

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des Sciences de l'Ingénieur

Département de Chimie Industrielle

THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Génie des procédés

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES PROCEDES
D'EXTRACTION CONVENTIONNELS ET INNOVANTS
APPLIQUES A LA RECUPERATION DE L'HUILE
ESSENTIELLE DE L'ARMOISE BLANCHE D'ALGERIE
(ARTEMISIA HERBA ALBA)

Par

BOUTEMAK Khalida

Devant le jury, composé de :

H. KHALAF	Professeur, U.S.D de Blida	Président
C. BOUTEKEDJIRET	Professeur, E.N.P d'Alger	Examineur
A. DAHMANI	Professeur, U.S.T.H.B d'Alger	Examineur
F. HANNANE	Professeur, U.S.D de Blida	Examineur
M. BEZZINA	Professeur, U.S.D de Blida	Rapporteur
F. CHEMAT	Professeur, U. d'Avignon (France)	Co-Rapporteur

Blida, Juin 2011

ملخص

هذا الرسالة هي نتيجة بحث اجري على طرق استخلاص الزيوت العطرية لنبات الشبوح : ارتميسيا هربا البيا , هذا البحث يعرض نتائج دراسة اولاً ، على تحسين العمليات على حد سواء التقليدية تقطير بخار الماء "و" انتشار مائي "من جانب منهجية تصميم التجارب وثانياً على دراسة طريقتين لاستخراج مبتكرة "الاستخلاص بالمذيبات ساعدت دون الميكروويف " و "انتشار مائي يساعده الميكروويف والجاذبية " ينطبق على استخلاص الزيوت الأساسية لنبات ارتميسيا هربا البيا. الاستفادة المثلى من العمليات التقليدية من خلال تطبيق تصاميم هذه التجارب لدراسة وتقييم تأثير العوامل التي تعمل على مردود الزيت لاساسي وتركيبه الكيميائي. كما تم تحديد التركيب الكيميائي، تمت دراسة تأثير العوامل التي تعمل على اختلاف التركيب الكيميائي للزيوت العطرية التي تم الحصول عليها مع كل من الأساليب التقليدية. ويقترح الظروف المثلى للاستخراج من دراسة تصاميم هذه التجارب. وعلاوة على ذلك ، تم تطبيق استخراج الزيوت الأساسية من خلال تقنيات مبتكرة. وهكذا ، تمت دراسة مقارنة بين التقنيات المبتكرة والتقليدية من حيث المردود والحركيات للاستخلاص. وأظهرت الدراسة المقارنة أن الفوائد من استخلاص بمساعدة الميكروموجات وتوفير الوقت وبالتالي حفظ الطاقة.

الكلمات المفتاح ارتميسيا هربا البيا الزيوت العطرية استخلاص الاستفادة المثلى الميكروموجات

RESUME

Ce travail présente les résultats d'une étude menée d'une part, sur l'optimisation de deux procédés conventionnels « entraînement à la vapeur d'eau » et « hydrodiffusion » par la méthodologie des plans d'expériences et d'autre part sur l'étude des deux procédés d'extraction innovants : « extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM) » et « hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité (MHG) » appliqués à la récupération de l'huile essentielle de l'armoise blanche : *Artemisia herba alba*. Une optimisation des procédés conventionnels par l'application d'un plan composite à faces centrées a été réalisée dans le but d'étudier et d'évaluer l'influence des paramètres opératoires sur le rendement en huile essentielle et sur sa composition chimique. Les huiles essentielles ainsi récupérées ont été caractérisées par leur composition chimique grâce à des analyses par CPG et par GC/SM. L'influence des paramètres opératoires sur la variation de la composition chimique des huiles essentielles obtenues avec les deux procédés conventionnels a été étudiée. Des conditions optimales d'extraction obtenues suite à cette étude par plans d'expériences sont proposées. Par ailleurs, L'extraction des huiles essentielles par les techniques innovantes a été appliquée. Ainsi, une comparaison entre les techniques innovantes et les techniques conventionnelles en terme de rendement et de cinétique d'extraction a été étudiée. L'étude comparative a montré que les avantages de l'extraction assistée par micro-ondes sont le gain de temps et par conséquent l'économie d'énergie.

Mots clés : *Artemisia herba alba*, huile essentielle, extraction, optimisation, micro-ondes.

Abstract

This work is the result of research carried on the one hand, the optimization of two conventional processes « steam water distillation » and « hydrodiffusion » by the methodology of design of experiments. And on the other hand, the research of the two innovative extraction processes: « solvent free microwave extraction (SFME) » and « Microwave hydrodiffusion and gravity (MHG) » applied to the recovery of the desert wormwood essential oil: *Artemisia herba alba*. A central composite face-centred experimental design has been employed to optimize the conventional process in order to investigate and evaluate the influence of operating parameters on the essential oil yield and its chemical composition. The recovered essential oils have been characterized as function of its chemical composition by GC and GC/MS. The effect of the operating parameters on the variation of essential oils chemical composition obtained with the two conventional processes has been studied and optimal operating experimental conditions were obtained. Moreover, the extraction of essential oils by the innovating techniques has been applied. Thus, a comparison between innovating techniques and conventional techniques in term of yield and kinetics has been studied. The comparative research showed that advantages microwaves processes are the gain of time and therefore the economy of energy.

Key words: *Artemisia herba Alba*, essential oil, extraction, optimization, microwaves.

DEDICACES

A la mémoire de mon père et de mon frère

A ma tendre mère

A mon cher mari

A toute ma famille

Khalida

REMERCIEMENTS

J'adresse tout d'abord mes sincères remerciements à mon directeur de thèse, Monsieur Mohamed Bezzina, Professeur à l'Université Saad Dahlab de Blida, pour son aide précieuse, le suivi et l'intérêt qu'il m'a apporté tout au long de ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude pour ses précieux conseils et ses encouragements.

Je ne saurais assez exprimer mes remerciements à mon Co-directeur de thèse, Monsieur Farid Chemat, Professeur à l'Université d'Avignon et des pays de Vaucluse. France, pour l'initiation à la technique innovante du chauffage micro-ondes appliquée à l'extraction des huiles essentielles. Je tiens à lui exprimer ma sincère gratitude pour la patience, l'aide précieuse, le soutien moral, les précieux conseils qu'il m'a apporté pour faire aboutir à cette thèse.

Je tiens à exprimer mes remerciements à Monsieur H. Khalaf, Professeur à la faculté des sciences de l'Ingénieur USD de Blida pour l'honneur qu'il m'a fait de présider ce jury. Je saisis l'occasion pour lui remercier pour l'aide qu'il m'a apporté.

Je tiens à remercier les membres du jury de ma thèse (dans l'ordre alphabétique) :

Madame C. Boutekdjiret (Professeur à l'école Nationale Polytechnique d'El-Harrach), Monsieur A. Dahmani (Professeur à la faculté de Chimie, USTHB) et Monsieur F. Hanane (Professeur à la faculté des sciences, USD de Blida) de m'avoir honoré de leurs présences et accepté de juger ce travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur A. Khelifa, Monsieur O. Bouras (maître de conférence) et Mesdames (Maîtres de Conférences) : Z. Chemat, N. Bouchenafa et A. Hadj-Ziane, du département de Chimie Industrielle de L'USD de Blida pour leurs aides et leurs encouragements.

Je suis reconnaissante à tous les membres du laboratoire éco-extraction végétal UMR A408-UAPV. (France) pour leur sympathie, leurs aides scientifiques durant mon séjour et particulièrement à Madame S .Issartier.

Que tous ceux qui m'ont fait bénéficier de leur compétence et de leur expérience lors de la réalisation de ce travail trouvent ici l'assurance de mes sincères remerciements et particulièrement à Monsieur N. Bousbia..

Que tous mes amis trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude pour leur soutien et leurs encouragements.

Mes sincères remerciements se dirigent vers les membres de ma famille pour leur soutien moral et leurs encouragements.

Pour finir, je voudrais exprimer toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude à ma mère et à mon mari. A ces chères personnes, je leur dédie ce travail. « Sans vous je ne serai pas là aujourd'hui, vous m'avez toujours encouragé et donné la confiance, vous m'avez tant soutenu, donné la force et l'amour pour que je puisse réussir. Vous avez fait de moi ce je suis aujourd'hui et sans vous, je n'aurai jamais eu la force de poursuivre mon parcours ».

TABLE DES MATIERES

RESUME	1
REMERCIEMENTS	3
TABLE DES MATIERES	5
LISTE DES ILLUSTRATIONS, FIGURES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	14
1. LA MATIERE VEGETALE : ARTEMISIA HERBA ALBA	16
1.1. Présentation de la plante Artemisia herba alba	16
1.1.1. Classification botanique	16
1.1.2. Description botanique	18
1.1.3. Répartition géographique et écologique	18
1.1.4. Usages	19
1.1.4.1. usages médicaux	19
1.1.4.2. Autres usages	20
1.1.4.3. Propriétés allélopathiques	20
1.2. Travaux antérieurs déjà réalisés sur la plante Artemisia herba alba	21
2. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES	26
2.1. Les huiles essentielles	26
2.1.1. Généralités	26
2.1.2. Définition, répartition, localisation et rôle écologique	26
2.1.3. Composition des huiles essentielles	28
2.1.3.a. Les terpènes	28
2.1.3.b. Les composés aromatiques	30
2.1.5. Relations structures- activités des huiles essentielles	32
2.2. Procédés d'obtention des huiles essentielles	34
2.2.1. Les techniques d'extraction conventionnelles	34
2.2.1.1. L'hydrodistillation simple	34
2.2.1.2. L'entraînement à la vapeur d'eau	36
2.2.1.3. L'hydrodiffusion	36
2.2.1.4. L'expression à froid	37
2.2.1.5. Distillation sèche	37
2.2.1.6. Huile produites par pyrogénéation du bois	37
2.2.2. Les techniques d'extractions innovantes	38
2.2.2.1. L'extraction par ultra-sons ou sonication (Ultrasound-assisted Extraction)	38
2.2.2.2. L'extraction assistée par micro-ondes	39
2.2.2.2.1. Extraction par solvant assistée par micro-ondes (Microwave-Assisted Solvent Extraction)	43
2.2.2.2.2. Hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulsé (Vacuum Microwave Hydrodistillation)	45
2.2.2.2.3. Hydrodistillation assistée par micro-ondes (MWHD)	47

2.2.2.2.4. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Solvent Free Microwave Extraction ,SFME)	48
2.2.2.2.5. Extraction par hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité (MHG)	50
2.2.2.2.6. Entraînement à la vapeur assistée sous micro-ondes(Microwave steam distillation MSD)	53
2.2.2.3. Extraction par fluide supercritique (Supercritical Fluid Extraction SFE) / (extraction par CO ₂ supercritique)	54
2.2.2.4. Extraction par l'eau subcritique (Subcritical Water Extraction (SWE), ou continous Subcritical Water Extraction (CSWE)	58
2.2.2.5. Extraction par Détente Instantanée Contrôlée (DIC)	61
2.2.2.6. Le procédé Flash détente	62
2.3. Conclusion	63
3. L'ENTRAÎNEMENT A LA VAPEUR D'EAU	64
3.1. Introduction	64
3.2. Matériels et méthodes	65
3.2.1. Conduite de l'entraînement à la vapeur d'eau	65
3.2.2. Paramètres intervenant dans le procédé d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (EV)	66
3.2.3 Optimisation des conditions opératoires de l'entraînement à la vapeur d'eau	66
3.2.3.1. Identification et choix des paramètres	66
3.2.3.2 . Méthodologie des plans d'expériences	67
3.2.3.2.1. Présentation des plans composites centrés	69
3.2.3.3. Choix du domaine expérimental	71
3.2.4. Analyses statistiques	73
3.2.5. Analyse par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	74
3.2.6. Détermination des propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de l'Artemisia herba alba par EV	75
3.3. Résultats et discussions	76
3.3.1. Expérimentation	76
3.3.2. Etude des effets du temps d'extraction, de la masse végétale et du débit de vapeur sur le rendement	77
3.3.2.1. Analyse de la variance des résultats (ANAVAR)	77
3.3.2.2. Analyse graphique des résultats	80

3.3.2.3. Coefficients de détermination du modèle	83
3.3.2.4. Détermination du modèle mathématique	84
3.3.2.5. Définition des conditions optimales	86
3.3.3. Etude de la variation de la composition chimique de l'huile essentielle en fonction des paramètres opératoires	90
3.3.3.1. Résultats obtenus	90
3.3.3.2. Analyse des résultats	92
3.3.3.2.1. Modèle mathématique	92
3.3.3.2.2. Analyse de la variance	94
3.4. Composition chimique de l'huile essentielle obtenue avec les conditions Optimales	102
3.5. Analyse physico-chimique de l'huile essentielle d'artemisia herba alba	104
3.6. Compréhension du phénomène mis en jeu et mécanisme de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	104
3.6.1. Analyse de la morphologie de l'artemisia herba alba par Microscopie électronique à Balayage	104
3.6.2. Effet de la température d'ébullition et de la solubilité	106
3.7. Conclusion	109
4. L'HYDRODIFFUSION	110
4.1. Introduction	110
4.2. Matériels et méthodes	111
4.2.1. Dispositif expérimental	111
4.2.2. Conduite de l'expérimentation	112
4.2.3. Optimisation par la méthodologie des plans d'expériences	112
4.2.4. Analyse statistique	114
4.2.5. Analyse par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	114
4.2.6. Analyses physico-chimiques de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba	114
4.3. Résultats et discussions	114
4.3.1. Choix du domaine d'étude	114
4.3.2. Expérimentation	115
4.3.3. Analyse statistique des résultats	116
4.3.3.1. Analyse de la variance	117

4.3.3.2. Analyse graphique des résultats	118
4.3.3.3. Coefficient de détermination du modèle	123
4.3.3.4. Modèle mathématique	123
4.3.3.5. Définition des conditions optimales et surfaces de réponses	124
4.3.4. Etude multi variée de la composition chimique de l'huile essentielle	127
4.3.4.1. Résultats obtenus	127
4.3.4.2. Analyse des résultats	130
4.3.4.2.1. Modèle mathématique	130
4.3.4.2.2. Analyse de la variance	131
4.3.4.2.3. Etude des effets	134
4.4. Composition chimique de l'huile essentielle obtenue avec les conditions Optimales	137
4.5. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle d'artemisia herba alba	139
4.6. Conclusion	139
5. EXTRACTION ASSISTEE PAR MICRO- ONDES	140
5.1. Introduction	140
5.2. Extraction des huiles essentielles	140
5.2.1. L'extraction par entrainement à la vapeur d'eau	140
5.2.2. L'extraction par hydrodiffusion	141
5.2.3. L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes	142
5.2.4. L'extraction par hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité	145
5.3. Extraction de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba :	
Analyse quantitative	147
5.4. Influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle	147
5.5. Composition chimique de l'huile essentielle	151
5.6. Compréhension de l'extraction des huiles essentielles	151
5.6.1. Mécanisme de l'extraction des huiles essentielles	151
5.6.2. Effet de la température	154
5.6.3. Effet de la solubilité	154
5.7. Conclusion	155
CONCLUSION	156
REFERENCES	159

LISTE DES ILLUSTRATIONS, FIGURES ET TABLEAUX

LISTES DES FIGURES

Figure 1.1 : Un pied d'artemisia herba alba	17
Figure 1.2 : Artemisia herba alba	19
Figure 2.1. Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation d'huile essentielle	35
Figure 2.2. L'hydrodistillation traditionnelle	35
Figure 2.3. Entraînement à la vapeur d'eau et hydrodiffusion	36
Figure 2.4. Le spectre électromagnétique	40
Figure 2.5. Transferts thermiques sous chauffage conventionnel et micro-ondes	41
Figure 2.6. Frissonnement des dipôles soumis à une irradiation micro-ondes	42
Figure 2.7. Schéma d'une installation pilote d'extraction par solvant assistée par micro-ondes	44
Figure 2.8. Schéma d'une installation VMHD	45
Figure 2.9. Evolution des principaux paramètres du procédé VMHD en fonction du temps	46
Figure 2.10. Représentation schématique de l'appareille utilisée dans l'extraction par hydrodistillation assistée par micro-ondes	47
Figure 2.11. Schéma du montage de l'extraction sans solvant assistée par micro-onde (ESSAM)	49
Figure 2.12. Représentation schématique de l'appareille utilisée dans l'extraction par hydrodiffusion et gravité assistée par micro-ondes	51
Figure 2.13. Entraînement à la vapeur assistée sous micro-ondes	53
Figure 2.14. Diagramme du corps pur	54
Figure 2.15. Représentation schématique d'un extracteur par fluide supercritique	57
Figure 2.16. Représentation graphique de la constante diélectrique de l'eau en fonction de la température	59
Figure 2.17. Diagramme schématique d'un extracteur à eau subcritique	61
Figure 2.18. Schéma d'une installation de Flash- Détente	63

Figure 3.1. Dispositif de l'extraction de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba par entraînement à la vapeur d'eau	65
Figure 3.2. Diagramme des effets standardisés sur le rendement	80
Figure 3.3. Effets simples des paramètres sur le rendement	82
Figure 3.4. Effets d'interaction des paramètres sur le rendement	83
Figure 3.5.a. Surfaces des réponses et d'isorréponses correspondants au couple « masse végétale- débit de vapeur » obtenues pour le rendement en huile essentielle	87
Figure 3.5.b. Surfaces des réponses et d'isorréponses correspondants au couple « temps d'extraction- masse végétale » obtenues pour le rendement en huile essentielle	88
Figure 3.5.c. Surfaces des réponses et d'isorréponses correspondants au couple « temps d'extraction- débit de vapeur » obtenues pour le rendement en huile essentielle	89
Figure 3.6. Diagramme de Pareto pour les composés Chrysanthénone et Camphre	96
Figure 3.7. Diagramme des effets simples (a) et des effets d'interaction (b) des paramètres sur la chrysanthénone	97
Figure 3.8. Diagramme des effets simples et des effets d'interactions des paramètres sur le camphre	98
Figure 3.9. Surfaces de réponses obtenues pour la Chrysanthénone	100
Figure 3.10. Surfaces de réponse obtenues pour le Camphre	101
Figure 3.11. Distribution en pourcentage des composés de l'huile essentielle d'artemisia herba alba	102
Figure 3.12. Morphologie de la plante	106
Figure 3.13. Evolution de la teneur relative de quelques constituants de l'huile essentielle d'artemisia herba alba au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau	108
Figure 4.1. Dispositif expérimental utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba par hydrodiffusion	111
Figure 4.2. Diagramme des effets standardisés sur le rendement	118
Figure 4.3.a. Effet simple du temps d'extraction sur le rendement	119
Figure 4.3.b. Effet simple de la masse végétale sur le rendement	120
Figure 4.3.c. Effet simple du débit de vapeur d'eau sur le rendement	120

Figure 4.4.a. Effet d'interaction entre les paramètres « temps d'extraction »- « masse végétale »	121
Figure 4.4.b. Effet d'interaction entre les paramètres « temps d'extraction»-« débit de vapeur »	122
Figure 4.4.c. Effet d'interaction entre les paramètres « masse végétale»-« débit de vapeur »	122
Figure 4.5.a. Surface de réponse correspondant au couple temps d'extraction- masse végétale pour un débit de vapeur égale à 2.495 ml/min	125
Figure 4.5.b. Surface de réponse correspondant au couple temps d'extraction- débit de vapeur d'eau pour une masse végétale égale à 35g	125
Figure 4.5.c. Surface de réponse correspondant au couple masse de la matière végétale- débit de vapeur d'eau pour un temps d'extraction égale à 120min	126
Figure 4.6. Diagramme des effets standardisés sur les composés	133
Figure 4.7. Diagramme des effets simples et des effets d'interactions des paramètres sur le camphre	134
Figure 4.8. Diagramme des effets simples et effets d'interactions des paramètres sur la chrysanthénone	135
Figure 4.9. Diagramme des effets simples et effets d'interactions des paramètres sur le 1-8 cinéole	136
Figure 4.10. Distribution en pourcentage des différents composants de l'huile essentielle d'artemisia herba alba	137
Figure 5.1. Schéma du montage de l'entraînement à la vapeur d'eau	141
Figure 5.2. Schéma du montage de l'hydrodiffusion	142
Figure 5.3. Schéma du montage de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM)	143
Figure 5.4. Principe de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes	144
Figure 5.5. Schéma du montage de l'extraction par hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité	146
Figure 5.6. Cinétique de l'extraction de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba par entraînement à la vapeur d'eau	148
Figure 5.7. Cinétique de l'extraction de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba par hydrodiffusion	148
Figure 5.8. Cinétique de l'extraction de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba par ESSAM	149

Figure 5.9. Cinétique de l'extraction de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba par MHG	149
Figure 5.10. Les étapes d'obtention d'une huile essentielle	152
Figure 5.11. Différentes étapes du processus de transfert de matière lors de l'extraction des huiles essentielles	153

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1. Les composés contenus dans l'HE selon la formule moléculaire, le point d'ébullition et la solubilité dans l'eau	31
Tableau 2.2. Propriétés physiques pour les gaz, les liquides et les fluides supercritiques	55
Tableau 2.3. les propriétés critiques de différents solvants utilisables dans l'extraction par fluide supercritique	56
Tableau 2.4. Comparaison entre SC-CO ₂ et CSWE pour l'extraction des huiles essentielles des plantes	60
Tableau 3.1. Description des 20 expériences (exprimés en valeurs codées)	70
Tableau 3.2. Domaine d'étude des facteurs	71
Tableau 3.3. Domaine d'étude des paramètres opératoires par le plan comp à faces centrées (en coordonnées réelles et en coordonnées centrés réduite	72
Tableau 3.4. Conditions opératoires des analyses en chromatographie en phase gazeuse	74
Tableau 3.5. Conditions opératoires des analyses en CG/SM	75
Tableau 3.6. Expériences réalisées dans le plan expérimental et réponses obtenues	76
Tableau 3.7. Analyse de la variance du rendement en huile essentielle	78
Tableau 3.8. Effets estimés des coefficients	84
Tableau 3.9. Valeurs expérimentales et prédites du rendement en huile essentielle	85
Tableau 3.10. Valeurs des paramètres opératoires optimisés	89
Tableau 3.11. Variation de la teneur (%) des constituants majoritaires de l'huile essentielle en fonction des conditions opératoires	91
Tableau 3.12. Coefficients de régression estimés pour chaque composé	93
Tableau 3.13. Résumé de l'étude ANAVAR réalisée pour les composés majoritaires de l'huile essentielle	95

Tableau 3.14. Composition chimique de l'huile essentielle obtenue avec les conditions optimales de l'artemisia herba alba	103
Tableau 3.15. Constantes physico-chimique de l'huile essentielle d'artemisia herba alba	104
Tableau 3.16. Caractéristiques de quelques composés de l'huile essentielle d'artemisia herba alba	107
Tableau 4.1. Domaine de variation des paramètres opératoires, niveaux inférieurs et supérieurs du plan composite à faces centrées (valeur codée et non codée)	115
Tableau 4.2. Conditions opératoires et résultats des essais du plan composite à faces centrées	116
Tableau 4.3. Analyse de la variance du rendement en huile essentielle	117
Tableau 4.4. Effets estimés des coefficients	123
Tableau 4.5. Valeurs des paramètres opératoires optimisés	127
Tableau 4.6. Variation de la teneur (%) des constituants de l'huile essentielle en fonction des conditions opératoires	129
Tableau 4.7. Coefficients de régression estimés pour les différents composés majoritaires de l'huile essentielle	130
Tableau 4.8. Résumé de l'étude de l'ANAVAR réalisée pour les composés majoritaires de l'huile essentielle	132
Tableau 4.9. Composition chimique de l'huile essentielle obtenue avec les conditions optimales de l'artemisia herba alba	138
Tableau 4.10. Propriétés physico-chimique de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba	139
Tableau 5.1. Conditions opératoires utilisées lors de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes	145
Tableau 5.2. Conditions opératoires utilisées lors de l'extraction par hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité	146
Tableau 5.3. Rendements en huile essentielle de l'artemisia herba alba obtenus selon les quatre méthodes d'extractions	147
Tableau 5.4. Résultats obtenus à partir de l'extraction des huiles essentielles avec les différents procédés	151
Tableau 5.5. Teneur des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par les différentes techniques	151

INTRODUCTION

Les années 1990 du siècle dernier ont été marquées par une prise de conscience générale en faveur de la santé de l'homme et de la qualité de l'environnement. L'agriculture biologique, la phytothérapie et l'aromathérapie ont suscité un regain d'intérêt pour la culture des plantes aromatiques et médicinales (PAM) pour une utilisation en frais, en séché ou sous forme d'extrait. Les plantes aromatiques médicinales (PAM) ont pris un essor considérable eu égard à la demande sans cesse accrue du marché international.

L'Algérie, de par sa situation géographique, constitue un cadre naturel tout à fait original offrant une gamme complète de bioclimats méditerranéens et sahariens favorisant une flore riche et variée. Parmi les plantes aromatiques et médicinales nationales, notre intérêt s'est porté sur l'armoise blanche : *Artemisia herba alba*, provenant de la région nord du Djelfa située à environ 200Km du sud d'Alger. Il s'agit d'une plante spontanée, vivace, très répandue en Algérie et répertoriée dans diverses régions du monde pour son large utilisation en médecine traditionnelle. Dans le cas des genres *Artemisia*, plusieurs recherches ont été effectuées. En général, les huiles essentielles de ce genre ont fait objet de plusieurs études à travers le monde. En effet, l'huile essentielle contenue dans les feuilles du genre *Artemisia* est connue pour ses propriétés médicinales. C'est dans ce contexte que nous avons entrepris ce travail, dans le but de faire une étude sur les procédés d'extraction des huiles essentielles et l'approche des conditions optimales ainsi que la caractérisation de l'huile essentielle de l'armoise blanche grâce à la détermination de sa composition chimique. Dans ce travail, nous avons étudié et optimisé deux procédés conventionnels d'une part: entraînement à la vapeur d'eau et hydrodiffusion et d'autre part, nous avons appliqué deux techniques innovantes pour l'extraction de l'huile essentielle d'armoise blanche : extraction sans solvant assistée par micro-ondes et hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité.

Ce manuscrit est composé de trois parties : La première partie est une synthèse bibliographique dans laquelle le premier chapitre présentera l'armoise blanche (aspect botanique, écologique et usages et les travaux dont elle a fait objet). Par la suite, le second chapitre de cette même partie exposera des généralités sur les

huiles essentielles et décrira les différents procédés d'extractions conventionnels et innovants utilisés dans l'extraction des huiles essentielles.

La deuxième partie est consacrée à l'étude de deux procédés conventionnels : entraînement à la vapeur d'eau et hydrodiffusion. Elle présente dans un troisième chapitre l'étude du procédé entraînement à la vapeur d'eau réalisée à l'échelle laboratoire. Cette partie du travail a pour objectif d'étudier l'influence des paramètres opératoires sur le rendement et sur la composition chimique. Elle expose les démarches expérimentales qui ont été adoptés pour mener cette étude. Une méthodologie des plans d'expériences en adoptant un plan composite à faces centrées sera utilisée pour étudier, quantifier les effets des paramètres opératoires et optimiser l'opération de l'extraction par la suite. La composition chimique de l'huile essentielle obtenue sera effectuée et une étude de la variation de la composition chimique en fonction des paramètres opératoires sera étudiée. Un mécanisme d'extraction sera proposé à la fin dans le but de mieux comprendre les phénomènes mis en jeu lors de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau. Le quatrième chapitre de cette deuxième partie est destiné à l'étude et l'optimisation du procédé d'extraction hydrodiffusion. Une étude par plan d'expériences sera effectuée afin de voir l'influence des paramètres opératoires, quantifier et estimer leurs effets sur le rendement et sur la variation de la composition chimique de l'huile essentielle. La caractérisation physico-chimique de l'huile essentielle sera déterminée.

Nous répondrons à une question importante pour la production des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques : Est-ce que le procédé est une extraction ou une simple isolation par distillation. La troisième partie est consacrée à l'application de deux procédés innovants : l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME) et l'hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité (MHG). Une étude comparative entre les procédés d'extraction innovants assistée par micro-ondes et les procédés classiques : l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion sera réalisée en terme de rendement, de cinétique et de composition chimique des huiles essentielles obtenues. Un mécanisme d'extraction sera proposé afin de comprendre les phénomènes régissant ces différents procédés.

CHAPITRE 1

LA MATIERE VEGETALE : ARTEMISIA HERBA ALBA

1.1. Présentation de la plante Artemisia herba alba

On estime environ 20000, le nombre d'espèces de plantes utilisées dans le monde pour des fins alimentaires, cosmétiques, chimiques, pharmaceutiques, thérapeutiques et agro-alimentaires [1].

L'Artemisia appartient à la famille des astéracées, et comprend environ 400 espèces réparties sur les cinq continents [2]. Elle se trouve principalement dans les zones arides et semi-arides de l'Europe, l'Amérique, l'Afrique du nord et l'Asie [3].

Les espèces d'Artemisia sont utilisées pour le traitement de la malaria, de l'hépatite, du cancer, de certaines inflammations et des infections bactériennes, fongiques et virales [4,5].

1.1.1. Classification botanique

D'après DEYSSON (1978) [6], l'Artemisia herba alba est classée dans :

Embranchement : *Spermaphytes*

Sous embranchement : *Angiospermes*

Famille : *Astéracée ou composée*

Sous famille : *Radiées*

Classe : *Dicotylédone*

Genre : *Artemisia*

Espèce : *Artemisia herba alba*

Noms vernaculaires

Nom Français : Armoise blanche ;

Nom Arabe : Chih.

Nom Anglais : desert wormwood.



Figure 1.1: Un pied d'*Artemisia herba alba*

L'*Artemisia herba-alba* appartient à l'embranchement des spermaphytes; à la classe des dicotylédones et à la grande famille des composés récemment appelés astéracées. Une des familles d'Angiospermes les plus vastes avec plus de 20 000 espèces répertoriées [7]. C'est une famille répandue dans le monde entier, mais principalement dans les régions tempérées. Les premières Astéracées sont apparues à l'oligocène, il y'a environ 20 millions d'années. Ce sont surtout des plantes herbacées, vivaces et à feuilles alternes [8].

1.1.2. Description botanique

Artemisia herba-alba est un buisson très ramifié de 30 à 50 cm de hauteur; elle est caractérisée par des capitules pauciflores en générale, homogames, à fleurs toutes hermaphrodites. Réceptacle nu. Corolle insérée très obliquement sur l'ovaire. C'est une plante suffrutescente. Les feuilles sont courtes, généralement pubescentes – argentées [9]. La plante est polymorphe, les tiges sont nombreuses et se présentent sous forme de véritables petits troncs. En profondeur, les racines deviennent peu épaisses et très denses [10]. (figure1 & figure2). C'est une plante ligneuse à odeur aromatique, à développement continu toute l'année et à floraison tardive (novembre, décembre) [11].

1.1.3. Répartition géographique et écologique

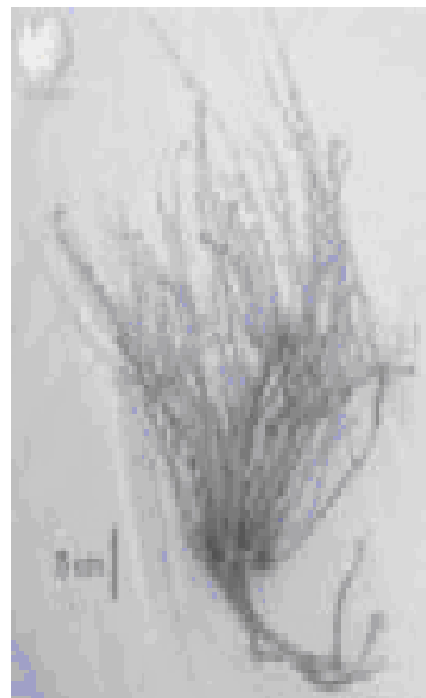
Artemisia herba alba (« armoise blanche », « chih »), est une espèce d'Afrique du nord, plante steppique, très abondante sur les hauts plateaux, plus rare au Sahara septentrionale [12].

Artemisia herba alba est très répandue en Algérie. Abondante sur les hauts plateaux où l'ensemble des Hautes Plaines offre un paysage de steppes uniques, qui occupent un espace de l'ordre de 9% de la superficie totale de l'Algérie, caractérisé par un climat semi aride. A l'ouest, elles s'étirent sur près de 500 km sur une largeur de 100 à 200 km; et à l'est, elles s'étendent sur près de 200 km, et en raison d'un relief plus élevé (800 à 1 000 m) on parle de Hauts Plateaux [13]. Il est compris entre l'Atlas tellien au nord et l'Atlas Saharien au sud. Il s'étend sur plus de 1200 Km avec une pénétration Nord-Sud comprise entre 80 et 200 Km [14]. Les sols steppiques sont caractérisés par la présence d'accumulation calcaire réduisant la profondeur du sol utile, ainsi qu'une faible teneur en matière organique et en biogènes et une forte sensibilité à l'érosion et à la dégradation [15]. L'armoise blanche présente une vaste répartition géographique couvrant, environ 4 millions d'hectares et se développe dans les steppes argileuses, les sols tassés relativement peu perméables, les pâturages rocaillieux et terreux. Elle se trouve sur les dayas, les dépressions et les secteurs plus ou moins humides [16,17].

L'armoise est une espèce bien adaptée à la sécheresse et à la pression animale, en particulier ovine [16]. C'est l'une des espèces candidates à la reconstitution des écosystèmes pastoraux dégradés en bioclimat méditerranéen [18].



