

N° d'ordre : 2264

THESE

Présentée pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE

ECOLE DOCTORALE: Sciences de procédés

SPECIALITE : Sciences des Agroressources

Par

Leon Raul HERNANDEZ OCHOA

**SUBSTITUTION DE SOLVANTS ET MATIERES ACTIVES DE
SYNTHESE PAR UN COMBINE « SOLVANT/ACTIF »
D'ORIGINE VEGETALE**

Soutenue le 19 octobre 2005 devant le jury composé par

M.M	Marie Thérèse MAURETTE Directeur de recherche CNRS	}	Rapporteurs
M	Joaquin PLUMET Professeur à l'Université de Complutense de Madrid		
M	Jean-Marie BESSIERE Professeur a l'ENSC de Montpellier		Président
	Antoine GASET Professeur à l'INP de Toulouse	}	Examineurs
	Zéphirin MOULOUNGUI* Directeur de recherche INRA à l'INPT-ENSIACET- Toulouse		
	Gérard VILAREM* Directeur du CRITT CATAR Agroressources		
	Pierre GAILLARD Directeur Service de Culture Spécialise de la Chambre d'Agriculture		
	Javier SANCHEZ-MONDRAGON Professeur à l'INAOE Puebla, Mexique.		

* Directeurs de recherche

A mis *padres*

Yo solo sigo su ejemplo y es gracias a ustedes que yo he llegado hasta aquí

A mis *hermanos* con quienes la vida me ha permitido compartir lo mejor de ella y por quienes siento una admiración enorme

A mi *abuela y mi tía* que siempre han estado presentes a lo largo de mi vida.

Les recherches qui font l'objet de ce mémoire ont été menées au sein du Laboratoire de Chimie Agroindustrielle de l'École Nationale Supérieure des Ingénieurs en Arts Chimiques et Technologiques de Toulouse, dirigé par le **Professeur Elisabeth BORREDON**.

Je tiens à remercier **Madame le Professeur M.T. MAURETTE**, pour avoir accepté de juger ce travail de thèse et d'en être le rapporteur.

Monsieur le Professeur J. PLUMET, je vous adresse mes remerciements pour avoir accepté de juger ce travail et d'en être le rapporteur. Je vous remercie pour votre présence lors de la soutenance de cette thèse.

Monsieur le Professeur J.M. BESSIERE, je suis très sensible à l'intérêt que vous avez manifesté à l'égard de ce travail et je vous remercie d'avoir examiné ce manuscrit.

Je tiens à remercier l'ensemble des partenaires qui ont participé à la réalisation de ce projet, principalement à **Monsieur P. GUILLARD**, directeur de l'association AIREL, qui nous a fourni la matière première végétale sans laquelle ce projet n'aurait pu être mené à bien.

Professeur Gérard VILAREM, je tiens à vous remercier pour m'avoir accueilli dans votre groupe. Je vous suis très reconnaissant pour la confiance que vous m'avez accordée, votre gentillesse, votre disponibilité, et vos encouragements. Votre disponibilité et votre présence pendant les moments difficiles m'ont été indispensables.

Professeur Zéphirin MOULOUNGUI, je vous remercie pour avoir dirigé ce travail. Je tiens à manifester ma reconnaissance pour votre gentillesse, votre rigueur et votre façon de travailler et surtout pour votre patience dans la correction de ce mémoire. C'est une chance inouïe d'avoir eu l'occasion de travailler sous votre direction au sein du groupe lipo-oléo-chimie. Vous avez tout mon respect et toute mon admiration.

Monsieur le Professeur J. SANCHEZ-MONDRAGON, je vous suis reconnaissant d'avoir accepté de faire partie des membres du jury de ma thèse. Je tiens à vous remercier pour tout ce que vous m'avez apporté tout au long de ma vie professionnelle. Vous avez su faire partager votre expérience et vous m'avez guidé dans le monde de la recherche scientifique. Merci d'avoir cru en moi.

Je tiens à remercier **Monsieur le Professeur A. GASET**, je vous suis reconnaissant de m'avoir accueilli de façon chaleureuse dans votre laboratoire et pour la confiance que vous m'avez témoignée. Je tiens à vous exprimer ma profonde reconnaissance pour votre aide dans tous les moments où j'en avais besoin, pour m'avoir fait découvrir et partager le « monde » des Agro-ressources.

Je remercie également à **Mme Christine RAYNAUD, Didier NICOLAS, Géraldine GIACINTI, Anne DARNAUD, Eric LACROUX, et Yao MEDINA-GONZALEZ** pour leurs contributions à la réalisation de ce travail de thèse

Merci à vous, **Abraham, Angelica, Almudena, Carlos P., Céline, Colin, Dana, Gaëlle, Jérôme, Jesus, Laure, Michel L., Olaf, Sam, Samedy, Stéphane, Yao** ainsi que mes amis de **la Communauté Mexicaine de Toulouse** qui m'avez accordé un peu de votre temps pour tous les discussions scientifiques que l'on a pu avoir, pour vos conseils et votre soutien. Et aussi pour tous les moments passés ensemble à l'extérieur du laboratoire que ce soit pour les soirées dansantes, autour de plats typiques de chaque pays et régions de France, de week-end au ski.... De statut de collègues de laboratoire, vous occupez désormais une place d'amis....

Je tiens également à remercier les autres membres du laboratoire pour leur sympathie, leurs conseils. Merci également aux secrétaires ainsi qu'au personnel technique de l'atelier pour leur aide au cours de ce travail.

Quiero dedicar este trabajo de tesis primeramente, a **DIOS**, por haberme permitido llegar hasta este momento tan importante en mi vida, por guiarme siempre sobre el camino que llega hacia él.

A mi familia, a **mi Papa y Mama**, de quienes lo unico que he buscado, es que se sientan orgullosos de mi, siguiendo el ejemplo que ellos me han enseñado. Por ser durante todos estos años la fuerza principal de mis esfuerzos y por toda la confianza que depositaron en mi al aceptar este reto juntos.

A **mis Hermanos**, con quienes he aprendido el valor de la vida, con quienes ademas de compartir, he aprendido a amar. Dios me dio la oportunidad de crecer rodeado de tres personas maravillosas, cada uno de ellos merece todo mi respeto y admiracion.

A **mi Abuela y mi tia Tere** por que en todo momento sus palabras de amor y aliento, fueron parte importante en el desarrollo de este proyecto, su presencia en todo momento me permitio soportar lo momentos dificiles con todas sus bendiciones y amor.

A **Céline** (mi guera), por su ayuda en todo momento, en la redaccion del manuscrito de tesis, en la realizacion de la presentacion oral, pero principalmente por haber compartido a mi lado gran parte de esta experiencia, gracias por tu comprension, tu paciencia, tu fuerza en los momentos dificiles y sobre todo por tu amor.

A mi gran amigo y hermano **Jesus Tejeda**, por haber compartido una gran amistad a lo largo de este proyecto de vida, por todo el apoyo aportado durante los momentos dificiles, por la gran amistad, por tu sinceridad. Toda mi gran admiracion y respeto para ti, que formas parte importante de mi familia.

A mis compañeros y grandes amigos de la **Asociacion Mexicana de Agreorecursos**, con los que no solo comparto ideas y anhelos, sino tambien he compartido los mejores y peores momentos de este doctorado.

Finalmente quiero dedicar este trabajo de tesis a mis profesores (**Estela VERA, Modesto MENDEZ, Jose Luis PINEDA; Martha DOMINGUEZ**), sus enseñanzas y comentarios siempre positivos me permitieron tomar la desicion importante de continuar con este proyecto de vida, cada uno de ellos ha sido pieza importante en mi desarrollo personal y cientifico.

Y a ti, que nunca te das por vencido y sueñas....

Introduction

L'utilisation de matières premières renouvelables d'origine agricole pour la fabrication de bioproduits dans le domaine de la chimie correspond à une double nécessité:

- d'une part, offrir une alternative aux ressources fossiles et
- d'autre part, répondre aux défis environnementaux actuels: lutte contre l'effet de serre, réduction de pollutions (air, sol, eau), faible impact toxicologique et biodégradabilité de produits.

En Europe, 23% des composés organiques volatils (COV) rejetés dans l'atmosphère, proviennent des solvants. Du fait de leur polarité et sans composés aromatiques les solvants d'origine végétale, tels que les esters éthyliques, trouvent une place de plus en plus importante en tant qu'agent de substitution aux solvants d'origine pétrochimique.

Un exemple industriel réussi concerne l'utilisation des bio-solvants dans la formulation des produits phytosanitaires. En effet, si les traitements phytosanitaires sont indispensables à la conduite des cultures, deux constats s'imposent : d'une part, il est estimé qu'entre 1 et 10% de la matière active atteint sa cible biochimique et, d'autre part, l'utilisation des produits phytosanitaires est désignée comme une des sources majeures de pollution des effluents. Les solvants sont utilisés dans les concentrés émulsifiables où ils permettent la solubilisation des matières actives.

Cette exploitation du potentiel chimique des Agroressources passe par une première étape d'extraction des composés spécifiques d'une espèce botanique sélectionnée. Ceux-ci, en général, correspondent à des molécules à forte valeur ajoutée, mais présents en faible quantité. De nouveaux procédés d'extraction doivent donc être utilisés de façon à obtenir ces constituants dans une fraction de concentration maximale, et dans un état chimique le plus proche possible de leur structure native.

Parmi ces molécules, on rencontre des composés ayant une activité biologique, ainsi qu'une activité olfactive. Ces composés font partie d'un ensemble dénommé « huile essentielle ».

L'étude développée se propose de mettre en œuvre diverses huiles essentielles, émulsifiables ou non, des esters gras compatibles avec les huiles essentielles, entrant seuls, ou par combinaison, dans la formulation des produits phytosanitaires pour jouer le rôle de «solvants actifs».

Plus particulièrement il sera intéressant d'étudier les propriétés « solvants » des esters éthyliques des acides gras à chaîne courte et impaire obtenus à partir de l'huile de ricin dans l'extraction des huiles essentielles sélectionnées, présentant une ou plusieurs activités biologiques, pour substituer certains solvants et matières actives de synthèse par un combiné «solvant/actif». Ce type de combiné devrait trouver des applications dans les domaines phytosanitaire et cosmétique.

Dans ce contexte, les verrous technologiques à lever ont été les suivants:

- réaliser les combinés en faisant appel à des méthodes d'extraction, de synthèse et de solubilisation.
- démontrer l'efficacité et l'innocuité primaire des «combinés» (Efficacité dans le domaine antibactérien et antifongique essentiellement).

Les travaux de thèse décrits dans ce manuscrit ont été coordonnés par le Laboratoire LCA-CATAR. Il rassemble comme partenaires : la société Bayer CropScience, charge de test d'efficacité et la société AIREL (Sainte-livrade) responsable de la mise en place des cultures nécessaires au projet. Ces travaux ont également fait l'objet d'un soutien financier AGRICE.

Ce mémoire comprend donc 3 chapitres : le **premier Chapitre** est divisé en deux parties. La première partie propose une mise au point bibliographique sur les huiles essentielles : le procédé classique d'extraction des huiles essentielles: *l'hydrodistillation*, ainsi que l'étude réalisée sur deux nouvelles méthodes d'extraction : la *co-hydrodistillation* et *l'extraction liquide-liquide* en présence des esters éthyliques.

Et la deuxième partie traite de l'obtention des esters éthyliques d'acides gras à chaîne courte et impaire à partir de l'huile de ricin, en situant leurs propriétés physiques et biologiques de ces derniers afin de mieux appréhender le rôle qu'ils pourraient jouer en tant que adjuvants et co-solvant d'extraction lors du combiné solvant/actif et dans l'extraction des huiles essentielles.

Le **deuxième Chapitre** ressemble les Matériels et Méthodes. Nous aborderons les conditions opératoires des procédés employés que ce soit à l'échelle laboratoire ou en unité pilote. Puis, nous décrirons la réaction d'estérification des acides gras à chaîne courte et impaire.

Enfin, dans le **troisième** et dernier **Chapitre** nous nous consacrerons dans un premier temps à l'analyse des résultats obtenus par hydrodistillation à l'échelle laboratoire et en unité pilote des plantes sélectionnées pour leurs propriétés biologiques.

Dans un deuxième temps nous nous intéresserons à l'estérification des esters éthyliques d'acides gras issus de l'huile de ricin en considérant l'optimisation du procédé.

Dans un troisième temps et quatrième temps, nous aborderons respectivement l'utilisation des esters éthyliques des acides gras produits, comme co-solvant d'extraction des huiles essentielles. D'abord dans le procédé appelé *co-hydrodistillation*, puis dans le procédé *d'extraction liquide-liquide*. Les essais effectués par ces procédés en unité pilote seront également présentés.

Et finalement, dans la cinquième partie de ce chapitre nous évoquerons l'étude des propriétés physico-chimiques des extraits obtenus par les méthodes employées, constitués des huiles essentielles et des esters éthyliques d'acides gras, ainsi que les résultats préliminaires des tests biologiques réalisés par la société BAYER Crops Science.

Chapitre I:

Etude bibliographique

I.A EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

I.A1 LES HUILES ESSENTIELLES

I.A1.1 Définition et rôle écologique

La norme AFNOR NF T 75-006 définit l'huile essentielle comme: « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques.

Dans la plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs (origan), feuilles (citronnelle, eucalyptus), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vétiver), rhizomes (acore), fruits (badiane) ou graines (carvi). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles, classées parmi les métabolites secondaires, se font généralement au niveau des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur la surface de la plante [2]. Par exemple, pour la famille des *Lamiaceae*, elle se situe dans les poils sécréteurs, chez les *Myrtaceae* au niveau des poches sécrétrices ou encore des canaux sécréteurs pour les *Asteraceae*.

Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les terpénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination, mais aussi lors des interactions végétal-animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction de pollinisateurs [3].

Par ailleurs, les plantes aromatiques productrices d'huiles essentielles, ont fait l'objet de diverses recherches en particulier dans le domaine de la parfumerie.

Les travaux de J.Q. CU et col. [4], reprennent ceux de TEDDER et BRUNECHON [5,2], où il apparaît clairement comment les molécules très volatiles sont synthétisées à partir d'unités méthyl-2-buta-1,3-diène (isoprène). Les diverses combinaisons de ces unités, par réaction d'addition, conduisent aux terpènes, sesquiterpènes, diterpènes, mais aussi à leurs produits d'oxydation tels que les alcools, aldéhydes, cétones, éthers, et esters terpéniques.

L'ensemble de ces composés est produit dans les cellules sécrétrices, conférant à la plante une odeur caractéristique. Celle-ci peut alors être libérée de la plante et récupérée par diverses méthodes allant de l'enfleurage, pour les odeurs les plus délicates (fleur), à l'extraction à l'aide de solvants organiques [4].

Une gamme de produits à odeur plus ou moins prononcée selon la concentration en composés et en composés volatils recueillis, est alors obtenue. Les huiles essentielles produites par hydrodistillation, entraînement à la vapeur ou expression de l'écorce des fruits, sont les produits les plus concentrés en composés olfactifs [5].

Chacun de ces composés de part leur volatilité dégage une odeur propre. Ainsi certaines plantes peuvent avoir une odeur similaire due à une molécule commune présente en quantité notable dans l'huile essentielle. Dans ces conditions, une fois le ou les composés responsables d'une odeur identifiés, si le caractère olfactif de ces composés s'avère intéressant, il serait alors rentable, selon le contexte économique, de produire des espèces végétales susceptibles de fournir une huile essentielle à haute teneur moléculaire en composés recherchés, et donc généralement de meilleure qualité [5].

De manière générale, il est assez aléatoire d'évaluer la qualité olfactive d'une huile essentielle d'après la composition chimique de celle-ci, où des rapprochements heureux aussi bien que des dégradations de composés aromatiques sont induites. Seul, un examen organoleptique permettra d'évaluer ces interactions moléculaires. Les principaux atouts olfactifs d'une huile essentielle ne tiennent pas seulement compte de la composition chimique de l'essence mais aussi de son examen organoleptique, de ses constantes physiques permettant de déceler toute adultération [2].

I.A1.2 Caractéristiques économiques

Si de nos jours quelques centaines de plantes aromatiques, parmi d'innombrables espèces recensées dans la nature, sont exploitées à l'échelle commerciale, c'est en partie parce que les facteurs agronomiques, climatiques, botaniques et olfactifs sont limitatifs mais d'autres critères sont aussi à prendre en compte.

I.A1.3 Caractéristiques traditionnelles [6]

Un certain nombre de plantes médicinales sont encore utilisées de nos jours sous forme de décoctions et infusions mais la plupart d'entre elles ont été délaissées au profit de produits pharmaceutiques de synthèse. Cependant, les connaissances actuelles permettent d'analyser ces plantes et souvent de comprendre l'activité préconisée par nos ancêtres.

Une relation entre la structure chimique et l'activité biologique est alors tentante, aussi la production de molécules naturelles pourrait entrer dans la composition de médicaments moins agressifs vis-à-vis de l'organisme, ou à des fins industrielles précédemment exposées. Cette dernière perspective permet d'élargir le champ de valorisation des plantes aromatiques, (autrefois restreint du point de vue économique, à l'extraction de molécules olfactives), par l'exploitation des nombreuses et diverses activités biologiques, substantiellement évoquées par la médecine traditionnelle, que nous allons recenser et corréler à certains types de structures chimiques. Ce dernier travail fait apparaître des molécules « bioactives » dans des espèces référencées par la médecine traditionnelle supposant ainsi des activités biologiques [6].

I.A1.4 Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires [7] ou au niveau de la microflore vaginale [8] et d'origine fongique contre les dermatophytes [9]. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques [10] qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques. Le thymol est très irritant, astringent et caustique. La dose de thymol applicable sur la peau et les muqueuses est de 0,5%. Ingré à la dose de 2 g ou à plus fortes doses, il est responsable de gastralgies avec nausées [11].

Dans les domaines phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes [11] et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires [12].

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des *Labiatae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc... L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles les plus actives [6,13]. Son composé majoritaire, le carvacrol (No. CAS 499-75-2), possède également une forte activité antimicrobienne [14]. D'après les travaux de SIVROPOULOU et col. [10], et HUDAIB et col. [15], les huiles de menthe et d'origan présentent des activités antibactériennes remarquables contre les souches à Gram⁺ et à Gram⁻.

Etant donné la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité

fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. CHAUMONT et LEGER [9] ont testé 12 composés aromatiques vis-à-vis de huit souches pathogènes pour l'homme *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Microsporium canis* et 5 *Trichophyton spp.*

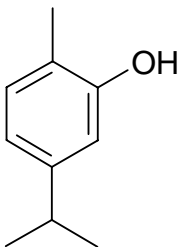
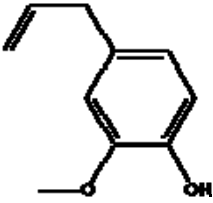
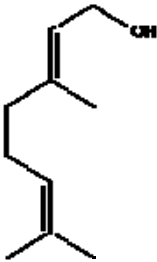
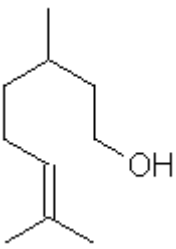
Ils concluent que les phénols (eugénol (No. CAS 97-53-0), chavicol (No. CAS 501-92-8), 4-allyl-2-6-diméthoxyphénol (No. CAS 6627-88-9)) sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (cinnamique (No. CAS 104-55-2) et hydrocinnamique (No. CAS 104-53-0)) présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative. KURITA et col [16,17], ont classé les composés purs selon leur activité antifongique vis-à-vis de sept champignons.

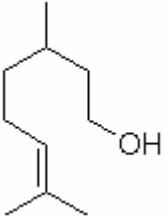
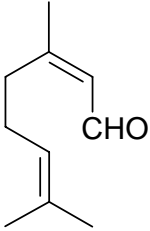
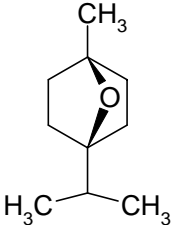
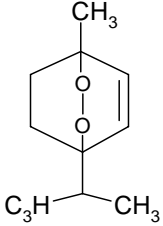
Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonctions chimiques:

⊕ **Phénols** > **Alcools** > **Aldéhydes** > **Cétones** > **Ethers** > **Hydrocarbures** ⊖

Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-n-propylphénol>thymol>isoeugénol>eugénol). L'addition de groupements alkyl au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique. Par conséquent, un certain degré d'hydrophobicité des composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques paraît donc requis pour exprimer une caractéristique antifongique optimale.

L'activité des terpènes des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique. Les travaux de ZAKARYA et col [18] ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait. Ils donnent un exemple de variations qualitatives et quantitatives de 21 espèces. Dans le *tableau I.1* sont répertoriés les caractères physico-chimiques, les formules développées, ainsi que les propriétés de quelques terpènes.

Composés aromatiques	Formules développées	Caractères physico chimiques	Teneur dans quelques plantes	Propriétés
Phénols	Exemples  Carvacrol (No. CAS 499-75-2)	Densité : 0.98g/ml PM : 150.2	Thym (<i>T. vulgaris</i>) 33% [19] Origan (<i>origanum vulgare</i>) 76% [20]	Stimulantes, Toniques Antiseptiques Bactéricides Fongicides Anti-virale Antiparasitaires Irritantes
	 Eugénol (No. CAS 97-53-0)	Densité : 1.07g/ml PM: 164.2	Girofle (<i>S. aromaticum</i>) 82% [19] Bay St Thomas (<i>P. racemosa</i>) 60% [19] Poivre (<i>P. dioica</i>) 54% [21]	Stimulantes, Toniques Antiseptiques Bactéricides Fongicides Anti-virale Antiparasitaires Irritantes
Alcools Terpéniques	Exemples  Géranol (No. CAS 106-24-1)	Densité : 0.88g/ml PM : 154.3	Palmarosa (<i>C. martinii</i>) 75-95% [22] (<i>C. helichrysum spp.</i>) 80-90% [23]	Anti-inflammatoire Antiseptiques, Bactéricides, Fongicides, Anti-virale, Neurotoniques
	 Citronellol (No. CAS 106-22-9)	Densité : 0.86 g/ml PM : 156,3	Citronelle (<i>C. winterianus</i>) 12-18% [24] (<i>C. nardus</i>) 20-40% [25] Citronelle (<i>C. winterianus</i>) 11-15% [24] (<i>C. nardus</i>) 10-20% [26]	

<p>Aldéhydes Terpéniques</p>	<p>Exemples :</p>  <p>Citronellal (No. CAS 106-23-0)</p>  <p>Citral (No. CAS 5392-40-5)</p>	<p>Densité : 0.89 g/ml</p> <p>PM : 154,30</p> <p>Densité : 0.89 g/ml</p> <p>PM : 154,3 :</p>	<p>Citronelle (<i>C. winterianus</i>) 35-45% [24]</p> <p>Eucalyptus citronne (<i>E. Citriodora</i>) 90% [27]</p> <p>Lemongrass (<i>C. citratus</i>) 70-80% [22]</p> <p>Mélisse citronnée (<i>M. officinale</i>) 50% [28]</p>	<p>Antifongiques, Sporicidas, Toxicité liée à la présence du groupe aldéhyde Insecticide</p> <p>Antifongiques Sporicidas, Toxicité liée à la présence du groupe aldéhyde Insecticide</p>
<p>Ether-oxides, péroxydes,</p>	<p>Exemple :</p>  <p>Cinéole (No. CAS 470-82-6)</p>  <p>Ascaridole (No. CAS 512-85-6)</p>	<p>Densité : 0,92 g/ml</p> <p>PM : 154,2</p> <p>Densité : 1,01 g/ml</p> <p>PM : 168,2</p>	<p>Eucalyptus (<i>Eucalyptus globulus</i>) 56% [29]</p> <p>Epazote (<i>Ch. Ambrosiodes</i>) 61% [30]</p>	<p>Antibactériens Antifongiques Insecticides L'ascaridole est fortement réactif et toxique (par la liaison -O-O-)</p>

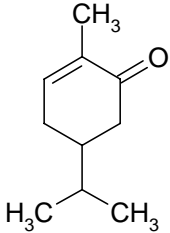
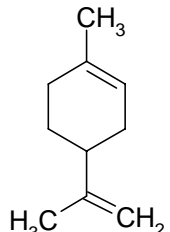
<p>Cétones</p>	<p>Exemple :</p>  <p>Carvone (No. CAS 99-49-0)</p>	<p>Densité : 0,96 g/ml</p> <p>PM : 150,2</p>	<p>Carvi (<i>Carum carvi</i>), 50% [6]</p>	<p>Calmantes, Antivirales, Antifongiques Neurotoxiques Anti-épileptique</p>
<p>Hydrocarbures aliphatiques, sesquiterpènes</p>	<p>Exemple :</p>  <p>Limonene (No. CAS 5989-54-8)</p>	<p>Densité : 0,96 g/ml</p> <p>PM : 150,2</p>	<p>Carvi (<i>Carum carvi</i>), 45% [6]</p>	<p>Fongistatique Bactériostatique Insecticides Nematicide Herbicide</p>

Tableau I.1 Classement et activité biologique de molécules aromatiques selon leur fonction chimique.

I.A2 PROCEDE CLASSIQUE D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

D'une façon générale, la distillation est un procédé de séparation basé sur la différence de composition entre un liquide et la vapeur engendrée. La technique implique la condensation de la vapeur et la récupération des fractions liquides résultantes. On parle de distillation simple ou fractionnée lorsqu'il s'agit de liquides miscibles. On peut également procéder à la distillation de liquides non miscibles. C'est le cas de l'hydrodistillation des huiles essentielles [31].

I.A2.1 Principe de l'entraînement à la vapeur d'eau des huiles essentielles

Le procédé, correspondant à une distillation hétérogène, met en jeu l'application de deux lois physiques [32,33]:

- *La loi de Dalton*: dans laquelle la pression du mélange de vapeurs est égale à la somme des tensions de vapeur de divers constituants.

$$P_T = T_H + T_E$$

- *La loi de Raoult*: le rapport des quantités des entités distillées simultanément est fonction de la tension et des densités des vapeurs (donc des masses moléculaires) à la température de distillation choisie.

$$\frac{\text{Mole H}}{\text{Mole E}} = \frac{T_H}{T_E}$$

La relation de ces deux lois donne respectivement la pression totale et la composition des vapeurs en fonction des pressions partielles, d'où le calcul du taux de corps entraîné appelé également rapport d'entraînement :

$$R = \frac{T_H}{T_E} * \frac{M^{\circ}_H}{M^{\circ}_E} = \frac{P_H}{P_E}$$

H et E désignent respectivement l'huile essentielle et l'eau

P_T = Pression totale

T= Tension de vapeur

M° =masse molaire

P= poids

R= rapport d'entraînement

La température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeurs de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation. Elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange eau/huile essentielle distillée possède une température inférieure à 100°C à pression atmosphérique (généralement proche de 100°C en raison de la faible tension des constituants odorants) alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. La *figure I.1* montre l'évolution de la température de co-distillation d'un mélange hétérogène d'eau et d'huile essentielle.

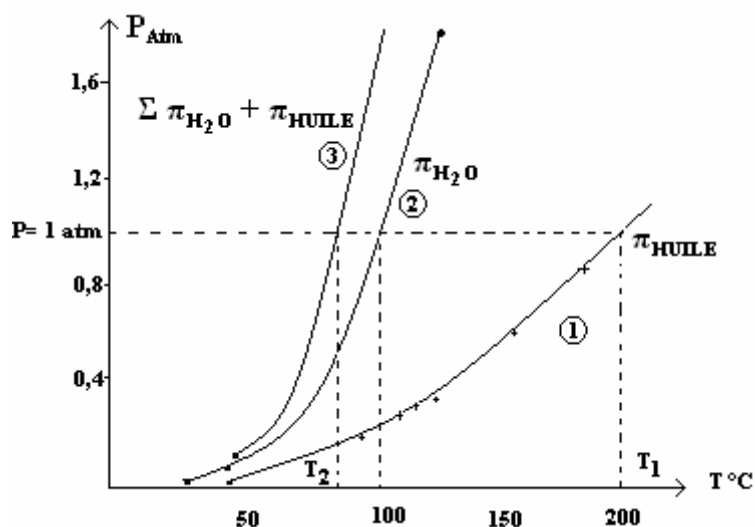


Figure I.1 Evolution des températures de distillation de l'eau et l'huile essentielle, et du mélange eau/huile essentielle en fonction de la pression du milieu [34].

Pendant l'entraînement à la vapeur, les liquides non miscibles semblent distiller simultanément comme s'il s'agissait de deux compartiments séparés (*figure I.2*), bien qu'en pratique, ils soient mêlés. Or leurs vapeurs constituent un gaz homogène. On parle alors de co-distillation [32]. Dans les deux cas, représentés dans la *figure I.2*, si la pression partielle de l'eau est égale à celle de l'huile ($P^{\circ}_E = P^{\circ}_H$), nous avons respectivement :

I

Phase liquide : mole d'eau = mole d'huile

Phase vapeur : mole d'eau = mole d'huile

II

mole d'eau > mole d'huile

mole d'eau = mole d'huile

La pression totale (P_T) est indépendante des quantités d'eau et d'huile :

$$P_T = P^{\circ}_E + P^{\circ}_H$$

Où P° désigne la pression partielle.

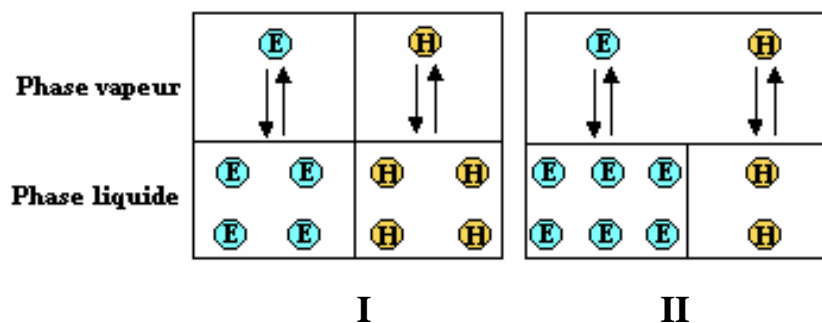


Figure I.2 Répartition de l'eau (E) et de l'huile essentielle (H) entre les phases liquide et vapeur en fonction de la pression lors de l'hydrodistillation [32].

Deux méthodes de distillation sont principalement utilisées : l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement au procédé d'hydrodistillation puisque c'est un équipement que nous possédons au sein de notre laboratoire, qui est le plus adapté aux travaux que nous avons envisagés concernant les propriétés comme co-solvant de l'ester dans un mélange binaire eau/ester.

I.A2.2 Procédé classique d'extraction: l'hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage communément appelé cohobage (*Figure I.3*).

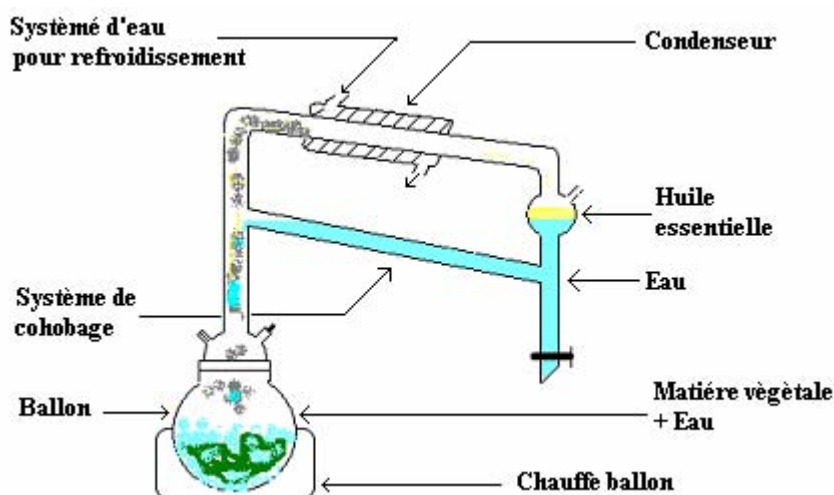


Figure I.3 Appareillage utilisé pendant l'hydrodistillation d'huile essentielle [6].

Le montage de type SCHILCHER [6] (*Figure I.3*) est composé de quatre parties principales :

1. le réacteur, un ballon dans lequel on introduit la matière végétale et l'eau ;
2. la colonne, un cylindre en verre placé au-dessus du réacteur qui recueille la phase vapeur ;
3. le réfrigérant dans lequel se recondensent les vapeurs ;
4. le vase florentin où vont se séparer la phase organique (huile essentielle) et la phase aqueuse (eau florale).

Ce système peut être équipé d'un recyclage ou cohobage : un principe de siphon renvoie l'eau florale du vase florentin vers le réacteur. Un simple robinet au bas du vase permet de recueillir l'huile essentielle à la fin de la réaction.

Le milieu réactionnel constitué par la matière végétale et l'eau est porté à ébullition grâce à un chauffe-ballon. La température est limitée par la température d'ébullition de l'eau 100°C.

La composition chimique des huiles essentielles dépend largement de l'influence des conditions d'hydrodistillation sur l'essence contenue dans la plante.

I.A2.2a Propriétés physico-chimiques de l'hydrodistillation

Lors de la distillation des huiles essentielles, des phénomènes sont à la base d'échanges de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de la production.

Les expérimentations [35,37] conduites jusqu'à épuisement du substrat en essence montrent que la durée de la distillation est plus longue pour les organes de plantes ligneuses que pour les herbacées.

Cette différence est fortement liée à la localisation des structures d'élaboration ou de stockage des essences qui peuvent être superficielles ou internes. De ce fait, elles ont une influence sur le déroulement de l'hydrodistillation, c'est-à-dire sur les mécanismes successifs mis en jeu, et par conséquent sur la durée.

Dans le cas où ces structures sont superficielles, la membrane externe ou la cuticule qui constituent les seules barrières à la libération de l'huile essentielle, est vite rompue à ébullition, les composés volatils sont aussitôt évaporés. Lorsque les essences sont sous-cutanées, elles doivent d'abord diffuser à travers l'épaisseur du tissu végétal avant d'entrer en contact avec l'eau ou sa vapeur. Elles sont alors évaporées comme dans le cas des sécrétions superficielles [36].

En ce qui concerne la localisation des sites producteurs d'essence, les molécules odorantes sont rencontrées dans tous types d'organes : racine, tige, bois, écorce, feuille, fleur, fruit, etc... Elles sont produites par diverses structures spécialement différenciées dont le nombre et les caractéristiques sont très variables [38].

Nous distinguons :

- les poils glandulaires épidermiques rencontrés souvent chez les *Labiaceae*, *Géraniaceae* et *Rutaceae*. Ils produisent les essences dites superficielles.
- les organes sécréteurs sous-cutanés comprenant des cellules et des poches sécrétrices qui sont généralement disséminées au sein du tissu végétal chez les *Myrtaceae*, *Aurantiaceae*, ainsi que des canaux sécréteurs chez les *Ombelliferaeae*.

I.A2.2b Rôle de l'hydrodiffusion

L'huile essentielle étant un mélange complexe de molécules, il apparaît évident que la durée de distillation est dépendante de la vitesse d'entraînement des différents constituants.

A ce respect, VON RECHENBERG [39] considère que la température d'ébullition des constituants ne permet pas d'expliquer l'ordre de distillation par rapport à la polarité, mais que celle-ci correspond à une inversion de la volatilité.

Par ailleurs il spécifie que ce processus n'a lieu qu'avec les organes de plantes intactes, c'est-à-dire qui n'ont pas subi de dommage (broyage, etc...) sinon l'ordre de la distillation des composés aurait été effectué selon leur volatilité jusqu'à ce que la fraction d'essence directement exposée à la vapeur soit épuisée.

Ainsi durant la distillation, l'eau bouillante pénètre dans les cellules végétales et solubilise une partie de l'essence des glandes sécrétrices. La solution aqueuse chargée de composés terpéniques, diffuserait ensuite à travers une épaisseur de tissu, plus ou moins dense, selon l'organe, vers la surface extérieure où l'huile essentielle serait vaporisée et entraînée sous forme d'azéotrope.

Cependant, il attribue le terme d'hydrodiffusion à ce type de transport contrôlé par la polarité des constituants. Elle serait responsable de la vitesse relative de la distillation des différents composés aromatiques, dépendant davantage de leurs solubilités dans l'eau que de leurs points d'ébullition.

Mais si l'hydrodiffusion constituait l'étape limitante de l'hydrodistillation, alors l'ordre de sortie des composés serait dicté par leur polarité et non par leur volatilité. Dans le cas de composés de volatilité et de polarité intermédiaires tels que les esters mono terpéniques, ni la vitesse d'hydrodiffusion ni la vitesse de vaporisation ne seraient négligeables.

Bien que l'hydrodiffusion et la vaporisation ne constituent pas les seuls mécanismes mis en jeu lors de l'hydrodistillation, il faut leur associer la décantation qui fait intervenir une vitesse de transfert de matière entre deux phases liquides. L'isolement de composés volatils après leur distillation est déterminé dans une large mesure par leur degré de solubilité dans l'eau.

Par conséquent, l'eau résiduelle peut être plus ou moins saturée en constituants polaires selon la difficulté de séparation des phases. Celle-ci peut avoir trois origines éventuellement combinées :

- une partie de l'huile essentielle est dissoute dans l'eau, soit 1% environ de la fraction décantée, rarement plus de 2% et exceptionnellement supérieure à 5% dans le cas de certains composés polaires phénoliques.
- une autre fraction est émulsionnée le plus souvent dans 10% d'eau.
- enfin une quantité est fortement mélangée avec de l'eau et des molécules organiques tierces. A l'interface huile/eau, elle peut être supérieure à 10%.

Dans ces conditions, les pertes dues à une mauvaise décantation peuvent atteindre 25% et plus, de l'essence recueillie.

Lors de nos travaux nous accorderons un intérêt particulier à la décantation. La séparation de l'huile essentielle après condensation est en fait l'étape déterminante pour recueillir les composés préalablement libérés. Dans ce contexte, l'utilisation des esters éthyliques des acides gras comme co-solvant d'extraction pourrait être une alternative pour réduire la perte en composés.

I.A2.2c Phénomènes physico-chimiques et température : exemple du sabinène

Au cours de l'hydrodistillation, le milieu aqueux de pH compris entre 4 et 7, résultant de l'immersion du matériel végétal atteint occasionnellement des valeurs inférieures à 4 pour certains fruits [35].

Les constituants de l'essence native sont soumis aux effets combinés de l'acidité et de la chaleur, et peuvent subir des modifications chimiques. L'huile essentielle récupérée est un produit qui diffère sensiblement de l'essence originelle, d'autant plus que l'ébullition est longue et le pH faible [40].

La matière chimique fait l'objet de réactions chimiques diverses : hydrolyses, déprotonations, hydratations et cyclisations [41] pouvant être catalysées par des métaux présents à l'état de traces dans la plante, provoquant des transformations chimiques des constituants.

L'hydrolyse d'esters est souvent la première réaction qui se produit. Elle conduit à la formation d'acides organiques qui à leur tour catalysent les réactions de cyclisation et de déshydratation [42]. La dégradation du sabinène donne un exemple des transformations chimiques de l'huile essentielle lors de l'hydrodistillation.

Les fréquentes modifications chimiques du sabinène ont été étudiées par KOEDAM et col [35]. Ils constatent qu'en milieu acide dilué ce composé se transforme en terpinèn-4-ol (No. CAS 562-74-3), réaction déjà signalée par O. WALLACH [43]. Divers auteurs ont confirmé ce résultat et montré que le réarrangement du sabinène produit en plus du terpinèn-4-ol, de l' α -terpinène (No. CAS 99-86-5), du γ -terpinène (No. CAS 99-85-4), et du terpinolène (No. CAS 586-62-9) représentés à la *figure I.4*.

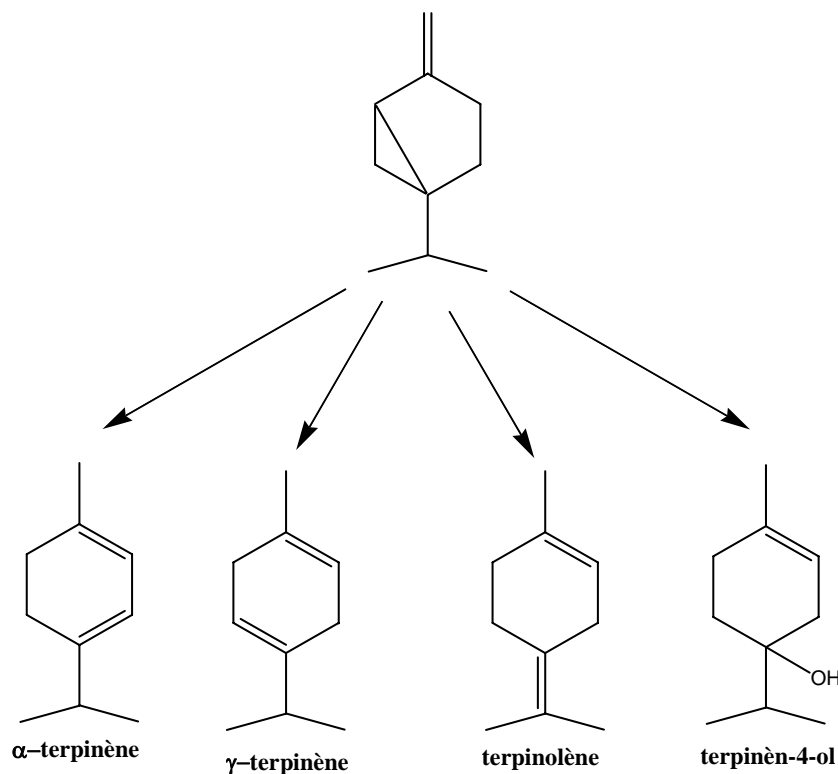


Figure I.4. Principales modifications chimiques du sabinène lors de l'hydrodistillation.

Pour limiter les artefacts, P.MORIN et H. RICHARD [41] préconisent de maintenir le pH proche de la neutralité et de minimiser la durée d'hydrodistillation, quand bien même, nous savons que la dégradation de la matière végétale induit la formation d'un milieu acide fortement tamponné.

En résumé, parmi les constituants sujets aux artefacts, les auteurs signalent particulièrement :

- les monoterpènes (mono et bicycliques),
- les alcools monoterpéniques,
- les amino-acides soufrés et les oxydes sesquiterpéniques.

Les étapes successives conduisant à l'isolement d'une essence et les diverses transformations susceptibles de l'accompagner se traduisent par la modification de la teneur en certains constituants ou par la formation de nouveaux composés, d'où une grande variabilité de sa composition. De profondes modifications de l'huile essentielle peuvent intervenir lors de l'exploitation des végétaux depuis leur collecte jusqu'à leur transformation industrielle [44].

La période de récolte, les conditions de transport, de séchage et de stockage peuvent engendrer des dégradations enzymatiques. Les changements les plus importants interviennent lors de l'hydrodistillation sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (pH, température) et de la durée d'extraction.

D'autres facteurs tels que les traitements auxquels nous pouvons procéder avant ou pendant l'hydrodistillation (broyage, dilacération, dégradation chimique, pression, agitation) contribue à la variation du rendement et de la qualité de l'huile essentielle [40].

Les facteurs d'ordre naturel peuvent être intrinsèques, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèques, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante. Les variations de la composition des huiles essentielles provenant d'un même phénotype se développant dans le même environnement sont l'expression de différences génotypiques. Elles peuvent être attribuées à des hybridations, à un polymorphisme génétique ou à des mutations [40].

D'autres facteurs peuvent influencer la composition chimique des huiles essentielles comme :

- l'organe utilisé pendant l'hydrodistillation, nous savons que la teneur en huile essentielle de certaines espèces varie selon l'organe utilisé. Ce facteur dépend également de la nature des glandes sécrétrices. Selon L. GANOU [42], les poches situées dans l'exocarpe ou dans l'endocarpe des fruits génèrent des essences qui diffèrent en monoterpènes et sesquiterpènes.
- au cours du cycle végétatif, un autre facteur intervient. La biosynthèse des composés odorants évolue lors de la maturation de la plante. Elle est prédominante pendant les

périodes de forte croissance ou au cours des activités métaboliques intenses telle que la floraison et la maturation du fruit.

I.A2.3 Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles dépend largement de l'influence des conditions d'hydrodistillation sur l'essence contenue dans la plante.

I.A2.3a Principales structures chimiques [42]

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes, prépondérants dans la plupart des essences, et des dérivés du phénylpropane, retrouvé en tant que composé majoritaire dans quelques unes, telles que les essences d'anis, de cannelle, de girofle, etc... Divers autres constituants minoritaires leurs sont associés. De nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont également considérés comme des composés terpéniques.

Les *composés terpéniques* sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique. Suivant le nombre entier d'unités pentacarbonés $(C_5)_n$ ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (isoprène), nous pouvons réaliser la classification suivante :

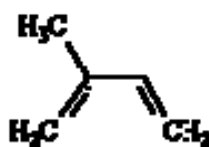


Figure I.5 L'isoprène.

- ✓ Pour $n = 2$: les *monoterpènes*. Ces terpènes proprement dits sont des hydrocarbures en **C10**. Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales, surtout alcool et aldéhyde.

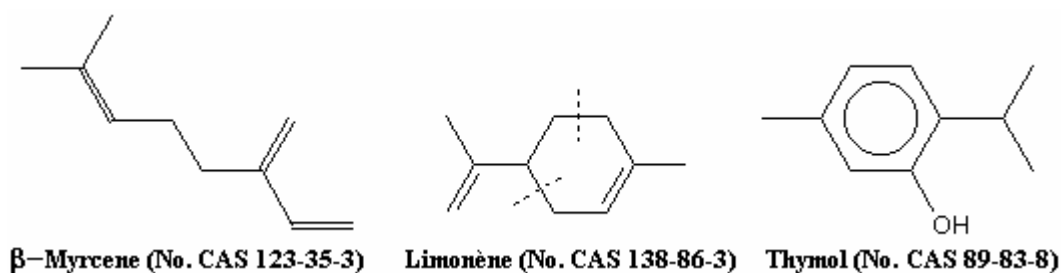


Figure I.6 Exemple des composants monoterpéniques.

- ✓ Pour **n = 3**: les *sesquiterpènes*. Ce sont des hydrocarbures de formule **C₁₅**, soit une fois et demie (sesqui-) la molécule des terpènes (en C₁₀H₁₆). Un groupe particulier de sesquiterpènes est représenté par les azulènes, composés instables dont le nom vient de leur coloration bleue et qui sont importants en pharmacognosie en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires. Ces composés, non saturés, sont constitués par deux cycles penta et hepta carbonés. Nous retrouvons dans ce groupe le chamazulène (des essences de camomille et de matricaire).

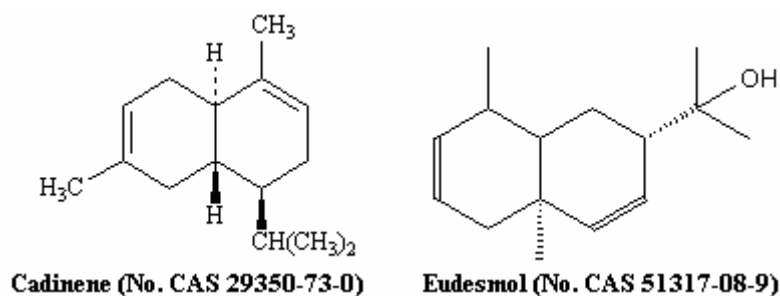
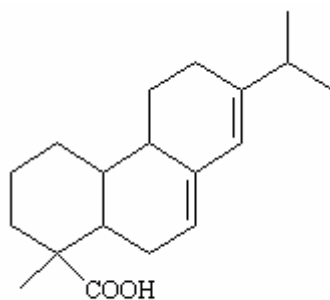


Figure I.7 Exemple des composants sesquiterpéniques.

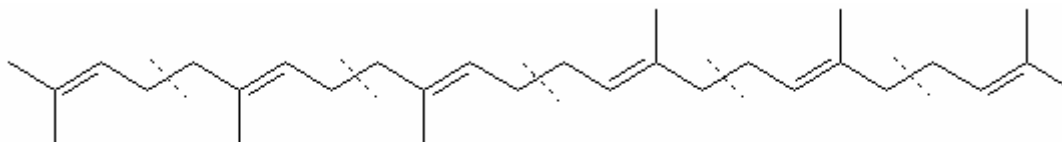
- ✓ Pour **n = 4**: les *diterpènes* qui sont des dérivés d'hydrocarbures en **C₂₀**. Ces composés, à point d'ébullition élevé, se rencontrent surtout dans les résines.



Acide abiétique (No. CAS 514-10-3)

Figure I.8 Exemple des composants diterpéniques.

- ✓ Pour **n = 5**: les *sesterpènes*. Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en **C25**.
- ✓ Pour **n = 6**: les *triterpènes*. Ces composés en **C30** sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifiés, ou sous forme hétérosidique.



Squalène (No. CAS 7683-64-9)

Figure I.8 Exemple des composants triterpéniques.

- ✓ Pour **n = 8** et les polyterpènes le caoutchouc naturel est l'exemple plus nomme. Le caoutchouc naturel est un polymère de l'isoprène. Il est produit par la coagulation par la chaleur de la sève de l'hévéa.

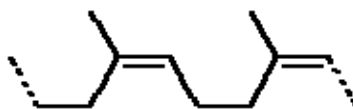


Figure I.9 Caoutchouc naturel.

Dans une huile essentielle, nous retrouvons presque exclusivement des mono- et sesquiterpènes.

Les *dérivés du phénylpropane* sont moins abondants que les terpénoïdes, ce sont des arènes issues d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique lui-même intermédiaire de la synthèse de la lignine à partir du phénylpropane.

Les composés sont néanmoins importants sur le plan qualitatif et quantitatif chez certaines espèces. Par exemple, le trans-anéthole qui est la molécule responsable en grande partie de l'arôme d'anis, constitue environ 80% de l'huile essentielle de fenouil (1-3% d'essence), et d'anis vrai (3% d'essence). Les dérivés phénylpropanoïques et les terpénoïdes sont associés en nombre et en proportions très variables de telle sorte que le produit est hétérogène et complexe sur le plan chimique. Ils sont biosynthétisés au sein des mêmes organes sécréteurs où ils forment l'essence naturelle [4].

I.A3 ETUDE PORTANT SUR CINQ PLANTES SELECTIONNEES POUR LEURS PROPRIETES BIOLOGIQUES

Les études réalisées par C. BOURREL [6] au sein du laboratoire LCA-CATAR portant sur les propriétés biologiques de certaines plantes aromatiques nous ont permis de sélectionner cinq plantes parmi l'étude. Les cinq plantes sélectionnées par leurs propriétés biologiques sont les suivantes : Dictame de crête (*Origanum dictamnus*), Origan (*Origanum vulgare*), Carvi (*Carum carvi*), Acore (*Acorus calamus*), Aunée (*Inula helenium*). Elles ont été cultivées et récoltées par l'Association Interrégionale de Recherches d'Expérimentation Légumière (AIREL) dans le cadre d'un programme de coopération et de recherche entre le Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (LCA-CATAR) et l'association AIREL.

I.A3.1 L'huile essentielle d'*Origan vulgare*



Figure I.10 Plant d'*Origan vulgare*.

L'origan vulgaire est une plante vivace poilue de 30 à 80 cm, aromatique, très variable possédant des tiges dressées à 4 angles peu marqués, rougeâtres et velues. Ces feuilles petites et ovales, sont surtout velues au-dessous. Les fleurs ont une couleur rose pâle, groupées en inflorescence à l'extrémité des rameaux. De nombreuses bractées ovales rouge violet sont présentes en même temps que les fleurs. Le fruit est constitué de quatre petits akènes. La plante est récoltée pendant le mois d'août et septembre. *Origan vulgaire* est originaire des zones tempérées du Sud de l'Europe jusqu'à 1500-2000 m.

L'étude concernant localisation des entités productrices d'huile essentielle dans les différents organes de la plante d'*Origan vulgaire* a été effectuée par K.P. SVODOVA [49]. L'huile essentielle est produite et stockée dans les tissus sécréteurs de la plante.

Ces tissus sont divisés en deux groupes :

- ceux qui produisent l'huile essentielle sur la surface de la plante et qui sécrètent habituellement des substances directement à l'extérieur de la plante (sécrétion exogène) et,
- ceux qui produisent dans le corps de la plante et sécrètent des substances dans les espaces intercellulaires spécialisés (sécrétion endogène).

Dans le cas d'*Origan vulgaire*, l'huile essentielle est localisée dans les deux épidermes et principalement dans l'épiderme supérieur [50]. Les poils sécréteurs sont rares au sein de cette espèce.

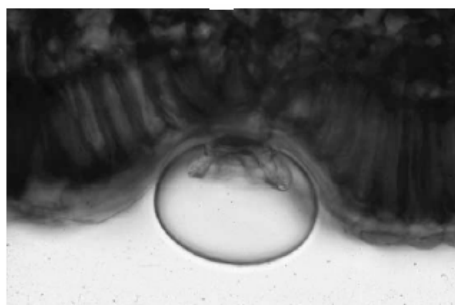


Figure I.11 Glandule sécrétrice sur la surface supérieure de la feuille d'*Origan vulgaire*, montrant l'espace subcuticulaire rempli d'huile essentielle (x 420) [51].

L'huile essentielle de la plante d'*Origan vulgaire* trouve de nombreuses applications en formulations de compositions aromatiques. Sa production, par hydrodistillation de la fleur, est importante dans différents pays d'Europe, notamment dans les pays Méditerranéens,

comme la Grèce, l'Italie. Or, en fonction de son origine, l'huile essentielle d'Origan est de composition très variable [52]. Par conséquent, le rendement fluctue aussi fortement (B.M. LAWRENCE [53] reporte des chiffres allant de 0,5% à 2,9 %).

Nous nous sommes essentiellement basés sur les travaux réalisés par K. VERES et col. [52], sur la composition chimique et la stabilité de l'huile essentielle extraite de la plante d'*Origan vulgare* afin d'obtenir le point de départ de notre étude.

I.A3.2 Huile essentielle d'*Acore*



Figure I.12 Racine d'*Acore*.

Le roseau odorant d'*Acore* (*Acorus calamus L.*) communément appelé *acore roseau* ou *belle angélique*. L'*acore* aromatique fait partie de la famille des *Aracées*. La plante vivace de l'*acore* préfère les terrains marécageux. On la cultive dans les pays de l'Est, le long des cours d'eau. Ses feuilles, étroites et longues, similaires aux roseaux, peuvent atteindre un mètre de hauteur.

Les extrémités vertes se replient sur leurs tiges. Les fleurs verdâtres fleurissent au début de l'été. La plante se reproduit par ramifications du rhizome. Le rhizome épais et ramifié est la seule partie utilisée. Il est récolté, nettoyé puis séché; le produit obtenu est fortement aromatique.

Les rhizomes ont longtemps été employés dans les préparations de médecines traditionnelles ou pour aromatiser les breuvages [55]. Ils contiennent une huile volatile d'odeur et de goût agréables pouvant être obtenue par entraînement à la vapeur. Le rhizome peut contenir jusqu'à 4% d'huile aromatique composée principalement d'asarone [56,57].

La plante d'*Acore* a également attiré l'attention pour son activité insecticide [58, 59]. Elle est efficace et simple à employer comme insecticide, sans effets secondaires sur les animaux domestiques et les êtres humains [60, 61].

L'huile essentielle d'*Acore* a été utilisée comme pesticide sous différentes formes et formulations [62, 63]. Ces formes et formulations incluent la poudre de rhizome, les extraits aqueux et solvants (alcool, éther). La poudre de rhizome est utilisée efficacement contre les parasites des graines : *Sitophylus oryzae*, *Tribolium Castaneum*, *Sitophilus granarius* [64,65].

L'activité insecticide des extraits aqueux, principalement les extraits alcooliques sur *Trogopogan*, *granarium* et *dactynotus carthami* ont été étudiés par S.D. DESHMUKH [66].

V.S. KUMAR [67] utilise la microscopie scanning et transmission électron (SEM et TEM) pour étudier l'effet de l'huile essentielle sur l'ultrastructure des hémocytes de *Spodoptera litura*. Un autre auteur I.G. VASHI [68]a évalué l'activité antibactérienne des extraits alcooliques obtenus à partir de la racine, sur certaines bactéries Gram positive et Gram négative, en trouvant une forte activité contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Les propriétés antifongiques du rhizome ont été confirmées par A.M. JANSEN [69] sur *Lenzites trabea*, *Lentinus lepideu*, et *Polyporus versicolor*. De la même manière, il a montré l'existence d'une activité antifongique de l'huile essentielle extraite à partir de la racine contre *Alternaria tenius*, *Diplodia natalensis*.

I.A3.3 L'huile essentielle de Carvi (*Carum Carvi L.*)



Figure I.13 Plante de Carvi (*Carum carvi*).

Le Carvi est une plante bisannuelle ou pluriannuelle de 50 à 60 cm. Avec des tiges striées, ramifiées et glabres. Les feuilles de la base apparaissent la première année, elles sont alternées, pétiolées et découpées très finement en étroites lanières. Les feuilles supérieures sont sessiles avec une graine à deux petits lobes divisés; elles apparaissent la deuxième année sur la tige.

La racine principale forme un tubercule allongé. Les ombelles de 5 à 15 rayons très inégaux, à involucres et involucelles peu développées, portent de mai à juillet des fleurs blanches, à calice non denté, pétales échancrés et possédant 2 styles écartés et renversés. Le fruit ou diakène a 5 côtés et ovoïde, sans aile brunâtre à maturité. Toute la plante est fortement odorante.

La culture du Carvi a énormément diminué en France depuis une dizaine d'années. Actuellement, il resterait environ un hectare situé dans le Sud-Est. Ainsi, la totalité des besoins est couverte par les importations [70].

Le principal pays producteur de Carvi est la Hollande. En 1994, les Pays-Bas, en position de quasi-monopole sur le marché français depuis 1992, avaient connu un déficit de production. Aussi, les volumes importés de cette origine avaient enregistré une baisse, passant de 86 tonnes en 1993 à 35 tonnes en 1994. En 1997, cette situation de déficit, qui n'avait pris fin qu'avec la nouvelle récolte, avait pesé sur les volumes importés, ceux-ci ne s'élevant qu'à 39,5 tonnes.

En 2001, la production hollandaise a été satisfaisante. Or, au vu des volumes importés, ce pays n'a toujours pas repris sa place sur le marché puisque ses livraisons sur la France continuent à décroître (20 tonnes).

Le Carvi est constitué par les méricarpes du fruit presque mûr du Carvi. Ces méricarpes sont séparés du fruit par battage, après séchage. Ils ont une longueur de 4 à 6 mm, et sont de forme incurvée. Sur toute leur longueur, se détachent 5 côtes de couleur jaune pâle à ocre, la couleur de la surface entre les côtes étant brune. Le Carvi a une fructification annuelle [71].

La flaveur doit être caractéristique, aromatique et exempt d'odeur de moisi, l'odeur de Carvi est très prononcée.

La partie utilisée du Carvi est constituée par le fruit sec de Carvi. Il contient environ 4 % d'huile essentielle (teneur différente de la norme AFNOR [72]). Son huile essentielle possède une odeur spéciale et agréable.

Le fruit glabre est allongé à ses deux extrémités, d'environ 5mm de longueur et 1mm de diamètre. Il est surmonté par deux stylopedes peu visibles.

Les figures I.14, et I.15, montrent les travaux réalisés par K. P. SVOBODA [73] sur la structure cellulaire de la graine de Carvi. Nous pouvons observer les structures sécrétrices où se produit l'huile essentielle.

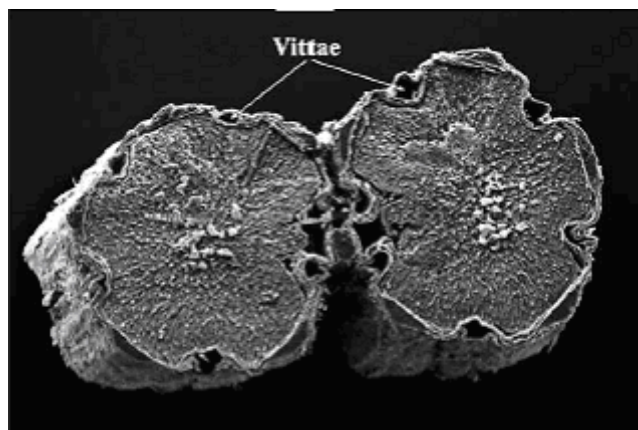


Figure I.14 Localisation des structures sécrétrices dans la graine de Carvi (x 48).

