, 16, pp. 75-82.
- [93]. G.E.P BOX, AND K.B. WILSON, On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, 1951, 13, pp 1-45.
- [94]. J. YOON. Application of experimental design and optimization to PFC model calibration in uniaxial compression simulation. *International Journal of Rock Mechanics and Mining Sciences*, 2007, 44, pp 871-889.
- [95]. L. ERIKSSON, E. JOHANSSON, N. KETTANEH-WOLD, C. WIKSTRÖM, and WOLD, S. Design of Experiments, Principles and Applications. Umetrics Academy, Sweden, 2000.
- [96]. DENNY EFK, Distillation of the lavender type oils. Theory and practice. *Developments in Food Science* 18:85 (1988).
- [97]. MORIN P, GUNTHER C, PEYRON L and RICHARD H. Study of the physical and chemical phenomena involved in steam distillation. *Bulletin de Société Chimique de France* 5, 1985, pp 921–930.
- [98]. E-H BENYOUSSEF, S HASNI, R BELABBES AND J.M BESSIERE. Modélisation du transfert de matière lors de l'extraction de l'huile essentielle des fruits de coriandre. *Journal of chemical Engineering*, 2002, 85, pp 1–5.
- [99]. M. ROMDHANE, C. TIZAOUI, The kinetic modelling of a steam distillation unit for the extraction of aniseed (*Pimpinella Anisum*) essential oil. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2005, 80, pp 759–766.
- [100]. SVETOMIR Z. MILOJEVIĆ A, TAMARA D. STOJANOVIĆ B, RADOSAV PALIĆ B, MIODRAG L. LAZIĆ C, VLADA B. VELJKOVIĆ C. Kinetics of distillation of essential oil from comminuted ripe juniper (*Juniperus communis* L.) berries. *Biochemical Engineering Journal* 39; 2008 pp 547–553.

- [101]. V.G. de BILLERBEK. Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *phytothérapie* 5. 2007, 250, pp 249-253.
- [102]. K. E. COOPER, and D. WOODMADN. The diffusion of antisepticst through agar gels, with special reference to the agar cup assay method of estimating the activity of penicillin. *Journal Pathol. Bacteriol*, 1946, 58, p75.
- [103]. M-P. SCHROEDER et MESSING A-M. Methods for comparing the antibacterial activity of essential oils and other aqueous insoluble compounds. *Bulletin of the National Formulary Committee*, 1949, 17, pp 213-218.
- [104]. J.-L FAUCHERE, and J.-L AVRIL, Bactériologie générale et médicale. Ellipses Editions, p 365. Paris, 2002.
- [105]. P.COURVAIN, R. LECLERCQ, E. BINGEN. Antibiogramme. Edition eska. 2006.
- [106]. D. E CONNER, L. R. BEUCHAT. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *Journal of Food Science*. 1984, 49, pp.429-434.
- [107]. K. ADAM, A. SIVROPOLOU, S. KOKKINI, T. LANARAS, M. ARSENAKIS. Antifungal Activities of *Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential Oils against Human Pathogenic Fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1998, 46 (6), pp 1739-1745.
- [108]. S.C. CHAO, D. G. YOUNG, G. J. OBERG. Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. *Journal of Essential Oil Research*. 2000, 12, pp 639-649.
- [109]. KALOUSTIAN, J. CHEVAKIER. C. MIKAIL. M. MARTINO. L. ABOU. M.F. VERGNES. Etude de six huiles essentielles: Composition chimique et activité antimicrobienne. *Phytothérapie* 6, 2008, pp 160-164.
- [110]. Y. ROLLAND. Actualités des lipides en cosmétique : Antioxydants naturels végétaux. *OCL*, 2004, 11, pp 419 – 424.
- [111]. B.BOYD, C.FORD, C.KOEPKE MICHAELE, K.GARY, E.HORN, S.MC ANALLEY et B.MC ANALLEY. Étude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience and Nutrition*, 2003, 4(6), 7p
- [112] G.VANSAN. Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium «Antioxydant et alimentation». Institut Danone. 2004.
- [113] K.P.SVOBODA et J.B.HAMPSON. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants : antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activites. Plant Biology Depertement, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA65HW. 1999.
- [114]. A. MANSOURI, G. EMBAREK, E. KOKKALOU, P. KEFALAS. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 2005, 89, pp 411- 420.