Planche botanique



Spécimen déraciné

Figure 1.2 : Artemisia herba alba

1.1.4. Usages

1.1.4.1. Usages médicaux

Artemisia herba alba est une plante aromatique médicinale, largement utilisée en Médecine traditionnelle pour le traitement des troubles gastriques, du diabète, de l'hypertension artérielle, des problèmes cardiovasculaires et pour le traitement de la jaunisse[19-29].

Elle a des propriétés : antimicrobienne, emménagogue et est utilisée comme antihelminthique et antidote de poison [30,31]. Elle est utilisée dans le traitement des syndromes neurologiques et psychiatriques tels que la maladie d'Alzheimer, l'épilepsie et la dépression [32,33]. Elle possède une activité antileishmanienne, et elle est utilisée aussi comme vermifuge [34].

En Algérie, une approche ethnopharmacologique sur l'usage médicinale de l'*artemisia herba alba* par la population a été réalisée sur trois oasis (Ouargla, EL-Goléa, Béni Abbes) situées à environ 1000 Km au sud d'Alger. Cette approche a montré que la plante présentait une indication commune aux trois régions contre les troubles digestifs et elle est utilisée comme antihelminthique à EL-Goléa et Béni Abbes [35].

1.1.4.2. Autres usages

Artemisia herba alba est largement utilisée pour parfumer le thé et le café dans le Sud des pays du Maghreb. La plante se caractérise par une bonne valeur fourragère où les animaux de l'espèce ovine appartenant aux populations des hauts plateaux présahariens d'Algérie se nourrissent de l'armoise blanche, qui demeure présente toute l'année.

1.1.4.3. Propriétés allélopathiques

L'allélopathie se définit comme « tout effet direct ou indirect, positif ou négatif, d'une plante sur une autre par le biais de composés biochimiques libérés dans l'environnement (atmosphère et sol) ». Certains composés des huiles essentielles exercent un effet allélopathique (effet inhibiteur) sur la germination et la croissance de certaines plantes. Cette allélopathie peut affecter toutes les phases du cycle d'azote durant lequel sont impliqués des plantes ou des microorganismes. Elle peut donc affecter la fixation biologique d'azote, la minéralisation et/ou la nitrification [36]. Les plantes médicinales peuvent contenir des composés bioactifs possédant un effet inhibiteur. Des études réalisées sur les propriétés allélopathiques de l'*artemisia herba alba* ont révélé que les composés phénoliques de la plante étaient les responsables de l'effet phytotoxique sur la germination et la croissance des graines de *Anabasis setifera* [37].

Selon *A. Escudero et al* [38]; l'armoise blanche est caractérisée par un comportement allélopathique. Elle a un effet inhibiteur sur la germination de gypsophyte *Helianthemum squantum*.

1.2. Travaux antérieurs déjà réalisés sur la plante artemisia herba alba

Différents travaux de recherches ont été menés sur l'*artemisia herba alba* en provenance de différentes régions et différentes conditions climatiques. Ils concernent la composition de l'huile essentielle, l'isolation et l'élucidation de la structure des lactones sesquiterpéniques et des flavonoïdes qu'elle contient.

En 1979, *Benjlali et al.* [39-40] étendent cette étude à une cinquantaine de peuplements et distinguent selon les constituants majeurs de l'huile essentielle et leurs teneurs, huit types différents qu'ils appellent chémotypes :

- Type à α -thuyone ($68 \pm 4\%$)
- Type à β - thuyone ($58 \pm 15\%$)
- Type à camphre ($> 52\%$)
- Type à camphre ($43 \pm 9\%$) et cétones (Filifolone et chrysanthénone)
- Type à l'acétate de chrysanthényle (38 à 70%)
- Type à α -thuyone ($31 \pm 3\%$) et à camphre ($38 \pm 3\%$)
- Type à α - thuyone ($31 \pm 3\%$) et β -thuyone ($30 \pm 3\%$)
- Type à davanone

D'autres études ont été réalisées [41-43] sur l'huile essentielle d'*artemisia herba alba* provenant des différentes régions d'Espagne. Elles ont identifié que l'huile essentielle collectée dans la région de Valencia est composée principalement du camphre et du 1,8-cinéole alors que celle collectée à Madrid est constituée principalement par le camphre, le 1,8-cinéole, un sesquiterpène non identifié et alpha -terpinéol. De plus l'identification de l'huile essentielle récoltée en Jaén province est composée principalement par: Davanone, p-cymène, 1,8-cinéole, chrysanthénone, cis-chrysanthényl acétate, gamma térpinène, myrcène et camphre.

- *Les résultats d'une étude menée par G. Vernin et al. [44]* sur la composition chimique de l'huile essentielle de différentes populations de la plante à différents stades de son développement. Ils rapportent que cette huile essentielle est riche en camphre(19-48%),1-8cineole(5-20%), Chrysanthénone (5-22,5%), α -thujone (1-26,7%), β -thujone (1,65-9,3%) et camphène (1,7-7,9%).Ils en ont conclu que cette huile essentielle appartient à un chémotype camphre/ thujone/ Chrysanthénone.
- *S.Salido et al. [45]*, étudiant la composition de l'huile essentielle de la partie aérienne de 16 spécimens de la plante d'Espagne, enregistrent un nouveau chémotype (comprenant davanone, 1,8-cinéole, chrysanthénone, cis-chrysanthenol, cis-chrysanthenyl acétate). Il est à noter que cette huile essentielle a été isolée par entraînement à la vapeur et le rendement en huile essentielle de 16 échantillons calculé à partir de la matière végétale sèche varie entre 0,41% et 2,30%.
- *A.Lamiri et al [46]*, étudiant la composition et l'effet bio insecticide de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de trois échantillons différents de la plante du Maroc, révèlent la présence de différents chémotypes : un type à (α -thujone), un type à (camphre) et un type à (α -thujone + camphre) et en étudiant l'effet insecticide de l'huile essentielle d'A. herba alba des trois échantillons, trouvent qu'elle possède différents niveaux de toxicité et effets insecticides.
- *A.Akrout [47]* a identifié l'huile essentielle de la partie aérienne de l'armoise blanche récoltée de la chaîne montagneuse de la région de Matmata (Tunisie). L'huile essentielle a été isolée par hydrodistillation. Le rendement en huile essentielle de l'artemisia herba alba de Matmata est de 0,65%. Elle est constitué principalement par α -thujone (43,85%), trans-acétate de sabinyle (17,46%) et β -thujone (10,10%) accompagné de faible quantité de 1,8-cinéole (3,30%), Chrysanthénone (2,32%) et acétate de chrysanthényl (3,93%), cette composition diffère de celle de l'huile de l'armoise blanche d'Algérie par la présence de forte teneur en trans-acétate de sabinyle, faible teneur en Chrysanthénone et teneur élevée en α -thujone. Cette

composition caractéristique peut confier à l'armoise blanche de Matmata un nouveau chémotype (à α -thujone et trans-acétate de sabinyle).

- *Des travaux menés par M.Hudaib et al.* [48] sur la plante de la Jordanie, permettent l'identification de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation. La teneur en cette huile est de 1,3%. Elle est composée de : α et β thujone (16,2% et 8,5%) ; de l'alcool santoline (13,0%), Artemisia cétone (12,4%), transpinocarvéole (3,9%), artemisyl acétate (3,7%), trans-sabinyle acétate (5,4%) ; eudesmol (4,2%), caryophyllène acétate (5,7%),
- *T.Dob et al.* [49] rapportent que la teneur en huile essentielle extraite par hydrodistillation de l'artemisia herba alba collectée dans la région de M'sila-Algérie soit de 1,02% (exprimée en % de la matière végétale sèche). Cette huile est constituée principalement de camphre (19,4%), de transpinocarvéole (16,9%), de Chrysanthénone (15,8%) et de β -thujone (15%).
- *M.Benabdellah et al.* [50] ont identifié l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de l'artemisia herba alba collectée dans la région de Aïnes-sefra de l'Algérie (819m d'altitude). L'huile essentielle est composée par : Le β -thujone (31,5-41,23%) ; le camphre (16,20-24,58%) ; 1,8-cineole (0,12-9,86%) ; camphène (3,14-4,25%) ; sabinène (0,45-2,33%) ; α -thujone (2,25-5,55%). Ils ont montré que cette huile ait un effet inhibiteur contre la corrosion de l'acier (0,21% C, 0,38% Si, 0,09% P, 0,01% Al, 0,05% Mn, 0,05% S) en présence de la solution de l'acide phosphorique $2\text{MH}_3\text{PO}_4$.
- *F.Boukrich et al.* [51] ont déterminé les rendements en huiles essentielles de l'espèce Artemisia herba alba originaire de 4 régions différentes de la Tunisie ; il s'avère, d'après cette étude, que le rendement en huile essentielle de l'armoise blanche varie de 1,63 à 4,29% (exprimé en % de la matière végétale sèche). Les meilleurs rendements sont enregistrés dans les régions du sud et du centre.

- *L.Messai et al.* [52] ont montré que l'extraction par un solvant organique de la partie aérienne de la plante *A. herba alba* collectée de Tébessa (Est de l'Algérie) a permis de donner deux nouveaux composés sesquiterpènes lactones. L'extraction a été réalisée avec CH_2Cl_2 -MeOH à température ambiante, les deux composés sont : 1β , 9β - Diacetoxyeudesm-3-en-5 α , 6β , 11β H-12,6-olide (1); 1β , 9β - Diacetoxyeudesm-4-en-, 6β , 11β H-12,6-olide (2).
- *M.Houari & A.Ferchichi* [53] ont identifié les compositions de l'huile essentielle de 18 spécimens de la partie aérienne de l'armoise blanche collectés de différentes populations du Sud de la Tunisie. L'huile essentielle a été isolée par hydrodistillation. Le rendement en huile essentielle varie entre 0,68% et 1,93%. L'huile essentielle est principalement constituée de : cinéole, thujones, chrysanthène, camphre, borneol, chrysanthényle acétate, sabinyle acétate, davana éthers et davanone.
- *E.Derwich et al.* [54] ont étudié la composition chimique, le rendement des huiles essentielles et l'activité insecticide des feuilles de trois plantes *artemisia herba alba*, *artemisia absinthium* et *artemisia pontica* récoltées de la région de Guigou et Errachidia (Morocco). Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation et ont été analysées par les techniques CPG, CPG/SM pour déterminer leurs compositions chimiques et identifier leurs chémotypes. Les rendements en huiles essentielles sont de 0,59% pour *artemisia herba alba*, 0,57% pour *artemisia absinthium* et 0,31% pour *artemisia pontica*. Le principal constituant pour les trois huiles essentielles est le α -thujone avec 42,5% de rendement pour *artemisia herba alba*, a 39,69% pour *artemisia absinthium* et 22,13% pour *artemisia pontica*. Les tests effectués sur les insectes ont montré que les insectes ont prouvé qu'ils avaient une sensibilité envers les huiles essentielles des espèces étudiées. Réciproquement *artemisia herba alba* et *artemisia absinthium* ont manifesté une activité insecticide très efficace.
- Une étude a été conçue par *H.Mighri et al.* [55] pour examiner les activités antioxydantes et antimicrobiennes de quatre types d'huiles essentielles

extraites par hydrodistillation de la partie aérienne d'*artemisia herba alba* cultivée dans le sud de Tunisie. La composition chimique a été étudiée en utilisant les techniques CPG et CPG/SM. β -thujone, α -thujone, α -thujone/ β -thujone et 1,8-cinéole/camphre/ α -thujone/ β -thujone sont respectivement, les composés majeurs de ces types d'huiles. L'activité antimicrobienne des différentes huiles a été testée par la méthode de diffusion et de détermination de la zone d'inhibition. Les résultats ont montré que tous les types d'huiles examinés présentaient une importante activité antimicrobienne vis-à-vis les souches testées. En ajout, la capacité antioxydante évaluée *in vitro* par les différents tests a montré une faible activité pour ces huiles d'*A. herba alba*.

CHAPITRE 2

EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

2.1. Les huiles essentielles

2.1.1. Généralités

La cellule végétale est le siège de la biosynthèse des composés fondamentaux de la matière vivante. Elle est capable de coordonner les multiples réactions enzymatiques conduisant à la production des huiles essentielles. Certaines cellules prennent en charge ces biosynthèses et également le stockage des métabolites formés. Il s'agit là de tout un ensemble de réactions biochimiques participant à la vie des plantes : respiration, photosynthèse, etc. [56].

Les plantes aromatiques contiennent deux types de métabolismes: Le métabolisme primaire fournit les constituants de base en quantité élevée. Les plus importants sont les sucres et leurs dérivés, les lipides et les protéines. Le métabolisme secondaire produit des métabolites en faibles quantités, dont les applications dans différents domaines sont de la plus grande importance. Les huiles essentielles, font partie de ce groupe de métabolite avec les alcaloïdes et les phénols [57].

2.1.2. Définition, répartition, localisation

- Définition. Pour la 8^e édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles (= essence = huiles volatiles) sont des « produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatiles, il existe divers procédés ».

Depuis Février 1998, la norme AFNOR NF T 75- 006 a donné la définition d'une huile essentielle comme : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » [58].

Cette définition par procédé est restrictive [59] : elle exclut aussi bien les produits obtenus par tout autre procédé (gaz sous pression, enfleurage). Ceux-ci occupent cependant une place considérable sur les marchés de la pharmacie, des produits d'hygiène et de l'industrie cosmétique, de la parfumerie, ainsi que dans de nombreux secteurs de l'industrie alimentaire : il semble donc utile de définir ci-dessous les termes les plus couramment utilisés dans ce domaine.

- Concrète : extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction au moyen d'un solvant non aqueux, suivie de l'élimination de ce solvant par un procédé physique. Dans la pratique, l'appellation essence concrète ou essence est couramment utilisée.
- Pommade florale : Corps gras obtenu à partir de fleurs soit par enfleurage à froid ou à chaud.
- Résinoïde : extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux suivie de l'élimination de ce solvant par un procédé physique.
- Absolue : produit ayant une odeur caractéristique, obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par extraction à l'éthanol à température ambiante. La solution éthanolique obtenue est généralement refroidie et filtrée dans le but de supprimer les cires ; l'éthanol est ensuite éliminé par distillation.

- Répartition. Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : Fleurs (bergamotier), feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier noble) et, dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal), des racines (vétiver), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits (toute-épice, anis), des graines (muscade). Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation.
- Localisation. La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisées. souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante ; elles sont localisées dans diverses structures de la plante telle que les cellules épidermiques, les cellules sécrétrices internes, les poils sécréteurs ou les trichomes , les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs .
- Rôle écologique. La fonction biologique des terpènes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure. Il est toutefois vraisemblable qu'ils ont un rôle écologique. à l'appui de cette hypothèse, on remarquera que le rôle de certains d'entre eux a été établi expérimentalement aussi bien dans le domaine des interactions végétales (agents allélopathiques, notamment inhibiteurs de germination) que dans celui des interactions végétal- animal : protection contre les prédateurs (insectes, champignons) et attraction des pollinisateurs.

2.1.3. Composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi-exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpènes et terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (beaucoup moins fréquent) d'autre part.

2.1.3. a. Les terpènes

Vers le milieu du XIX^{ème} siècle, les travaux sur l'essence de térébenthine sont à l'origine du terme "terpènes" donné aux hydrocarbures de formule brute $C_{10}H_{16}$. Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Ils sont classés chimiquement en fonction du nombre d'unités

isopréniques $(C_5H_8)_n$ constituant leurs structures carbonées, selon la règle élaborée initialement par Léopold Ruzicka [60]. On distingue ainsi selon le nombre de carbone constituant les molécules de ce groupe : Les monoterpènes (C_{10}), les sesquiterpènes (C_{15}), les diterpènes (C_{20}) et les tetraterpènes (C_{40}). Les terpènes les plus rencontrés dans les huiles essentielles sont les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : Les mono- et les sesquiterpènes.

- Monoterpènes : Les monoterpènes sont constitués par 10 atomes de carbone ou deux unités isopréniques. Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle. Ils se composent de plusieurs fonctions [61]:
 - Carbures :
 - Acycliques : myrcène, ocimène, etc.
 - Monocycliques : α - et γ -terpinène, *p*-cymène, phellandrène, etc.
 - Bicycliques : pinènes, camphène, sabinène, etc.
 - Alcools :
 - Acycliques : géraniol, linalol, citronellol, etc.
 - Monocycliques : menthol, α -terpinéol, terpin-1-èn-4-ol.
 - Bicycliques : bornéol, fenchol, chrysanthénol, thyan-3-ol, etc.
 - Aldéhydes :
 - Le plus souvent acycliques : géraniale, néral, citronellal, etc.
 - Cétones :
 - Acycliques : tagétone, etc.
 - Monocycliques : menthone, isomenthone, carvone, pulégone, etc.
 - Bicycliques : camphre, fenchone, thuyones, pinocarvone, etc.
 - Esters :
 - Acycliques : acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronellyle, etc.
 - Monocycliques : acétate de méthyle, acétate d' α -terpinyle , etc.

Bicycliques : acétate d'isobornyle, etc.

- Ethers :
1,8-cinéole, menthofurane, etc.
- Peroxydes : ascaridole, etc.
- Phénols : thymol, carvacrol, etc.
- Sesquiterpènes [61]: les Sesquiterpènes (C_{15}) sont formés de trois unités isopréniques, les mêmes familles chimiques rencontrées dans la série des monoterpènes se retrouvent dans cette série :
 - Carbures : (azulène, β -bisabolène, β -caryophyllène, zingiberène, etc.
 - Alcools : cédrol, farnésol, carotol, β -santalol, etc.
 - Cétones : germacrone, nootkatone, β -vétinone, etc.
 - Epoxyde : oxyde de caryophyllène, etc.

2.1.3. b. Les composés aromatiques [61]

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane ($C_6- C_3$) sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Les composés aromatiques comprennent :

- Aldéhydes : Cinnamaldéhyde
- Alcool : l'alcool cinnamique
- Phénol : chavicol, eugénol
- Dérivées de méthoxy : anéthole, estragole

Le tableau 2.1 présente quelques composés les plus communs qui existent dans les huiles essentielles classés selon leur poids moléculaire

Tableau 2.1 [62]: Les composés contenus dans l'HE selon la formule moléculaire, le point d'ébullition et la solubilité dans l'eau.

	Formule moléculaire	Point d'ébullition (°C)	solubilité dans l'eau à 25 °C (g/L)
Hydrocarbures des monoterpènes			
Limonène	C ₁₀ H ₁₆	175,4	< 10 ⁻³
Pinène	C ₁₀ H ₁₆	157,9	< 10 ⁻³
Sabinène	C ₁₀ H ₁₆	164	< 10 ⁻³
Myrcène	C ₁₀ H ₁₆	167	< 10 ⁻³
γ-terpinène	C ₁₀ H ₁₆	183	< 10 ⁻³
p-cymène	C ₁₀ H ₁₆	173,9	< 10 ⁻³
Hydrocarbures des sesquiterpènes			
β-caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄	268,4	< 10 ⁻³
α-santalène	C ₁₅ H ₂₄	247,6	< 10 ⁻³
α-zingiberène	C ₁₅ H ₂₄	270,7	< 10 ⁻³
β-curcumène	C ₁₅ H ₂₄	266	< 10 ⁻³
Diterpène			
Phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	335,5	< 10 ⁻³
Alcools			
Géraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	229,5	0,67
Linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	198,5	0,67
Aldéhydes			
Citral	C ₁₀ H ₁₆ O	228	-
Cuminaldéhyde	C ₁₀ H ₁₂ O	236	-
Cétones			
Camphre	C ₁₀ H ₁₆ O	207,4	0,92
Carvone	C ₁₀ H ₁₄ O	230,5	1,6
Phénols			
Thymol	C ₁₀ H ₁₄ O	233	0,85
Eugénol	C ₁₀ H ₁₂ O	255	2,52
Carvacrol	C ₁₀ H ₁₄ O	237,2	0,85
Esters			
Acétate de néryle	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	247,5	0,71
Acétate de linalyle	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	220	0,57
Ethers			
1,8-Cinéole	C ₁₀ H ₁₈ O	174,8	5,8 10 ⁻³

La composition chimique, la quantité et la qualité d'une huile essentielle dépendent de plusieurs facteurs à savoir :

- Intrinsèques : Les facteurs génétiques, la localisation, le degré de maturité du végétal concerné et l'étape physiologique (étape de développement de la plante)
- Extrinsèques : le sol, l'environnement. (conditions climatiques, protection de culture, type de culture et mode de récolte).
- Technologiques : mode d'extraction.

Par conséquent la composition chimique d'une huile essentielle peut varier au sein d'une même espèce, on parlera alors de chémotypes : il s'agit d'un polymorphisme chimique.

2.1.5. Relations structures- activités des huiles essentielles [63]

Les huiles essentielles sont employées pour leurs propriétés odorantes d'une part, dans le secteur de cosmétique et dans les compositions parfumantes des détergents. D'autre part pour leurs propriétés médicinales, elles sont utilisées en phytothérapie et aromathérapie. Dans les domaines phytosanitaires et agroalimentaires, les huiles essentielles pourraient être utilisées comme agent de protection contre les microorganismes, les champignons et le processus d'oxydation des aliments.

Selon les constituants majoritaires rencontrés dans les huiles essentielles, il a été possible d'établir certaines relations entre leurs structures et leurs activités :

- Les huiles essentielles à phénols d'origine terpénique

Le thymol et le carvacrol, isomères qui ne diffèrent que par la position de leurs hydroxyle phénolique respectivement en position 3 ou 2, et l'eugénol sont les plus fréquents. Ces huiles possèdent l'activité antiseptique la plus forte. Ces phénols terpéniques ont une dermocausticité. Il convient donc d'éviter leurs applications sur la peau et sur les muqueuses.

- Les huiles essentielles à alcools monoterpéniques

Les alcools monoterpéniques les plus fréquents sont : le bornéol, le linalol, l' α -terpinéol, le menthol, le géraniol et le citronellol. Ces huiles essentielles ont une bonne activité bactéricide ; elles ne sont pas agressives pour la peau et les muqueuses. Parmi elles, nous trouvons des anti-inflammatoires et des antispasmodiques.

- Les huiles essentielles à esters monoterpéniques

Les esters les plus fréquents sont l'acétate de linalyle (huile essentielle de Lavandula angustifolia, huile essentielle de thym à linalol) et l'acétate de bornyle (huile essentielle de romarin officinal).

Ces huiles essentielles ne possèdent pas d'activités antibactériennes et antifongiques intéressantes.

- Les huiles essentielles à étheroxydes

Le plus fréquent est l'eucalyptol ou 1,8-cinéole. Il est présent dans les huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, de myrte, de niaouli. Ces huiles essentielles ont :

- Une activité mucolytique, stimulant les sécrétions glandulaires exocrines ;
- Une activité immunostimulante.

- Les huiles essentielles à cétone

Les plus fréquents sont la thuyone, le camphre, la menthone. Leurs activités bactéricides et fongicides sont limitées. Elles ont un pouvoir régénérant, cicatrisant cutané et antihématomes.

- Les huiles essentielles à aldéhydes

Les principaux aldéhydes rencontrés dans les huiles essentielles sont le citral (huile essentielle de mélisse, huile essentielle de Lemon grass), le citronellal et l'aldéhyde cinnamique. Ces huiles ont un pouvoir dermatocaustique.

- Les huiles essentielles à carbures monoterpéniques et sesquiterpéniques
 - Les carbures terpéniques : ils sont très fréquents dans les huiles essentielles. Les plus importants sont : l' α -pinène, le limonène (huile essentielle de citron, huile essentielle d'angélique) et le para-cymène (huile essentielle de thym, huile essentielle de sarriette des montagnes). Ces composés sont dermocaustiques.
 - Les composés sesquiterpéniques : Ils sont moins répandus que les précédents. Citons le chamazulène (huile essentielle de camomille noble). Ils possèdent en général une bonne tolérance cutanée.

2.2. Procédés d'obtention des huiles essentielles

2.2.1. Les techniques d'extraction conventionnelles

2.2.1.1. L'hydrodistillation simple

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle [64], ainsi que pour le contrôle de qualité [65]. Le procédé correspond à une distillation hétérogène, il consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotrope. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur 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 azéotrope « eau + huile essentielle » distille à une température légèrement inférieure à 100°C à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. Il est ensuite condensé, refroidi et récupéré dans un essencier ou vase

florentin. Une fois condensées, eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : L'huile essentielle. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le principe de recyclage est communément appelé cohobage. (figure2.1)

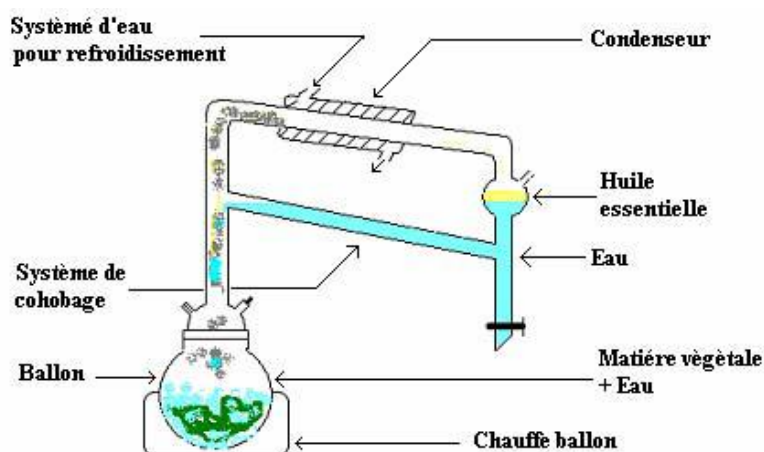


Figure 2 .1 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation d'huile essentielle [66].

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

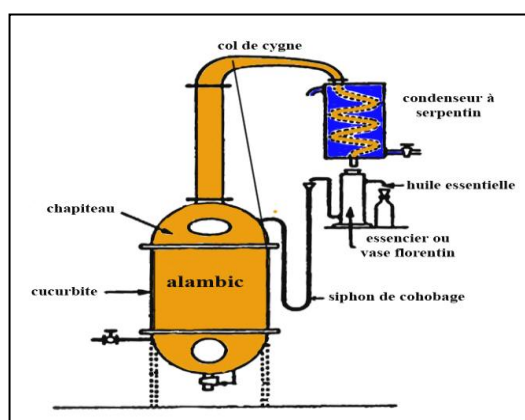


Figure 2.2 : L'hydrodistillation traditionnelle [67]

2.2.1.2. L'entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. L'entraînement à la vapeur d'eau consiste à récupérer l'huile essentielle des végétaux [68], en faisant passer à travers ces derniers un courant de vapeur d'eau, qui traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « vapeur d'eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier, avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

2.2.1.3. L'hydrodiffusion [69]

La vapeur d'eau est pulsée du haut vers le bas à travers la plante aromatique. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau -huile essentielle » dispersé dans la matière végétale. Comme l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. La composition des produits obtenus est qualitativement sensiblement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques.

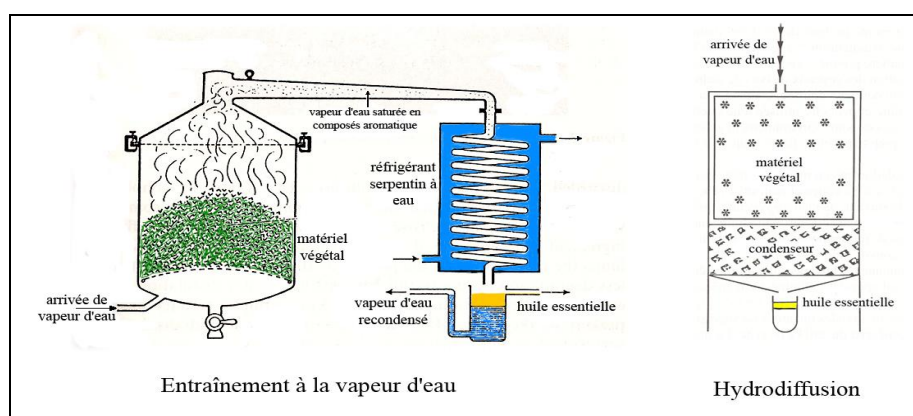


Figure 2.3 : Entraînement à la vapeur d'eau et hydrodiffusion [67]

2.2.1.4. L'expression à froid

Cette méthode n'est utilisée que pour les écorces des Citrus (Citrus limonum, Citrus sinensis...) [63]. Toutefois, ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. C'est pourquoi, spécifiquement pour cette catégorie de matière première, est utilisé un procédé totalement différent d'une distillation classique, qui est l'expression à froid. Le principe de la méthode est très simple : Les « zestes » sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices qui ont été rompues est récupéré par un procédé physique [59].

2.2.1.5. Distillation « sèche »

La distillation « sèche », aussi appelée distillation destructive, est utilisée pour la séparation des produits chimiques liquides contenus dans des matériaux solides. On peut ainsi obtenir, à partir du bois, par calcination, de la créosote (mélange de phénols), de l'alcool méthylique et de nombreux autres produits. En revanche, rares sont les documents se rapportant à la distillation sèche en tant que méthode d'extraction de composés aromatiques volatils. Pourtant, il s'agit d'une méthode d'extraction des huiles essentielles caractéristique des végétaux fragiles tels que les pétales de rose. Dans le domaine de l'extraction végétale, la distillation sèche consiste à chauffer de façon très modérée les plantes ou parties de plantes sans ajout d'eau ni de solvants organiques, puis à condenser les substances volatiles. L'avantage de cette méthode est la température à laquelle se déroule l'extraction : inférieure à 100°C, ce qui évite la dénaturation de certaines molécules thermosensibles [67].

2.2.1.6. Huiles essentielles produites par pyrogénéation du bois [70]

Le procédé de pyrogénéation des végétaux est rarement utilisé en vue de l'obtention des essences : On l'applique seulement au bouleau (*Betula lenta* et *Betula alba* L.) et au cade (*Juniperus oxycedrus* L.). Ce procédé consiste à soumettre l'écorce de bouleau ou le bois (tronc, branches, racines) du cade à l'action destructrice de la chaleur. L'appareillage accompagnant la pyrogénéation du végétal fournit un goudron qui est ensuite soumis à l'entraînement à la vapeur d'eau donnant ainsi une huile d'entraînement ou une huile empyreumatique de décomposition.

2.2.2. Les techniques d'extractions innovantes

Les composés volatils sont connus comme étant thermo- sensibles et vulnérables aux réactions chimiques. La perte de certains constituants, la dégradation de certains composés insaturés par effet thermique ou par hydrolyse, ainsi que la présence de résidus de solvants organiques plus ou moins toxiques peuvent être engendrés par ces techniques d'extraction. Ces désavantages ont incité les chercheurs à découvrir et la mise au point de nouvelles techniques d'extraction des huiles essentielles plus performantes, plus rentables et surtout écologiques. Parmi ces nouvelles techniques figurent : L'extraction par ultrasons, l'extraction assistée par micro-ondes, l'extraction par fluide supercritique, l'extraction par l'eau subcritique, l'extraction par solvants accéléré, l'extraction par détente instantanée contrôlée, la flash détente.

2.2.2.1. L'extraction par ultra-sons ou sonication (Ultrasound-assisted Extraction UAE)

L'utilisation des ultrasons est une technique qui est apparue en 1950 [71], avec des équipements de taille laboratoire. Les deux types d'appareillage utilisés sont les bains à ultrasons et les extracteurs fermés équipés d'un capteur ultrasonique.

Les ultrasons sont des ondes sonores inaudibles par l'humain de fréquence comprises entre 20 KHz et 100MHz. Au-delà de 20 KHz, Les ondes génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. La technique d'extraction par ultrasons est basée sur le principe de cavitation.

Lorsque les US se propagent à travers un liquide, les oscillations des molécules provoquent la formation de zones de compression et de décompression. En dessous d'un certain seuil caractéristique du liquide considéré, les forces maintenant la cohésion du liquide sont vaincues et les bulles de cavitation contenant la vapeur du liquide et des gaz dissous apparaissent. Ce phénomène appelé cavitation, a été étudié de manière théorique et expérimentale. [72] Les zones de décompression et compression provoquent, si elles sont suffisamment intenses, des cavités de faible taille dont l'implosion permet d'atteindre localement

5500°C [73]. Près d'une surface solide, l'effondrement de cavité est asymétrique et produit un jet de liquide à grande vitesse. Le jet liquide a un fort impact sur la surface solide [74].

Cette technique a été employée pour extraire les huiles essentielles [75,76]. Une étude comparative entre UAE et l'extraction des composés aromatiques de l'*Allium sativum* [77] a montré la diminution significative du risque de dégradation thermique et la diminution du temps d'extraction. *Roldan-Gutiérrez et al.* [78] ont appliqué la méthode UAE pour l'extraction des huiles essentielles de différentes plantes aromatiques. La technique UAE a été comparée à la distillation à la vapeur d'eau et à l'extraction par l'eau subcritique. Les avantages de l'UAE sont : rapidité, faible coût, plus riche en composés oxygénés et une plus grande proportion en composés extraits.

Les effets mécaniques des ultrasons incitent la libération des composés solubles de la plante par la destruction des parois cellulaires, augmentant le transfert de masse et facilitant l'accès du solvant au contenu de la cellule. Cet effet mécanique est considérable à faible fréquence (20- 40 KHz) et pratiquement négligeable à 400-800 KHz [79].

L'extraction assistée par ultrasons [80] est une alternative rapide, peu coûteuse, simple et efficace par rapport aux techniques conventionnelles d'extraction. Cette méthode offre de nombreux avantages en terme de rendement, de sélectivité, de temps, d'énergie et d'extraction des composés thermolabiles.