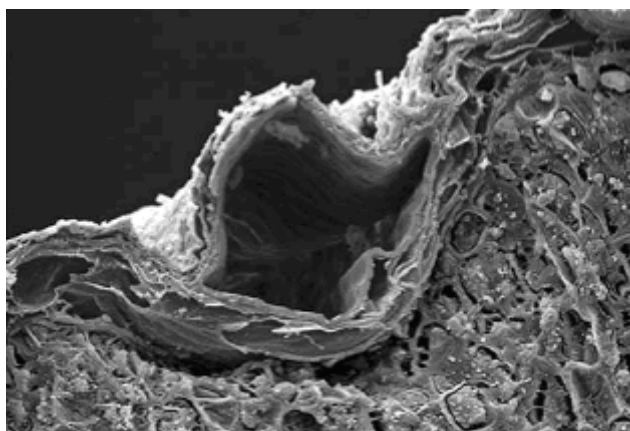


Figure I.15 Graine de Carvi, détail de la structure primaire [x 406].

La molécule de carvone (ρ -metha-6, 8-dien2-on ; poids moléculaire 150,21 g/mol, densité 0,965 ; point d'ébullition 230-231 °C) est très utilisée comme inhibiteur de croissance des bactéries [74], de quelques mycètes [75] et comme répulsif d'insectes [76]. L'application technique la plus importante de la molécule de carvone est son utilisation comme inhibiteur répressif de la germination dans les pommes de terre [77, 78].

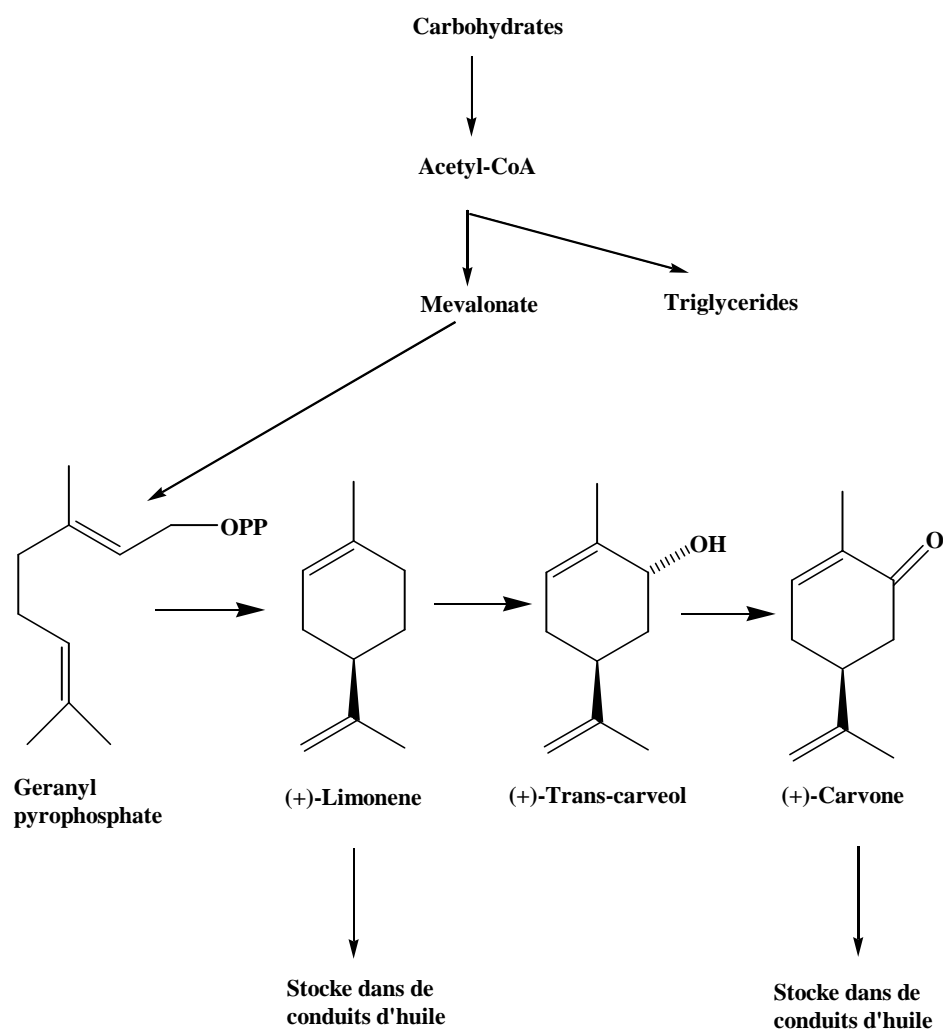


Figure I.16 Voie probable de formation du (+)-limonène et (+)-carvone dans la graine de Carvi en assumant une analogie avec la formation de (-) limonène et (-) carvone en *Mentha spicata* [79].

A cause de la variabilité en concentration des molécules de carvone et limonène dans l'huile essentielle, différents auteurs suggèrent que la qualité de l'huile essentielle est exprimée en fonction du rapport molaire de ces deux composés. A titre d'exemple les travaux de G. PUSCHMANN et col. [80], montrent une variation dans la concentration de carvone de 47 à 54% sur 16 échantillons différents analysés. La variation du rapport carvone /limonène est de 0,90 et 1,20.

Ces résultats sont l'évidence que la biosynthèse du carvone et du limonène se produit par la même voie métabolique (Figure III.10). Ceci implique que le limonène est aussi bien un intermédiaire dans la biosynthèse de la molécule de carvone qu'un produit final.

Les résultats obtenus rentrent dans l'interprétation du pourcentage de carvone au niveau du rapport carvone/limonène des échantillons des huiles essentielles obtenues à partir du procédé d'hydrodistillation.

A. KOEDAM [81] a signalé qu'en raison de sa polarité plus élevée, l'extraction de carvone à partir de la graine de Carvi est plus efficace que celle du limonène ayant pour résultat des huiles essentielles fortement enrichies en carvone quand l'hydrodistillation n'est pas complète.

I.A3.4 L'huile essentielle d'Aunée (*Inula helenium*)



Figure I.17 Plante d'Aunée (*Inula helenium*).

Originnaire des régions tempérées et subtropicales d'Europe, d'Afrique et d'Asie, la plante d'*Inula helenium* se rencontre dans diverses zones, principalement dans les sites montagneux secs et rocaillieux mais aussi dans les régions de plaines, fraîches et ombragées.

La plante d'Aunée (*Inula helenium*) présente de grandes feuilles basales et des feuilles caulinaires de plus en plus petites, en disposition alterne. Les fleurs, en capitules, ressemblant à des marguerites, sont plates et portent de nombreuses ligules jaunes, étroites, et des fleurons tubulaires composant le disque central. Elles sont solitaires ou réunies en petits corymbes ou en panicules [82].

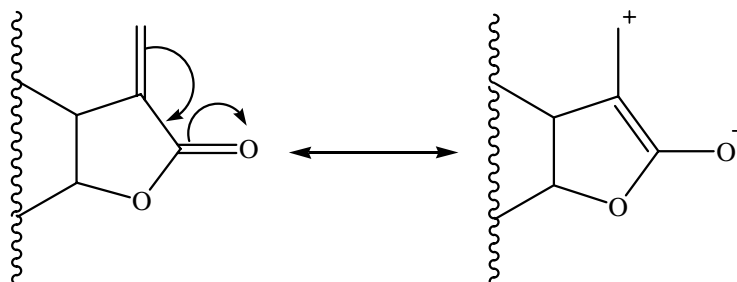
Inula helenium est une plante herbacée vivace, de 0,80 à 1,50 m, de tige dressée. Les rhizomes d'Aunée sont généralement courts et les racines de couleurs grises brunes, fortement ridées. Ces feuilles ovales, lancéolées et dentées, dans la face inférieure sont cotonneuses. Le capitule a un diamètre de 6 à 8 cm, involucre de grandes bractées entourant des fleurs jaunes

ligulées à la périphérie et tubuleuse au centre. Les fruits de type akènes sont couronnés de soies roussâtres.

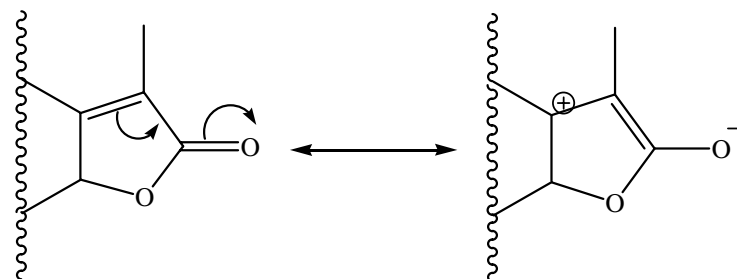
La plante d'*Inula helenium* possède une odeur balsamique, saveur aromatique amère, et un peu âcre. Les racines et les rhizomes de teinte gris brun, ridés, de consistance dure présentent des punctuations jaunâtres et brillantes, elles constituent la partie la plus utilisée de la plante. L'huile essentielle est obtenue par hydrodistillation de la racine.

Les lactones sesquiterpéniques possèdent des activités anti-tumorales, cytotoxiques, antibiotiques, anti-appétantes ou répulsives vis-à-vis des insectes [83]. Ces activités biologiques sont dues à la présence de γ - lactone- α -méthylénique, dont le motif est commun aux trois familles de lactones sesquiterpéniques. Toutefois l'activité antimicrobienne provenant des lactones sesquiterpéniques est controversée quant à l'action du groupe γ - lactone- α -méthylénique [84].

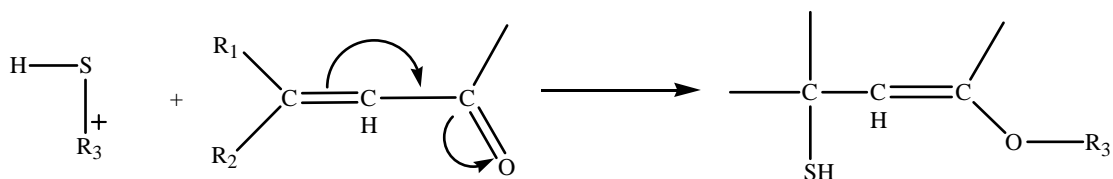
En effet, les travaux exposés par CALZADA et col [85], concernant les lactones sesquiterpéniques soulignent leur activité grâce à la présence du groupement α -méthylénique sur une γ -lactone, de ce fait, la fonction carbonyle, par sa double liaison conjuguée en α , est stabilisée par résonance:



Par ailleurs LEE et col [86], pensent que l'activité anti-microbienne provient d'une structure de type cyclopenténone non substituée en β , cette hypothèse ne paraît pas contredire les travaux de CALZADA [85] au regard de la stabilité de la molécule:



Il apparaît cependant que les lactones sesquiterpéniques sont forcément substituées en β -(cycle). Sachant que le mécanisme d'action anti-microbien est lié à l'aptitude à réagir avec des composés bio-nucléophiles (réactions enzymatiques), il va de soi que la non substitution en β facilite ce type de réaction:



Les substituants en β tels que les cycles aromatiques favorisent la stabilisation du carbocation par effet inductif (apport d'électrons) et protègent le site par encombrement stérique. De ce fait la réaction enzymatique est fortement diminuée.

L'activité biologique de l'huile essentielle d'Aunée (*Inula helenium L.*) a été très étudiée. Les travaux de G. BOATTE et col. [83], décrivent l'action inhibitrice de l'huile essentielle contre les bactéries de type Gram positive (*Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes*).

La toxicité de l'isoalactolactone et de l'alantolactone, composants majoritaires de l'huile essentielle, a été mise en évidence par D. GILLES et col [87]. En effet les études ont montré une activité létale de ses composés contre les leucocytes cultivés in vitro. D'autres auteurs ont montré les propriétés anti-inflammatoires et hepatoprotectrices de ses molécules [88].

Les extraits alcooliques d'Aunée montrent une activité anti-mycobactérienne in vitro contre *Micobacterium tuberculosis* H₃₇R_v [89].

1.A3.5 L'huile essentielle de Dictame de crête



Figure I.18 La fleur de dictame de crête.

Du nom grec dictamnus, qui désignait une plante aromatique provenant du mont Dictos en Crête. *Dictame de crête* est une plante de 50 cm, à 1 m, 20 cm de hauteur, à tiges dressés, portant de nombreuses feuilles. On peut la trouver sur le coùteux pierreux dans le bois et dans les zones montagneuses, les feuilles sont coriaces, les inférieures simples, les autres divisées en folioles ovales, placées à droite et à gauche du pétiole commun, avec une foliole terminale, ces folioles sont réunies entre elles à la base par un étroit rebord vert. Origan de crête est une plante vivace, à odeur forte, à tige fleurie non rameuse [90], qui se perpétue par des bourgeons naissant sur la tige souterraine.

L'huile essentielle de la plante d'Origan de crête trouve de nombreuses applications en formulations de compositions aromatiques. Sa production, par hydrodistillation de la fleur, est importante dans différents pays d'Europe, notamment dans les pays Méditerranéens [91].

L'huile essentielle d'origan de crête est obtenue par hydrodistillation de la fleur, selon J.K.S. MOLLER, la fleur peut renfermer de 1 à 3% d'huile essentielle

Le carvacrol est le phénol prédominant dans l'huile essentielle d'origan, il constitue avec le thymol le principal constituant actif. Tous les deux sont des phénols isomériques. Les autres constituants majoritaires (ρ -cymène et γ -terpinène) ne montrent pas une grande activité antibactérienne [92,93].

Le carvacrol et le thymol agissent en synergie et sont actifs contre divers microorganismes. Le carvacrol exerce une activité plus élevée contre les mycètes tandis que le thymol est plus actif contre les bactéries gram négatives [94].

La variation chimique de la composition de l'huile essentielle d'origan est susceptible de modifier les propriétés antimicrobiennes observées.

Les propriétés antifongiques de la plante ont été confirmées par C. ECONOMAKIS et col [95], ainsi que par C. BOURREL [6] sur *Lenzites trabea*, *Lentinus lepideus*, et *Polyporus versicolor*. De la même manière, ils ont montré l'existence d'une activité antifongique de l'huile essentielle extraite à partir de l'extraction de la fleur contre *Alternaria tenuis*, *Diplodia natalensis*.

Les travaux de N. CHORIANOPOULOS et col [96], décrivent l'action inhibitrice de l'huile essentielle contre les bactéries de type Gram positive (*Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes*) et bactéries Gram négative.

I.B. ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS: ROLE DES ESTERS DANS LE COMBINE « SOLVANT/ACTIF »

L'agriculture moderne est une consommatrice de produits phytosanitaires et on estime que 2,5 millions de tonnes de produit pesticides sont appliqués chaque année sur les cultures de la planète. Des lors se posent deux problèmes: celui de l'efficacité des préparations phytosanitaires (20% seulement des produits atteignent et restent sur la cible).et celui des conséquences sur l'environnement de ces produit, qui peuvent polluer les sols et les eaux, modifiant des écosystèmes entiers. C'est pour résoudre, ou du moins minimiser ces problèmes, que des composés chimiques, tels que les esters éthyliques (comme adjuvants) peuvent être incorporés aux préparations phytosanitaires afin de modifier certaines de leurs caractéristiques telles que l'efficacité ou la phytotoxicité.

I.B1.1 EN TANT QU'ADJUVANT

Le premier rôle des esters éthyliques en tant qu'adjuvants est donc d'améliorer les performances des principes actifs en permettant notamment une réduction des doses d'emploi, limitant ainsi leur impact sur la faune et la flore. Pour pallier aux problèmes de pertes lors de l'utilisation des produits phytosanitaires, il est nécessaire d'en modifier les propriétés physico-chimiques. Il est également intéressant et utile d'améliorer la sécurité et la commodité d'emploi des ces produits, leur stabilité et éventuellement leur capacité à pénétrer dans le végétal.

Nous pouvons classer les différents types d'adjuvants en fonction de leur rôle et de leur mode d'action. Il est nécessaire et intéressant de rappeler les étapes et les points clés de l'application d'un produit phytosanitaire sur une culture [97]. La première étape d'une application part de la pulvérisation jusqu'à l'impact sur la plante cible. La seconde étape part de la formation de dépôt à l'expression de l'activité biologique.

En effet après dépôt sur la feuille, des pertes de matière active sont encore envisageables. Elles sont dues à la volatilisation, au lessivage ou à la décomposition

atmosphérique. Une fois la matière active à l'intérieure de la plante, son assimilation peut être optimisée par d'autres adjuvants comme des « activateurs ou synergistes ».

Selon HOLLOWAY et col [98], on peut classer ces adjuvants en fonction de leur utilisation et de leur mode d'action. Par exemple les agents modifiants peuvent être additionnées au produit afin de modifier les propriétés physico-chimiques de celui-ci. Ils agissent essentiellement en abaissant la tension superficielle du liquide. Ils seront utilisés pour limiter les problèmes d'évaporation et pour améliorer le pouvoir mouillant (glissement et rétention) des solutions.

Ce type d'adjuvant est probablement le plus important pour les principes actifs non systématiques car ceux-ci doivent avoir une grande surface de recouvrement pour entraîner un maximum d'efficacité.

Pour ce qui concerne les activateurs, ils sont ajoutés spécifiquement pour favoriser l'adsorption foliaire des substances systémiques et ainsi augmenter leur activité biologique.

Nous pouvons également classer les adjuvants en fonction de leur nature chimique [99]. On distingue alors les molécules tensioactives, les huiles d'origine minérale ou végétale principalement [100].

Les tensioactifs représentent un des types d'adjuvant les plus utilisés dans le domaine phytosanitaire.

Afin de minimiser l'énergie des interactions soluté-solvant, les molécules apolaires sont plutôt solubles dans les solvants apolaires comme les hydrocarbures et sont qualifiées d'hydrophobes ou de lipophiles, alors que les molécules polaires sont plutôt solubles dans les solvants polaires (eau par exemple) et sont qualifiées d'hydrophiles ou de lipophobes.

Un agent de surface (tensioactif) a la particularité d'être un composé comprenant d'une part une partie (chaîne ou queue) à caractère hydrophobe donc peu polaire voire apolaire et d'autre part une partie (groupement ou tête) polaire a caractère hydrophile. Ces composés sont dits « amphiphiles » (*figure I.19*).

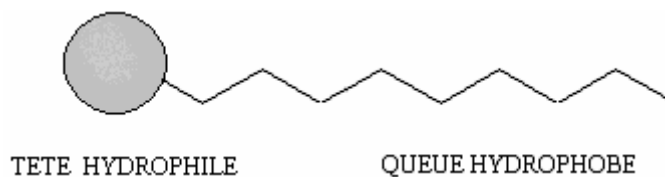


Figure I.19 Structure d'un tensioactif.

En présence d'eau et d'huile, toujours pour des raisons de minimisation d'énergie, les tensioactifs s'adsorbent à la surface. L'orientation de la molécule est telle que l'on trouve la tête polaire vers l'eau et la queue hydrophobe vers l'huile, ce qui conduit à la formation d'un film interfacial (liquide/liquide) ou superficiel (liquide/air). Il en résulte une réduction de la tension superficielle des deux liquides ou du liquide seul.

Lorsque l'interface est saturée en tensioactif il y a apparition, au sein du liquide, de structures supramoléculaires: les micelles. Ces dernières sont formées de molécules de tensioactif qui adoptent une orientation particulière qui tend à minimiser à nouveau l'énergie du système.

Leurs propriétés liées à cette adsorption aux interfaces et à la formation de micelles sont à la base des applications des tensioactifs telles que le pouvoir détergent, le mouillage, la dispersion, etc....[100]. Ces propriétés sont très importantes dans le domaine de la protection chimique des végétaux car elles sont à l'origine de l'amélioration de l'efficacité des produits phytosanitaires. L'activité de surface, propriété fondamentale d'un tensioactif, dépend de la structure et/ou de la nature de la partie polaire et de la partie non polaire du tensioactif.

I.B1.1 Propriétés physico chimiques des tensioactifs

I.B1.1a Balance Hydrophile-Liphophile (BLH ou HLB)

La molécule amphiphile est caractérisée par la présence dans sa structure, de deux parties antagonistes. Cette dualité à l'origine de l'activité de surface, de la micellisation et des capacités de solubilisation introduit les diverses applications des amphiphiles.

De nombreux auteurs ont essayé de quantifier les propriétés des tensioactifs en fonction de l'importance relative de leurs parties hydrophiles et lipophiles. C'est en 1949 que GRIFFIN [101, 102] a proposé la notion de « Balance Hydrophile –Lipophile » (BLH ou HLB), qui est une caractéristique des tensioactifs. Elle est étroitement liée à la structure de la molécule et mesure l'équilibre hydrophile–lipophile.

Pour calculer les valeurs de HBL des tensioactifs non ioniques, GRIFFIN propose la relation suivant :

$$HBL = \left(\frac{H}{H + L} \right) \times 20$$

Avec H= masse moléculaire de la partie hydrophile

L= masse moléculaire de la partie hydrophobe

Avec cette formule, l'HBL varie de 0 à 20. 0 étant attribué à un produit hydrophobe et 20 à un produit totalement hydrophile. Une autre méthode empirique de calcul de HLB a été proposée par Davies. Dans cette méthode, on attribue à chaque motif constituant le tensioactif, un nombre caractérisant son hydrophilie. Le HLB est alors donnée par la formule suivante :

$$\text{HLB} = 7 + \sum \text{des nombres des groupes hydrophiles} - \sum \text{des nombres des groupes hydrophobes}$$

Les propriétés et les applications d'un tensioactif seront fonction de la valeur de sa HBL comme le montre le *tableau I.2* [103].

HBL	Applications
1,5-3	Antimousse
3-6	Emulsifiant (eau/huile)
7-9	Agent mouillant
8-18	Emulsifiant (huile/eau)
13-16	Détergent
15-18	Solubilisant

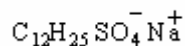
Tableau I.2 Applications en fonctions de la HBL.

I.B1.2 Classification des tensioactifs utilisés en agrochimie en fonction de leur nature.

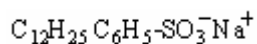
Selon sa nature chimique, la tête hydrophile peut être ionisable ou pas lorsqu'elle se solubilise dans l'eau. Le comportement des tensioactifs est étroitement lié aux charges électriques qui peuvent éventuellement apparaître sur les parties hydrophiles.

Nous pouvons distinguer donc deux grandes classes : les tensioactif ioniques et les tensioactifs non ioniques. [104]

Les tensioactifs anioniques couramment utilisés dans le domaine agrochimique comportent une chaîne grasse hydrocarbonée ou une chaîne alkylbenzène et une tête anionique de type carboxylate, sulfate sulfonate.

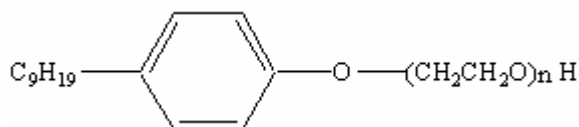


Dodécyl sulfate de sodium (SDS)



Dodécylbenzènesulfonate de sodium

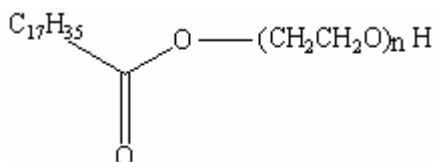
Les tensioactifs non ioniques sont les plus intéressants et les plus utilisés car ils ne possèdent pas de charge, et sont donc généralement compatibles avec toutes les matières actives [105]. Ils sont constitués d'une partie hydrophobe de type alkylphénol, alcool gras, acides ou alkylamine et d'une partie hydrophile souvent de type polyéthylène glycol.



alkylphénols



Alcools gras



Esters d'acides gras

I.B1.3 Classification de tensioactif en fonction de leurs applications agrochimiques

Il convient de distinguer les tensioactifs qui sont utilisés par le fabricant dans la formulation des préparations phytosanitaires (appelés co-formulants), des tensioactifs utilisés par l'agriculteur sur les conseils de fabricant, afin d'améliorer les propriétés physicochimiques des produits [106].

Grâce à leur structure particulière, combinaison de deux parties, hydrophobe et hydrophile, les tensioactifs peuvent faciliter et accentuer le pouvoir émulsifiant, dispersant, étalant, mouillants, solubilisant, et/ou des autres propriétés intervenant dans la formulation des produits agrochimiques.

En théorie, les tensioactifs utilisés en agrochimie peuvent agir à différents niveaux:

- dans la formulation proprement dite, au sein même de la bouillie (émulsionnant, dispersant)
- à la surface de la feuille (agent d'étalement, mouillant)
- sur les membranes et dans les cellules sous-jacentes la cuticule (activateur, pénétrant).

I.B1.3a Les émulsionnants

Lorsqu'on utilise des émulsions, deux phases existent: l'eau et le solvant hydrophobe (ou l'huile) qui contient la matière active. Ce dernier n'étant pas miscible à l'eau, une tension interfaciale importante existe entre les deux phases. Le tensioactif se place à l'interface entre l'eau et le solvant, partie polaire dans l'eau, partie apolaire dans le solvant. En diminuant la tension interfaciale, il stabilise l'émulsion de gouttelettes de solvant dans l'eau, il a un rôle émulsifiant (*Figure I.20*).

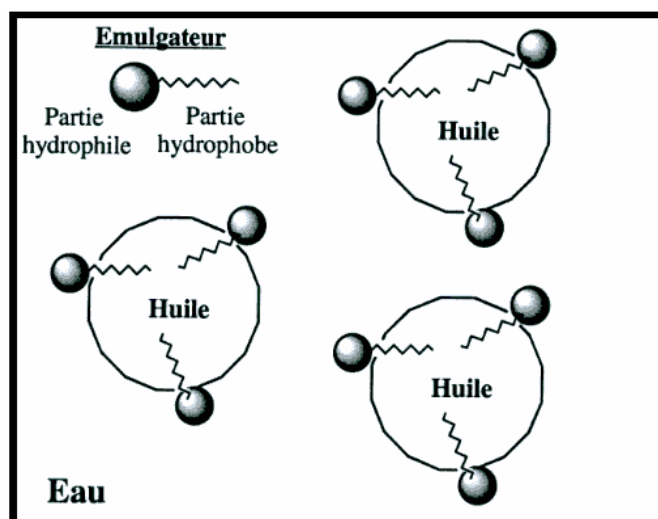


Figure I.20. Emulsion d'une huile dans l'eau.

I.B1.3b Les mouillants

Le rôle majeur des mouillants s'exprime lors de l'impact des gouttelettes de produit sur la feuille. En effet, comme ils diminuent la tension superficielle de l'eau, ils permettent aux gouttelettes de s'étaler sur la cible. Cet étalement augmente l'adhésion de la bouillie à la surface foliaire et donc la probabilité d'accrochage (pour un diamètre donné). A l'échelle de la plante entière, on observe une rétention plus élevée de la bouillie du produit, d'où le nom d'effet mouillante [107].

Comme il a été déjà mentionnée, les pertes de matière active sont très importantes durant la pulvérisation, c'est-à-dire entre la formation de gouttelettes, la rétention du liquide, et la formation du dépôt. Les phénomènes les plus importants à l'origine de ces pertes sont la volatilisation, la dégradation photochimique, la cristallisation et surtout le rebond et le ruissellement de gouttelettes [108].

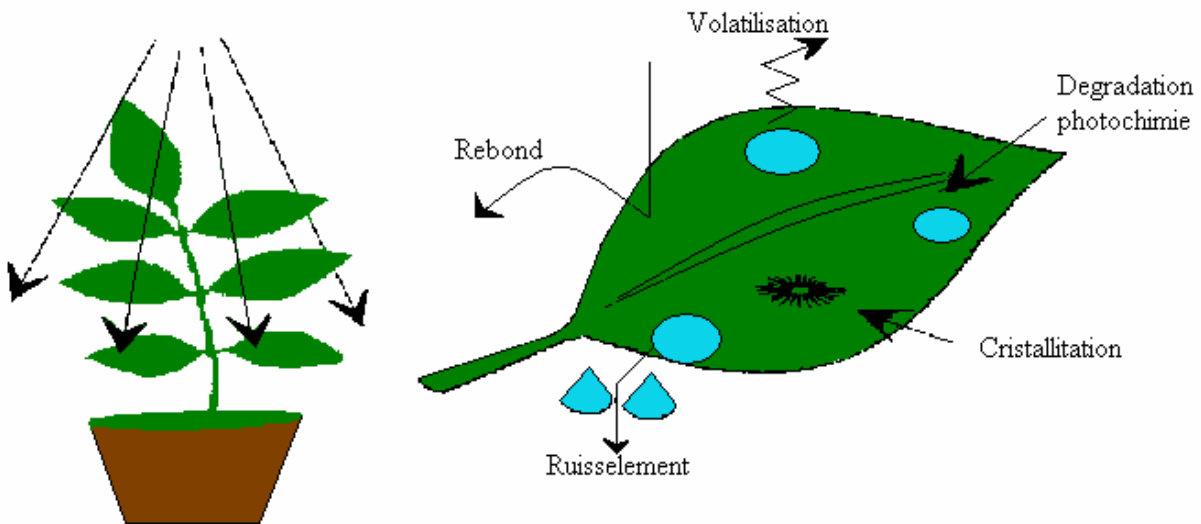


Figure I.21. Facteurs liés aux pertes de produit phytosanitaires [109]

Deux approches sont possibles pour rendre les applications plus efficaces:

Améliorer les dispositifs mécaniques

Utiliser des adjuvants appropriés permettant de modifier les propriétés physico-chimiques et par voie de conséquence le comportement de gouttelettes.

L'utilisation des adjuvants est fondamentale dans l'amélioration de l'efficacité des produits phytosanitaires au niveau de la rétention et de l'augmentation de la surface de contact liquide-cuticule [109].

I.B1.3c Les agents pénétrants ou activateurs

Certains tensioactifs favorisent aussi directement la pénétration des produits. Certains chercheurs [110,111] considèrent que la pénétration foliaire d'une matière active liée à l'utilisation d'un tensioactif est due à la faculté de ce dernier à dissoudre cette matière active.

Après évaporation de l'eau, le tensioactif reste sur la cuticule et maintiendrait la matière active dans un état non cristallisé semblable à un état dissous, plus propice à sa pénétration.

Par ailleurs, les tensioactifs faciliteraient la diffusion des matières actives dans la cuticule. Des études sur cuticules isolées ont effectivement mis en évidence ce phénomène [112]. Enfin les tensioactifs peuvent agir sur les transferts dans la plante augmentant les déplacements des préparations le long des parois cellulaires.

En résumé, les tensioactifs peuvent agir de plusieurs manières :

- Abaissement de la tension superficielle du liquide et augmentation de la rétention sur les surfaces mouillantes.
- La partie lipophile peut interagir avec les matières actives lipophiles et les empêcher de cristalliser voire les solubiliser.
- La partie hydrophile peut avoir un effet similaire sur les matières actives hydrophiles.
- La partie hydrophile peut fixer de l'eau : le dépôt reste hydrate, ainsi que, probablement, la zone de cuticule qui est à son contact.
- La partie lipophile peut interagir avec les cires de la cuticule et favoriser la diffusion de matières actives [112].

I.B1.4 La tension superficielle

Un agent d'étalement efficace, est un composé qui abaisse la tension superficielle à l'interface liquide/feuille et favorise donc l'étalement [113]. Les majeurs agents d'étalement sont les tensioactifs organosilicones [112, 113] qui abaissent la tension superficielle de l'eau à 20mN/m; ces composés ont la capacité de provoquer l'étalement de la bouillie jusqu'à la formation d'un mince film du liquide retrouvant la totalité de la surface de la feuille. En dehors de ces dérivés silicones, le majeur parti des tensioactifs ont une tension superficielle aux alentours de 30mN/m.

Une caractéristique physico-chimique intéressante permettant d'évaluer le pouvoir mouillant est donc la tension superficielle statique.

Cette mesure de la tension superficielle statique est effectuée par différentes méthodes. Nous nous intéresserons ici à la méthode que nous avons utilisée, celle de la lame, ou méthode de WILHELMY [114], basée sur la mesure d'une force par arrachement. La méthode sera décrite plus en détail dans le deuxième chapitre matériel et méthodes (cf. II.B5).

La force d'arrachement dépend de la tension superficielle du liquide, elle-même dépend de la concentration de tensioactif. La mesure de cette force permet de déterminer la tension superficielle.

Cette mesure est une mesure statique. En effet, il n'y a pas de modification de l'interface en fonction du temps. Le problème de la migration du tensioactif ne se pose donc plus. Le système est toujours à l'équilibre et on détermine la tension superficielle.

I.B1.5 L'angle de contact

Nous pouvons également évaluer les propriétés d'étalement des gouttelettes en solution aqueuse sur les feuilles en déterminant l'angle de contact. C'est Tomas Young qui a introduit la notion de mouillabilité et de détermination de l'angle de contact. Ce modèle décrit l'équilibre mécanique d'une goutte déposée sur un support solide (végétal). Il est très proche du diagramme de forces que montre la *figure I.21* suivante. L'angle de contact (θ) est l'angle que forme l'interface air/liquide et l'interface liquide/feuille.

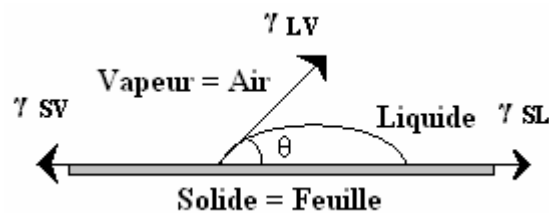


Figure I.21. Modèle de Young.

γ_{LV} = Tension de surface à l'interface liquide/vapeur (air)

γ_{SL} = Tension de surface à l'interface solide (Feuille/liquide)

γ_{SV} = Tension de surface à l'interface solide (feuille)/vapeur (air)

θ = Angle de contacte.

L'équation introduisant l'équilibre mécanique du modèle de Young est la suivante :

$$\gamma_{SV} - \gamma_{SL} = \gamma_{LV} \cdot \cos$$

Les valeurs directement accessibles par la mesure sont celles de l'angle de contact et la tension de surface γ_{LV} .

En 1935, MARCK [17] introduit un modèle plus simple. Ce modèle est basé sur le fait que la goutte de liquide possède un angle de contact aigu et que cette goutte n'est que faiblement affectée par les forces de gravité. Cette approximation permet de considérer la goutte comme étant quasiment une demi sphère (*figure I.22*).

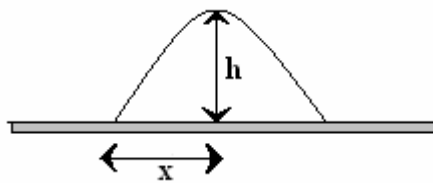


Figure I.22. Modèle de MARCK.

x = rayon de la goutte, h = hauteur de la goutte

La mesure de l'angle de contact est alors simplifiée. Elle est donnée par la relation

$$\tan \theta/2 = h/x$$

La valeur de l'angle de contact permet de comparer le pouvoir mouillant des solutions. Plus cet angle est faible plus le pouvoir mouillant est grand [18].

I.B1.6 Influence de la nature physico-chimique de la feuille

Au niveau de la solution la mouillabilité d'une bouillie est essentiellement liée, comme nous venons de le voir, à la tension superficielle du liquide.

Mais d'autres facteurs liés à la feuille elle-même interviennent, ce sont certaines propriétés physico-chimiques de la surface de la feuille telle que la nature chimique et la rugosité de la cuticule foliaire [19].

Une description très documenté des cuticules végétales a été donnée par HOLLOWAY [19] et BAUDRAD-ALZIEU [20].

En fonction de la composition chimique de cette cuticule, nous pouvons distinguer trois zones principales :

* *La zone la plus externe de cires épicuticulaires* (sont formes par un fil lisse et amorphe d'où peuvent émerger des structures cristallines de différentes formes (tubes, lamelles, ruban, filaments). Elles sont constituées par des composants à longues chaînes carbonées (20 à 35 atomes). Ce sont des alcools primaires et secondaires, des alcanes des cétones des aldéhydes, des acides gras estérifiés ou non. [118],

* *La cutine* (polymère d'acides gras de 16 à 18 carbones plus ou moins hydroxyles, formant une structure réticulée tridimensionnelle par l'intermédiaire des liaisons esters entre les acides et les alcools. C'est le composant principal de la cuticule [121].

**Et la zone le plus interne riche en pectine.*

Dans la cutine on trouve des structures analogues à celles générées par l'acide ricinoléique. Ces structures sont appelées estolides ou étholides comme le montre la *figure I.23*. Ceci laisse augurer des interactions ou affinités structurales favorables à la pénétration des composées dérivées de l'acide ricinoléique [120].

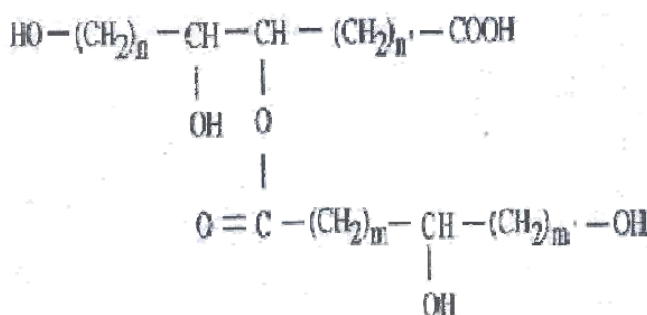


Figure I.23. Structures de la cutine

En effet est la zone épicuticulaire de la cutine qui est en contact immédiat avec la bouillie. Sa nature chimique joue évidemment un rôle important dans les phénomènes d'étalement et de mouillage. Toutefois, la composition peut varier suivant les espèces, certaine de ces constituants pouvant même disparaître.

Les cires forment en général des grains ou de fines bâtonnets disposées sur la surface. Ce sont surtout des surfaces hydrophobes, ce qui entraîne un mauvais mouillage avec l'eau, mais un bon mouillage avec des solutions aqueuses contenant des agents tensioactifs convenablement choisis [120].

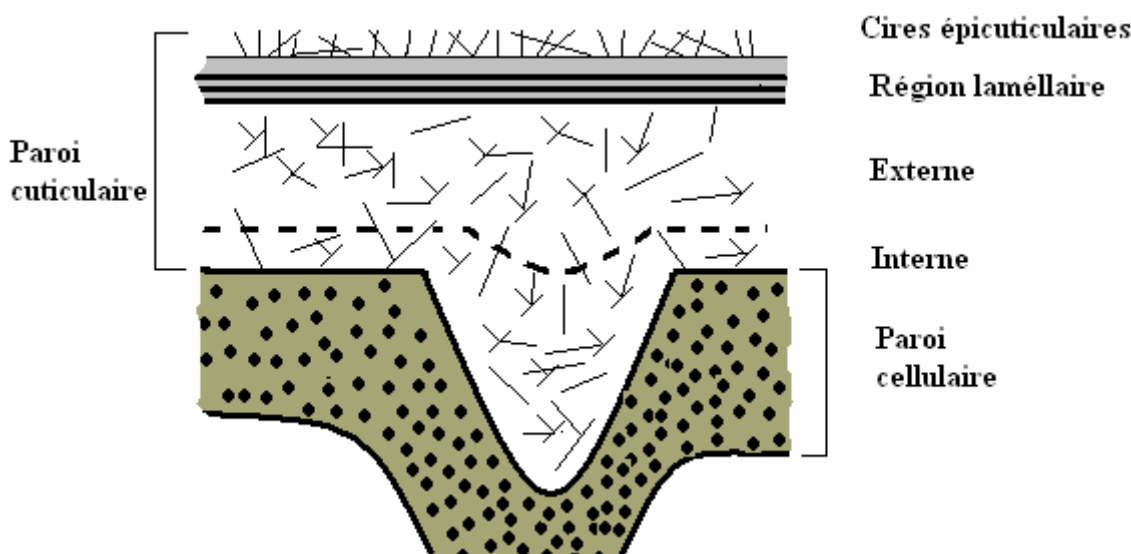


Figure I.24 Structure générale de la cuticule foliaire.

Les différences de morphologie des cires épicuticulaires sont fonction de l'espèce de la plante. En effet, chez beaucoup des plantes dicotylédones mouillables (moutarde, épinard, etc...) les cires épicuticulaires ont un aspect amorphe [121].

Chez d'autres plantes, peu mouillables, des structures de différents formes (tubes, plaques, etc...) émergent d'une couche lisse et probablement amorphe. On dit alors que les cires épicuticulaires sont cristallisées [121]. De plus la présence de reliefs diminue la surface de contact entre la goutte et la feuille. Ainsi, la structure des cires, qui dépend aussi de l'âge de la plante, est le déterminant majeur de la rétention.

Le second facteur affectant le mouillage et l'étalement est la rugosité de la surface. Les surfaces foliaires montrent plusieurs types de rugosité et en particulier les rugosités microscopiques visibles à l'oeil. Il s'agit des trichomes (poils) et des nervures. Au niveau des trichomes, il existe des variations importantes en ce qui concerne le type, la taille et la fréquence. Ces différences se retrouvent entre les espèces mais aussi entre les feuilles des plantes d'une même espèce ou d'une même plante et entre les régions d'une même feuille [121].

I.B2 EN TANT QUE SOLVANTS ALTERNATIFS D'EXTRACTION.

Un solvant, par définition, est une substance qui a le pouvoir de former avec d'autres substances une solution homogène [122].

Les propriétés recherchées pour les solvants d'extraction sont principalement :

- une forte solubilité de l'huile essentielle,
- une faible solubilité de l'eau,
- une faible toxicité pour des applications alimentaires [123, 124].

Dans ce contexte, de nombreux solvants ont ainsi été étudiés pour l'extraction des huiles et de composés aromatiques [123, 125, 126]. Parmi les principaux, nous retrouvons :

- les *halogéno -alcane*s comme le dichlorométhane, qui sont inflammables, mais qui présente un problème de compatibilité alimentaire et environnemental.
- les *éthers*, qui présentent d'importantes restrictions dans leur utilisation en raison de leur inflammabilité et des risques d'explosion.
- les *cétones* : cas particulier l'acétone, qui possède une affinité pour l'eau et dont l'odeur est souvent pénalisée dans l'industrie alimentaire [127].
- les *alcools*, en particulier l'éthanol [128] et l'isopropanol [125,126] qui sont des solvants compatibles avec l'alimentaire.

L'utilisation de matières premières renouvelables d'origine agricole pour la fabrication de bioproducts dans le domaine de la chimie correspond à une double nécessité: d'une part, offrir une alternative aux ressources fossiles et d'autre part, répondre aux défis environnementaux actuels: lutte contre l'effet de serre, réduction de pollutions (air, sol, eau), innocuité et biodégradabilité des produits [128].

En Europe, 23% des composés organiques volatils (COV) rejetés dans l'atmosphère, proviennent des solvants. Du fait de leur polarité et dépourvus de composés aromatiques les solvants d'origine végétale, tels que les esters méthyliques et éthyliques, trouvent une place de plus en plus importante en tant qu'agent de substitution des solvants d'origine pétrochimique .

Un exemple industriel réussi concerne l'utilisation des *biosolvants* dans la formulation des produits phytosanitaires.

En effet, si les traitements phytosanitaires sont indispensables au développement des cultures, deux constats s'imposent : d'une part on estime qu'entre 1 et 10% de la matière active atteint sa cible biochimique et d'autre part, l'utilisation des produits phytosanitaires est désignée comme une de sources majeures de pollution des eaux [129].

Les solvants sont utilisés dans les concentrés émulsifiables où ils permettent la solubilisation des matières actives.

Cette exploitation du potentiel chimique des agroressources passe par une première étape d'extraction des composés spécifiques d'une espèce botanique sélectionnée. Ceux-ci, en général, correspondent à des molécules à forte valeur ajoutée, mais présentes en faibles quantités. De nouveaux procédés d'extraction doivent donc être utilisés de façon à obtenir ces constituants dans une fraction de concentration maximale, et dans un état chimique le plus proche possible de leur structure native.

Ces démarches nous conduisent à une certaine réflexion sur le choix du solvant, par rapport aux différents critères de sélection. Pour cela nous avons tenu compte des différents mécanismes intervenant au cours de l'extraction:

1. La **capacité de pénétration** dans la matière, liée à la tension superficielle et à la viscosité.
2. La **solubilisation**, en relation avec la polarité, qui est décrite par des paramètres de solubilité, eux-mêmes liés notamment à la densité et à la masse moléculaire des solvants.

I.B2.1. Capacité de solubilisation et capacité extractante

I.B2.1a Pouvoir de solubilisation

Le pouvoir de solubilisation d'un solvant est rattaché à ses caractéristiques moléculaires, définissant notamment sa polarité et son hydrophilie, utilisées en tant qu'indicateurs de l'affinité chimique.

Les caractéristiques de polarité et d'hydrophilie sont notamment révélées par :

- la présence de groupes fonctionnels dissociant,
- le potentiel de liaison hydrogène et la faculté de mise en commun d'électrons,

Cette approche sur la capacité extractive des solvants se justifie d'autant plus qu'elle concerne des substrats végétaux dont la teneur en eau peut atteindre 80% pour les matières fraîches. L'affinité eau/solvant conditionne la diffusion dans les tissus riches en eau interstielle et dans les cellules où l'eau libre est abondante.

En outre, la solubilisation peut atteindre le milieu interstitiel qui participe à l'intégrité des tissus. Cette action prime sur les facteurs intervenants sur le pouvoir extractant, notamment liés à la diffusion en relation avec les propriétés physiques du solvant. Par sa qualité destructurante, elle a pour incidence d'assurer la diffusion du solvant dans les tissus végétaux. [130]. Indicateur de l'affinité vis-à-vis de l'eau, une forte polarité se traduit soit par une action directe du solvant sur les constituants polaires du contenu cellulaire, soit par une solubilisation de certains de ces constituants ou encore par une rupture des interactions.

Un exemple de cette interaction et rupture concerne l'éthanol, qui a une grande affinité pour l'eau. Il déstabilise les interactions hydrophobes responsables de la structure tertiaire des molécules protéiques ou lipoprotéiques présentes dans les membranes cellulaires. De plus, l'action alcoolisée de l'éthanol, provoque certaines dégradations au sein des matières végétales portant notamment sur la rupture des ponts éther des molécules phénoliques, en particulier des motifs de lignine [131,132]. L'éthanol modifie donc la structure des tissus ligneux ainsi que le contenu cellulaire des matières traitées.

Quelles que soient ses propriétés physiques déterminant sa diffusion, l'éthanol bénéficie d'un fort pouvoir extractant dès lors que la majorité des tissus, dont les tissus structuraux et de soutien de la matière végétale, est d'origine ligno-cellulosique. En ce qui concerne l'affinité vis-à-vis de l'eau, deux facteurs sont à prendre en compte : la solubilité du solvant dans l'eau et la solubilité de l'eau dans le solvant.

Ces facteurs interviendront vraisemblablement sur la diffusion des produits à l'intérieur du contenu cellulaire, notamment la solubilité dans l'eau pour la circulation du solvant dans les milieux hydratés. La solubilité de l'eau et sa polarité seront plus particulièrement déterminantes pour prévoir le pouvoir du solvant vis-à-vis des composés hydrophiles dans un milieu hydrophile.

I.B2.2b Le pouvoir extractant [105]

L'estimation de l'efficacité d'un solvant ne peut être réduite aux seules propriétés chimiques de polarité et d'affinité vis à vis de l'eau. Nous devons également tenir compte des propriétés physiques déterminant la capacité du solvant à pénétrer dans une matrice poreuse, donc nous parlons de pouvoir extractant. Le pouvoir extractant est défini par la capacité du solvant à pénétrer et à diffuser dans la structure végétale de telle sorte qu'il rencontre et

entraîne les molécules cibles. Evidemment ce dernier processus suggère la solubilisation de ces molécules par le solvant.

Il est clair que ces notions de pouvoir solvant et extractant, ainsi que de sélectivité chimique, sont liées les unes aux autres par les caractéristiques chimiques et physiques du solvant. Nous tenterons d'apprécier le pouvoir extractant selon deux composants eux-mêmes liés à plusieurs paramètres indiqués ci-dessous :

- la capacité de pénétration : tension superficielle et viscosité,
- la capacité de diffusion.

I.B2.2c La capacité de pénétration

La faible tension superficielle d'un liquide dans lequel on immerge une matrice solide poreuse tel qu'un substrat végétal, permet un bon mouillage des pores, d'autant plus si ces pores sont de petite dimension, d'où une pénétration efficace du liquide, notamment s'il s'agit d'une matière à organisation cellulaire. Si la viscosité du liquide est peu élevée, il bénéficiera d'un bon écoulement dans les pores et circulera naturellement dans les espaces inter-cellulaires [130].

I.B1.2d La capacité de diffusion.

La diffusion d'un composé A dans un système binaire A-B a lieu en générale grâce au gradient de concentration de A. ce phénomène est appelé « diffusion ordinaire ». Par opposition à la diffusion sous pression où le mouvement de A procède d'un gradient de pression, ou la diffusion thermique (la progression de A découle d'un gradient thermique), ou la diffusion force (la dispersion de A résulte d'un apport énergétique externe quelconque). La diffusion dans un système multiphasique est plus complexe car elle n'est pas régie par un simple équilibre de la viscosité au sein du milieu [133]. LILEY et col [134] utilisent l'équation de STOKES EINSTEIN pour calculer le *coefficient de diffusion* de A dans B en phase liquide.

$$D_{AB} = \frac{RT}{6\pi \eta_B \gamma_A}$$

Où : **R** = Constante universelle des gaz, **T** = Température exprime en °K, **η_B** = Viscosité du solvant B, **γ_A** = rayon d'une molécule de soluté A.

Le coefficient de diffusion des solvants dans les matières végétales est impossible à déterminer selon ce modèle mathématique, car les matières végétales sont des corps complexes hétérogènes pour lesquels on ne dispose pas des constantes physico-chimiques.

Cependant, LILEY [134] montre que le coefficient de diffusion des solvants est lié à leur viscosité. En ce qui concerne la diffusivité d'une solvant dans une matière végétale, KRASUK et col [135] rapportent qu'elle dépend de certaine facteur internes tels que l'épaisseur et la taille des particules, le teneur en eau et en huile, etc.....

Ainsi la diffusivité est fréquemment corrélée à la viscosité cinématique (γ) donne par la relation [135] :

$$\gamma = \mu / \rho *$$

où

μ = es la viscosité (en centipoises), ρ = est la masse volumique (en g/cm³), * **Exprime en (cm². sec⁻¹)**

SPIRO et col [136] ont étudié la vitesse de diffusion de différentes solvants dans une partie de gingembre. Ils ont effectivement corrèle la vitesse de diffusion des solvants à leurs viscosité cinématique (relation universel proportionnelle). Par contre, selon leurs résultats, elle est indépendante de l'énergie de cohésion moléculaire (que les auteurs rapprochent du point d'ébullition), et du volume moléculaire bien que celui-ci soit théoriquement un indicateur du pouvoir de pénétration du solvant dans une structure poreuse.

I.B3 LES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS A CHAINE COURTE ET IMPAIRE

Les acides gras constituant les triglycérides naturels sont des acides monocarboxyliques à nombre d'atomes de carbone supérieur ou égal à 4, saturés ou non, généralement non ramifiés, parfois porteurs de fonctions autres que la fonction acide [137].

En égard à leur biosynthèse qui se résume à une oligomérisation linéaire de l'acide acétique assisté par une enzyme, et à leur biodégradation qui se fait par suppression de deux atomes de carbone à la fois, les acides gras naturels possèdent un nombre pair d'atomes de carbone. Les acides gras à nombre impair d'atomes de carbone sont uniquement rencontrés en proportions notables dans les graisses animales [138].

La présence d'une ou plusieurs doubles liaisons sur la chaîne carbonée peut d'une part donner naissance à toute une série d'isomères géométriques ou de positions où même à la combinaison des deux. D'autre part la double liaison confère à la molécule d'acide gras une certaine fragilité vis-à-vis de la température et lui donne la possibilité de réagir avec de nombreux corps [138].

I.B3.1 La liaison ester et importance économiques des esters

Si l'alcool a une masse molaire faible tel que le méthanol ou l'éthanol, le point de vaporisation est fortement abaissé. Si l'alcool est lourd, le point de vaporisation s'élève mais le produit reste liquide, ses propriétés solvantes sont alors mises à profit comme plastifiant [138]. Depuis longtemps, l'utilisation des esters est en augmentation. Ces dérivés rentrent dans la fabrication de divers produits industriels, leur grande diversité de production donne des esters particulièrement adaptés à chaque usage [139]. Les esters d'acide gras sont des composés que l'on rencontre très souvent dans les huiles, les graisses, les cires, etc. Cependant on réalise industriellement de nombreuses estérifications pour produire des esters spécifiques à chaque type d'utilisation.

Un autre exemple, est la fabrication de nombreuses micro-émulsions concentrées de pesticides, élaborées avec des esters d'acides gras, qui montrent une excellente solubilité [140]. Cette dernière et le pouvoir émulsifiant sont optimisés pour les esters d'acides gras qui contiennent 8 à 12 carbones, cependant ces propriétés décroissent avec un nombre de carbones supérieur à 18.

I.B3.2 Cas particulier des esters des acides gras à chaînes courtes obtenues à partir d'huile de ricin

Les esters d'acides gras sélectionnés dans cette étude sont l'heptanoate d'éthyle, le nonanoate d'éthyle et l'undecanoate d'éthyle pour faire partie d'un programme de valorisation des propriétés solvants.

Les esters éthyliques utilisés ont été produits par estérification des acides gras à chaîne courte et impaire au cours de ces travaux. Ces acides gras sont obtenus à partir de l'huile de ricin.

I.B3.2b L'huile de Ricin

Les pays producteurs d'huile (principalement le Brésil et l'Inde) traitent plus de 80% de l'huile qu'ils produisent. L'Inde produit 345 à 365 mille tonnes d'huile. La France, est le premier pays importateur d'huile à usage industriel. Les USA importent 100% de leur besoin en huile [139].

Plus de 50% de cette huile importé est utilisée dans l'industrie des plastiques, des vêtements et des résines. Les autres pays producteurs d'huile comme la Russie et la Chine, consomment une grosse partie de leur production, notamment pour des usages techniques traditionnels (lubrifiants, peintures, vernis, savons) [140].

L'huile de ricin est obtenue à partir de la graine de ricin par pression à froid ou à chaud ou par extraction à l'aide des solvants. La graine contient entre 50 à 55% d'huile [141]. La composition en acides gras de l'huile de ricin est présente dans le *tableau I.3* suivant

Acides gras	Cx	Pourcentages
Ricinoléique [No. CAS 141-22-0]	C _{18:1} (OH)	89,5
Linoléique [No. CAS 60-33-3]	C _{18:2}	4,2
Oléique [No. CAS 112-80-1]	C _{18:1}	3,0
Palmitique [No. CAS 57-10-3]	C _{18:0}	1,0
Stéarique [No. CAS 57-11-4]	C _{18:0}	1,0
Dihydroxystéarique [No. CAS 120-87-6]	C ₁₈ (2OH)	0,7
Eicosanoïque [No. CAS 506-30-9]	C _{20:0}	0,3
Linoléinique [No. CAS 463-40-1]	C _{18:3}	0,3

Tableau I.3 Composition en acides gras de l'huile de ricin.

Cependant son originalité réside dans le fait qu'elle possède une forte teneur en acide ricinoléique (89,5). L'acide gras se trouve dans l'huile sous forme de triglycérides (*figure I.9*).

L'acide ricinoléique possède 18 atomes de carbone, un groupement hydroxyle sur le douzième carbone et une double liaison entre les carbones 9 et 10. Il confère à l'huile de ricin ses spécificités industrielles. En effet, l'huile de ricin a un indice de viscosité très élevé (6,5-8,0), le plus stable de toutes les huiles végétales [139].

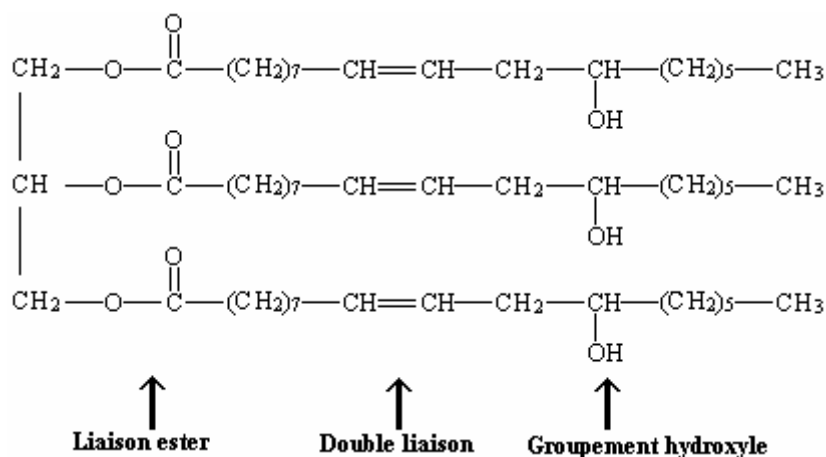


Figure I.25 Structure chimique des triglycérides de l'huile de ricin [142].

Grâce à ses groupes hydroxyle, à ses doubles liaisons et à sa liaison ester, l'huile de ricin peut se combiner à beaucoup de polymères et de cires, offrant un grand nombre d'applications industrielles [142]. L'huile de ricin est surtout utilisée après transformations chimiques et sous forme de dérivés offrant une large gamme d'applications industrielles [139].

En France, la société ATOCHEM a mis au point un procédé conduisant à la formation de l'acide undécylénique et de l'heptaldéhyde par pyrolyse de l'huile de ricin, comme le montre la figure I.B. L'acide undécylénique est utilisé comme précurseur dans la fabrication de nylon 11. Le co-produit qui est l'heptaldéhyde est transformé en *acide heptanoïque* (No. CAS 111-14-8).

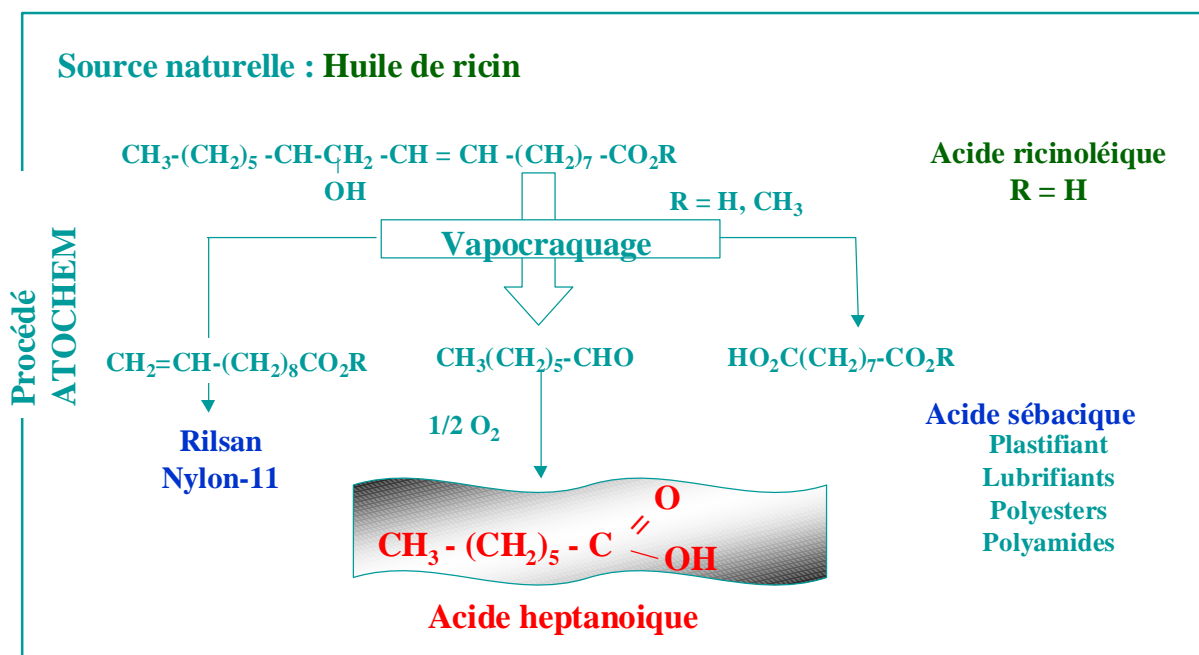


Figure I.26 Procédé d'obtention de l'acide heptanoïque de la société ATOCHEM.

Le vapocraquage de l'huile de ricin pour la production du nylon 11 génère un grand nombre de composés chimiques contenant 7 à 18 atomes de carbone parmi lesquels l'acide heptanoïque et l'acide undecylénique [143].