- [115]. C. SANCHEZ-MORENO. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*, 2002, 8, pp 121-137.
- [116]. M. LAHLOU, Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 2004, 18, pp 435-448.
- [117]. N.DIDRY, L. DUBREUIL, M. Pinka. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*. [69, 1](#), 1994, pp 25–28.

تطوير طريقة جديدة لاستخلاص الزيوت الأساسية بمساعدة الميكروويف : تطبيقه لتثمين النباتات المحلية ومقارنته مع الطرق التقليدية

ملخص:

هدف هذه الرسالة هو تطوير وتصميم طريقة جديدة لاستخراج الزيوت الأساسية، " الاستخلاص ببخار الماء بمساعدة الميكروويف تعتمد هذه الطريقة على مزيج من تقنية الاستخلاص التقليدية : الاستخلاص ببخار الماء والتدفئة بالميكروويف كتكنولوجية تكثيف. تم تطبيق عملية EVMO لاستخراج الزيوت الأساسية من زهور الخزامى وقشر البرتقال. كما قوم تأثير طرق الاستخلاص على المرودود و نوعية المستخلصات. أدت الدراسة المعملية، و الدراسة بالطريقة التخطيطية إلى الحصول على الشروط المثلى للاستخلاص. و أبرزت دراسة حركية الاستخلاص ببخار الماء بمساعدة الميكروويف سيرورة هذه الطريقة. مقارنة EVMO بالطرق التقليدية و الطرق الجديدة للاستخلاص ادلت بأنها تقدم عدة ايجانبات في استخلاص الزيوت الأساسية ذات جودة. الطريقة EVMO تظهر كطريقة "الينة" لتوفير الوقت وقدرًا كبيرًا من الطاقة وتقليل انبعاث CO₂ في الغلاف الجوي. الكلمات المفتاحية: استخراج، ميكروويف، الطرق الخضراء، الزيوت الأساسية، الاستخلاص ببخار الماء .

Mise au point d'un nouveau procédé d'extraction d'huiles essentielles assisté par micro-ondes : Application à la valorisation de plantes locales et comparaison avec les procédés conventionnels

Résumé

Un nouveau procédé d'extraction des huiles essentielles «Entraînement à la Vapeur Assisté par Micro-ondes (EVMO) », a été développé, mis au point et optimisé. Ce procédé original, est basé sur la combinaison d'une technique d'extraction conventionnelle : l'entraînement à la vapeur d'eau (EV) et le chauffage micro-ondes comme technologie innovante d'intensification. L'EVMO a été appliqué à l'extraction des huiles essentielles de fleurs de lavande et d'écorces d'oranges. L'influence des paramètres opératoires a été quantifiée et des conditions optimales d'extraction ont été dégagées. Le suivi des cinétiques d'extraction a montré que l'EVMO est plus performant avec un gain considérable dans la durée de traitement. Comparé aussi bien à la méthode traditionnelle (EV), souvent longue et fastidieuse, qu'aux techniques innovantes existantes, l'EVMO présente de nombreux avantages pour l'obtention d'huiles essentielles de qualité. Les aspects économiques (rapidité d'exécution et diminution de la consommation énergétique) et écologiques (diminution des rejets en CO₂), ainsi que sa mise en œuvre facile ont été mis en évidence et permettent de souligner l'approche «verte» véhiculée par ce procédé.

Mots-clés : Extraction, Micro-ondes, Entraînement à la vapeur, Huile essentielle, Procédé vert.

Development of a new method to essential oils extraction assisted by microwaves: Application to the valorization of local plants and comparison with conventional methods

Abstract

Microwave steam distillation (MSD) was developed as a cleaner and new process design for isolation of essential oils and was compared to conventional steam distillation (SD). This original process is based on the combination of conventional extraction technique: the steam distillation (SD) and the heating microwaves like innovating technology of intensification. MSD was applied and tested using two aromatic matrixes: lavender flowers and orange peels. The effect of the process parameters on the yield and quality of essential oils were quantified. Optimal operating conditions were determined. Kinetic's study allowed to highlight that MSD is more powerful with a considerable profit in the duration of treatment. Compared as well with the traditional method (SD) often long and tiresome, as at the existing innovating techniques, the MSD has many advantages for isolation of essential oils of quality. The economic aspects (speed of execution and reduction in the energy consumption) and ecological (reduction in the CO₂ reject), as its easy implementation were highlighted and underline the "Green" approach conveyed by this process.

Keywords: Extraction, Microwaves, Steam distillation, Essential oil, Green process.