Comparant la technique ultrason à d'autres techniques récentes telles que l'extraction assistée par micro-onde, UAE présente un faible coût de l'appareillage et facilité de l'opération. [81]

2.2.2.2. L'extraction assistée par micro-ondes

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques qui se propagent dans le vide à la vitesse de la lumière. Elles sont caractérisées par une fréquence comprise entre 300MHz et 300GHz, c'est-à-dire par une longueur d'onde comprise entre 1m et 1 cm. Sur le spectre électromagnétique, elles sont situées entre les radiofréquences et les infrarouges (figure 2.4). La fréquence de 2450 MHz, ce qui correspond à une longueur d'onde dans l'air de 12,2cm [82] est

généralement la plus utilisée pour les applications industrielles afin d'éviter le risque d'interférence avec les radiocommunications et les radars.

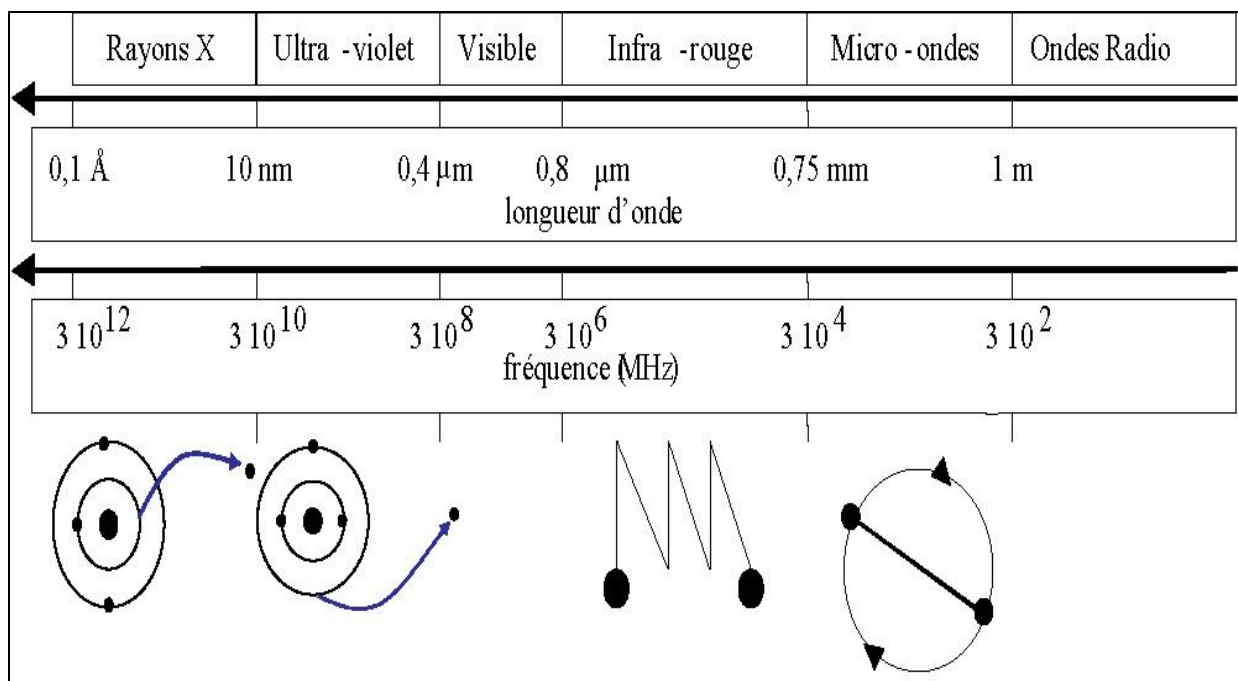


Figure 2.4: Le spectre électromagnétique [67]

Le transfert de chaleur sous chauffage micro-ondes est complètement inversé par rapport au chauffage conventionnel. Alors que le transfert de chaleur classique se transmet de l'extérieur vers l'intérieur du récipient, sous chauffage micro-ondes, le volume traité devient lui même source de chaleur : on parle de dégagement de la chaleur de l'intérieur vers l'extérieur du récipient. La paroi externe du réacteur est plus froide que le milieu du réacteur dans le cas du chauffage micro-ondes, et inversement pour le cas du chauffage conventionnel par double enveloppe, plaque chauffante et flamme. C'est un mode de chauffage instantané en volume et non en surface. Les phénomènes thermiques de conduction et de convection ne jouent plus qu'un rôle secondaire d'équilibrage de la température. La Figure 2.5 illustre ces deux modes de chauffage et présente le mécanisme du chauffage par micro-ondes et l'inversion des phénomènes de transfert de chaleur induit.

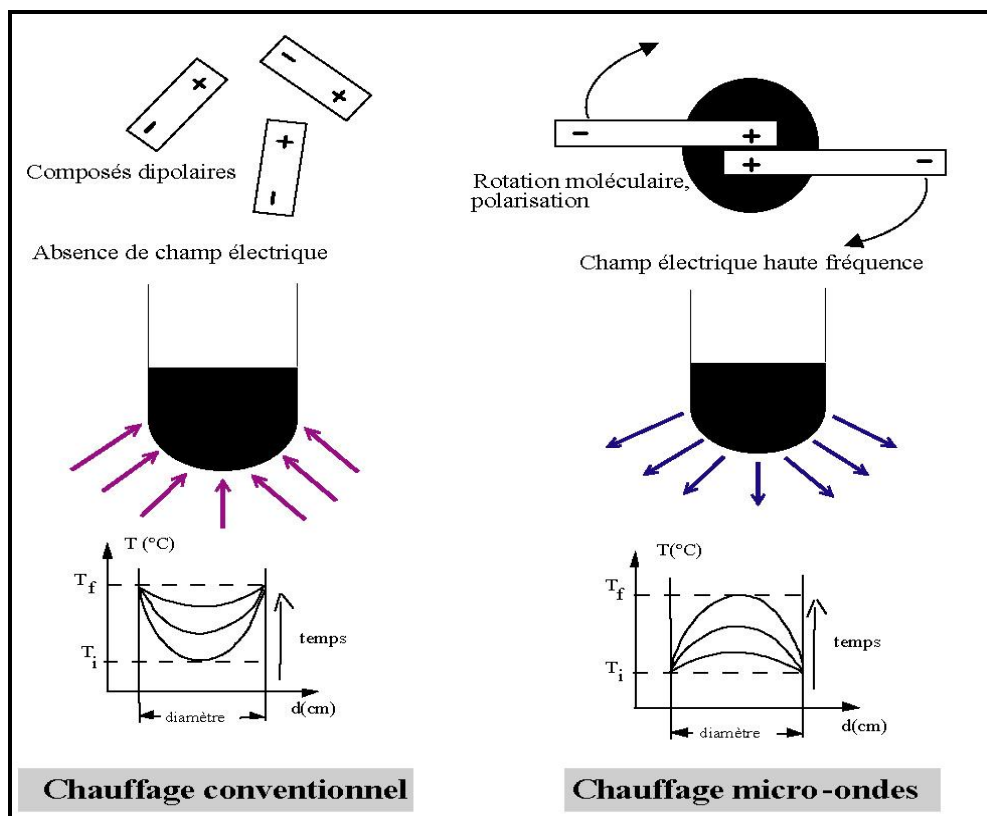


Figure 2.5: Transferts thermiques sous chauffage conventionnel et micro-ondes [83]

Le mécanisme du chauffage diélectrique repose sur le fait que les molécules polaires, telles que l'eau, ont des extrémités négatives et positives : ce sont des dipôles. En l'absence de champ électrique, les dipôles d'un milieu diélectrique se trouvent orientés au hasard sous l'effet de l'agitation thermique du milieu. Sous l'effet d'un champ électrique continu, les molécules tendent à s'orienter dans la direction du champ électrique. Plus le champ électrique est intense, moins l'agitation thermique qui tend à désorganiser l'alignement a d'importance. Lorsque toutes les molécules sont orientées, il apparaît un moment dipolaire global induit. Sous l'effet d'un champ électrique alternatif de fréquence f , les dipôles s'orientent dans la direction du champ sur une demi alternance, se désorientent lorsque le champ s'annule et se réorientent dans l'autre sens pendant la seconde demi alternance : c'est la rotation dipolaire. L'énergie électrique est convertie en énergie cinétique par la rotation des dipôles. L'énergie cinétique est transformée partiellement en chaleur : l'alignement des dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par les forces d'interactions entre molécules (les forces de liaison par pont hydrogène et les forces de liaisons de Van der Waals). Ces forces peuvent

être assimilées à des forces de frottement internes qui existent dans les contacts solide-solide. Elles s'opposent ainsi à la libre rotation des molécules. De la friction produite, naît le dégagement de chaleur [84, 85]. La dissipation d'énergie par le produit peut être maximale si la fréquence du champ électrique est égale à la fréquence de relaxation. Le phénomène de relaxation correspond à l'apparition d'un déphasage entre l'oscillation du champ électrique et celui des dipôles. Les fréquences micro-ondes étant imposées, l'échauffement d'un produit avec une efficacité maximale est exceptionnel. Dans ce cas, une grande partie des molécules soumises à l'action du champ micro-ondes ne tourne pas avec le changement alternatif du champ mais frissonne comme le montre la figure 2.6.

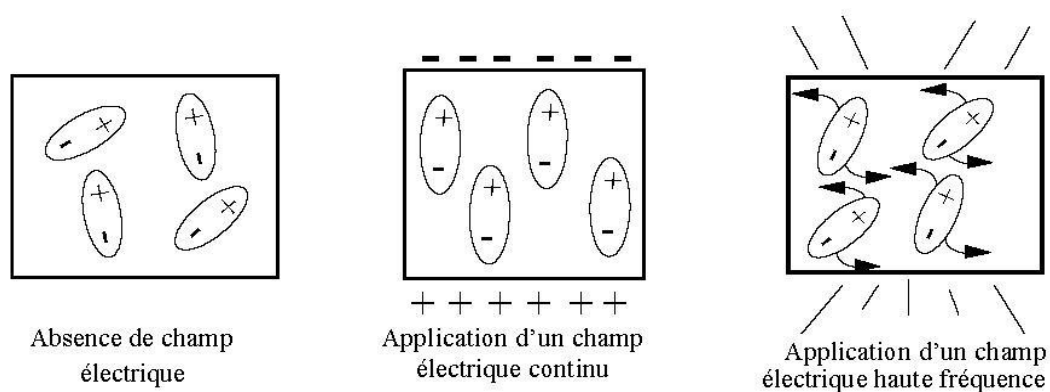


Figure 2.6: Frissonnement des dipôles soumis à une irradiation micro-ondes [67].

L'aptitude d'un matériau à s'échauffer sous l'action d'un rayonnement micro-ondes est qualifiée par le facteur de perte diélectrique ϵ'' . Les produits ayant un facteur de pertes supérieures à 1 s'échauffent facilement par micro-ondes. Parmi ces composés à pertes diélectriques élevées, on peut citer l'eau à l'état liquide, les produits naturels riches en eau, des solvants polaires comme les alcools (éthanol, méthanol, etc.) ; entre 0,1 et 1, le chauffage reste possible sous certaines conditions particulières. C'est le cas des solvants ou de produits peu polaire, comme l'acétate d'éthyle ou les corps gras. Pour des valeurs inférieures à 0,1, le chauffage par micro-onde est impossible. Il s'agit : Des gaz, des métaux, de matériaux qui ne se polarisent pas sous l'effet des micro-ondes et des solvants apolaires.

Dans le cas des produits naturels, c'est la teneur en eau qui déterminera la capacité de ces produits à être chauffé par micro-ondes : Si la teneur en eau est supérieure à 20% en masse, le produit s'échauffera facilement ; et si la teneur est inférieure, le chauffage par micro-onde nécessitera une mise en œuvre particulière [82].

L'efficacité (en terme de rendement ou de cinétique d'extraction) et la sélectivité (en terme de pureté des produits) des procédés d'extraction assistée par micro-ondes sont un corollaire de ces conditions particulières de transfert de matière et d'énergie.

Les durées des procédés d'extraction assistée par micro-ondes sont en effet de l'ordre de quelques minutes. Les rendements dans la plupart des cas, sont comparables à ceux obtenus par les procédés traditionnels d'extraction.

2.2.2.2.1.Extraction par solvant assistée par micro-ondes (Microwave-Assisted Solvent Extraction, MASE)

Le procédé MASE consiste à traiter sous micro-ondes un solide, sec ou humide, en contact avec un solvant absorbant ou transparent aux micro-ondes. Les micro-ondes permettent d'accélérer la cinétique d'extraction et de réduire le ratio solvant/charge.

C'est en 1986, que l'application des micro-ondes dans le milieu de l'extraction a été pour la première fois reportée [86]. Elle décrit l'extraction d'espèces polaires par des solvants absorbant fortement les micro-ondes (méthanol) ainsi que l'extraction d'espèces apolaires par un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane). Depuis cette première publication, les travaux sur l'extraction par solvant assistée par micro-ondes ont continué d'avancer, et c'est en 1990 que l'équipe canadienne de Paré [87] a déposé le premier brevet européen sur « l'extraction de produits naturels assistée par micro-ondes ». Ils proposaient d'irradier le matériel végétal en présence d'un solvant transparent aux micro-ondes de type hexane et où les micro-ondes atteindraient directement les systèmes glandulaires et vasculaires du végétale.

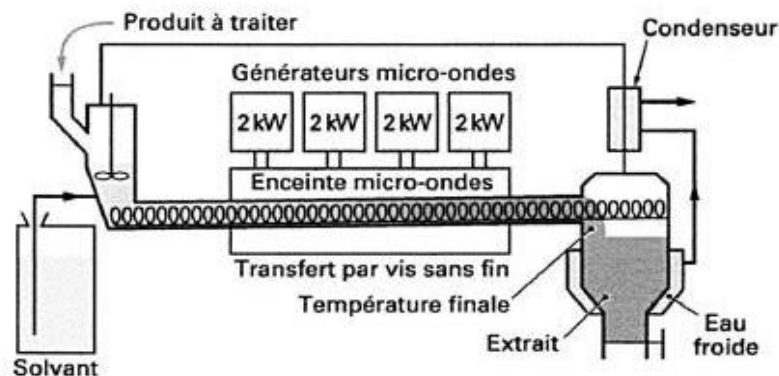


Figure 2.7 : Schéma d'une installation pilote d'extraction par solvant assistée par micro-ondes

Par la suite, de nombreux brevets seront déposés par Paré et son équipe tant au niveau américain qu'au niveau canadien [88, 89, 90]. Le procédé original sera par la suite quelque peu modifié et enrichi et sera dénommé : MAPTM (Microwave Assisted Process). Il a pour vocation d'être une méthode d'extraction utilisable pour un grand nombre de matrices solides ou liquides telles que les végétaux mais aussi les tissus animaux, les sols, les cosmétiques ou les eaux polluées. Actuellement l'extraction assistée par micro-ondes (MAE: Microwave Assisted Extraction) est plus généralement citée dans les travaux publiés. En réalité, la MAE et MAPTM sont toutes les deux, des techniques d'extraction par solvant assistée par micro-ondes.

Un pilote d'extraction des épices et aromates par la technique MAPTM est présenté dans la figure 2.7.

Les avantages de MASE sont : L'augmentation de la vitesse d'extraction d'un facteur 2 à 20, une plus grande sélectivité de l'extraction et la diminution de la consommation de solvant d'un facteur 2 à 5 [82]. De plus, MAE offre d'autres avantages : moins d'énergie consommée, une utilisation plus faible de solvants toxique et une quantité de résidus moindre [91].

Les principaux paramètres pouvant influencer la performance de la technique MASE sont : la nature du solvant et de la matière première ; le volume du solvant ; la puissance du micro-onde ; le temps et la température [92].

2.2.2.2.2. Hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulsé (Vacuum Microwave Hydrodistillation, VMHD)

Le procédé VMHD, a été breveté par Archimex en 1994 [93]. Il repose sur l'application conjointe des micro-ondes et d'un vide pulsé. Les micro-ondes accélèrent le transfert des molécules vers le milieu extérieur et le vide pulsé permet de réaliser l'entraînement azéotropique à une température inférieure à 100°C.

La figure 2.8 représente le schéma de principe d'un outil VMHD, constitué d'une enceinte équipée d'une double enveloppe et d'une pale d'agitation, muni d'un générateur micro-ondes, d'un système permettant de condenser et de récupérer les vapeurs, des moyens permettant d'appliquer et de réguler le vide dans l'enceinte et de fixer la température de la double enveloppe.

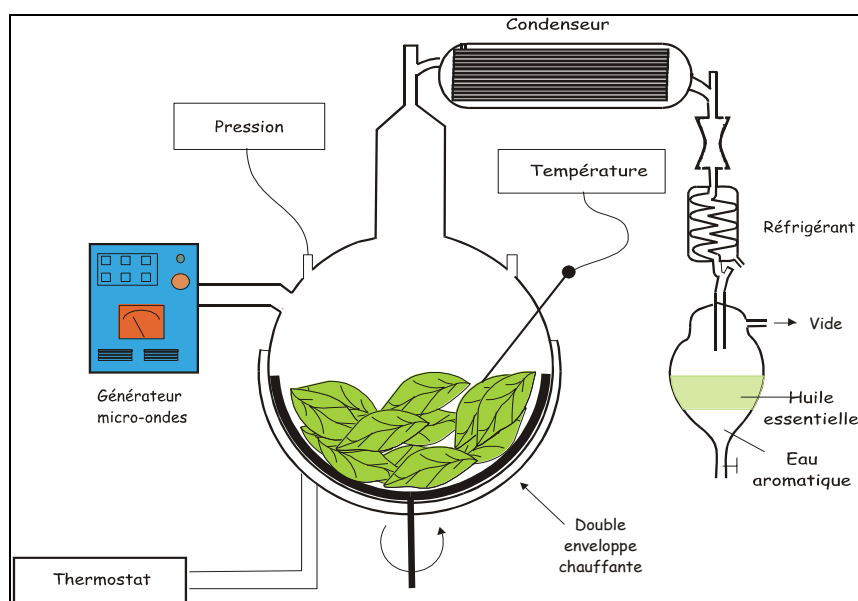


Figure 2.8 : Schéma d'une installation VMHD [82]

La matière première fraîche ou sèche (et dans ce dernier cas, additionnée de la quantité d'eau juste requise) est introduite dans l'enceinte de l'extracteur. La figure 2.9 représente l'évolution des principaux paramètres du procédé VMHD au cours d'une extraction.

Dès le début, la puissance micro-ondes est fixée à une valeur généralement conservée constante tout au long du traitement. Cette valeur est de l'ordre de 0,2 à 1 KW par kilogramme de matière première traitée. Elle dépend essentiellement du taux de chargement de l'extracteur et de certaines caractéristiques de la matière première (teneur en matière sèche, fragilité des espèces à extraire). Sous l'effet des micro-ondes et du chauffage par double enveloppe, la température de la charge augmente jusqu'à atteindre une température de consigne T_c , généralement comprise entre 65 et 80 °C. On applique alors pendant une durée d'environ 1 min une pression réduite inférieure à la tension de vapeur de l'eau à la température T_c . Pendant cette phase sous pression réduite, l'eau de constitution du végétal est vaporisée et les condensats chargés en espèces aromatiques sont récupérés.

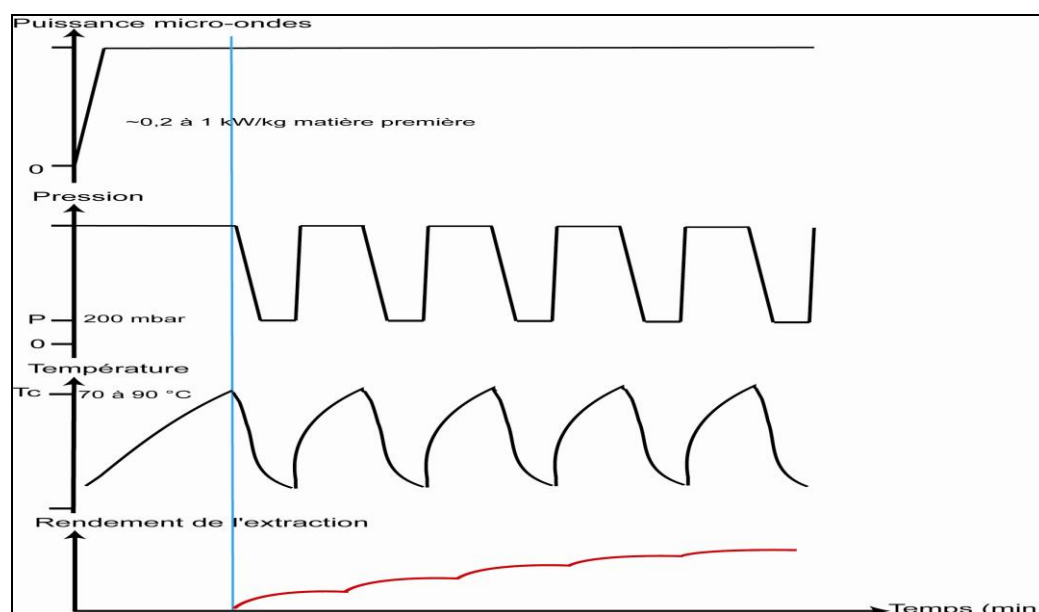


Figure 2.9 : Evolution des principaux paramètres du procédé VMHD en fonction du temps [82]

Le procédé VMHD présente l'avantage de pouvoir réaliser une extraction 5 à 10 fois plus rapide, pour un rendement équivalent. Il est réalisé à une température plus basse que les méthodes traditionnelles, réduisant ainsi les risques de dégradation thermique. Par conséquent, les huiles essentielles extraites par le procédé VMHD présentent un profil très proche des essences contenues dans la matière première.

2.2.2.2.3. Hydrodistillation assistée par micro-ondes (Microwave hydrodistillation, MWHD)

L'hydrodistillation assistée par micro-ondes a été développée et utilisée pour l'extraction des huiles essentielles de *Xylopia aromatica* et *Lippia alba* par *Stashenko et al.* [94, 95]. Ce procédé repose entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique, il consiste à placer une partie du montage d'hydrodistillation dans le four micro-ondes. Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un ballon disposé dans l'enceinte du four micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four.

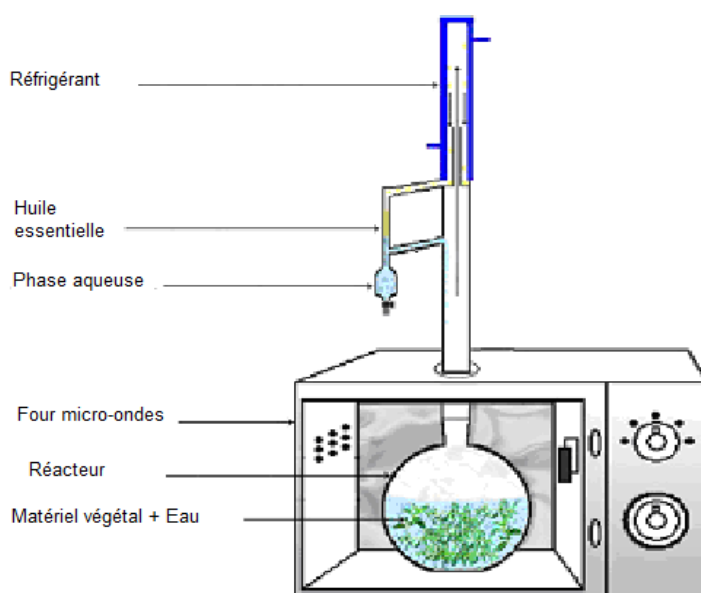


Figure 2.10 : représentation schématique de l'appareil utilisé dans l'extraction par hydrodistillation assistée par micro-ondes [96]

Une étude comparative entre la technique MWHD et la technique HD a été réalisée pour l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques [97,98], ces études ont pu conclure que la technique MWHD présentait un temps d'extraction plus court que l'HD pour un rendement similaire.

Golmakani et al. [96] ont fait l'extraction de l'huile essentielle de *thymus vulgaris* L. par la technique hydrodistillation assistée par micro-ondes (MWHD) et les résultats obtenus ont été comparés avec ceux obtenus par la technique classique d'hydrodistillation (HD) en terme de : temps d'extraction, rendement, composition chimique, qualité de l'huile essentielle et coût de l'opération. L'étude a montré que l'extraction par MWHD en 75 mn conduisait d'une part à un rendement semblable à celui obtenu par HD pendant 4h (2,44% contre 2,39% respectivement) et d'autre part à une composition chimique similaire. MWHD offre une économie en énergie par rapport à HD, c'est une technique moderne et rapide. Dans le cas de l'extraction l'huile essentielle de la partie aérienne de *Zataria multiflora* Boiss [99], l'étude a montré que le procédé MWHD donnait un rendement plus élevé (3,66% contre 3,44%) pendant un temps plus court (1h contre 4h) en comparaison avec l'hydrodistillation.

2.2.2.2.4. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Solvent Free Microwave Extraction, SFME)

Cette technique a été développée et brevetée par *Chemat et al* [100, 101]. Elle permet de réaliser l'extraction des produits naturels à pression atmosphérique. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes sans ajouter ni eau ni solvant. Une assistance électromagnétique permet le chauffage de l'eau intrinsèque de la plante et provoque la distillation azéotropique d'un mélange eau/huile essentielle. Les vapeurs sont condensées par un système de refroidissement et sont redirigées dans l'appareil de Clevenger, dans lequel les vapeurs recondensées seront séparées par simple séparation de phase (due à leur densité). Un système de cohobation permet à la phase aqueuse éliminée du réacteur de distillation de retourner dans le réacteur, afin de maintenir le taux d'humidité propre au matériel végétal (figure 2.11).

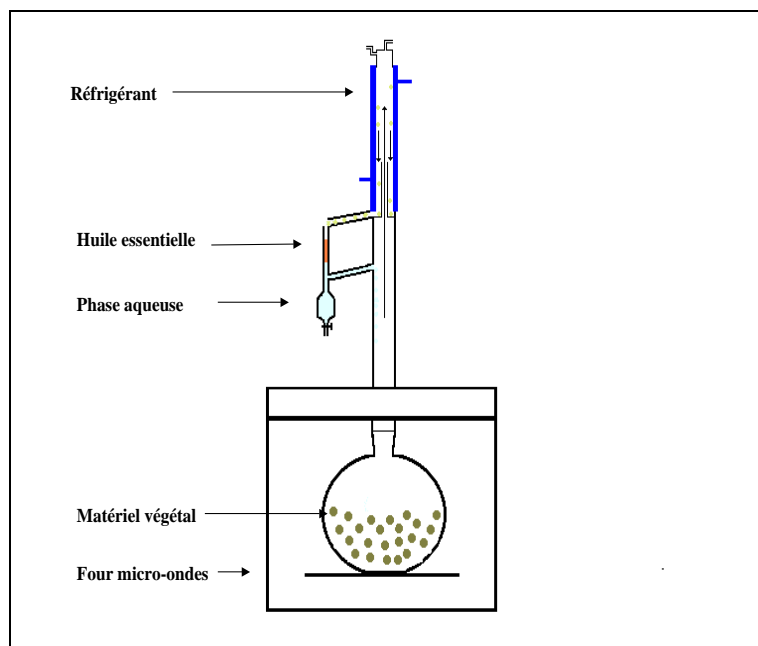


Figure 2.11 : Schéma du montage de l'extraction sans solvant assistée par micro-onde[102]

La technique SFME a été appliquée pour l'extraction de l'huile essentielle à partir des épices et des plantes aromatiques où la SFME est le plus souvent comparé à l'hydrodistillation classique. Pour les plantes aromatiques [102], l'étude réalisée a montré que l'extraction par SFME en 30 minutes conduisait à des rendements similaires à ceux obtenus par hydrodistillation pendant 4,5 h et les huiles essentielles extraites étaient plus riches en composés oxygénés. Concernant les épices [103], les rendements obtenus sont inférieurs avec la technique SFME par rapport à la technique classique d'hydro distillation, mais avec un temps de chauffage réduit huit fois moins par rapport à l'hydrodistillation. La technique SFME est donc plus économique, en temps et en énergie. *Tigrine-Kordjani et al.* [104] ont mis en évidence que l'extraction par MAD était plus économique en énergie, présentait un temps plus court (30 minutes contre 3 heures) riche en composés oxygénés (59% contre 46%). Une huile plus sélective conduisait à un rendement similaire (0,6% contre 0,6%) à ceux obtenus par hydrodistillation. *Lucchesi et al.* [105] ont montré que l'extraction des huiles essentielles des graines de cardamome par la technique SFME menait à une composition chimique différente à celle obtenue par la technique conventionnelle d'hydrodistillation. L'étude a montré aussi l'influence positive de trois paramètres

de la SFME : le temps d'extraction, la puissance de micro-ondes et la teneur en eau initiale sur le rendement en huile essentielle. *Ferhat et al.* [106] ont isolé l'huile essentielle des fruits de Citrus par différentes méthodes : expression à froid, hydrodistillation et la distillation sèche par micro-ondes (extraction sans solvant par micro-ondes). La comparaison de ces trois méthodes a révélé que la technique SFME offre des avantages plus importants que les techniques classiques : un temps plus court (30 min via 3h pour l'hydrodistillation et 1h pour l'expression à froid), meilleur rendement (0,24% via 0,21% pour l'hydrodistillation et 0,05% pour l'expression à froid), un impact environnemental moindre, une augmentation de l'activité antimicrobienne, une huile essentielle de qualité (un grand pourcentage en composé oxygénés). *Bendahou et al.* [107] ont démontré l'extraction sélective du thymol, à partir d'*Origanum glandulosum* lors de l'extraction par SFME. Les résultats obtenus ont démontré que le procédé SFME en 20min conduisait à un rendement notable proportionnellement en 3h d'hydrodistillation (3,3% contre 4,8%) et une composition chimique dominante en composé oxygénés (87% contre 72%). *Beyramoglu et al.* [108] ont appliqué la technique SFME dans l'extraction de l'huile essentielle de l'*Oregano*, l'étude réalisée a montré que cette technique a offert un meilleur rendement ; un temps court et une composition chimique et des propriétés physiques semblables à l'hydrodistillation. *Okoh et al.* [109] ont évalué l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. obtenue par les deux techniques : l'hydrodistillation (HD) et la SFME. L'étude a montré que le rendement en huile essentielle était 0,39% pour SFME et 0,31% pour HD ; plus active contre les microorganismes à cause de sa composition chimique qui est plus riche en composés oxygénés (28,6% contre 26,98%), cette classe de composés se révélait avoir des activités antibactériennes et antifongiques.

2.2.2.2.5. Extraction par hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité (Microwave hydrodiffusion and gravity, MHG)

Ce procédé a été breveté par Chemat et al [110], cette présente invention concerne l'isolation des matériaux biologiques par hydrodiffusion via un rayonnement micro-onde, un appareil convenant pour mettre en oeuvre ce procédé et un système de mise en oeuvre de ce procédé en continu (figure 2.12).

Ce procédé a été conçu pour des extractions des substances naturelles à partir des différents matériels végétaux à l'échelle laboratoire et industrielles pour l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques à pression atmosphérique. Basée sur un principe relativement simple, cette méthode consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-onde sans ajouter ni eau ni solvant organique. Le chauffage de l'eau interne à la plante permet la rupture des glandes contenant les huiles essentielles. L'huile essentielle est ainsi libérée, ainsi que l'eau interne de la matière végétale sont transférées de l'intérieur vers l'extérieur de la plante. Ce phénomène physique connu par l'hydrodiffusion permet au mélange « eau+ huile essentielle » à diffuser à l'extérieur de la plante ensuite tomber sous l'effet de pesanteur à travers un disque de pyrex perforé. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du mélange de façon continue. L'huile essentielle et l'eau sont récupérées et séparées dans un vase florentin en une phase aqueuse et phase organique : Huile essentielle.

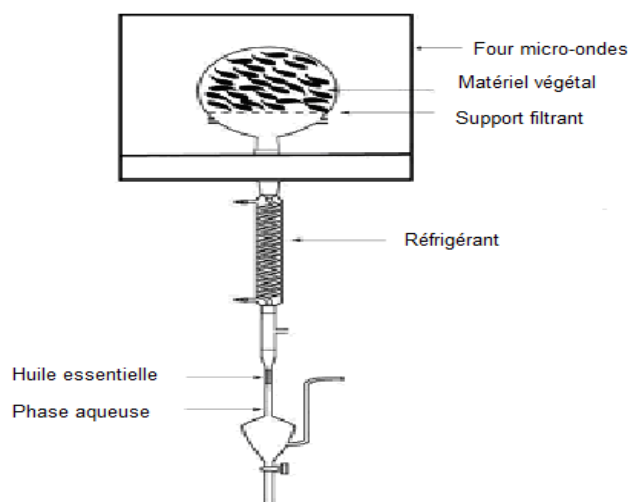


Figure 2.12: Représentation schématique de l'appareil utilisé dans l'extraction par hydrodiffusion et gravité assistée par micro-ondes [111]

Ce procédé a été appliqué pour l'extraction des huiles essentielles de deux espèces de plantes fraîches [111]: *Mentha spicata* L. et *Mentha pulegium* L., dont le taux d'humidité initial de chaque plante était respectivement 78% et 82,3%. Les rendements en huiles essentielles obtenus par MHG après seulement 20 mn sont proches de ceux obtenus après 90 min d'hydrodistillation, pour *mentha spicata* L.(0,60% par MHG contre 0,59% par HD) et pour *mentha pulegium* L.(0,95% par MHG contre 0,90% par HD). La composition chimique de l'huile essentielle de *mentha spicata* L. extraite par les deux techniques est riche en composés oxygénés, le plus important étant le carvone (40,5% pour MHG contre 45,5% pour HD). L'huile essentielle de *mentha pulegium* L. isolée par MHG et HD est aussi riche en composés oxygénés : le pulégone (87,8% contre 83,7%) et le menthone (3,1% contre 2,8%). De plus le MHG présente une consommation d'énergie moindre. Cette nouvelle technique développée montre que l'extraction assistée par micro-ondes combinée avec l'hydrodiffusion et effet de pesanteur prévoit une économie substantielle en temps et en énergie, elle a un impact environnemental moindre.