I.B4 PROCEDE D'ESTERIFICATION DES ACIDES GRAS A CHAINE COURTE ET IMPAIRE

L'estérification des acides gras est une réaction réversible et lente, elle est catalysée généralement par des acides, telle que l'acide sulfurique et l'acide paratoluène sulfonique (ApTS) [139]. A l'équilibre, la composition du mélange est définie par la constante d'équilibre (*figure I.27*) :

$$K = \frac{[R-COOR'] [H_2O]}{[R-COOH] [R'OH]}$$

Figure I.27 Constante d'équilibre de la réaction d'estérification.

Pour un mélange équimolaire d'acide et d'éthanol, la limite d'estérification, c'est à-dire la proportion d'ester formé dépend surtout de la classe de l'alcool utilisé à savoir de l'alcool primaire, secondaire ou tertiaire. Il faut remarquer qu'une modification de la température ne déplace pas l'équilibre car la réaction est pratiquement athermique ($\Delta H = 0$).

La réaction entre un alcool et un acide carboxylique pour former un ester est d'une importance industrielle considérable. Elle conduit à la production de nombreux esters dont les applications sont extrêmement variées [138]. L'estérification conduit à la formation d'un ester et de l'eau, à partir d'un acide et d'un alcool comme le montre la réaction ci-dessous :

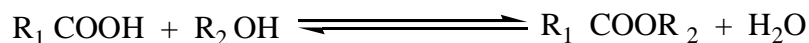


Figure I.28 réaction d'estérification des acides gras

Afin de synthétiser l'ester avec le meilleur rendement, il est nécessaire de déplacer l'équilibre vers la formation des produits. Parmi les différentes possibilités nous pouvons citer :

- l'emploi d'une quantité importante d'un des réactifs, en général l'alcool [144],
- l'élimination de l'eau, soit par changement de phase [145], soit par l'action d'agents desséchants [146, 147,148],

- par distillation [149] ou
- par la pervaporation [150].

Parmi les moyens disponibles pour accélérer la réaction, il faut mentionner la catalyse acide homogène [151], ou hétérogène [152], les catalyseurs métalliques [153], ou enzymatiques [154].

Dans tous le cas, un accroissement de température permet une augmentation de la vitesse de la réaction d'estérification. Cependant, des températures trop élevées peuvent favoriser l'hydrolyse, dénaturer les produits et conduire à la formation de composés secondaires.

I.B4.1 Utilisation des agents desséchant dans le procédé d'estérification

Pour obtenir l'éthanol à l'état pur, des méthodes conventionnelles de séparation d'eau ont été utilisées, notamment le procédé de distillation.

Cependant, cette méthode n'est pas applicable aux formes azéotropiques de l'éthanol à pression atmosphérique et pour l'azéotrope avec de l'eau dans une composition à 95% d'éthanol à une température de 78,1°C. Par conséquent, d'autres méthodes plus adaptées sont employées pour séparer l'azéotrope [155].

Par exemple un procédé récemment utilisé pour la séparation de l'azéotrope est la pervaporation [150]. Cette méthode consiste à faire passer l'azéotrope à travers des membranes d'alcool polyvinylique afin d'éliminer l'eau. Cependant, les membranes polymériques ne sont pas adaptées aux applications impliquant des fortes concentrations en eau et celles mettant en jeu des réactifs et produits lipophiles.

Une autre méthode employée pour la séparation de l'eau et l'éthanol est la distillation adsorptive. Elle consiste en l'utilisation d'agents adsorbants, communément appelés déshydratants comme le tamis moléculaire, le sel de chlorure ou le gel de silice. Les tamis moléculaires de type 3A sont les plus employés dans la séparation de l'azéotrope eau-éthanol grâce à sa grande sélectivité [156].

Le choix de l'adsorbant adéquat pour effectuer une séparation du liquide dépend largement de la structure interne des adsorbants. Les différences de structure et par là-même des propriétés adsorbantes sont simplement liées à la nature de l'adsorbant et à la différence de la méthode de préparation.

La description et la caractérisation physique d'un absorbant utilisent des grandeurs telles que la surface spécifique, le volume des pores, la distribution de taille de pores. Cette dernière entité est discriminante puisque certains composés ne pourront être absorbés si leur taille est plus grande que celle des pores de l'absorbant [156]. Les tamis moléculaires ont un diamètre de pore bien défini, et ne peuvent adsorber que les molécules dont la taille leur permet d'entrer à l'intérieur des cages. Leur sélectivité est ainsi augmentée [157].

L'adsorption sur le charbon actif est restée pendant longtemps et jusqu'à nos jours, la méthode la plus utilisée et la plus efficace pour la réduction de micropolluants organiques [157]. Le charbon actif présente de nombreux avantages tels qu'une grande stabilité et un fort pouvoir adsorbant dû essentiellement à sa grande surface spécifique. Néanmoins, le coût engendré par la régénération périodique des matériaux a conduit à la baisse d'utilisation de cet adsorbant. Le charbon actif présente aussi des distributions de taille de pore très dispersées, et ne peut que très rarement être employé comme adsorbant sélectif. En général il est utilisé pour l'adsorption simultanée de mélanges de molécules de taille variable.

Tout ceci nous a conduit à sélectionner le tamis moléculaire de type 3A comme agents desséchants au cours de notre étude concernant la réaction d'estérification. Il a été mise en oeuvre par EYCHENNE et MOULOUNGUI [146] en tant que zéolithe en réacteur discontinu et continu comme support de la catalyses homogène et hétérogène pour déplacer les équilibres de réaction d'esterification de l'acide oléique avec le glycérol.

I.B4.1a Le Tamis moléculaire

Les tamis moléculaires sont des matériaux poreux, découverts par A.F. CRONSTEDT en 1756. Le nom de « tamis moléculaire » est dérivé de la capacité à conserver les molécules d'eau bien au-delà de sa température d'ébullition. Structuralement un tamis moléculaire est un assemblage de cages d'aluminosilicates cristallisées [158].

La cage unitaire consiste en un assemblage de tétraèdres associant des complexes d'oxydes d'aluminium $[\text{AlO}_4]^{5-}$ et d'oxydes de silicium $[\text{SiO}_4]^{4-}$, et partageant les atomes d'oxygène. Les charges anioniques sont équilibrées par la présence de cations alcalins ou alcalino-terreux (Na, K, Li, Ca) et s'organisent selon la formule $\text{M}_{x/n} [\text{Al}_x \text{Si}_y \text{O}_{2(x+y)}]_z \cdot z \text{H}_2\text{O}$. Selon la valeur du rapport y/x , nous pouvons classer les structures en plusieurs types [159]. L'organisation cristalline en anneaux de plusieurs tétraèdres élémentaires confère au matériau des propriétés poreuses particulières.

En effet, les anneaux ont des ouvertures de taille définie jouant ainsi le rôle de barrière empêchant l'entrée aux cages à des molécules de taille trop importante. Le matériau est donc employé comme son nom l'indique en tant que tamis moléculaire. La taille des pores ainsi définie est variable selon la taille (et donc la nature) du cation compensant la valence des tétraèdres originaux [159].

Type	Composition
3A	0.6 K ₂ O : 0.40 Na ₂ O : 1 Al ₂ O ₃ : 2.0 ± 0.1 SiO ₂ : x H ₂ O
4A	1 Na ₂ O : 1 Al ₂ O ₃ : 2.0 ± 0.1 SiO ₂ : x H ₂ O
5A	0.80 CaO : 0.20 Na ₂ O : 1 Al ₂ O ₃ : 2.0 ± 0.1 SiO ₂ : x H ₂ O

Tableau I.4 Composition chimique du tamis moléculaire de type A.

Les tamis moléculaires de type A, sont les plus souvent utilisés en séparation et purification de liquide par adsorption. Pour un tamis de type A, le rapport Si/Al est proche de 1. Ainsi, la charge globale du cube est de -12, et peut donc recevoir jusqu'au 12 cations compensateurs monovalents.



Figure I.29 Représentation schématique de la cage élémentaire de cristal de tamis moléculaire type A en forme de cube octaédrique [159].

La position des cations dépend de leur nature, mais les sites récepteurs sont en général placés au voisinage des fenêtres d'accès, rétrécissant ainsi l'ouverture. Par exemple la molécule d'éthanol qui possède un diamètre de 4,46 Å ne sera pas intercalée à l'intérieur de la cage du tamis dont le diamètre est de 3 Å.

I.B4.2 Méthodes d'estérification utilisées

Nous avons utilisé deux méthodes d'estérification d'acides gras : la méthode *soxhlet* et la méthode *semi continu réacteur extracteur catalytique*. Ces derniers sont décrits dans le chapitre matériel et méthodes

I.B4.3 Désacidification du milieu réactionnel à l'aide d'une résine macroporeuse

L'indice d'acide est une caractéristique essentielle pour les esters utilisés comme lubrifiants. Plus cet indice est faible et moins nous observons de phénomènes de corrosion. Il convient donc d'éliminer l'acide qui n'a pas réagi afin d'obtenir un indice d'acide final le plus faible possible.

Les méthodes les plus courantes d'obtention d'esters neutres sont : le lavage par une solution alcaline, le traitement sur alumine, ainsi que la distillation sous vide [160]. Le lavage alcalin se fait, par exemple, à l'aide de la soude et permet de supprimer les acides sous forme de sels. L'alumine a, quant à elle, été utilisée pour des chaînes d'acides carboxyliques de C6 à C18, mais elle est difficile à recycler.

Enfin, la distillation sous vide nécessite des températures très élevées et des pressions réduites. Par exemple, le point d'ébullition de l'acide undecanoïque est de 213°C sous une pression de 100 mmHg [160].

Une étude sur la désacidification des milieux lipochimiques par fixation des acides gras libres sur une résine échangeuse d'anions a déjà été menée par S. CHAPELLE et col [160] dans le but de réaliser la fixation et le recyclage des acides heptanoïque, undecylénique, et oléique sur la résine échangeuse d'anion Lewatit MP500. [143]

L'étude envisagée ici porte sur la désacidification d'un mélange constitué par l'acide organique à chaîne courte et impaire (C7, C9, C11) résiduel et l'ester formé. Les caractéristiques de la résine utilisée pour la désacidification sont présentées dans le paragraphe suivant.

I. B4.3a La résine macroporeuse Ambersept 900-OH

Les résines résultent principalement de la polymérisation de monomères de styrène, d'acrylate, de méthyle, de méthacrylate, ou encore d'acrylonitrile. La réticulation est effectuée grâce au divinylbenzène. Puis les billes de polyacryliques inertes sont activées soit par hydrolyse, soit par l'action d'un acide (acide sulfurique) ou d'une base [161]. Le support utilisé est une résine macroporeuse anionique hydrophobe (Ambersep900-OH) fournie par la société ROHM AND HAAS France.

Il s'agit d'un copolymère du styrène et du divinylbenzène activé par des ammoniums quaternaires. Sa structure est détaillée sur la *figure I.30*.

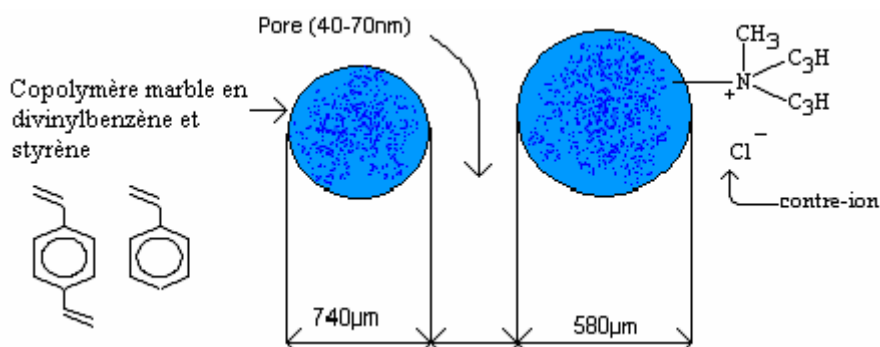


Figure I.30 Structure de la résine Ambersept 900-OH [144].

Selon l'utilisation faite de ce solide, le contre ion requis sera différent. A partir de la forme hydroxylée, plusieurs traitements pourront être effectués afin d'obtenir une résine sous forme carbonatée (HCO_3^-) ou chlorée (Cl^-).

Forme Ionique	OH
Groupe activé	Amine quaternaire Type I Alkyl
Matrice	Polystyrène
Structure	Macro réticulaire
Capacité minimale	0.90 eq/L

Tableau I.5 Caractéristiques physiques de la résine [144].

I.B4.4 Décoloration des esters éthyliques des acides gras

Cette opération vise à éliminer les traces de couleur que la désacidification n'a que partiellement réalisé chez certains esters. Elle fait intervenir un phénomène physique: l'adsorption soit sur des terres décolorantes, soit sur du charbon actif ou encore sur des silices spéciales [162, 163].

Les *terres naturelles* sont employées telles quelles car elles possèdent un pouvoir décolorant naturel. Ce sont des argiles plastiques de type bentonite, hectorite ou sépiolite [163].

La haute capacité adsorbante de ces minéraux provient de leur grande surface spécifique. Mais ces terres sont peu actives et ne sont pas activables, donc leur emploi est limité à de faibles quantités à décolorer.

I.B4.4a Utilisation de terres naturelles de type bentonite

En tant que matière première brute, l'argile est donc un mélange de minéraux argileux et d'impuretés cristallines sous forme de débris rocheux de composition infiniment diverse.

L'intérêt accordé ces dernières années à l'étude des argiles par de nombreux laboratoires dans le monde se justifie par leur abondance dans la nature, l'importance des surfaces qu'elles développent, la présence des charges électriques sur cette surface et surtout l'échangeabilité des cations interfoliaires. Ces derniers, appelés aussi cations compensateurs, sont les principaux éléments responsables de l'hydratation, du gonflement, de la plasticité, et ils confèrent à ces argiles des propriétés hydrophiles [164].

L'altération et la transformation hydrothermale des cendres des tufs volcaniques riches en verre entraînent la néoformation des minéraux argileux, qui font partie principalement du groupe des smectites. Les roches argileuses ainsi formées portent le nom de **bentonite**, d'après le gisement situé près de Fort Benton (Wyoming, Etats-Unis).

La bentonite se caractérise par une capacité élevée d'adsorption, d'échange ionique et de gonflement, ainsi que par des propriétés rhéologiques particulières (thixotropie). Elle a de ce fait de larges applications (céramique, peinture, pharmacie, terres décolorantes...) [158].

Stratégie envisagée

Nous venons de voir l'importance du rôle des adjuvants dans l'utilisation efficace et raisonnée des matières actives des traitements phytosanitaires. Les bouillies des produits phytosanitaires ainsi modifiées (au niveau des propriétés physico-chimiques) seront mieux orientées et mieux ciblées sur les feuilles et permettront d'éviter les pertes de matière active.

Cependant les adjuvants ne constituent pas une recette universelle, on peut s'exposer à des déconvenues comme une éventuelle phytotoxicité de la culture ou une écotoxicité. C'est pourquoi il faut les utiliser de manière raisonnée et surtout concevoir des produits avec des composés plus respectueux de la plante et de l'environnement

Nous avons donc envisagé d'utiliser nos compétences et notre expérience en chimie au sein du groupe de *lipo-oléo chimie* des dérivés d'acides gras, pour effectuer l'étude (au niveau de leurs propriétés solvants et biologiques) des esters éthyliques d'acides gras en tant que molécules tensioactives adjuvantes et comme solvants d'extraction, dans la formulation d'un « solvant/actif » d'origine végétale avec application dans la industrie phytosanitaire.

Les esters éthyliques d'acides gras sont produits à partir de la réaction d'estérification d'acides gras avec l'éthanol en présence de catalyseur. C'est donc ces dérivés biodégradables que nous avons choisi comme matière première du combiné appelé « solvant/actif » constitué par les huiles essentielles et les esters éthyliques d'acides gras à chaîne courte et impaire.

En effet, l'analyse des propriétés physico chimiques connues (d'après l'étude bibliographique effectuée) et celles que nous avons déterminées pour ces esters sont présentées dans le *tableau I.5*. Elle nous permet de mettre en évidence les propriétés physico-chimiques importantes telles que la tension superficielle, la viscosité, l'angle de contact, la balance hydrophile lipophile... des esters qui nous permettraient de les utiliser en tant qu'adjuvant et solvant d'extraction dans notre combiné.

Par exemple lors de la capacité de pénétration d'un liquide nous avons mentionné qu'une faible tension superficielle (proche à celle des esters éthyliques soit de 25 à 27 dynes/cm²) d'un liquide dans lequel on immerge une matrice solide telle qu'un substrat végétal joue un rôle important dans l'efficacité de pénétration.

De la même manière nous avons pu montrer le rôle de la viscosité d'un solvant liquide. En effet si la viscosité du liquide est peu élevée, il bénéficiera d'un bon écoulement dans les pores de la matière végétale et circulera naturellement dans les espaces intercellulaires.

Solvant	Heptanoate d'éthyle	Nonanoate d'éthyle	Undecanoate d'éthyle
<i>Masse moléculaire</i>	158,24	186,29	214,34
<i>Densité (20°C)*</i>	0,94	0,86	0,85
<i>Solubilité (g/L) à 20°C dans l'eau</i>	0,256	0,027	0,002
<i>Tension superficielle (dynes/cm²)*</i>	26,04/25°C	26,01/25°C	27,31/25°C
<i>Viscosité (cp)*</i>	2,08/25°C	3,32/25°C	5,09/25°C
<i>Température d'ébullition (°C)</i>	190,5 à 760 mmHg	220 à 760 mmHg	105 à 4mmHg
<i>Balance hydrophile lipophile (BHL)</i>	1,07	0,622	0,26
<i>Coefficient de partage octanol/eau (log P)</i>	2,37	2,97	3,52

* déterminée, ** références bibliographiques

Tableau I.5 *Caractéristiques physico-chimiques des solvants ayant été utilisés pour l'extraction des composants aromatiques.*

L'utilisation de l'ester éthylique (heptanoate d'éthyle) dans le procédé d'extraction peut être justifié non seulement par ses caractéristiques physico-chimiques très proches des caractéristiques idéales du solvant d'extraction, mais aussi par ses propriétés de biosolvant.

Dans le deuxième chapitre Matériels et Méthodes, nous aborderons les conditions opératoires des procédés employés pour effectuer le combiné, que ce soit à l'échelle laboratoire ou en unité pilote. Puis, nous décrirons la réaction d'estérification des acides gras à chaîne courte et impaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Association Française de Normalisation, 1986, Recueil de normes Françaises “Huiles essentielles”, AFNOR, Paris. AFNOR NF T 75-006
- [2] J. Brunechon, 1987, Pharmacognosie, Ecole technique de documentation, Ed. Ravoilie.
- [3] J.H. Langenheim. 1969. Amber: a botanical inquiry. *Science*. 163(872), 1157-1169.
- [4] J.Q. Cu. 1990. Extraction de compositions odorants végétales par divers solvants organiques. Thèse de l’Institut Nationale Polytechnique. Toulouse, France.
- [5] J.M. Tedder. 1970. Basic Organic chemistry. Ed. John Wiley & Sons. New York.
- [6] C. Bourrel. 1993. Analyse chimique, activités biostatiques et antioxydantes d’extraits de plantes aromatiques sélectionnées. Thèse de l’Institut National Polytechnique de toulouse. Toulouse, France.
- [7] J. Pellecier., J.L Roussel C. Andary.1980. Recherche du pouvoir antifongique de quelques huiles essentielles. *Rivista Italiana Essenzo (EPPOS)*. 23,45-50.
- [8] C. Viollon., J.P. Chaumont. 1994. Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*. 128(3), 151-153.
- [9] J.P. Chaumont. D. Leger. 1989. Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement très voisin. Relation structure –activité. *Plant Med. Phyto*. 23(2), 124-126.
- [10] A. Sivropoulou, E; Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of origanum essential oils. *J. Agric. Food Chem*. 44, 1202-1205.
- [11] A. Zambonelli., A.Z. D’Aurelio., A. Severi., E. Benvenuti., L. Maggi., A. Bianchi. 2004. Chemical composition and fungicidal activity of comercial essential oils of thymus vulgaris L. *J. Essent. Oil Res* 16(1), 69-74.
- [12] T. Mangena., N.Y.O. Muyima. 1999. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of artemisia afra, pteronia incana and rosmarinus officinalis on selected bacteria and yeast strains. *Lett. Appli. Microbiol*. 28(4) 291-296.
- [13] A. Agnihotri, S. Khatoon., M. Shanta. 2003. Pharmacognostical evaluation of an antioxidant plant-Acorus calamus linn. *Nat. Prod. Sci*. 9(4)264-269.
- [14] D. Caccionni., M. Guizzardi., D. Biondi, R. Agantio., R. Guisepe. 1998. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on penicillinum digitatum and penicillium italicum. *International J. Food Microbiol*. 43(12), 73-79.
- [15] M. Hudaib., E. Speroni., M Di Pietra., V. Cavrini. 2002. GC/MS ecaluation of thymus (Thymus vulgaris L.) oil composition and variations during during the vegetative cycle. *J. Pharma. Biom. Analysis*. 29(4), 691-700.

- [16] N. Kurita., M. Miyaji., R. Kurane., Y. Takahara. 1981. Antifungal activity of components of essential oils. *Agric. Biol. Chem.* 45(4), 945.
- [17] N. Kurita., M. Miyaji., R. Kurane., Y. Takahara., K. Ichimura. 1979. Antimicrobial activity of dalmatian sage oil from different regions of the Yugoslav Adriatic coast. *Agric. Biol. Chem.* 43 (11), 2365.
- [18] D. Zakarya; T. Fathallah; M. Chascrette. 1993. Use of multifunctional autocorrelation method to estimate molar volumes of alkanes and oxygenated compounds. Comparison between components of autocorrelation vectors and topological indices. *J. Phys. Org. Chem.* 6(10), 574-582.
- [19] Q. Delespaul., V. De Billerbeck., C.G. Roques., J.M. Bessiere. 2000. The antifungal activity of essential oils as determined by different screening methods. *J. Essent. Oil Res.* 12, 256-266.
- [20] K. Veres, E. Varga, A. Dobos, Zs. Hajdu, I. Mathe. 2003. Investigation of the composition and stability of the essential oils of *Origanum vulgare* ssp., *vulgare* L. and *O. vulgare* ssp. *Hirtum* (Link) Ietswaart. *Chromatographia.* 57(12), 95-98.
- [21] E. Rodriguez; G.H.N. Towers; J.C. Mitchell. 1976. Biological activities of sesquiterpenes lactones. *Phytochemistry.* 15, 1573-1580.
- [22] V.K. Raina; S. Srivastava ; K. Aggarwal; K.K.Syamasundar. 2003. Essential oil composition of *Cymbopogon martinii* from different places in india. *J. Flavour Fragr.* 18(4), 312-315.
- [23] I.B. Chinou; V. Roussis; D. Perdetzoglou; O. Tzakou. 1997. Chemical and antibacterial studies of two *Helichrysum* species of Greek origin. *Planta med.* 63(2), 181-183.
- [24] B.R. R. Rao., A.K. Bhattacharya., G.R. Mallavarapu., S. Ramesh. 2004. Yellow and crinkling disease and its impact on the yield and composition of the essential oil of citronella (*Cymbopogon winteranus* Jowitt.). *J. Flavour Fragr.* 19(4), 344-350.
- [25] K. Nakahara ; N.S. Alzoreky ; T. Yoshihashi; H.T. Nguyen. 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus* (citronella grass). *Japan Agric Res. Quarterly.* 37(4),249-252.
- [26] C. Kanko; B. Sawaliho; S. Kone; G. Koukoua. 2004. Study of physicochemical properties of essential oils from *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citrates*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon gigantescus*. *Comptes Rendus Chimie.* 7(10-11), 1039-1042.
- [27] J.C. Chalchat., R.P. Garry., L. Sidibe., M. Harama. 2000. Aromatic plants of Mali (V): chemical composition of essential oils of four *Eucalyptus* species implanted in Mali: *Eucalyptus camaldulensis*, *E. citriodora*, *E. torelliana* and *E. tereticornis*. *J. Essent. Oil Res.* 12(3), 695-701.

- [28] A. Allahverdiyev., N. Duran., M. Ozguven., S. Koltas. 2004. Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against herpes simplex virus type-2. *Phytomedicine*. 11 (7-8), 657-661
- [29] A.M. Folcia., G. Mareggiani., E. Botto., D. Franzetti. 2004. Toxicity of cineole and acetonic extract of *Eucalyptus globulus* against a pest and its parasitoid. *Revista latinoamericana de Quimica*. 32(2), 61-66.
- [30] D. Macdonald., K. VanCrey., K. Harrison., P. Rangachari. 2004. Ascaridole-less infusions of *Chenopodium ambrosioides* contain a nematocides that is not toxic to mammalian smooth muscle. *Journal of Ethnopharmacology*. 92(2-3), 215-221.
- [31] A. E. Rose. 1965. Technique of organique chemistry, Vol. IV : Distillation. Ed. John Wiley & Sons. New York. 1-30.
- [32] D.L. Pavida. G.M. Lampman. G.S. Kriz. 1976. Introduction to organic laboratory techniques. W.B. Sauders Co. Philadelphia, USA. 567-573.
- [33] E. Biocchio. 1985. *Parfum Cosmét. Arômes.*, 63, 61-68
- [34] M.A. Martinez-Sosa. 1981. Thèse de l'Institut National de Sciences Appliquées. Toulouse France.
- [35] A. Koedam. 1987. Some aspects of essential oils preparation in capillary gas chromatography in essential oils analysis. Ed. P. Sandra, C. Bicchi. Herdelberg. New York.
- [36] A. Koedam. 1982. The influence of some distillation conditions on essential oil composition in aromatics plants: basic and applied aspects. Martinus Nijhoff Publishers. Netherlands. 229-236.
- [37] F.K. Denny. 1988. *Dev. Food Sci.* 18, 85-95
- [38] C. Paupardin., C. Leddet., R. Gautheret. 1990. Genetics, selection and multiplication. I-amelioration of *Artemisia* species (*Artemisia ubelliformis* and *E. genipi*) by meristem culture. *J. Jap. Bot.* 65, 33.
- [39] C. Von Rechemberg. 1910. Theorie der gewinnung and trunnung der ätherisschen öle durch destillation. Selbsverlag Von Schimel. Miltiz bei, Leipzing.
- [40] P. Morin., C. Gunther., L. Peyron., H. Richard. 1985. Physical and chemical phenoma involved in steam distillation. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 5, 921-936.
- [41] P. Morin., H. Richard. 1985. Thermal degradation of linalyl acetate during steam distillation in Proc. 4 fh Weurman Flav. Res. Symp. Ed Elsevier Sci. Amsterdam. 563-576
- [42] L. Ganou. 1993. Contribution a l'étude des mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielle. Thèse de l'INP Toulouse , France.

- [43] P. Teisseire. 1987. Industrial quality control of essential oil by capillary G. C. in Capillary Gas Chromatography in essential oils analysis. Ed. P. Sandra, C. Bicchi. Heidelberg, New York. 215-258.
- [44] O. Wallach. 1907. Contributions to our knowledge terpenes and ethereal oils. *Ber. Dtsch. Chem. KGes.* 80, 585-591.
- [45] J. Garnero., L. Benezet., L. Peyron. 1970. Composition of Roman Camomile oil (*Anthenis nobilis*). *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1, 381-383
- [46] G. Schmaus., K.H. Kubeczka. 1985. The influence of isolation conditions on the composition of essential oil containing linalool and linalyle acetate in essential oil and aromatics plants. Martinus Nijhoff/ D.W. Junk Publishers. Netherlands.
- [47] B. Lawrence. 1986. Biogeneration of aromes. *Am. chem. Soc.* 636.
- [48] J.M. Tedder. 1970. Basic Organic chemistry. Ed. John Wiley & Sons, New York.
- [49] K.P. Svoboda. 2000. Secretary structures of Aromatic and medicinal plant. Microscopic Publications. Powys, UK.
- [50] M. Skoula., P. Gotsiou., G. Naxakis, C.B. Johnson. 1999. A chemosystematic investigation on the mono-and sesquiterpenoids in the genus *Origanum* (Labiatae). *Phytochemistry.* 52, 649-657.
- [51] K.P. Svoboda. 2003. Investigation of valatile oil gland of satureja hortensis L. (*Summer savory*) and phytochemical comparison of different varieties. *Int. Jour. Arom.*, 13 (4), 196-202.
- [52] K. Veres, E. Varga, A. Dobos, Zs. Hajdu, I. Mathe, E. Nemeth, K. Szabo. 2003. Investigation of the composition and stability of the essential oils of *origanum vulgare* ssp., *vulgre* L., and *O. Vulgare* ssp. *Hirtus* (Link) Ietswaart. *Chromatographia.* 57 (12), 95-98.
- [53] B.M. Lawrence.1984. The botanical and chemical aspects of oregano. *Perfum. Flav.* 9(5),41-51.
- [54] A. Sivropoulou, E; Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1202-1205.
- [55] S. Fujita, Y. Enomoto, R. Suemitsu, Y. Fujita. 1971. Essential oil of the plant from various territoires. XXVIII. Components of the essential oils of *Acorum calamnus* var. *angustatus*. *Yakugaku Zasshi.* 91, 571-574.
- [56] G. Mazza. 1985. Gas chromatographic and mass spectrometric studies of the constituents of the rhizome of *calamus* I, The volatile constituents of the essential oil. *J. Chromat.* 328, 179-194.

- [57] G. Mazza. 1985. Gas chromatographic and mass spectrometric studies of the constituents of the rhizome of calamus II, The volatile constituents of the essential oil. *J. Chromat.* 328, 195-206.
- [58] L.A. Denisov. 1943. Sweet flag in mosquito control. *Med. Parait Dis.* 11, 97-100.
- [59] R. D. Guar, A. P. Joshi, S. Guar. 1997. Traditional aromatic incense and insect repellent plant of U.P. (Himalaya). *In Suppl. to Uti. of Aro. & Med. Plants.* 513-523.
- [60] T. V. Subramaniam. 1949. sweet flag (*Acorus calamus*) a potential source of valuable insecticide, *J. Bombay Nat. Hist. Soc.* 48, 338-341.
- [61] P. O. Virmani, G. N. Srivastava, S. C. Datta. 1977. Essential oil of *Acorum calamus*, *Ind. Perfumer.* 21, 103-119.
- [62] R. S. Dixit, S. L. Perti, S. K. Ranganathan, 1956, evaluation of *Acorus calamus* L. an insecticidal plant of India, *J. Sciences*, 15, 16-22.
- [63] M. Sterloke, K. R. S. Ancher, G. H. Schmidt. 1989. Vapeur pressure and volatility of β -asarone the main ingredient of an indigenous stored product insecticide, *Acorus calamus* oil. *Phytoparasitica*, 17, 299-313.
- [64] Ch. Harrish, S.G. kulkarni, S.K. Berry. 1990. *Acorus calamus* rhizomes as a protectant of milled rice against *Sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneum*. *J. Food Sci Technol.* 27, 171-174.
- [65] S. Ignatowicz, W. Bogna. 1996. Repellency of powdered plant material of the Indian neem tree, the Labrador tea and the sweet flag to some stored product pests. *Polskie Pismo Entomologiczne*, 65, 61-67.
- [66] S.D. Deshmukh, M. N. Borle. 1975, studies on the insecticidal properties of indigenous plant products. *Ind. J. Ent.* 37, 11-18.
- [67] V. S. Kumar, R. K. Srivastava, A. Krishna, A. Singh, V. K. S. Tomar, S. Kumar. 2000. Cultivation, chemistry, biology and utilization of batch (*acorus calamus*): a review, *J. Med. Arom. Plant Sci.* 22, 338-348.
- [68] I. G. Vashi, H. C. Patel, 1987, Chemical constituents and antimicrobial activity of *Acorus calamus* L., *Physiol. Ecol.* 12, 49-51.
- [69] A.M. Janssen., N.L. Chin., J.C. Scheffer. 1986. Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique. *Progress in Essent Oils Res.* 401-419.
- [70] J. Bailer, T. Aichinger, G. Hackl; K de Hueber, M. Dachler. 2001. Essential oil content and composition in commercially available dill cultivars in comparison to caraway. *Ind. Corps and Prod.* 14, 229-239.
- [71] J. Sedlakova., B. Kocourkova., L. Loujkova., V. Kuban. 2003. The essential oils content in caraway species (*carum carvi* L.). *Hort. Sci.* 30 (2), 73-79

- [72] Association Française de Normalisation. 1986. Huile essentielle de carvi (*Carum carvi* L.) AFNOR NF T 75-347. Paris.
- [73] K.P. Svoboda. 2003. Investigation of volatile oil gland of *Satureja hortensis* L. (*Summer savory*) and phytochemical comparison of different varieties. *Int. Jour. Arom.* 13(4), 196-202.
- [74] I. M. Helander, H. L. Alakomi, K. Latva-Kala, I. Pol, E. J. Smid. 1998. Characterization of the action of selected essential oils components on gram-negative bacteria. *J. Agric. Food Chem.*, 46 (9), 3590-3595.
- [75] E. J. Smid, Y de Witte, L. G. M. Gorris. 1995. secondary plant metabolites as control agents of postharvest penicillium rot on tulip bulb. *Postharvest Biol. Technol.* 6, (3-4), 303-312.
- [76] S. M. Salom, J. A. Alford, M. Mulesky, C. J. Fettig, S. A. Woods. 1996. evaluation of natural products as antifeedants for the pales weevil (coleopteran: curculion-idea) and as fungitoxins for leptographium procerum. *J. Entomological Sci.* 31 (4), 453-465.
- [77] K. Oosterhaven, A. C. Leitao, L. G. M. Gorris, E. J. Smid. 1996. comparative study on the action of S-(+)-carvone, in situ, on the potato storage fungi fusarium Solani var. coeruleum and F. Sulphureum; *J. Appl. Bacteriol.* 80 (5), 535-539.
- [78] C. Source, R. Lorenzi, P. Ranall. 1997. The effects of (S)-(+)-carvone treatments on seed potato tuber dormancy and sprouting. *Potato Res.* 40 (2);155-161.
- [79] J. Gershenzon, R. Croteau, J. Maffei. 1989. Biochemical and histochemical localization of monoterpene biosynthesis in glandular trichomes of spearmint (*Menta spicata*). *Plant Physiol.* 89, 1351-1357.
- [80] G. Puschmann, V. Stephai., D. Fritz. 1992. Untersuchungen zur variabilität von Kümmel (*carum carvi* L.). *Gartenbauwissenschaft.* 57, 275-277.
- [81] A. Koedam. 1982. The influence of some distillation conditions on essential oil composition. *Aromatic plants : basic and applied aspect.* Ed. N. Margaris, A. Koedam, D. Vokou. The Hague, 229-236.
- [82] W. Ketai, L. Huitao, Z. Yunkun, C. Xingguo, H. Zhide, S. Yucheng, M. Xiao. 2000. Sepaeation and determination of alantolactone and isoalantolactone in traditional chinese herbs by capillary electrophoresis. *Talanta.* 52, 1001-1005.
- [83] G. Boatto, G. Pintore, M. Palomba, F. De Simone, E. Ramundo, C. Iodice. 1994. Composition and antibacterial activity of *Inula helenium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Fitoterapia.* Vol. LXV(3), 279-280.
- [84] C. Bourrel, G. Vilarem, F. Perineau. 1993. Chemical analysis, bacteriostatic and fungistatic properties of the essential oil of Elecampane (*Inula helenium* L.). *J. Essent. Oil Res.* 5, 411-417.
- [85] J. Calzada, J.F. Ciccio, G. Echandi. 1980. Antimicrobial activity of the heliangolide chromaenolide and related sesquiterpene lactones. *Phytochemistry.* 19, 56-62.

- [86] K.L. Lee, T. Ibuka, R.Y. Wu, T.A. Geissman. 1977. Structure antimicrobial activity relationship among the sesquiterpene lactone and related compounds. *Phytochemistry*. 16, 1177-1180.
- [87] D. Gilles, B. Johane, 1976, *Chem. Biol. Interact.* 15, 205-208
- [88] F. Muller-Riebau, B. Berger, O. Yegen. 1995. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in turkey. *J. Agric. Food Chem.* 43, 2262-2266.
- [89] F. Tosun, C. Akyüz Kizilay, B. Sener, M. Vural. 2005. The evaluation of plants from Turkey from in vitro antimycobacterial activity. *Pharm. Biol.* 43 (1), 58-63.
- [90] C. Harvala, P. Menounos N. Argyriadou. 1987. Essential oils from *Origanum dictamnus*. *Planta Medica*. 32,107-109
- [91] J.K.S. Moller., H.L. Madsen., T. Aatonen., L.H.Skibsted. 1999. Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water-extractable antioxidants. *Food Chemistry*. 64,215-219.
- [92] L. Hernandez-Ochoa., G. Vilarem. 2005. Study of essential oil composition of *Origanum dictamnus* in different storage conditions. *J. Flavour Fragra.* 20,245-248.
- [93] A. Sivropoulou., E. Papanikolaou., C. Nikoaoou. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1202-1205
- [94] D.J. Daferera, B.N. Ziogas, M.G. Polissiou. 2000 GC-MS analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chem.* 48, 2576-2581.
- [95] C. Economakis, A. Karoti, E. Skaltsa, D. Perdetzoglou, C. Demetzos. 2005. Effect of solution conductivity on the volatile constituents of *origanum dictamnus* L. in nutrient film culture. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1656-1660.
- [96] N. Chorianopoulos, E. Kalpoutzakis, N. Aligiannis, S. Mitaku, S. A. Haroutounian. 2004. Essential oil of *Satureja*, *Origanum*, and *Thymus* Species: chemical composition and Antibacterial activities Against foodborne Pathogens. *J. Agric. Food Chem.* 52, 8261-8267.
- [97] P.J. Holloway. 1993. adjuvant for agrochemicals. *Melingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent*. 58(2a), 125-140.
- [98] P.J. Holloway, D. Stock. 1990. Factors affecting the activation of foliar uptake of agrochemicals by surfactants dans industrial applications of surfactants II. *D.R Royal Society of London*. 303-307.
- [99] P.J. Holloway. 1994. Evaluation of adjuvant modes of action : a theoretical approach. *Interactions between adjuvants agrochemicals and target organisms*. P.J. Holloway, R. Rees, D. Stock Ed. 143-148.

- [100] M. Abert. 2000. Synthèse et étude de molécules amphiphiles glycolipidiques, adjuvants ou élicitrices, d'intérêt phytosanitaire. Thèse : Université d'Avignon. France.
- [101] W. C. Griffin. 1949. *J. Soc. Cosmet. Chemists.* 1, 311-326.
- [102] W. C. Griffin. 1954. *J. Soc. Cosmet. Chemists.* 5, 249-256.
- [103] T. F. Tadros. 1994. Surfactant in Agrochemicals, Vol. 54 Marcel Dekker, New York. 101-102.
- [104] C. L. Foy. 1989. Adjuvants and Agrochemicals. Chow P.N.P Boca Raton. Floride. Vol. 11-15.
- [105] M. Kenoche 1994. Organosilicone surfactant performance in agricultural spray applications. *Weed Research* .34 (3), 221-239.
- [106] G. E. Stolzenberg. 1989. Adjuvants and Agrochemicals. Ed. Chow P.N.P, Boca Raton Floride. USA. Vol.1,17-25.
- [107] C. Gauvrit. 1994. Oils in plant protection: herbicide case study. *Phytoma.* 458(37-38), 40-42.
- [108] C. Gauvrit. 1995. les principaux types d'adjuvants et leurs actions majeurs. *ANPP-Seizième conférence de Coloma, Reims.* 445-452.
- [109] G.G. Briggs, R.H. Bromilow. Influence of physicochemical properties on uptake and loss of pesticides and adjuvants from the leaf surface. *Interactions between adjuvants agrochemicals and target organisms.* P.J. Holloway, R. Rees, D. Stock Ed. 1-26.
- [110] J. Coret, A. Chamel. 1994. Surfactant and cuticular penetration of herbicides. *Phytoma.* 464, 15-18.
- [111] P.J. Holloway. 1994. phytochemical factors influencing the adjuvant-enhanced spray deposition and coverage of foliage –applied agrochemicals. *Interactions between adjuvants agrochemicals and target organisms.* P.J. Holloway, R. Rees, D. Stock Ed. 83-148.
- [112] H. Göhlich. 1992. Efficient application of herbicides. *Proceeding of the first International Weed Control Congress.* 1, 150-158.
- [113] R. Wagner., L. Richter., J. Weibmüller., J. Reiners., K.D. Klein. 1997. *Appl. Organometal. Chem.* 11,617-632.
- [114] L. Wilhelmy 1863. *Ann. Phys.* 119, 177-185.
- [115] T. Young.1805. *Phil. Trans Roy. Soc.* 95,65-75.
- [116] C. Gauvrit. 1996. Efficacité et sélectivité des herbicides. Editions INRA. 12,23-32
- [117]G.L. Mack. 1997. *J. Phys Chem.* 40(2), 159-167.

- [118] P.J.G. Stevens., E.A. Baker. 1987. *Pest. Sci.* 19, 265-281.
- [119] P.J. Holloway. 1982. structure and histochemistry of plant cuticular membranes : an overview. *The plant cuticule*. D.F. Cutler, K.L. Alvin, C.E. Price. Academic Press. 1-32.
- [120] V. Baudrand-Alzieu. 1995. Synthèse des monoesters et diesters de tetraethyleneglycol et des acides gras du ricin par estérification auto catalytique en milieu concentré. Thèse de l'INP Toulouse.
- [121] A. Chamel., P. Gaillardon. C. Gauvrit. 1991. Les herbicides: modes d'action et principes d'utilisation. Rene Scalla INRA. 7-31.
- [122] M. Gerin. 2002. Solvants industriels : Santé, Sécurité, Substitution. Collection médecine du travail. Ed. Masson. Masson, Paris.
- [123] L.A. Jonhson.1983. Comparison of alternative solvents for oils extractions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60,229-242.
- [124] P.J. Wan., D.R Pakarinen., R.J. Hron. 1995. Alternative hydrocarbon solvent for cottonseed extraction. *J. Am.Oil Chem. Soc* 72, 653-659.
- [125] E.C. Baker., D.A. Sullivan. 1983. Development of a pilot-plant process for the extraction of soy flakes with aqueous isopropyl alcohol. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60, 1271-1276.
- [126] E.W. Lusas. 1990. Oilseed: extrusion for solvent extraction. *J. Am.Oil Chem. Soc.* 65, 1109-1114.
- [127] G.E. Mann., F.L. Carter., V.L Frampton., C. Jonhson. 1962. Evaluation of cottonseed meals prepared by extraction with acetone water mixture. *J. Am.Oil Chem. Soc.* 39, 86-92.
- [128] R.J. Hron., S.P. Koltum., A.V. Graci. 1982. Biorenewable solvent for vegetable oil extraction. *J. Am.Oil Chem. Soc.* 59,674A
- [129] R.J. Hron., M.S. Kuk., G.S. Fisher. 1992. Acidic ethanol extraction of cottonseed. *J. Am.Oil Chem. Soc.* 69. 951-952.
- [130] J.Q. Cu., F. Perineau. M. Delmas., A. Gaset. 1989. Comparison of the chemical composition of carrot seed essential oil extracted by different solvents. *J. Flavour Fragra* 4(4), 225-231.
- [131] H. Schultz., G. Ambroscheit. 1989. Characterization of oakmoss products used in perfumery by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatog A.* 466, 301-306.
- [132] F.E. Brauns. 1952. The chemistry of lignin. Academic press Inc. New York. pp. 51-58
- [133] R.B. Bird., W. E. Steward, E. N. Lightfoot. 1976. diffusivity and the mechanisms of mass transport in Transport Phenomena. John Wiley & Sons. New York. 495-607.
- [134] P.E. Liley, R.C. Reide, E. Buck. 1984. Physical and chemical data in *Perry's Chemical Engineer's Handbook*. McGraw-Hill Book Co. New York. 247-289.

- [135] J.H. Krasuk, J. L. Lombardi, C. D. Ostrovsky. 1967. *I&EC Process Desing & Develop.* 6(2), 56-59.
- [136] M. Spiro, M. Kandiah, W. Price. 1990. *J. Food Sci. Tech.* 25,157-160.
- [137] P. Louisot. 1989. *Biochimie*, Tome 2. Ed. SIMEP. Paris, France. pp 268-297.
- [138] B. Chemseddine. 1994. Estérification de l'acide oléique par le méthanol ou l'éthanol dans un réacteur a membranes ioniques. Thèse de l'Institut Nationale Polytechnique. Toulouse France.
- [139] V. Baudrand-Alzieu. 1995. Synthèse des monoesters et diesters de tetraethyleneglycol et des acides gras du ricin par estérification auto catalytique en milieu concentre. Thèse de l'INP Toulouse.
- [140] M.K. Schwitzer. 1990. Proceedings world conference on oleochemicals into the 21st century, Ed. Thomas H. Apple White. Am. Oil Chem. Soc. Champaign, Illinois, Castor oils sesion III, 111-117.
- [141] C.F. Naughton. 1979. *Encyclopédia of chemical technology*. Ed. Kirk-Othem. John Wiley and Sons Inc. New York. Vol. 5 Third Edition
- [142] A. Bonjean. 1991. Le ricin: une culture pou la chimie fine. Ed. IPPE Les lilas Galileo/Onidol Collection Agripoche.
- [143] H.J. Caupin. 1989. Oleochemicals derived from castor oil. *Chemspec USA Symposium*.
- [144] K. S. MARKLEY. 1961. Fatty Acids: Their Chemitry, Properties, Prouction, and Uses. 2nd Ed. Interscience Publishers Inc. New York. Chap.IX. 758-783.
- [145] M. Zaidan., S. Domenech., B. Gilot. 1986. Procède continu d'estérification de l'acide oléique par divers alcools. *Ind. Eng. Chem.* 50, 939-942.
- [146] V. Eychenne; Z. Mouloungui. 1999. High concentration of 1-(3-) monoglycerides by direct partial esterification of fatty acids with glycerol. *Fett/Lipid.*,101, 424-427.
- [147] V. Eychenne; Z. Mouloungui. 1998. Deacidification of synthetic oil with an anion exchange resin. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 10, 1437-1440.
- [148] V. Eychenne.1997. Synthèse des esters de neopentylpolyols corrélations structures / propriétés tribologiques/ performances en lubrification. Thèse de l'INP. Toulouse, France.
- [149] F.Omoto; A. C Dimian; A Bliak. 2003. Fatty acid esterification by reactive distillation. Part 1: equilibrium-based design. *Chem. Eng. Sci.*, 58, 3159-3174.
- [150] S. Al-Asheh; F. Banat; N. Al-Lagtah. 2004. Separation of ethanol-water mixtures using molecular sieves and biobased adsorbents. *Chem. Eng. Res. Des.*, 82 (A7), 855-864.

- [151] M. Loury., M. T. Mellier. 1947. Cinétique comparées de l'estérification de quelques acides gras supérieurs par le méthanol et l'éthanol en présence de catalyseurs. *Oléagineux*. 5, 254-259.
- [152] C. Vieville; Z. Mouloungui; A. Gaset. 1995. Synthesis and analysis of the C1-C18 alkyl oleates. *Chem. Phys. Lipid.*, 75, 101-108.
- [153] E. Nasr. 1983. Cinétiques d'estérification d'acides gras. Utilisation des Titanes. Thèse de l'INP. Toulouse, France.
- [154] S. Bloomer., P. Adlercreutz, B. Mattiasson. 1992. Facile Synthesis of fatty acids esters in high yields. *Enzyme Microb. Technol.* 14, 546-552.
- [155] S. M Wallas. Phase equilibria in Chemical Engineering. Butterworth Publishers: Stoneham, USA. 1985.
- [156] E. J.Eisenbraun; K. W. Payne. 1999. Dean-Stark apparatus modified for use with molecular sieves. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 38, 4521-4524.
- [157] L. R. Radivic., I. F. Silva., J. I. Ume., J. Rivera-Utrilla. 1997. In: P. A. Chemistry and Physics of charbon. Vol. 26. Dekker, New York.
- [158] O. Bouras. 2003. Propriétés adsorbantes d'argiles pontées organophiles: synthèse et caractérisation. Thèse de l'Université de Limoges : Faculté des Sciences et Techniques. Limoges, France.
- [159] V. Naydenov. 2003. Structured molecular sieves: synthesis, modifications and characterization. These de l'Department of Chemical and Metallurgical Engineering. Lulea University of Technologie. Lulea Sweden.
- [160] S. Chapelle; V. Baudrad; V. Rakotondrazafy; Z. Mouloungui; A. Gaset, 1995. Désacidification des milieux lipochimiques par fixation des acides gras libres sur de résines échangeuses d'ions. *La rivista italiana delle sostanze grasse*, LXXII, Aprile, 153-157.
- [161] B. Bellemare. 2003. Etude de réactions de transfert d'analyses. Synthèse catalytique des esters gras en présence de lipases de micro-organismes chez les plantes oleoprotéagineuses. Thèse de l'INP. Toulouse, France.
- [162] A. Karleskind; J.P. Wolff. 1992. Manuel des corps gras. Lavoisier TEC & DOC, Paris.
- [163] A. Baranowsky; A. Proctor; S. Palaniappan. 1990. Adsorption of soy oil free fatty acid by rice hull ash. *J. Am.Oil Chem. Soc.*, 67, 15-17.
- [164] A. Bojemueller., A. Nennemann., G. Lagaly. 2001. Enhanced pesticide adsorption by thermally modified bentonites. *Appl. Clay. Sci.* 18, 277-284.

Chapitre II :

Matériel et méthodes

II.A HYDRODISTILLATIONS DES HUILES ESSENTIELLES

I.A1 HYDRODISTILLATION

I.A1.1 Matériel végétale

Les cinq plantes étudiés sont les suivantes : Le dictame de crête (*Origanum dictamum*), l'Origan (*Origanum vulgare*), le Carvi (*Carum carvi*), l'Acore (*Acorus calamus*), *Inula helenium*. Elles ont été cultivées et récoltées par l'Association Interrégionale de Recherches d'Expérimentation Légumière (AIREL, dans le cadre du programme de coopération et de recherche établi avec le Laboratoire de Chimie AgroIndustrielle (LCA-CATAR).

No. de Lot	Date de réception	Dictame de crête	Origan vulgaire	Carvi	Acore	Aunée
2	15/06/01	5 000g	400g	400 g	500 g	-----
3	02/10/01	10 000g	5 000g	4 000	16 000g	17 000g
4	30/11/01	5 000g	2 000	-----	-----	-----
5	30/11/02	-----	-----	250 000	-----	250 000g

Tableau II.1 Description des différents lots de matière végétale reçus.

I.A1.2 Conditions opératoires

L'étude est réalisée en grande partie à l'échelle laboratoire sur un montage de type SCHILCHER, de capacité nominale de 5 litres comme cela été déjà décrit dans la *figure I.3* à l'échelle laboratoire. Une étude de l'extraction de l'huile essentielle à l'échelle pilote a été effectuée principalement sur les graines de Carvi et les racines d'Aunée.

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un ballon de capacité nominal de 5 litres contenant de l'eau. L'ensemble est porté à ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage communément appelé cohobage.

Les conditions opératoires sont données dans le *tableau II.2*

Matière végétale	<i>Dictame de crête</i>	<i>Origan vulgaire</i>	<i>Carvi</i>	<i>Acore</i>	<i>Aunée</i>
Quantité de matière végétale (g)*	200	200	100	400	400
Quantité d'eau (litres)	2	2	2	3	3
Température (°C)	100	100	100	100	100
Temps d'hydrodistillation (h)	4	4	5	4	4

* Matière végétale fraîche

Tableau II.2 Conditions opératoires d'hydrodistillation selon les plantes sélectionnées.

II.A1.3 Analyses chimiques par Chromatographie en Phase Gazeuse munie d'un Détecteur à Ionisation de Flamme (CPG/DIF) puis couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

Notre démarche analytique a consisté à optimiser les méthodes CPG à partir de références bibliographiques ou de normes AFNOR lorsqu'elles étaient disponibles (*Carvi* norme AFNOR NF T 75-347).

Nous pouvons agir sur plusieurs paramètres concernant la séparation chromatographique :

- la colonne : type, nature de sa phase stationnaire, dimensions ;
- le gaz vecteur et son débit dans la colonne (ou sa pression) ;
- les températures de l'injecteur, du détecteur et du four chromatographique,
- la préparation de l'échantillon à analyser : concentration, dilution, quantité injectées.
- les paramètres d'acquisition du signal électrique qui peuvent modifier la sensibilité.

De nombreux essais ont été réalisés et ont finalement conduit aux méthodes d'analyses des huiles essentielles suivantes.

Les chromatogrammes ont été acquis sur un Chromatographe en Phase Gazeuse couplé à un Détecteur d'Ionisation de Flamme (CPG/DIF) Hewlett-Packard® 5890 série II muni d'un passeur automatique d'échantillons Agilent 6890. Le gaz vecteur est l'hélium, le DIF fonctionne à l'air comprimé et l'hydrogène. Les gaz sont préalablement filtrés sur des cartouches Varian de charbon actif (élimination d'hydrocarbures), de filtration du gaz vecteur (élimination de l'eau de condensation et de l'oxygène). La colonne choisie est une colonne

capillaire J&W Scientific (Agilent Technologies) de type DB-5 ms (nature phase stationnaire : polymère de phényl arylène, équivalent à (5% phényle)-méthyle polysiloxane), de dimensions L30 mm x 0,25 mm D.I. 0,25 µm épaisseur de film.

Pour chacune des plantes, le *tableau II.3* regroupe les conditions d'analyses mise en ouvre.

Conditions	<i>Dictame de crête</i>	<i>Origan vulgaire</i>	<i>Carvi</i>	<i>Acore</i>	<i>Aunée</i>
Température de l'injecteur (°C)	300	280	200	260	220
Température du détecteur (°C)	300	300	230	300	220
Température initiale du four (°C)	70	70	40	70	60
Température finale du four (°C)	220	230	180	280	220
Programmation de température du four (°C)	2°/min	2°/min	2°/min	4°/min	3°/min
Quantité injectée (µl)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Pression en tête de colonne (psi)	15	15	15	15	15

Tableau II.3 Conditions d'analyse CPG/DIF des huiles essentielles.

Complémentairement aux analyses CPG-DIF, nous avons injecté les huiles essentielles extraites des plantes que nous avons sélectionnées en Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectromètre de Masse. Les analyses CPG/SM ont permis d'acquérir les spectres de masse des différents composés constituant les huiles essentielles. Les identifications chimiques ont été réalisées sur la base de la comparaison de nos spectres de masse avec ceux de la banque de données Wiley275.

Les chromatogrammes ont été acquis sur un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard® 5890. Le gaz vecteur est l'hélium. Les spectres de masse ont été obtenus au moyen d'un spectromètre de masse Hewlett-Packard® 5971A. La colonne choisie est une colonne capillaire SGE de type BPx5 C (nature phase stationnaire : 5% phénylpolysilphénylenè siloxane), de dimensions 50 mm x 0,25 mm D.I et 0,25 µm d'épaisseur de film. Les injections sont manuelles avec une microseringue de 1µL munie d'un répéteur.

Le *tableau II.4* présente les conditions analytiques utilisées.

Conditions	<i>Dictame de crête</i>	<i>Origan vulgaire</i>	<i>Carvi</i>	<i>Acore</i>	<i>Aunée</i>
Température de l'injecteur (°C)	220	220	220	250	250
Température du détecteur (°C)	250	250	250	250	250
Température initiale du four (°C)	60	60	60	60	70
Température finale du four (°C)	200	200	180	200	200
Programmation de température du four (°C)	3/min	3/min	3/min	3/min	4/min
Quantité injectée (µl)	0,5	0,5	0,5	05	0,5
Ratio split	1 :70	1 :70	1 :100	1 :70	1 :50

Tableau II.4 Conditions d'analyse CPG/SM des huiles essentielles.

Par ailleurs, nous avons également calculé les indices de rétention de chaque composé que nous avons pu ensuite comparer avec les données de la littérature [149]. La méthode est donnée en annexes.

II.A1.4 Extraction des huiles essentielles à l'échelle pilote

L'étude est effectuée sur une unité pilote d'une capacité nominale de 300 litres.

En raison de la quantité importante de matière végétale (entre 20 à 30 kg par manipulation) la difficulté première a été de pouvoir se réapprovisionner avec un échantillon de qualité identique (en terme de rendement et de composition chimique).

C'est pourquoi certaines expérimentations n'ont pu être menées à terme. C'est en particulier le cas de celle réalisées avec la plante de *Dictame de crête* et d'*Origan vulgaire* dont les dégâts provoqués par le gel de l'hiver 2002 n'ont pas permis de récolter assez de matière.

II.A1.4a L'unité d'extraction EE2 : 300 L de la société TOURNAIRE

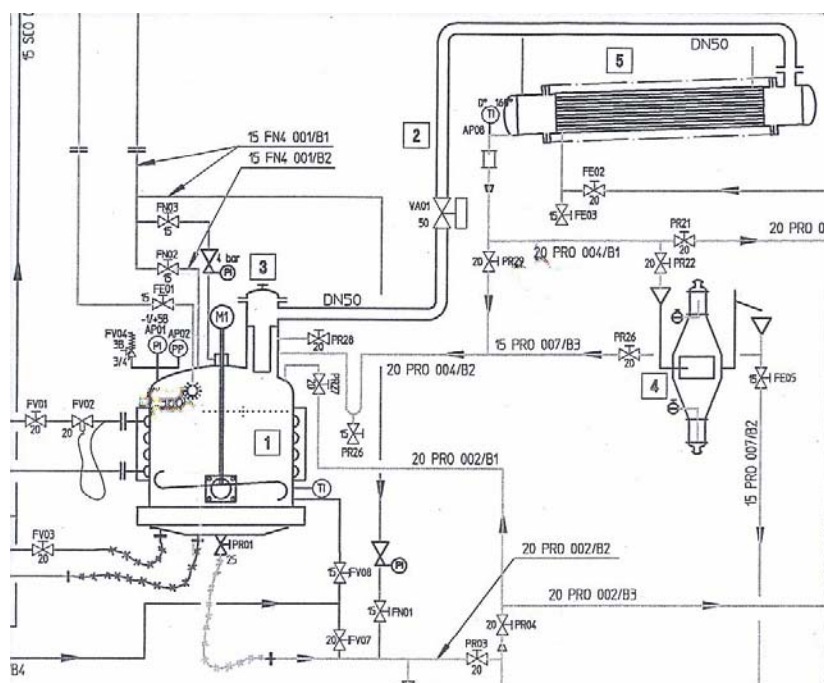
Nous avons utilisé le PID, extraction pilote avec extracteur EE2:300L, de la Société TOURNAIRE qui est une unité polyvalente visant à réaliser:

- ✓ l'extraction solide / liquide (capacité 300L),
- ✓ la distillation dont l'hydrodistillation,
- ✓ la concentration / évaporation (capacité 300L).

La figure ci-après schématise la partie de l'unité utilisée pour l'hydrodistillation.

Le réacteur est un extracteur à fond filtrant (la membrane filtrante étant une toile de Nylon de 20 μ m) muni d'une palle mobile d'agitation. Cette palle mobile peut tourner à raison de 4 à 62 tr/min dans les deux sens (débatissage et lissage) et peut également monter et descendre afin de couvrir tout le volume du réacteur.

Dans le cas d'une hydrodistillation, le mobile travaille toujours en mode débatissage : la matière végétale est continuellement soulevée par la palle. Le réacteur est constitué d'une double paroi et d'un fond chauffant ; l'énergie nécessaire au chauffage du milieu eau/matière végétale est apportée par la vapeur d'eau.



- 1) Réacteur Extracteur à double enveloppe avec mobile d'agitation, 2) Colonne d'entraînement de vapeur, 3) Col de cygne,
4) Essencier récupérateur de l'extrait, 5) Condenseur.

Figure II.1 Représentation schématique de l'unité pilote EE2:300L utilisée pour l'hydrodistillation.

II.A2.4b Conditions opératoires d'hydrodistillation

Les conditions opératoires ont été extrapolées à partir des les essais préliminaires à l'échelle laboratoire. Par exemple, pour l'extraction de l'huile essentielle d'Aunée (*Inula helenium*) les conditions opératoires sont présentes dans le *tableau II.5*:

Conditions	À l'échelle laboratoire	A l'échelle pilote
Quantité de matière végétale*	400 g	25 kg
Quantité d'eau	3 litres	200 litres
Température	100°C	95°C à 120°C
Temps d'hydrodistillation	4 h	4 h
Pression du système	Atmosphérique	Atmosphérique

* matière végétale fraîche

Tableau II.5 Conditions opératoires d'extraction de l'huile essentielle d'Aunée.

De même, les conditions opératoires pour les extraits d'huile essentielle de Carvi sont :

Conditions	À l'échelle laboratoire	A l'échelle pilote
Quantité de matière végétale*	100 g	20 kg
Quantité d'eau	2 litres	200 litres
Température	100°C	95°C à 120°C
Temps d'hydrodistillation	5 h	5 h
Pression du système	Atmosphérique	Atmosphérique

* matière végétale fraîche

Tableau II.6 Conditions opératoires d'extraction de l'huile essentielle de Carvi.

Les huiles essentielles obtenues sont analysées en CPG/DIF et en CPG/SM dans les conditions indiquées au paragraphe II.A1.3

II.A2 CO-HYDRODISTILLATION DES HUILE ESSENTIELLES EN PRESENCE DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS

Nous allons étudié les propriétés solvantes des esters éthyliques des acides gras à chaîne courte et impaire : l'heptanoate d'éthyle (C7), nonanoate d'éthyle (C9) et l'undecanoate d'éthyle (C11) lors de l'extraction des huiles essentielles.

Deux méthodes d'extraction sont utilisées : la méthode de co-hydrodistillation et la méthode d'extraction liquide-liquide.

L'utilisation de ces deux méthodes d'extraction répond à nos principaux intérêts qui consistent à conserver la composition chimique des huiles essentielles et d'observer l'effet des esters éthyliques en tant que co-solvant d'extraction. Dans le cas de la co-hydrodistillation ils seront mis en contact avec la matière végétale dans un mélange eau/ester éthylique contrairement à l'extraction liquide-liquide.

II.A2.1 Conditions opératoires

Dans le procédé de co-hydrodistillation, nous avons introduit dans un ballon de 5 litres la matière végétale, la quantité d'eau optimale (entre 2 et 4 litres, dépendant de la matière végétale utilisée) pour l'hydrodistillation et la quantité connue d'ester éthylique (5 ml, 10 ml et 20 ml). Les conditions opératoires vont dépendre également de la matière première utilisée (cf *tableau II.2*). Les vapeurs d'extraction, constituées par l'huile essentielle, l'ester éthylique et l'eau, sont condensées par l'action du réfrigérant. Puis après séparation des phases organique et aqueuse, l'eau est recyclée et ré-introduite dans le ballon, conservant de cette manière le rapport eau/matière.

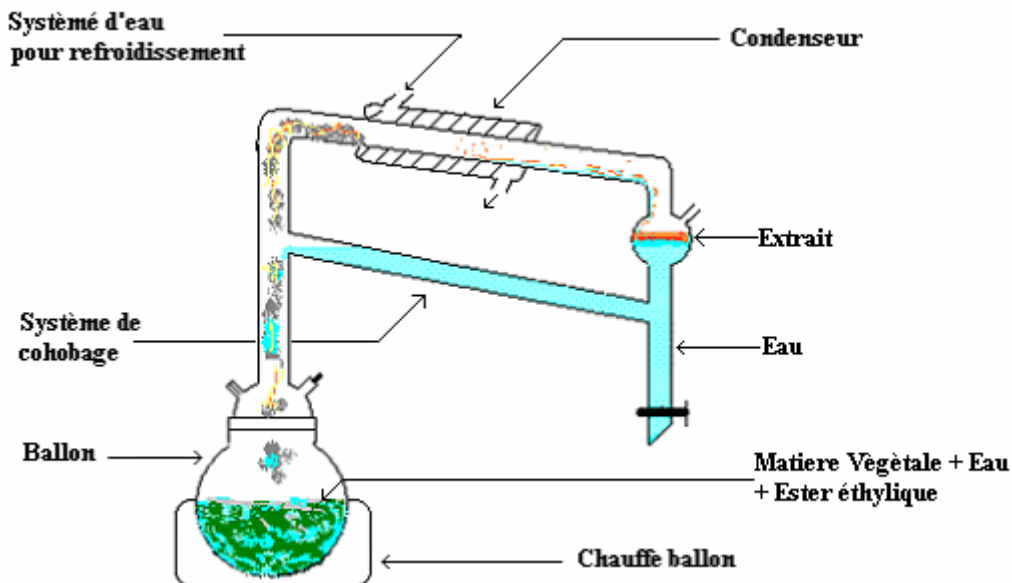


Figure II.2 Appareillage utilisé au cours du procédé de co-hydrodistillation.

Comme nous l'avons signalé précédemment, les conditions opératoires dépendent de la matière végétale utilisée. De plus chacune des plantes a subi trois extractions avec trois quantités d'ester éthylique différentes à savoir 5, 10 et 20 ml. Ces quantités ont été choisies afin d'étudier les effets des esters éthyliques sur l'efficacité de l'extraction par co-hydrodistillation (rendement, composition chimique...).

Le *tableau II.7* regroupe les conditions opératoires utilisées pour la co-hydrodistillation selon la plante sectionnée.

Matière végétale	<i>Dictame de crête</i>	<i>Origan vulgaire</i>	<i>Carvi</i>	<i>Acores</i>	<i>Aunée</i>
Quantité de matière végétale (g)*	200	200	100	400	400
Quantité d'eau (litres)	2	2	2	3	3
Température (°C)	100	100	100	100	100
Temps d'extraction (h)	4	4	5	4	4
Quantité d'ester ajoutée (ml)	5, 10, 20	5, 10, 20	5, 10, 20	5, 10, 20	5, 10, 20

* matière végétale fraîche

Tableau II.7 Conditions opératoires pour la co-hydrodistillation selon la plante sélectionnée.

II.A2.2 Procédé de co-hydrodistillation à l'échelle pilote

Nous avons abordé dans le *paragraphe II.A2* l'extraction des huiles essentielles à l'échelle pilote ainsi que les caractéristiques de l'unité PID d'extraction pilote avec extracteur EE2:300L de la Société TOURNAIRE que nous avons utilisé afin de produire des extraits en quantité suffisante. De la même manière, pour la co-hydrodistillation à l'échelle pilote, nous avons utilisé l'unité d'extraction nommée ci-dessus. La seule différence dans la démarche de l'extraction concerne l'utilisation et l'incorporation des esters éthyliques d'acides gras produits au laboratoire. Ces esters sont introduits dans le milieu d'extraction, comme dans la méthode de co-hydrodistillation réalisée à l'échelle laboratoire.

Dans le cas de la co-hydrodistillation, le mobile travaille toujours en mode débatissage : la matière végétale est continuellement soulevée par la palle. Le réacteur peut fonctionner sous vide ou à pression atmosphérique ; ici, nous travaillerons à pression atmosphérique.

II.A2.3a Conditions opératoires

Les conditions opératoires ont été fixées en fonction des essais préliminaires à l'échelle laboratoire. Pour l'extraction de l'huile essentielle d'Aunée (*Inula helenium*) en présence d'esters éthyliques, les conditions opératoires sont données dans le *tableau II.8*:

Conditions	À l'échelle laboratoire	A l'échelle pilote
Quantité de matière végétale*	400 g	25 kg
Quantité d'eau	3 litres	200 litres
Température	100 °C	95°C à 120°C
Temps d'extraction	4 h	4 h
Pression du système	Atmosphérique	Atmosphérique
Quantité d'ester introduit	5, 10, 20 ml	250, 500, 750 ml

* matière végétale fraîche

Tableau II.8 Conditions opératoires d'extraction par co-hydrodistillation de l'Aunée.

De même, les conditions opératoires pour les extraits de Carvi sont présentes dans le *tableau II.9*

Conditions	À l'échelle laboratoire	A l'échelle pilote
Quantité de matière végétale*	100 g	20 kg
Quantité d'eau	2 litre	200 litres
Température	100 °C	95°C à 120°C
Temps d'extraction	5 h	5 h
Pression du système	Atmosphérique	Atmosphérique
Quantité d'ester introduit	5, 10, 20 ml	250, 500, 750 ml

* matière végétale fraîche

Tableau II.9 Conditions opératoires d'extraction par co-hydrodistillation de Carvi.

Les extraits obtenus en co-hydrodistillation (échelle laboratoire et échelle pilote) sont ensuite analysés en CPG/DIF et en CPG/SM dans les mêmes conditions que les extraits équivalents obtenus par hydrodistillation classique. (cf. II.A1.3). La composition chimique des extraits obtenus par co-hydrodistillation est comparée à celle des huiles essentielles de chaque plante sélectionnée.

II.A3 EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE DES HUILES ESSENTIELLES EN PRESENCE DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS

II.A3.1 Procédé d'extraction liquide liquide

Un autre procédé d'extraction que nous avons utilisé est l'extraction liquide-liquide. Dans cette méthode nous avons introduit l'ester éthylique dans la partie supérieure du vase florentin qui fait partie de la colonne d'extraction (*Figure II.3*).

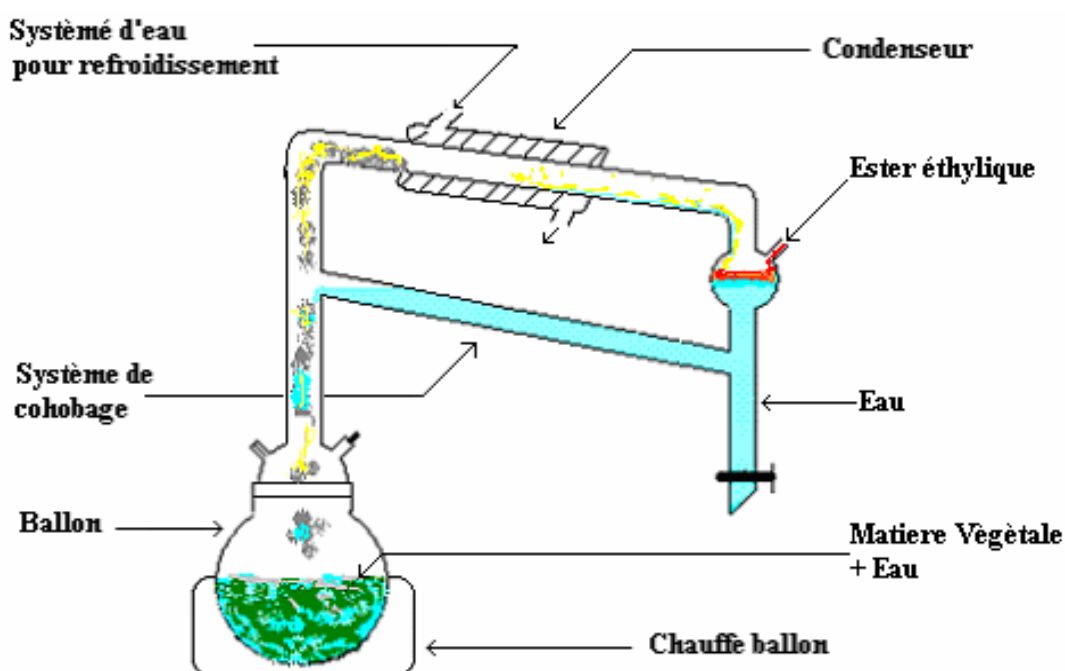


Figure II.3 Procédé d'extraction liquide-liquide en présence des esters éthyliques.

L'objectif de cette méthode est d'optimiser la récupération de composés volatils directement par extraction liquide-liquide. Les esters sont insérés au niveau de la partie supérieure du vase florentin qui fait partie de la colonne d'extraction. Pour ce qui concerne le mode opératoire (quantité de matière, quantité d'ester, temps, température...), il reste identique à celui utilisé pour la co-hydrodistillation (*tableau 7*). La seule différence entre ces deux méthodes réside dans le fait que l'ester n'est pas directement en contact avec la matière végétale et l'eau.

II.A3.2 Procédé d'extraction liquide-liquide à l'échelle pilote

Nous avons utilisé le PID, extraction pilote avec extracteur EE2:300L de la Société TOURNAIRE. Le principe de l'extraction liquide-liquide ne diffère de la co-hydrodistillation que sur un point : les esters éthyliques sont introduits au niveau de l'essencier schématisé en 4 sur la figure II.4 suivante.

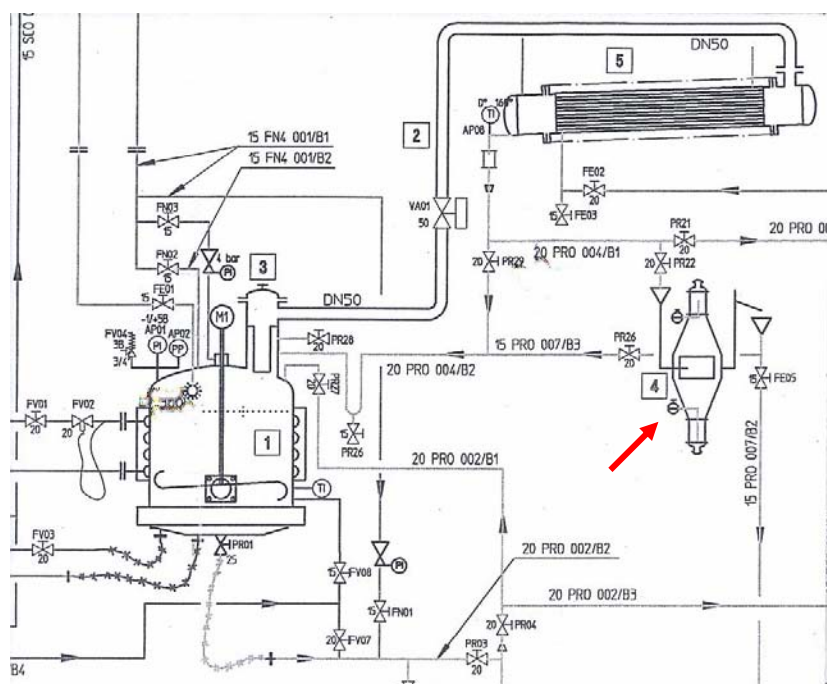


Figure II.4 Représentation schématique de l'unité pilote EE2:300L utilisée pour l'extraction liquide-liquide.

Dans le cadre des extractions liquide-liquide, à l'échelle pilote, seuls l'Aunée et le Carvi sont étudiés, par manque de matières premières. Les conditions opératoires restent les mêmes que celles des tableaux II.8 pour l'Aunée et II.9 pour le Carvi.

II.B LES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS

II.B1 PROCEDE D'ESTERIFICATION DES ACIDES GRAS A CHAINE COURTE ET IMPAIRE

Les esters totaux des acides gras sont couramment obtenus par estérification directe catalysée par un acide. L'addition de catalyseur accélère la vitesse de réaction et l'équilibre de celle-ci est déplacé grâce à l'utilisation d'un excès d'éthanol.

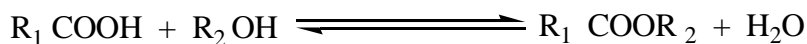


Figure II.5 Schème de la réaction d'estérification

En fin de réaction, la purification met en jeu une désacidification par résine de type anionique. L'excès d'éthanol peut aussi être distillé. Au final, l'ester est décoloré par l'effet des terres naturelles, comme la bentonite ou même avec du charbon actif, dans le cas de l'undécanoate d'éthyle.

Le schéma général de la synthèse des esters des acides gras à chaîne courte (C7, C9, C11) que nous avons suivi comprend, de façon classique deux grandes étapes :

- ✓ la **réaction chimique** et
- ✓ la **purification** (figure II.6).

Pour étudier la réaction nous avons utilisé deux méthodes d'estérification :

- la méthode d'estérification type soxhlet,
- la méthode semi continue en réacteur extracteur catalytique.

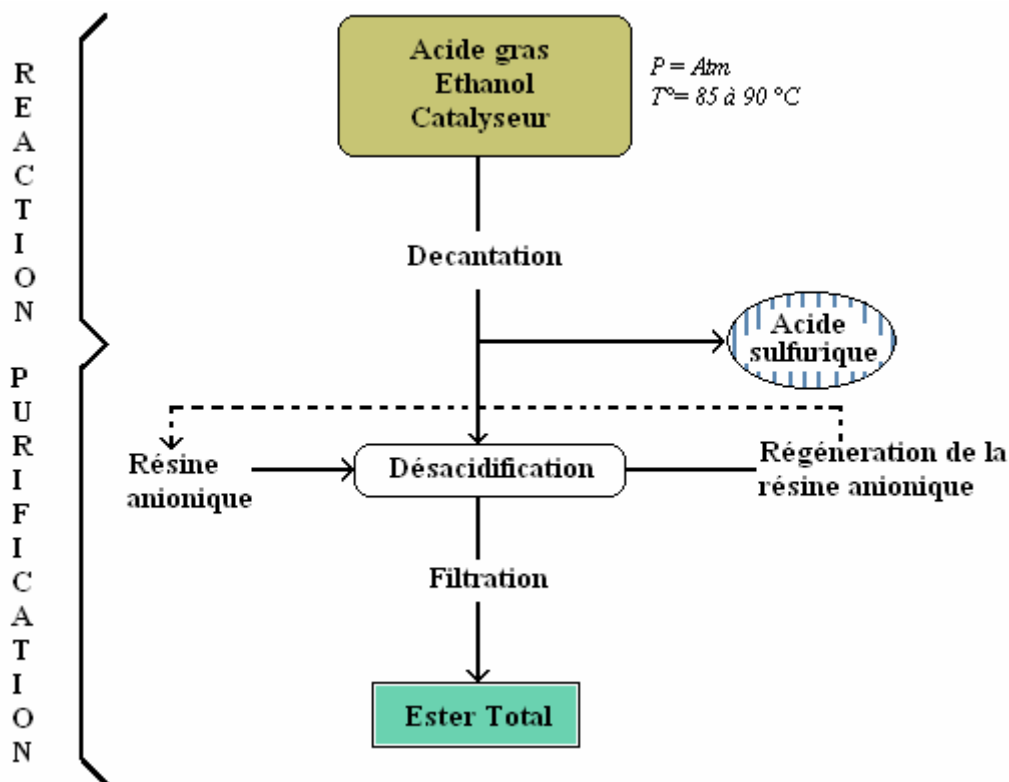


Figure II.6 Schéma général de synthèse des esters d'acides gras à chaîne courte.

Nous avons choisi d'éliminer l'acide gras résiduel par fixation sur une résine basique. Cette étape permet d'amener l'indice d'acidité à des valeurs inférieures à 0,1.

Les différentes molécules ainsi purifiées sont destinées à l'analyse quantitative de la réaction (étalons), à la caractérisation, ainsi qu'aux tests nécessitant des produits purs (analyses physico-chimiques, tests phytosanitaires).

La pureté est vérifiée par Chromatographie en phase gazeuse (CPG), par spectrométrie Infrarouge (IR) et par spectrométrie à Résonance Magnétique Nucléaire (RMN C^{13} et RMN H^1).

La réaction d'estérification selon deux voies :

- d'abord la *formation de l'eau*. Des prélèvements sont réalisés après condensation du distillat sans passage par le tamis moléculaire et après passage à travers du tamis moléculaire. Les échantillons ont été analysés par la méthode Karl Fisher, cette méthode est utilisée pour déterminer la teneur en eau.

- puis la *conversion de l'esters* durant la réaction. Nous avons réalisé des prélèvements du milieu réactionnel tout au long de la réaction. Ceux-ci ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à Ionisation de flamme (CPG-DIF) qui nous a permis de mettre en évidence la formation de l'ester.

II.B1.1 Utilisation des agents desséchant dans le procédé d'estérification

En pratique, nous avons utilisé le tamis moléculaire en l'intégrant dans le système de différentes manières comme nous pourrons le voir par la suite.

La quantité introduite dans les deux méthodes est d'environ 360 g.

II.B1.2 Méthodes d'estérification utilisées

Nous avons utilisé deux méthodes d'estérification d'acides gras : la méthode *soxhlet* et la méthode *semi continu réacteur extracteur catalytique*.

II.B1.2a La méthode de synthèse Soxhlet

Dans la méthode d'estérification de type *Soxhlet*, le milieu réactionnel constitué par l'acide gras, l'éthanol et l'acide sulfurique qui est utilisé comme catalyseur, sont introduits dans un ballon à trois têtes et portés à ébullition grâce à un chauffe ballon.

Les vapeurs de réaction constituées par l'azéotrope formé entre l'éthanol et l'eau traversent la colonne de type soxhlet, elles sont condensées au niveau du réfrigérant (c) et s'écoulent au travers d'une cartouche remplie de tamis moléculaire, où ils sont séparés de part le caractère sélectif du tamis moléculaire envers l'eau.

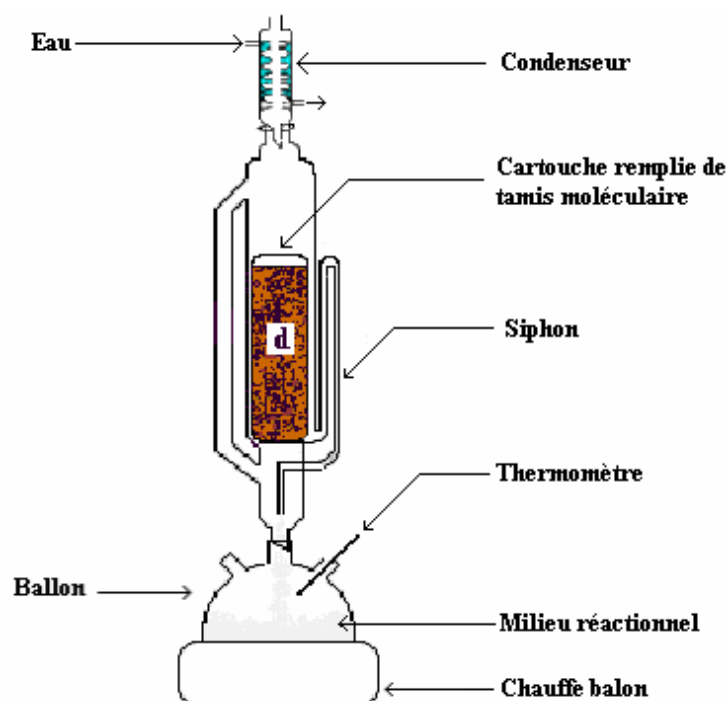


Figure II.6 Appareillage utilisé pour l'estérification de type Soxhlet.

Ce système de distillation /condensation/adsorption assure à l'éthanol une circulation en continu au sein du milieu réactionnel. Un siphon (e) permet à l'éthanol déshydraté de s'écouler de la cartouche pour retourner dans le milieu réactionnel. L'éthanol peut donc recommencer un nouveau cycle d'évaporation/condensation.

Après passage à travers le tamis moléculaire, l'éthanol est purifié et réintroduit par la suite au milieu réactionnel. De cette manière l'élimination de l'eau produite pendant la réaction est assurée. Tout ceci présente le principal avantage de ce système.

Cependant, un temps de réaction long et un volume d'éthanol nécessaire important sont les principaux inconvénients de cette méthode. Les conditions opératoires mises en place pour l'estérification des acides gras en Soxhlet sont récapitulées dans le *tableau II.10* :

Réactif	Rapport molaire (acide/alcool)	Température de réaction	Catalyseur (% en masse de l'acide)
Acide heptanoïque éthanol	R= 1/4	85°C	0,2% acide sulfurique

Tableau II.10 Conditions opératoires d'estérification. Méthode soxhlet.

Dans la recherche de l'optimisation des conditions de réaction, les résultats obtenus à l'aide de cette méthode seront comparés avec les résultats obtenus par la méthode semi continue réacteur extracteur catalytique.

II.B1.2b La méthode semi continue en réacteur extracteur catalytique

La méthode semi continu réacteur extracteur catalytique est constitué d'un réacteur extracteur couplé à une colonne-tramp de type Dean Stark (*Figure II.8*).

L'élimination d'eau produite lors de la réaction d'estérification par le tamis moléculaire est un des aspects important de ce procédé. Nous avons utilisé la colonne de type Deans Stark remplie de tamis moléculaire afin de séparer l'azéotrope produit et distillé durant la réaction d'estérification.

Dans la méthode semi continue réacteur extracteur catalytique, l'acide gras à estérifier est introduit dans le réacteur extracteur de capacité d'un litre avec l'éthanol et l'acide sulfurique utilisé comme catalyseur. Le réacteur catalytique extracteur est couplé à une colonne-tramp de type Dean Stark munie d'un condensateur comme le montre la figure ci-dessous.

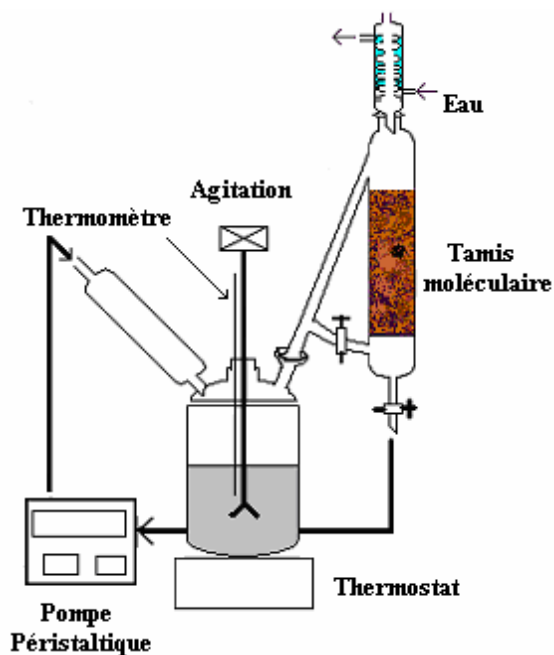


Figure II.8 Montage utilisé dans la méthode semi continue réacteur extracteur catalytique.

L'agitation du milieu réactionnel est effectuée par un système mécanique (vitesse fixe à 500rpm). La température du réacteur est contrôlée par un système régulateur.

La température de réaction est limitée par la température d'ébullition de l'azéotrope constitué par l'eau produite durant la réaction et l'éthanol utilisé. Ainsi la température de réaction est comprise entre 85 et 87°C.

Les vapeurs de condensation produites au cours de celle-ci sont condensées au niveau de la colonne Dean Stark munie d'un réfrigérant. Cette colonne peut être remplie de tamis moléculaire ou pas. Ainsi des aliquots des produits de cette condensation ont été prélevés avec ou sans passage à travers le tamis moléculaire afin de connaître l'efficacité de ce tamis lors de l'analyse en teneur en eau des échantillons.

L'éthanol déshydraté et donc séparé de l'azéotrope, après le passage à travers le tamis moléculaire est réintroduit dans la zone réactive à l'aide d'une pompe péristaltique.

Des prélèvements ponctuels du milieu réactionnel sont réalisés afin de mesurer l'indice d'acidité pour déterminer l'avancement de la réaction. L'indice d'acidité du mélange est alors déterminé selon la norme NF T 60-204.

A la fin de la réaction d'estérification (d'une durée d'environ 5h), l'alcool est récupéré en stoppant sa réintroduction par fermeture de la valve de passage. Ainsi la réaction se poursuit jusqu'à récupération total de l'alcool avant de procéder à l'élimination de l'acide sulfurique, utilisé comme catalyseur, par décantation.

Le milieu réactionnel, constitué par l'acide organique qui n'a pas réagi et l'ester formé, est désacidifié par l'action d'une résine macroporeuse type Ambersept 900-OH.

Les conditions d'estérification des acides gras par la méthode semi continue en réacteur extracteur catalytique sont identiques à celles de la méthode Soxhlet. Nous avons ensuite comparé les performances des deux méthodes afin de choisir celle dont le rendement est le plus élevé pour la production des esters. En plus d'apporter le meilleur rendement en ester, la méthode semi continue a des avantages économiques non négligeables: quantité d'éthanol plus faible, recyclage en continu d'un éthanol déshydraté sur le tamis, méthode sûre et efficace...

II.B2 DESACIDIFICATION DU MILIEU REACTIONNEL A L'AIDE D'UNE RESINE MACROPOREUSE

Notre objectif est l'obtention d'esters purs afin d'évaluer leurs caractéristiques et leurs utilisations comme co-solvant dans le procédé d'extraction des huiles essentielles.

L'étude envisagée ici porte sur la désacidification d'un mélange constitué par l'acide organique à chaîne courte et impaire (C7, C9, C11) qui n'a pas réagi et l'ester formé. Les caractéristiques de la résine utilisée pour la désacidification sont présentées dans le paragraphe suivant. Le support utilisé est une résine macroporeuse anionique hydrophobe (Ambersept 900-OH) fournie par la société ROHM AND HAAS France. Il s'agit d'un copolymère du styrène et du divinylbenzène activé par des ammoniums quaternaires. Sa structure précise est détaillée dans la *figure II.9*.

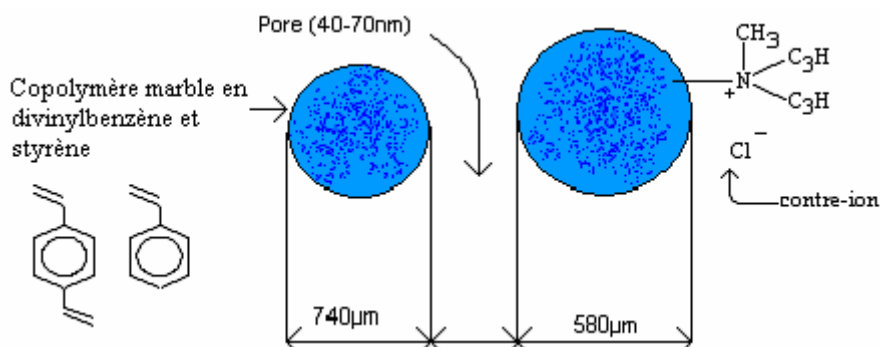


Figure II.9 Structure de la résine Ambersept 900-OH.

Selon l'utilisation faite de ce solide, le contre ion requis sera différent. A partir de la forme hydroxylée, plusieurs traitements pourront être effectués afin d'obtenir une résine sous forme carbonatée (HCO_3^-) ou chlorée (Cl^-).

Forme Ionique	OH
Groupe active	Amine quaternaire Type I Alkyl
Matrice	Polystyrène
Structure	Macro réticulaire
Capacité minimale	0.90 eq/L

Tableau II.11 Caractéristiques physiques de la résine.

II.B2.1 Conditionnement de la résine Ambersept 900-OH.

La résine est fournie sous forme hydroxylée. Son utilisation telle quelle demande juste un lavage à l'eau déminéralisée après l'étape de gonflement. Pour passer de cette forme à la forme carbonatée ou chlorée des étapes supplémentaires de conditionnement sont nécessaires.

Le conditionnement du polymère se décompose en cinq étapes élémentaires. Au cours de chacune d'elles l'environnement du polymère change :

- le **gonflement** : au moins 24 heures avant le conditionnement, dans un grand bécher, trois volumes d'eau distillée sont additionnés à un volume de résine.
- l'**élimination des impuretés** : le lendemain, le milieu est transféré dans une colonne et l'eau est éliminée. Deux volumes d'eau déminéralisée supplémentaires serviront à entraîner les impuretés.
- la **permutation** : au cours de cette phase les contre-ions hydroxyles s'échangent avec les ions chlorures apportés par les 5 volumes de Na Cl.
- le **rinçage** : les ions chlorures excédentaires c'est-à-dire non complexés, sont élués par l'eau déminéralisée à pH neutre. Le lavage est interrompu lorsque le pH en sortie de colonne devient lui aussi neutre ou proche de la neutralité.

Les milieux réactionnels des estérifications subissent tous une désacidification sur résine. Dans un réacteur sous agitation magnétique, nous introduisons 100g de brut réactionnel. Nous ajoutons 5%, 10% et 20% en masse de résine Ambersept 900-OH hydroxylée. Ces trois essais nous permettront d'optimiser la quantité de résine nécessaire pour désacidifier notre milieu. Chaque réacteur est agité pendant 12 heures. Régulièrement au cours de l'agitation, des prélèvements du milieu sont effectués afin d'évaluer leur teneur en acide. Lorsque la valeur de l'indice d'acide ne diminue plus, le mélange est filtré par gravité sur papier filtre.

Après la désacidification, une étape de régénération de la résine par une solution éthanolique d'acide acétique à 2% permet de récupérer l'acide fixé. Après évaporation de l'éthanol et distillation de l'acide acétique, l'acide peut être réutilisé.

II.B3 DECOLORATION DES ESTERS ETHYLIQUES

Cette opération vise à éliminer les traces de couleur que la désacidification n'a que partiellement réalisé chez certains esters.

Dans une colonne en verre munie d'un fritté, nous introduisons 400g de terre de bentonite. L'ester récupéré après désacidification est alors introduit dans la colonne. Après passage au travers de la bentonite, l'ester éthylique décoloré s'écoule dans un bécher.

II.B4 METHODES DE CARACTERISATION DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS

II.B4.1 Détermination de l'indice d'acidité

L'acidité ou la teneur en acide gras initiale, ou cours de la réaction d'estérification et aux final a été déterminée par dosage titrimétrique selon la norme AFNOR T 60 204.

L'échantillon prélevé (environ 5g) est dissout dans 100 ml d'un mélange éther diéthylique/éthanol 95% (50:50, v/v). Le dosage s'effectue par une solution d'hydroxyde de

potassium (KOH) éthanolique à 0,1N en présence de phénolphtaléine. Une coloration violette au point équivalent doit subsister quelques instants. L'indice d'acidité exprimé en pourcentage d'acide libre est calculé comme suit:

$$I_a = \frac{56,1 \times N \times (V_{\text{KOH}} - V_0)}{m}$$

Où :

V_{KOH} = Volume de KOH pour atteindre la neutralité

V_0 = Volume de KOH pour le dosage à blanc (I_a du solvant)

N = Concentration exacte de la solution de KOH éthanolique

m = Masse de l'échantillon en g

II.B4.2 Dosage des esters éthyliques en Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG/DIF)

Nous avons mis au point une méthode chromatographique d'analyse nous permettant de doser les esters éthyliques d'acide gras obtenus en CPG par étalonnage externe. Les standards employés correspondent aux esters éthyliques des acides gras du commerce et de pureté connue. En pratique, la gamme étalon est préparée dans du méthyle tertbutyl éther (MTBE). Elle comprend six étalons de concentrations comprises entre 100 et 1000 ppm.

Deux solutions-mères SM1 et SM2 de 10000 ppm (50mg d'ester standard qsp 5g MTBE) sont diluées alternativement trois fois chacune comme indiqué ci-dessous :

- étalon 1 à 100 ppm : SM1 diluée 100 fois
- étalon 2 à 200 ppm : SM2 diluée 50 fois
- étalon 3 à 350 ppm : SM1 diluée 28 fois
- étalon 4 à 500 ppm : SM2 diluée 20 fois
- étalon 5 à 750 ppm : SM1 diluée 13 fois
- étalon 6 à 1000 ppm : SM2 diluée 10 fois.

Les étalons sont injectés sur un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard® 5890 (CPG-DIF) (cf. II.A1.3) et les analyses sont effectuées dans les conditions suivantes :

Température de l'injecteur (°C)	280
Température du détecteur (°C)	300
Température initiale du four (°C)	70
Température finale du four (°C)	100
Programmation de température du four (°C)	2°/min
Quantité injectée (µl)	1
Pression en tête de colonne	20psi

Tableau II.12 Conditions analytiques des esters éthyliques par CPG-DIF.

Les esters produits sont dilués dans le MTBE. Nous avons préparé une solution-mère de chacun de nos esters à 10000 ppm. Pour cela, nous avons prélevé 50 mg d'ester et complété à 5g par le MTBE. Les solutions-mères sont ensuite diluées 24 fois avant d'être injectées en CPG-DIF : nous avons prélevé 42 mg de la solution-mère et complété à 1g par le MTBE.

Les échantillons sont alors injectés dans les mêmes conditions que les étalons.

La droite de calibration obtenue pour chaque ester permet de connaître la quantité d'ester éthylique réellement présente dans l'échantillon injectée et donc de déterminer la pureté exacte de l'échantillon produit.

II.B4.3 Analyses par Spectrométrie Infrarouge (IR)

Lors de notre étude, nous avons utilisé un spectromètre à transformée de Fourier (FTIR) JASCO FT/IR-460Plus (logiciel d'application : Spectra Manager) qui n'est pas dispersif dans le sens où il n'utilise pas de réseau ou de prisme pour décomposer le rayonnement en différentes longueurs d'onde. Les spectres infrarouges (IR) ont été réalisés en introduisant les liquides entre 2 lames de KBr. Le domaine de réalisation des mesures est compris entre 4000 et 500cm⁻¹.

Les pics utilisés pour l'identification des groupements fonctionnels sont situés dans le domaine des longueurs d'onde les plus courtes (d'environ 2,5 μm à 8,5 μm), où les positions des maxima ne sont que peu affectées par le squelette carboné auquel les groupements sont liés. L'examen de cette région du spectre permet donc d'obtenir une somme d'informations concernant la constitution de la molécule étudiée.

II.B4.4 Analyses par Résonance Magnétique Nucléaire

Les analyses de résonance magnétique nucléaire ont été réalisées au Laboratoire de Chimie de Coordination (LCC-CNRS) de Toulouse sur un spectromètre Bruker Avance 500, 3 canaux, équipé d'une tête de mesure triple résonance observe ^1H découplage ^{31}P , BB (31-103Rh). Les déplacements chimiques δ sont exprimés en ppm et sont donnés par rapport au tétraméthylsilane (TMS). Le solvant utilisé est le chloroforme deutéré CDCl_3 (99,8 %).

II.B4.5 Détermination du taux d'hydratation par la méthode de Karl Fischer

Comme nous l'avons décrit précédemment, nous avons étudié la réaction d'estérification selon deux voies. Une de ces voies correspond à la formation d'eau produite durant la réaction. Pour réaliser cette étude nous avons effectué des prélèvements du produit obtenu après condensation du distillat et passage à travers le tamis moléculaire ou sans passage par celui-ci. Les échantillons obtenus ont été analysés par la méthode de détermination du taux d'hydratation par Karl Fischer.

Cette méthode est utilisée pour déterminer la teneur en eau des réactifs et produits de réaction. Elle repose sur le principe de l'oxydation du dioxyde de soufre par l'iode en présence d'eau. L'analyse est effectuée automatiquement à l'aide d'un titrimètre Metrohm 831. L'agent de titrage est l'hydranal-composite 5K.

Le milieu de titrage est l'hydranal auxiliaire K. La méthode est basée sur le fait que l'iode possède la faculté de réagir avec le dioxyde de soufre, en présence d'eau. L'espèce titrant est généré dans la cellule de titrage par l'intermédiaire d'une électrode de platine de grande surface, alimentée par un circuit coulométrique délivrant un courant régulé, d'intensité

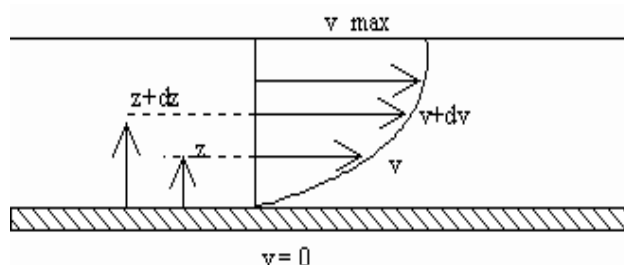
constante. Le point final du dosage est déterminé à l'aide de deux électrodes indicatrices, par potentiométrie à courant imposé. Le pourcentage d'eau contenue dans l'échantillon est directement affiché.

II.B5 PROPRIETES PHYSIC-CHIMIQUES DES ESTERS ETHYLIQUES **D'ACIDES GRAS A CHAINE COURTE**

II.B5.1 La viscosité

La viscosité est la caractéristique essentielle d'un fluide. Elle définit la résistance d'un fluide à l'écoulement et détermine l'épaisseur du film d'huile en régime hydrodynamique.

Sous l'effet des forces d'interaction entre les molécules du fluide et les forces d'interaction entre les molécules du fluide et celles de la paroi, chaque molécule du fluide ne s'écoule pas à la même vitesse. Nous pouvons dire qu'il existe un profil de vitesse.



Si on représente par un vecteur, la vitesse de chaque particule située dans une section droite perpendiculaire à l'écoulement d'ensemble, la courbe, lieu des extrémités de ces vecteurs, représente le profil de vitesse. Le mouvement du fluide peut être considéré comme résultant du glissement des couches de fluide les unes sur les autres.

La vitesse de chaque couche est une fonction de la distance z de cette couche au plan fixe :

$$v = v(z).$$

Considérons deux couches contiguës distantes de dz .

$$F = -\eta.S.\frac{dv}{dz}$$

La force de frottement F qui s'exerce à la surface de séparation de ces deux couches s'oppose au glissement d'une couche sur l'autre. Elle est proportionnelle à la différence de vitesse des couches soit dv , à leur surface S et inversement proportionnelle à dz :

Le facteur de proportionnalité η est le coefficient de viscosité dynamique du fluide.

$$[\eta] = \text{M.L}^{-1}.\text{T}^{-1}.$$

Par rapport aux faits expérimentaux, nous avons considéré deux types de fluides:

- ✓ d'une part les fluides newtoniens qui satisfont à la loi de Newton. Ces fluides ont un coefficient de viscosité indépendant du gradient de vitesse. C'est le cas des gaz, des vapeurs, des liquides purs de faible masse molaire.
- ✓ d'autre part les fluides non newtoniens. Ce sont les solutions de polymères, les purées, les gels, les boues, le sang, la plupart des peintures, etc. L'étude de ces fluides relève de la rhéologie : fluides pseudo plastiques, rhéoplastiques, thixotropiques, rhéopectiques.

La viscosité dynamique a été calculée à partir du temps d'écoulement du liquide.

L'appareil utilisé est un rhéomètre à contrainte composée de marque CLS 100 CARRI-MED. Les propriétés rhéologiques des esters éthyliques d'acides gras et les extraits obtenus ont été étudiés en mode écoulement et en configuration plan /cône. L'échantillon à analyser est placé dans la surface du plan fixe et celle du cône rotatif. Cette configuration permet d'obtenir une vitesse de cisaillement uniforme au sein de l'échantillon. Le rhéomètre applique une contrainte linéaire en fonction du temps et mesure un gradient de vitesse.

II.B5.2 La tension superficielle

La mesure de la tension de surface (ou superficielle) a été déterminée au sein du laboratoire de Chimie Agro Industrielle (LCA-CATAR) selon la méthode de la lame de Wilhelmy à 25°C. L'appareil utilisé est un tensiomètre 3S de la société GBX.

La méthode de la lame, aussi connue sous le nom de la méthode de Wilhelmy, est basée sur la mesure d'une force, tout comme la méthode de l'anneau. Le système de mesure est une lame suspendue verticalement et dont la géométrie est exactement connue.

La surface de la lame est rugueuse pour une meilleure mouillabilité. Le bord inférieur de la lame est mis en contact avec le liquide échantillon. La lame est donc happée par le liquide. La force Wilhelmy résultant de ce mouillage est mesurée en retirant la lame jusqu'au niveau de la surface du liquide.

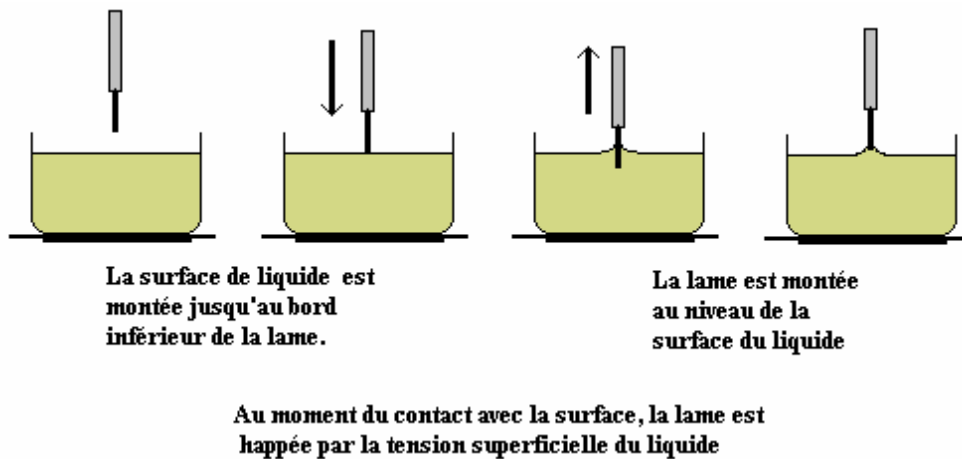


Figure II.10 Etapes de la mesure de la tension superficielle par la méthode de la lame.

La procédure de mesure est statique, c'est-à-dire que la lame peut rester au niveau de la surface pendant une longue période de temps. Ainsi, une mesure continue de la tension superficielle est possible sans besoin de recréer de nouvelles surfaces comme avec la méthode de l'anneau. Les valeurs mesurées ne nécessitent pas de correction, ce qui présente un autre avantage de la méthode de la lame. La tension superficielle d'un liquide est déterminée alors par la force mesurée comme indiquée ci-dessous :

$$\gamma = P_w / (L_b \times \cos \theta)$$

avec :

γ = tension superficielle,

P_w = force mesurée,

L_b = longueur mouillée,

θ = angle de contact de la tangente de la ligne de mouillage et la surface de la lame.

L'équation précédente pour la détermination de la tension superficielle ne peut être utilisée que si l'angle de contact est nul, soit $\cos \theta = 1$, ce qui signifie un mouillage total de la lame. Cette condition, est liée aux lames de platine propres et rugueuses qui sont généralement utilisées pour les mesures.

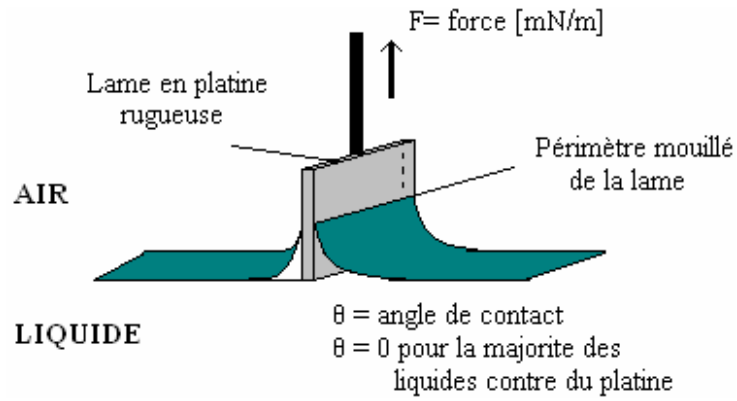


Figure II.11 Schème de la figure de la lame mouillée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [165] R.P. Adams. 2001. Identification of essential oils components by Gas Chromatography/Quadropole Mass Spectroscopy, Allured Publishing corporation, Carol Stream, IL (USA),
- [166] Association Française de Normalisation, Norme AFNOR NF T 75-347. Paris France
- [167] Association Française de Normalisation, Norme AFNOR NF T 60-204. Paris, France.
- [168] V. Eychenne.1997. Synthèse des esters de neopentylpolyols corrélations structures / propriétés tribologiques/ performances en lubrification. Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. Toulouse, France.
- [169] F. Rouessac., A. Rouessac. 2000. Analyse Chimique Méthodes et Techniques instrumentales modernes. 5^{ème} Ed. Dunod. Paris, France.
- [170] C. Buess-Herman., J. Dauchot-Weymeers., F. Dumont. 2002. Chimie Analytique. Ed. De Boeck Université. Bruxelles, Belgique.
- [171] P. Coates. 1986. Structural and chemical characterization of neopentylpolyol esters by infrared spectroscopy. *ASLE Trans.*29(2), 185-195.
- [172] F.D. Gunstone., M.R. Pollard., C.M. Scrimgeour., H.S. Vedanayagam. 1977. Fatty acids. Part 50. ¹³C Nuclear Magnetic resonance studies of oleofinic fatty acids and esters. *Chem. Phys. Lipids.* 18, 115-129.
- [173] H. Friebolin. 1991. Basic one and two dimensional NMR spectroscopy. VCH Publiser. New York, USA. 125-132.
- [174] J. Bus., I. Sies., M.S. Lie Ken Jie. 1976. ¹³C-RMN of methyl, methylene, and carbonyl carbon atoms of methyl alkenoates and alkynoates. *Chem. Phys. Lipids.* 17, 501-518.
- [175] F.D Gunstone. 1993. High resolution ¹³C-NMR spectraof long-chain acids methyl esters, glycerol esters, nitriles, amides, alcohols and acetates. *Chem. Phys. Lipids.* 66, 189-193.
- [176] R. Bacaloglu., M. Maties, C. Csunderlik., L. Catarca., A. Mararu., J. Gros. 1988. Kinetics of polyesterification and models 2. *Angew. Makromol. Chem.* 164, 1-20.

Chapitre III:

Résultats et discussion

III.A HYDRODISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES

III.A1 ETUDE PORTANT SUR CINQ PLANTES SELECTIONNEES POUR LEURS PROPRIETES BIOLOGIQUES

Les cinq plantes : Dictame de crête (*Origanum dictamnus*), Origan vulgaire (*Origanum vulgare*), Carvi (*Carum carvi*), Acore (*Acorus calamus*), Aunée (*Inula helenium*) ont été sélectionnées pour leurs propriétés biologiques, elles ont été cultivées et récoltées par l'Association Interrégionale de Recherche et d'Expérimentation Légumière (AIREL) dans le cadre d'un programme de coopération et de recherche entre le Laboratoire de Chimie Agroindustrielle (LCA-CATAR) et l'association AIREL.

III.A1.1 L'huile essentielle d'*Origan vulgaire*

Dans le cas d'*Origan vulgaire*, l'huile essentielle est localisée dans les deux épidermes et principalement dans l'épiderme supérieur [177]. Les poils sécréteurs sont rares au sein de cette espèce

III.A1.1a Résultats qualitatifs et quantitatifs

L'hydrodistillation est réalisée sur la plante d'*Origan*, placée dans un hydrodistillateur avec un rapport eau/matière végétale comme indiqué dans le *tableau III.1*:

Quantité de matière végétale	200 g
Volume d'eau	2 litres
Température	100°C
Temps d'hydrodistillation	4 h

Tableau III.1 Conditions opératoires d'hydrodistillation de l'huile essentielle d'*origan vulgaire*.

La distillation est conduite pendant quatre heures, durée nécessaire au épuisement de la matière première (environ 90%) en huile essentielle dans les conditions opératoires décrites dans le *tableau III.1*. L'huile essentielle obtenue possède une couleur jaune clair. Son odeur est agréable, et sa densité est de 0,99 à 25°C.

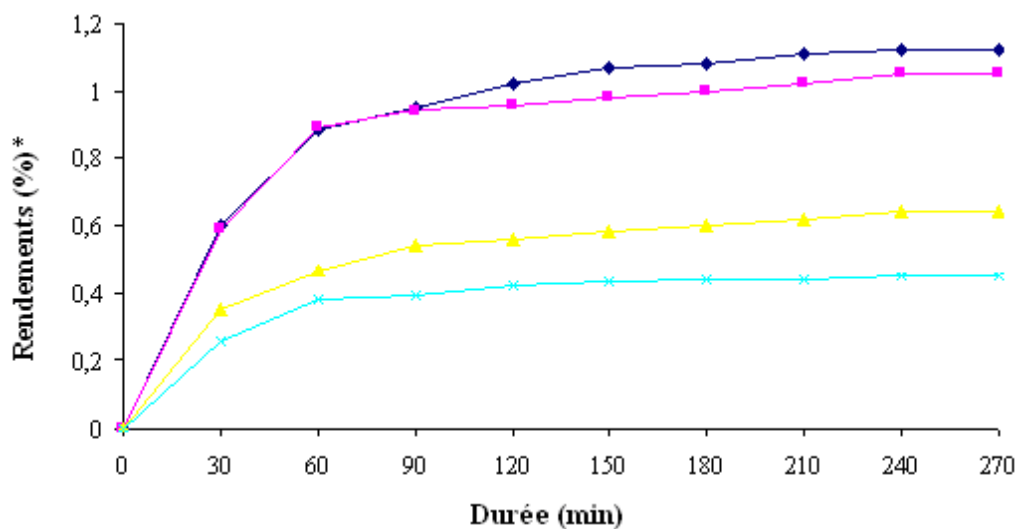
Le *tableau III.2* présente les résultats quantitatifs obtenus lors de l'extraction de l'huile essentielle d'*Origan vulgaire* à partir des fleurs récoltées à différentes périodes de l'année.

No. Lot	Date de réception	Quantité reçue [g] ⁽¹⁾	Humidité [%] ⁽²⁾	Huile Essentielle [g] ^{(3)*}	Rendement [%] ⁽⁴⁾	Rendement par rapport au poids sec [%] ⁽⁵⁾
2	15/06/01	4 000	58,0	2,24	1,12	2,60
			56,1	2,17	1,05	2,39
3	02/10/01	5 000	53,1	1,39	0,64	1,36
4	30/11/01	2 000	71,84	0,91	0,45	1,59

(1) Quantité de plante entière, (2) % d'humidité de la fleur, (3) g d'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, (4) Rendement en % d'huile essentielle obtenue à partir de 200 g de matière fraîche extraite, (5) Rendement en g d'huile essentielle obtenue pour 100 g de matière sèche. * moyenne de 3 extractions.

Tableau III.2 Résultats quantitatifs de l'extraction de l'huile essentielle de la fleur d'*Origan vulgaire*.

Nous pouvons observer des rendements d'extraction variant considérablement entre les essais du lot 3 et lot 4. Ces variations dans la concentration de l'huile essentielle produite par la plante ont été observées de la même manière par K. VERES et col [178], et sont le résultat de différents facteurs intervenant lors de la culture de la plante notamment les facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique...).



* Rendement en % d'huile essentielle obtenue à partir de 200 g de matière fraîche extraite

** lot 2 (♦essai 1, ■essais 2) lot 3 (▲ essai 3) et lot 4 (×essais 4).

Figure III.1 Cinétique d'hydrodistillation de l'huile essentielle d'Origanum vulgare à différentes périodes de récolte.

III.A1.1b Composition relative de l'huile essentielle d'Origanum vulgare

L'analyse de l'huile essentielle d'Origanum vulgare a été conduite dans un premier temps à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CPG/DIF) munie d'une colonne de type polaire (DB-5) afin d'étudier les chromatogrammes par corrélation des indices de KOVATS et de la bibliographie.

Dans un deuxième temps, nous avons injecté les huiles essentielles en chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG-SM), afin d'optimiser la séparation des molécules constituant l'huile, aussi bien les composés majoritaires que minoritaires.

La méthodologie ainsi que les caractéristiques des appareils ont été décrites dans le deuxième chapitre.

Les résultats sont reportés dans le *tableau III.3*. Ce tableau rassemble les données expérimentales à savoir le temps de rétention, les pourcentages des différentes molécules, les données spectrales de CPG/SM, ainsi que le nom de la molécule identifiée et les données

bibliographiques qui ont contribué à identifier ces molécules. Ce tableau présente également les composants majoritaires identifiés avec un pourcentage supérieur ou égal à 0,01% du contenu total de l'huile essentielle.

En général les principaux composants de l'huile essentielle d'*Origan vulgare* sont le carvacrol, le γ -terpinène et le p -cymène. Des différences quantitatives significatives ont été observées principalement dans les composés phénoliques (carvacrol et thymol) qui constituent 90% de l'huile essentielle. Cette différence est très marquée dans les lots 2 et 4 récoltés dans un intervalle de 6 mois. Par contre pour les précurseurs biosynthétiques (le γ -terpinène et le p -cymène), nous pouvons attribuer cette différence aux périodes de récolte de la plante.

Dans l'huile essentielle d'*Origan vulgare* les composants majoritaires sont les monoterpènes phénoliques : carvacrol (entre 89,99% et 63,24% respectivement pour le lot 2 et 4) et d'autres composants appartenant à la famille des hydrocarbures monoterpéniques : p -cymène (5,25% et 3,25%) et γ -terpinène (2,22% et 1,87%).

Des résultats similaires ont été obtenus par différents auteurs [179, 180]. Dans tous les cas, la molécule de carvacrol semble être le composé majoritaire et dans certains cas être le plus actif biologiquement [181].

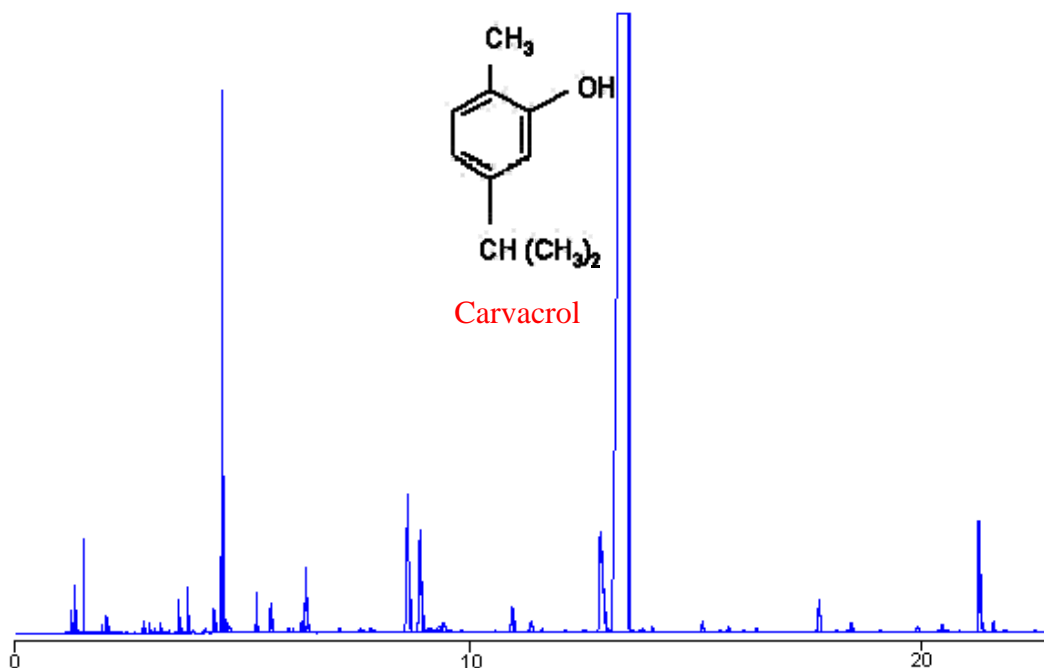


Figure III.2 Chromatogramme obtenu par l'huile essentielle d'*origan vulgare* lot 2.

Composants ⁽¹⁾	Temps de rétention ⁽²⁾	GC-MS ⁽³⁾	Lot 2 ⁽⁴⁾	Lot 3 ⁽⁴⁾	Lot 4 ⁽⁴⁾	Bibliographie ⁽⁵⁾
α -pinène	4,79	97%	0,21	nd	tr	0,88
camphène	5,16	98%	0,15	0,02	nd	0,15
Sabinène	5,65	96%	0,04	tr	tr	0,04
β -pinène	5,79	94%	nd	nd	nd	0,08
myrcène	6,01	96%	0,04	0,12	0,01	0,61
α -phellandrène	6,42	---	nd	tr	nd	0,07
terpinolène	6,76	97%	tr	nd	nd	nd
α -terpinène	6,86	97%	0,22	nd	0,11	0,62
ρ-cymène	6,99	97%	5,25	4,35	3,25	13,49
cis-sabinène hydrate	7,03	96%	0,48	0,29	0,15	0,22
limonène	7,10	98%	nd	0,07	nd	0,14
γ-terpinène	7,91	97%	2,22	2,08	1,87	2,07
trans sabinène hydrate	8,28	91%	nd	0,02	nd	0,15
L-linalool	9,14	91%	0,23	0,08	0,20	0,12
Borneol	11,49	97%	1,54	1,21	0,86	0,10
terpinen-4-ol	11,73	97%	0,70	0,23	1,1	nd
α -terpinéol	12,2	95%	0,13	0,05	0,32	0,42
linalyl acétate	13,9	90%	0,10	nd	nd	nd
thymol	15,38	99%	0,90	0,08	0,45	2,45
carvacrol	16,01	94%	89,99	73,24	63,24	79,58
carvacryl acétate	17,69	91%	0,16	0,11		0,36
β -caryophyllène	19,36	99%	0,30	0,13	0,13	1,50
β -bisabolène	22,08	99%	0,84	0,23	0,34	0,15
δ -cadinène	22,36	55%	0,06	0,35	0,02	0,02
caryophyllène oxyde	24,23	87%	0,27	0,01	nd	nd

(1) Composants majoritaires identifiés, (2) Exprimé en minutes, (3) coefficient de sûreté de l'identification (Banque de données Wiley 275), (4) % relative dans l'huile essentielle, (5) A. SIVROPOULOU et col [179].

Tableau III.3 Composition relative de l'huile essentielle d'Origan vulgaire.