Cette technique a été appliquée par *Bousbia et al* [112] pour l'extraction des huiles essentielles de plusieurs variétés de fruits de citron. Cette étude a montré que l'extraction par la technique MHG en 15 min seulement menait à des rendements identiques à ceux obtenus par la technique HD après 180 min (1% contre 1,1%) et à des compositions chimiques similaires à ceux obtenues par le procédé hydrodistillation et par expression à froid. Le MHG est donc une technique qui présente la rapidité et une économie en énergie.

Le MHG a été aussi appliqué lors d'une extraction des huiles essentielles des feuilles fraîches de romarin [113] où une étude comparative entre la technique MHG et HD a été effectuée. Il s'est avéré que cette technique par micro-ondes offre des avantages plus importants que la technique traditionnelle : un temps d'extraction plus court (15 min contre 3 h pour HD), une compatibilité avec l'environnement et une économie en énergie, une augmentation de l'activité antimicrobienne, une augmentation de l'activité antioxydante et fournit une huile essentielle de haute valeur (composés oxygénés en grand pourcentage).

2.2.2.2.6. Entraînement à la vapeur assisté sous micro-ondes (Microwave steam distillation MSD)

L'entraînement à la vapeur assisté sous micro-ondes a été développée par Sahraoui *et coll.* 2008 [114]. Le procédé repose sur le principe de l'entraînement à la vapeur (EV) classique dans lequel une irradiation micro-ondes est exercée uniquement sur le réacteur d'extraction (Figure 2.13). Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération de l'huile essentielle est placée à l'extérieur du four micro-ondes.

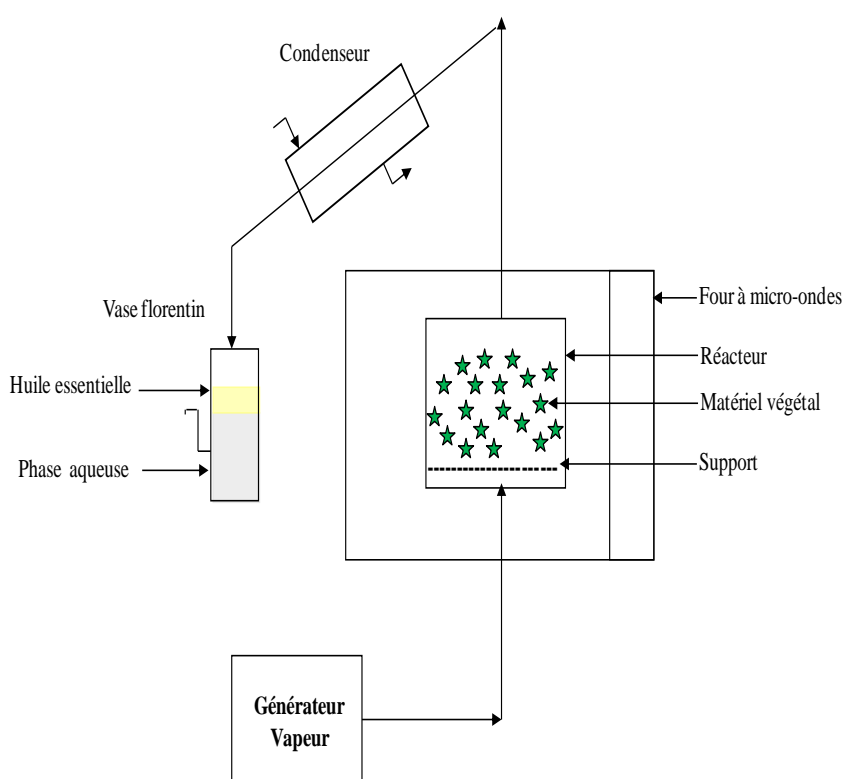


Figure 2.13. Entraînement à la vapeur assisté sous micro-ondes.

Cette méthode a été appliquée pour l'extraction de l'huile essentielle de fleurs de lavande (*L. angustifolia* Mill.) [114]. L'avantage de cette méthode était d'accélérer le temps d'extraction (6 minutes contre 30 minutes par entraînement à la vapeur (EV)) avec une composition chimique similaire à celle obtenue par EV.

2.2.2.3. Extraction par fluide supercritique (Supercritical Fluid Extraction SFE) / (extraction par CO₂ supercritique)

La température critique d'une substance est la température au-dessus de laquelle elle ne présente plus de phase liquide distincte quelque soit la pression. La tension de vapeur d'une substance à sa température critique est la pression critique. Une substance qui se trouve à des températures et à des pressions supérieures à la température et à la pression critiques (le point critique) est appelée fluide supercritique. Les propriétés des fluides supercritiques sont intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz [115].

Le diagramme d'un corps pur présente les différents états de la matière (solide, liquide et gazeux) en fonction de la pression et de la température (Figure 2.14). Les domaines d'existence de ces trois états sont délimités par les courbes d'équilibre (solide gazeux, solide liquide et liquide gazeux).

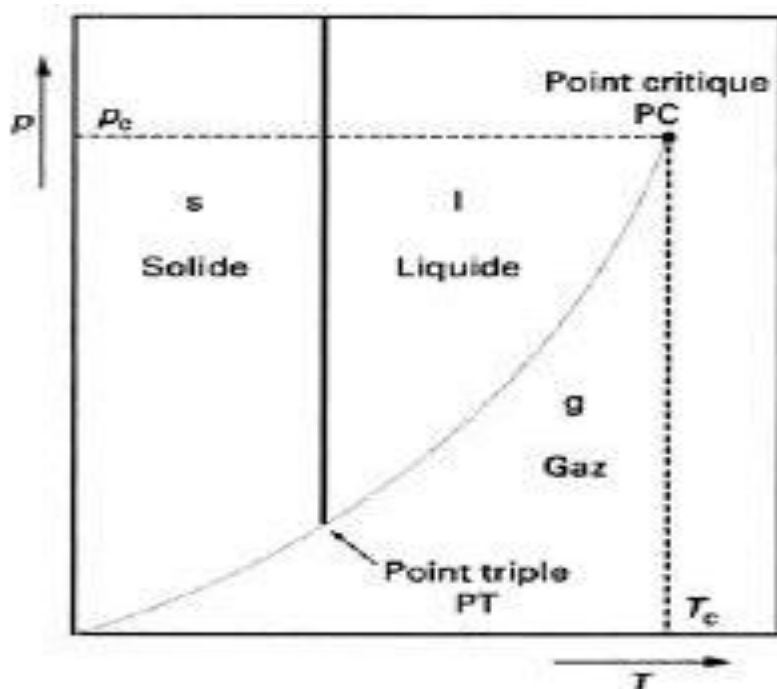


Figure 2.14 : Diagramme du corps pur [116].

Comparés aux solvants liquides, les fluides supercritiques présentent plusieurs avantages principaux : (1) le pouvoir de dissolvant du fluide supercritique dépend de sa densité qui est fortement ajustable en changeant la pression ou/et la température ; (2) le fluide supercritique possède un coefficient de diffusion plus élevé, une viscosité et une tension de vapeur inférieures à celles des solvants liquides, conduisant à un transfert de masse plus favorable [81].

Les propriétés des fluides supercritiques sont intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz. Le fluide supercritique présente une viscosité faible comme les gaz, une densité se rapprochant à celle d'un liquide et une diffusivité intermédiaire entre les deux états. Un ordre de grandeur de la densité, de la viscosité et de la diffusivité pour les gaz, les fluides supercritiques et les liquides est repris dans le tableau 2.2.

Tableau 2.2: Propriétés physiques pour les gaz, les liquides et les fluides supercritiques [116].

<i>Etat de fluide</i>	<i>Densité</i> ($\rho, \text{g/cm}^3$)	<i>Diffusivité</i> ($D_{AB}, \text{cm}^2/\text{s}$)	<i>Viscosité</i> ($\mu, \text{g s/cm}$)
<i>Gaz</i>			
P = 1atm; T = 21°C	10^{-3}	10^{-1}	10^{-4}
<i>Liquide</i>			
P=1atm;T=15-30 °C	1	$< 10^{-5}$	10^{-2}
<i>Supercritique</i>			
P= P_c ; T= T_c	0,3-0,8	$10^{-3} - 10^{-4}$	$10^{-4} - 10^{-3}$

A cause de leurs faibles viscosités, les fluides supercritiques possèdent des propriétés de transports meilleures que celles des liquides, ils peuvent facilement diffuser à travers le matériel solide et donner rapidement un meilleur rendement d'extraction. Une des caractéristiques d'un fluide supercritique est la possibilité de modifier la densité du fluide en changeant sa pression et/ou sa température. Etant donné que la densité est reliée directement à la solubilité.

Le tableau 2.3 donne les propriétés critiques de différents solvants utilisables dans l'extraction par fluide supercritique [116].

Solvant	Propriété critique			
	Température (°C)	Pression (atm)	Densité (g/ml)	Paramètre de Solubilité $\delta_{SFC}(\text{cal}^{-1/2}\text{cm}^{-3/2})$
<i>Ethène</i>	10.1	50.5	0.200	5.8
<i>Eau</i>	101.1	217.6	0.322	13.5
<i>Méthanol</i>	-34.4	79.9	0.272	8.9
<i>Dioxyde de carbone</i>	31.2	72.9	0.470	7.5
<i>Ethane</i>	32.4	48.2	0.200	5.8
<i>Oxyde Nitreux</i>	36.7	71.7	0.460	7.2
<i>Hexafluorure de soufre</i>	45.8	37.7	0.730	5.5
<i>n- Butène</i>	-139.9	36.0	0.221	5.2
<i>n- Pentane</i>	-76.5	33.3	0.237	5.1

Le choix des fluides supercritiques est très important pour le développement d'un procédé SFE. Le dioxyde de carbone supercritique présente des avantages qui en font de lui le fluide le plus couramment utilisé. Il présente un point critique à 73 bars et 31°C. Par ailleurs le CO₂ a d'autres propriétés intéressantes : Il est non toxique, ininflammable, chimiquement inerte et disponible à l'état hautement pur à faible coût. Le CO₂ supercritique est un solvant très efficace pour l'extraction des composés apolaires tels que les hydrocarbures [117].

Beaucoup des métabolites tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes et les composés glycosidiques sont très peu solubles dans le dioxyde de carbone. Pour surmonter la difficulté de solubilité limitée des substances polaires dans le CO₂ supercritique, des modificateurs (co-solvants) sont couramment utilisés.

Les modificateurs sont des composés très polaires dont l'addition au CO₂ supercritique est connue pour augmenter de manière significative la solubilité des composés polaires [118, 119]. Le méthanol est généralement le plus utilisé car il a été prouvé le plus efficace et est miscible (jusqu'à 20%) avec le CO₂. Cependant, l'éthanol peut être une meilleure alternative dans SFE des métabolites végétaux en raison de sa faible toxicité [117, 120].

Un système d'extraction pour un fluide supercritique est montré dans la figure 18. Pendant la SFE, la matière végétale est chargée dans un extracteur, équipé de capteurs de température et de soupapes de pression, à l'admission et à la sortie de l'extracteur, pour contrôler les paramètres d'extraction. Le réacteur d'extraction est pressurisé avec le fluide par une pompe. Le fluide et les composés extraits sont transportés vers les séparateurs, où le pouvoir solvant du fluide est baissé avec la diminution de sa pression ou en augmentant sa température. Le produit est alors récupéré par l'intermédiaire d'une valve située dans la partie la plus inférieure des séparateurs. Le fluide, quand à lui, est régénéré et recyclé.

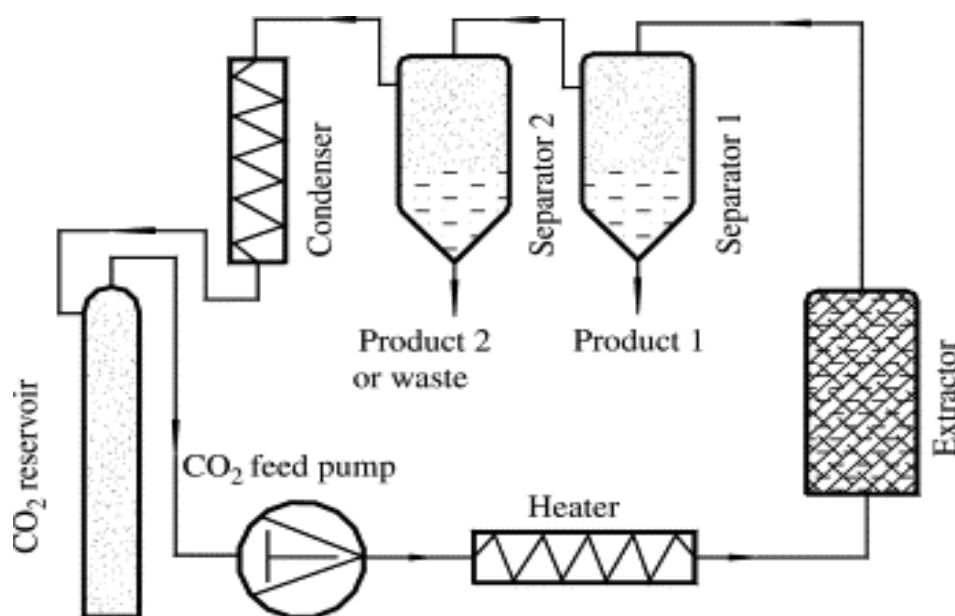


Figure 2.15 : représentation schématique d'un extracteur par fluide supercritique [81]

D'autres paramètres déterminants [121] et qui doivent être pris en compte pour la réussite de la technique SFE (SC-CO₂ extraction), ils sont : La pression et la température d'extraction, la densité de CO₂, le débit de vapeur de CO₂, la taille de la particule de la matière végétale et la durée d'extraction.

L'extraction des huiles essentielles par (SC-CO₂) a fait l'objet de nombreuses recherches qui se poursuivent encore aujourd'hui. Nous pouvons citer par exemple les différents travaux de : *Alekovski et al.* [122], *Wenqiang et al.*[123], *Khajeh et al.*[124,125], *Donelian et al.*[126], *Yamini et al.*[127], *Ebrahimzadeh et al* [128], *Glisic et al.* [129, 130], *Grosso et al.* [131], *Danh et al* [132]. Ces articles concernent l'utilisation de cette technique uniquement pour l'extraction des huiles essentielles à partir des matières végétales, ou bien établir une étude comparative entre l'extraction par CO₂ supercritique et d'autres méthodes conventionnelles. De toutes ces études, on peut conclure que l'utilisation de la technique SC-CO₂ pour l'extraction des huiles essentielles offre plusieurs avantages significatifs par rapport aux techniques classiques (tableau 2.4). Les extractions sont rapides et peuvent être effectuées à des températures plus basses, évitant ainsi des pertes par dégradation thermique, une extraction sélective peut être obtenue en changeant les paramètres d'extraction (pression, température, le volume de modificateur et le temps d'extraction). Pour ces démonstrations, l'application de l'extraction SC-CO₂ est une technique intéressante pour l'extraction des huiles essentielles. Mais, malheureusement cette technique présente des coûts d'installation et de maintenance très élevés, ce qui limite son emploi à des applications pour des produits finis de haute valeur ajoutée.

2.2.2.4. Extraction par l'eau subcritique (Subcritical Water Extraction (SWE),ou Continuous Subcritical Water Extraction(CSWE)

L'extraction continue par l'eau subcritique est une technique basée sur l'utilisation de l'eau comme extractant, à des températures comprises entre 100 et 374°C (les points critiques de l'eau sont 221bar et 374°C) et à une pression assez élevée pour maintenir l'état liquide. Cette technique apparaît comme une alternative puissante pour l'extraction du solide [133]. La propriété particulièrement intéressante dans ce type de procédé d'extraction est la variation de la constante diélectrique avec la température (ϵ). A température et pression ambiante, l'eau est

un solvant fortement polaire avec une constante diélectrique ϵ égal à 80. Cette valeur peut être abaissée à 27 quand la température de l'eau s'élève à 250°C (voir figure 2.16) mais en maintenant l'eau à l'état liquide par l'application d'une pression appropriée. Cette valeur de ϵ est alors similaire à celle de l'éthanol [134]. Dans ces conditions, l'eau acquiert la capacité d'extraire des composés de faible polarité.

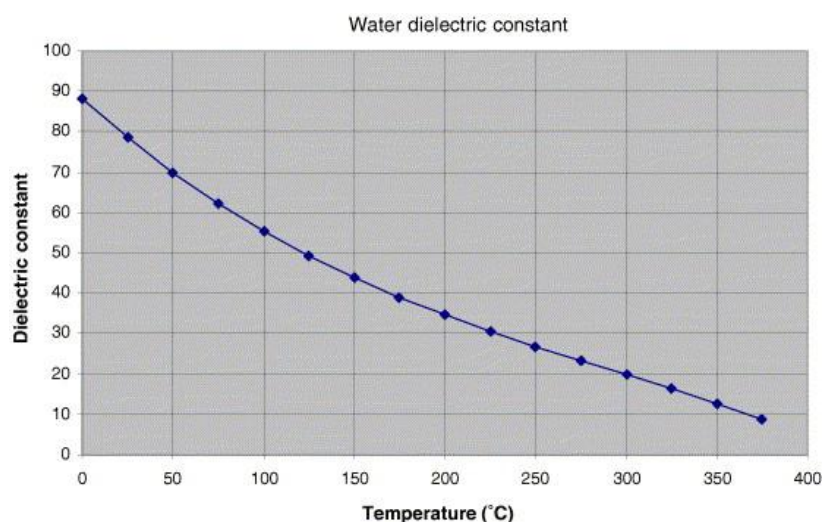


Figure 2.16: Représentation graphique de la constante diélectrique de l'eau en fonction de la température [116]

La technique SWE a été appliquée pour la première fois par *Basile et al.* [135], pour l'extraction des huiles essentielles des feuilles de romarin (*Rosmarinus officinalis*). Depuis, les travaux sur l'extraction des huiles essentielles par le procédé SWE à partir des plantes ont continué d'avancer. Des études comparatives entre cette technique et les techniques conventionnelles ont été réalisées. Dans le cas de l'extraction de l'huile essentielle des feuilles de Marjoram [136], la CSWE a été comparée à l'hydrodistillation en terme de : temps, qualité de l'huile essentielle, efficacité et coût. Cette étude a montré de nombreux avantages : un temps d'extraction plus court d'où la rapidité de ce procédé (l'extraction par CSWE pendant 15min a fourni le même rendement que l'HD en 3h), une huile essentielle de plus grande qualité (en raison d'une plus grande proportion de composés oxygénés et une présence moindre des terpènes), une

économie considérable (à la fois en terme d'énergie et de matière végétale) et un coût réduit ainsi qu'une plus grande efficacité. *Gàmiz-Gracia et al.* [137] ont comparé dans l'extraction des huiles essentielles de *Foeniculum vulgare* la technique CSWE avec l'hydrodistillation et l'extraction par solvant, le dichlorométhane. La méthode CSWE a offert des avantages plus importants que les techniques conventionnelles : un temps d'extraction plus court, un coût énergétique moindre, une faible consommation d'énergie et un résidu généré, ainsi que la possibilité de moduler la composition de l'huile essentielle obtenue en changeant les paramètres d'extraction (température, débit de vapeur de l'eau et temps d'extraction). De même, l'utilisation de la technique SWE a montré plus d'avantages que les techniques conventionnelles (hydrodistillation, extraction par les solvants organiques) : Un temps d'extraction court, une huile essentielle de plus grande qualité, un coût réduit et une compatibilité environnementale. Ces avantages ont été également testés en appliquant cette technique SWE pour l'extraction de l'huile essentielle des feuilles de laurier [138], de l'Oregano [139] et de *Lavandula stoechas* [140].

De même, *Luque de Castro et al.* [91] ont établi de nombreuses comparaisons entre les différentes techniques d'extraction. Le tableau résume les avantages et inconvénients des deux techniques d'extraction SC-CO₂ et CSWE.

Tableau 2.4 : Comparaison entre SC-CO₂ et CSWE pour l'extraction des huiles essentielles des plantes [91]

<i>Aspect</i>	<i>SC-CO₂</i>	<i>CSWE</i>
<i>Etape de séchage</i>	Oui (-)	Non (+)
<i>Extraction des résines</i>	Oui (-)	Non (+)
<i>Coût d'acquisition</i>	Elevé (-)	Moyen (+)
<i>Coût de maintenance</i>	Elevé (-)	Faible (+)
<i>Condition d'extraction</i>	Douces (+)	Moyenne (-)
<i>Effet de pré-concentration</i>	Oui (+)	Non (-)
<i>Caractère écologique</i>	Oui (+)	Oui (+)

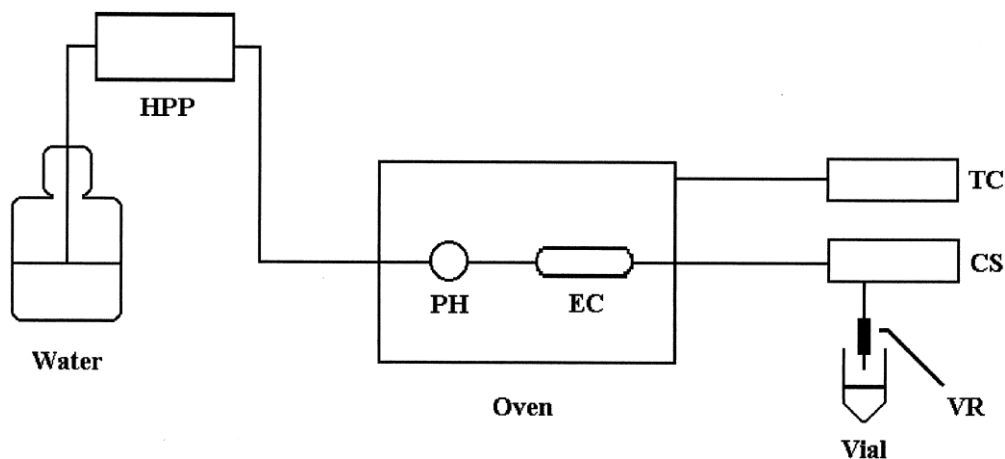


Figure 2.17: Diagramme schématique d'un extracteur à eau subcritique : HPP, pompe haute pression ; PH, pré-chauffage ; CS, système de refroidissement ; EC, cellule d'extraction ; TC, contrôle de température ; DV et OAV, valves [138]

2.2.2.5. Extraction par Détente Instantanée Contrôlée (DIC)

La technique DIC a été développée au niveau de laboratoire « Maîtrise des technologies Agro-industrielles » de l'Université de la Rochelle France. Cette technique qui a donné lieu à un brevet français en 1993 [141], a été initialement utilisée pour le séchage de divers produits alimentaires en améliorant la capacité d'hydratation. La technologie de Détente Instantanée Contrôlée DIC consiste à réaliser une chute abrupte de pression (détente instantanée) amenant le produit à une pression relativement basse (généralement voisine de 3500 Pa) à la suite d'un traitement thermomécanique (température de 60°C à 200°C couplée à une pression de 10 bar de vapeur d'eau). Le procédé est bien contrôlé aux deux niveaux : la température ($\pm 2^\circ\text{C}$) et la durée de l'opération (± 2 s). La vitesse de passage puis l'équilibre thermodynamique impliquent une expansion du gaz et une vaporisation d'une certaine quantité d'eau de la matière. La courte durée de l'opération réduit considérablement les phénomènes d'échanges et de transfert thermique entre le système du produit et le milieu extérieur ; le phénomène de vaporisation sans échange de chaleur avec l'extérieur, baptisé « autovaporisation », est tout naturellement couplé à une baisse de température et un refroidissement du produit [142]. Ce procédé a été appliqué en vue de l'extraction des huiles essentielles des feuilles de romarin par *Rezzoug et al.* [143,144].

2.2.2.6. Le procédé Flash détente

La Flash détente , une nouvelle alternative aux procédés traditionnels consiste à étuver le matériel végétal à 60-90°C puis à l'introduire brutalement dans un récipient sous vide pulsé (30-50 mBar). La température d'ébullition de l'eau dans ces conditions de vide se situe entre 27 et 30°C. Lors de la détente sous vide, l'évaporation instantanée d'une fraction de l'eau de constitution (~10%) entraîne une désagrégation du matériel végétal suite à l'expansion avec formation des micro-canaux intercellulaires [145].

En 1992, en collaboration avec la société Aurore Développement, les chercheurs de l'INRA ont adapté ce procédé au traitement de la vendange. La première vinification est réalisée en 1993 par la station expérimentale de Pech Rouge [146].

Ce procédé a été appliqué à la transformation des fruits et des légumes permettant l'obtention de jus et de purées ayant des caractéristiques rhéologiques et physico-chimiques différentes des produits traditionnels. Il a été aussi appliqué pour la production des purées de tomate plus colorées et plus visqueuses [147].

Concernant, l'extraction des huiles essentielles, cette technique a été appliquée à l'extraction des huiles essentielles des fruits de quatre espèces de Citrus, c'est un processus provoquant la désintégration de tissus végétaux. Les résultats ont montré que les huiles étaient enrichies en monoterpènes et appauvries en composés oxygénés [148].

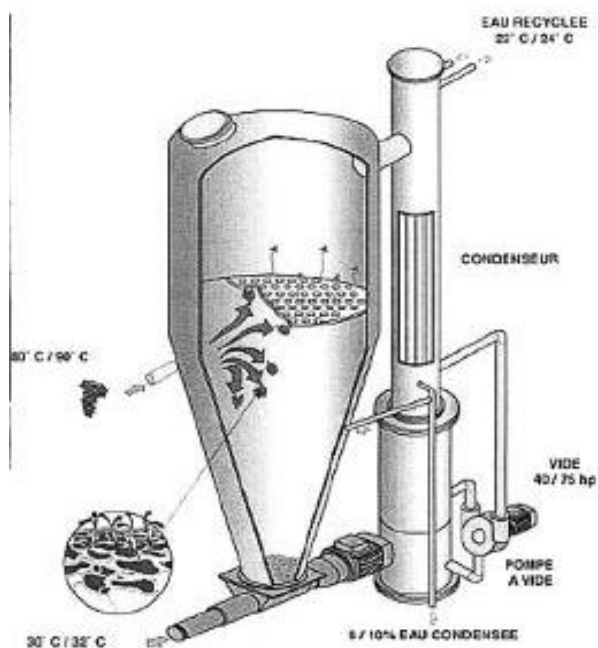


Figure 2.18: Schéma d'une installation de Flash-Détente [149]

2.3. Conclusion

Les besoins d'utilisation des huiles essentielles dans de nombreuses et diverses industries sont tellement massifs et croissants qu'il est indispensable d'agir en vue d'aboutir à des produits de la plus haute qualité et à une technique d'extraction préservant les composés thermolabiles et volatils. Dans ce contexte, les divers procédés d'extraction (assistés par ultrasons, assistés par micro-onde, par fluide supercritiques) sont très prometteurs en terme de : réduction de temps, rendement et sélectivité, moins de solvant utilisé et moins d'énergie consommée. Ces techniques d'extraction de produits naturels : extraction des huiles essentielles, extraction d'arome, de principes actifs à partir des végétaux assurent la qualité des produits tout en respectant leurs compatibilité avec l'environnement.

CHAPITRE 3

L'ENTRAÎNEMENT A LA VAPEUR D'EAU

3.1. Introduction

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'un des procédés d'extraction le plus ancien et l'une des méthodes officielles pour l'obtention de huiles essentielles. Ce procédé est encore, de nos jours, le plus utilisé, car sa mise en œuvre est assez simple et peu coûteuse. Cependant, la recherche dans ce domaine, s'est orientée vers la maîtrise et l'optimisation des paramètres liés au procédé.

Dans ce contexte, nous avons abordé l'extraction, à l'échelle laboratoire, par entraînement à la vapeur d'eau, de l'huile essentielle de l'*Artemisia herba alba* des hauts plateaux d'Algérie. La plante a été récoltée sur le lieu de culture à la région du nord de la wilaya de Djelfa située à environ 200 Km du sud d'Alger. Notre choix est porté sur cette plante parce que : d'une part, elle pousse dans des conditions climatiques et écologiques favorables encourageant son abondance et d'autre part, elle est largement utilisée en médecine traditionnelle.

Dans le présent travail, une approche des conditions optimales de l'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau sera étudiée, en faisant appel à la méthode d'optimisation par planification des expériences. L'optimisation et la définition des conditions opératoires qui en découlent constituent une partie très importante de la mise en œuvre de procédé. Ce chapitre se consacrera à l'étude de l'influence des paramètres d'extraction sur le rendement et sur la composition chimique de l'huile essentielle dans le but d'optimiser et de modéliser. Ainsi, le rendement et la composition chimique seront étudiés comme variable réponse par l'intermédiaire du plan composite centrée. Ces études permettront de mettre en évidence l'impact des variables sur l'extraction.

Ce travail sera réalisé, avec un lot de plante de même origine, de même période de végétation et même taux d'humidité, cueilli en mois d'octobre année 2007, qui correspond à la période de boutonisation complète de la plante.

L'échantillon a été identifié à l'herbarium de l'Institut National d'Agronomie (INA) comme étant celui de l'*Artemisia herba alba*.

3.2. Matériels et méthodes

3.2.1. Conduite de l'entraînement à la vapeur d'eau

Le schéma du montage utilisé pour l'entraînement à la vapeur d'eau est présenté dans la figure 3.1.

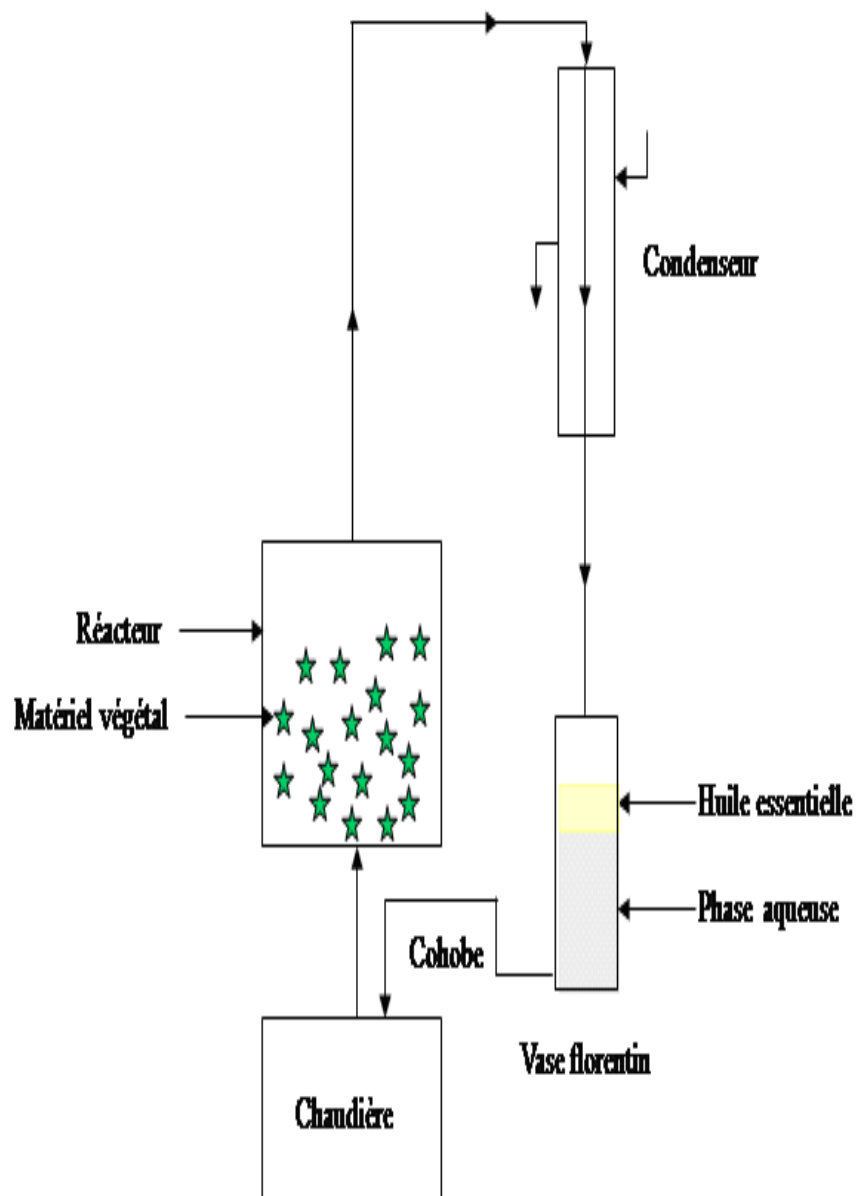


Figure 3.1: Dispositif de l'extraction de l'huile essentielle de l'Artemisia herba alba par entraînement à la vapeur d'eau

Le procédé entraînement à la vapeur d'eau consiste à mettre en œuvre un flux de vapeur ascendant. De la vapeur d'eau issue de l'ébullition de l'eau dans le ballon, traverse la matière végétale placée sur une grille perforée, entraînant ainsi l'huile essentielle. Les vapeurs chargées en composés volatils sont condensées dans le réfrigérant et le mélange « eau –huile » est récupéré dans un vase de décantation. L'huile essentielle collectée est séchée sur du sulfate de sodium anhydre et stockée à l'obscurité à 4°C.

3.2.2. Paramètres intervenant dans le procédé d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (EV) [150].

Un système chimique ou physique peut être considéré comme étant une relation entre des causes (variables d'entrée) et des conséquences (réponses ou variables de sortie).

➤ Variables d'entrée

Les variables d'entrée pouvant influencer le procédé d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau sont: le temps d'extraction, le débit de vapeur, la masse de la matière.

➤ Variables de sortie

Les variables de sortie ou paramètres réponses qui caractérisent le résultat du phénomène étudié sont : le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle.

3.2.3. Optimisation des conditions opératoires de l'entraînement à la vapeur d'eau

3.2.3.1. Identification et choix des paramètres

Une étude préliminaire composée de plusieurs expériences a été conduite et nous a permis de déterminer le domaine de variation des paramètres opératoires expérimentalement accessibles et qui affectent sensiblement le rendement et la composition de l'huile essentielle. Il s'agit du temps d'extraction, de la masse de matière végétale à traiter et enfin, le débit de vapeur d'eau. Afin de déterminer les

conditions opératoires optimales d'extraction, nous avons procédé à l'optimisation de ces trois paramètres. A cet effet nous avons fait appel à la méthode par planification des expériences.

3.2.3.2. Méthodologie des plans d'expériences

De manière générale, les plans d'expériences permettent une meilleure compréhension de phénomènes et permettent d'appréhender une variable réponse rapidement. De nos jours, de nombreux auteurs traitent de l'utilisation des plans d'expériences dans des domaines divers et variés dans le but d'étudier, d'optimiser, de confronter ou d'estimer divers expériences [151- 158].

Selon la définition donnée par Fisher, les plans d'expériences constituent « un essai technologique d'utilisation maximale de données ». L'efficacité d'un plan d'expériences en termes d'informations acquises et de fiabilité de ces informations est supérieure à celle de toute autre séquence d'essais non structurée de même volume. L'une des différences majeures entre les méthodes classiques de réalisation d'essais et la méthode des plans d'expériences réside dans le fait que dans la première, la recherche de l'effet des différents facteurs se fait de manière séquentielle et souvent non planifiée en changeant la valeur ou le niveau, d'un seul facteur à la fois, d'un essai à un autre, alors que dans la seconde méthode, plusieurs facteurs à la fois changent de niveau. L'interprétation ne se fait plus résultat d'essai par résultat d'essai, mais à partir de l'ensemble des résultats [159].

Cette méthodologie permet de tirer en un nombre d'essais donné, un maximum d'informations crédibles concernant l'influence des facteurs. Elle offre la possibilité de quantifier et de hiérarchiser les effets d'un grand nombre de facteurs de système étudié, et cela avec un nombre d'essais relativement faibles, c'est-à-dire dans le minimum de temps et de coûts [159].

Les plans d'expériences ont un réel intérêt dans l'étude des phénomènes en vue d'aboutir à des lois de type empirique ; leur impact dans l'optimisation des procédés est direct. Les études ainsi réalisées par les plans d'expériences permettent de mieux généraliser les résultats expérimentaux et d'aboutir à une meilleure compréhension de phénomènes physiques des procédés [142].

La méthode des plans d'expériences utilise une terminologie spécifique : La grandeur d'intérêt, qui est généralement notée y , porte le nom de réponse. Les variables qui peuvent modifier la réponse sont appelées facteurs. On parle donc des facteurs qui influent sur une réponse. Les termes facteur et réponse sont universellement employés dans le domaine des plans d'expériences [160].

Les facteurs sont des variables quantitatives ou qualitatives, continus ou discontinus, contrôlables ou non. La valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai est appelée niveau. Un facteur varie entre deux bornes :

- La borne inférieure est le niveau bas, notée par -1
- La borne supérieure est le niveau haut, notée par +1

L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, s'appelle le domaine de variation du facteur, ou tout simplement, le domaine du facteur. La réunion des domaines de chaque facteur définit le « **domaine d'étude** » ; ce domaine d'étude est la partie de l'espace expérimental retenu par l'expérimentateur pour faire ses essais [161].

Lorsque l'on attribue la valeur -1 au niveau bas d'un facteur et la valeur +1 au niveau haut, on fait introduire des nouvelles variables que l'on appelle **variables centrées réduites (v.c.r.)** : centrées pour indiquer le changement d'origine et réduites pour signaler la nouvelle unité. On les trouve sous la dénomination : valeurs codées. Le passage des variables d'origine A aux variables centrées réduites x , et inversement est donné par la formule suivante :

$$x = (A - A_0) / \text{pas} \quad (\text{III-1})$$

A_0 est la valeur centrale en unités courantes ;

L'intérêt des v.c.r. est de pouvoir présenter les plans d'expériences de la même manière quelques soient les domaines d'étude retenus et quelques soient les facteurs. La théorie des plans d'expériences présente ainsi une grande généralité. Tous nos facteurs sont des variables quantitatifs. Le domaine expérimental étudié pourra être représenté sous la forme d'un carré lorsque deux facteurs sont sollicités, ou encore sous la forme d'un cube lorsque trois facteurs seront investigués.

3.2.3.2.1. Présentation des plans composites centrés

Les plans composites centrés sont introduits historiquement par Box et Wilson [162] puis Box et hunter [163]. Les plans composites se prêtent bien au déroulement séquentiel d'une étude. Ces plans sont développés dans la méthodologie de surfaces de réponse. Ils sont orientés vers l'optimisation ou la prévision des réponses. Les plans composites centrés ont été créés pour modéliser, en vue de les explorer, les surfaces de réponse [160]. Cette méthode expérimentale propose des prédictions de haute qualité et présente l'avantage d'estimer un modèle courbe, et non linéaire, avec précision. Des surfaces de réponses permettront de déterminer les différentes réponses possibles à l'aide du modèle estimé, sans avoir à réaliser d'expériences supplémentaires. Cependant, ce modèle reste limité par le nombre de facteurs pouvant être étudiés et nécessite donc une étude préliminaire permettant de cibler les variables les plus influentes [164]

Dans le cadre de notre étude, l'optimisation du procédé « entraînement à la vapeur d'eau » a été étudiée à l'aide d'une méthodologie des surfaces de réponse conduite à partir d'un plan composite à faces centrées à trois variables et trois niveaux.

Ce plan est composé de trois parties principales :

- ❖ Un plan factoriel complet à deux niveaux (codés ± 1) : Ce plan permet de retrouver comme points expérimentaux toutes les combinaisons possibles de deux niveaux choisis des K facteurs, soit 2^K points. L'utilisation du plan factoriel complet se limite à l'étude de l'effet des paramètres selon un modèle linéaire.
- ❖ Des répétitions au point central (niveau 0) en vue d'estimer la reproductibilité des expériences. Nous avons adopté une répétition de 6 fois pour un plan à trois paramètres.
- ❖ Deux points en étoile par paramètre et positionnés sur les axes de chacun de ceux-ci à une distance α du centre du domaine (points axiaux). Ces points contribuent à l'évaluation des termes quadratiques du modèle polynomial (définissent les effets quadratiques des facteurs). Ils donnent des informations sur la courbure de la surface de réponse. Dans notre

étude, La valeur de α choisie équivaut à prendre les points axiaux au centre des faces du cube ($\pm\alpha = \pm 1$). Un tel choix correspond à un plan composite centré dit à faces centrées. Dans ce type de plan, tous les facteurs considérés ont uniquement trois niveaux distincts $[-1, 0, +1]$.

Le nombre total d'essais devant être menés, N , va dépendre du nombre de facteurs K étudiés et du nombre de répétitions au centre du domaine, n_0 . Le nombre total d'expériences est donnée par l'expression suivante :

$$N = 2^K + 2.K + n_0 \quad (\text{III-2})$$

Au niveau du plan expérimental, La combinaison des niveaux de valeurs dans ce type de plans à trois variables à trois niveaux donne le nombre de points expérimentaux suivants: 2^3 essais factoriels (± 1), 6 répétitions du centre du domaine expérimental (codé 0), 2x3 essais en étoile ($\pm\alpha$) (6 points axiaux dont la valeur est égale à ± 1). Au total nous obtenons 20 combinaisons à réaliser. Il faut noter que l'ordre des essais est choisi en randomisation afin d'éviter toute influence de l'expérimentateur sur la réponse.

Tableau 3.1 : Description des 20 expériences (exprimés en valeurs codées)

N°	X_1	X_2	X_3
1	-1	+1	+1
2	$-\alpha$	0	0
3	+1	+1	+1
4	0	0	0
5	0	$-\alpha$	0
6	+1	+1	-1
7	0	0	$+\alpha$
8	0	0	0
9	-1	+1	-1
10	0	0	0
11	+1	-1	-1
12	0	0	0
13	0	$+\alpha$	0
14	-1	-1	-1
15	-1	-1	+1
16	$+\alpha$	0	0
17	0	0	$-\alpha$
18	+1	-1	+1
19	0	0	0
20	0	0	0

Ainsi, 20 expériences seront réalisées de manière à pouvoir estimer le modèle mathématique investigué.

3.2.3.3. Choix du domaine expérimental

La détermination du domaine d'étude est étroitement liée aux connaissances initiales détenues sur le phénomène physique étudié mais également aux objectifs visés par l'expérimentation. Nous définissons le domaine d'étude et la validité de l'expérience menée en considérant les limites possibles pour la variation des facteurs. Nous rappelons dès maintenant que les résultats de l'étude ne seront valables que sur le domaine de variation des facteurs considérés. Le choix des domaines d'étude des paramètres étudiés, définis à l'issue des essais préliminaires sont présentés comme l'indique le tableau 3.2.

Tableau 3 .2 : Domaine d'étude des facteurs

Paramètres étudiés	Niveau inférieur	Niveau supérieur
Temps d'extraction (min): T	60	180
Masse de la Matière végétale (g) : M	30	40
Débit de vapeur (ml/min) : Q_V	1	2

Pour simplifier l'exploitation des résultats, les variables réelles sont remplacées par des variables centrées réduites calculées à partir de la formule suivante :

$$x = (A - A_0) / \text{pas}$$

A_0 est la valeur centrale de l'intervalle [-1, +1] exprimé en unités courantes ;

- X_1 : variable centrée réduite correspondant au temps d'extraction T.

$$X_1 = (T - T_m) / \Delta t \quad (\text{III-3})$$

- X_2 : variable centrée réduite correspondant à la masse M de matière végétale à traiter

$$X_2 = (M - M_m) / \Delta M \quad (\text{III-4})$$

- X_3 : variable centrée réduite correspondant au débit de vapeur d'eau Q_V

$$X_3 = (Q_V - Q_{vm}) / \Delta Q_V \quad (\text{III-5})$$

$$T_m = (T_{inf} + T_{sup}) / 2 = (180 + 60) / 2 = 120 \text{ min} \quad (\text{III-6})$$

$$M_m = (M_{inf} + M_{sup}) / 2 = (40 + 30) / 2 = 35 \text{ g} \quad (\text{III-7})$$

$$Q_{vm} = (Q_{inf} + Q_{sup}) / 2 = (2 + 1) / 2 = 1,5 \text{ ml/L} \quad (\text{III-8})$$

Et:

$$\Delta T = (T_{sup} - T_{inf}) / 2 = (180 - 60) / 2 = 60 \text{ min} \quad (\text{III-9})$$

$$\Delta M = (M_{sup} - M_{inf}) / 2 = (40 - 30) / 2 = 5 \text{ g} \quad (\text{III-10})$$

$$\Delta Q_V = (Q_{sup} - Q_{inf}) / 2 = (2 - 1) / 2 = 0,5 \text{ mL /min} \quad (\text{III-11})$$

Le tableau 3.3 présente les domaines de variations des paramètres étudiés en valeur codées et non codées du plan composite à faces centrées.

Tableau 3.3 : Domaine d'étude des paramètres opératoires par le plan composite à faces centrées (en coordonnées réelles et en coordonnées centrés réduites)

Niveau	Temps d'extraction (min) : T	Masse de la matière végétale (g) : M	Débit de vapeur d'eau (ml/min) : Q_V
- α	60	30	1
-1	60	30	1
0	120	35	1,5
+1	180	40	2
+ α	180	40	2

Ces paramètres ont été étudiés de manière à optimiser les réponses suivantes :

- Le rendement en huile essentielle : C'est un paramètre quantitatif, Il est défini par la relation suivante:

$$R = (M_{HE} / M) * 100 \quad (III-12)$$

Où :

M_{HE} : la masse de l'huile essentielle (g) ;

M : la masse de la matière végétale sèche (g).

➤ La composition chimique : C'est un paramètre qualitatif et quantitatif.

Chaque point réalisé lors du plan d'expérience est susceptible de nous donner une réponse. Pour chaque essai réalisé dans le plan d'expériences, le rendement et le profil aromatique ont été déterminés.

3.2.4. Analyses statistiques

Les diverses réponses, analyses de données et interprétations seront réalisées en utilisant un logiciel statistique : Statgraphics centurion XV (Statgraphics Plus V. 5.1. Statistical Graphics Corporation, Rockville, USA). Une série et une présentation de tests statistiques pourront juger la qualité du modèle. L'élaboration de cette stratégie expérimentale va permettre d'exprimer les réponses étudiées sous la forme d'une équation polynomiale du second degré à trois variables par rapport aux variables codées (III-13) présentée ci-après.

$$y = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + a_3 x_3 + a_{12} x_1 x_2 + a_{13} x_1 x_3 + a_{23} x_2 x_3 + a_{11} x_1^2 + a_{22} x_2^2 + a_{33} x_3^2 + e \quad (III-13)$$

Où ,

y est la réponse ou critère d'optimisation étudié (rendement...).

x_i représente les variables opératoires.

a_0 représente la moyenne des réponses.

a_1 , a_2 , a_3 représentent les effets individuels des paramètres étudiés.

a_{12} , a_{13} et a_{23} quantifie l' effets d'interaction entre les facteurs x_1 , x_2 , x_1 , x_3 et x_2 , x_3 .

a_{11} , a_{22} , a_{33} quantifie l'effet quadratique du facteur x_1 , x_2 et x_3 .

e est l'écart ou le résidu .

Le logiciel de calculs statistiques concédera la réalisation des différentes opérations fondées sur l'analyse de la variance.

3.2.5. Analyse par Chromatographie en phase Gazeuse et par Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

Les analyses sont réalisées par chromatographie en phase gazeuse seule sur un appareil de marque Hewlett Packard 6890, et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse sur un appareil de marque Shimadzu QP2010 (Kyoto, Japan). Deux colonnes capillaires, l'une polaire (CP-Wax) et l'autre apolaire (HP5MS), ont été utilisées.

Tableau 3.4: Conditions opératoires des analyses en chromatographie en phase gazeuse

Paramètres		
Colonne capillaire	HP 5 MS	CP-Wax
Longueur	30 m	30 m
diamètre interne	0,25 mm	0,32 mm
épaisseur de phase	0,25 µm	0,5 µm
Température Du détecteur (FID)	320°C	320°C
Gaz vecteur	Azote	Azote
Débit	0,3 ml	0,3 ml
Température de l'injecteur	250°C	250°C
	20°C /min de 60°C à 180°C	20°C/min de 60°C à 180°C
Programmation du four	4°C /min de 180°C à 230°C	4°C/min de 180°C à 230°C
	15 min à 230°C	15 min à 230°C
Concentration des échantillons	pur	pur
Quantité injectée	2 µL	2 µL
Mode d'injection	Split 1 :15	Split 1 :15

Dans le cas de GC/ FID, l'identification des composés a été réalisée en comparant les temps et les indices de rétention (Indices de Kovats) déterminés avec une série de n- alcanes de C₅-C₁₄ et avec des composés standards injectés dans les

mêmes conditions ou avec les résultats publiés dans la littérature. L'identification des composés est confirmée par comparaison de leur spectre de masse ions-fragments caractéristiques obtenus expérimentalement à ceux cités dans la littérature [165] et/ou inventoriés dans les banques de bibliothèques spectrales (Wiley7, Nist 2002).

Tableau 3.5 : Conditions opératoires des analyses en CG/SM

Paramètres		
Mode de détection:	Impact électronique	
Courant d'ionisation	70 eV	70 eV
Colonne capillaire	HP 5 MS	CP-Wax
Longueur	30 m	30 m
diamètre interne	0,25 mm	0,32 mm
épaisseur de phase	0,25 µm	0,5 µm
Gaz vecteur	Hélium	Hélium
Débit	0,7 ml	0,3 ml
Température d'interface	280°C	280°C
Température de l'injecteur	250°C	250°C
Programmation du four	20°C/min de 60°C à 180°C 4°C/min de 180 à 230°C 15 min à 230°C	20°C/min de 60°C à 180°C 4°C/min de 180 à 230°C 15 min à 230°C
Concentration des échantillons	pur	pur
Quantité injectée	2 µL	2 µL
Mode d'injection	Split 1 :15	Split 1 :15

3.2.6. Détermination des propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba par EV

Nous avons procédé à la détermination des propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle obtenue avec les conditions optimales ; l'indice de réfraction et

la densité. La mesure des constantes a été effectuée selon les méthodes normalisées [64].

3.3. Résultats et discussions

3.3.1. Expérimentation

Les paramètres des 20 expériences réalisées dans le cadre du plan expérimental ainsi que les rendements obtenus pour chaque expérience sont représentés dans le tableau 3.6.

Tableau 3.6: Expériences réalisées dans le plan expérimental et réponses obtenues

N°	Temps d'extraction	Masse de la matière végétale	Débit de vapeur d'eau	Rendement en huile essentielle (%)
1	-1	+1	+1	2,78
2	- α	0	0	2,60
3	+1	+1	+1	1,90
4	0	0	0	2,53
5	0	- α	0	3,01
6	+1	+1	-1	2,92
7	0	0	+ α	1,97
8	0	0	0	2,33
9	-1	+1	-1	1,58
10	0	0	0	2,58
11	+1	-1	-1	2,68
12	0	0	0	2,66
13	0	+ α	0	2,90
14	-1	-1	-1	2,70
15	-1	-1	+1	3,33
16	+ α	0	0	2,80
17	0	0	- α	1,50
18	+1	-1	+1	1,68
19	0	0	0	2,50
20	0	0	0	2,58

L'examen du tableau montre que dans le domaine d'étude, il peut être constaté des variations de réponses en fonction des niveaux des facteurs impliqués dans l'expérience.

3.3.2. Etude des effets du temps d'extraction, de la masse végétale et du débit de vapeur sur le rendement

3.3.2.1. Analyse de la variance des résultats (ANAVAR).

Une analyse de variance a été réalisée sur les résultats obtenus (tableau 3.7). Cette analyse est une technique statistique qui a pour but d'interpréter les coefficients relatifs à chaque action du modèle. Elle permet de tester chaque effet des paramètres étudiés, linéaires, quadratiques et interactions entre facteurs et de représenter graphiquement l'importance de chaque facteur sur la réponse étudiée. Dans une telle analyse le test de signification d'un facteur s'effectue en examinant le rapport F du carré moyen relatif à ce facteur au carré moyen relatif aux erreurs expérimentales à la valeur critique de la variable de Fisher Snedecor, tabulée en fonction du seuil de signification choisi et des degrés de liberté (ddl) des deux carrés moyens comparés [166].

Le rapport F est donné par la relation suivante :

$$F(\text{effet}) = (\sum(\text{effets})^2 / n_1) / (\sum(\text{erreurs})^2 / n_2) \quad (\text{III- 14})$$

Avec : n_1 , n_2 : degré de liberté respectivement de l'effet et de l'erreur pure.

Le rapport F expérimental (F_{exp}) suit alors une loi de Fisher Snedecor si l'effet réel de l'action analysée est nul. Cette hypothèse est dite hypothèse nulle, notée par H_0 . La loi de Fisher Snedecor dépend du nombre de degrés de liberté des variances estimées du rapport F_{exp} . Le logiciel statistique associe à la valeur estimée F_{exp} une probabilité notée valeur- p à un niveau de confiance de 95% par référence à une table statistique.

- Si la valeur- P est inférieure à 5%, l'hypothèse H_0 est rejetée et l'action sera déclarée comme significative.
- Si la valeur- P est supérieure à 5%, l'hypothèse H_0 est retenue et l'action sera déclarée comme non significative.

Pour chacun des paramètres, la significativité des effets linéaires, quadratiques et des interactions intervenant entre les variables est ainsi testée puis représentée sur un diagramme de Pareto. Ces tests permettront de juger de la pertinence des variables et de modéliser au final la réponse étudiée sous la forme d'un modèle polynomial du second degré [167].

Tableau 3.7 : Analyse de la variance du rendement en huile essentielle

<i>Source</i>	<i>Somme des carrées</i>	<i>Degrés de liberté</i>	<i>Carrés moyens</i>	<i>Ratio-F</i>	<i>Valeur-P</i>
A : Temps d'extraction	0,10201	1	0,10201	8,12	0,0358
B : Masse de la matière végétale	0,17424	1	0,17424	13,87	0,0136
C : Débit de vapeur	0,00784	1	0,00784	0,62	0,4653
AA	0,123914	1	0,123914	9,87	0,0256
AB	0,567113	1	0,567113	45,15	0,0011
AC	1,85281	1	1,85281	147,52	0,0001
BB	0,600445	1	0,600445	47,81	0,0010
BC	0,0378125	1	0,0378125	3,01	0,1432
CC	1,55815	1	1,55815	124,06	0,0001
Erreur d'ajustement	0,272357	5	0,0544714	4,34	0,0666
Erreur pure	0,0628	5	0,01256		
Total	4,75305	19			

Les résultats d'analyse sont récapitulés dans le tableau ci-dessus :

- La première colonne désigne la source de variation.
- La deuxième colonne est la somme des carrés des écarts.
- La troisième colonne représente le degré de liberté de chaque facteur et interaction
- La quatrième colonne concerne le calcul des carrés moyens, des facteurs, des interactions et des erreurs afin de vérifier la significativité.
- La cinquième colonne représente la valeur de F calculée. A côté de la valeur du rapport F, le logiciel associe la valeur de probabilité P. Les effets inférieurs à 0,05 dans cette colonne sont considérés comme significatifs. Ainsi, tous les facteurs et les interactions testés sont jugés comme étant significatifs, tandis que le débit de vapeur d'eau et l'interaction débit de vapeur et masse de matière végétale sont jugés non significatifs sur le rendement.
- Le Lack-of-fit ou erreur d'ajustement entre les modèles, représente l'écart systématique entre le modèle réel et le modèle choisi. Il est conçu pour déterminer si le modèle sélectionné est adéquat pour décrire les données observées. La valeur de P de lack-of-fit obtenue dans la table de l'anova est supérieure à 0.05, ce qui explique statistiquement que le lack-of-fit n'est pas significatif, ce résultat confirme que le modèle adopté est un modèle adéquat pour les données observées avec un niveau de confiance de 95%.

3.3.2.2. Analyse graphique des résultats

➤ Diagramme de Pareto

Les effets des paramètres sont aussi vérifiés graphiquement à l'aide du diagramme de Pareto-Chart, donnant la représentation des effets standardisés. Nous rappelons que l'effet standardisé est exprimé par l'effet observé rapporté à l'écart type estimé de l'effet.

Le diagramme de Pareto présenté dans la figure 3.2 est un diagramme à barres qui représente l'effet linéaire, quadratique et interaction entre facteurs. Dans ce diagramme, la longueur de la barre est proportionnelle à la valeur absolue des effets estimés avec un niveau de confiance de 95%. Chaque effet qui traverse la ligne verticale avec un risque d'erreur de 5% est considéré significatif vis-à-vis de la réponse. Il révèle sept effets significatifs qui interagissent dans le domaine de variation des paramètres choisi, à savoir le temps d'extraction, la masse de la matière végétale, les interactions entre les facteurs: temps d'extraction, masse de la matière végétale et temps d'extraction, débit de vapeur d'eau, les effets quadratiques du débit de vapeur, de la masse végétale et celui du temps d'extraction.

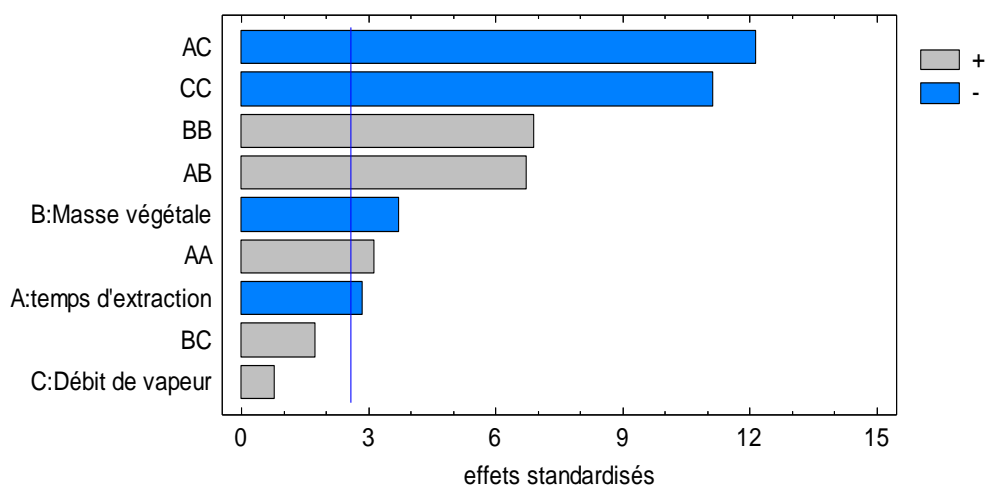


Figure 3.2 : Diagramme des effets standardisés sur le rendement

Suite aux résultats obtenus de l'analyse de la variance et au diagramme des effets standardisés, On a pu rassembler les conclusions suivantes dans le domaine expérimental étudié :

- 1- L'effet d'interaction du couple « temps d'extraction – débit de vapeur » et du couple « temps d'extraction- masse végétale » semblent être plus significatifs sur le rendement.
- 2- L'effet quadratique du « débit de vapeur » et celui de « la masse de la matière végétale » influe significativement et considérablement sur le rendement en HE, alors que l'effet quadratique du temps d'extraction est plus faible.
- 3- L'effet simple de « la masse végétale » est la variable quantitative présentant l'influence la plus importante sur le rendement en HE par rapport au temps d'extraction et débit de vapeur d'eau.
- 4- Il ne semble pas y avoir d'effet d'interaction significatif entre la « masse végétale » et le « débit de vapeur ». L'effet simple du débit de vapeur n'est pas influent sur la réponse étudiée.

➤ Les effets simples

La figure 3.3 illustre l'action des effets simples des paramètres sur le rendement en huile essentielle (%). Les effets simples de chaque variable représentée permettent d'évaluer leur action lorsque le paramètre passe de son niveau bas à son niveau haut. Les deux autres paramètres étant fixés au centre de leur repère expérimental (valeur centrée). L'analyse de cette figure montre que le temps a une influence sur le rendement, il varie en fonction du temps. Il est maximal à T= 60min, ensuite il décroît de façon continue avec l'augmentation du temps, passe par un minimum dans l'intervalle [120, 180], puis il augmente légèrement pour un T= 180 min. Concernant l'effet de la masse végétale, le meilleur rendement est obtenu pour une M = 30g et il diminue avec l'augmentation de la masse, passe par un minimum au voisinage de M égale à 36 g puis il augmente de façon

proportionnelle avec la masse. En revanche, l'effet simple du débit de vapeur d'eau est différent, l'effet du débit sur le rendement est le même lorsqu'il se trouve dans le niveau bas et le niveau haut. Il passe par un maximum aux alentours du milieu de l'intervalle. Ces résultats conduisent donc à un rendement optimisé pour un temps égal à 60 minutes, une masse égale à 30g et un débit égal ou supérieur à 1,5ml/min. Cependant, l'effet de la masse est la variable quantitative présentant l'influence la plus importante et la plus significative sur le rendement que celui des autres variables et on enregistre avec le maximum de rendement, ce qui confirme les observations soulignées avec le digramme de Pareto.

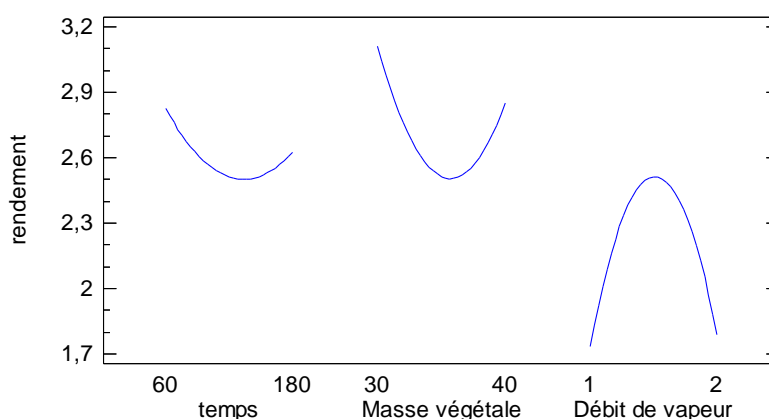


Figure 3.3: Effets simples des paramètres opératoires sur le rendement

➤ Les effets d'interaction

La présentation des effets d'interaction permet d'illustrer l'influence d'un facteur sur un autre lorsque ce dernier est à son niveau bas puis à son niveau haut, le troisième étant à son niveau zéro. Graphiquement, ces effets sont définis comme significatifs lorsque les courbes représentées ne varient pas dans le même sens à leurs niveaux inférieur et supérieur. La figure 3.4 donne la représentation graphique de ces effets. L'examen de cette figure montre que les deux courbes dans AB se croisent et témoignent d'une interaction entre temps d'extraction-masse de la matière végétale. Cet effet est jugé comme étant significatif où il montre que les deux courbes ne varient pas dans le même sens à leurs deux niveaux haut et bas. En examinant l'interaction AC entre les variables « temps

d'extraction » et « débit de vapeur » est forte, les deux courbes se croisent. Les signes de leurs pentes sont différents, par conséquent elles ne varient pas dans le même sens aux deux niveaux inférieur et supérieur. D'où cet effet AC est défini comme hautement significatif. La réponse étudiée est donc fortement influencée par cet effet d'interaction. Ce résultat confirme la conclusion tirée lors de l'appréciation du diagramme Pareto. En revanche, l'analyse de cette figure montre que l'effet d'interaction BC entre les variables « masse végétale » et « débit de vapeur » est faible. Cependant, l'influence de cet effet reste faible sur la réponse étudiée et confirme l'observation soulignée avec le diagramme de Pareto dans le domaine expérimental étudié.

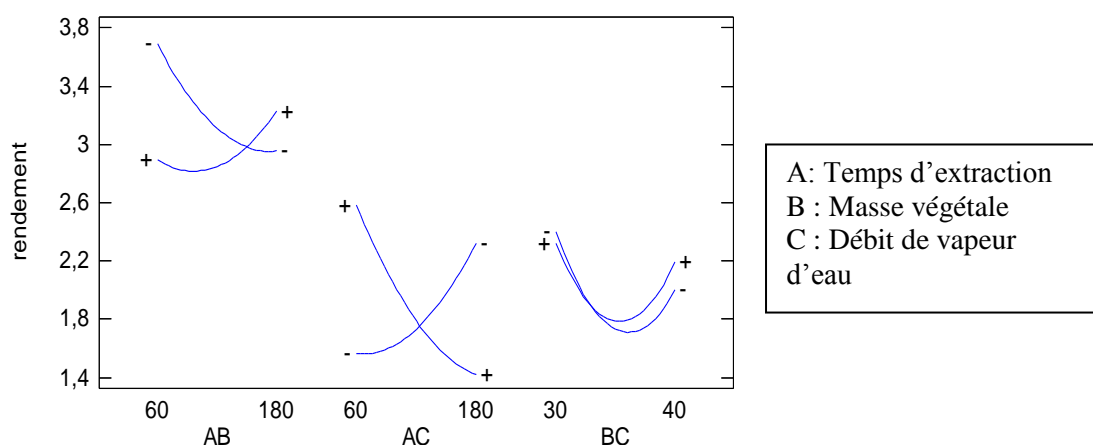


Figure 3.4: Effets d'interaction des paramètres opératoires sur le rendement

3.3.2.3. Coefficient de détermination du modèle R^2

La valeur du coefficient de détermination R^2 est 92.95 %. Il indique le degré d'ajustement du modèle $Y = f(X)$; plus ce coefficient est proche de 100 % plus le niveau de confiance vis-à-vis du modèle proposé est grand et le modèle sera de plus en plus satisfaisant (plus R^2 est proche de 1, meilleur est l'ajustement).

Et la qualité du modèle sera d'autant meilleure que R^2 ajusté serait proche de 1. La valeur de R^2 ajusté pour notre modèle mathématique est égale à 86,60 %.

3.3.2.4. Détermination du modèle mathématique

L'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau peut être représentée sous la forme d'une équation polynomiale du second degré dont les effets estimés de chaque coefficient sont représentés dans le tableau 3.8. L'analyse de ce tableau révèle que l'effet linéaire du débit de vapeur d'eau et l'effet d'interaction « masse végétale » et « débit de vapeur d'eau » sont faibles. Tandis que les autres effets sont les plus importants et les plus influençant sur le rendement.

Tableau 3.8: Effets estimés de coefficients

<i>Coefficient</i>	<i>Estimation</i>
Constante	2,51309
A: Temps d'extraction	-0,101
B: Masse végétale	-0,132
C: Débit de vapeur d'eau	0,028
AA	0,212
AB	0,266
AC	-0,481
BB	0,467
BC	0,069
CC	-0,753

Les effets estimés nous permettent d'exprimer le rendement sous la forme d'une équation polynomiale du second degré relative au domaine expérimental défini et impliquant les trois facteurs étudiés.