III.A1.2 Huile essentielle d'Acore

III.A1.2a Résultats quantitatifs et qualitatifs

De nombreux travaux ont montré l'importance des opérations de broyage et de laminage en pré-traitement de la distillation ou de l'extraction des composés volatils [182]. Ces opérations de destruction du tissu cellulaire de la matière végétale permettent une meilleure diffusion du solvant au sein de celle-ci et l'accroissement de la vitesse d'extraction.

Elles influencent par ailleurs la composition des extraits pour certaines matières végétales en raison de la libération enzymatique des arômes liés. Dans le cas de la racine d'Acore, aucune modification de la composition chimique n'a été observée entre l'huile essentielle obtenue à partir de la racine entière et celle de la racine broyée.

De ce fait, les conditions opératoires ont été fixées de la manière suivante :

Quantité de matière végétale	400 g
Volume d'eau	3 litres
Température	100°C
Temps d'hydrodistillation	5 h

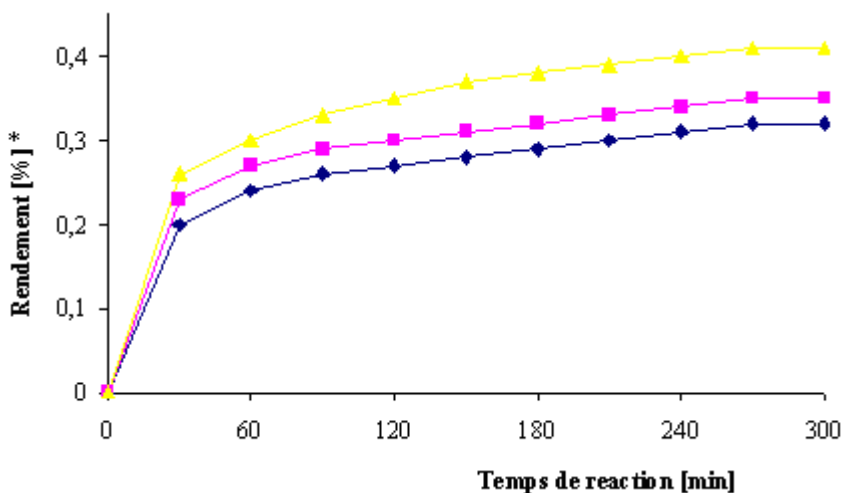
Tableau III.4 Conditions opératoires d'hydrodistillation de la racine d'Acore.

No. Lot	Date de réception	Quantité reçue [g] ⁽¹⁾	Humidité [%] ⁽²⁾	Huile Essentielle [g] ^{(3)*}	Rendement [%] ⁽⁴⁾	Rendement par rapport au poids sec [%] ⁽⁵⁾
2	15/06/01	500	48,20	0,65	0,32	0,40
3	02/10/01	16 000	49,40	0,71	0,35	0,45
			46,20	0,84	0,41	0,52

(1) Quantité de plante entière, (2) % d'humidité de la racine, (3) g d'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, (4) Rendement en % d'huile essentielle obtenue à partir de 400 g de matière fraîche extraite, (5) Rendement en g d'huile essentielle obtenue pour 100 g de matière sèche. * moyenne de 3 extractions.

Tableau III.5 Résultats quantitatifs de l'extraction d'huile essentielle d'Acore.

Selon E. GILDEMEISTER et col [183] la racine d'*Acore* cultivée en Europe renferme entre 0,5% et 4,8 % d'huile essentielle, tandis que la racine cultivée au Japon renferme 5% d'huile essentielle. De la même manière, les auteurs ont obtenu un rendement entre 0,94% à 2,2% d'huile lors de la distillation de la racine sèche cultivée en France. Dans notre étude, nous avons observé un rendement moyen de 0,35% et ce à partir de la racine sèche et broyée.



* Rendement en % d'huile essentielle obtenue à partir de 400 g de matière fraîche extraite

** lot 2 (◆essai 1), lot 3 (■essais 2 et ▲essai 3).

Figure III.3 Cinétiques d'extraction de l'huile essentielle extraite de la racine d'*Acore*.

La composition d'huile essentielle d'*Acore* a été très étudiée par M. ÖZCAN et col. [184] et N.G. BHILEGAONKAR et col [185]. Ces études ont utilisé les techniques classiques et les procédures chromatographiques comme la chromatographie en phase gazeuse, et la CPG-MS [186,187].

Densité relative à 20°C	0,90 à 0,92
Indice de réfraction à 25°C	1,53 à 1,55
Rotation optique à 20°C	- 0,2° à - 0,5°

Tableau III.6 Caractéristiques physique de l'huile essentielle d'*Acore*.

L'huile essentielle d'*Acore* obtenue par hydrodistillation est colorée en jaune pâle/brun pâle. La couleur est fortement influencée par le mélange complexe de composés volatils (entre 75 et 243 composés). Les constituants majoritaires constituant cette huile sont les phénylpropanes, les monoterpènes et les sesquiterpénoïdes [188].

Ces constituants se composent de 67 hydrocarbures, 35 carbonyles, 56 alcools, 8 phénols, 2 furanes [186]. Méthyleugenol, β -asarone, géranyl acétate, β -farnesene, shyobunone, epishyobunone, et isoshyobunone sont les composés chimiques les plus abondants constituant environ 20% de l'huile essentielle [189].

La composition de l'huile essentielle d'*Acore* dépend de différents facteurs par exemple le chemotype de la plante [189, 190] de la partie de la plante utilisée [190], de son état de croissance [191] ainsi que de la nature du sol et des conditions de culture [188].

III.A1.3 L'huile essentielle de Carvi (*Carum Carvi L.*)

III.A1.3a Résultats qualitatifs et quantitatifs

Les conditions opératoires d'hydrodistillation de l'huile essentielle de carvi sont présentes dans le tableau III.7.

Quantité de matière végétale	100 g
Volume d'eau	1 litres
Température	100°C
Temps d'hydrodistillation	5 h

Tableau III.7 Conditions opératoires d'extraction d'huile essentielle de la graine de Carvi.

No. Lot	Date de réception	Quantité reçue [g] ⁽¹⁾	Humidité [%] ⁽²⁾	Huile Essentielle [g] ^{(3)*}	Rendement [%] ⁽⁴⁾	Rendement par rapport au poids sec [%] ⁽⁵⁾
2	15/06/01	400	4,87	3,09	3,09	3,26
3	02/10/01	4 000	5,62	3,17	3,17	3,39
5	30/11/02	250 000	17,36	2,39	2,39	3,01

(1) Quantité de plante entière, (2) % d'humidité de la graine, (3) g d'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, (4) Rendement en % d'huile essentielle obtenue pour 100 g de matière sèche extraite, (5) Rendement en g d'huile essentielle obtenue pour 100 g de matière sèche. * moyenne de 3 extractions.

Tableau III.8 Résultats quantitatifs de l'extraction d'huile essentielle de Carvi.

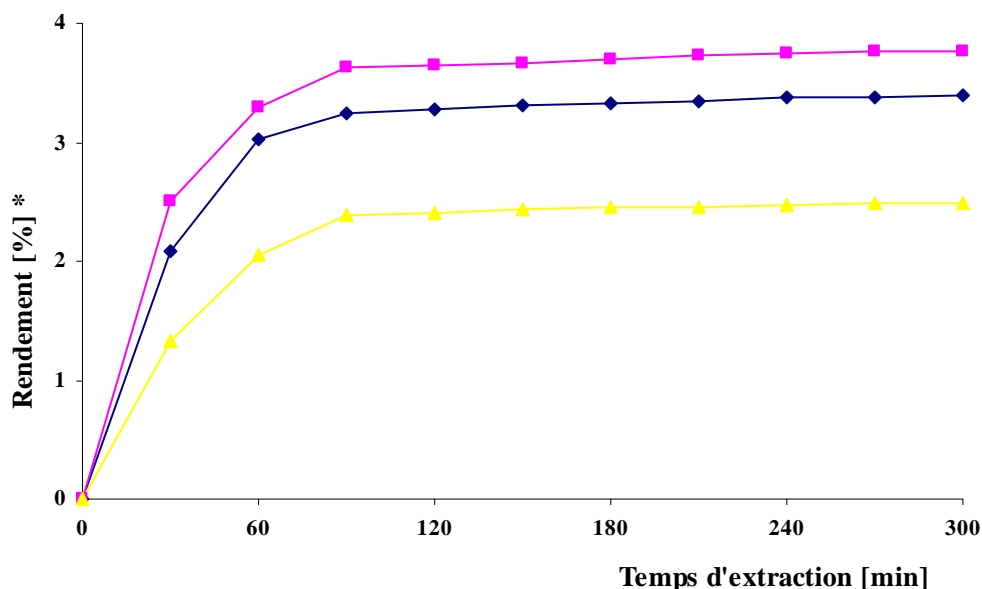
La partie utilisée du Carvi est constituée par le fruit sec de carvi. Il contient environ 4 % d'huile essentielle (teneur différente de la norme AFNOR [192]). Son huile essentielle possède une odeur spéciale et agréable.

Composant majoritaire ⁽¹⁾	Plante entière	Graine entière	Graine broyée
Carvone	56,17%	53,10%	34,00%
Limonène	42,52%	35,00%	50,00%
Autres composants	1,31%	2,00%	6,00%

(1) % par rapport au composant majoritaire. Banque de données Wiley 275.

Tableau III.9 Composition relative des huiles essentielles de graine de Carvi obtenues à partir de différentes parties de la plante (Lot 3).

Le pourcentage en composés majoritaires varie selon avec la partie de la plante hydrodistillée. Nous observons une inversion du pourcentage en composés majoritaires entre la graine entière et la graine broyée. Cette inversion est due, dans le cas de nos échantillons, à la présence d'une quantité importante de carvone à la surface de la graine et de limonène concentré dans la partie interne de celle-ci.



* Rendement en % d'huile essentielle obtenue à partir de 400 g de matière fraîche extraite

** lot 2 (◆), lot 3 (■) et lot 5 (▲).

Figure III.4 Cinétique d'extraction de l'huile essentielle de Carvi extrait de la graine.

III.A1.3b Composition relative de l'huile essentielle

L'huile essentielle contenue dans les fruits se caractérise en grande partie par la présence de carvone. Elle a été obtenue par hydrodistillation des fruits et présente un aspect de liquide mobile, d'une couleur incolore à jaune claire et d'une odeur caractéristique, aromatique.

Densité relative à 20°C	0,90 à 0,92
Indice de réfraction à 20°C	1,48 à 1,48
Pouvoir rotatoire à 20°C	+ 67° à + 80°

Tableau III.10 Caractéristiques physique de l'huile essentielle de carvi.

Le fruit contient également 20% de matière grasses. Les principaux constituants de l'huile essentielle sont: le carvone (50 à 58 %), le limonène (40 à 45 %), le dihydrocarvone (0,2 à 0,6 %).

No. Pic	Temps de rétention ⁽¹⁾	Indices de rétention ⁽²⁾	Fragments GC/MS ⁽³⁾	Molécule identifiée ⁽⁴⁾	Données spectrales ⁽⁵⁾	% dans l'H.E.
11	47,48	1228	150, 82, 108, 93, 54,	Carvone	No.8500 99%	53,17
2	29,16	1030	136, 107, 93, 68, 39,	Limonène	No.25367 99%	35,02
10	46,18	1188	136, 121, 93, 29,	Dihydrocarvéol	No. 40623 95%	0,62
7	43,14	1183	152, 109, 95, 67, 41,	Cis-Dihydrocarvone	No.38094 96%	0,51

(1) exprimé en min, (2) Indices de Kovalts (3), (4), (5) banque de données Wiley 275.

Tableau III.11 Composition relative de l'huile essentielle de Carvi (lot 3).

Le rendement et la composition de l'huile essentielle de *Carvi* varie avec les conditions d'extraction [193, 194], la période de récolte et les variations dans la culture (par exemple : type de sol, climat, etc...) [195].

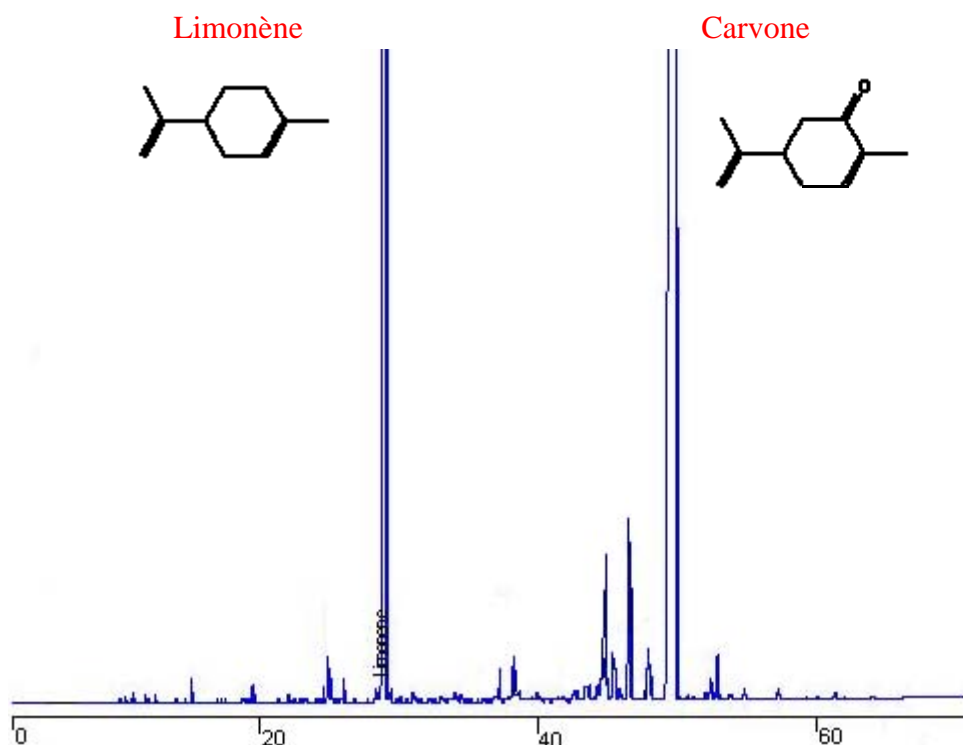


Figure III.5 Chromatogramme de l'huile essentielle de Carvi. Lot 3

A cause de la variabilité en concentration des molécules de carvone et limonène dans l'huile essentielle, différents auteurs suggèrent que la qualité de l'huile essentielle est exprimée en fonction du rapport molaire de ces deux composés. A titre d'exemple les travaux de G. PUSCHMANN et col [196], montrent une variation dans la concentration de carvone de 47 à 54% sur 16 échantillons différents analysés. La variation du rapport carvone /limonène est de 0,90 et 1,20.

Ces résultats sont l'évidence que la biosynthèse de carvone et limonène se produit par la même voie métabolique (cf *Figure I.16*). Ceci implique que le limonène est aussi bien un intermédiaire dans la biosynthèse de la molécule de carvone qu'un produit final. Les résultats obtenus rentrent dans l'interprétation du pourcentage de carvone au niveau du rapport carvone/limonène des échantillons des huiles essentielles obtenues à partir du procédé d'hydrodistillation.

II.A1.4 L'huile essentielle d'Aunée (*Inula helenium*)

III.A1.4a Résultats quantitatifs et qualitatifs

Dans le cas de la racine d'Aunée, aucune modification de la composition chimique n'a été observée entre l'huile essentielle obtenue à partir de la racine entière et celle de la racine coupée. Nous avons donc réalisé l'extraction de l'huile essentielle avec la racine coupée. De ce fait, les conditions opératoires montres dans le *tableau III.12* ont été fixées de la manière suivante :

Quantité de matière végétale	400 g
Volume d'eau	4 litres
Température	100°C
Temps d'hydrodistillation	5 h

Tableau III.12 Conditions opératoires d'hydrodistillation de la racine d'Aunée.

Les résultats quantitatifs obtenus lors de l'extraction de la racine d'Aunée avec les conditions opératoires mentionnées sont présentés dans le *tableau III.13* suivant:

Lot	Date de réception	Quantité reçue [g] ⁽¹⁾	Humidité [%] ⁽²⁾	Huile Essentielle [g] ^{(3)*}	Rendement [%] ⁽⁴⁾
3	02/10/01	17 000	8,2	3,65	0,91
5	28/01/02	250 000	9,4	4,01	1,00
			9,2	4,05	1,15

(1) Quantité de plante entière, (2) % d'humidité de la racine, (3) g d'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, (4) Rendement en % d'huile essentielle obtenue pour 400 g de matière fraîche extraite, (5) Rendement en g d'huile essentielle obtenue pour 100 g de matière sèche. * moyenne de 3 extractions.

Tableau III.13 Résultats quantitatifs de l'extraction d'huile essentielle d'Aunée.

A l'aide de ce tableau, nous pouvons observer que la variation au niveau du rendement d'hydrodistillation n'est pas significative pour les deux lots utilisés (3 et 5) même si la récolte n'a pas été faite à la même période. Le rendement est voisin de 1% quelles que soient les conditions de récolte.

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de la racine d'Aunée se cristallise à température ambiante (entre 25°C et 28°C).

Densité relative à 40°C	N.D.
Indice de réfraction à 40°C	1,518
Pouvoir rotatoire à 20°C	+1,24 + 1,55°

Tableau III.14 Caractéristiques physiques de l'huile essentielle d'Aunée.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de G. BOATTO et col [197] qui mentionnent que la plante d'Année peut contenir entre 1et 2% d'huile essentielle, elle est obtenue à partir de l'hydrodistillation de la racine. Par ailleurs, E. CHARABOT et col [198] précisent que l'huile essentielle obtenue contient un mélange de sesquiterpènes lactones (en forme de cristaux blancs) et possède une coloration jaune attribuée à l'alantol. Les principaux constituants de cette huile sont: l'alantolactone (50 à 57 %) et l'isoalantolactone (32 à 37%). Ces résultats et leurs constatation sont ressemblés au données du *tableau III.15*.

Composants ⁽¹⁾	Temps de rétention ⁽²⁾	CPG-SM ⁽³⁾	Lot 3 ⁽⁴⁾	Lot 5 ⁽⁴⁾	Bibliographie ⁽⁵⁾
α- pinène	6,65	94%	nr	0,12	nr
camphene	7,16	98%	tr	tr	nr
β-pinène	8,02	95%	nr	0,10	nr
camphor	14,58	97%	tr	tr	nr
β-elemene	24,89	86%	0,16	1,10	1,20
β-selinène	29,26	94%	0,11	0,33	0,50
junipene	35,61	55%	0,24	0,40	0,40
1,4-pentadien	41,5	64%	0,12	0,27	0,80
alantolactone	44,29	92%	51,24	56,64	52,4
Isoalantolactone	45,75	98%	32,67	37,31	33,0
α-amorphene	45,82	53%	0,24	1,88	nr

(1) Composants majoritaires identifiés, (2) Exprimé en minutes, (3) coefficient de sûreté de l'identification (Banque de données Wiley 275), (4) % relative dans l'huile essentielle, (5) C. BOURREL et col.

Tableau III.15 Composition chimique de l'huile essentielle d'Aunée (*Inula helenium L.*).

Les travaux réalisés par C. BOURREL et col [199] sur l'identification des composés constituant l'huile essentielle, montrent différentes structures chimiques comme l'indique la *tableau III.15*. Or au cours de mes travaux nous n'avons pas identifié dans la composition chimique de l'huile essentielle extraites les composés suivant [200]:

- le dihydroalantolactone (Eudesma-5(6)-ene-8 β , 12-olide) et
- l'eudesma-4(15), 7(11)- diène 8 β , 12-olide.

Ces structures peuvent être issues de l'isomérisation des molécules principales, comme le montre la *figure III.6* suivante:

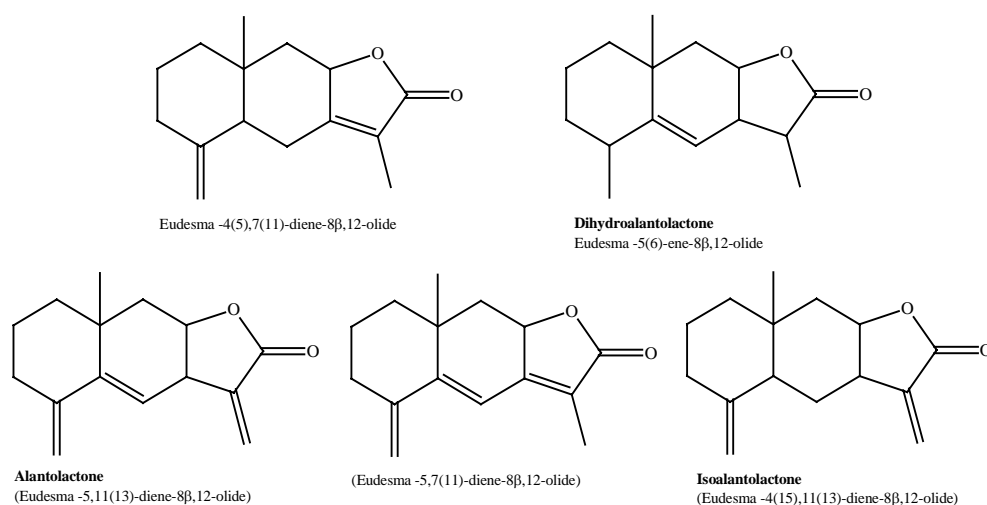


Figure III.6 Structure chimique des quatre alantolactones et du dihydroalantolactone

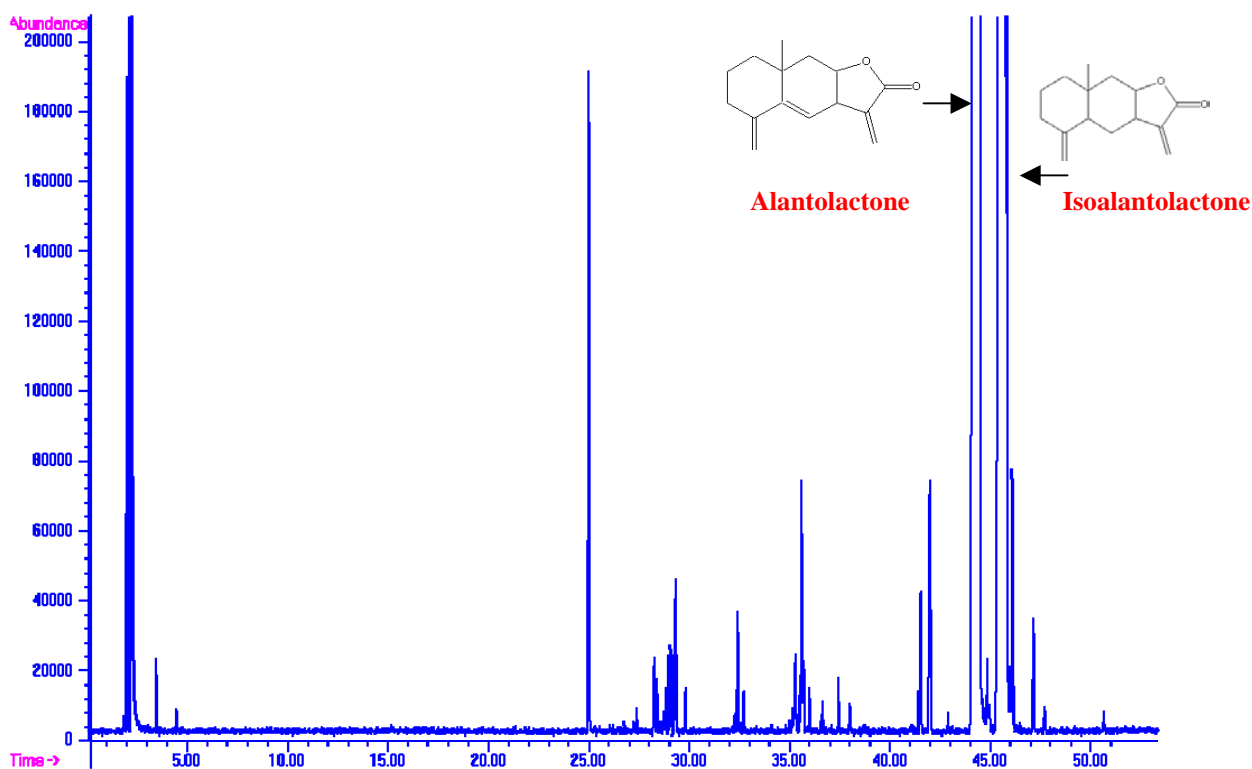


Figure III.7 Chromatogramme de l'huile essentielle d'Aunée. Lot 5

III.A1.5 L'huile essentielle d'*Origan de crête*

Le *tableau III.16* présente les résultats quantitatifs obtenus lors de l'extraction de l'huile essentielle de *dictame de crête* à partir des fleurs récoltées à différentes périodes de l'année.

No. Lot	Date de réception	Quantité reçue [g] ⁽¹⁾	Humidité [%] ⁽²⁾	Huile Essentielle [g] ^{(3)*}	Rendement [%] ⁽⁴⁾
2	15/06/01	4 000	78	0,39	0,20
3	02/10/01	5 300	64	1,71	0,85
4	30/11/01	2 400	66	0,86	0,42

(1) Quantité de plante entière, (2) % d'humidité de la racine, (3) g d'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, (4) Rendement en % d'huile essentielle obtenue pour 400 g de matière fraîche extraite. * moyenne de 3 extractions.

Tableau III.16 Résultats quantitatifs de l'extraction d'huile essentielle d'*Origan de crête*.

Nous pouvons observer des rendements d'extraction variant considérablement entre les essais du lot 2 (0,39%) et lot 3 (1,71%). Ces variations dans la concentration de l'huile essentielle produite par la plante ont été observées de la même manière par C. ECONOMAKIS et col [201], et sont le résultat de différents facteurs intervenant lors de la culture de la plante notamment les facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique....).

En général les principaux composants de l'huile essentielle de *Dictame de crête* sont le carvacrol, le γ -terpinène et le p -cymène [202]. Des différences quantitatives significatives ont été observées dans la molécule de carvacrol, composant majoritaire de l'huile essentielle. Il constitue de 50 à 80% de l'huile essentielle. Cette différence est très marquée dans les lots 2 et 3 récoltés dans un intervalle de 4 mois. Par contre pour les précurseurs biosynthétiques (le γ -terpinène et le p -cymène), nous pouvons attribuer cette différence aux périodes de récolte de la plante.

Composants ⁽¹⁾	Temps de rétention ⁽²⁾	Lot 2 ⁽³⁾	Lot 3 ⁽³⁾	lot 4 ⁽³⁾	Référence ⁽⁴⁾
1. α -Trujene	7,2	0,12	0,14	1,00	Nd
2. α -Pinène	7,4	0,11	0,10	0,48	0,18
3. Sabinène	8,8	0,52	0,17	0,51	0,57
4. Myrcene	9,0	0,11	0,13	0,17	0,25
5. α -Terpinène	9,8	0,44	0,82	0,69	0,42
6. ρ-cymene	10,2	6,79	4,67	18,90	7,50
7. γ-terpinène	11,3	4,72	3,67	6,21	4,45
8. Trans-sabinène	11,6	0,95	1,00	1,18	1,01
9. Linalol	12,6	2,05	2,31	1,24	0,90
10. Terpinene-4-ol	15,6	0,53	0,58	0,21	1,12
11. Carvacrol	21,0	47,99	79,84	57,42	71,86
12. α -Cubebene	22,3	1,27	0,11	0,19	Nd
13. β -Cubebene	22,8	ND	0,89	1,10	0,54
14. β -Caryophyllene	24,2	0,71	0,22	1,46	2,10
15. Germancrene D	27,2	ND	0,08	0,70	0,50
16. β -Bisabolene	28,4	0,38	0,10	4,30	0,37
17. Δ -Cadinene	29,6	0,61	1,53	0,54	0,28

(1) Composants majoritaires identifiés, (2) Exprimé en minutes, (3) coefficient de sûreté de l'identification (Banque de données Wiley 275), (4) % relative dans l'huile essentielle, (5) C. HARVALA [202].

Tableau III.17 Composition relative de l'huile essentielle d'Origan de crête.

Le tableau III.17 et la figure III.8 montent les résultats obtenus par chromatographie en phase gazeuse couple a la spectrométrie de masse (CPG/MS). Les numéro illustrées dans la figure III.8 correspondent aux numéro des composants identifiées est représentées dans le tableau III.17.

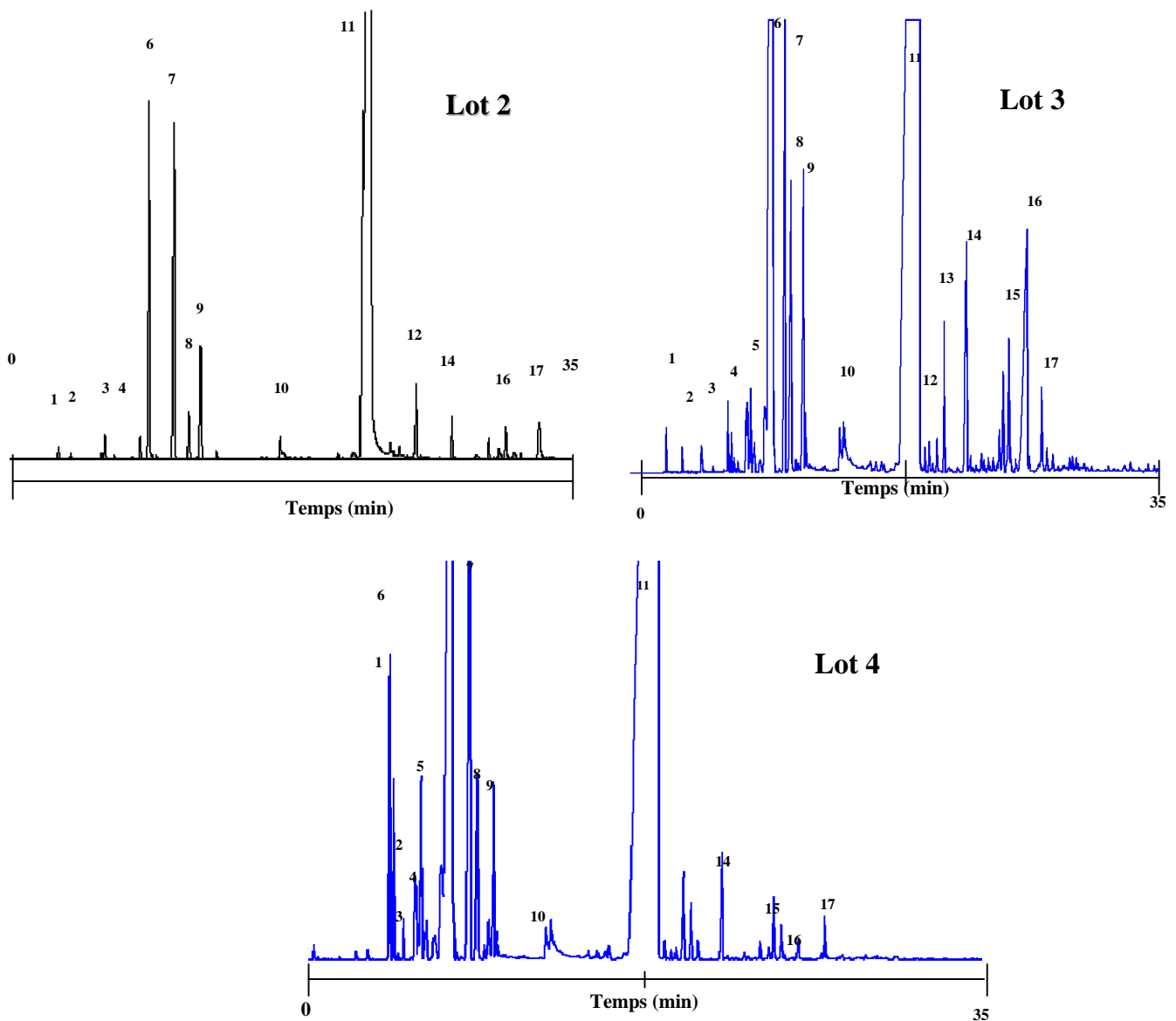


Figure III.8 Chromatogrammes de l'huile essentielle d'origan de crête.

III.A2 EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES A L'ECHELLE PILOTE

Les travaux concernant l'étude des mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielles de L. GANOU [204] à l'échelle pilote et laboratoire nous ont fortement influencée pour déterminer les conditions opératoires d'extraction des huiles essentielles.

III.A2.1 Extraction de l'huile essentielle de Carvi

Les conditions opératoires pour les extraits d'huile essentielle de *Carvi* sont données dans le *tableau II.6*.

III.A2.1a Résultats quantitatifs et qualitatifs

Les résultats obtenus à l'échelle laboratoire et à l'échelle pilote ont été comparés et ont permis de mettre en évidence un meilleur rendement d'extraction de l'huile essentielle à l'échelle pilote qu'à l'échelle laboratoire à savoir 3% contre 2,5%. Ces résultats sont présentés dans le *tableau III.17* ci-après.

Lot	Date de réception	Humidité [%] ⁽¹⁾	Méthode utilisée	Huile essentielle [g] ⁽²⁾	Rendement [%]
5	30/11/02	17,36	Pilote	620,54	3,10
			Laboratoire	2,39	2,3

1) % d'humidité de la racine, 2) quantité d'huile essentielle récupère en g.

Tableau III.17 Rendement d'extraction de l'huile essentielle de *Carvi* à l'échelle laboratoire et pilote (Lot 5).

Cette différence de rendement obtenu peut trouver une explication au niveau des conditions opératoires, notamment, lors du chauffage du mélange (matière végétale/eau).

En effet, dans l'unité pilote le système de chauffage utilise un serpentin tout autour du réacteur entraînant un chauffage uniforme et constant qui dégrade plus facilement la matière végétale permettant ainsi une libération plus efficace de l'extrait volatil. De plus la température de l'eau circulant au niveau du réfrigérant est contrôlée grâce à un système de vanne permettant ainsi d'obtenir une température constante tout au long de l'extraction.

Les paramètres intervenants lors de l'extraction (chauffage, contrôle de la température, agitation...) sont beaucoup plus suivis et contrôlés à l'échelle pilote qu'à l'échelle laboratoire même si le mode opératoire reste identique.

De ce fait, l'épuisement de la matière s'en trouve améliorés et accélérés. Les extraits ainsi obtenus dans les deux méthodes d'extraction ont été analysés et comparés comme l'illustre le *tableau III.18*.

No. Pic	Temps de rétention ⁽¹⁾	Indices de rétention ⁽²⁾	Fragments CPG/MS ⁽³⁾	Molécule identifiée ⁽⁴⁾	% relatif d'huile essentielle ⁽⁵⁾	
					Echelle laboratoire	Echelle pilote
2	29,16	1030	136, 107, 68, 39	Limonène	35,02	36,25
7	43,14	1183	152, 109, 67, 41,	Cis-Dihydrocarvone	0,51	0,42
10	46,18	1188	136, 121, 93, 29,	Dihydrocarvéol	0,62	0,56
11	47,48	1228	150, 82, 08, 93, 54, 58,	Carvone	53,17	53,02

(1) exprimé en min, (2) Indices de Kovats, (3) et (4), banque de données Wiley 275, (5) % de composés dans l'huile essentielle par rapport à la composition chimique totale.

Tableau III.18 Composition relative de l'huile essentielle de Carvi (lot 5).

Nous pouvons observer que les composés majoritaires de l'huile essentielle à savoir le limonène, le cis-dihydrocarvone, le dihydrocarvéol et le carvone, sont présents en proportions identiques pour les deux extraits (échelle pilote et échelle laboratoire).

III.A2.2 Extraction de l'huile essentielle d'Aunée (*Inula Helenium*)

La deuxième plante étudiée à l'échelle pilote concerne l'Aunée dont nous avons extrait l'huile essentielle de la racine broyée. En effet, des études préliminaires réalisées à l'échelle laboratoire ont permis de montrer qu'il n'y avait pas de modification de la composition chimique entre l'huile essentielle obtenue à partir de la racine entière et celle de la racine broyée.

De ce fait et pour ne pas détériorer la toile de filtration située au fond du réacteur « pilote », nous avons effectué les extractions à partir de la racine broyée.

III.A2.2a Résultats quantitatifs et qualitatifs

Les conditions opératoires ont été fixées en considérant les essais préliminaires réalisés à l'échelle laboratoire et sont présentées dans le *chapitre II tableau II.5*.

Les résultats quantitatifs obtenus dans le procédé d'hydrodistillation à l'échelle pilote ont été comparés avec les résultats obtenus lors de l'extraction à l'échelle laboratoire. Le *tableau III. 19* montre les résultats obtenus à l'aide des deux méthodes :

Lot	Date de réception	Humidité [%] ⁽¹⁾	Méthode utilisée ⁽²⁾	H.E. obtenue [g] ^{(3)*}	Rendement [%] ⁽⁴⁾
5	10/09/02	4,89	Pilote	215,78	1,86
			Laboratoire	4,1	1,01

(1) % d'humidité de la racine, (2) g d'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, (3) Rendement en g d'huile essentielle obtenue pour g de matière, (4) Rendement en g d'huile essentielle obtenue pour g de matière sèche. * moyenne de 3 extractions.

Tableau III.19 Rendement d'extraction de l'huile essentielle d'Aunée (*Inula helenium*).

Lors de l'extraction de l'huile essentielle d'Aunée, se posait le problème de récupération de l'extrait. Celui-ci a été résolu sur le système pilote grâce à la présence d'une vanne de contrôle de température du réfrigérant.

En effet, à l'échelle laboratoire l'extrait se solidifiait à la sortie du réfrigérant entraînant une perte importante de matière mais comme il était impossible de faire circuler une eau tiède au niveau du condensateur l'analyse des échantillons obtenus se trouve biaisé. Ce qui explique un rendement plus faible à l'échelle laboratoire et une composition chimique plus ou moins différente qu'à l'échelle pilote (cf *Tableau III.20*).

Composants	Temps de rétention ⁽¹⁾	Fragments GC/MS ⁽²⁾	Composition relative d'huile essentielle	
			Echelle pilote	Echelle laboratoire
α-pinène	6,65	94%	0,10	0,12
camphene	7,16	98%	tr	tr
β-pinène	8,02	95%	nr	0,10
camphre	14,58	97%	tr	tr
β-élémane	24,89	86%	0,51	1,10
β-sélinène	29,26	94%	0,10	0,33
junipène	35,61	55%	0,64	0,40
1,4-pentadiene	41,50	64%	0,22	0,27
alantolactone	44,29	92%	52,54	56,64
Isoalantolactone	45,75	98%	35,72	37,31
α-amorphène	45,82	53%	1,24	1,88

(1) exprimé en min, (2), banque de données Wiley 275.

Tableau III.20 Composition relative de l'huile essentielle d'Aunée (Inula helenium L.) extraite à l'échelle pilote et à l'échelle laboratoire.

Nous pouvons constater que les résultats quantitatifs obtenus en unité pilote confortent ceux acquis en laboratoire concernant les facteurs opératoires pour les deux plantes étudiées.

III.B ESTERIFICATION DES ACIDES GRAS A CHAINE COURTE ET IMPAIRE OBTENUS A PARTIR DE L'HUILE DE RICIN

L'estérification des acides gras est une réaction réversible et lente, elle est catalysée généralement par des acides, telle que l'acide sulfurique et l'acide paratoluène sulfonique (ApTS). A l'équilibre, la composition du mélange est définie par la constante d'équilibre :

$$K = \frac{[\text{R-COOR}'] [\text{H}_2\text{O}]}{[\text{R-COOH}] [\text{R}'\text{OH}]}$$

Figure III.9 Constante d'équilibre de la réaction d'estérification

Pour un mélange équimolaire d'acide et d'éthanol, la limite d'estérification, c'est à dire la proportion d'ester formé dépend surtout de la classe de l'alcool utilisé à savoir de l'alcool primaire, secondaire ou tertiaire. Il faut remarquer qu'une modification de la température ne déplace pas l'équilibre car la réaction est pratiquement athermique ($\Delta H = 0$).

Afin de synthétiser l'ester avec le meilleur rendement, il est nécessaire de déplacer l'équilibre vers la formation des produits. Parmi les différentes possibilités nous pouvons citer :

- l'emploi d'une quantité importante d'un des réactifs, en général l'alcool [205],
- l'élimination de l'eau, soit par changement de phase [206], soit par l'action d'agents desséchants [207],
- par distillation [210] ou
- par la pervaporation [211].

Nous avons suivi la réaction d'estérification selon deux voies :

- D'abord la **formation de l'eau**, étant donné qu'il s'agit d'un produit de la réaction et qu'il a la capacité de déplacer la réaction vers l'hydrolyse de l'ester. Nous avons réalisé des prélèvements après condensation du distillat sans passage par le tamis moléculaire et après passage à travers le tamis moléculaire utilisé comme agent desséchant. Les échantillons ont été analysés par la méthode Karl Fisher. Cette méthode est utilisée pour déterminer la teneur en eau.

- Puis la **formation de l'ester** durant la réaction d'estérification. Nous avons réalisé des prélèvements du milieu réactionnel tout au long de la réaction. Ceux-ci ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CPG-DIF) qui nous a permis de mettre en évidence la formation de l'ester.

Différents résultats ont été relevés:

- l'indice d'acide tout au long de la réaction afin de connaître la cinétique de formation de l'ester,
- la composition du mélange réactionnel (pourcentage relatif des différents éléments du milieu) et
- les rendements de formation en esters d'où le taux de conversion d'acide.

Plusieurs paramètres interviennent dans la vitesse de réaction d'estérification :

- **la température** : l'élévation de température permet d'atteindre l'état d'équilibre plus rapidement, mais la composition n'est pas modifiée. La pression est sans effet, parce que la réaction ne s'accompagne pas d'une variation de volume significative.
- **la catalyse acide** : l'estérification est une réaction lente que l'on peut accélérer par des catalyseurs acides tels que l'acide sulfurique et l'acide paratoluène sulfonique.

III.B1 ETUDE DE LA REACTION D'ESTERIFICATION DE L'ACIDE HEPTANOÏQUE

La réaction d'estérification de l'acide heptanoïque avec l'éthanol en présence d'acide sulfurique comme catalyseur produit de l'heptanoate d'éthyle et de l'eau, selon la réaction suivant (*figure III.10*):

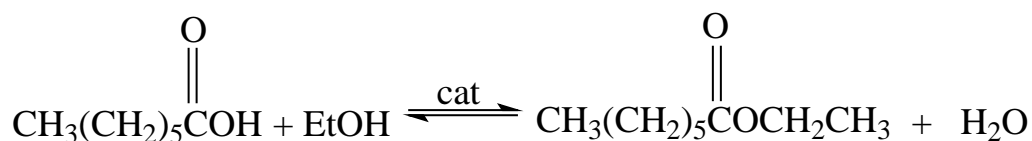


Figure III.10 Réaction d'estérification de l'acide heptanoïque

La réaction d'estérification de l'acide heptanoïque est réversible. Afin de synthétiser un ester avec le meilleur rendement, il est nécessaire de déplacer l'équilibre vers la droite.

Deux possibilités ont été étudiées :

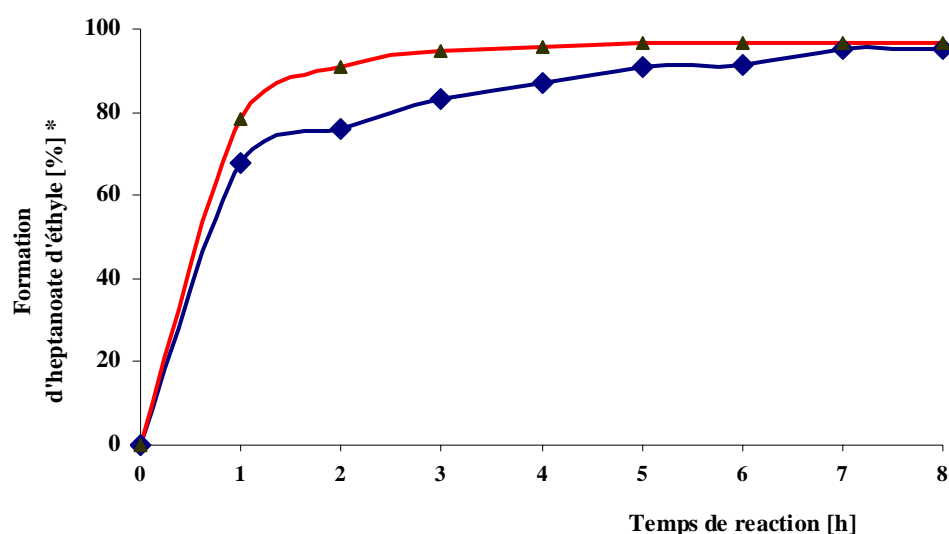
- l'emploi d'éthanol en excès et
- l'élimination de l'eau par l'action d'un agent desséchant : le tamis moléculaire.

Pour cela deux méthodes d'estérification d'acides gras ont été retenues : la méthode *soxhlet* et la méthode *semi continue en réacteur extracteur catalytique*.

III.B1.1 Comparaison entre les deux méthodes utilisées

Comme nous avons mentionné dans le paragraphe précédent, nous avons utilisé deux méthodes d'estérification d'acides gras : la méthode *soxhlet* et la méthode *semi continue en réacteur extracteur catalytique*.

Les travaux de V. BAUDRAND-ALZIEU [212] ont orienté notre étude vers l'estérification des acides gras à chaîne courte et impaire obtenus à partir de l'huile de ricin avec l'éthanol en présence d'acide sulfurique comme catalyseur dans un mélange à l'équilibre. Nous avons utilisé les conditions de réactions mises au point par V. BAUDRAND-ALZIEU [212]. Dans la recherche de l'optimisation des conditions de réaction, les résultats obtenus à l'aide de la méthode soxhlet ont été comparés avec les résultats obtenus par la méthode semi continue en réacteur extracteur catalytique. Les résultats obtenus sont illustrés dans la *figure III.11*.



* Concentration molaire acide heptanoïque/éthanol [1:4].

** méthode soxhlet (◆) et semi continue en réacteur extracteur catalytique (▲).

Figure III.11 Formation de l'heptanoate d'éthyle durant la réaction d'estérification de l'acide heptanoïque avec l'éthanol à différents temps de réaction.

Nous pouvons constater qu'environ 80% de la formation de l'heptanoate d'éthyle est réalisée au cours de la première heure de réaction pour la *méthode semi continue en réacteur extracteur catalytique* pour arriver à un plateau au bout de trois heures de réaction (95% d'heptanoate d'éthyle formé).

Contrairement, pour la *méthode soxhlet*, la première heure de réaction conduit à environ 70% de formation d'heptanoate d'éthyle pour se stabiliser à 90% d'heptanoate d'éthyle au bout de six heures de réaction.

Nous pouvons attribuer ces résultats au fait que la méthode soxhlet nécessite un remplissage de la colonne pour que l'éthanol purifié, après passage au travers du tamis moléculaire, soit réintroduit au milieu réactionnel. Ceci implique donc un appauvrissement en éthanol du milieu réactionnel le temps du remplissage de la colonne afin que le siphon puisse s'amorcer.

Ce temps de latence se traduit par une augmentation du temps de réaction permettant d'atteindre une formation maximale d'heptanoate d'éthyle équivalente à environ 90% au bout de six heures.

Afin de palier à ce problème, causé par cette méthode, il est nécessaire de travailler en large excès d'éthanol. Ce qui constitue l'inconvénient majeur de la méthode soxhlet.

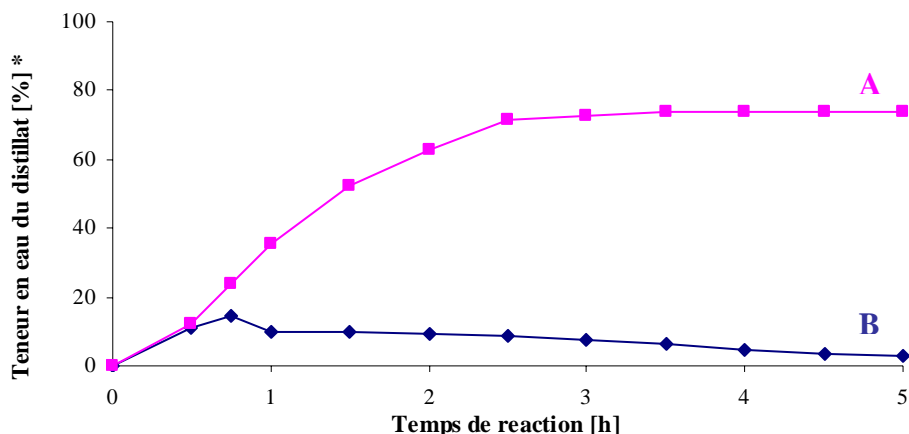
Suite à ses observations, nous retiendrons la méthode semi continue en réacteur extracteur catalytique comme la plus adaptée pour la suite de nos travaux. En effet, c'est un procédé simple à mettre en oeuvre, beaucoup plus efficace (95% d'heptanoate d'éthyle formé au bout de trois heures de réaction) et économique (pas de réactifs en excès) en comparaison avec les autres méthodes conventionnelles, comme l'estérification avec distillation.

III.B1.2 Effet du tamis moléculaire dans la réaction d'estérification

Comme nous l'avons mentionné au *paragraphe III.B.*, un meilleur rendement dans la synthèse de l'ester est obtenu par déplacement de la réaction vers la formation des produits et ce, grâce notamment à l'élimination de l'eau par utilisation d'un agent desséchant. L'agent desséchant utilisé au cours de nos travaux est le tamis moléculaire de type 3A. En effet, il est le plus employé dans la séparation d'azéotrope eau/éthanol grâce à sa grande sélectivité : sa configuration et sa taille de pore ne permette pas l'intercalation de la molécule d'éthanol au sein de sa cage contrairement à la molécule d'eau (cf *chapitre II.B1.1*).

Cette sélectivité du tamis moléculaire envers l'eau a été observée par S. AL-ASHEH [211] au cours d'une étude portant sur l'action « adsorbante » de différents tamis moléculaires à diamètres de pore différents.

Un suivi cinétique de la formation d'eau au cours de la réaction d'estérification par analyse du distillat récupéré tout au long de la réaction avec ou sans passage à travers le tamis moléculaire a été effectué. Les résultats obtenus sont illustrés à la *figure III.12*.



*g d'eau pour 100g de distillat,

** sans tamis moléculaire (■), et après passage à travers le tamis moléculaire (◆).

Figure III.12 Concentration d'eau dans l'azéotrope produit (distillat) durant l'estérification.

Nous avons placé le tamis moléculaire à l'intérieur de la colonne de type Dean Stark, afin d'observer l'efficacité de celui-ci sur l'adsorption de l'eau produit au cours de la réaction d'estérification et distillée sous forme d'azéotrope. La *figure III.12* montre la quantité d'eau mesurée par la méthode Karl Fischer sans action du tamis moléculaire (Courbe A), parallèlement nous pouvons observer l'efficacité du tamis dans l'adsorption de l'eau (Courbe B). Ce graphique fait apparaître nettement le rôle du tamis moléculaire comme agent desséchant.

L'élimination de l'eau, par utilisation du tamis moléculaire, au fur et à mesure de sa formation au cours du procédé d'estérification modifie la composition du milieu réactionnel de sorte que l'équilibre de la réaction se trouve déplacé par chimio-adsorption de l'eau.

Ces constats confortent la performance du tamis moléculaire dans le procédé d'élimination de l'eau et ainsi son implication pour la préparation d'esters d'acides gras faiblement contaminés par l'eau est avancée. Nous devons ces résultats remarquables aux caractéristiques particulières de cet adsorbant (*cf matériel et méthodes*), ainsi qu'au recyclage de l'éthanol anhydre, co-réactif renouvelé.

III.B1.3 Effet de la concentration molaire de l'acide et de l'éthanol dans l'estérification de l'acide heptanoïque

Nous avons étudié l'effet de la concentration molaire de l'acide heptanoïque et de l'éthanol dans la formation de l'heptanoate d'éthyle.

Pour cela des variations de concentration de 1 à 7mol/l en éthanol ont été réalisées afin d'étudier l'effet sur la réaction d'estérification. La quantité d'acide sulfurique utilisé comme catalyseur a été fixée à 0,2% en masse de l'acide heptanoïque. Le temps de la réaction a été fixé à cinq heures. Les résultats obtenus sont présentés dans la *figure III.13*.

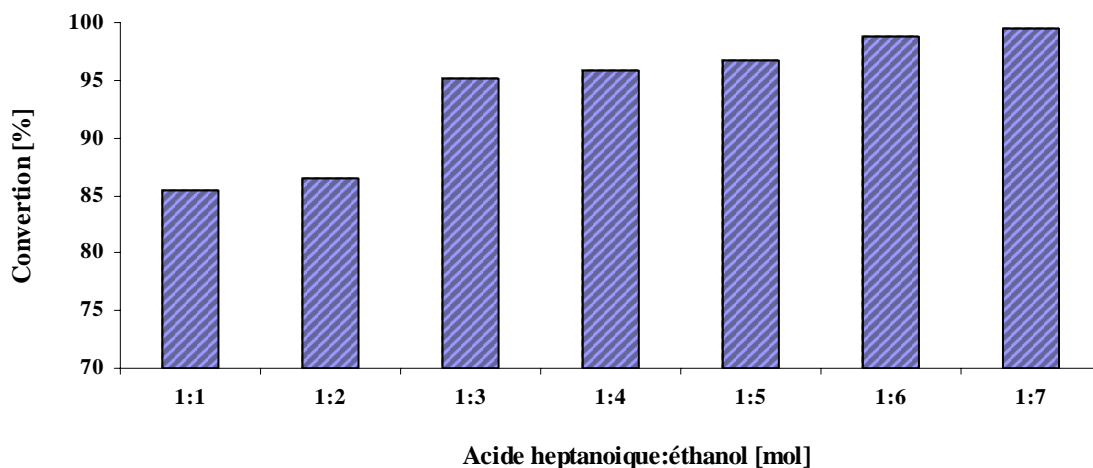


Figure III.13 Effet de la concentration molaire d'éthanol dans la conversion de l'heptanoate d'éthyle.

Ce graphique montre qu'une conversion de 99% en heptanoate d'éthyle est obtenue pour un rapport de concentration molaire en acide heptanoïque/éthanol de 1 :6. Cependant, pour un rapport de 1 :3, la formation en ester est d'environ 95%. Il faut noter que les rendements de formation de l'ester obtenus pour un rapport de 1 :1 et 1 :2 sont bien supérieurs à ceux déjà étudiés par les différents auteurs de la bibliographie consultée [210,213].

Ceci nous conforte dans les conclusions faite au *paragraphe III.B1.1* concernant les avantages économiques de la méthode semi continue en réacteur extracteur catalytique. De plus la pré-purification de l'alcool n'est pas nécessaire, un ester anhydre et un éthanol anhydre sont obtenus avec un fort niveau de productivité pour un coût de production bas et un procédé simple et facile.

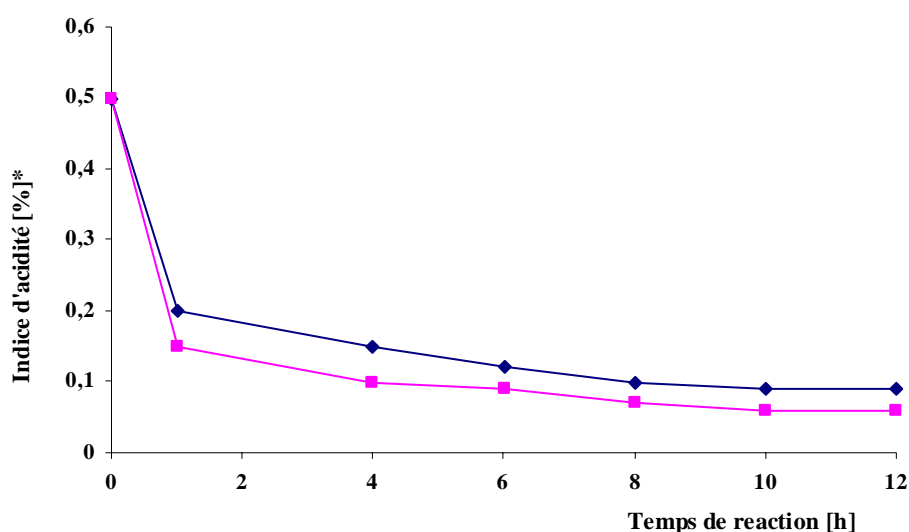
III.B1.4 Influence de la quantité de résine Ambersept 900-OH dans la désacidification du milieu réactionnel

Nous venons de voir comment produire des esters éthyliques à moindre coût avec un bon rendement de production mais comme l'un de nos objectifs est l'obtention d'esters

éthyliques à l'état pur, l'étape suivante va consister à éliminer l'acide gras résiduel du produit obtenu.

Le milieu réactionnel final est constitué de l'acide qui n'a pas réagi et de l'ester éthylique formé. En effet, l'éthanol a été éliminé par arrêt de sa réintroduction au milieu et l'acide sulfurique utilisé comme catalyseur a été séparé par décantation (cf *figure II.6*). Ainsi une désacidification de ce milieu réactionnel final en présence de la résine macro-poreuse Ambersept 900-OH (résine échangeuse d'anions) fournie par la société Rohm and Haas (décrite au *paragraphe II.B2*) permettra l'obtention d'un ester pur.

Un suivi de la disparition de l'acide en fonction du temps d'exposition avec la résine est illustré à la *figure III.14* et ce en fonction de la quantité de résine employée.



*g d'acide pour 100g d'acide, ** en utilisant 5% de résine (◆) et 10% de résine (■).

Figure III.14 Suivi de la teneur en acide heptanoïque du milieu réactionnel à différentes concentrations de résine.

Les résultats présentés montrent la désacidification du milieu réactionnel après évaporation de l'éthanol et élimination du catalyseur. L'ajout de 10% de résine conduit à une acidité du milieu réactionnel inférieure à 0,1%. Cependant, il est à noter que la désacidification est bien avancée dès les deux premières heures de contact avec le milieu.

Au cours de l'avancement de la réaction, l'acide heptanoïque tend à se fixer de manière irréversible à la résine. Les échangeurs d'ions macroporeux sont caractérisés par une grande surface interne. Une telle structure leur confère une stabilité mécanique particulière, une bonne résistance chimique et l'aptitude à fixer de gros ions organiques [208].

D'après les travaux de V. EYCHENNE [208], la désacidification en présence de la résine se produit de deux manières différentes :

- de manière *réversible* par interactions moléculaires de type Wan der Waals entre l'acide et la résine,
- et de manière *irréversible* par échange ionique entre la forme carboxylate de l'acide et le site OH⁻ situé dans les pores de la résine gonflée.

La forme moléculaire de l'acide fixé RCOOH, étant négligeable par rapport à sa forme ionique, nous avons récupéré un milieu quasiment neutre. La technique de désacidification conduit donc à un produit neutre sans pollution et sans réaction secondaire. L'heptanoate d'éthyle est le seul constituant isolé.

A la suite de ce processus de désacidification, une étape de régénération de la résine est possible grâce au passage d'une solution éthanolique d'acide acétique à 2% permettant la récupération de l'acide fixé. Après évaporation de l'éthanol et distillation de l'acide acétique l'acide gras n'ayant pas réagi pourra être réutilisé.

Par la suite, afin de simplifier les manipulations, le milieu réactionnel sera désacidifié dans un réacteur muni d'un système d'agitation. Conformément aux résultats que nous avons obtenu, nous avons choisi de travailler avec 10% de résine. Le bilan est satisfaisant puisque nous avons obtenus dans le cas de l'heptanoate d'éthyle des rendements supérieurs à 99,5% de pureté.

Des analyses CPG-DIF puis des analyses par spectroscopie infrarouge et par résonance magnétique nucléaire (RMN) permettant de confirmer le taux de pureté des esters éthyliques produits sont données au *paragraphe III.B4*.

III.B2 ETUDE DES REACTIONS D'ESTERIFICATION DE L'ACIDE NONANOÏQUE ET DE L'ACIDE UNDECANOÏQUE

Suite à l'étude menée pour la production d'heptanoate d'éthyle, la même méthode de synthèse a été employée pour la production des esters éthyliques de l'acide nonanoïque et de l'acide undecanoïque.

La société ATOFINA France nous a fourni les acides gras intervenant dans la réaction d'estérification avec un taux de pureté de 98,5%.

III.B2.1 Cas de l'acide nonanoïque

La réaction d'estérification de l'acide nonanoïque avec l'éthanol en présence d'acide sulfurique comme catalyseur produit de le nonanoate d'éthyle et de l'eau, selon la réaction suivant:

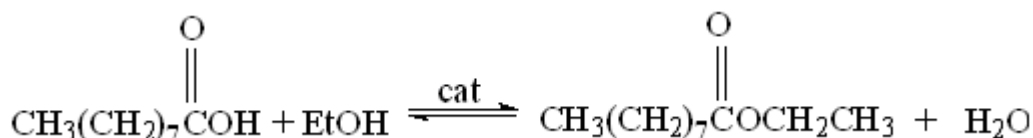
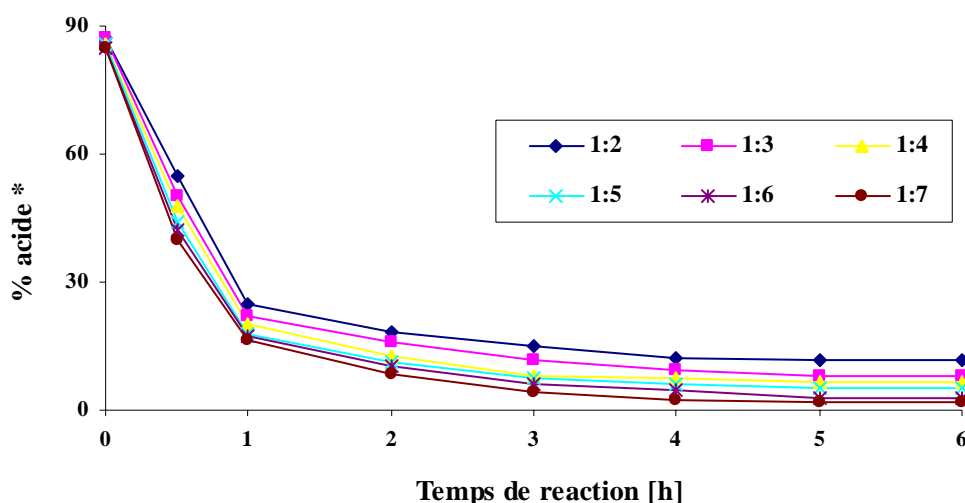


Figure III.15 Réaction d'estérification de l'acide nonanoïque.

Dans un premier temps, la formation de l'acide nonanoïque a été étudiée par suivi cinétique de la réaction. Les résultats obtenus sont rassemblés dans la *figure III.16*.



* g d'acide nonanoïque pour 100 g d'acide, ** rapport molaire acide nonanoïque:éthanol

Figure III.16 Consommation de l'acide dans le milieu réactionnel en fonction du rapport molaire acide nonanoïque:éthanol.

Les données sont corrélées avec celles obtenues lors de la réaction d'estérification de l'acide heptanoïque. En effet, les deux premières heures de réaction correspondent à l'étape principale de celle-ci dans laquelle plus de 80% d'ester est formé. Un palier est atteint au bout de quatre heures ce qui permet un arrêt du processus à partir de ce moment.

De même, nous avons observé qu'une augmentation du nombre de moles d'éthanol conduit à un rendement proche de 90%.

Après production de l'ester, nous avons étudié dans un deuxième temps la désacidification du milieu. Différentes quantités de résine ont été employées afin de choisir la plus apte à l'obtention d'un produit pur. Le *graphique III.17* montre l'effet de la quantité de résine sur l'appauvrissement du milieu réactionnel final en acide gras résiduel.

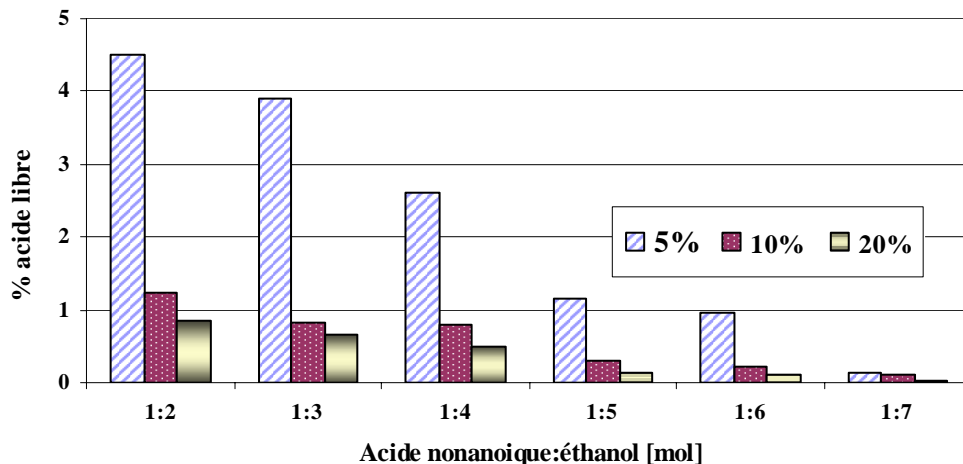


Figure III.17 Suivi de la teneur en acide du milieu réactionnel final.

Une faible désacidification du milieu réactionnel est à noter pour une quantité de 5% de résine. Contrairement à ce que nous pouvons observer pour des quantités plus importantes (en ajoutant 10% et 20% de résine). Ce phénomène peut s'expliquer de part une saturation des sites actifs empêchant l'interaction des acides libres avec les groupements OH de la résine. Cependant les valeurs obtenues restent satisfaisantes puisque le produit final contient moins de 1% d'acide dans certains cas.

III.B2.2 Cas de l'acide undecanoïque

La réaction d'estérification de l'acide undecanoïque avec l'éthanol en présence d'acide sulfurique comme catalyseur produit de l'undecanoate d'éthyle et de l'eau, selon l'équation suivante (*figure III.18*):

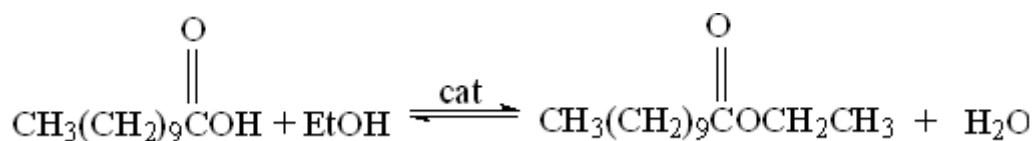


Figure III.18 Réaction d'estérification de l'acide undecanoïque.

Le déroulement de la synthèse de l'ester se fait selon le même schéma que précédemment à savoir :

- production de l'ester éthylique de l'acide undécanoïque : l'undecanoate d'éthyle par la méthode semi continu réacteur extracteur catalytique,
- désacidification du milieu réactionnel final en vue de l'obtention d'un produit pur.

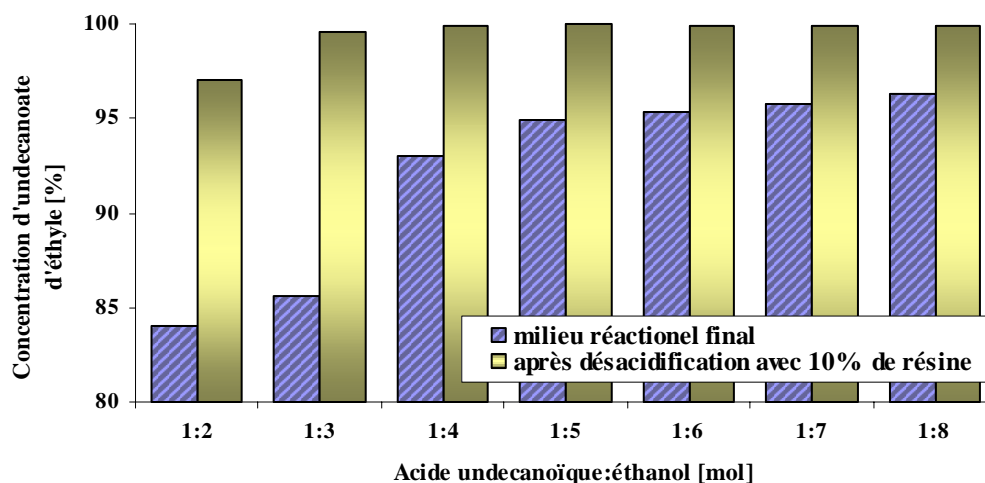


Figure III.19 Effet du rapport molaire acide undécanoïque: éthanol dans la conversion en undecanoate d'éthyle dans le milieu réactionnel final, et après désacidification avec 10% de résine.

Contrairement aux deux esters produits précédemment où l'on obtenait un rendement de formation de l'ester éthylique voisin de 90% pour un rapport molaire de 1 :3, ici il faut un rapport molaire de 1 :4 pour arriver aux mêmes résultats. Par conséquent, la réaction d'estérification de l'acide undécanoïque est plus lente. Elle se déroule dans un milieu fortement dilué. Au fur et à mesure que le rapport molaire en éthanol augmente le rendement de formation ne dépasse pas les 96%.

Par contre au point de vue de la désacidification, nous observons que pour un rapport molaire de 1:2 acide undécanoïque : éthanol, une grande partie de l'acide, n'ayant pas réagit, n'est pas totalement éliminer en présence de la résine ce qui n'est pas observé pour les autres rapports molaires dont le taux d'appauvrissement du milieu réactionnel final après passage au travers de la résine atteint plus de 98%.

De plus il est à noter l'apparition d'une coloration jaune clair du milieu réactionnel final même après passage de l'ester formé à travers la résine. Ce phénomène n'a pas été enregistré dans les autres cas et la bibliographie [215], nous conforte dans cette observation. Les objectifs étant de produire des esters éthyliques purs et incolores afin d'être utilisés comme solvants d'extraction, nous avons dû procéder à une étape supplémentaire de purification pour le traitement de ce milieu final: *la décoloration de l'ester*.

Cette opération de décoloration vise à éliminer les traces de couleur que la désacidification n'a que partiellement réalisé. Elle fait intervenir un phénomène physique d'adsorption soit sur des terres décolorantes, soit sur du charbon actif ou encore sur des silices spéciales.

Dans notre cas nous avons utilisé des terres naturelles de type bentonite qui présente un certain nombre d'avantages : origine naturelle, économique... (cf *paragraphe II.B4.1*). Le procédé consiste à faire passer l'ester formé à travers une colonne remplie de bentonite. L'ester éthylique récupéré est ainsi débarrassé de ces impuretés responsables de cette coloration jaune clair.

III.B3 METHODE D'ANALYSES DE LA PURETE DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS

Nous avons produit trois esters éthyliques d'acides gras à chaîne courte issus de l'huile de ricin. Nous nous proposons, par conséquent, d'appliquer les techniques de chromatographie en phase gazeuse (CPG-DIF), de Spectroscopie Infrarouge (IR), de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN ^1H et ^{13}C) pour caractériser les structures des différents esters synthétisés. Ainsi, la chromatographie en phase gazeuse CPG-DIF, s'avère être appropriée à la caractérisation des esters éthyliques d'acides gras et la spectroscopie RMN ^{13}C à la caractérisation des groupements acyles [209].

III.B3.1 Dosage des esters éthyliques par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG-DIF)

Nous avons mis au point une méthode chromatographique d'analyse nous permettant de doser les esters éthyliques d'acide gras obtenus en CPG par étalonnage externe.

Les standards employés correspondent aux esters éthyliques des acides gras du commerce de pureté connue (95% maximum). En pratique, nous avons réalisé une gamme étalon dans le solvant MTBE (Méthyle TertButyle Ether) de concentration comprise entre 100 et 1000 ppm en ester éthylique.

Les esters produits sont dilués dans le MTBE à une concentration approximativement égale à 450 ppm, considérant que la pureté est théoriquement rapportée à 100%. La droite de calibration permet de connaître la quantité d'ester réellement injectée et donc de déterminer la pureté exacte de l'échantillon produit. La *figure III.20* présente le pic obtenu en CPG-DIF pour l'heptanoate d'éthyle produit (temps de rétention de 10,43 min, concentration de 501 ppm).

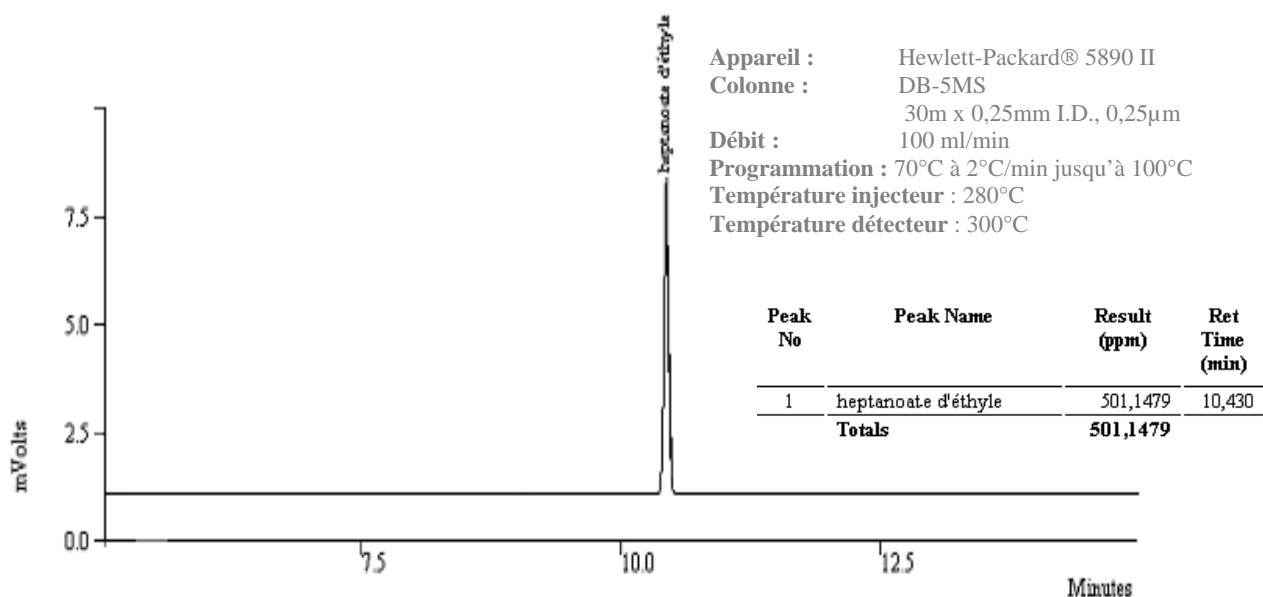


Figure III.20 Chromatogramme obtenu par CPG-DIF pour l' heptanoate d'éthyle.

Les chromatogrammes de chacun des esters éthyliques étudiés sont présentés en Annexe 3.

III.B3.2 Analyses par spectroscopie Infra Rouge (IR)

Lors de notre étude, nous avons utilisé un spectromètre à transformée de Fourier (FTIR) de type Spectrum Bx de Perkin Elmer (logiciel d'application : Spectra Manager) qui n'est pas dispersif dans le sens où il n'utilise pas de réseau ou de prisme pour décomposer le rayonnement en différentes longueurs d'onde.

Nous avons observé au contraire une bande très large et très intense entre 3300 et 2500 cm^{-1} , sur laquelle se superposent les bandes caractéristiques des liaisons C-H ($\nu_{\text{C-H}}$) des

groupements alkyles et aryles. La bande représentative de la fonction C-O (ν_{C-O}) du monomère est intense vers 1760 cm^{-1} , elle est entourée en rouge sur la *figure III.21*.

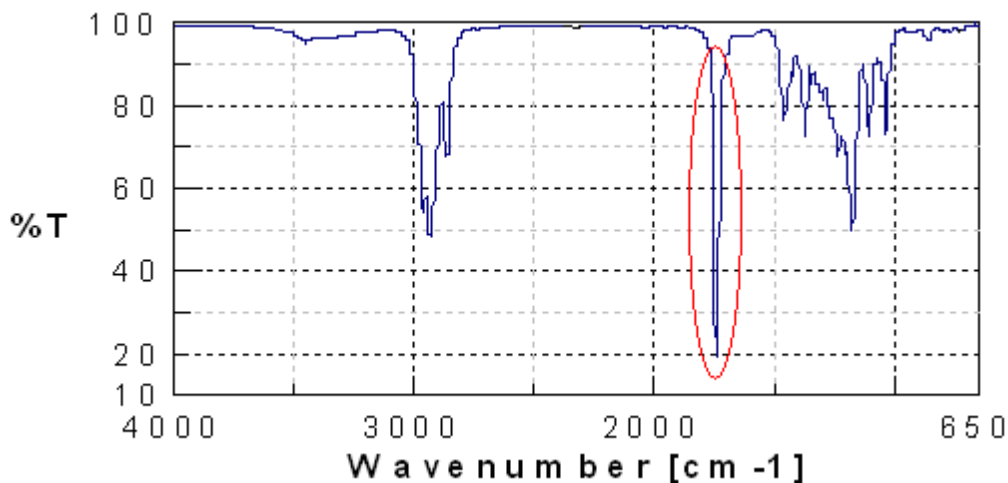


Figure III.21 Spectre infrarouge de l'heptanoate d'éthyle synthétisé.

Ces spectres infrarouges peuvent être divisés en cinq zones spectrales [209] qui apportent des informations sur les fonctions chimiques des esters d'acides gras :

- la zone $3040\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ est caractéristique des vibrations d'élongations C-H pour les chaînes saturés et insaturés,
- la zone $1800\text{-}1660\text{ cm}^{-1}$ correspond aux élongations C=O des esters et C=C des alcènes,
- la zone $1500\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$ est caractéristique des déformations C-H,
- la zone $1300\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ est caractéristique des élongations C-O,
- enfin, la zone $1200\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ comprend de nombreuses vibrations attribuables aux chaînes saturées et insaturées, en particulier une bande de 720 cm^{-1} caractéristique des longues chaînes carbonées aliphatiques.

Les spectres infrarouges obtenus pour le nonanoate d'éthyle et l'undecanoate d'éthyle sont présentés dans l'annexe 4.

III.B3.3 Analyses par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les analyses de résonance magnétique nucléaire ont été réalisées au Laboratoire de Chimie de Coordination (LCC-CNRS) de Toulouse sur un spectromètre Bruker AC 200 à 50 MHz pour la RMN ^{13}C et 200 MHz pour la RMN ^1H . Les déplacements chimiques δ sont exprimés en ppm, et sont donnés par rapport au tétraméthylsilane (TMS).

Le solvant utilisé est le CDCl_3 (99,8 %). Nous avons reporté les résultats obtenus en RMN ^1H et en RMN ^{13}C dans le *tableau III.22* et *tableau III.23*. Ces tableaux regroupent les déplacements chimiques et leurs caractéristiques (multiplicité et attribution) ainsi que les valeurs des couplages en MHz pour la RMN ^1H .

Assignation	Multiplicité	Heptanoate d'éthyle	Nonanoate d'éthyle	Undecanoate d'éthyle	Literature ⁽¹⁾
CH_3^{a}	Triplet	1,27	1,27	1,27	1,30
CH_2^{b}	Quadruplet	4,14	4,14	4,14	4,12
CH_2^{c}	Triplet	2,30	2,30	2,30	2,25
CH_2^{d}	Quintuplet	1,64	1,64	1,63	1,68
CH_2^{e}	Quintuplet	1,30	1,30	1,31	1,29
CH_2^{f}	Quintuplet	1,30	1,30	1,31	1,29
CH_2^{g}	Quintuplet	/	1,30	1,31	1,29
CH_2^{h}	Quintuplet	/	1,30	1,31	1,29
CH_2^{i}	Quintuplet	/	/	1,31	1,29
CH_2^{j}	Quintuplet	/	/	1,31	1,29
CH_2^{k}	Sextuplet	1,30	1,30	1,31	1,33
CH_3^{l}	Triplet	0,90	0,89	0,89	0,96

(1) Logiciel Chemdraw ultra version 2000

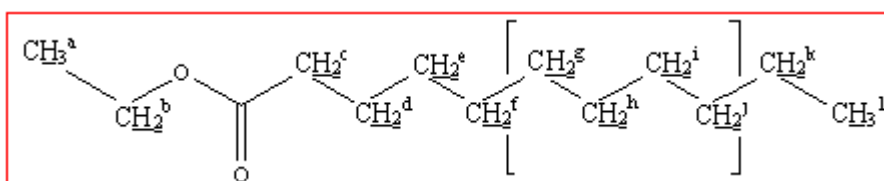


Tableau III.22 Déplacements chimiques (en ppm) des protons des esters éthyliques d'acides gras à chaîne courte et impaire en RMN ^1H (dans CDCl_3).

Le déplacement chimique du carbone de la fonction carbonyle (C^{c}) est observé pour les trois esters vers 173 ppm en RMN ^{13}C . Le carbone du groupe éthoxy des esters éthyliques d'acides gras est observé vers 60 ppm alors que le carbone C^{a} est blindé et se situe vers 14 ppm.

Assignation	Multiplicité	Heptanoate d'éthyle	Nonanoate d'éthyle	Undecanoate d'éthyle	Literature ⁽¹⁾
C ^a	Singulet	14,05	14,12	14,14	13,60
C ^b	Singulet	60,18	60,17	60,18	59,50
C ^c	Singulet	173,98	173,99	173,98	172,00
C ^d	Singulet	34,41	34,41	34,41	33,60
C ^e	Singulet	24,96	25,00	25,00	25,40
C ^f	Singulet	28,83	29,14	29,13	29,70
C ^g	Singulet	31,47	29,16	29,16	30,00
C ^h	Singulet	/	29,25	29,22	30,30
C ⁱ	Singulet	/	/	29,57	30,30
C ^j	Singulet	/	/	29,48	30,00
C ^k	Singulet	/	31,82	31,91	32,50
C ^l	Singulet	22,50	22,66	22,70	23,10
C ^m	Singulet	14,27	14,27	14,27	14,00

(1) Logiciel Chemdraw ultra version

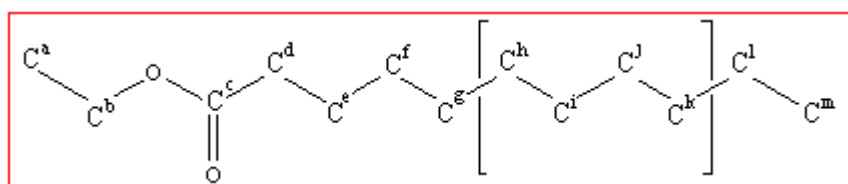


Tableau III.23 Déplacement chimiques (en ppm) des carbones éthyliques d'acides gras à chaîne courte et impaire en RMN ¹³C (dans CDCl₃).

J. BUS et col [216], ont déterminé les positions des carbones de la chaîne de l'acide undécylénique et F.D GUNSTONE [217] a déterminé les déplacements chimiques de certains carbones de l'acide oléique et des acides gras à chaînes courtes. La comparaison des données nous a permis d'attribuer les signaux des carbones de l'acide heptanoïque. Les protons des laissions éthyliques des esters des acides gras forment un multiplet non résolu dans le cas de l'undecanoate d'éthyle.

Les esters éthyliques d'acides gras obtenus à partir de l'huile de ricin ont été purifiés et caractérisés. Nous allons maintenant aborder l'étude de leurs applications dans le domaine de l'extraction des huiles essentielles en tant que co-solvants d'extraction.

III.C CO-HYDRODISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES EN PRESENCE DES ESTERS ETHYLIQUES

Parmi les différentes méthodes d'exploitation des plantes aromatiques, nous nous sommes intéressés à l'extraction en présence d'un co-solvant, appelée la **co-hydrodistillation**. Notre champ expérimental inclut trois matières premières, qui correspondent à différents types d'organes et divers stades de maturation de la matière végétale. Nous avons donc réalisé les extractions selon la *méthode de co-hydrodistillation* pour la fleur d'*Origan vulgaire*, la racine d'*Aunée* et la graine de *Carvi*.

III.C1 CO-HYDRODISTILLATION DE L'HUILE ESSENTIELLE D'ORIGAN VULGAIRE

Afin de confirmer la capacité de l'ester éthylique à être hydrodistillé, un essai préliminaire «à blanc», dans lequel nous avons introduit uniquement 10ml d'ester et de l'eau dans le montage utilisé pour l'hydrodistillation des huiles essentielles a été effectué. A la fin de l'extraction (au bout d'une durée environ 2h) l'ester éthylique a été récupéré avec moins de 0,05 % de pertes.

Ensuite, nous avons procédé à la co-hydrodistillation des sommités fleuries d'*Origan vulgaire* en présence d'heptanoate d'éthyle. Comme nous l'avons déjà décrit au *chapitre II.A2*, le procédé de co-hydrodistillation consiste à introduire dans un ballon de 5 litres la matière végétale, la quantité d'eau optimale pour l'hydrodistillation et la quantité connue d'ester éthylique. Les conditions opératoires vont dépendre également de la matière première utilisée (cf *tableau II.1*). Les vapeurs d'extraction, constituées par l'huile essentielle, l'ester éthylique et l'eau, sont condensées par l'action du réfrigérant. Puis par séparation les phases organiques et aqueuses, se séparent par décantation. Nous avons comparé l'efficacité de l'heptanoate d'éthyle pour l'extraction des composés de l'huile essentielle. Notons que les esters éthyliques d'acides gras sont rarement utilisés dans l'extraction des matières premières.

En effet, actuellement il n'existe pas de références dans la littérature concernant l'utilisation des esters éthyliques d'acide gras à chaîne courte et impaire au niveau du procédé d'extraction par co-hydrodistillation.

III.C1.1a Résultats qualitatifs et quantitatifs

La partie de la plante utilisée a subi trois extractions avec trois quantités d'heptanoate d'éthyle différentes, à savoir 5, 10 et 20 ml. Ces quantités ont été choisies afin d'étudier les effets des esters éthyliques d'acides gras sur l'efficacité de l'extraction par co-hydrodistillation. Les conditions opératoires utilisées pour la co-hydrodistillation de la plante d'*Origan vulgare* en présence des esters éthyliques d'acides gras sont données dans le *tableau II.24* (cf matériel et méthodes). Les résultats obtenus lors des extractions effectuées sur la fleur d'*Origan vulgare* en présence de l'heptanoate d'éthyle à différentes concentrations et à différentes périodes de récolte sont présentés dans le *tableau III.24*.

Lot	Humidité [%] ⁽¹⁾	Rendement hydrodistillation [%] ^{(2)*}	Quantité d'ester [ml]	Huile essentielle obtenue [g] ^{(3)*}	Rendement huile essentielle avec H. E. ⁽⁴⁾	Rendement par rapport au poids sec avec H.E [%] ⁽⁵⁾
2	58,0	1,12	5	2,19	1,09	2,59
			10	1,78	0,89	2,12
			20	1,03	0,51	1,21
3	53,1	0,64	5	1,85	0,92	1,96
			10	3,03	1,50	2,82
			20	2,43	1,21	2,57
4	71,84	0,45	5	0,95	0,47	1,67
			10	0,51	0,25	0,88
			20	0,45	0,22	0,80

(1) % d'humidité de la fleur, (2) % d'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, (3) % d'huile essentielle obtenue par co-hydrodistillation (4) Rendement en % d'huile essentielle obtenue à partir de 200 g de matière fraîche extraite (5) Rendement en g d'huile essentielle obtenue pour 100 g de matière sèche, H.E: Heptanoate d'éthyle. * moyenne de 3 extractions.

Tableau III.24 Résultats quantitatifs du procédé de co-hydrodistillation d'huile essentielle d'*Origan vulgare* en présence de l'heptanoate d'éthyle.

Nous pouvons observer qu'en présence de l'ester éthylique le rendement d'extraction obtenu pour le lot 3 est beaucoup plus élevé que pour les lots 2 et 4. Le meilleur rendement pour le lot 3 est obtenu pour une quantité en ester éthylique de 10 ml alors que pour les lots 2

et 4 le meilleur rendement est obtenu pour une quantité d'ester de 5 ml. De plus, nous pouvons noter que pour ces deux derniers lots plus la quantité d'ester augmente et plus le rendement diminue. Si l'on compare ces résultats de co-hydrodistillation avec ceux de l'hydrodistillation (cf tableau III.2) nous constatons que :

- pour le lot 2 : le rendement d'extraction de la co-hydrodistillation en présence de 5ml d'ester est similaire à celui obtenu par hydrodistillation simple (respectivement 1,09% et 1,12%),
- pour le lot 3 : en présence d'ester le rendement d'extraction est quasiment doublé (de à 0,64 on passe à 1,50% pour une quantité de 10 ml d'ester),
- pour le lot 4 : là encore le rendement d'extraction entre la co-hydrodistillation et l'hydrodistillation est quasi identique (respectivement 0,47% et 0,45%).

Nous pouvons donc remarquer que l'ajout d'ester dans l'extraction de l'huile essentielle est favorable uniquement pour le lot 3 correspondant à une récolte faite au mois d'octobre et qui possède le plus bas taux d'humidité (53,1%). Ceci pourrait nous indiquer des échanges solide-liquide moins importants dans le cas de la plante d'*Origan vulgare*. De plus, différents facteurs intervenant lors de la culture de la plante notamment les facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique....) jouent un rôle important dans le rendement d'extraction de l'huile essentielle ainsi que la présence de l'heptanoate d'éthyle selon la période de récolte. Les graphiques obtenus lors de l'étude cinétique que nous avons effectuée, sont présentés dans la *figure III.22* suivante:

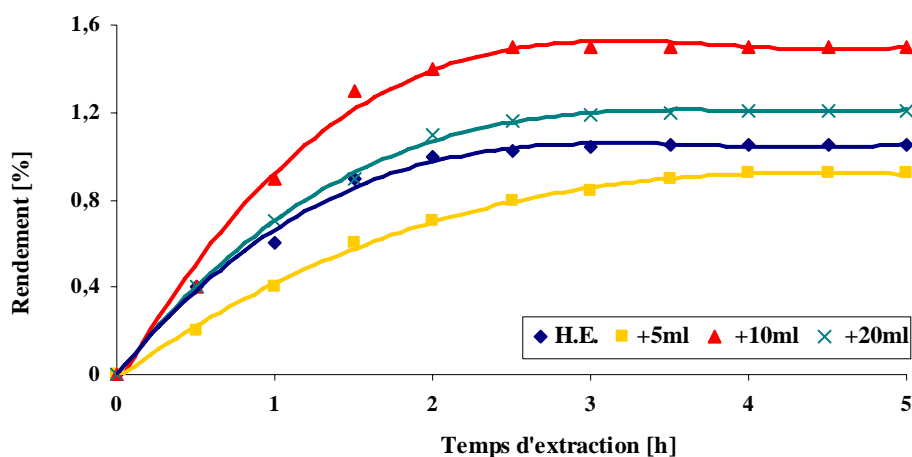


Figure III.22 Cinétiques d'extraction de la plante d'*Origan vulgare*. Comparaison des méthodes d'hydrodistillation (H.E.) et de co-hydrodistillation en présence de différentes concentrations d'heptanoate d'éthyle (lot 3).

Nous constatons également dans la *figure III.22* que la vitesse de distillation diffère d'une concentration à l'autre dans le lot 3, soit 0,64, 1,85, 3,03, 2,43 g/h par kg de plante pour l'extraction de l'huile essentielle (H.E.) puis en ajoutant respectivement 5ml, 10ml et 20ml d'heptanoate d'éthyle.

Ces essais montrent que la meilleure performance dans l'extraction est obtenue pour cinq heures d'extraction dans le cas de la co-hydrodistillation en présence de 10 ml d'ester puis vient ensuite la co-hydrodistillation en présence de 20 ml d'ester éthylique suivi par l'hydrodistillation simple. Nous pouvons alors constater que la présence de l'heptanoate d'éthyle en général accélère les cinétiques d'extraction. Cette accélération peut être occasionnée par la diffusion de l'ester à travers les cellules végétales et la solubilisation d'une partie de l'essence dans les glandes sécrétrices.

Il est possible que l'heptanoate d'éthyle joue un rôle significatif dans le transport des molécules odorantes sous-cutanées vers la surface de la matière végétale. En effet, durant la co-hydrodistillation, l'heptanoate d'éthyle pénètre dans les cellules végétales et solubilise une partie de l'essence des glandes sécrétrices. La solution aqueuse chargée des composés principalement terpéniques, diffuserait ensuite, vers la surface extérieure où l'huile essentielle serait vaporisée et entraînée avec l'ester.

La composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait obtenu par co-hydrodistillation peut nous aider à expliquer ce phénomène plus en détail.

Il faut savoir que dans l'hydrodistillation nous retrouvons un produit plus riche en hydrocarbures terpéniques. Cette différence de composition entre l'hydrodistillation et la co-hydrodistillation est abordée dans le paragraphe suivant.

III.C1.1b Composition relative du mélange obtenu

Les analyses de l'essence produite par co-hydrodistillation sont comparées à celles données par l'hydrodistillation. Les résultats sont reportés dans le *tableau III.25*. Ce tableau compile les données expérimentales (temps de rétention, indices de Kovats calculés, fragments de molécules obtenus par CPG/SM, les pourcentages des différentes molécules). L'étude est surtout axée sur les composés volatiles majoritaires, les molécules ayant des fragments de masse inférieure à 0,1% n'ont pas été reportées.

Composants ⁽¹⁾	Temps de retention ⁽²⁾	CPG-MS ⁽³⁾	Huile Essentielle ⁽⁴⁾	Co-hydrodistillat ⁽⁶⁾		
				5 ml ⁽⁵⁾	10 ml ⁽⁵⁾	20 ml ⁽⁵⁾
1. α -thujene	4,61	95%	nd	0,90	0,26	0,61
2. α -pinène	4,79	97%	0,21	0,41	0,16	0,44
3. camphène	5,16	98%	0,15	0,27	0,15	0,41
4. sabinène	5,65	96%	0,04	0,07	0,08	nd
5. β -pinène	5,79	94%	nd	0,20	0,16	0,17
6. myrcène	6,01	96%	0,04	0,85	0,43	0,44
7. éthyle hexanoate	6,22	98%	nd	0,27	0,25	0,57
8. terpinolène	6,76	97%	tr	0,09	nd	nd
9. α -terpinène	6,86	97%	0,22	0,47	0,22	nd
10. ρ -cymène	6,99	97%	5,25	5,39	3,96	3,98
11. cis-sabinène hydrate	7,03	96%	0,48	0,26	nd	nd
12. limonène	7,10	98%	nd	0,18	0,13	0,05
13. γ -terpinène	7,91	97%	2,22	1,60	0,82	0,34
14. trans sabinène hydrate	8,28	91%	nd	0,51	0,35	nd
15. heptanoate d'éthyle		98%	nd	59,81	62,47	75,33
16. L-linalool	9,14	91%	0,23	nd	nd	nd
17. Bornéol	11,49	97%	1,54	1,35	1,73	1,49
18. terpinen-4-ol	11,73	97%	0,70	1,06	0,84	1,17
19. α -terpinéol	12,20	95%	0,13	nd	nd	0,06
20. carvacrol méthyle éther	13,70	91%	nd	0,26	0,08	nd
21. linalyl acétate	13,90	90%	0,10	0,29	0,16	0,41
22. N.I.	14,38	97%	0,11	nd	0,15	nd
23. thymol	15,38	99%	0,90	0,19	0,83	0,33
24. carvacrol	16,01	94%	89,99	81,27	86,2	85,73
25. eugénol	17,44	95%	nd	0,07	0,08	nd
26. carvacryl acétate	17,69	91%	0,16	0,08	nd	nd
27. β -caryophyllène	19,36	99%	0,30	0,60	0,41	0,37
28. Δ -germanocrène	21,24	98%	nd	0,49	0,27	0,20
29. β -bisabolène	22,08	99%	0,84	1,44	1,12	1,37
30. Δ -cadinène	22,36	55%	0,06	nd	nd	nd
31. N.I.	24,10	95%	nd	0,24	0,24	0,11
32. caryophyllène oxyde	24,23	87%	0,27	0,13	0,14	0,15

(1) Composants majoritaires identifiés, (2) Exprimé en min, (3) Banque de données Wiley 275, (4) Résultats exprimés en %, (4) quantité d'heptanoate d'éthyle additionné (résultats exprimés en %), (5) huile essentielle + ester éthylique. N.I. : non identifié, n.d : non déterminé.

Tableau III.25 Composition relative de l'extrait obtenu par co-hydrodistillation de la fleur d'*Origan vulgare* en présence de l'heptanoate d'éthyle à différentes concentrations.

Entre 21 et 25 composés ont été identifiés représentant 95 à 99% de l'extrait pour chacun des trois essais effectués. En général, les principaux composants de l'huile essentielle et de l'extrait obtenu par co-hydrodistillation d'*Origan vulgare* sont le carvacrol, le γ -terpinène et le ρ -cymène.

Des différences quantitatives significatives ont été observées principalement entre l'extrait obtenu par ajout de 10ml d'heptanoate d'éthyle et l'huile essentielle (respectivement 26 composés pour 21). La molécule de **carvacrol**, composant majoritaire de l'huile d'*Origan vulgaire*, est présente dans tous les extraits en proportion quasi identique (89,99% dans l'huile essentielle et 86,2% dans l'extrait avec 10ml d'ester éthylique).

Les mêmes résultats ont été observés pour les précurseurs biosynthétiques (γ -terpinène et le p -cymène). Les valeurs obtenues en présence de l'heptanoate d'éthyle à différentes concentrations ont été inférieures à celles de l'huile essentielle. Par exemple, le précurseur γ -terpinène représente 2,22 % de la composition de l'huile alors que par ajout respectif de 5, 10 et 20 ml d'ester il ne représente plus que 1,60%, 0,82% et 0,34% de la composition chimique.

Au vu des résultats obtenus lors de la cinétique d'extraction par hydrodistillation et par co-hydrodistillation en présence d'ester et de ceux obtenus pour la composition relative de chacun des extraits, nous pouvons supposer qu'il existe un appauvrissement des eaux de cohobage pour la quantité de composés trouvés et identifiés en présence de l'ester. Ceci peut s'expliquer par la dégradation de composés aromatiques.

Au cours des expériences nous avons observé que les eaux de cohobage en présence de l'ester perdent leur faible coloration contrairement aux observations faites durant l'hydrodistillation. Ceci nous laisse supposer que la présence d'ester réduirait les pertes en composants dans l'eau de cohobage. Il aurait été intéressant de faire une étude plus approfondie de la composition de l'eau de cohobage afin de confirmer ces propriétés de l'ester. La dégradation des composés aromatiques peut s'expliquer en deux étapes. D'une part certains d'entre eux deviennent solubles dans l'ester sous l'effet de transformations chimiques en conditions de forte acidité et de haute température [218].

D'autre part, nous pouvons estimer que, par effet tensio-actif certaines molécules aromatiques comportant une chaîne hydrophobe et/ou hydrophile et un groupement polaire, entraînent par interactions hydrophobes l'émulsification d'hydrocarbures terpéniques. Hors les esters éthyliques avec lesquels nous travaillons possèdent une caractéristique double : ils sont à la fois hydrophile de part la fonction carbonyle et hydrophobe de part la queue hydrocarbonée.

Malheureusement du fait des mauvaises conditions climatiques au cours de l'année 2002, la quantité de matière végétale n'a pas été suffisante pour réaliser les extractions de la plante d'*Origan vulgaire* en présence des deux autres esters : le nonanoate d'éthyle et l'undecanoate d'éthyle.

III.C2 CO-HYDRODISTILLATION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE CARVI.

La suite de notre travail concerne la co-hydrodistillation de la plante de *Carvi* plus précisément sa graine en présence des esters éthyliques des acides gras que nous avons produit. Les conditions opératoires (cf *tableau II.7*) sont identiques à celles de l'hydrodistillation seule la quantité d'ester varie.

III.C2.1 En présence d'heptanoate d'éthyle à différentes concentrations

III.C2.1a Résultats qualitatifs et quantitatifs

Les résultats obtenus lors des extractions effectuées sur la graine de *Carvi* en présence de l'heptanoate d'éthyle à différentes concentrations et à différentes périodes de récolte sont présentés dans le *tableau III.26*.

Lot	Humidité [%] ⁽¹⁾	Rendement hydrodistillation [%] ^{(2)*}	Quantité d'ester [ml]	Huile essentielle obtenu [g] ^{(3)*}	Rendement huile essentielle avec H. E. ⁽⁴⁾	Rendement par rapport au poids sec avec H.E [%] ⁽⁵⁾
3	5,62	3,17	5	3,16	3,16	3,35
			10	3,58	3,58	4,12
			20	3,27	3,27	3,62
5	17,36	2,39	5	2,43	2,43	2,63
			10	2,51	2,51	2,65
			20	2,41	2,41	2,70

(1) % d'humidité de la graine, (2) % d'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, (3) % d'huile essentielle obtenue par co-hydrodistillation (4) Rendement en % d'huile essentielle obtenue à partir de 100 g de matière sec extraite (5) Rendement en g d'huile essentielle obtenue pour 100 g de matière sèche, H.E: Heptanoate d'éthyle. * moyenne de 3 extractions

Tableau III.26 Résultats quantitatifs du procédé de co-hydrodistillation des graines de Carvi en présence de l'heptanoate d'éthyle.

Deux lots ont été analysés : le lot 3 correspondant à la récolte du mois d'octobre et le lot 5 à la récolte du mois de janvier.

Nous pouvons observer qu'en présence de l'ester éthylique le rendement d'extraction obtenu pour le lot 5 est beaucoup plus élevé que pour le lot 3. Le meilleur rendement pour le lot 5 est obtenu pour une quantité en ester éthylique de 10 ml, il en est de même pour le lot 3.

Si l'on compare ces résultats de co-hydrodistillation avec ceux de l'hydrodistillation (cf *tableau III.2*) nous constatons que :

- pour le lot 3 : le rendement d'extraction de la co-hydrodistillation en présence de 5 ml d'ester est similaire à celui obtenu par hydrodistillation simple (respectivement 3,16% et 3,17%),
- pour le lot 5 : en présence de 10 ml d'ester le rendement d'extraction est quasiment identique pour les deux méthodes d'extraction (2,51% pour la co-hydrodistillation contre 2,39% pour l'hydrodistillation).

Donc nous pouvons constater qu'il n'y a pas d'augmentation de rendement d'extraction en présence d'ester contrairement à ce que nous avons pu observer dans le cas de la fleur d'*Origan vulgaire*. Ceci nous laisse à penser que la partie de la plante utilisée joue un rôle important pour la pénétration de l'ester au sein des cellules végétales. En effet, la graine présente une couche protectrice qui n'existe pas au niveau des fleurs empêchant ainsi une pénétration de l'ester.

III.C2.1b Composition relative du mélange obtenu

L'analyse de l'huile essentielle de *Carvi* a été conduite dans un premier temps de CPG-MS, afin d'analyser les chromatogrammes par corrélation des indices de Kovats sur les deux colonnes (OV-010 et DB5-MS) de la bibliographie et de l'injection de produit commerciaux.

Dans un deuxième temps, nous avons injecté l'huile essentielle et les extraits obtenus pour différentes concentrations en esters éthyliques une chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. La méthodologie ainsi que les caractéristiques des appareils ont été décrites dans le *chapitre II.A1.4*.

Les résultats sont rassemblés dans le *tableau III.27*. Comme précédemment l'étude est surtout axée sur les composés volatiles majoritaires, les molécules ayant des fragments de masse inférieure à 0,1% n'ont pas été reportées.

Nous constatons que les deux composés majoritaires de l'huile essentielle, le limonène et la carvone sont présents dans les extraits obtenus par co-hydrodistillation.

Par contre nous pouvons noter une diminution de leur quantité dans la composition chimique de l'huile du lot 5 au fur et à mesure que l'on augmente la quantité d'ester éthylique.

Cependant, si l'on compare l'huile essentielle et l'extrait de co-hydrodistillation pour lequel nous obtenons un meilleur rendement (10 ml d'ester ajoutés) nous obtenons proportionnellement plus de limonène (51,4% contre 45,52%) mais moins de carvone (42,23% contre 51,17%) pour la co-hydrodistillation. Ce phénomène d'inversement de proportions entre le limonène et la carvone au cours de l'extraction a été étudié plus amplement dans le prochain paragraphe.

Temps de rétention ⁽¹⁾	Indices de rétention ⁽²⁾	Molécule identifiée ⁽³⁾	Données spectrales ⁽⁴⁾	Huile essentielle	Co-hydrodistillat ⁽⁵⁾		
					+ 5ml ⁽⁵⁾	+ 10ml ⁽⁵⁾	+ 20ml ⁽⁵⁾
15.48	1030	Limonène	No.25371 99%	45,52	50,08	51,24	53,22
18.43		<i>Heptanoate d'éthyle</i>	No.43881 96%	N.I.	46,13	67,65	82,02
22.73	1188	Dihydrocarvéol	No. 40623 95%	0,70	0,62	0,54	0,52
24.29	1183	Cis-Dihydrocarvone	No.38203 96%	0,60	0,56	0,42	0,31
29.12	1228	Carvone	No.36061 96%	51,17	41,47	42,23	46,26

(1) Exprimé en min, (2) Indices de Kovats, (3), (4) Composants majoritaires identifiés, banque de données Wiley 275, (5) quantité d'heptanoate d'éthyle additionné (résultats exprimés en %), (5) huile essentielle + ester éthylique. N.I. : non identifié.

Tableau III.27 Composition chimique d'huile essentielle dans l'hydrodistillation et co-hydrodistillation de la graine de Carvi. (Lot 5)

A cause de la variabilité dans la proportion des molécules de carvone et de limonène au sein de l'huile essentielle, différents auteurs [219,220] ont suggérés que la qualité de l'huile essentielle était exprimée en fonction du rapport molaire de ces deux composés. A titre d'exemple les travaux de G. PUSCHMANN et col. [221], montrent une variation dans la concentration de carvone de 47 à 54% sur 16 échantillons différents analysés. La variation du rapport carvone /limonène dans notre étude réalisé est de 0,90 et 1,20.

III.C2.1c Influence de l'ester éthylique dans l'extraction des composants majoritaires

L'huile essentielle de *Carvi* comporte deux constituants principaux: la carvone et le limonène. La *figure III.23*, fait apparaître l'analyse des fractions horaires recueillies sur l'hydrodistillation de l'huile essentielle et sur l'extrait obtenu en présence de l'heptanoate d'éthyle dans le procédé de co-hydrodistillation.

Elle montre dans un premier temps : que la carvone distille avant le limonène en inadéquation avec leur volatilité. Leurs points d'ébullitions respectifs sont de 227,5°C et 175°C.

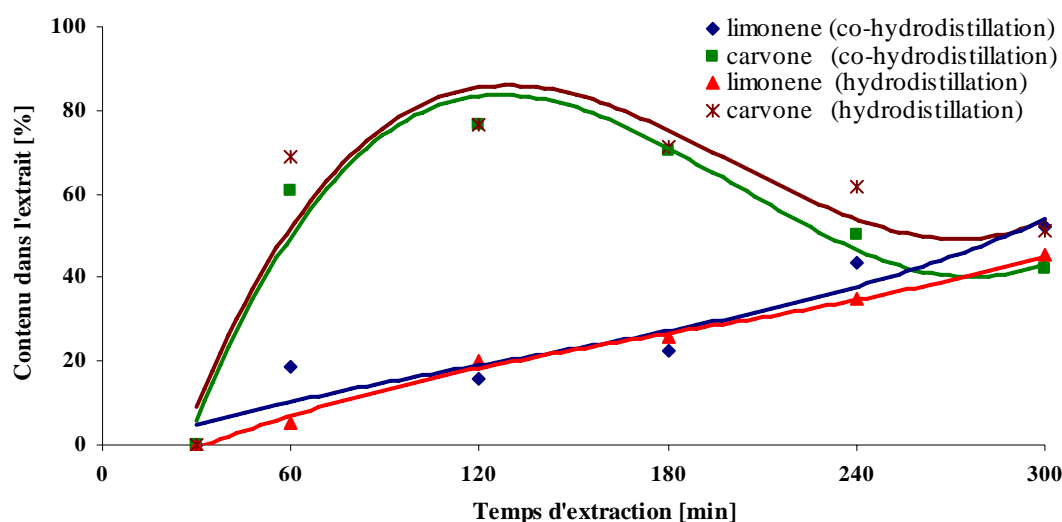


Figure III.23 Variation de la teneur relative des composés majoritaires au cours de l'hydrodistillation et de la co-hydrodistillation en présence de 10 ml d'ester pour la graine de Carvi du lot5.

Nous pouvons également remarquer, dans le cas de l'hydrodistillation, que la teneur en carvone, diminue au cours du temps (à 120 min. le pourcentage est de 77% et à 300 min. 52%) tandis qu'inversement la proportion du limonène augmente linéairement au cours de temps (de 5% à 60min. jusqu'à 45% à 300 min.). La composition chimique de l'huile essentielle change unidirectionnelle durant le processus d'hydrodistillation.

Les composés oxygénés, de température d'ébullition plus élevés, apparaissent les premiers dans le distillat, alors que la teneur en hydrocarbures terpéniques, de plus grande volatilité, augmente graduellement. Des observations similaires ont été faites par A. KOEDAM [222] au cours de l'hydrodistillation de l'huile essentielle de Carvi.

Cependant, nous pouvons observer qu'en présence de l'heptanoate d'éthyle la teneur des composants est inversée en fin de réaction. L'évolution de la molécule de carvone est croissante durant les deux premières heures d'extraction, puis sa quantité décroît le temps restant pour réaugmenter légèrement à la fin de l'extraction. Contrairement, la molécule de limonène ne cesse d'augmenter linéairement pendant toute l'extraction.

Il apparaît évident que l'heptanoate d'éthyle joue un rôle significatif dans le transport des molécules odorantes sous-cutanées vers la surface de la matière végétale. Nous pouvons expliquer ses observations par le fait que durant la distillation, l'eau bouillante pénètre dans les cellules végétales et solubilise une partie de l'essence des glandes sécrétrices.

La solution aqueuse chargée des composés terpéniques, diffuserait ensuite à travers une épaisseur de tissus, plus ou moins forte, selon l'organe, vers la surface extérieure où l'huile essentielle serait vaporisée et entraînée. Cela expliquerait le fait que la carvone dont la température d'ébullition de 227,5°C distille avant le limonène qui possède une température d'ébullition de 175°C et qui est plus polaire, elle diffusera donc en premier.

III.C2.2 En présence du nonanoate d'éthyle et de l'undecanoate d'éthyle

Les conditions opératoires restent les mêmes que pour les essais effectués en présence de l'heptanoate d'éthyle. Ici nous pouvons observer (*tableau III.28*) que le rendement d'extraction est beaucoup plus faible que lorsque l'heptanoate d'éthyle est ajouté. Il est également plus faible que pour l'hydrodistillation simple.

Quantité additionne [ml]	Nonanoate d'éthyle		Undecanoate d'éthyle	
	H.E. obtenue [g]	Rendement avec E. E	H.E. obtenue [g]	Rendement avec E. E
5	2,03	2,03	2,04	2,04
10	2,08	2,08	2,11	2,11
20	2,10	2,10	2,13	2,13

* moyenne de 3 extractions

Tableau III.28 Résultats quantitatifs du procédé de co-hydrodistillation des graines de Carvi en présence des esters d'acides gras à différentes concentrations.

Plusieurs théories peuvent être avancées concernant le fonctionnement des esters éthyliques à chaîne courte. En effet, ils réagissent différemment au sein de la matière végétale. Dans certains cas, comme l'heptanoate d'éthyle, il existe une pénétration à travers les cellules qui permet de solubiliser certains composés afin de les extraire. Notons que l'heptanoate d'éthyle possède une chaîne relativement courte (C7) qui peut jouer un rôle important dans la pénétration des membranes cellulaires, alors que dans le cas du nonanoate d'éthyle et de l'undecanoate d'éthyle qui possèdent des chaînes plus longues (respectivement C9 et C11), il existe une difficulté sensible à atteindre sa cible.

Par la suite une étude comparée de la composition chimique de *Carvi* lors de la co-hydrodistillation en présence des trois esters éthyliques : l'heptanoate d'éthyle, le nonanoate d'éthyle et l'undecanoate d'éthyle à des concentrations différentes, est montré dans le *tableau III.29*.

Différents constats peuvent être fait :

- le renversement de composition tel qu'il est observé pour l'heptanoate d'éthyle existe également pour la plus part des extractions réalisées en présence des autres esters,
- malgré cette inversion la quantité des composants majoritaires (carvone et limonène) diminue avec la présence des esters,
- dans tous les cas plus la quantité d'esters éthyliques ajoutés est importante et plus sa proportion dans la composition chimique de l'extrait est importante.

III.C3 CO-HYDRODISTILLATION DE L'HUILE ESSENTIELLE D'AUNEE.

Comme nous avons vu au *chapitre II* concernant l'hydrodistillation de la racine d'Aunée, il n'existait pas de différences dans la composition chimique de l'huile essentielle entre l'extrait obtenue à partir de la racine et celle de la racine broyée.

Nous avons donc choisi de réaliser les extractions sur la racine coupée. Par conséquent, la co-hydrodistillation a elle aussi été réalisé sur la racine coupée en présence des esters. Les conditions opératoires sont celles décrites dans le *tableau II.7 (cf matériel et méthodes)*.

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

Temps de Réention ⁽¹⁾	Molécule identifiée ⁽²⁾	Huile essentielle	Heptanoate d'éthyle ⁽³⁾			Nonanoate d'éthyle ⁽³⁾			Undecanoate d'éthyle ⁽³⁾		
			+5ml	+10ml	+20ml	+5ml	+10ml	+20ml	+5ml	+10ml	+20ml
15,48	Limonène	45,22	50,08	51,24	53,22	43,08	47,36	42,22	45,48	40,16	42,12
18,43	<i>Ethyle heptanoate</i>	nd	46,13	67,65	82,02	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	<i>Ethyle nonanoate</i>	nd	nd	nd	nd	48,13	69,65	83,02	nd	nd	nd
	<i>Ethyle undecanoate</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	47,13	71,65	84,02
22,73	Dihydrocarvéol	0,70	0,62	0,54	0,52	0,22	0,24	0,22	0,22	0,24	0,22
24,29	Cis-Dihydrocarvone	0,60	0,56	0,42	0,31	0,16	0,12	0,11	0,26	0,22	0,21
29,12	Carvone	51,17	41,47	42,23	41,26	40,47	41,26	36,26	40,22	42,16	36,46

(1) Exprimé en min, (2) Composants majoritaires identifiés, banque de données Wiley 275, (3) quantité d'heptanoate d'éthyle additionné (résultats exprimés en %). N.I. : non identifié.

Tableau III.29 Composition chimique de l'extrait de la graine de Carvi avec des esters éthyliques d'acides gras a chaîne courte à différentes concentrations

III.C3.1 En présence de l'heptanoate d'éthyle à différentes concentrations

Chacune des plantes a subi trois extractions avec trois quantités d'ester éthylique différentes (que nous avons produits) à savoir 5, 10 et 20 ml.

III.C3.1a Résultats qualitatifs et quantitatifs

Dans le *tableau III.30*, nous pouvons observer que la variation au niveau du rendement de co-hydrodistillation est significative pour les deux lots utilisés (3 et 5). Le rendement est voisin de 1% quelle que soit la période de récolte. Lors de l'extraction de l'huile essentielle d'Aunée, nous avons éprouvé une difficulté dans la récupération de l'extrait, dû au phénomène de solidification de celui-ci à température ambiante.

Lot	Humidité [%] ⁽¹⁾	Rendement hydrodistillation [%] ^{(2)*}	Quantité d'ester [ml]	Huile essentielle obtenu [g] ^{(3)*}	Rendement huile essentielle avec H. E. ⁽⁴⁾
3	8,2	0,91	5	4,43	1,10
			10	4,51	1,12
			20	4,31	1,07
5	16,2	1,00 1,15	5	5,44	1,36
			10	5,71	1,42
			20	5,15	1,28

(1) % d'humidité de la racine, (2) % d'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, (3) % d'huile essentielle obtenue par co-hydrodistillation (4) Rendement en % d'huile essentielle obtenue à partir de 400 g de matière fraîche extraite, H.E: Heptanoate d'éthyle. * moyenne de 3 extractions.

Tableau III.30 Résultats quantitatifs de la co-hydrodistillation de la racine d'Aunée en présence de l'heptanoate d'éthyle.

Cependant, dans le procédé de co-hydrodistillation, nous avons constaté que la présence de l'ester éthylique a facilité la récupération de l'extrait ainsi une réduction des pertes dues à une mauvaise décantation a été réduite. En théorie les pertes peuvent atteindre 25% et plus pour l'essence recueillie.

En effet, nous constatons que dans tous les cas les rendements d'extraction par hydrodistillation sont largement inférieurs à ceux obtenus par co-hydrodistillation. Ce phénomène peut être confirmé pour la composition chimique de l'extrait obtenu avec l'heptanoate d'éthyle (résultats montrés dans le *tableau III.31.*) en comparant avec l'extrait de l'hydrodistillation simple.

III.C3.1b Composition chimique du mélange obtenu

Les composés majoritaires contenus dans l'huile essentielle d'Aunée sont identiques pour la co-hydrodistillation et l'hydrodistillation (alantolactone et isolantolactone). Hors, nous constatons une augmentation importante de molécules extraites par co-hydrodistillation. Ces composants sont essentiellement des monoterpènes, des composés hydrocarbonés, des monoterpènes oxygénés et de sesquiterpènes. Environ 10% des composés volatils nouveaux correspondent à l' α -pinène, au camphène, au β -pinène, à l'hexanoate d'éthyle, au camphre, à l'éremophilène, au calarène, au trans-acorenone, à l' α -amorphene, à l' α -asarone, et à l' α -selinène.

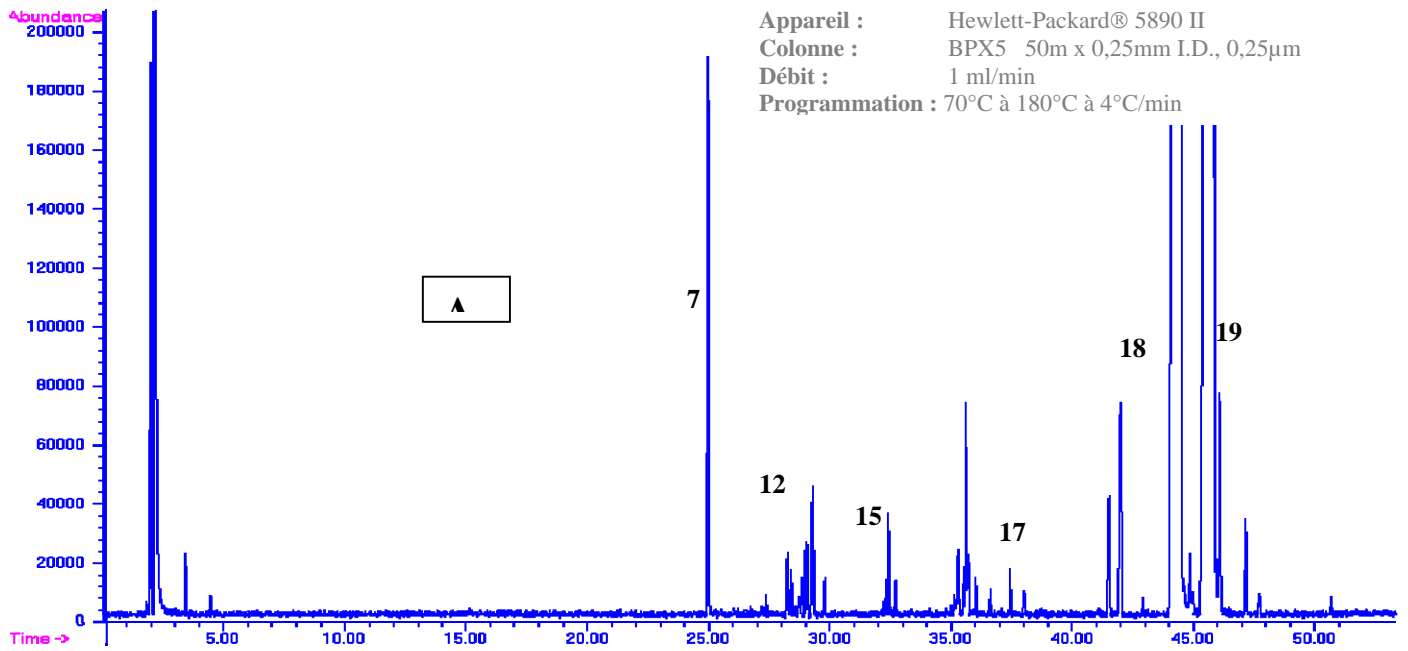
Ces résultats montrent que la co-hydrodistillation en présence d'heptanoate d'éthyle comme co-solvant produit des modifications dans la composition relative de l'huile essentielle. Cette augmentation en molécules extraites est nettement visible sur les chromatogrammes obtenus suite à l'analyse des extraits par chromatographie en phase gazeuse (*figure III.25*).