Le modèle en variables codées s'écrit alors :

$$\mathbf{Rendement} = 2,51309 - 0,101 \cdot \mathbf{A} - 0,132 \cdot \mathbf{B} + 0,028 \cdot \mathbf{C} + 0,212 \cdot \mathbf{A}^2 + 0,266 \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{B} - 0,481 \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{C} + 0,467 \cdot \mathbf{B}^2 + 0,069 \cdot \mathbf{B} \cdot \mathbf{C} - 0,753 \cdot \mathbf{C}^2 \quad (\text{III-15})$$

Suite aux résultats donnés par l'analyse de la variance, nous avons constaté que l'effet linéaire du « débit de vapeur d'eau » et l'effet d'interaction entre la « masse végétale » et le « débit de vapeur » ne soient pas significatifs. De ce fait, ils sont généralement négligés dans le modèle mathématique.

Le modèle mathématique s'écrira alors :

$$\mathbf{Rendement} = 2,51309 - 0,101 \cdot \mathbf{A} - 0,132 \cdot \mathbf{B} + 0,212 \cdot \mathbf{A}^2 + 0,266 \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{B} - 0,481 \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{C} + 0,467 \cdot \mathbf{B}^2 - 0,753 \cdot \mathbf{C}^2 . \quad (\text{III-16})$$

Où :

- **A, B, C**, sont respectivement les coefficients linéaires des variables quantitatives « temps d'extraction », « masse végétale », « débit de vapeur d'eau ».
- **A², B², C²**, représentent les effets quadratiques des variables.
- **AB, AC, BC**, représentent les interactions entre variables.

L'ajustement du modèle peut être vérifié en comparant les valeurs expérimentales obtenues pour le rendement en huile essentielle et les valeurs prédites par le modèle (tableau 3.9). Plus les valeurs sont proches, plus l'ajustement du modèle est satisfaisant et par conséquent le modèle décrit bien le comportement du système étudié.

Tableau 3.9 : Valeurs expérimentales et prédites du rendement en huile essentielle

<i>Essais</i>	<i>Valeur expérimentale</i>	<i>Valeur prédite</i>
1	2,78	2,720
2	2,60	2,82
3	1,90	2,08
4	2,53	2,51
5	3,01	3,11
6	2,92	2,85
7	1,97	1,78
8	2,33	2,51
9	1,58	1,56
10	2,58	2,51
11	2,68	2,72
12	2,66	2,51
13	2,90	2,84
14	2,70	2,49
15	3,33	3,37
16	2,80	2,62
17	1,50	1,73
18	1,68	1,68
19	2,50	2,51
20	2,58	2,51

3.3.2.5. Définition des conditions optimales

Cette équation nous permet de représenter l'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau sous forme de surfaces de réponse en trois dimensions et de surfaces d'iso- réponses en deux dimensions (Figures 3.5).

- Les surfaces de réponse sont des représentations graphiques de la réponse du système étudié en fonction de deux paramètres opératoires, le troisième est fixé à son niveau central (niveau zéro). Le tracé de ces courbes de surfaces de réponse permet de rechercher des régions expérimentales pour laquelle la réponse est optimale et déduire les conditions optimales d'extraction.
- La projection des surfaces de réponse sur un plan permet de tracer des courbes en fonction de chaque couple de paramètres pour lesquels une même réponse est obtenue. Ce sont les contours ou courbes d'iso-réponses. Comme il y'a trois facteurs, la représentation des courbes nécessite de fixer le niveau de l'un des trois facteurs pour pouvoir dessiner les courbes iso- réponses en fonction des deux autres.

La figure 3.5.a illustre la surface des réponses et d'isoréponses des effets combinés de la « masse de la matière végétale » et du « débit de vapeur d'eau » sur le rendement en huile essentielle, alors que le « temps d'extraction » est fixé à son niveau central. La réponse diminue de façon rapide lorsque la masse évolue vers son niveau supérieur mais elle marque une légère augmentation lorsque la masse est comprise dans l'intervalle $[0, +1]$. Cependant il convient de noter que l'effet linéaire de la masse possède une influence comme soulignée précédemment lors de l'analyse du diagramme de Pareto. Le débit présente une influence sur le rendement montré par une courbure apporté par l'effet quadratique du débit présentant un rendement faible avec le niveau bas du débit et qui augmente lorsque le débit augmente. La courbe semble montrer un rendement maximal lorsque la masse se trouve dans son niveau bas (-1) et lorsque le débit de vapeur tend vers une valeur proche de celle du centre du domaine expérimental.

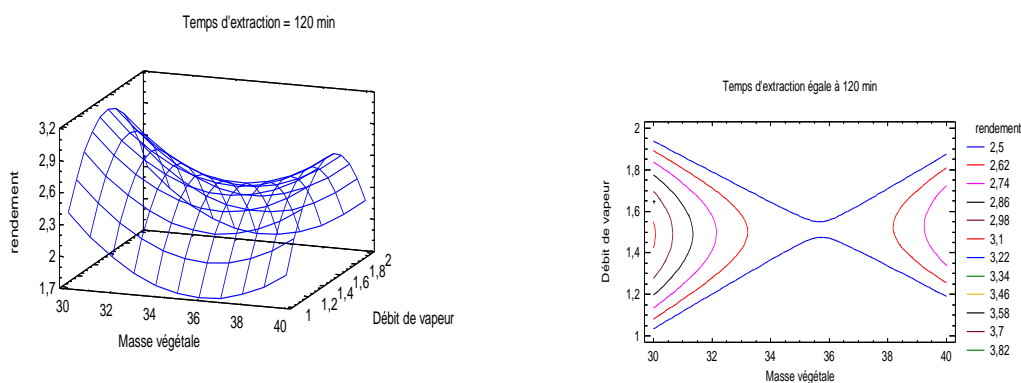


Figure 3.5.a: Surfaces de réponses et d'isorendement correspondants au couple « masse végétale- débit de vapeur » obtenues pour le rendement en huile essentielle

La figure 3.5.b illustre la surface des réponses et d'isorendement des effets combinés de « la masse végétale » et du « temps d'extraction » obtenue pour le rendement. Tandis que le « débit de vapeur » est fixé à son niveau central. Cette figure révèle que le rendement diminue de manière rapide lorsque le temps d'extraction augmente vers son niveau supérieur. La masse présente une influence sur le rendement comme exprimé précédemment lors de l'étude du digramme de Pareto montré par une courbure apportée par l'effet quadratique de la masse présentant un rendement faible avec le niveau bas de la masse végétale et qui diminue rapidement lorsqu'on commence à augmenter la masse végétale. La courbe semble montrer un minimum lorsque la masse et le temps se trouvent proche du centre du domaine expérimental. La combinaison des deux paramètres conduit à un rendement très important lorsque les niveaux bas des deux variables sont combinés.

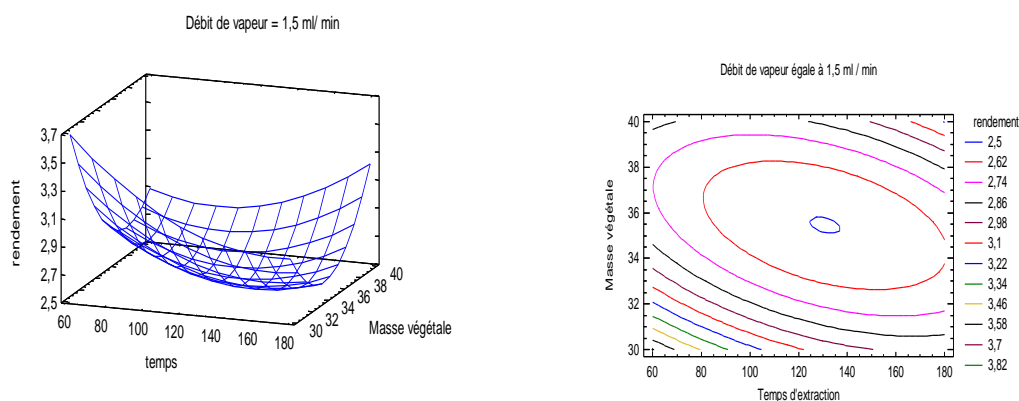


Figure 3.5.b: Surfaces de réponses et d'isoréponses correspondants au couple « temps d'extraction -masse végétale » obtenues pour le rendement en huile essentielle

Les surfaces de réponses et d'isoréponses représentées sur la figure 3.5.c met en relation les effets combinés du « temps d'extraction » et du « débit de vapeur d'eau » obtenus pour la réponse étudiée, alors que la « masse de la matière végétale » reste fixée au centre du domaine expérimental. L'effet linéaire du temps d'extraction est significatif comme explicité précédemment lors de l'étude du diagramme de Pareto, le rendement augmente de façon linéaire lorsque l'on passe de son niveau bas à son niveau haut. Une courbure apportée par l'effet quadratique du débit de vapeur peut être observée sur le diagramme soulignant un rendement plus important lorsque le « débit de vapeur » a une valeur proche de celle du centre du domaine expérimental et qui diminue lorsque l'on se dirige vers le niveau haut et on augmente en temps. Cette combinaison présente un maximum du rendement beaucoup plus important lorsque le débit de vapeur tend vers le centre du domaine expérimental et le temps d'extraction dans son niveau bas.

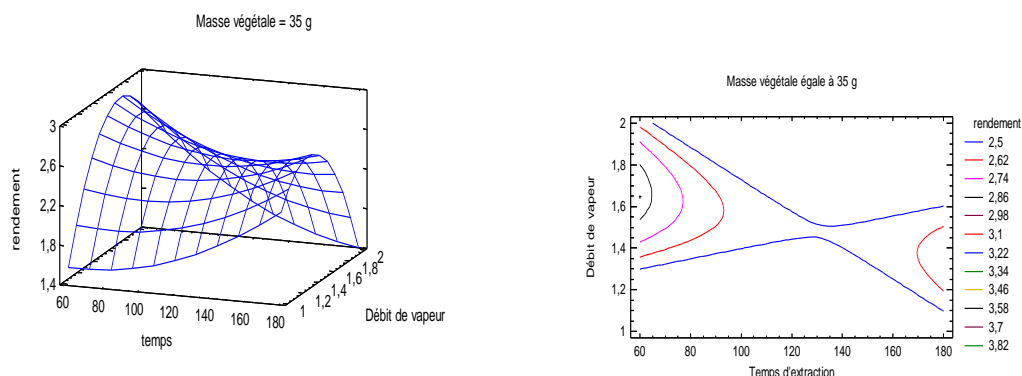


Figure 3.5.c : Surfaces de réponses et d'isoréponses correspondants au couple « temps d'extraction - débit de vapeur » obtenues pour le rendement en huile essentielle

L'étude de ces différentes surfaces confirme les conclusions tirées des analyses de variance et du diagramme de Pareto. De ce fait, les différentes surfaces nous laissent prédire que les rendements en huile essentielle présentent un maximum lorsque les deux variables « temps d'extraction » et « masse végétale » tendent vers le niveau bas et la variable « débit de vapeur » tend vers une valeur proche de celle du centre du domaine expérimental. Le tableau 3.10 rassemble les conditions optimales d'extraction (en valeurs codées et réelles).

Tableau 3.10 : Valeurs des paramètres opératoires optimisés

Facteurs	Valeur codée	Valeur réelle
Temps d'extraction optimal (min)	-1	60 min
Masse de la matière végétale optimale (g)	-0,998675	30 g
Débit de vapeur optimal (ml/min)	0,294821	1,65 ml/min

Le rendement en HE optimal égale à 3,75%.

3.3.3. Etude de la variation de la composition chimique de l'huile essentielle en fonction des paramètres opératoires

Le but de cette étude est de vérifier l'influence des paramètres opératoires sur la qualité et la composition de l'huile essentielle. Ainsi, les principaux composés obtenus par la technique chromatographique (CPG et CPG/SM) de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* seront étudiés comme variables réponses par l'intermédiaire de plan composite centré. Cette étude permettra de mettre en évidence l'impact des variables sur l'extraction spécifique d'un composé par rapport à un autre.

3.3.3.1. Résultats obtenus

Le tableau 3.11 rassemble les variables réelles et codées des trois facteurs impliqués dans l'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau : Temps d'extraction, masse végétale et débit de vapeur d'eau. Ces paramètres ont été appliqués à la réalisation de Vingt extractions de l'huile essentielle basée sur l'application d'un plan composite à faces centrées. Aussi, ce tableau réunit les constituants majoritaires observés pour l'ensemble des échantillons des huiles essentielles extraites dans le cadre du plan expérimental et leurs diverses teneurs. La composition chimique est principalement basée sur des composés oxygénés avec dominance de chrysanthénone et du camphre dont les teneurs varient de 31,2% à 54,1% pour la chrysanthénone et de 11,2% à 26,6% pour le camphre. Les autres composés oxygénés sont présents avec des teneurs relativement faibles à savoir : le 1-8-cinéole varie entre 2,1% et 9,2 %, le filifolone (entre 5,1% et 8,9%), le α -thujone (de 0,2% à 20%), le β -thujone (entre 0,1% et 10,4%). La fraction hydrocarbonée est présente avec une proportion faible. Elle est principalement composée du camphène. Les autres composés oxygénés et hydrocarbonés se retrouvent avec des teneurs très faibles.

L'examen du tableau 3.11 révèle que la composition chimique de l'huile essentielle est fortement influencée par les conditions opératoires de l'entraînement à la vapeur d'eau.

Tableau 3.11: Variation de la teneur (%) des constituants majoritaires de l'huile essentielle en fonction des conditions opératoires

Ordre des essais	Temps d'extraction	Masse de la matière végétale	Débit de vapeur d'eau	Chrysanthémone (%)	Camphre (%)	Filifolone (%)	1,8-Cinéole (%)	α -Thujone (%)	β -Thujone (%)
1	-1	+1	+1	45,7	20,1	8,6	2,2	0,2	0,1
2	-1	0	0	31,8	19,3	8,9	4,9	7,7	7,4
3	+1	+1	+1	54,1	15,1	6,9	5,1	0,7	0,6
4	0	0	0	36,5	20,4	5,7	5,5	6,3	6,2
5	0	-1	0	35,9	20,9	7	5,9	7,2	6,4
6	+1	+1	-1	40,1	25,9	5,9	7,9	0,4	0,7
7	0	0	+1	48,9	14	7,2	4,1	3,7	3,6
8	0	0	0	44,4	18,5	7,6	3,9	3,7	4,4
9	-1	+1	-1	49,4	17,9	7,9	4,6	0,3	2,7
10	0	0	0	39,9	26,6	6,1	9,2	0,3	0,7
11	+1	-1	-1	39,1	16,4	5,9	6	5,4	5,4
12	0	0	0	38,8	15,3	6,3	4,1	12	7,1
13	0	+1	0	37,6	15,2	7,3	4	12,9	7,4
14	-1	-1	-1	40,6	20,2	6,5	4,1	5,8	5,8
15	-1	-1	+1	41	18,7	6,7	5,6	5,9	6,0
16	+1	0	0	37,8	11,2	5	2,1	20,0	7,1
17	0	0	-1	45,3	17,3	6,7	5,3	4,6	4,7
18	+1	-1	+1	39,6	12,2	6,4	2,6	11,1	9,2
19	0	0	0	35,4	15,7	5,1	4,7	12,6	8,4
20	0	0	0	31,2	14,2	5,6	4,6	14,9	10,4

3.3.3.2. Analyse des résultats

Les résultats obtenus ont été analysés par le logiciel statistique STATGRAPHICS.

3.3.3.2.1. Modèle mathématique

Les teneurs des constituants majoritaires identifiés dans les différents échantillons des huiles essentielles extraites par entraînement à la vapeur d'eau, ont été considérées comme variables réponses dans un plan de type « plan composite à faces centrées », basé sur une méthodologie de surfaces de réponses. Les réponses expérimentales obtenues ont été utilisées afin de compléter les coefficients intervenant dans un modèle d'équation polynomial du second degré comme présenté ci-dessous :

$$Y = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + a_3 x_3 + a_{12} x_1 x_2 + a_{13} x_1 x_3 + a_{23} x_2 x_3 + a_{11} x_1^2 + a_{22} x_2^2 + a_{33} x_3^2 \quad (\text{III-17})$$

Où :

- Y (%) est la réponse étudiée et représente la teneur d'un constituant dans un échantillon,
- X_i sont les variables opératoires exprimés en valeurs codées et impliquées dans le modèle mathématique, pour chaque facteur i .
- a_0 représente la moyenne des réponses obtenues,
- a_1, a_2, a_3 représentent les coefficients de régression linéaires des paramètres étudiés,
- a_{12}, a_{13}, a_{23} quantifie les effets d'interaction entre les facteurs $x_1, x_2; x_1, x_3$ et x_2, x_3 .
- a_{11}, a_{22}, a_{33} représentent les effets quadratiques des facteurs x_1, x_2 et x_3 .

En conséquence, la variation de la teneur (%) des constituants majoritaires peut être concrétisée comme une fonction de trois paramètres : Temps d'extraction (X_1), masse végétale (X_2), débit de vapeur d'eau (X_3). Les effets estimés de chaque coefficient sont regroupés dans le tableau 3.12.

Tableau 3.12 : Coefficients de régression estimés pour chaque composé

Coefficient de régression	Chrysanthénone	Camphre	Filifolone	1,8 Cinéole	α -thujone	B-thujone
A_0	37,634	17,54	6,367	5,001	9,423	6,503
A_1	0,22	-1,54	-0,85	0,23	1,77	0,1
A_2	3,07	0,58	0,41	-0,04	-2,09	-2,13
A_3	1,48	-1,76	0,29	-0,83	0,51	0,02
A_{11}	-2,736	-0,923	0,132	-1,004	2,74	0,291
A_{12}	0,25	1,663	-0,35	0,912	-0,525	-0,537
A_{13}	2,225	-1,963	0,075	-0,662	0,75	0,762
A_{22}	-0,786	1,877	0,332	0,445	-1,06	-0,059
A_{23}	1,175	-0,363	0,125	-0,412	-0,7	-0,837
A_{33}	9,563	-0,523	0,132	0,195	-6,96	-2,809

Ainsi le modèle mathématique sous la forme d'une équation polynomiale du second degré pour chaque composé s'écrit :

- **Chrysanthénone** = $37,634 + 0,22 \cdot X_1 + 3,07 \cdot X_2 + 1,48 \cdot X_3 - 2,736 \cdot X_1^2 + 0,25 \cdot X_1 \cdot X_2 + 2,225 \cdot X_1 \cdot X_3 - 0,786 \cdot X_2^2 + 1,175 \cdot X_2 \cdot X_3 + 9,563 \cdot X_3^2$ (III-18)

- **Camphre** = $17,54 - 1,54 \cdot X_1 + 0,58 \cdot X_2 - 1,76 \cdot X_3 - 0,923 \cdot X_1^2 + 1,663 \cdot X_1 \cdot X_2 - 1,963 \cdot X_1 \cdot X_3 + 1,877 \cdot X_2^2 - 0,363 \cdot X_2 \cdot X_3 - 0,523 \cdot X_3^2$ (III-19)

- **Filifolone** = $6,367 - 0,85 \cdot X_1 + 0,41 \cdot X_2 + 0,29 \cdot X_3 + 0,132 \cdot X_1^2 - 0,35 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0,075 \cdot X_1 \cdot X_3 + 0,332 \cdot X_2^2 + 0,125 \cdot X_2 \cdot X_3 + 0,132 \cdot X_3^2$ (III-20)

- **1,8-cinéole** = $5,001 + 0,23 \cdot X_1 - 0,04 \cdot X_2 - 0,83 \cdot X_3 - 1,004 \cdot X_1^2 + 0,912 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,662 \cdot X_1 \cdot X_3 + 0,445 \cdot X_2^2 - 0,412 \cdot X_2 \cdot X_3 + 0,195 \cdot X_3^2$ (III-21)

- α -*thujone* = $9,423 + 1,77 * X_1 - 2,09 * X_2 + 0,51 * X_3 + 2,74 * X_1^2 - 0,525 * X_1 * X_2 + 0,75 * X_1 * X_3 - 1,06 * X_2^2 - 0,7 * X_2 * X_3 - 6,96 * X_3^2$ (III-22)

- β -*thujone* = $6,503 + 0,1 * X_1 - 2,13 * X_2 + 0,02 * X_3 + 0,291 * X_1^2 - 0,537 * X_1 * X_2 + 0,762 * X_1 * X_3 - 0,059 * X_2^2 - 0,837 * X_2 * X_3 - 2,809 * X_3^2$ (III-23)

X_1, X_2, X_3 sont respectivement le temps d'extraction, la masse végétale et le débit de vapeur d'eau.

3.3.3.2.2. Analyse de la variance

Une analyse de la variance a été réalisée sur les résultats obtenus. Cette analyse permet de tester et d'évaluer la signification statistique de chacun des effets des paramètres étudiés (effets linéaires, effets quadratiques et effets d'interactions) sur la teneur des composés chimiques. L'objectif vise à éliminer les paramètres dont l'effet semble non significatif. Pour cela, une hypothèse dite hypothèse nulle (notée H_0) est posée ; elle suppose que l'effet du paramètre fixé est égale à zéro. La probabilité d'accepter cette hypothèse est notée Val-P.

- Si Val-P est inférieur à 5%, l'hypothèse H_0 est rejetée et le paramètre testé est alors significatif.
- Si Val-P est supérieur à 5%, l'hypothèse H_0 est retenue et le paramètre testé est non significatif.

On détermine ainsi le rapport F qui suit la loi de Fisher Snedecor à (n_1, n_2) degrés de liberté de l'étude. La probabilité d'accepter ou de rejeter cette hypothèse est mise en évidence par la valeur-p.

Les résultats sont résumés dans le tableau 3.13. Concernant l'estimation des divers paramètres, il est intéressant de remarquer que l'effet linéaire de « la masse végétale » et l'effet quadratique du « débit de vapeur » influencent de façon significative ($p < 0,05$) sur l'extraction et la teneur de chrysanthénone, alors qu'aucuns des facteurs ne semble avoir une influence significative sur le camphre,

le 1-8-cinéole et le α - thujone. Cependant, il convient de noter que seul l'effet linéaire du « temps d'extraction » est jugé significativement influant pour l'extraction du filifolone. Aussi, il convient de signaler l'influence significative de l'effet linéaire de la « masse végétale » sur la teneur de β - thujone dans le domaine expérimental étudié

Tableau 3.13 : Résumé de l'étude ANAVAR réalisée pour les composés majoritaires de l'huile essentielle

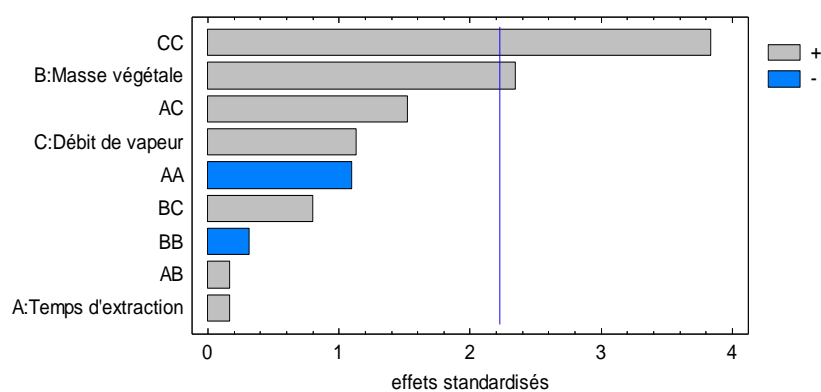
Réponses Variables	Chrysanthénone		Camphre		Filifolone		1-8 cinéole		α - thujone		β - thujone	
	F- Ratio	P- Value	F- Ratio	P- Value	F- Ratio	P- Value	F- Ratio	P- Value	F- Ratio	P- Value	F- Ratio	P- Value
X_1 : Temps d'extraction	0,03	0,8696	1,31	0,2794	8,25	0,0166	0,16	0,6979	1,03	0,3352	0,01	0,9116
X_2 :Masse végétale	5,52	0,0406	0,19	0,6758	1,92	0,1960	0,00	0,9460	1,43	0,2594	5,88	0,0357
X_3 :Débit de vapeur d'eau	1,28	0,2836	1,71	0,2205	0,96	0,3502	2,08	0,1799	0,09	0,7764	0,00	0,9823
X_1^2	1,21	0,2977	0,13	0,7268	0,05	0,8200	0,84	0,3817	0,68	0,4301	0,03	0,8655
$X_1 X_2$	0,03	0,8675	1,22	0,2954	1,12	0,3149	2,01	0,1866	0,07	0,7937	0,30	0,5960
$X_1 X_3$	2,32	0,1586	1,70	0,2216	0,05	0,8252	1,06	0,3276	0,15	0,7092	0,60	0,4553
X_2^2	0,10	0,7587	0,53	0,4815	0,35	0,5695	0,16	0,6934	0,10	0,7572	0,00	0,9725
$X_2 X_3$	0,65	0,4398	0,06	0,8146	0,14	0,7134	0,41	0,5360	0,13	0,7277	0,73	0,4135
X_3^2	14,74	0,0033	0,04	0,8428	0,05	0,8200	0,03	0,8622	4,36	0,0634	2,81	0,1243

X_1 , X_2 , X_3 sont respectivement le temps d'extraction, la masse végétale et le débit de vapeur d'eau.

Les diagrammes de Pareto des deux composés majoritaires de l'huile essentielle de l'armoise blanche (chrysanthénone et camphre) sont représentés dans la figure 3.6. Le diagramme de Pareto illustre les différents effets par ordre d'importance pour chaque variable. La longueur des barres sur ce graphique est proportionnelle à la valeur absolue de l'amplitude des effets estimés des coefficients. La barre transversale représente l'amplitude minimale à partir de laquelle les effets seront considérés comme étant statistiquement significatifs sur la variable réponse étudiée, considérant un niveau de confiance de 95%.

L'analyse du diagramme de la figure 3.6 montre que l'effet quadratique du « débit de vapeur » présentant l'influence la plus importante, il est jugé statistiquement significatif, l'effet quadratique de ce facteur étant alors mis en évidence. Concernant l'effet linéaire de la masse végétale, il s'avère significatif sur la teneur mais moins important que l'effet quadratique du débit de vapeur. Tous les autres effets semblent être négligeables. Pour le camphre, il n'apparaît aucun paramètre qui influe significativement sur sa teneur dans le domaine expérimental étudié.

❖ Chrysanthénone



❖ Camphre

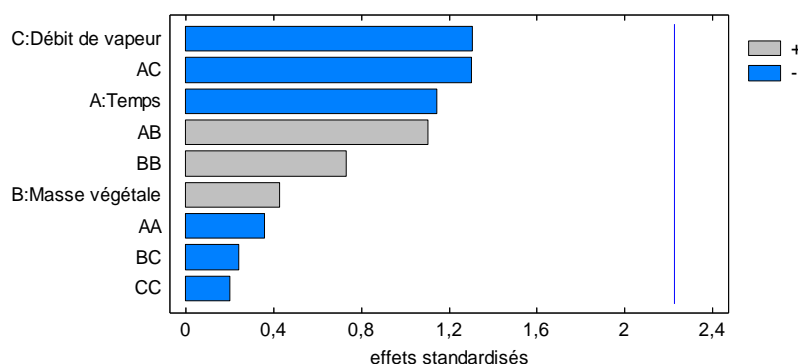
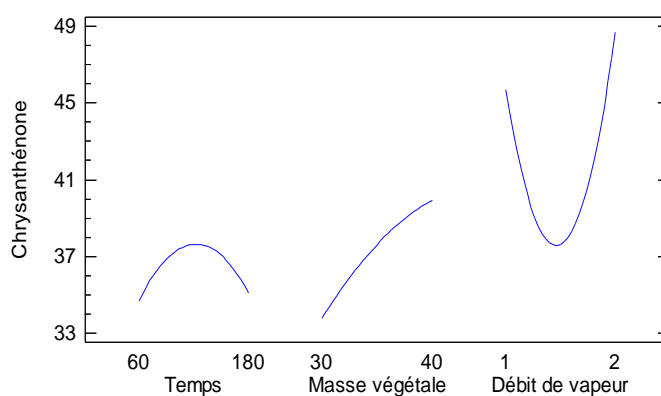


Figure 3.6: Diagramme de Pareto pour les composés Chrysanthénone et camphre

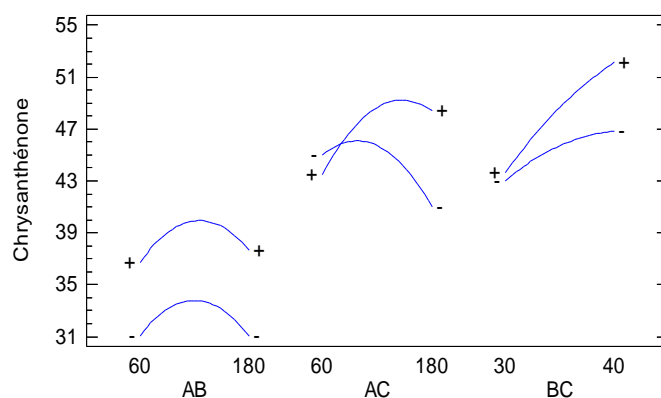
L'ensemble de ces conclusions est précisé par les courbes des effets des deux paramètres.

- Diagramme des effets simples et interactions

- ❖ Composé 1 : Chrysanthénone



(a)

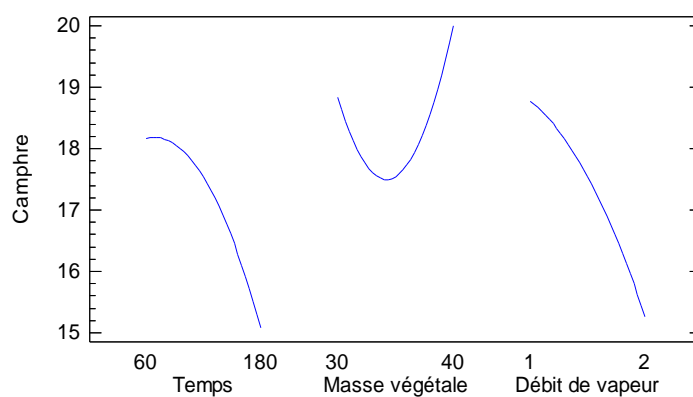


(b)

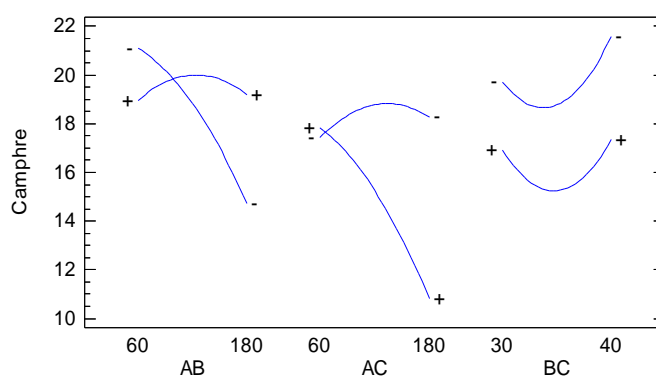
Figure 3.7 : Diagramme des effets simples (a) et des effets d'interactions (b) des paramètres sur la chrysanthénone

La figure 3.7 illustre l'action des effets simples et d'interaction des paramètres impliqués dans le modèle sur la teneur de chaque composé. L'examen de cette figure montre que l'effet de la masse végétale sur la chrysanthénone est plus important et influent que celui des deux autres variables. Concernant, l'estimation des effets d'interaction, seul l'effet d'interaction entre les facteurs « temps d'extraction » et « débit de vapeur » semblent être faible mais plus important que les deux autres.

❖ Composé 2 : Camphre



(a)



(b)

Figure 3.8 : Diagramme des effets simples et des effets d'interactions des paramètres sur le camphre

L'examen de la figure 3.8 .a montre que le temps d'extraction et le débit de vapeur ont des effets similaires sur la teneur du camphre. Lorsque ces deux variables passent de leurs niveaux bas à leurs niveaux hauts, le camphre diminue. Toutefois, l'influence de ces effets reste faible et confirme les observations remarquées avec le digramme de Pareto. À propos des effets d'interaction, on remarque l'absence d'interaction significative entre « la masse végétale » et « le débit de vapeur ». La réponse étudiée n'est pas influencée par cet effet d'interaction. L'examen de cette figure montre qu'il existe un comportement d'interaction faible mais notable entre les variables « temps d'extraction » et « débit de vapeur » et aussi entre « le temps d'extraction » et « la masse végétale ». Ces effets suivent avec une importance moins significative mais remarquable. Ces observations ne sont pas aussi significatives pour être influentes sur la réponse étudiée, en la comparant avec les conclusions tirées du diagramme de Pareto. Quoique, elles nous permettent de prédire qu'elles pourraient devenir influentes, dans un domaine expérimental plus étalé.

- Surfaces de réponses

La figure (3.9.a) illustre la surface de réponse des effets combinés du « temps d'extraction » et de la « masse végétale » obtenue pour la réponse étudiée, à savoir la chrysanthénone. Cette figure révèle que la teneur en chrysanthénone augmente avec la masse végétale et il semble montrer un maximum quand la masse tend vers le niveau haut. La figure (3.9.b) représente les variations de la teneur de la réponse étudiée en fonction du couple « masse végétale » et « débit de vapeur ». La figure montre une courbure apportée par l'effet quadratique du débit de vapeur d'eau qui augmente lorsque l'on augmente en masse en se dirigeant vers le niveau haut de la variable. La courbe semble montrer un maximum, lorsque les deux variables sont combinées vers leurs deux niveaux hauts respectifs. La figure (3.9.c) décrit la surface de réponse des effets combinés du « temps d'extraction » et du « débit de vapeur », alors que la masse végétale est fixée à son niveau central. Une légère courbure présentée par l'effet quadratique du temps d'extraction présente une faible influence sur la teneur en chrysanthénone. Une courbure présentée par l'effet quadratique du débit de vapeur donnant lieu à un maximum lorsque les niveaux hauts des deux variables sont combinés.

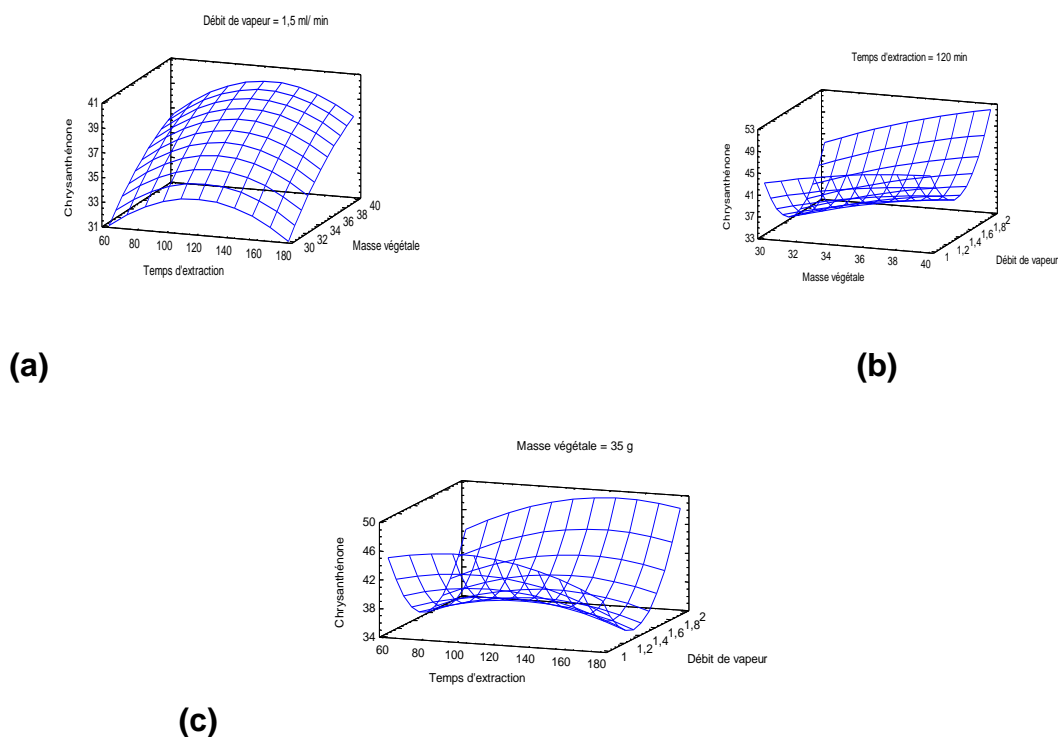
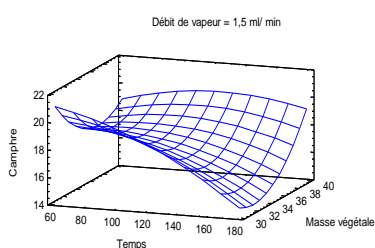


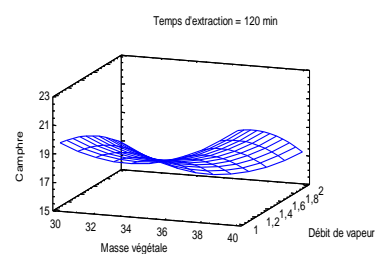
Figure 3.9: Surfaces de réponse obtenues pour la Chrysanthénone

La figure 3.10.a illustre les variations de la teneur du camphre en fonction du couple « temps d'extraction »-« masse végétale ». la relation liant ces deux variables et le taux du camphre peut être commentée de la manière suivante : le temps présente une très faible influence sur le taux du camphre lorsqu'il se trouve combiné au niveau bas de la masse végétale. Cette combinaison suggère un maximum lorsque les deux variables sont combinés vers le niveau bas. La représentation de la teneur du camphre en fonction du couple « masse végétale »-« débit de vapeur » (figure 3.10.b). En effet comme souligné précédemment lors de l'analyse du diagramme de Pareto, l'effet linéaire de la masse et du débit de vapeur présente une influence très faible sur le camphre. Le débit présente un léger effet quadratique donnant lieu à un maximum vers le centre du repère de la variable. On constate cependant un maximum lorsque la masse tend vers son niveau haut et le débit de vapeur se trouve proche de celle du centre du domaine

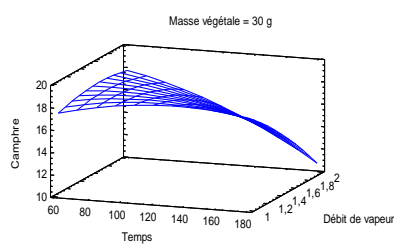
expérimental. La figure 3.10.c illustre la surface de réponse des effets combinés « temps d'extraction » et du « débit de vapeur d'eau ». Cette figure révèle que le taux du camphre diminue lorsqu'on commence à augmenter le niveau du débit de vapeur. Cependant, il convient de noter que l'effet linéaire du temps est moins important comme expliqué précédemment lors de l'étude du diagramme de pareto.



(a)



(b)



(c)

Figure 3.10: Surfaces de réponse obtenues pour le camphre

3.4. Composition chimique de l'huile essentielle obtenue avec les conditions optimales

Les conditions optimales d'extraction déterminées préalablement ont été appliquées dans l'extraction de l'huile essentielle. L'huile récupérée, a été ensuite, analysée par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les conditions opératoires sont détaillées précédemment. Le tableau 3.14 regroupe la composition qualitative et quantitative de l'huile essentielle. Elle est constituée par un nombre de composés aromatiques dont la prédominance revient au chrysanthénone (41%) et au camphre (19,4%). Il convient de noter que la chrysanthénone, cétone monoterpénique soit identifiée pour la première fois, dans l'huile du genre *Artemisia* en 1981, par *Hurabielle et al* [168]. Les autres composés sont présents avec une teneur relativement faible à savoir: Le Filifolone (6,6%), le 1-8cinéole (5,3%), α -thujone (5,8%), β -thujone (5,9%), camphène (3,1%), Filifolide A (2,3%). La composition chimique est principalement basée sur des composés oxygénés avec dominance de chrysanthénone et du camphre. La fraction hydrocarbonée est minoritaire, elle est composée principalement du camphène avec une teneur de 3,1%. Pour le reste de la composition chimique de l'huile essentielle, les composés se retrouvent très minoritaires.

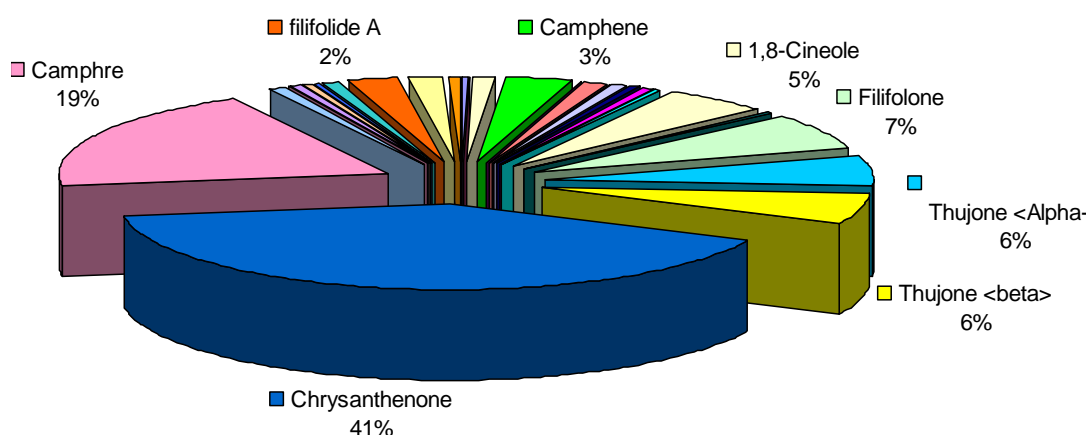


Figure 3.11: Distribution en pourcentage des composés de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

Tableau 3.14 : Composition chimique de l'huile essentielle d'artemisia herba alba obtenue avec les conditions optimales.

N°	Composés	R.I. apolaire	R.I. polaire	EV (%) *
1	Tricylene	926	1009	0,3
2	α -Thujene	928	1022	0,1
3	α -Pinene	937	1031	1,1
4	Camphene	955	1065	3,1
5	Verbenene	958	1121	0,2
6	Sabinene	977	1116	0,9
7	β -Pinene	983	1105	0,2
8	Myrcene	991	1165	0,7
9	α -Terpinene	1022	1181	0,6
10	<i>p</i> -Cymene	1030	1268	0,6
11	Limonene	1035	1206	0,1
12	β -phellandrene	1038	1296	0,1
13	1,8-Cineole	1039	1210	5,3
14	Gamma-Terpinene	1064	1238	0,1
15	Trans-sabinene-hydrate	1078	1431	0,3
16	Filifolone	1109	1547	6,6
17	α -Thujone	1117	1355	5,8
18	β -Thujone	1128	1413	5,9
19	Chrysanthenone	1133	1493	40,9
20	Camphre	1160	1506	19,4
21	Pinocarvone	1174	1548	0,7
22	Borneol	1184	1682	0,2
23	4-Terpineol	1191	1590	0,5
24	P-Mentha-1,8-dien-3-one	1198		0,4
25	Verbenone	1221	1696	0,4
26	1,2-benzenediol,4-(1,1-dimethylethyl)	1329		0,9
27	filifolide A	1333	1996	2,3
28	Z-Jasmone	1404	1923	1,7
29	Germacrene D	1498	1696	0,5
30	Oxide de Caryophyllene	1513	1953	0,1
	Composés oxygénés totaux (%)			91,4
	Composés non oxygénés totaux(%)			8,6
	Temps d'extraction (min)			60,0
	Masse végétale (g)			30,0
	Débit de vapeur d'eau (ml/min)			1,65

* : Condition optimales

3.5. Analyse physico-chimiques de l'huile essentielle d'artemisia herba alba

L'huile essentielle obtenue avec les conditions optimales par entraînement à la vapeur d'eau est liquide de couleur jaune clair avec une odeur forte plus ou moins camphrée.

Tableau 3.15 : Constantes physico-chimiques de l'huile essentielle d'A. Herba alba

<i>Paramètres étudiés</i>	<i>Valeurs mesurées</i>
Indice de réfraction n_D^{20}	1,473
Densité	0,9441

L'examen de ce tableau montre que l'indice de réfraction ainsi que la densité sont proches des valeurs des références à savoir : 1,462 à 1,472. [56, 169].

3.6. Compréhension du phénomène mis en jeu et mécanisme de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Afin de valoriser les données expérimentales obtenues et pour une meilleure compréhension des phénomènes d'extraction. Nous avons effectué d'une part des observations microscopiques sur le matériel végétale afin de localiser le dépôt de l'huile essentielle et d'autre part, nous avons essayé de comprendre le mécanisme d'extraction en se basant d'une part sur les théories de distillation se rapportant aux températures d'ébullition, et d'autre part sur les théories de diffusion fondées sur la solubilité des composés en milieu aqueux.

3.6.1. Analyse de la morphologie de l'artemisia herba alba par Microscopie Electronique à Balayage

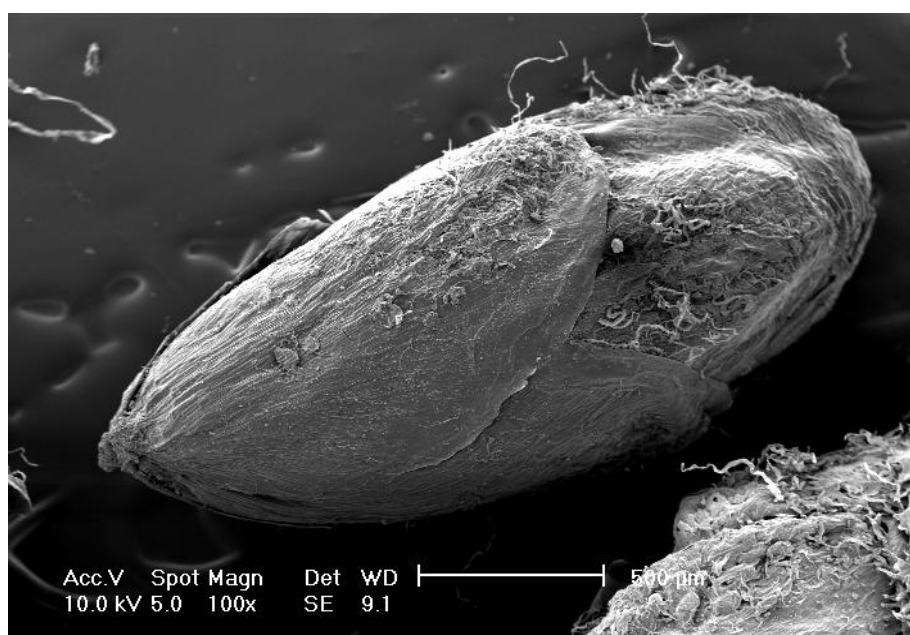
Nous avons effectué l'observation de microstructure sur les feuilles et les tiges de l'espèce artemisia herba alba, afin de localiser le dépôt de l'huile essentielle.

Ces observations microscopiques ont été effectuées sur le matériel végétal en utilisant un microscope électronique à balayage (MEB), de marque TOPCON ABT60. Il a été utilisé sous les conditions opératoires suivantes : sous vide d'air ; tension d'accélération 15 KV ; taille du spot : 5 ; distance de travail 15 mm.

La localisation des sites producteurs d'huile essentielle dans les végétaux est nécessaire, afin d'appréhender les mécanismes mises en jeu lors de son extraction. L'artémisia herba alba doit son odeur caractéristique à l'huile essentielle qu'elle renferme. Celle-ci est emmagasinée, comme pour la plupart des Artemisia, dans des dépôts exogènes, faisant partie des organes sécréteurs, appelés glandes sécrétrices. Elles sont situées à la surface des feuilles et des fleurs et très peu sur les tiges [170]. Ce sont des formations épidermiques, où les cellules vivantes sécrètent l'huile essentielle dans l'espace intercellulaire durant le cycle complet de la plante [171]. Certains auteurs signalent cependant, pour quelques artemisia, la présence d'huile dans des glandes endogènes.

La tige et la feuille de l'artémisia sont recouvertes d'une couche de poils tecteurs. Ces poils tecteurs forment une auréole autour de la tige. Ils sont fixés par un pied polycellulaire sur l'épiderme du végétal et se ramifient en deux branches au sommet. Sur la feuille, se présente des structures constitués d'un court pied et d'une tête à plusieurs étages superposés de cellules le tout enveloppé d'une membrane. Cette description correspond à une glande sécrétrices de la famille des composées. Ces structures s'appellent poils sécréteurs, produisant l'huile essentielle qui s'accumule sous la membrane ou cuticule. Sous la pression de l'huile, la cuticule apparaît gonflée. Celle-ci peut être détruite sous l'effet de la chaleur, ou mécaniquement.

(a)



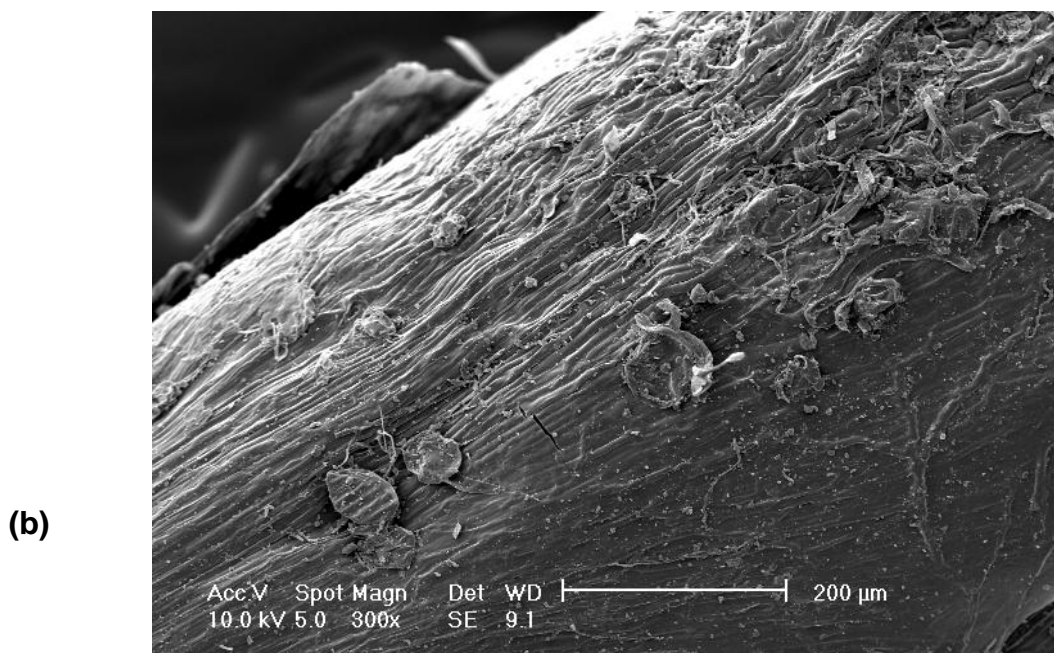


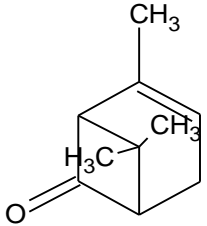
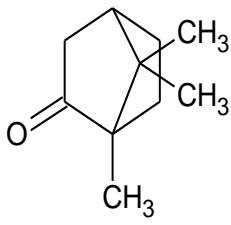
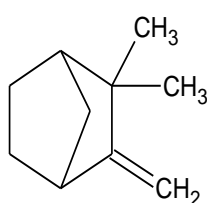
Figure 3.12: Morphologie de la plante

3.6.2. Effet de la température d'ébullition et de la solubilité

Nous présentons dans le tableau 3.16 la structure, la température d'ébullition, la solubilité et les teneurs des molécules majoritaires dans l'huile essentielle (composé oxygéné et non oxygéné). Les températures d'ébullition des composés ont été évaluées par le logiciel de calcul spécifique « ACD boiling point » [172] et la solubilité des composés a été évaluée par le logiciel de calcul spécifique « ACD Solubility » [173]. La composition chimique de l'huile essentielle est principalement basée sur des composés oxygénés majorée par la chrysanthénone (la température d'ébullition est de 209,3°C) et le camphre (la température d'ébullition est de 207,4°C). Par ailleurs, la fraction hydrocarbonée, minoritaire, est principalement composée du camphène dont la température d'ébullition est égale à 158,6°C. Ce composé non oxygéné a un point d'ébullition nettement plus faible que celui de chrysanthénone et du camphre, donc on devra s'attendre à ce que cet hydrocarbure monoterpénique distille avant les composés oxygénés et que l'ordre de sortie des composés suit l'ordre croissant des points d'ébullition. En revanche, la théorie de Koedam [174] explique en prenant le cas du carvi, que le point d'ébullition d'un composé organique n'explique pas à lui seul le phénomène de distillation, et que la vitesse d'extraction d'un composé dépende aussi de sa

solubilité et de sa polarité. Le phénomène d'extraction s'appuiera alors plus sur la solubilité que sur la température d'ébullition. Bien que la chrysanthénone ait un point d'ébullition très élevée, ce composé est distillé en priorité en raison de sa solubilité élevée dans l'eau. Par contre, le camphène possède une solubilité faible de l'ordre de 8.10^{-3} g par litre d'eau. Il semblerait donc, qu'il y'aurait une certaine difficulté à l'entraînement de ce produit bien que son point d'ébullition soit plus bas.

Tableau 3.16 : Caractéristique de quelques composés de l'huile essentielle d'artemisia herba alba

	Composés	Formule brute Et structure chimique	Poid Moléculaire	Point d'ébullition (°C) à 760 mmHg	Solubilité (g/L)
1	Chrysanthénone	$C_{10}H_{14}O$ 	150.217	209.3	0.89
2	Camphre	$C_{10}H_{16}O$ 	152.233	207.4	0.92
3	Camphène	$C_{10}H_{16}$ 	136.234	158.6	8.10^{-3}

Durant la distillation par entraînement à la vapeur, la vapeur d'eau pénètre le tissu de la plante et dissout une partie de l'huile essentielle présente dans les glandes. Cette solution aqueuse chargée en composés volatils, diffuse à travers la paroi cellulaire, une fois arrivée à la surface de la matrice, un mélange eau- composés aromatiques va être vaporisé. Pour les composés oxygénés sont plus soluble dans l'eau portée à ébullition que les hydrocarbures, la solubilité dans le premier est hautement favorisée. Le phénomène de vaporisation serait ainsi guidé non pas par la température d'ébullition des composés mais par leur solubilité. En ce qui concerne l'entraînement à la vapeur d'eau, l'ordre de sortie des composés suit l'ordre croissant de solubilité.

L'histogramme de la figure 3.13 présente l'évolution des composés (chrysanthénone, camphre et camphène) au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau.

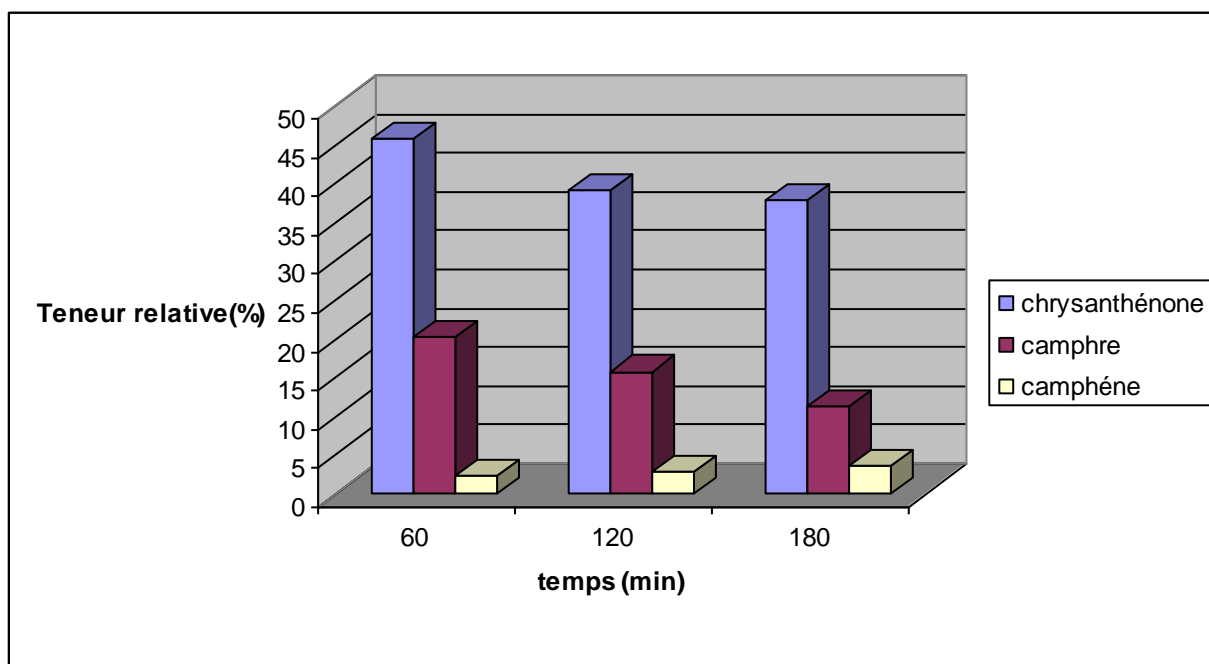


Figure 3.13: Evolution de la teneur relative de quelques constituants de l'HE d'*Artemisia herba alba* au cours de l'entraînement à la vapeur d'eau.

3.7. Conclusion

Le but de ce travail était l'optimisation du procédé « entraînement à la vapeur d'eau ». Une étude par plan d'expériences pour surface de réponses a été appliquée à l'extraction des huiles essentielles afin de déterminer l'influence des variables opératoires impliqués : temps d'extraction, masse végétale et débit de vapeur d'eau sur le rendement. Sept effets ont montré une influence significative sur le rendement à savoir : le temps d'extraction, la masse de la matière végétale, les interactions entre les facteurs: temps d'extraction, masse de la matière végétale et temps d'extraction, débit de vapeur d'eau, ainsi que les effets quadratiques du : « débit de vapeur d'eau », de « la masse végétale » et celui du « temps d'extraction ». Une étude multivariée de la composition chimique a été aussi étudiée, dans le but de déterminer l'influence des variables opératoires sur la composition chimique. Ces paramètres ont été appliquées à la réalisation de vingt extractions de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* par le biais d'un plan composite à faces centrées. Les vingt échantillons de l'huile essentielle ont été analysés par CPG et CPG/SM. Cette analyse a enregistré des variations dans les teneurs des différents composés. L'influence des paramètres impliqués dans l'extraction est significative sur le rendement et sur la composition chimique. L'analyse a montré que l'huile essentielle est riche en composés oxygénés en présentant des teneurs élevées en monoterpènes oxygénés.

L'étude de l'influence de la période de distillation sur l'ordre de sortie des composés a permis d'expliquer que la température d'ébullition des molécules n'explique pas à elle seule le phénomène de distillation. La solubilité des composés dans l'eau serait un facteur déterminant pour l'extraction des composés aromatiques et de leur distillation. Les composés oxygénés plus polaires et plus solubles dans l'eau seraient distillés prioritairement aux hydrocarbures terpéniques dont la température d'ébullition est pourtant plus faible.

CHAPITRE 4

L'HYDRODIFFUSION

4.1. Introduction

Le principe du procédé « hydrodiffusion » est que le flux de vapeur d'eau à travers la masse de végétale n'est pas ascendant mais descendant. Une optimisation du procédé par la méthode des plans d'expériences a été réalisée, en étudiant l'influence de la masse de matière végétale traitée, la durée d'extraction, ainsi que la quantité de vapeur d'eau à utiliser sur le rendement et sur la composition chimique de l'huile essentielle. Il convient de noter que la plante a été cueillie dans une année différente de celle utilisée pour l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau. Un plan composite à faces centrées nous a permis de modéliser le processus étudié. Le modèle de second degré obtenu donne la représentation de la fonction réponse (rendement en huile essentielle et la composition chimique des composés majoritaires) en fonction des variables et permet d'estimer l'optimum de celle-ci.

4.2. Matériels et méthodes

4.2.1. Dispositif expérimental

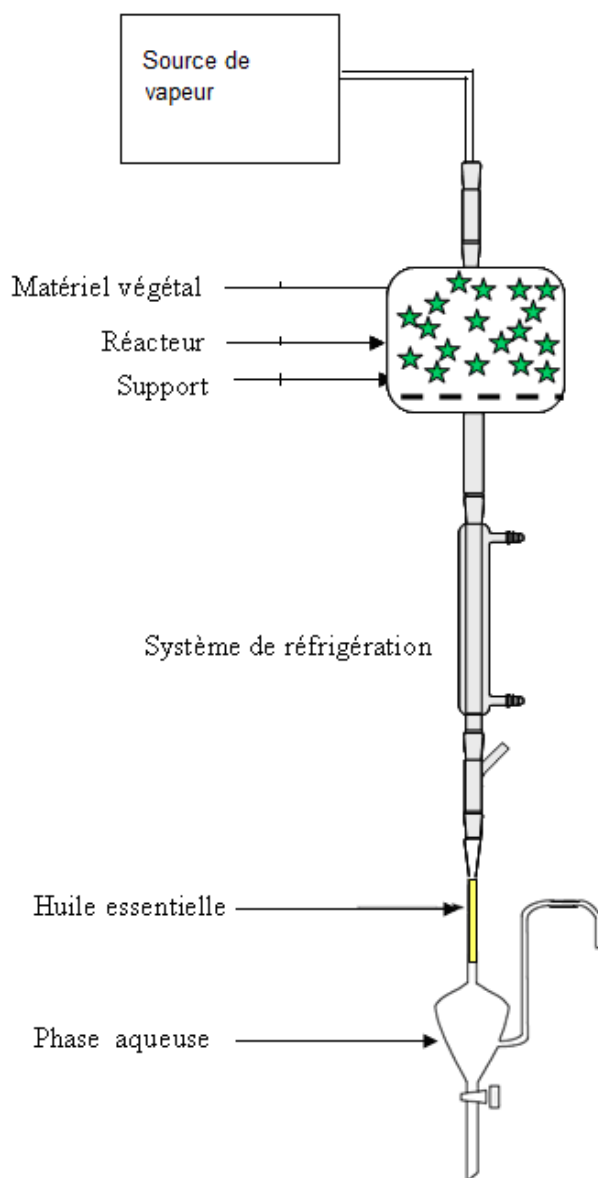


Figure 4.1: Dispositif expérimental utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle de l'*Artemisia herba alba* par hydrodiffusion.

4.2.2. Conduite de l'expérimentation

Dans le procédé hydrodiffusion, la matière végétale est soumise à un flux descendant de la vapeur d'eau. Le passage de la vapeur à travers ce matériel végétal conduit à l'éclatement des glandes renfermant l'huile essentielle. Ainsi l'huile essentielle qui est diffusée avec la vapeur sous l'action de la chaleur forme le mélange « vapeur d'eau + huile essentielle ». Ce mélange est ensuite véhiculé vers le système de refroidissement. Le mélange « eau + huile essentielle » est dirigé vers le vase de décantation. L'huile essentielle collectée est séchée sur du sulfate de sodium et stockée à l'obscurité à 4°C.

4.2.3. Optimisation par la méthodologie des plans d'expériences

Une étude préliminaire composée de plusieurs expériences a été menée et elle nous a permis de délimiter le domaine de variation des paramètres opératoires : La masse végétale, la durée d'extraction et le débit de vapeur d'eau.

Dans le but d'optimiser les paramètres opératoires étudiés pour l'extraction de l'huile essentielle de l'armoise blanche par hydrodiffusion, nous avons utilisé la méthodologie des plans d'expériences. Ces plans servent à optimiser l'organisation des essais de manière à déterminer, en un minimum d'essais et avec un maximum de précision, l'influence de multiples paramètres sur une ou plusieurs réponses. Plus précisément, les plans d'expériences visent à établir des relations liant la réponse tant avec les facteurs, qu'avec les facteurs entre eux (interactions). Cette technique permet d'obtenir une modélisation expérimentale des phénomènes physiques et d'apprécier la confiance à accorder aux résultats.

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes intéressés à la relation qui relie la réponse en fonction des paramètres étudiés lors de l'expérimentation et variant dans le domaine d'étude choisi avec pour but final, de modéliser mathématiquement les réponses étudiées et de les optimiser. Ainsi, nous avons fait appel aux plans pour surfaces de réponse. Ces plans utilisent des modèles polynomiaux du second degré. Un plan composite à faces centrées à trois variables et à trois niveaux a été adopté. Ce plan composite se prête bien au déroulement séquentiel d'une étude. Il permet d'évaluer les effets quadratiques et de tracer les surfaces de réponses en fonction des paramètres opératoires.

Cette étude est basée sur :

- un plan factoriel complet à deux niveaux (-1) et (+1) permettant de retrouver toutes les combinaisons possibles des 3 facteurs, soit 2^3 points.
- Des répétitions au point central (niveau 0) en vue d'estimer la reproductibilité des expériences. Nous avons adopté une répétition de 6 fois.
- Des points étoiles (codés $\pm \alpha$) : $n_\alpha = 2 \times 3$ expériences axiales ou étoiles réalisées sur les axes des facteurs du cube à une distance α du centre du domaine. Ces points expérimentaux permettront de définir les paramètres quadratiques du modèle mathématique (effet pouvant impliquer la courbure des surfaces de réponses). La valeur de α est les essais sur les faces du cube ($\pm \alpha = \pm 1$) et par la suite les facteurs n'ont que trois niveaux.

Le nombre total d'expériences est donné par l'expression suivante: $n = 2^K + n_0 + 2K$, K étant le nombre de paramètres opératoires. Au total, 20 expériences seront réalisées de manière à pouvoir évaluer le modèle mathématique sur la réponse investiguée. La valeur de $\pm \alpha$ dans ce cas est égale à ± 1 . Le nombre de niveau pour chacun des facteurs est seulement 3 : [-1, 0, +1].

La méthodologie des surfaces de réponses permettra de modéliser les réponses étudiées sous la forme d'une équation polynomiale du second degré présentée ci-après :

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + e \quad (\text{IV- 22})$$

Où :

- Y : représente la réponse ou critère d'optimisation étudiée.
- β_0 représente la moyenne des réponses obtenues.
- β_i et β_{ij} sont des constantes représentant les coefficients de régression du modèle mathématique adopté (i, j = 1, 2,3).

- X_i illustre les variables opératoires impliquées dans le modèle mathématique, X représente le niveau attribué au facteur i ($i=1, 2,3$) par l'expérimentateur afin de réaliser un essai.

4.2.4. Analyse statistique

Le traitement des résultats est réalisé à l'aide du logiciel STATGRAPHICS Plus. Ce logiciel admettra la réalisation des différentes démarches fondées sur l'analyse de la variance permettant de proposer un modèle polynomial comme présenté ci-dessus.

4.2.5. Analyse par Chromatographie en phase Gazeuse et par Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

Les analyses sont réalisées par chromatographie en phase gazeuse seule sur un appareil de marque Hewlett Packard 6890, et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse sur un appareil de marque Shimadzu QP2010 (Kyoto, Japan). Deux colonnes capillaires, l'une polaire (CP-Wax) et l'autre apolaire (HP5MS), ont été utilisées. Les conditions opératoires sont décrites précédemment dans le chapitre 3.

4.2.6. Analyses physico-chimiques de l'HE de l'Artemisia herba -alba

Nous avons procédé à la détermination des propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle obtenue avec les conditions optimales. La mesure des constantes a été effectuée selon les méthodes normalisées [64].

4.3. Résultats et discussions

4.3.1. Choix du domaine d'étude

Une étude préliminaire a été conduite et nous a permis de choisir le domaine de variation des facteurs étudiés.