Composants ⁽¹⁾	Temps de retention ⁽²⁾	GC-MS ⁽³⁾	Hydrodistillation	Co-hydrodistilla ⁽⁵⁾		
			Huile essentielle	+5ml ⁽⁴⁾	+10ml ⁽⁴⁾	+20ml ⁽⁴⁾
1.- α -pinène	6,65	94%	---	---	0,20	---
2.- camphene	7,16	98%	---	0,92	0,30	0,93
3.- β -pinène	8,02	95%	---	---	0,23	---
4.- éthyle exanoate	8,57	91%	---	---	0,33	2,24
5.-heptanoate d'éthyle	12,74	98%	---	79,14	74,95	94,73
6.- camphre	14,58	97%	---	---	0,28	---
7.- β -elemene	24,89	86%	1,10	---	0,48	---
8.- aristolene	26,09	95%	---	1,18	0,65	0,86
9.- calarene	26,59	98%	Tr	3,06	1,62	2,61
10.- octyl heptanoate	28,8	80%	---	---	0,31	---
11.- eremophilene	28,92	99%	---	---	1,08	1,04
12.- α -selinene	29,26	94%	0,33	---	0,77	---
13.- α -calacorene	31,04	91%	---	---	0,16	---
14.- α -asarone	33,81	99%	---	---	1,2	---
15.- junipene	35,61	55%	0,40	---	0,47	---
16.- trans acorenone	36,59	95%	---	---	2,18	3,24
17.- 1,4-pentadien	41,50	64%	0,27	---	---	---
18.- alantolactone	44,29	92%	56,64	53,9	49,5	51,9
19.- isoalantolactone	45,75	98%	37,31	35,59	32,21	35,52
20.- α -amorphene	45,82	43%	1,88	1,14	1,83	1,65

(1) Composants majoritaires identifiés par CPG-SM, (2) Exprimé en min, (3) CPG-SM banque de données Wiley 275, (4) Résultats exprimés en %, (4) quantité d'heptanoate d'éthyle additionné (résultats exprimés en %), (5) huile essentielle + ester éthylique, n.d : non déterminé. Tr = traces.

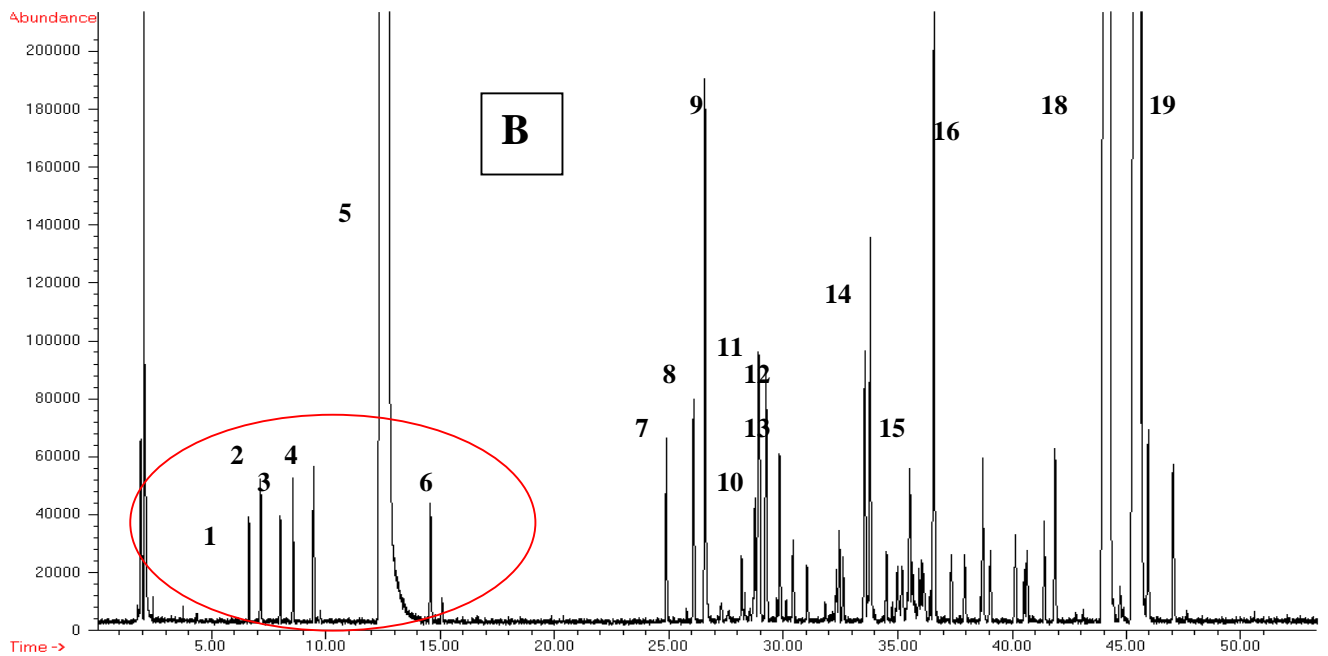
Tableau III.31 Composition relative de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et co-hydrodistillation de la racine de d'Aunée (lot 5).

Dans le cas d'aunée, le procédé de co-hydrodistillation est déjà caractérisé par une accélération de la cinétique d'extraction. A ce phénomène s'ajoute l'extraction de composés nouveaux (cercle rouge sur la *figure III.25*) qui feront l'objet d'analyses complémentaires. L'ester éthylique en co-hydrodistillation favorise donc l'obtention d'une huile essentielle de composition originale.



*les numéros de chaque pic correspondent aux composés possédant ce même numéro dans le tableau III.31.

Figure III.24 Chromatogramme obtenu pour l'huile essentielle de la racine d'Aunée, A: hydrodistillation.



*les numéros de chaque pic correspondent aux composés possédant ce même numéro dans le tableau III.31.

Figure III.25 Chromatogramme obtenu pour l'huile essentielle de la racine d'Aunée, **B: Co-hydrodistillation** (addition de 10ml d'éthyle heptanoate, Lot5).

III.C3.2 En présence de le nonanoate d'éthyle et l'undecanoate d'éthyle

Les résultats des extraits obtenus sont présentés dans le *tableau III.32*.

Quantité additionne [ml]	Nonanoate d'éthyle		Undecanoate d'ethyle	
	Extraite obtenue [g] ⁽³⁾	Rendement avec E. E ⁽⁴⁾	Extraite obtenue [g]	Rendement avec E. E
5	4,16	1,04	4,85	1,21
10	4,12	1,03	4,05	1,01
20	3,65	0,91	3,75	0,93

* moyenne de 3 extractions

Tableau III.32 Résultats quantitatifs du procédé de co-hydrodistillation de la racine d'Aunée en présence des esters éthyliques d'acides gras à différentes concentrations.

Les constats faits tout au long de l'étude des propriétés des esters éthyliques dans la co-hydrodistillation sont là encore confirmés. Il n'y a pas de changement dans l'utilisation du nonanoate d'éthyle et de l'undecanoate par rapport à l'heptanoate d'éthyle au niveau du rendement d'extraction et de la composition relative.

La comparaison de l'effet des trois esters sur le rendement d'extraction est illustrée à la *figure III.25*, où nous pouvons noter que l'hepatanoate d'éthyle est l'ester qui permet l'obtention d'un rendement plus important pour n'importe quelle quantité ajoutée (5, 10 ou 20 ml). Pour les deux autres esters plus la quantité ajoutée est importante et plus on a une diminution du rendement. De plus, nous observons que seul 5 ml d'undecanoate d'éthyle ajouté au milieu permet d'obtenir un rendement similaire à celui obtenu avec l'heptanoate d'éthyle.

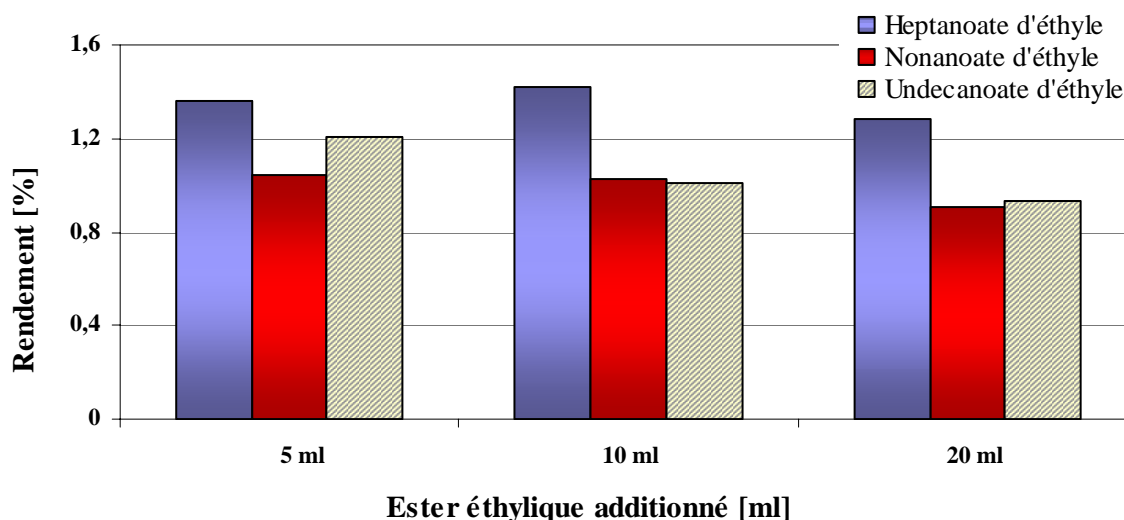


Figure III.25 Comparaison du rendement d'extraction obtenu pour les trois esters utilisés lors de la co-hydrodistillation de la racine d'Aunée.

Le *tableau III.35*, regroupe la composition chimique des extraits obtenus par co-hydrodistillation en présence des trois esters éthyliques utilisés.

III.C4 PROCÉDE DE CO-HYDRODISTILLATION A L'ECHELLE PILOTE

Nous avons abordé dans le *paragraphe II.A2* l'extraction des huiles essentielles à l'échelle pilote ainsi que les caractéristiques de l'unité d'extraction pilote de la Société TOURNAIRE que nous avons utilisé afin de produire des extraits en quantité suffisante.

De la même manière, pour la co-hydrodistillation à l'échelle pilote, nous avons utilisé l'unité d'extraction nommée ci-dessus. La seule différence dans la démarche de l'extraction concerne l'utilisation et l'incorporation des esters éthyliques d'acides gras produits au laboratoire. Ces esters sont introduits dans le milieu d'extraction constitué de la plante et de l'eau, comme dans la méthode de co-hydrodistillation réalisée à l'échelle laboratoire.

Dans le cas de la co-hydrodistillation, le mobile travaille toujours en mode débatissage, de cette manière la matière végétale est continuellement soulevée par la palle. Le réacteur est constitué d'une double paroi et d'un fond chauffant; l'énergie nécessaire au chauffage du milieu eau/matière végétale est apportée par la vapeur d'eau.

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

Composants ⁽¹⁾	Temps de rétention ⁽²⁾	Huile essentielle	Heptanoate d'éthyle			Nonanoate d'éthyle			Undecanoate d'éthyle		
			+5ml	+10ml	+20ml	+5ml	+10ml	+20ml	+5ml	+10ml	+20ml
α-pinène	6,65	nd	nd	0,20	nd	nd	0,12	nd	nd	nd	nd
camphene	7,16	nd	0,92	0,30	0,93	0,12	0,30	nd	nd	nd	nd
β-pinène	8,02	nd	nd	0,23	nd	nd	0,23	nd	nd	nd	nd
éthyle exanoate	8,57	nd	nd	0,33	2,24	nd	0,33	2,24	nd	nd	nd
éthyle heptanoate	12,74	---	79,14	74,95	94,73	---	---	---	---	---	---
éthyle nonanoate		---	---	---	---	72,21	81,55	94,73	---	---	---
éthyle undecanoate		---	---	---	---	---	---	---	77,40	80,51	94,03
camphor	14,58	nd	nd	0,28	nd	tr	0,12	nd	nd	nd	nd
β-elemene	24,89	1,1	nd	0,48	nd	tr	0,18	nd	0,23	0,68	0,34
aristolene	26,09	nd	1,18	0,65	0,86	1,03	0,57	0,16	0,18	0,45	0,62
calarene	26,59	tr	3,06	1,62	2,61	3,01	1,21	0,65	nd	nd	nd
octyle heptanoate	28,80	nd	nd	0,31	nd	nd	0,11	nd	nd	nd	nd
eremophilene	28,92	nd	nd	1,08	1,04	nd	1,08	1,04	nd	nd	nd
α-selinene	29,26	0,33	nd	0,77	nd	nd	0,59	nd	nd	0,37	nd
α-calacorene	31,04	nd	nd	0,16	nd	nd	0,41	nd	nd	nd	nd
α-asarone	33,81	nd	nd	1,20	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
junipene	35,61	0,4	nd	0,47	nd	nd	nd	nd	nd	0,47	nd
trans acorenone	36,59	nd	nd	2,18	3,24	nd	1,28	3,24	nd	nd	nd
1,4-pentadien	41,50	0,27	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
alantolactone	44,29	56,64	53,91	49,5	51,19	50,11	49,22	51,21	42,9	44,35	40,71
isoalantolactone	45,75	37,31	35,59	32,21	35,52	33,29	36,12	32,75	23,69	30,22	31,85
α-amorphe	45,82	1,88	1,14	1,83	1,65	1,14	1,83	1,65	1,14	1,83	1,65

1) Composants majoritaires identifiés par CPG-SM, 2) Temps de rétention (min), CPG-SM librairie Wiley 275, 3) Ester éthylique additionné dans la co-hydrodistillation, nd = non détecté,

Tableau III.34 Composition relative des extraits de la racine d'Aunée par des esters éthyliques à différentes concentrations.

III.C4.1 Co-hydrodistillation de la racine d'Aunée en présence des esters éthyliques a l'échelle pilote

Les conditions opératoires ont été fixées en considérant les essais préliminaires à l'échelle laboratoire. Elles sont données dans le chapitre matériel et méthodes.

En considérant le principe d'extraction utilisée à « petite » échelle, le passage à l'unité pilote a été fait dans le respect des proportions par rapport à la quantité de matière pour l'ajout de l'ester. Ainsi, la quantité d'ester ajoutée en laboratoire (5, 10 et 20 ml) vont correspondre à des proportions en unité pilote de 250, 500 et 750 ml.

III.C4.1a Résultats qualitatifs et quantitatifs

Comme nous l'avons signalé dans le cas de l'extraction de l'huile essentielle d'Aunée, se pose le problème de récupération de l'huile essentielle. Celui-ci a été résolu sur l'unité pilote grâce à la présence d'une vanne de contrôle de température du réfrigérant.

Elle nous a permis contrôler la température de refroidissement du distillat. Les résultats en unité pilote et ceux à l'échelle laboratoire sont comparés et regroupés dans le *tableau III.35*.

	Quantité d'ester ajouté [ml]	Huile essentielle obtenue [g]	Rendement [%]*
A l'échelle laboratoire	5	5,44	1,36
	10	5,71	1,42
	20	5,15	1,28
A l'échelle pilote	250	332,18	1,32
	500	378,11	1,51
	750	287,55	1,15

* moyenne de 3 extractions

Tableau III.35 Résultats quantitatifs en laboratoire et en unité pilote, du procédé de co-hydrodistillation de la racine d'Aunée en présence de l'heptanoate d'éthyle à différentes concentrations.

La première étude réalisée à ce niveau correspond à la présence d’heptanoate d’éthyle dans le milieu d’extraction. L’analyse des données montre les mêmes rendements d’extraction obtenus par les deux méthodes. Donc que ce soit à l’échelle laboratoire qu’à l’échelle pilote, l’effet de l’ester éthylique ne varie pas et permet d’améliorer la production d’extrait.

Ces résultats corrént les observations faites lors des travaux à échelle laboratoire en utilisant les esters éthyliques comme co-solvant d’extraction pour l’amélioration du process.

Ester éthylique ajouté [ml] ⁽¹⁾	Heptanoate d'éthyle *	Nonanoate d'éthyle*	Undecanoate d'éthyle*
250 ml	1,32	1,02	1,22
500 ml	1,51	1,16	1,21
750 ml	1,15	0,86	0,95

(1) 250 ml correspondent à 5 ml à l’échelle laboratoire, 500 à 10 ml et 750 à 20ml. * moyenne de 3 extractions

Tableau III.36 Comparaison des rendements d’extraction de la co-hydrodistillation en unité pilote et à l’échelle laboratoire de la racine d’Aunée en présence des esters éthyliques d’acides gras à différentes concentrations.

Les résultats obtenus sont identiques pour les deus autres esters employées.

Une analyse de la composition chimique des extraits (*tableau III.37*) a permis de mettre en évidence que les composés majoritaires étaient présents en quantité plus importante dans l’huile essentielle que dans les extraits de la co-hydrodistillation. Cependant, en présence des esters éthyliques la proportion de composés varie selon la quantité d’esters ajoutée. En effet, un nombre de composants plus important est obtenu pour un ajout de 500 ml qui correspond au 10 ml pour l’échelle laboratoire. Ceci confirme les résultats de l’étude réalisée au *paragraphe III.C3*.

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

Composants ⁽¹⁾	Temps de rétention ⁽²⁾	Huile essentielle	Co-hydrodistilla à l'échelle pilote									
			Heptanoate d'éthyle			Nonanoate d'éthyle			Undecanoate d'éthyle			
			250 ml	500 ml	750 ml	250 ml	500 ml	750 ml	250 ml	500 ml	750 ml	
α-pinène	6,65	---	nd	0,20	nd	nd	0,12	nd	nd	nd	nd	nd
camphene	7,16	---	0,92	0,30	0,93	0,12	0,30	nd	nd	nd	nd	nd
β-pinène	8,02	---	nd	0,23	nd	nd	0,23	nd	nd	nd	nd	nd
éthyle exanoate	8,57	---	nd	0,33	2,24	nd	0,33	2,24	nd	nd	nd	nd
éthyle heptanoate	12,74	---	79,14	74,95	94,73	---	---	---	---	---	---	---
éthyle nonanoate		---	---	---	---	72,21	81,55	94,73	---	---	---	---
éthyle undecanoate		---	---	---	---	---	---	---	77,40	80,51	94,03	---
camphor	14,58	nd	nd	0,28	nd	tr	0,12	nd	nd	nd	nd	nd
β-elemene	24,89	1,10	nd	0,48	nd	tr	0,18	nd	0,23	0,68	0,34	0,34
aristolene	26,09	nd	1,18	0,65	0,86	1,03	0,57	0,16	0,18	0,45	0,62	0,62
calarene	26,59	tr	3,06	1,62	2,61	3,01	1,21	0,65	nd	nd	nd	nd
octyl heptanoate	28,80	nd	nd	0,31	nd	nd	0,11	nd	nd	nd	nd	nd
eremophilene	28,92	nd	nd	1,08	1,04	nd	1,08	1,04	nd	nd	nd	nd
α-selinene	29,26	0,33	nd	0,77	nd	nd	0,59	nd	nd	0,37	nd	nd
α-calacorene	31,04	nd	nd	0,16	nd	nd	0,41	nd	nd	nd	nd	nd
α-asarone	33,81	nd	nd	1,20	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
junipene	35,61	0,40	nd	0,47	nd	nd	nd	nd	nd	0,47	nd	nd
trans acorenone	36,59	nd	nd	2,18	3,24	nd	1,28	3,24	nd	nd	nd	nd
1,4-pentadien	41,50	0,27	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
alantolactone	44,29	56,64	53,91	49,5	51,19	50,11	48,22	51,21	52,9	47,35	40,71	---
isoalantolactone	45,75	37,31	35,59	32,21	35,52	33,29	30,12	32,75	33,69	30,22	31,85	---
α-amorphe	45,82	1,88	1,14	1,83	1,65	1,14	1,83	1,65	1,14	1,83	1,65	---

1) Composants majoritaires identifiées par CPG-SM, 2) Temps de rétention (min), CPG-SM librairie Wiley 275, nd = non détecté.

Tableau III.37 Composition relative des extraits obtenus par co-hydrodistillation en présence des esters éthyliques.

III.C4.2 Co-hydrodistillation de la graine de *Carvi* en présence des esters éthyliques d'acides gras a l'échelle pilote

La suite de notre travail en unité pilote concerne la co-hydrodistillation de la graine de *Carvi* en présence des esters éthyliques des acides gras que nous avons produit. Les conditions opératoires sont décrites dans le chapitre matériel et méthodes, elles sont identiques à celles de l'hydrodistillation, seul la présence d'ester en quantité différente varie.

III.C4.2a En présence des esters éthyliques à différentes concentrations

Les résultats obtenus lors des extractions effectuées sur la graine de *Carvi* en présence des esters éthyliques d'acides gras à différentes concentrations sont présentés dans le *tableau III.38* ci-dessous.

Quantité ajouté [ml]	Rendements d'extraction		
	Heptanoate d'éthyle *	Nonanoate d'éthyle *	Undecanoate d'ethyle *
250	2,44	2,13	2,23
500	2,52	2,22	2,41
750	2,40	2,06	2,23

* moyenne de 3 extractions

Tableau III.38 Rendement d'extraction du procédé de co-hydrodistillation des graines de *Carvi* en présence des esters d'acides gras à différentes concentrations en unité pilote (lot 5).

Si l'on compare les résultats de co-hydrodistillation en présence de l'heptanoate d'éthyle à l'échelle pilote avec ceux de l'échelle laboratoire (cf *tableau III.30*) nous constatons que :

- le rendement d'extraction de la co-hydrodistillation a l'échelle laboratoire en présence de 10 ml d'ester est similaire à celui obtenu par l'échelle pilote (respectivement 2,51% et 2,52%),

- L'extraction en présence des autres esters éthyliques d'acides employés, à savoir le nonanoate d'éthyle, et l'undecanoate d'éthyle est plus efficace dans l'unité pilote qu'à l'échelle laboratoire, les rendements d'extractions sont clairement supérieurs (jusqu'à 2,41% pour 500ml d'undecanoate d'éthyle),
- En terme de rendements d'extraction l'heptanoate d'éthyle se montre comme le plus performante, en suite l'undecanoate d'éthyle et finalement le nonanoate d'éthyle.

Donc nous pouvons constater en générale une augmentation des rendements d'extraction en présence des esters éthyliques d'acides gras. Ceci nous laisse à penser que le procédé de co-hydrodistillation dans l'unité pilote joue un rôle important dans l'épuisement de la matière végétale, permettant ainsi la pénétration de l'ester au sein des cellules végétales.

La co-hydrodistillation à l'échelle pilote nous permet de proposer différentes théories concernant le fonctionnement des esters éthyliques à chaîne courte dans le processus.

Dans certains cas, comme l'heptanoate d'éthyle, il existe déjà une pénétration à travers les cellules qui permet de solubiliser certains composés afin de les extraire. Dans les autres cas, l'épuisement de la matière peut permettre aux esters une pénétration au même niveau. Cependant, nous n'avons pas observé de différences remarquables dans la composition relative de l'huile essentielle pour confirmer définitivement ces hypothèses.

Notons que l'heptanoate d'éthyle possède une chaîne relativement courte (C7) qui peut jouer un rôle important dans la pénétration des membranes cellulaires, alors que dans le cas du nonanoate d'éthyle et de l'undecanoate d'éthyle qui possèdent des chaînes plus longues (respectivement C9 et C11), il existe une difficulté sensible à atteindre sa cible [212].

Les résultats concernant la composition relative sont reportés dans le *tableau III.39*. Ce tableau compile les données expérimentales. L'étude est surtout axée sur les composés volatiles majoritaires, les molécules ayant des fragments de masse inférieure à 0,1% n'ont pas été reportées. Nous pouvons noter une diminution de la quantité des composants dans la composition relative de l'extrait au fur et à mesure que l'on augmente la quantité d'ester éthylique.

Cependant, l'extrait de co-hydrodistillation en présence de l'heptanoate d'éthyle pour lequel nous obtenons un meilleur rendement (500 ml d'ester ajoutés), est plus riche en limonène (51,24% contre 47,36%, 40,16%) mais plus pauvre en carvone (42,23% contre

40,16%, 40,19%) que pour les co-hydrodistillations en présence du nonanoate d'éthyle et de l'undecanoate d'éthyle respectivement. Ce phénomène d'inversement de proportions entre le limonène et la carvone au cours de l'extraction a été étudié précédemment dans la co-hydrodistillation à l'échelle laboratoire.

III.D EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE DES HUILES ESSENTIELLES EN PRESENCE DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS

Un autre procédé d'extraction que nous avons utilisé est l'extraction liquide-liquide. Dans cette méthode nous avons introduit l'ester éthylique dans la partie supérieure du vase florentin qui fait partie de la colonne de décantation (*Figure II.11*).

L'objectif de cette méthode est d'optimiser la récupération de composés volatils directement par extraction liquide-liquide. Les esters éthyliques d'acides gras précédemment produits sont utilisés dans cette méthode comme phase extractante. En effet, les propriétés physico-chimiques des esters leur confèrent différents avantages pour réaliser cette opération; notamment lors de la séparation des phases organique et aqueuses.

Nous avons cités que l'eau résiduelle peut être plus ou moins saturée en constituants polaires et peut également générer des pertes considérables dans la séparation des phases.

De ce fait, nous avons sélectionné cette méthode en considérant l'intérêt particulier des esters éthyliques comme *capteurs chimiques* afin de limiter les pertes en composés volatils. Pour ce qui concerne le mode opératoire (quantité de matière, quantité d'ester, temps, température...), il reste identique à celui utilisé pour la co-hydrodistillation. La seule différence entre ces deux méthodes réside dans le fait que l'ester n'est pas directement en contact avec la matière végétale et l'eau.

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

Temps de Rétention ⁽¹⁾	Molécule identifiée ⁽²⁾	Huile essentielle	Co-hydrodistillat								
			Heptanoate d'éthyle			Nonanoate d'éthyle			Undecanoate d'éthyle		
			250ml	500ml	750ml	250ml	500ml	750ml	250ml	500ml	750ml
15,48	Limonène	45,22	50,00	51,14	52,22	43,08	47,36	42,22	45,48	40,16	42,12
18,43	<i>Ethyle heptanoate</i>	nd	46,11	66,50	82,07	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	<i>Ethylé nonanoate</i>	nd	nd	nd	nd	47,16	69,52	80,02	nd	nd	nd
	<i>Ethyle undecanoate</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	47,13	70,65	82,02
22,73	Dihydrocarvéol	0,70	0,60	0,54	0,52	0,22	0,24	0,22	0,20	0,24	0,22
24,29	Cis-Dihydrocarvone	0,60	0,50	0,42	0,31	0,16	0,12	0,10	0,26	0,22	0,21
29,12	Carvone	51,17	41,45	4213	41,26	40,75	40,16	43,76	41,22	40,19	37,26

(1) exprimé en min, (2) banque de données Wiley 275, (3) quantité d'esters éthylique additionne dans le procédé de co-hydrodistillation)

Tableau III.39 Composition relative de l'extrait de la graine de Carvi avec des esters éthyliques d'acides gras a chaîne courte à différentes concentrations à l'échelle pilote.

**III.D1 EXTRACTION LIQUIDE LIQUIDE DE L’HUILE ESSENTIELLE
D’ORIGAN VULGAIRE.**

La première matière végétale étudiée avec cette méthode a été la plante d’*Origan vulgaire*. Les conditions opératoires d’extraction sont restées identiques a celles que nous avons utilisés lors de l’hydrodistillation et sont présentés dans le chapitre matériel et méthodes (cf *tableau II.7*).

III.D1.1 Résultats qualitatifs et quantitatifs

Le *tableau III.40* et la *figure III.26* ressemblent résultats obtenus lors de l’extraction liquide liquide de la plante d’Origan à différente période de récolte de la plante en présence de l’heptanoate d’éthyle. Nous constatons qu’entre le lot 4 (03/11/01) et le lot 2 (15/06/01) existe un écart important dans le rendement d’extraction. Cette différence a déjà été remarquée durant les extractions de l’huile essentielle. Il est alors évident qu’il existe une variation occasionnée par la période de récolte.

Lot	Humidité [%] ⁽¹⁾	Rendement hydrodistillation [%] ^{(2)*}	Quantité d’ester [ml]	Huile Essentielle [g] ^{(3)*}	Rendement [%] ^{(4)*}	Rendement par rapport au poids sec [%] ⁽⁵⁾
2	58,0	1,05	5	2,07	1,03	2,20
			10	2,34	1,17	2,78
			20	2,46	1,23	2,92
3	53,1	0,64	5	1,91	0,95	2,02
			10	2,08	1,04	2,21
			20	2,43	1,21	2,57
4	71,84	0,45	5	1,01	0,50	1,73
			10	0,66	0,33	1,14
			20	0,60	0,30	1,00

(1) % d’humidité de la fleur, (2) % d’huile essentielle obtenue par hydrodistillation, (3) g d’huile essentielle obtenue par extraction liquide liquide (4) Rendement en % d’huile essentielle obtenue à partir de 200 g de matière fraîche extraite, (5) Rendement en g d’huile essentielle obtenue pour 100 g de matière sèche, H.E: Heptanoate d’éthyle. * moyenne de 3 extractions.

Tableau III.40 Résultats quantitatifs d’extraction liquide liquide d’Origan vulgaire en présence d’heptanoate d’éthyle.

Le lot 2 et le lot 3 réagissent de la même façon face à la présence de l'ester éthylique. En effet, plus la quantité d'ester augmente et plus les rendements d'extraction augmentent. Alors que l'effet contraire est observé pour le lot 4.

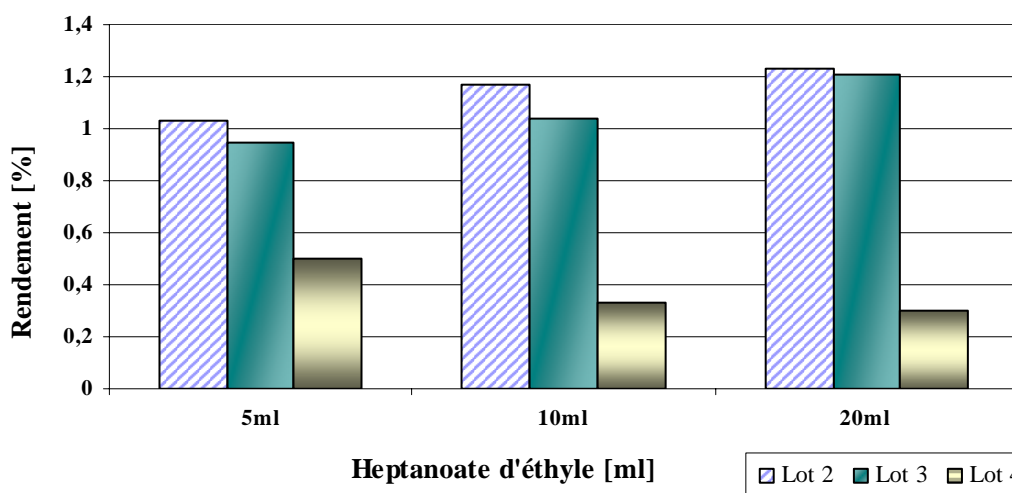


Figure III.26 Influence de l'heptanoate d'éthyle sur l'extraction de l'huile essentielle d'*Origan vulgare*.

Ceci peut s'expliquer par la quantité d'eau contenu dans la matière végétale au départ (plus de 70 % pour le lot 4 alors que les deux autres lots sont autour de 55%) et la période de récolte. Par ailleurs, la présence de l'ester montre un certain avantage dans le rendement d'extraction par rapport à l'hydrodistillation.

III.D2 EXTRACTION LIQUIDE LIQUIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE CARVI

L'extraction liquide-liquide est limitée principalement par les conditions d'extraction de l'huile essentielle.

III.D2.1 Résultats quantitatifs et qualitatifs

Les résultats quantitatifs obtenus par extraction liquide liquide de l'huile essentielle de la graine de *Carvi* en présence de l'heptanoate d'éthyle à différentes concentrations, sont présentés dans le *tableau III.41*. Lors de l'hydrodistillation de l'huile essentielle, nous avons observé différents phénomènes que nous avons déjà abordé précédemment (légère coloration de la phase aqueuse, inversement de la composition chimique de l'huile durant l'hydrodistillation au niveau des composés majoritaires, etc.).

Lot	Humidité [%] ⁽¹⁾	Rendement hydrodistillation [%] ^{(2)*}	Quantité d'ester [ml]	Huile essentielle obtenue [g] ^{(3)*}	Rendement huile essentielle avec H. E. ⁽⁴⁾	Rendement par rapport au poids sec avec H.E [%] ⁽⁵⁾
3	5,62	3,17	5	3,05	3,05	3,35
			10	3,35	3,35	3,61
			20	3,15	3,15	3,45
5	17,36	2,39	5	2,38	2,38	2,44
			10	2,45	2,45	2,71
			20	2,39	2,39	2,47

(1) % d'humidité de la graine, (2) % d'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, (3) % d'huile essentielle obtenue par extraction liquide liquide (4) Rendement en % d'huile essentielle obtenue à partir de 100 g de matière sec extraite (5) Rendement en g d'huile essentielle obtenue pour 100 g de matière sèche, H.E: Heptanoate d'éthyle. * moyenne de 3 extractions

Tableau III.41 Résultats quantitatifs du procédé d'extraction liquide liquide des graines de Carvi en présence de l'heptanoate d'éthyle.

Avec l'utilisation des esters éthyliques certains de ces phénomènes disparaissent, notamment la légère coloration de l'eau de cohobage, nous pouvons le constater en observant une légère augmentation dans les rendements d'extraction avec la méthode d'extraction liquide liquide. Celle-ci nous permet de confirmer l'effet de « capteur chimique » de l'ester. Le *tableau III.41* et la *figure III.27* présentent les augmentations relatives des rendements d'extraction des deux lots de matière végétale utilisés (lot3 et lot5). Nos pouvons observer que le lot 3 (été) continu d'être le plus performant par rapport au lot 5 (hiver).

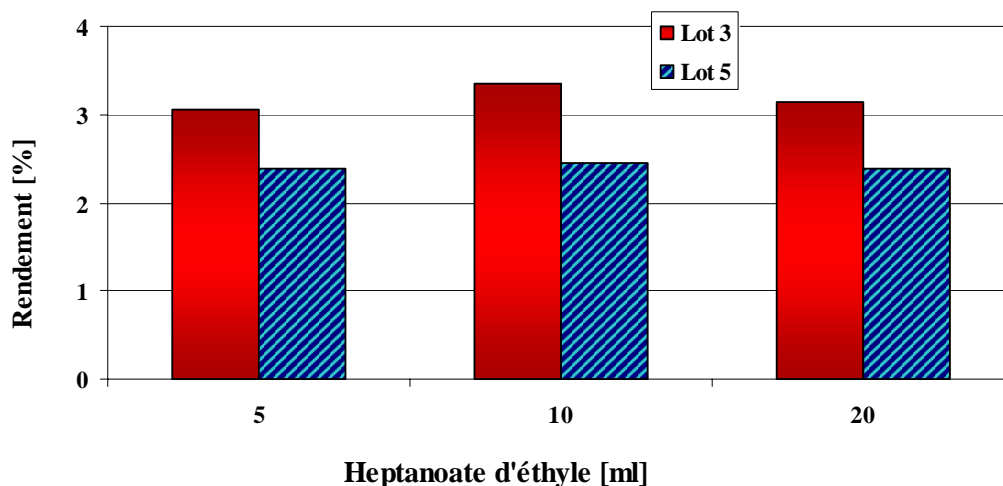


Figure III.27 Influence l'heptanoate d'éthyle sur l'extraction de l'huile essentielle de Carvi.

La récupération (affinité de certains composants vers la phase organique) de l'ensemble des constituants de l'huile essentielle n'a pas montré les mêmes résultats.

Cependant, les augmentations dans le pourcentage d'extraction des composants majoritaires sont dans tous les cas très proches de ceux obtenus par hydrodistillation. Nous constatons aussi qu'il existe une quantité plus importante de carvone dans la composition relative de l'extrait. Nous pouvons supposer qu'il existe une affinité de cette molécule envers l'heptanoate d'éthyle, car par rapport aux observations effectuées dans l'autre procédé (co-hydrodistillation), la composition relative de l'extrait paraît modifiée (renversement du pourcentage relatif de limonène et de carvone) pour augmentation de la molécule de carvone.

Contrairement aux propriétés de l'ester éthyliques observées lors du procédé de co-hydrodistillation (une possible pénétration à travers les cellules végétales et une solubilisation des sites actifs dans la plante) dues au contact de l'ester avec la matière végétale, dans l'extraction liquide liquide, ce contact n'existe pas, donc la composition relative de l'extrait peut être moins complexe que pour la co-hydrodistillation.

Temps de rétention ⁽¹⁾	Indices de rétention ⁽²⁾	Molécule identifiée ⁽³⁾	Données spectrales ⁽⁴⁾	Huile essentielle	Extraction liquide liquide ⁽⁵⁾		
					+ 5ml	+ 10ml	+ 20ml
15.48	1030	Limonène	No.25371 99%	45,52	45,52	45,53	45,56
18.43		Heptanoate d'éthyle	No.43881 96%	nd	46,13	67,65	82,02
22.73	1188	Dihydrocarvéol	No. 40623 95%	0,70	0,71	0,73	0,73
24.29	1183	Cis-Dihydrocarvone	No.38203 96%	0,60	0,60	0,62	0,63
29.12	1228	Carvone	No.36061 96%	51,17	52,32	52,36	52,38

(1) exprimé en min, (2) Indices de Kovats (3), (4), banque de données Wiley 275, (5) quantité d' heptanoate d'éthyle additionne dans le procédé d'extraction liquide liquide.

Tableau III.42 Composition relative de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et extraction liquide liquide de la graine de Carvi (lot 5).

Pour la suite de notre étude, nous avons réalisé des extractions en présence des autres esters. Par contre, face au problème d'approvisionnement, nous avons réalisé les extractions uniquement avec la graine du lot 5. Les extractions ont été réalisées en utilisant les mêmes conditions d'extraction précédemment décrites (cf tableau II.7). Les résultats obtenus lors des extractions en présence du nonanoate d'éthyle et de l'undecanoate d'éthyle sont présentés dans le *tableau III.43*.

Quantité ajouté [ml]	Rendements d'extraction*		
	Heptanoate d'éthyle	Nonanoate d'éthyle	Undecanoate d'éthyle
5	2,38	2,29	2,30
10	2,45	2,32	2,41
20	2,39	2,26	2,33

* moyenne de 3 extractions

Tableau III.43 Rendements d'extraction liquide-liquide des graines de Carvi en présence des esters d'acides gras à différentes concentrations (lot5).

Nous pouvons observer que les rendements d'extraction obtenus lors de l'extraction liquide liquide en présence des autres esters éthyliques sont inférieurs à ceux que nous avons obtenus en présence de l'heptanoate d'éthyle. Cependant, si l'on compare les rendements d'extraction liquide-liquide avec les valeurs obtenue lors de l'extraction par hydrodistillation, nous constatons qu'ils augmentent avec la présence des esters. Par contre, lorsqu'on compare les deux méthodes d'extraction utilisées (co-hydrodistillation et extraction liquide-liquide) nous constatons que les rendements d'extraction avec la méthode de co-hydrodistillation sont plus élevés. Donc, nous pouvons conclure que dans le cas de la extraction du graine de Carvi, la méthode la plus performante en rendements d'extraction a été la co-hydrodistillation, ensuite la extraction liquide liquide et finalement l'hydrodistillation (a noter que les rendement de ces derniers sont très proches).

III.D3 EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'AUNEE.

Comme nous avons abordé au *chapitre II* l'hydrodistillation concernant la racine d'Aunée, sont réalisées sur la racine broyée. Les conditions opératoires sont décrites dans le chapitre II. Matériel et méthodes.

III.D3.1 En présence des esters éthyliques à différentes concentrations

Comme pour la graine de Carvi, la manque de matière végétale. Nous avons contraint de limiter l'étude au lot 5.

III.D3.1a Résultats qualitatifs et quantitatifs

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Lot	Humidité [%] ⁽¹⁾	Rendement hydrodistillation [%] ^{(2)*}	Quantité d'ester [ml]	Huile essentielle obtenu [g] ^{(3)*}	Rendement huile essentielle avec H. E. ⁽⁴⁾
5	16,2	1,00	5	4,34	1,08
		1,15	10	4,75	1,18
			20	5,10	1,27

(1) % d'humidité de la racine, (2) % d'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, (3) g d'huile essentielle obtenue par extraction liquide-liquide (4) Rendement en % d'huile essentielle obtenue à partir de 400 g de matière fraîche extraite, H.E: Heptanoate d'éthyle. * moyenne de 3 extractions.

Tableau III.44 Résultats quantitatifs de l'extraction liquide-liquide de la racine d'Aunée en présence d'heptanoate d'éthyle.

Lors de l'extraction de l'huile essentielle d'Aunée, nous avons mentionné la difficulté de récupération de l'extrait, que se solidifie à température ambiante. Cependant, dans le procédé d'extraction liquide-liquide nous avons constaté que en présence de l'ester éthylique la récupération est plus aisée et nous constatons une réduction des pertes dues à une meilleure décantation. La légère coloration de la phase aqueuse a aussi été éliminée. Dans le *tableau III.44*, nous constatons que dans tous les cas les rendements d'extraction obtenus par extraction liquide-liquide sont plus abondants que ceux obtenus par hydrodistillation. Cependant, ils sont inférieurs à ceux obtenus par co-hydrodistillation.

Ce phénomène est confirmé par la composition relative que de l'extrait obtenu en présence d'heptanoate d'éthyle (*tableau III.45.*) par comparaison avec l'extrait de l'hydrodistillation simple. Les composés majoritaires de l'extrait d'Aunée sont identiques pour l'extraction liquide-liquide et l'hydrodistillation (l'alantolactone et l'isolantolactone). Le pourcentage de ces composants dans l'extrait est très similaire entre les deux méthodes. Hors, nous constatons une légère augmentation des molécules extraites par extraction liquide-liquide. Ces composants sont essentiellement le camphène, l'hexanoate d'éthyle, aristolene, et le calarène. Les résultats du *tableau III.44* confirment que l'extraction liquide-liquide en présence d'heptanoate d'éthyle comme co-solvant réduit les pertes occasionnées par une mauvaise décantation de l'extrait.

Des modifications dans la composition relative de l'huile essentielle nous laissons supposer que la nature de ces composants dans l'extrait génère une affinité envers les esters éthyliques, traduisant une certaine compatibilité physico-chimique entre les huiles essentielles et les esters d'acides gras considérés.

Composants ⁽¹⁾	Temps de rétention ⁽²⁾	CPG-SM ⁽³⁾	Hydrodistillation	Extraction liquide liquide ⁽⁴⁾		
			Huile essentielle	+5ml	+10ml	+20ml
camphene	7,16	98%	---	0,42	0,44	0,93
éthyle exanoate	8,57	91%	---	---		2,24
Heptanoate d'éthyle	12,74	98%	---	79,22	74,50	94,73
β-elemene	24,89	86%	1,1	---	1,01	---
aristolene	26,09	95%	---	0,14	0,25	0,86
calarene	26,59	98%	tr	1,06	1,02	2,61
eremophilene	28,92	99%	---	---	---	1,04
α-selinene	29,26	94%	0,33	0,12	0,42	---
junipene	35,61	55%	0,40	0,51	0,39	---
trans acorenone	36,59	95%	---	---	---	3,24
1,4-pentadien	41,50	64%	0,27	0,20	0,22	0,22
alantolactone	44,29	92%	56,64	56,60	56,61	50,60
isoalantolactone	45,75	98%	37,31	37,29	32,30	35,30
α-amorphene	45,82	43%	1,88	1,84	1,83	1,85

1) Composants majoritaires identifiés par CPG-SM, 2) Temps de rétention (min), 3) CPG-SM librairie Wiley 275, 4) Heptanoate d'éthyle additionné dans l'extraction liquide liquide, **nr** = non détecté, **E.E.** = Heptanoate d'éthyle.

Tableau III.45 Composition relative de l'huile essentielle hydrodistillée et de l'extrait liquide-liquide des condensas de distillation d'Aunée. (lot 5)

III.D4 EXTRACTION LIQUIDE LIQUIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'AUNÉE **A L'ECHELLE PILOTE**

La seule plante étudiée en unité pilote pour l'extraction liquide-liquide concerne la racine d'Aunée. Les conditions opératoires utilisées sont inchangées et sont présentes dans le chapitre matériel et méthodes.

III.D4.1 Résultats qualitatifs et quantitatifs

L'unique étude réalisée à ce niveau correspond à la présence d'heptanoate d'éthyle introduit au niveau de l'essencier. L'analyse comparative des données (laboratoire et pilote) montre une similitude dans les rendements d'extraction.

	Quantité d'ester ajouté [ml]*	Huile essentielle obtenue [g]*	Rendement [%]*
A l'échelle laboratoire	5	4,34	1,08
	10	4,75	1,18
	20	5,10	1,27
A l'échelle pilote	250	322,15	1,28
	500	332,18	1,32
	750	344,76	1,37

* moyenne de 3 extractions.

Tableau III.46 Résultats quantitatifs et comparatifs en unité pilote et à l'échelle laboratoire, du procédé d'extraction liquide-liquide d'Aunée en présence de l'heptanoate d'éthyle à différentes concentrations.

A l'échelle laboratoire comme en unité pilote, l'effet de l'ester éthylique permet une légère amélioration de la production d'extrait en mode liquide-liquide. Les rendements sont beaucoup plus faibles que pour la co-hydrodistillation mais plus important que dans le cas de l'hydrodistillation seule. Ces résultats sont confirmés aux résultats obtenus à échelle laboratoire quant au comportement des esters éthyliques comme co-solvant d'extraction pour l'amélioration du procédé.

III.E PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DU MELANGE HUILE ESSENTIELLE/ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS OBTENU

Un des objectifs principaux des travaux menés dans le cadre de cette thèse est l'application du mélange « solvant/actif » constitué par des huiles essentielles avec des propriétés biologiques en présence des esters éthyliques des acides gras issus de huile de ricin. Nous proposons dans cette dernière partie, une étude des propriétés physico-chimiques des extraits obtenus par les procédés d'hydrodistillation, de co-hydrodistillation et

d'extraction liquide-liquide tout en rappelant qu'une des hypothèses de notre étude sur les esters éthyliques des acides gras à chaîne courte et impaire.

Nous serons alors dans la capacité d'envisager différentes applications pour ces produits qui bénéficient de propriétés biologiques, notamment dans le domaine phytosanitaire. La discussion sur les propriétés physico-chimiques se focalisera sur les esters éthyliques que nous avons synthétisé: l'heptanoate d'éthyle, le nonanoate d'éthyle et l'undecanoate d'éthyle.

III.E1 LA VISCOSITE

La viscosité est la caractéristique essentielle d'un fluide. Elle définit la résistance d'un fluide à l'écoulement et détermine l'épaisseur du film d'huile en régime hydrodynamique.

En pratique, la viscosité dynamique est calculée à partir du temps d'écoulement du liquide. Nous avons mesuré la tension superficielle de nos extraits à 25°C.

L'étude de la viscosité dynamique, (des huiles essentielles, des esters éthyliques d'acides gras et du mélange huile essentielle/esters éthyliques) en fonction de la température a montré que la viscosité dynamique diminue quand la température augmente (*figure III.28*).

Les esters éthyliques d'acides gras à chaîne courte montrent un comportement Newtonien comme l'eau et la plupart des solvants organiques. Les liquides Newtoniens, comme nous l'avons précisé précédemment, sont des fluides pour lesquels la viscosité dynamique est indépendante du gradient de vitesse et de la déformation imposée. Autrement dit, la loi de Newton exprime la relation linéaire entre la contrainte tangentielle et le gradient de vitesse par l'intermédiaire d'un coefficient de proportionnalité appelé viscosité.

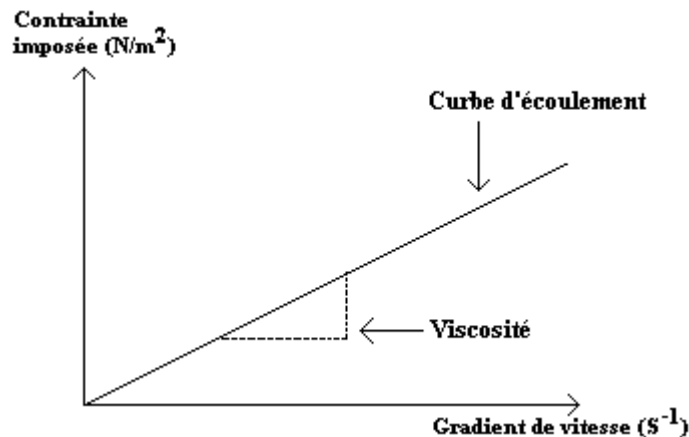


Figure III.28 Relation entre la contrainte imposée et le gradient de vitesse pour un liquide.

En conclusions, le comportement d'écoulement des esters éthyliques des acides gras à chaîne courte suit la loi de Newton. Sa viscosité à température et pression constantes est constante (à un gradient de vitesse donné). Les valeurs de la viscosité des huiles essentielles, les esters éthyliques et les extraits obtenus pour la racine d'Aunée sont présentées dans les *tableaux III.47 et III.48*.

	Viscosité à 25°C * (cp)
Huile essentielle d'Aunée	Solide
Heptanoate d'éthyle (C7)	2,08
Nonanoate d'éthyle (C9)	3,32
Undecanoate d'éthyle (C11)	5,09

* valeur moyenne de la mesure.

Tableau III.47 Viscosité de l'huile essentielle d'Aunée et des esters éthyliques d'acides gras.

	Co-hydrodistillat*			Extraction liquide- liquide*		
	+ 5 ml	+ 10 ml	+ 20 ml	+ 5 ml	+ 10 ml	+ 20 ml
<i>Heptanoate d'éthyle</i>	2,27	2,21	2,15	2,25	2,15	2,10
<i>Nonanoate d'éthyle</i>	3,41	3,38	3,33	3,40	3,38	3,30
<i>Undecanoate d'éthyle</i>	5,22	5,20	5,14	5,22	5,17	5,12

* valeur moyenne de la mesure

Tableau III.48 Viscosité des mélanges obtenus par les différentes méthodes d'extraction utilisées pour la racine d'Aunée.

Le cas le plus remarquable de l'influence de l'ester éthylique d'acides gras dans la viscosité du produit d'extraction est la plante d'Aunée. En effet, nous avons constaté que l'huile essentielle se solidifiait à 25°C. Cependant la présence des esters éthyliques d'acides gras nous a permis d'obtenir un produit complètement liquide avec des valeurs de viscosité très proches de celles des esters utilisés. L'aspect des différents produits sont présentés à la *figure III.29*.

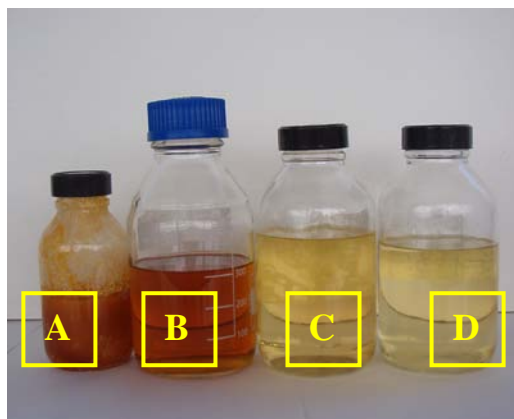


Figure III.29. Effet de la présence des esters éthyliques d'acides gras dans la viscosité des extraits obtenus par co-hydrodistillation. **A)** Huile essentielle d'Aunée, **B)** en présence de l'heptanoate d'éthyle, **C)** du nonanoate d'éthyle, et **D)** de l'undecanoate d'éthyle.

Remarque : Dans le cas de formulations avec application dans l'industrie phytosanitaire, la viscosité joue un rôle important dans la solubilisation de la matière active.

III.E2 LA TENSION SUPERFICIELLE

La mesure de la tension de surface (ou superficielle) a été déterminé au sein du laboratoire de Chimie Agro Industrielle (LCA-CATAR) selon la méthode de la lame de Wilhelmy à 25°C. L'appareil utilisé est un tensiomètre 3S de la société GBX.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans les *tableaux III.49* et *III.50*.

	Tension superficielle* à 25°C (mN/m)
Huile essentielle d'Auné	44,37
Huile essentielle de Carvi	35,78
Heptanoate d'éthyle	26,04
Nonanoate d'éthyle	26,01
Undecanoate d'éthyle	27,31

* valeur moyenne de la mesure

Tableau III.49 Tension superficielle calculée pour les esters éthyliques d'acides gras obtenus.

Le *tableau III.50* et la *figure III.33* montre les résultats obtenus sur la tension superficielle du mélange entre l'huile essentielle de la racine d'Aunée et les esters éthyliques d'acides gras à chaîne courte que nous avons estérifiés à différentes concentrations des esters dans les deux méthodes d'extraction utilisées (co-hydrodistillation et extraction liquide-liquide).

	Co-hydrodistillat*			Extraction liquide-liquide*		
	+ 5 ml	+ 10 ml	+ 20 ml	+ 5 ml	+ 10 ml	+ 20 ml
<i>Heptanoate d'éthyle</i>	24,55	25,25	25,34	24,61	24,81	24,97
<i>Nonanoate d'éthyle</i>	25,57	26,35	26,47	25,71	26,18	26,39
<i>Undecanoate d'éthyle</i>	25,05	25,76	26,02	25,14	26,21	26,47

* valeur moyenne de la mesure, ** exprime en cp.

Tableau III.50 Tension superficielle (en mN/m à 25°C) du mélange huile essentielle/esters éthyliques de la plante d'*Inula helenium* pour différentes concentrations d'esters éthyliques utilisées dans les deux méthodes d'extraction.

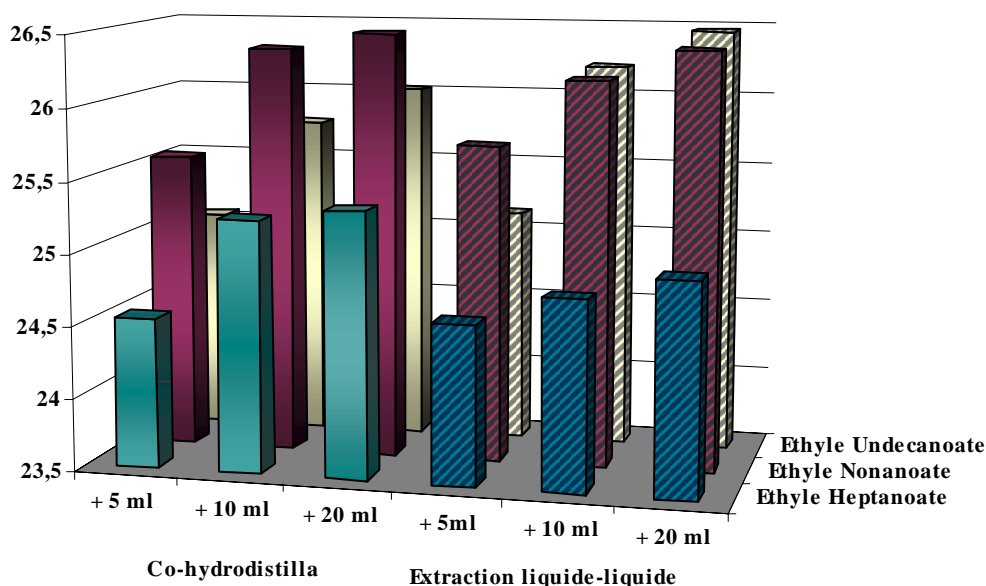


Figure III.33 Représentation graphique des résultats de tension superficielle obtenus lors de l'extraction de la racine d'Aunée.

Les résultats obtenus sur la tension superficielle du mélange : huile essentielle de la graine de *Carvi* et les esters éthyliques d'acides gras à chaîne courte à différentes concentrations sont présentés dans le *tableau III.55*. Nous pouvons constater que la tension

superficielle obtenue à partir de la racine d'Aunée est très similaire dans certains cas (lors de l'utilisation des esters) mais une différence bien marquée est à noter par rapport aux valeurs de la tension superficielle des huiles essentielles de chacune des plantes étudiées. Ceci nous laisse supposer qu'il existe des interactions moléculaires entre les composants de l'huile essentielle et les esters éthyliques d'acide gras.

	Co-hydrodistilla*			Extraction liquide-liquide*		
	+ 5 ml	+ 10 ml	+ 20 ml	+ 5 ml	+ 10 ml	+ 20 ml
<i>Heptanoate d'éthyle</i>	25,18	25,19	25,39	25,31	25,41	25,43
<i>Nonanoate d'éthyle</i>	25,95	26,12	26,69	25,77	26,14	26,62
<i>Undecanoate d'éthyle</i>	26,51	28,04	28,46	26,24	27,36	27,19

* valeur moyenne de la mesure, ** exprime en cp

Tableau III.51 Tension superficielle du mélange huile essentielle de Carvi / esters éthyliques d'acides gras à chaîne courte à différentes concentrations.

III.E3 TESTS BIOLOGIQUES REALISES PAR LA SOCIETE BAYER CROP. SCIENCE EN FRANCE

Les huiles essentielles ont été testées dans la protection des plantes comme insecticides, puis comme herbicides, fongicides depuis plusieurs années aux sont entrepris.

Pour la protection des plantes, les huiles essentielles et leurs dérivées esters (esters éthyliques de ricin) sont susceptibles d'apporter une contribution non négligeable grâce à des atouts importants:

- a) une origine naturelle (ecocompatibilité).
- b) une biodégradabilité élevée (entre 95% et 99%) [V. BAUDRAND-ALZIEU].

Dans la formulation phytosanitaire, les huiles essentielles et les esters éthyliques d'acides gras à chaîne courte peuvent être envisagé en tant que:

- ✓ **le matière active:** les matières actives sont présentées en solution dans des solvants (xylène, toluène, etc...). Cette gamme de produits est formulée avec

des esters éthyliques qui présentent des pouvoirs solvants adaptés, une fluidité correspondant aux conditions de pulvérisation.

- ✓ *vecteurs de pulvérisation* utilisés dans les traitements insecticides et pesticides par voie aérienne. Les esters éthyliques d'acide gras se substituent parfaitement aux solvants habituellement utilisés.
- ✓ *additifs ou adjuvants* qui contribuent à l'efficacité des matières actives. Les adjuvants ont été longtemps formulés sur la base des huiles minérales.

L'utilisation d'adjuvants totalement biodégradables associé à une incorporation de matière active d'origine naturelle concourent à la protection de l'environnement et amènent une diminution considérable des coûts d'exploitation.

III.E3.1 Caractéristiques des échantillons envoyés

Le *tableau III.52* ci-dessous regroupe la liste des échantillons envoyés à la société Bayer Corps Sciences afin de réaliser différents tests biologiques

No. échantillon	Description	Méthode d'extraction	No. de lot
1	H.E. Carvi	Hydrodistillation	2
2	H.E. Carvi	Hydrodistillation	3
3	H.E. Carvi	Hydrodistillation	3
4	H.E. Carvi + 5ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	3
5	H.E. Carvi + 5ml d'E.E.	Extraction liq-liq	3
6	H.E. Carvi + 10ml d'E.E.	Extraction liq	3
7	H.E. Carvi + 10ml d'E.E.	Extraction liq	3
8	H.E. Carvi + 10ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	3
9	H.E. Carvi	Hydrodistillation	5
10	H.E. Carvi + 5ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	5
11	H.E. Carvi + 5ml d'E.E.	Extraction liq-liq	5
12	H.E. Carvi + 10ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	5
13	H.E. Carvi + 10ml d'E.E.	Extraction liq-liq	5
14	H.E. Carvi + 20ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	5

No. échantillon	Description	Méthode d'extraction	No. de lot
15	H.E. Carvi + 20ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	5
16	H.E. Carvi + 20ml d'E.E.	Extraction liq-liq	5
17	H.E. Acore	Hydrodistillation	2
18	H.E. Acore.	Hydrodistillation	2
19	H.E. Acore	Hydrodistillation	2
20	H.E. Acore	Hydrodistillation	3
21	H.E. Acore +5ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	3
22	H.E. Acore +5ml d'E.E.	Extraction liq-liq	3
23	H.E. Acore +10ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	3
24	H.E. Acore +10ml d'E.E.	Extraction liq-liq	3
25	H.E. Acore +10ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	3
26	H.E. Acore +20ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	3
27	H.E. Acore +20ml d'E.E.	Extraction liq-liq	3
28	H.E. Dictamus + 5ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	1
29	H.E. Dictamus + 5ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	1
30	H.E. Dictamus + 10ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	1
31	H.E. Dictamus + 10ml d'E.E.	Extraction liq-liq	1
32	H.E. Dictamus + 20ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	1
33	H.E. Dictamus + 20ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	1
34	H.E. Dictamus + 20ml d'E.E.	Extraction liq-liq	1
35	H.E. Dictamus	Hydrodistillation	2
36	H.E. Dictamus	Hydrodistillation	2
37	H.E. Dictamus + 5ml d'E.E.	Extraction liq-liq	2
38	H.E. Dictamus + 5ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	2
39	H.E. Dictamus + 10ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	2
40	H.E. Dictamus + 10ml d'E.E.	Extraction liq-liq	2
41	H.E. Dictamus + 20ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	2
42	H.E. Dictamus	Hydrodistillation	3
43	H.E. Dictamus	Hydrodistillation	3
44	H.E. Dictamus + 5ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	3

No. échantillon	Description	Méthode d'extraction	No. de lot
45	H.E. Dictamus + 5ml d'E.E.	3eme méthode	3
46	H.E. Dictamus + 10ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	3
47	H.E. Dictamus + 10ml d'E.E.	Extraction liq-liq	3
48	H.E. Dictamus + 20ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	3
49	H.E. Dictamus	Hydrodistillation	4
50	H.E. Dictamus	Hydrodistillation	4
51	H.E. Dictamus	Hydrodistillation	4
52	H.E. Dictamus	Hydrodistillation	4
53	H.E. Dictamus + 5ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	4
54	H.E. Dictamus + 5ml d'E.E.	Extraction liq-liq	4
55	H.E. Dictamus + 10ml E.E.	Extraction liq	4
56	H.E. Dictamus + 20ml d'E.E.	Extraction liq	4
57	H.E. Dictamus + 20ml d'E.E.	Co-hydrodistillation	4
58	H.E. O.vulgaire	Hydrodistillation	2
59	H.E. O.vulgaire	Hydrodistillation	2
60	H.E. O.vulgaire + 5ml d'E.E.	Co-hydrodistilla	2
61	H.E. O.vulgaire + 10ml d'E.E.	Co-hydrodistilla	2
62	H.E. O.vulgaire + 10ml d'E.E.	Extraction liq-liq	2
63	H.E. O.vulgaire + 20ml d'E.E.	Extraction liq-liq	2
64	H.E. O.vulgaire + 20ml d'E.E.	Co-hydrodistilla	2
65	H.E. O.vulgaire	Hydrodistillation	3
66	H.E. O.vulgaire	Hydrodistillation	3
67	H.E. O.vulgaire + 5ml d'E.E.	Co-hydrodistilla	3
68	H.E. O.vulgaire + 5ml d'E.E.	Extraction liq-liq	3
69	H.E. O.vulgaire + 10ml d'E.E.	Co-hydrodistilla	3
70	H.E. O.vulgaire + 10ml d'E.E.	Extraction liq-liq	3
71	H.E. O.vulgaire + 10ml d'E.E.	Co-hydrodistilla	3
72	H.E. O.vulgaire + 20ml d'E.E.	Co-hydrodistilla	3
73	H.E. O.vulgaire + 20ml d'E.E.	Extraction liq-liq	3
74	H.E. O.vulgaire	Hydrodistillation	4
75	H.E. O.vulgaire + 5ml d'E.E.	Extraction liq-liq	4

No. échantillon	Description	Méthode d'extraction	No. de lot
76	H.E. O.vulgaire + 5ml d'E.E.	Co-hydrodistilla	4
77	H.E. O.vulgaire + 10ml d'E.E.	Extraction liq-liq	4
78	H.E. O.vulgaire + 10ml d'E.E.	Co-hydrodistilla	4
79	Heptanoate d'éthyle		
80	H.E. Aunée	Hydrodistillation	5
81	H.E. Aunée + 5ml d'E.E.	Co-hydrodistilla	5
82	H.E. Aunée + 5ml d'E.E.	Extraction liq-liq	5
83	H.E. Aunée + 10ml d'E.E.	Co-hydrodistilla	5
84	H.E. Aunée + 10ml d'E.E.	Extraction liq-liq	5
85	H.E. Aunée + 20ml d'E.E.	Co-hydrodistilla	5
86	H.E. Aunée + 20ml d'E.E.	Extraction liq-liq	5

H.E.: Huile Essentielle, E.E.: éthyle heptanoate, Lot 1 (19/04/01), Lot 2 (15/06/01), Lot 3 (02/10/01), Lot 4 (30/11/01), Lot 5 (28/01/02).

Tableau III.52 Description des échantillons envoyés à la Société BAYER Crop Sciences.

III.E3.2 Résultats préliminaires obtenus

La société Bayer décrit le test de la manière suivante : Le test appelé *champignons isolés* et un test de mesure de l'inhibition de croissance des champignons phytopathogènes non obligatoires en milieu liquide. Le champignon, sous forme de spores ou de broyat mycélien est placé dans un milieu liquide de croissance, en présence ou non du produit dont on veut observer un effet potentiel.

La mesure de la croissance des champignons est faite par mesure de l'absorbance du milieu à une longueur d'onde non spécifique de 620 nm. Plus l'absorbance est élevée plus le champignon a poussé et moindre est l'efficacité du produit. Cette valeur est comparée à la moyenne de 8 valeurs obtenues pour les mêmes champignons cultivés en absence de produits. Le calcul de l'efficacité potentielle d'un produit est calculé selon la formule de Abbott.

Les résultats transmis pour la société Bayer sont les suivantes :

Une plaque de 80 produits, huiles essentielles, a été testée dans ce screening. Néanmoins compte tenu de la nature même de ces extraits, il n'a pas été possible d'attribuer une dose de test. Les extraits ont été dilués et une activité a été estimée par rapport à un volume d'extrait.

Dans un premier temps un effet vapeur très important a été noté, qui a empêché toute lecture de résultat. Après dilution à 0.03% et 0.003%, des activités ont pu être attribuées à des produits. Néanmoins curieusement ces activités sont visibles à la dose la plus faible et disparaissent à la dose plus élevée.

Parmi les extraits envoyés, l'extrait sur racines d'Aunée est le plus actif sur *Septoria*, *Pythium*, *Pyri*, *Rhizoctonia*. D'autres extraits d'Aunée présentent des activités sur spores de *pyricularia* (maladie du riz) ou *septoria nodorum* (maladie des céréales) à fortes doses.

Ces produits ont été passés dans un crible spécial produits naturels à 5ppm (dose forte du screening pour les produits internes non naturels).

Les modalités de ce test sont les suivantes :

- 2 doses : 50 et 5 ppm
- spectre de 9 champignons : *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* spores, *Botrytis cinerea* mycelium, *Fusarium culmorum* spores, *Septoria nodorum*, *Pythium ultimum* mycelium, *Pyricularia oryzae* spores, *Pyricularia oryzae* mycelium, *Rhizoctonia solani* AG1 mycelium.

A 50 ppm quelques activités ont pu être détectées sur les souches les plus sensibles comme *Pyricularia* et *Septoria nodorum*. Le composé le plus actif étant le 5194660 (E23, Aunée I 19132).

Les produits 5280042 (57, *Origanum dictamnus*), 5280043 (58, *Origanum vulgare*), 5280050(65, *Origanum vulgare*), 5280051 (66, *Origanum vulgare*), 5280058 (73, *Origanum vulgare*), 5280059 (74, *Origanum vulgare*), dans ces conditions ont été actifs.

Références Bibliographiques

- [177] M. Skoula., P. Gotsiou. G. Naxakis. C. B. Johnson. 1999. A chemosystematic investigation on the mono-and sesquiterpenoids in the genus *Origanum* (Labiatae). *Phytochemistry*. 52, 649-657.
- [178] K. Veres, E. Varga, A. Dobos, Zs. Hajdu, I. Mathe, E. Nemeth, K. Szabo. 2003. Investigation of the composition and stability of the essential oils of *origanum vulgare* ssp., *vulgare* L., and *O. Vulgare* ssp. *Hirtus* (Link) Ietswaart. *Chromatographia*. 57 (12), 95-98.
- [179] A. Sivropoulou. E. Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1202-1205.
- [180] D. J. Daferera, B. N. Ziogas and M. G. Polissiou. 2000. GC-MS analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chem.* 48, 2576-2581.
- [181] C. Bourrel, G. Vilarem, F. Perineau. 1993. Chemical analysis, bacteriostatic and fungistatic properties of the essential oil of *Elecampane* (*Inula helenium* L.). *J. Essent. Oil Res.* 5, 411-417.
- [182] V.S. Kumar., R.K. Srivastava., A. Krishna., V.K. Tomar. 2000. Cultivation, chemistry, biologie and utilization of *bach* (*Acorus calamus*): a review. *J. Medicinal Aromatic Plant Science.* 22, 33-348.
- [183] E. Gildemester., F. Hoffman. 1913. *Die Atherischen öle*. Verlag Von Schimmel & Co. Ed. Leipzig.
- [184] M.Özcan, A. Akgül, J. C. Chalcat. 2002. Volatile constituents of the essential oil of *acorus calamus* L. grown in Konya Province (Turkey). *J. Essent; Oil Res.* 14, 366-368.
- [185] N.G. Bhilegaikar., D.K. Maske. 1998. Efficacy of the herbal compound AV/EPP/14 against ectoparasites. *J. Veterinary Parasitology.* 12, 46-47
- [186] G. Mazza. 1985. Gas chromatographic and mass spectrometric studies of the constituents of the rhizome of *calamus* I, The volatile constituents of the essential oil. *J. Chromat.* 328, 179-194.
- [187] G. Mazza. 1985. Gas chromatographic and mass spectrometric studies of the constituents of the rhizome of *calamus* II, The volatile constituents of the essential oil. *J. Chromat.* 328, 195-206.
- [188] A. R. Chowdhury, R. C. Gupta, M. L. Sharna. 1997. Essential oil from the rhizomes of *acorus calamus* L. raised on alkaline soil. *Ind. Perfumer.* 41, 154-156.
- [189] S. Fujita, Y. Enomoto, R. Suemitsu, Y. Fujita. 1971. Essential oil of the plant from various territories. XXVIII. Components of the essential oils of *Acorum calamnus* var. *angustatus*. *Yakugaku Zasshi.* 91, 571-574.

- [190] V. B. Kapilet, G. K. Sinha. 1977. Composition oil of acorus calamus raised under submountain and tarai region of Kumaon of U.P. *Ind. Perfumer.* 2, 26-30.
- [191] C. R. Karnick. 1977. Ethnobotanical pharmacognostical and cultivation trial studies of acorum calamus L. *Herba Hungarica.* 16, 7-15.
- [192] Association Française de Normalisation. 1986. Huile essentielle de carvi (Carum carvi L.)AFNOR NF T 75-347. Paris.
- [193] M. Tawari., C.S. Mathela. 2003. Composition of the essential oils from seed of carum carvi Linn. and Carum bulbocastanum Koch. *Indian Perfumer.* 47(4), 347-349.
- [194] E. Kluger., E. Kovalt; 1963. *Helv. Chim. Acta.* 46, 1480-1483.
- [195] B. Galambosi, P. Peura. 1996. Agrobotanical features and oil content of wild and cultivated forms of caraway (Carum carvi L.). *J. Essential Oil Res.* 8, (4), 389-397.
- [196] G. Puschmann, V. Stephai., D. Fritz. 1992. Untersuchungen zur variabilität von Kümmel (carum carvi L.). *Gartenbauwissenschaft.* 57, 275-277.
- [197] G. Boatto, G. Pintore, M. Palomba, F. De Simone, E. Ramundo, C. Iodice. 1994. Composition and antibacterial activity of Inula helenium and Rosmarinus officinalis essential oils. *Fitoterapia.* Vol. LXV(3), 279-280.
- [198] E. Charabot., J. Dupont., L. Pillet. 1899. Les huiles essentielles et leurs principaux constituants. Ed. Ch. Beranger. Paris, France.
- [199] C. Bourrel, G. Vilarem, F. Perineau. 1993. Chemical analysis, bacteriostatic and fungistatic properties of the essential oil of Elecampane (*Inula helenium* L.). *J. Essent. Oil Res.* 5, 411-417.
- [200] J. Calzada, J.F. Ciccio, G. Echandi. 1980. Antimicrobial activity of the heliangolide chromaenolide and related sesquiterpene lactones. *Phytochemistry.* 19, 56-62.
- [201] C. Economakis, A. Karoti, E. Skaltsa, D. Perdetzoglou, C. Demetzos. 2005. Effect of solution conductivity on the volatile constituents of origanum dictamnus L. in nutrient film culture. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1656-1660.
- [202] C. Harvala, P. Menounos, N. Argyriadou. 1986. Essential oil from Origanum dictamnus. *Planta Medica.* 2,107-109.
- [203] K. triantaphyllou., G. Blekas., D. Boskou. 2001. Antioxidative properties of water extract obtained from herb of the species Lamiceae. *Int. J. Food Sci. Nut.* 52(4), 313-317.
- [204] L. Ganou. 1993. Contribution a l'étude de mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielles. Thèse de l'Institut National Polytechnique. Toulouse, France.
- [205] K. S. Markley. 1961. Fatty Acids: Their Chemitry, Properties, Prouction, and Uses. 2nd Ed. Interscience Publishers Inc. New York. Chap.IX. 758-783.

- [206] M. Zaidan., S. Domenech., B. Gilot. 1986. Procède continu d'esterification de l'acide oléique par divers alcools. *Ind. Eng. Chem.* 50, 939-942.
- [207] V. Eychenne; Z. Mouloungui. 1999, High concentration of 1-(3-) monoglycerides by direct partial esterification of fatty acids with glycerol. *Fett/Lipid.*101, 424-427.
- [208] V. Eychenne; Z. Mouloungui. 1998, Deacidification of synthetic oil with an anion exchange resin. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 10, 1437-1440.
- [209] V. Eychenne.1997. Synthèse des esters de neopentylpolyols corrélations structures / propriétés tribologiques/ performances en lubrification. Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. Toulouse, France.
- [210] F.Omoto; A. C Dimian; A Bliet. Fatty acid esterification by reactive distillation. Part 1: equilibrium-based design. *Chem. Eng. Sci.* 2003, 58, 3159-3174.
- [211] S. Al-Asheh; F. Banat; N. Al-Lagtah. 2004. Separation of ethanol-water mixtures using molecular sieves and biobased adsorbents. *Chem. Eng. Res. Des.*, 82 (A7), 855-864.
- [212] V. Baudrand-Alzieu. 1995. Synthèse des monoesters et diesters de tetraethyleneglycol et des acides gras du ricin par estérification auto catalytique en milieu concentré. Thèse de l'INP Toulouse.
- [213] C. Vieville., Z. Mouloungui., A. Gaset. 1995. Synthesis and analysis of the C₁-C₁₈ alkyl oleates. *Chem. Phys. of Lipids.* 75,101-108.
- [214] C. Lacaze-Dufare., Z. Mouloungui. 2000. Catalysed or uncatalysed esterification reaction of oleic acid with 2-ethyl hexanol. *Applied Catalysis A.* 204,223-227
- [215] B. Chemseddine. 1994. Estérification de l'acide oléique par le méthanol ou l'éthanol dans un réacteur à membranes ioniques. These de l'Institut Nationale Polytechnique. Toulouse France.
- [216] J. Bus. I. Sies. M.S. Lie Ken Jie. 1976. ¹³C-RMN of methyl, methylene, and carbonyl carbon atoms of methyl alkenoates and alkynoates. *Chem. Phys. Lipids.* 17, 501-518.
- [217] F.D Gunstone, M.R. Pollard, C.M. Scrimgeour, H.S. Vedanayagam. 1977. Fatty acids. Part 50. ¹³C Nuclear Magnetic resonance studies of olefinic fatty acids and esters. *Chem. Phys. Lipids.* 18, 115-129.
- [218] L. Ganou. 1993. Contribution à l'étude des mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielles. Thèse de l'INP Toulouse, France.
- [219] M. Cabizza., G. Cherchi., B. Marongiu., S. Porcedda., M. Satta., A. Stassi. 2001. Isolation of a volatile concentrate do Caraway seed. *J. Essent. Oil Res.* 13, 371-375.
- [220] P.K. Sardar., M.H. Hussain., D. Srivastava., S. Jacob., M.Y. Deotale. 1986. Detection of cuminaldehyde in Caraway and black caraway by thin layer chromatography. *Research and Industry.* 31, 185-188.

[221] G. Puschmann, V. Stephaï., D. Fritz. 1992. Untersuchungen zur variabilität von Kümmel (*carum carvi* L.). *Gartenbauwissenschaft*. 57, 275-277.

[222] A. Koedam. 1982. The influence of some distillation conditions on essential oil composition in aromatics plants: basic and applied aspects. Martinus Nijhoff Publishers. Netherlands. 229-236.

[223] R.P Adams. 2001. Identification of essential oils components by Gas Chromatography/Quadropole Mass Spectroscopy. Allured Carol Stream, IL,

Conclusion et perspectives

Les études réalisées par C. BOURREL au sein du laboratoire portant sur les propriétés biologiques de certaines plantes méditerranéennes nous ont permis de sélectionner cinq plantes (*Origanum dictamnus*, *Origanum vulgare*, *Carum carvi*, *Acorus calamus*, *Inula helenium*) de part leurs propriétés biologiques intéressantes (antifongiques, herbicides, etc...).

Les présents travaux de recherche ont permis de confirmer la faisabilité de la culture d'*Origan vulgare*, *Origan de crête*, *Aunée*, *Carvi* et *Acore* dans la région d'Agen. Malheureusement, l'accident climatique du début 2002 (-12°C durant l'hiver) a détruit la totalité des plants d'Origans. Les cultures mises en place nous ont permis d'alimenter les essais d'extraction à l'échelle laboratoire ainsi qu'en unité pilote.

Les extractions ont fourni plus de 80 extraits à l'échelle laboratoire et plus de 15 extraits à l'échelle pilote. L'ensemble de ces extraits ont été analysés en termes quantitatifs et qualitatifs (CPG/MS).

Les extractions ont été menées suivant trois méthodes aux échelles laboratoire et pilote.

Tout d'abord suivant un procédé classique d'extraction : l'**hydrodistillation**, puis suivant deux procédés originaux : l'**extraction liquide-liquide** (hydrodistillation avec contre-extraction des eaux de cohobage par des esters éthyliques des acides gras à chaîne courte et impaire) et la **co-hydrodistillation** (hydrodistillation en présence des esters éthyliques des acides gras).

L'objectif principal du projet a été d'étudier les propriétés « solvants » des esters éthyliques des acides gras à chaîne courte et impaire obtenus à partir de l'huile de ricin pour l'extraction des huiles essentielles des plantes sélectionnées, présentant une ou plusieurs activités biologiques, afin de substituer certains solvants et matières actives de synthèse par un combiné «solvant/actif». Ce type de combiné devrait trouver des applications dans les domaines phytosanitaire et cosmétique.

Les résultats obtenus nous ont montré que dans certains cas la présence des esters éthyliques d'acides gras à chaîne courte, accéléreraient la cinétique d'hydrodistillation et que l'extrait était qualitativement plus riche en composants. Dans tous les cas, le mélange final huile essentielle/esters éthyliques est favorable aux formulations ultérieures.

En parallèle, la synthèse des esters éthyliques des acides gras à chaîne courte obtenus à partir de l'huile de ricin a été étudiée et optimisée selon deux méthodes différentes de synthèse : la méthode *soxhlet* et la méthode *semi continue en réacteur extracteur catalytique*. Une méthode principale a pu ainsi être sélectionnée et faire l'objet d'un passage à l'échelle pilote. Les caractéristiques chimiques et physico-chimiques des esters éthyliques finaux ont été déterminées.

Les huiles essentielles, les mélanges huiles essentielles/esters et les esters éthyliques seuls ont été envoyés à la société Bayer Crops Science pour réaliser des tests antifongiques. Parmi les extraits envoyés quatre présentent une activité biologique, malheureusement les mouvements internes - rachat d'Aventis par Bayer Crops Science - ne permettent plus aujourd'hui la réalisation de nouveaux tests. Cependant, il faut considérer ces tests comme un screening exploratoire permettant de sélectionner les échantillons présentant une activité parmi les proposés.

Par la suite, les échantillons « actifs » pourront être affinés pour amplifier leur activité initiale. Cette démarche fait partie des perspectives futures de ce projet.

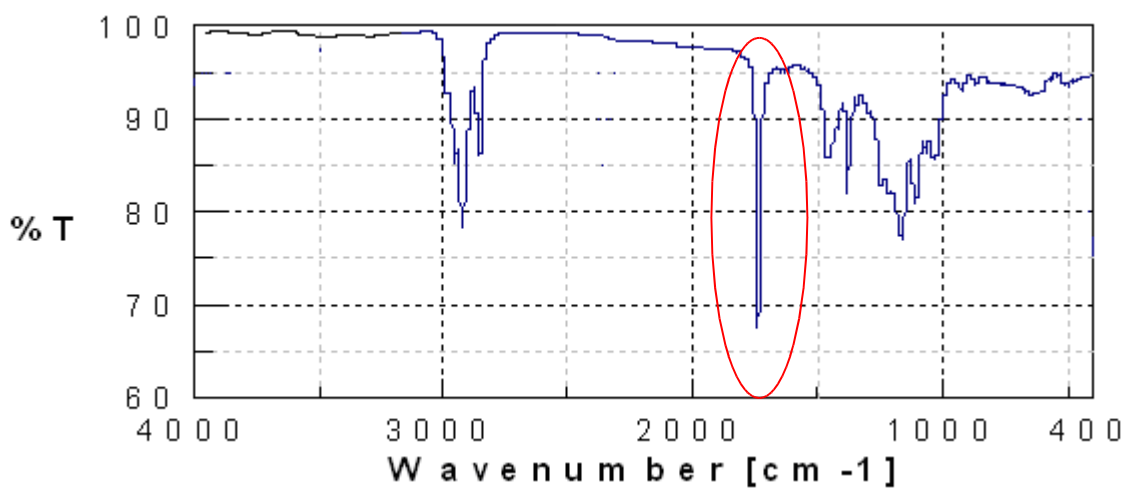
Mais, des tests de formulation et d'activité cosmétique basés sur les propriétés physico-chimiques spécifiques à chaque échantillon pourront être également réalisés.

Par conséquent la suite de ce projet, pourra être d'une part la reprise des cultures détruites et d'autre part la recherche d'utilisation des extraits présentant une activité potentielle. Rappelons qu'aujourd'hui l'intérêt d'un certain nombre de PME et coopératives passe par des besoins en diversification du domaine chimique et agrochimique.

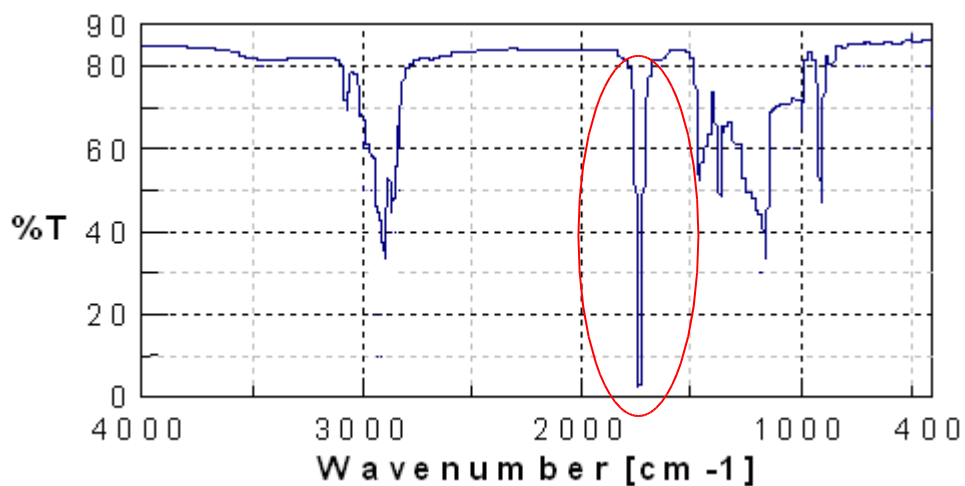
Les extraits de plantes sélectionnées permettront de lutter contre les ennemis des plantes cultivées à partir de produits issus du carbone renouvelable, cette démarche liée à des cultures alternatives, permettra de proposer des produits aux consommateurs de plus en plus soucieux de leur santé et de l'environnement.

Annexes

ANNEXE 1 *Spectre infrarouge de le nonanoate d'éthyle (a) et l'undecanoate d'éthyle*



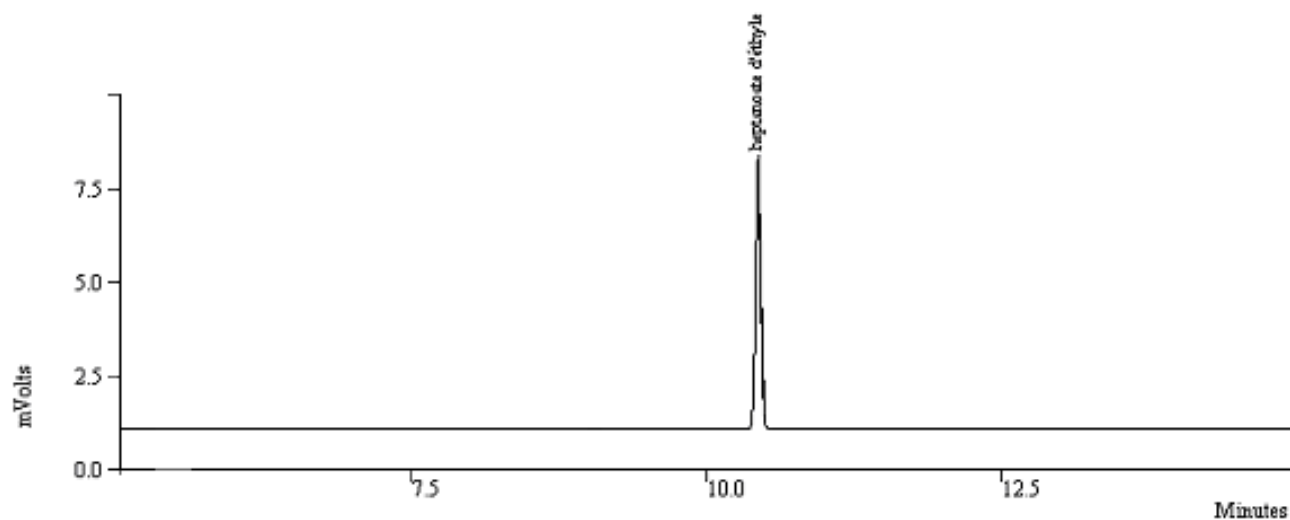
(a) *Spectre infrarouge du nonanoate d'éthyle*



(b) *Spectre infrarouge de l'undecanoate d'éthyle*

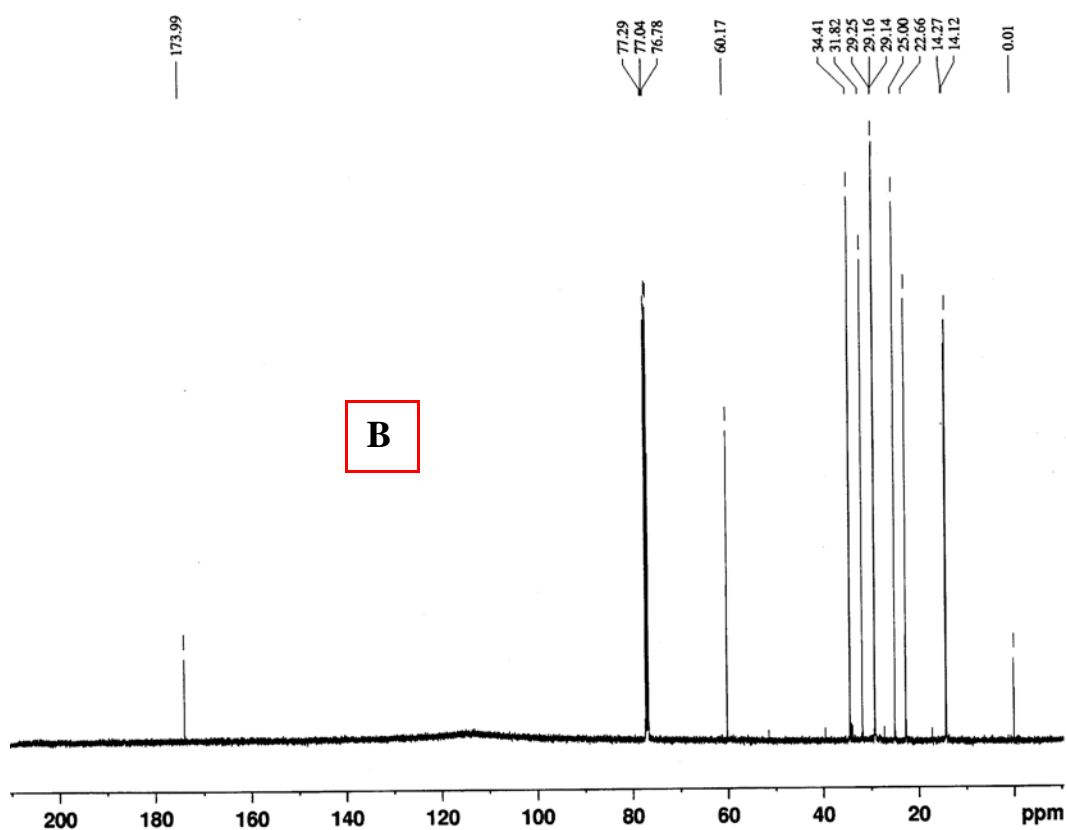
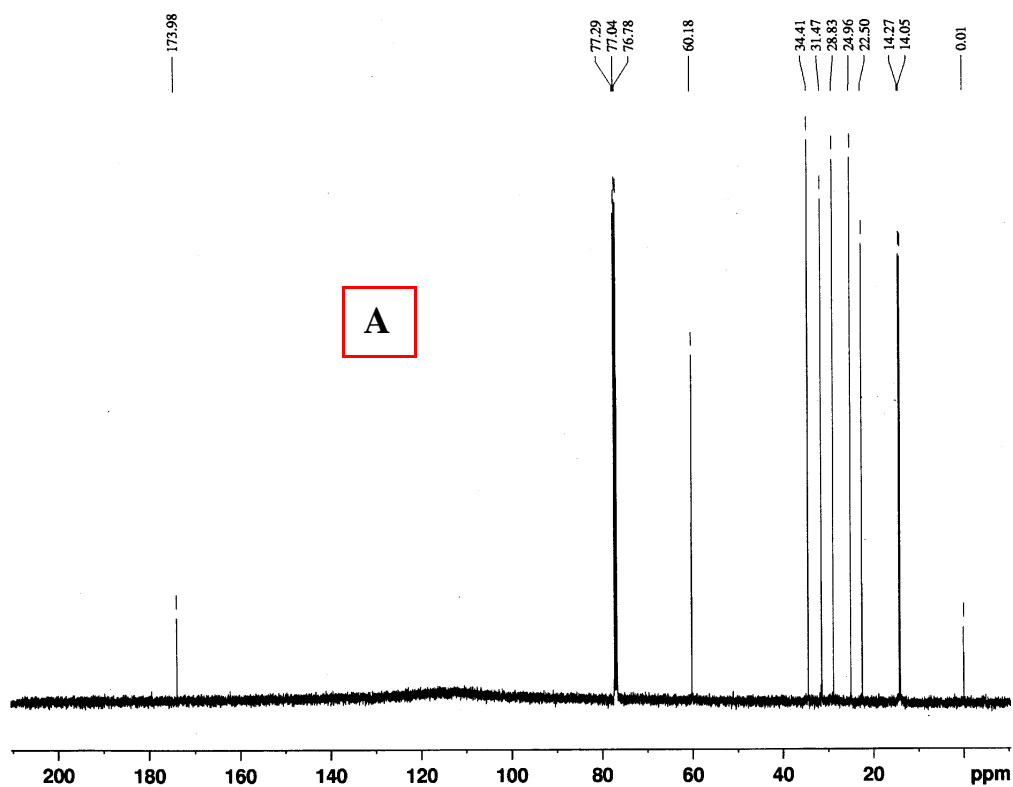
ANNEXE 2 Chromatogramme obtenu par chromatographie en phase gazeuse (GC-DIF) pour l'heptanoate d'éthyle

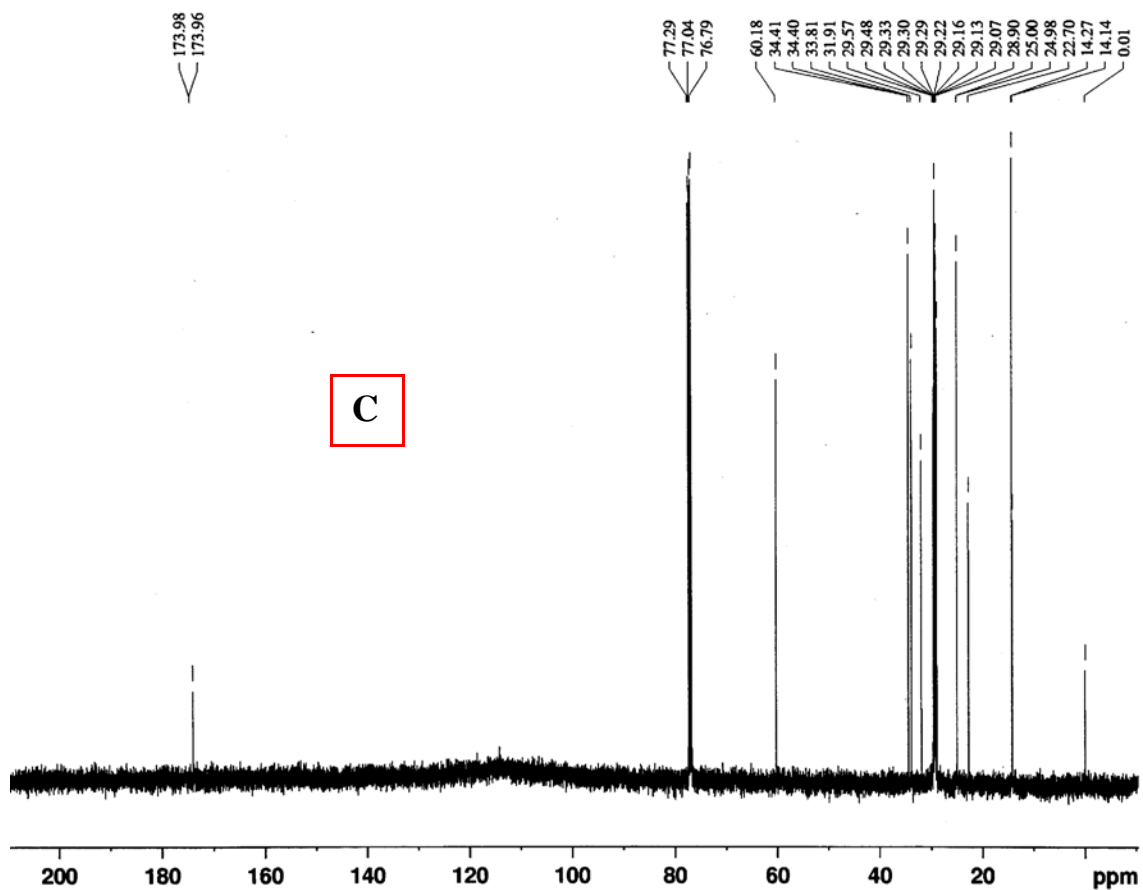
Date File: c:\program files\star\leon\esters\esters
 Sample ID: Ester ethylique Methode Reacteur extracteur
 Injection Date: 20/11/03 12:01:29
 Instrument (Inj) HP 5890 II
 Calculation Type: External Std.



Peak No	Peak Name	Result (ppm)	Ret Time (min)
1	heptanoate d'éthyle	501,1479	10,430
Totals		501,1479	

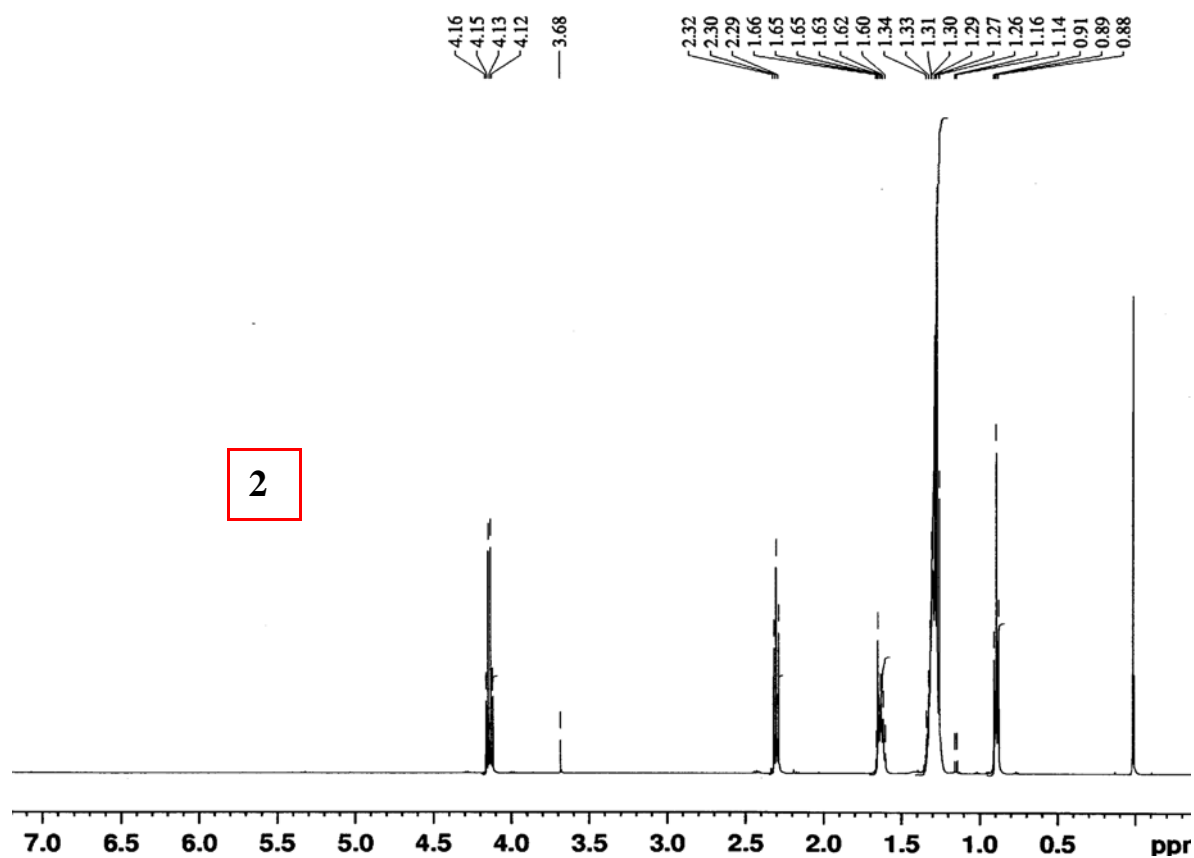
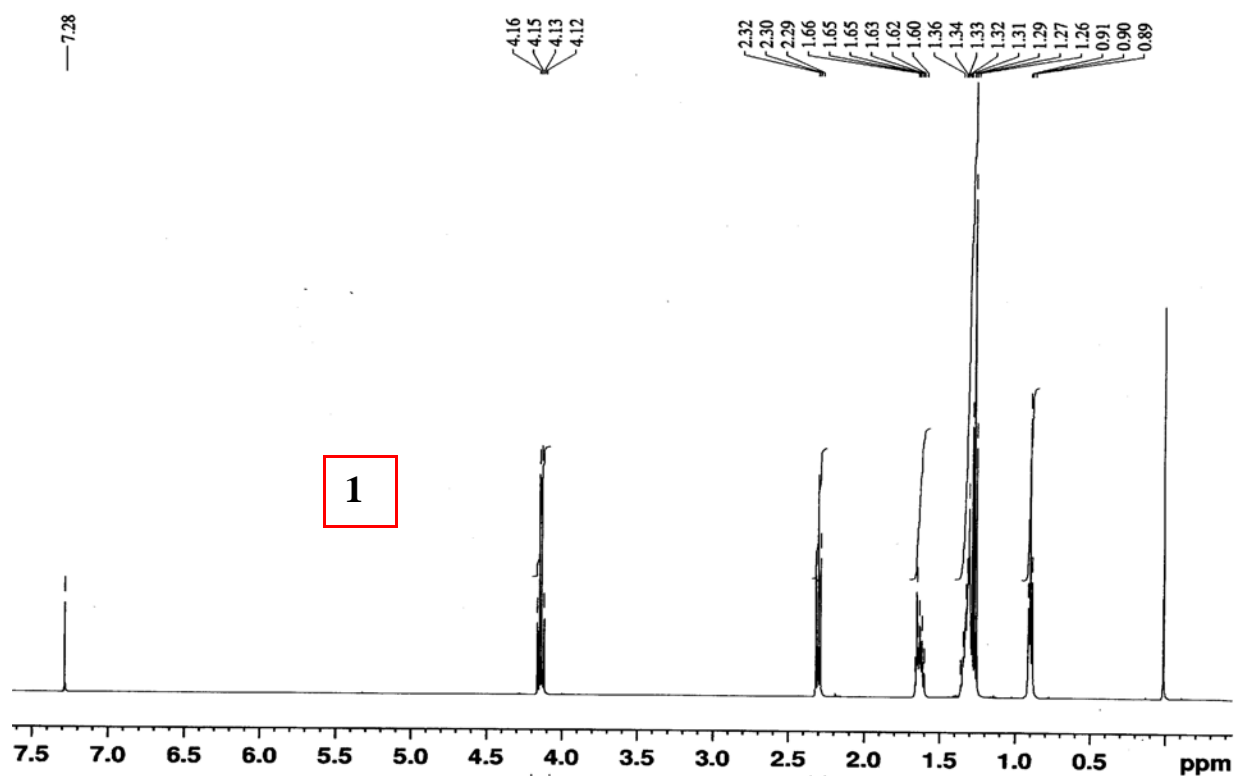
Annexe 3 Spectres de Résonance Magnétique Nucléaire C^{13} de l'heptanoate d'éthyle (A), le nonanoate d'éthyle (B) et l'undecanoate d'éthyle (C)

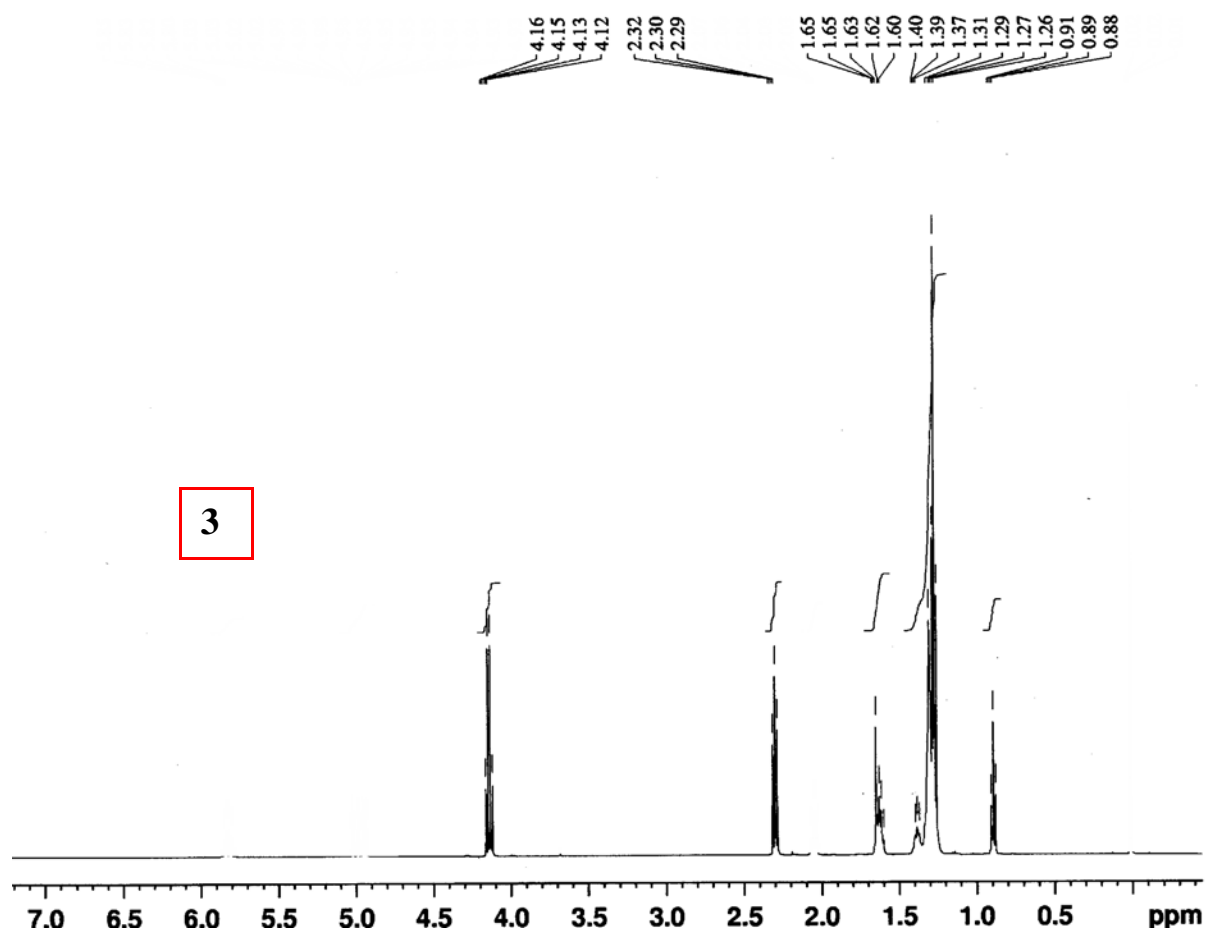




Spectre de Résonance Magnétique Nucléaire C^{13} de l'undecanoate d'éthyle (C).

Annexe 4 Spectres de Résonance Magnétique Nucléaire H de l'heptanoate d'éthyle (1), le nonanoate d'éthyle (2) et l'undecanoate d'éthyle (3)





Spectre de Résonance Magnétique Nucléaire H de
l'undecanoate d'éthyle (3).

Table de matières

SOMMAIRE

INTRODUCTION

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.A EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

I.A1 LES HUILES ESSENTIELLES.....	15
I.A1.1 Définition et rôle écologique.....	16
I.A1.2 Caractéristiques économiques	17
I.A1.3 Caractéristiques traditionnelles.....	17
I.A1.4 Activités biologiques des huiles essentielles.....	18
I.A2 PROCEDE CLASSIQUE D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES.....	22
I.A2.1 Principe de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	23
I.A2.2 Procédé classique d'extraction : hydrodistillation.....	25
I.A2.2a Propriétés physico chimiques	27
I.A2.2b Rôle de l'hydrodiffusion	28
I.A2.2c Phénomènes physico chimiques et la température :	
Exemple du sabinène	29
I.A2.3 Composition chimique des huiles essentielles	32
I.A2.3a Principales structures chimiques.....	32
I.A3 ETUDE PORTANT SUR CINQ PLANSTES SELCTIONNEES POUR	
LEURS PROPRIETES BIOLOGIQUES.....	35
I.A3.1 L'huile essentielle d'Origan (<i>Origanum vulgare</i>).....	35
I.A3.2 L'huile essentielle d'Acore (<i>Acorus calamus</i>).....	37
I.A3.3 L'huile essentielle de Carvi (<i>Carum carvi L.</i>).....	38
I.A3.4 L'huile essentielle d'Année (<i>Inula helenium</i>).....	42
I.A3.5 L'huile essentielle d'Origan de crête (<i>Origanum dictamnus</i>).....	44

I.B ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS : ROLE DES ESTERS DANS LE COMBINE «SOLVANT ACTIF»

I.B1 EN TANT QUE ADJUVANT	46
I.B1.1 Propriétés physico-chimiques de tensioactifs	48
I.B1.1a Balance Hydrophile-Liphophile (BHL ou HBL).....	48
I.B1.2 Classification de tensioactifs utilisés en agrochimie	
en fonction de leur nature.....	49
I.B1.3 Classification de tensioactifs en fonction de	
leurs applications agrochimiques.....	50

I.B1.3a Les émulsionnants	51
I.B1.3b Les mouillants	52
I.B1.3c Les agents pénétrants ou activateurs.....	53
I.B1.4 Tension superficielle.....	53
I.B1.5 L'angle de contact	54
I.B1.6 Influence de la nature physico-chimique de la feuille.....	55
I.B2 EN TANT QUE SOLVANTS ALTERNATIFS D'EXTRACTION	57
I.B2.1 Capacité de solubilisation et capacité extractante.....	59
I.B1.2a Le pouvoir de solubilisation.....	59
I.B1.2b Le pouvoir extractant.....	60
I.B1.2c La capacité de pénétration	61
I.B1.2d La capacité de diffusion.....	61
I.B3 LES ESTERS D'ACIDES GRAS A CHAÎNE COURTE ET IMPAIRE	62
I.B3.1 La liaisons ester et l'importance économique des esters.....	63
I.B3.2 Cas particulier d'esters éthyliques d'acides gras à chaîne courte obtenus à partir d'huile de ricin	63
I. B3.2a Le ricin (<i>Ricinus cummunis</i>).....	64
I. B3.2b L'huile de ricin	65
I.B4 PROCEDE D'ESTERIFICATION DES ACIDES GRAS A CHAÎNE COURTE OBTENUS A PARTIR DE L'HUILE DE RICIN	66
I.B4.1 Utilisation des agents desséchants dans le procédé d'estérification.....	67
I. B4.1a Tamis moléculaire	68
I.B4.2 Méthodes d'estérification utilisées	69
I.B4.3 Désacidification du milieu réactionnel par des résines anioniques.....	70
I. B4.3a Résine macroporeuse AMBERSEPT 900-OH.....	70
I.B4.4 Décoloration des esters éthyliques obtenus.....	71
I. B4.4a Utilisation des terres naturelles de type Bentonite.....	72
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	75

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.A HYDRODISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES

II.A1 HYDRODISTILLATION	87
II.A1.1 Matériel végétale.....	89
II.A1.2 Conditions opératoires.....	89
II.A1.3 Analyses chimique par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée au Détecteur Ionisation de Flamme (CPG-FID) et Spectromètre de Masse (CPG-SM)	90
II A1.4 Extraction des huiles essentielles a l'échelle pilote	92
II.A1.4a Unité d'extraction de la société TOURNAIRE.....	93
II.A1.4b Conditions opératoires d'hydrodistillation	94

II.A2 CO-HYDRODISTILLATION DES HUILE ESSENTIELLES EN PRESENCE DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS	94
II.A2.1 Conditions opératoires.....	95
II.A2.2 Procédé de co-hydrodistillation à l'échelle pilote.....	96
II.A2.2a Conditions opératoires.....	97
II.A3 EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE DES HUILES ESSENTIELLES EN PRESENCE DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS	98
II.A3.Procédé de co-hydrodistillation à l'échelle pilote	99
II.B ESTERIFICATION DES ACIDES GRAS A CHAINE COURTE ET IMPAIRE	
II.B1 PROCEDE D'ESTERIFICATION DES ACIDES GRAS A CHAINE COURTE ET IMPAIRE.....	99
II.B1.1 Utilisation des agents desséchant dans le procédé d'estérification....	101
II.B1.2 Méthodes d'estérification utilisées	101
II.B1.2a Méthode d'estérification en <i>soxhlet</i>	102
II.B1.2b Méthode d'estérification <i>semi continue en réacteur extracteur catalytique</i>	103
II.B2 DESACIDIFICATION DU MILIEU REACTIONNEL PAR LARESINE AMBERSEPT 900-OH.....	105
II.B2. Conditionnement de la résine	107
II.B3 DECOLORATION DES ESTERS ETHYLIQUES.....	107
II.B4 METHODES DE CARACTERISATION DES ESTERS ETHYLIQUES DES ACIDES GRAS.....	107
II.B4.1 Détermination de l'indice d'acide.....	108
II.B4.2 Dosage des esters éthyliques en Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG-FID).....	108
II.B4.3 Analyses par spectroscopie Infra Rouge (IR).....	109
II.B4.4 Analyses par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	110
II.B4.5 Détermination de taux d'hydratation par la méthode Karl Fisher.....	110
II.B5 DETERMINATION DE PROPRIETES PHYSICO CHIMIQUES DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS A CHAINE COURTE ET IMPAIRE	111
II.B5.1 La viscosité.....	112
II.B5.2 La tension superficielle.....	112
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	115

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.A HYDRODISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES

III.A1 ETUDE PORTANT SUR CINQ PLANTES SELECTIONNEES POUR SES PROPRIETES BIOLOGIQUES.....	119
III.A1.1 L'huile essentielle d'Origan (<i>Origan vulgare</i>).....	119
III.A1.1a Résultat qualitatif	119
III.A1.1b Composition chimique d'huile essentielle d'origan	121
III.A1.2 L'huile essentielle d'Acore (<i>Acorus calamnus</i>).....	124
III.A1.2a Résultats quantitatifs et qualitatifs	124
III.A1.3 L'huile essentielle de Carvi (<i>Carum carvi L.</i>).....	126
III.A1.3a Résultats qualitatifs	126
III.A1.3b Composition chimique d'huile essentielle.....	128
III.A1.4 L'huile essentielle d'Aunée (<i>Inula helenium L.</i>).....	130
III.A1.4a Résultat quantitatifs et qualitatifs	132
III.A1.5 L'huile essentielle de <i>Dictame de crête</i>	133
III.A1.5a Résultat quantitatifs et qualitatifs	134
III.A2 EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES A L'ECHELLE PILOTE	135
III.A2.1 Extraction de l'huile essentielle de carvi (<i>carum carvi L.</i>).....	136
III.A2.1a Résultats quantitatifs et qualitatifs.....	136
III.A2.2 Extraction de l'huile essentielle d'Aunne (<i>Inula Helenium</i>).....	137
III. A2.2a Résultats quantitatifs et qualitatifs.....	138

III.B ESTERIFICATION DES ACIDES GRAS A CHAINE COURTE ET IMPAIRE OBTENUES DE L'HUILE DE RICIN

III.B1 ETUDE DE LA REACTION D'ESTERIFICATION DE L'ACIDE HEPTANOÏQUE	141
III.B1.1 Comparaison entre le deux méthodes utilisées	141
III.B1.2 Effet du tamis moléculaire dans la réaction d'estérification.....	143
III.B1.3 Effet de la concentration molaire de l'acide et l'éthanol dans l'estérification de l'acide heptanoïque.....	144
III.B1.4 Influence de la quantité de résine dans la désacidification du milieu réactionnel.....	145
III.B2 ETUDE DES REACTIONS D'ESTERIFICATION DE L'ACIDE NONANOÏQUE L'ACIDE UNDECANOÏQUE	147
III.B2.1 Le cas de l'acide nonanoïque.....	148
III.B2.2 Le cas de l'acide undecanoïque.....	149
III.B3 METHODE D'ANALYSES DE LA PURETE DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS.....	151
III.B3.1 Dosage des esters éthyliques en Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG-DIF).....	151
III.B3.3 Analyses par spectroscopie Infra Rouge (IR).....	152
III.B4.4 Analyses par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	153

III.C CO-HYDRODISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES EN PRESENCE DES ESTERS ETHYLIQUES

III.C1 CO-HYDRODISTILLATION DE L'HUILE ESSENTIELLE	
D'ORIGANUM VULGARE.....	156
III.C1.1 En présence de l'heptanoate d'éthyle à différentes concentrations.....	156
III.C1.1a Résultats qualitatifs et quantitatifs	157
III.C1.1b Composition chimique du mélange obtenu.....	159
III.C2 CO-HYDRODISTILLATION DE L'HUILE ESSENTIELLE	
DE CARVI	162
III.C2.1 En présence de l'heptanoate d'éthyle à différentes concentrations.....	162
III.C2.1a Résultats qualitatifs et quantitatifs.....	162
III.C2.1b Composition chimique du mélange obtenu.....	163
III.C2.1c Influence de l'ester éthylique dans l'extraction des composant majoritaires	165
III.C2.2 En présence de le nonanoate d'éthyle et l'undecanoate d'éthyle	166
III.C3 CO-HYDRODISTILLATION DE L'HUILE ESSENTIELLE	
D'AUNEE.....	167
III.C3.1 En présence de l'heptanoate d'éthyle à différentes concentrations.....	169
III.B3.1a Résultat qualitatif et quantitatifs.....	169
III.B3.1b Composition chimique du mélange obtenu	170
III.C3.2 En présence de le nonanoate d'éthyle et l'undecanoate d'éthyle ...	173
III.C4 PROCEDE DE CO-HYDRODISTILLATION A L'ECHELLE PILOTE	174
III.C4 1 Co-hydrodistillation de la racine d'Aunée en présence des esters éthyliques à l'échelle pilote.....	176
III.C4.1a Résultat qualitatif et qualitatifs.....	176
III.C4.2 Co-hydrodistillation de la graine de Carvi en présence des esters éthyliques d'acides gras à l'échelle pilote	179
III.C4.2a En présence des esters éthyliques a différentes concentrations	179

III.D EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE DES HUILES ESSENTIELLES EN PRESENCE DES ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS

III.D1 EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE	
D'ORIGAN VULGAIRE.....	181
III.D1.1 Résultats qualitatif et quantitatifs.....	183
III.D2 EXTRACTION LIQUIDE LIQUIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE	
DE CARVI.....	184
III.D2.1 Résultat qualitatif et quantitatifs	184
III.D1.1a Composition relative du mélange obtenu.....	186

III.D3 EXTRACTION LIQUIDE LIQUIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'AUNEE.....	187
III.D3.1 En présence de l'éthyle heptanoate à différentes concentrations	187
III.D1.1a Résultats qualitatifs et quantitatifs.....	188
III.D1.1b Composition chimique du mélange obtenu.....	188
III.D4 PROCEDE DE EXTRACTION LIQUIDE LIQUIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'AUNEE A L'ECHELLE PILOTE	189
III.D4.1 Résultat qualitatif et qualitatifs	190
III.E PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DU MELANGE OBTENUE HUILE ESSENTIELLE/ESTERS ETHYLIQUES D'ACIDES GRAS	
III.B1 Viscosité	191
III.B2 Tension superficielle	193
III.B2.1 Le cas de l'huile essentielle de Carvi.....	194
III.B3 Test biologique réalisé par la société Bayer Crop. Science	195
III.B3.1 Caractéristiques des échantillons envoient.....	196
III.B3.2 Résultats préliminaires obtenus.....	199
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	201
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	207
ANEXES	209

Résumé

L'hydrodistillation est la principale méthode permettant d'obtenir des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques. Traditionnellement, l'eau correspond au solvant employé lors du processus d'hydrodistillation. Cependant, dans la Co-hydrodistillation les esters éthyliques des acides gras présentent une alternative en tant que solvants d'extraction.

Ces deux processus ont été comparés comme méthodes d'extraction des huiles essentielles des plantes sélectionnées pour leurs propriétés biologiques: Aunée (*Inula helenium L.*), Carvi (*Carum carvi L.*), Origan de Crète (*Origanum dictamnus*), Origan (*Origanum vulgare*), Acore (*Acorus calamus*).

Les composés volatils isolés ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS) et les résultats obtenus ont été comparés. Des différences significatives ont été trouvées dans la composition quantitative et qualitative des extraits obtenus.

Le mélange des huiles essentielles et des esters éthyliques d'acides gras peut trouver une application dans l'industrie phytosanitaire.

Mot clés : hydrodistillation, co-hydrodistillation, extraction liquide liquide, esters éthyliques d'acides gras, solvants alternatifs d'extraction

Abstract

Hydrodistillation is the main method for the isolation of essential oils from aromatic plants. Traditionally water is used as solvent in hydrodistillation process. However, in co-hydrodistillation and liquid liquid extraction fatty acid ethyl ester was found to be also a good extraction solvent. Co-hydrodistillation and liquid-liquid extraction process were obtained by combination of hydrodistillation and solvent extraction methods. Both processes were compared as methods to extract essential oils from Aunée (*Inula helenium l.*), Carvi (*Carum carvi L.*), Origan de Crete (*Origanum dictamnus*) Origan (*Origanum vulgare*) Acore (*Acorus calamus*).

Isolated volatiles were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry analysis (GC-MS) and the obtained results were compared. Significant differences were found in the quantitative and qualitative composition of these compounds.

The mixture of essential oils and ethyl esters fatty acids can be an application in phytosanitary industry

Keywords: Hydrodistillation, co-hydrodistillation, liquid-liquid extraction, fatty acid ethyl esters, alternative extraction solvents