Tableau 4.1: Domaine de variation des paramètres opératoires, niveaux inférieurs et supérieurs du plan composite à faces centrées (valeur codée et non codée).

Niveau	Temps d'extraction (min)	Masse végétale (g)	Débit de vapeur d'eau (ml.min ⁻¹)
- α	60	30	1,66
-1	60	30	1,66
0	120	35	2,495
+1	180	40	3,33
+ α	180	40	3,33

Ces paramètres ont été étudiés de manière à optimiser le rendement en huile essentielle. Avec trois paramètres, nous avons huit combinaisons possibles, six points axiaux dont la valeur égale à ± 1 et le nombre de répétition est estimé à six. Nous obtenons au total 20 points à réaliser.

4.3.2. Expérimentation

Les paramètres des 20 expériences réalisées dans le cadre du plan expérimental ainsi que les rendements obtenus pour chaque expérience sont représentés dans le tableau 4.2. Ainsi, le temps d'extraction (exprimé en minutes), la masse végétale traitée (exprimé en grammes) et le débit de vapeur d'eau (exprimé en ml/min) ont été étudiés à l'aide d'un plan composite à faces centrées. Les réponses sont exprimées en pourcentage d'huile essentielle extraite par rapport à la masse sèche de matrice utilisée.

Il peut être constaté des variations de réponses en fonction des niveaux des facteurs impliqués dans l'expérience; il est également à noter que les expériences ont été exécutées de façon aléatoire afin d'éviter toute influence de l'expérimentateur sur la réponse du plan expérimental.

Tableau 4.2 : Conditions opératoires et résultats des essais du plan composite à faces centrées

N°	Coordonnées réelles			Coordonnées Centrées Réduites			Rdt (%)
	T (min)	M (g)	G _V (ml.min ⁻¹)	X ₁	X ₂	X ₃	
1	120	30	2,495	0	-1	0	2,85
2	180	40	1,66	+1	+1	-1	1,95
3	120	40	2,495	0	+1	0	1,80
4	120	35	3,33	0	0	+1	2,34
5	60	30	1,66	-1	-1	-1	2,00
6	60	30	3,33	-1	-1	+1	2,10
7	60	40	1,66	-1	+1	-1	1,41
8	120	35	2,495	0	0	0	2,45
9	120	35	2,495	0	0	0	2,60
10	120	35	1,66	0	0	-1	2,34
11	120	35	2,495	0	0	0	2,81
12	180	30	3,33	+1	-1	+1	1,98
13	120	35	2,495	0	0	0	2,70
14	60	35	2,495	-1	0	0	2,79
15	120	35	2,495	0	0	0	2,78
16	60	40	3,33	-1	+1	+1	1,72
17	120	35	2,495	0	0	0	2,40
18	180	30	1,66	+1	-1	-1	3,05
19	180	35	2,495	+1	0	0	2,89
20	180	40	3,33	+1	+1	+1	2,35

4.3.3. Analyse statistique des résultats

Cette analyse a pour but de déterminer les effets simples de chaque paramètre, les effets quadratiques des paramètres ainsi que leurs interactions. L'élaboration du modèle mathématique décrivant le comportement du système étudié.

4.3.3.1. Analyse de la variance

Une analyse de la variance a été réalisée sur les résultats obtenus (Tableau 4.3). Cette analyse permet de tester les différents effets des variables impliquées dans le modèle étudié et d'analyser l'influence de chaque facteur sur la réponse étudiée, en l'occurrence le rendement en huile essentielle extraite. Le principe de l'hypothèse nulle posée est de supposer que l'effet du paramètre fixé est égale à zéro. On détermine ainsi un ratio-*F* qui suit la loi de Fisher. Le rapport *F* dépend du degré de liberté de l'étude et dont l'acceptabilité statistique sera mise en évidence dans le tableau par la ligne valeur-*p*. Ces valeurs sont déterminées par référence à une table statistique avec un niveau de confiance de 95%. De ce point de vue, les valeurs-*p* inférieures à 0,05 dans ce tableau, sont considérées comme statistiquement significatives et donc statistiquement influentes sur la variable réponse étudiée.

Tableau 4.3: Analyse de la variance du rendement en huile essentielle

<i>Effet</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degrés de liberté</i>	<i>Carrés moyens</i>	<i>Ratio-F</i>	<i>Valeur-P</i>
<i>A:Temps</i>	0,484	1	0,484	16,61	0,0096
<i>B:Masse végétale</i>	0,75625	1	0,75625	25,95	0,0038
<i>C:Débit de vapeur</i>	0,00676	1	0,00676	0,23	0,6504
<i>AA</i>	0,0603841	1	0,0603841	2,07	0,2096
<i>AB</i>	0,0072	1	0,0072	0,25	0,6403
<i>AC</i>	0,1458	1	0,1458	5,00	0,0755
<i>BB</i>	0,370028	1	0,370028	12,70	0,0162
<i>BC</i>	0,3528	1	0,3528	12,10	0,0177
<i>CC</i>	0,340384	1	0,340384	11,68	0,0189
<i>Erreur d'ajustement</i>	0,444118	5	0,0888235	3,05	0,1234
<i>Erreur expérimentale</i>	0,145733	5	0,0291467		
<i>Total</i>	3,87949	19			

Les effets jugés comme étant significatifs, sont ceux qui ont une valeur de P inférieure à 5%. De ce fait, les effets linéaires des variables « temps d'extraction » et « masse végétale » sont jugés significatifs. Aussi, les effets quadratiques de la masse végétale et celui du débit de vapeur sont déclarés significatifs ainsi que l'effet d'interaction entre la masse végétale et le débit de vapeur.

4.3.3.2. Analyse graphique des résultats

➤ Diagramme de Pareto

Suite à cette étude statistique, le diagramme de Pareto (Figure 4.2) représente les différents effets standardisés par ordre d'importance pour chaque variable (effets linéaires, interactions entre facteurs et effets quadratiques). Ces derniers sont considérés comme significatifs sur la réponse étudiée s'ils dépassent la valeur représentée par le trait vertical avec un risque d'erreur de 5%. Nous rappelons que l'effet standardisé est exprimé par l'effet observé rapporté à l'écart type estimé de l'effet.

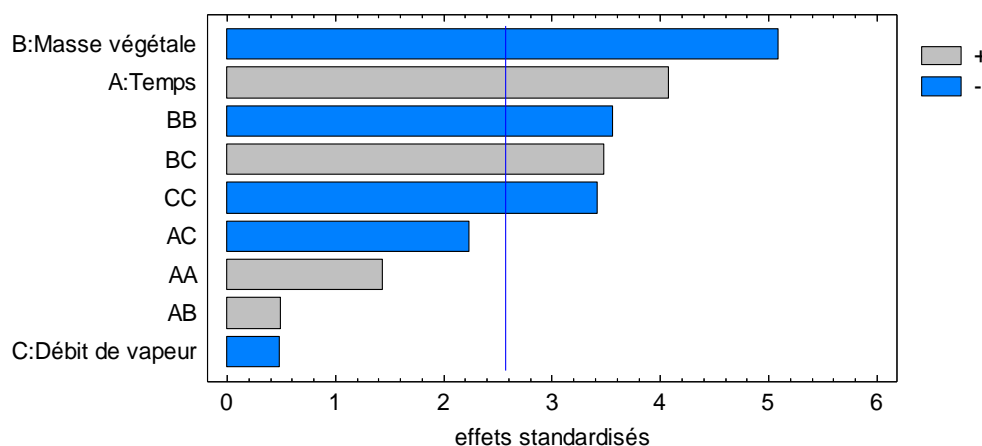


Figure 4.2 : Diagramme des effets standardisés sur le rendement

Il peut être remarqué sur ce diagramme que les effets linéaires du « temps d'extraction » et de « la masse végétale » sont les facteurs présentant l'influence la plus importante. Davantage, les effets quadratiques de la masse végétale et

celui du débit présente une influence importante. L'effet d'interaction entre la masse végétale et le débit de vapeur est jugé comme étant significatifs présentant une influence importante sur le rendement. L'effet d'interaction entre le temps et le débit de vapeur peut être prononcé, il présente une importance moins significative mais remarquable.

➤ Les effets simples

Les effets simples de chaque variable ainsi représentés permettent d'évaluer leur action lorsque le paramètre passe de son niveau bas à son niveau haut, les deux autres variables étant fixées au centre de leur repère expérimental (valeur centrée).

La figure 4.3.a présentée ci-après illustre l'action de l'effet simple du temps d'extraction sur le rendement (%). Cet effet est plus important et surtout influent sur la réponse étudiée, lorsque la variable passe de son niveau bas à son niveau haut, le rendement passe de 2,58% à 3,02%.

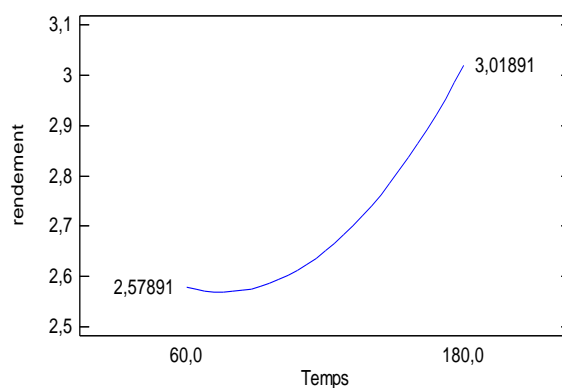


Figure 4.3.a : Effet simple du temps d'extraction sur le rendement

La figure 4.3.b illustre l'effet simple de la masse végétale sur le rendement, il présente un maximum du rendement lorsque la masse tend vers le centre du domaine expérimental. Cependant, il convient de noter que le rendement diminue rapidement lorsque l'on se dirige vers le niveau haut de la variable.

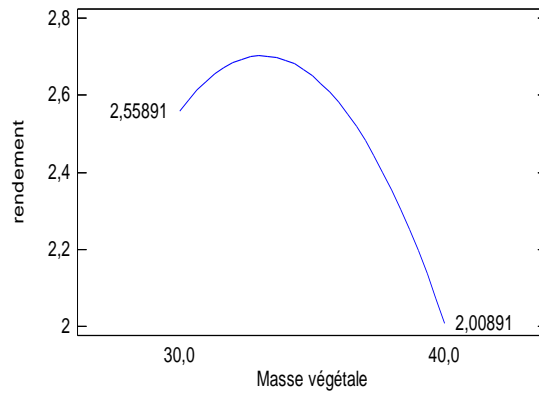


Figure 4.3.b : Effet simple de la masse végétale sur le rendement

L'analyse de la figure 4.3.c montre que le rendement augmente de manière proportionnelle avec le débit, la courbe semble montrer un maximum vers le centre du domaine expérimental avant qu'il diminue lorsque l'on augmente vers le niveau haut de la variable. Toutefois, l'influence de cet effet reste faible sur le rendement dans le domaine expérimental étudié et confirme les observations soulignées avec le diagramme de Pareto.

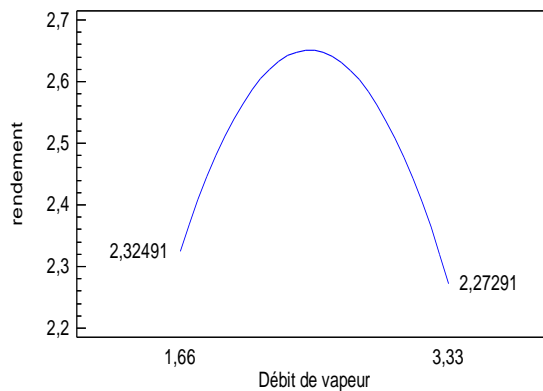


Figure 4.3.c : Effet simple du débit de vapeur d'eau sur le rendement

➤ Les effets d'interaction

Cette représentation permet de faire ressortir l'influence d'une variable, lorsqu'elle évolue de son niveau bas « -1 » à son niveau haut « +1 », sur une seconde variable alors que le troisième paramètre est fixé à sa valeur centrale (niveau 0). On étudie ainsi les variations du rendement en fonction des interactions des paramètres impliqués. Graphiquement, les interactions sont définies comme significatives lorsqu'elles ne varient pas dans le même sens à leurs niveaux hauts et bas.

L'examen de la Figure 4.4.a confirme l'absence d'interaction significative entre les variables « temps d'extraction- masse végétale ». Le rendement n'est pas influencé par cet effet d'interaction. Cette issue confirme la conclusion tirée lors de l'appréciation du diagramme de Pareto.

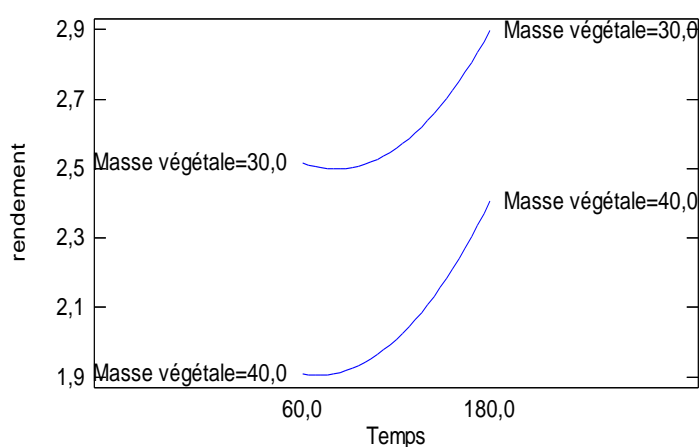


Figure 4.4.a : Effet d'interaction entre les paramètres
« temps d'extraction »-« masse végétale »

L'analyse de la figure 4.4.b présente cependant un comportement d'interaction entre les variables « temps d'extraction » et « débit de vapeur ». Toutefois, l'influence de cet effet reste faible Cette considération n'est pas assez significative pour être influente sur le rendement.

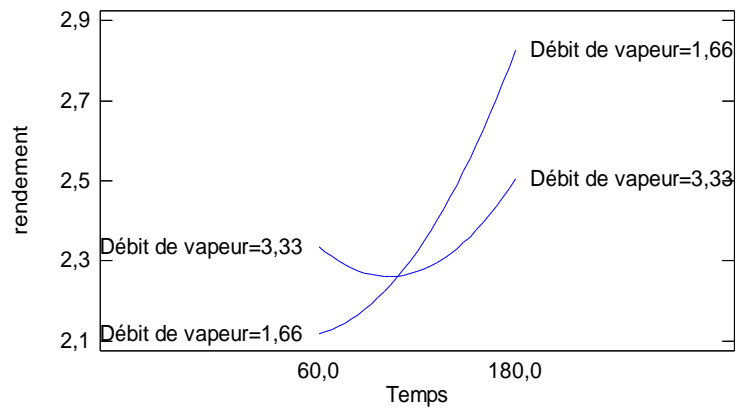


Figure 4.4.b : Effet d'interaction entre les paramètres
« temps d'extraction »-« débit de vapeur d'eau »

La figure 4.4.c présente une interaction plus forte. Ce résultat confirme les observations soulignées avec le diagramme de Pareto.

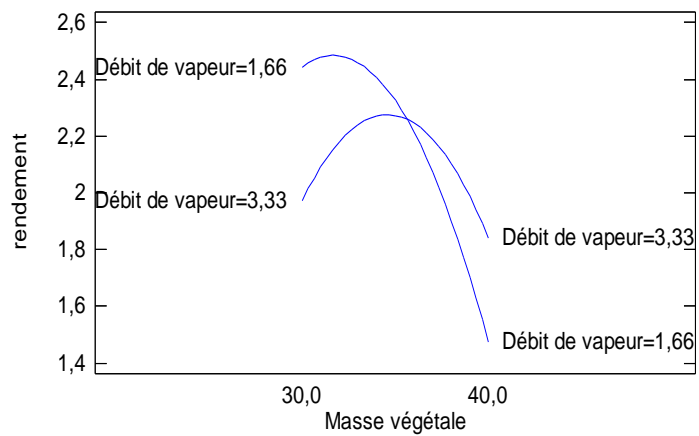


Figure 4.4.c : Effet d'interaction entre les paramètres
« masse végétale »-« débit de vapeur d'eau »

4.3.3.3. Coefficient de détermination du modèle R^2

La valeur du coefficient de détermination R^2 est un indicateur d'ajustement du modèle, plus il est proche de 100% plus le modèle décrit bien l'expérience. La valeur de R^2 explique 84,80% la variabilité du rendement. Le $R^2_{\text{ajusté}}$ est égale à 71,11%.

4.3.3.4. Modèle mathématique

Les résultats de l'extraction des huiles essentielles par hydrodiffusion sont résumés sous la forme d'une équation polynomiale du second degré et les effets estimés de chaque coefficient sont regroupés dans le tableau 4.4. L'analyse de ce tableau révèle que l'effet linéaire du débit de vapeur, les effets d'interaction entre « le temps d'extraction - masse végétale » et « temps d'extraction –débit de vapeur » ainsi que l'effet quadratique du temps d'extraction soient faibles. Tandis que, les autres effets sont plus importants et plus significatifs sur le rendement.

Tableau 4.4 : Effets estimés des coefficients

<i>Coefficient</i>	<i>Estimation</i>
Constante	2,650
A:temps	0,22
B:masse végétale	-0,275
C:débit de vapeur	-0,026
AA	0,148
AB	0,03
AC	-0,135
BB	-0,367
BC	0,21
CC	-0,352

Les effets estimés nous permettent d'exprimer le rendement sous la forme d'une équation polynomiale du second degré relative au domaine expérimental défini et impliquant les trois facteurs étudiés.

Le modèle en variables codées s'écrit alors :

$$\mathbf{Rendement} = 2,650 + 0,22 \cdot \mathbf{A} - 0,275 \cdot \mathbf{B} - 0,026 \cdot \mathbf{C} + 0,148 \cdot \mathbf{A}^2 + 0,03 \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{B} - 0,135 \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{C} - 0,367 \cdot \mathbf{B}^2 + 0,21 \cdot \mathbf{B} \cdot \mathbf{C} - 0,352 \cdot \mathbf{C}^2 \quad (\text{IV-23})$$

Où :

- **A, B, C**, sont respectivement les coefficients linéaires des variables quantitatives « temps d'extraction », « masse végétale », « débit de vapeur d'eau ».
- **A², B², C²**, représentent les effets quadratiques des variables.
- **AB, AC, BC**, représentent les interactions entre variables.

Les représentations graphiques de cette équation sont réalisées sous forme de surfaces de réponse.

4.3.3.5. Définition des conditions optimales et surfaces de réponses

Cette équation nous permet alors de représenter le rendement en huile essentielle de l'artemisia herba alba extraite par hydrodiffusion sous la forme de surfaces de réponses en trois dimensions. Ces surfaces sont des représentations graphiques qui nous permettent de visualiser l'évolution de la variable réponse étudiée en fonction des paramètres de deux facteurs, lorsque le troisième est fixé à son niveau central. Il nous est alors permis de mettre en évidence la (ou les) relation(s) existante(s) entre rendement et variables expérimentales impliquées dans le modèle, d'identifier, et de déduire les conditions optimales d'extraction.

La Figure 4.5.a décrit les surfaces de réponses des effets combinés du temps d'extraction et de la masse végétale sur le rendement en huile essentielle, alors que le débit de vapeur est fixé à son niveau centré. Le rendement augmente légèrement lorsque le temps d'extraction évolue vers son niveau supérieur. La masse présente également une influence sur le rendement qui diminue lorsque l'on augmente vers le niveau haut de la masse. Cette analyse présente une courbure produite par l'effet quadratique de la masse donnant lieu à un maximum vers le centre du domaine expérimental de la masse, ensuite il diminue lorsque l'on augmente vers le niveau haut de la variable. Par conséquent, le rendement est plus important lorsque le temps d'extraction se dirige vers le niveau haut et la masse se trouve proche de celle du centre du domaine expérimental comprise dans l'intervalle [-1, 0].

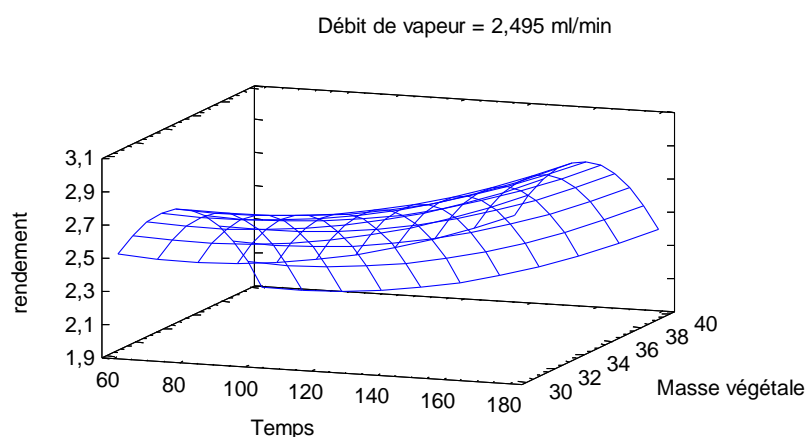


Figure 4.5.a: Surface de réponse correspondant au couple temps d'extraction - masse végétale pour un débit de vapeur = 2,495 ml/min

La Figure 4.5.b illustre les surfaces de réponses des effets combinés du temps d'extraction et du débit de vapeur sur le rendement en huile essentielle, alors que la masse végétale est fixée à son niveau centré. Le rendement augmente de façon linéaire et rapide lorsque le temps passe vers son niveau supérieur. L'effet quadratique du débit de vapeur présente une influence sur le rendement donnant lieu à un maximum lorsqu'il se trouve proche du centre de la variable. Cette combinaison suggère un maximum de rendement lorsque la variable temps tend vers le niveau haut et le débit est compris dans l'intervalle $[-1,0]$, proche du centre du domaine expérimental.

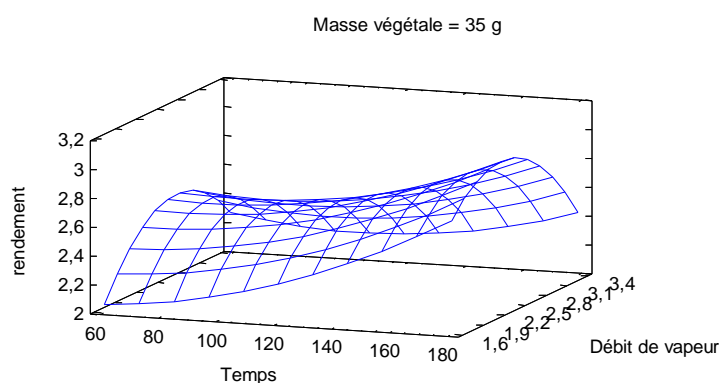


Figure 4.5.b : Surface de réponse correspondant au couple temps d'extraction - débit de vapeur d'eau pour une masse de la matière végétale = 35 g

La Figure 4.5.c présente les surfaces de réponses des effets combinés de la masse végétale et du débit de vapeur sur le rendement en huile essentielle, alors que le temps d'extraction est fixé à son niveau centré. Cette figure révèle que le rendement diminue lorsque la masse se dirige vers le niveau haut. En effet, comme soulignée précédemment lors de l'analyse du digramme de Pareto, l'effet linéaire et l'effet quadratique de la masse végétale présentent une influence plus prononcée. Une légère courbure présentée par l'effet quadratique du débit donnant lieu à un maximum vers le centre du domaine expérimental. La combinaison des deux variables conduit à un rendement maximal lorsque les deux variables sont compris dans l'intervalle $[-1,0]$.

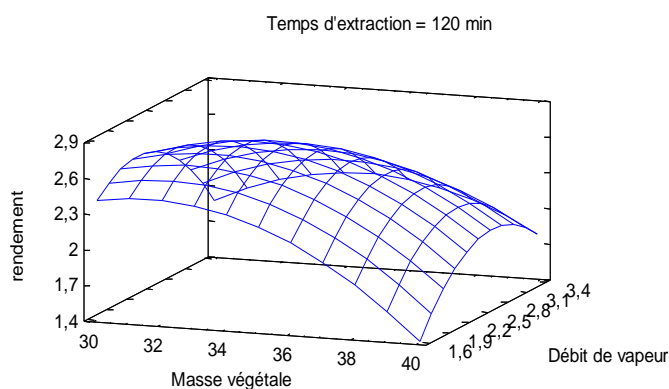


Figure 4.5.c: Surface de réponse correspondant au couple masse de la matière végétale- Débit de vapeur d'eau pour un temps d'extraction = 120 min

L'analyse de ces différentes surfaces confirme en premier temps les différentes conclusions données lors de l'analyse de la variance, du digramme de Pareto et des effets des différents facteurs. Les effets linéaires et quadratiques de la masse végétale, l'effet linéaire du temps, l'effet quadratique du débit de vapeur et l'interaction entre les variables « temps et le débit de vapeur d'eau ». Les différentes surfaces suggèrent que les rendements présentent un maximum lorsque le temps tend vers le niveau haut de la variable. La masse végétale et le débit de vapeur sont compris dans l'intervalle $[-1,0]$. Les valeurs des paramètres opératoires optimisés (en valeurs codées et réelles) sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 4.5 : Valeurs des paramètres opératoires optimisés

Facteurs	Valeur codée	Valeur réelle
Temps d'extraction optimal	+1	180 min
Masse de la matière végétale optimale	-0,436	32,82g
Débit de vapeur optimal (ml/min)	-0,359	2,2 ml/min

Le rendement optimal en huile essentielle est égale à 3,10%.

4.3.4. Etude multi variée de la composition chimique de l'huile essentielle

Afin d'observer les effets des paramètres sur la qualité et la composition de l'huile essentielle extraite par hydrodiffusion, nous nous sommes intéressés à étudier l'influence des paramètres d'extraction sur la composition de l'huile. Les teneurs des constituants majoritaires seront étudiés comme variables réponses par l'intermédiaire de plans composite centrés. Cette étude permettra de mettre en évidence l'impact des variables sur l'extraction d'un composé par rapport à un autre.

4.3.4.1. Résultats obtenus

Le tableau 4.6 réunit les variables codées des trois facteurs appliqués à la réalisation de Vingt extractions de l'huile essentielle basée sur l'application d'un plan composite à faces centrées et les différentes constituants majoritaires ainsi que leurs diverses teneurs (%) observées pour l'ensemble des échantillons extraites dans le cadre du plan expérimental. Ainsi, les composés majoritaires obtenus par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse seront étudiés comme variables réponses dans le but de déterminer l'influence et de mettre en évidence l'impact des variables opératoires sur l'extraction des composés volatils. Les conditions opératoires de CG/MS sont détaillées précédemment. Dans le tableau 4.6 présenté ci-après, sont regroupés, les teneurs des principaux constituants majoritaires. L'examen de ce tableau indique que la composition chimique des échantillons varie avec les conditions expérimentales. Le camphre et la chrysanthénone sont les composés aromatiques

majoritaires dominants de l'huile essentielle de l'armoise blanche, ils sont présents en proportions différentes. Les teneurs varient de 30,27% à 38,75% pour le camphre et de 22,54% à 37,28% pour la chrysanthénone, dépendants des paramètres d'extraction par hydrodiffusion. L'analyse de la composition chimique montre que l'huile essentielle de l'artemisia herba alba se caractérise par une teneur importante en composés oxygénés et une teneur faible en composés hydrocarbonés de la composition globale. La fraction oxygénée est principalement basée sur deux monoterpènes oxygénés à savoir : Le camphre et la chrysanthénone. Les autres composés sont présents avec des teneurs relativement faibles à savoir : le 1,8 cinéole (de 4,12% à 8,33%), le filifolone (entre 1,77% et 6,88%), le filifolide A (entre 2,45% et 11,30%) et le reste des composés se retrouve avec des teneurs de plus en plus faibles. Quant à la fraction hydrocarbonée, elle est minoritaire, composée principalement du camphène dont la teneur dans les différents échantillons varie de 0,41% à 4,29%.

Tableau 4.6: Variation de la teneur (%) des constituants de l'huile essentielle en fonction des conditions opératoires

N° des essais	Temps d'extraction	Masse de la matière végétale	Débit de vapeur d'eau	Chrysanthénone (%)	Camphre (%)	1,8- Cinéole (%)	Filifolide A (%)	Filifolone (%)
1	0	-1	0	33,20	35,27	7,47	4,25	3,42
2	+1	+1	-1	24,11	37,69	7,87	2,45	2,45
3	0	+1	0	29,95	34,26	8,00	2,97	2,15
4	0	0	+1	33,61	35,91	7,10	5,22	2,30
5	-1	-1	-1	24,95	36,21	7,00	2,84	1,93
6	-1	-1	+1	31,42	30,27	4,49	8,25	2,40
7	-1	+1	-1	37,28	33,16	4,12	4,94	2,16
8	0	0	0	28,86	34,80	7,27	3,07	3,07
9	0	0	0	25,91	30,45	4,21	11,30	2,88
10	0	0	-1	31,60	37,42	7,48	4,05	2,08
11	0	0	0	22,54	30,74	5,74	2,46	2,46
12	+1	-1	+1	34,17	38,75	5,42	5,10	1,77
13	0	0	0	24,87	30,71	5,83	2,97	2,05
14	-1	0	0	31,68	34,11	5,47	3,85	6,88
15	0	0	0	35,47	32,68	6,41	3,52	1,96
16	-1	+1	+1	35,52	32,22	6,18	3,95	6,38
17	0	0	0	33,78	34,72	7,15	3,73	1,87
18	+1	-1	-1	29,90	38,96	8,33	4,96	3,13
19	+1	0	0	33,33	35,51	7,14	3,93	2,17
20	+1	+1	+1	29,86	34,25	7,46	3,07	3,58

4.3.4.2. Analyse des résultats

4.3.4.2.1. Modèle mathématique

Les teneurs des différents composés chimiques, identifiés dans les différents échantillons des huiles essentielles extraites par hydrodiffusion, ont été considérées comme variables réponse dans un plan expérimental de type « plan composite à faces centrés ». L'élaboration de cette stratégie expérimentale a permis d'exprimer les différentes teneurs des composés majoritaires de la composition chimique comme fonction polynomiale du second ordre par rapport aux variables. Les coefficients de chaque composé peuvent être déterminés et sont représentés dans le tableau 4.7.

Tableau 4.7 : Coefficients de régression estimés pour les différents composés majoritaires de l'huile essentielle.

Coefficient de régression	Chrysanthénone (%)	Camphre (%)	1,8 Cinéole (%)	Filifolide A (%)	Filifolone (%)
a_0	29,83	33,27	6,504	4,315	2,638
a_1	-0,948	1,92	0,896	-0,432	-0,665
a_2	0,308	-0,788	0,092	-0,802	0,407
a_3	1,674	-1,204	-0,415	0,635	0,468
a_{11}	0,791	0,150	-0,803	-0,136	1,503
a_{12}	-3,316	-0,584	0,346	-0,293	-0,385
a_{13}	0,664	0,404	-0,359	-0,458	-0,615
a_{22}	-0,138	0,105	0,627	-0,416	-0,237
a_{23}	-0,844	0,221	0,884	-0,74	0,78
a_{33}	0,891	2,005	0,182	0,601	-0,832

Ainsi, le modèle mathématique sous la forme d'une équation polynomiale du second degré, relative au domaine expérimental défini et impliquant les trois facteurs étudiés s'écrit :

- **Chrysanthénone** = $29,83 - 0,948 * X_1 + 0,308 * X_2 + 1,674 * X_3 + 0,791 * X_1^2 - 3,316 * X_1 * X_2 + 0,664 * X_1 * X_3 - 0,138 * X_2^2 - 0,844 * X_2 * X_3 + 0,891 * X_3^2$ (IV-24)
- **Camphre** = $33,27 + 1,92 * X_1 - 0,788 * X_2 - 1,204 * X_3 + 0,150 * X_1^2 - 0,584 * X_1 * X_2 + 0,404 * X_1 * X_3 + 0,105 * X_2^2 + 0,221 * X_2 * X_3 + 2,005 * X_3^2$ (IV-25)
- **1,8 cinéole** = $6,504 + 0,896 * X_1 + 0,092 * X_2 - 0,415 * X_3 - 0,803 * X_1^2 + 0,346 * X_1 * X_2 - 0,359 * X_1 * X_3 + 0,627 * X_2^2 + 0,884 * X_2 * X_3 + 0,182 * X_3^2$ (IV-26)
- **Filifolide A** = $4,315 - 0,432 * X_1 - 0,802 * X_2 + 0,635 * X_3 - 0,136 * X_1^2 - 0,293 * X_1 * X_2 - 0,458 * X_1 * X_3 - 0,416 * X_2^2 - 0,74 * X_2 * X_3 + 0,61 * X_3^2$ (IV-27)
- **Filifolone** = $2,638 - 0,665 * X_1 + 0,407 * X_2 + 0,468 * X_3 + 1,503 * X_1^2 - 0,385 * X_1 * X_2 - 0,615 * X_1 * X_3 - 0,237 * X_2^2 + 0,78 * X_2 * X_3 - 0,832 * X_3^2$ (IV-28)

X_1, X_2, X_3 sont respectivement le temps d'extraction, la masse végétale et le débit de vapeur d'eau.

4.3.4.2.2. Analyse de la variance

Afin de tester et évaluer la signification statistique et l'influence de chaque effet de paramètres étudiés : linéaires, quadratiques et interactions entre facteurs sur la réponse. Une analyse de variance a été réalisée sur les résultats obtenus (tableau 4.8). Dans ce tableau, la valeur ratio-F dépend du nombre de degré de libertés impliqués dans le modèle et est représenté valeur-p à un niveau de confiance de 95%. De ce fait, les effets inférieurs à 0,05 dans cette colonne sont considérés comme significatifs. L'examen du tableau indique que, seul l'effet linéaire de la variable temps d'extraction est jugé comme étant significatif et influence pour l'extraction du camphre et du cinéole. De même, l'effet d'interaction entre la

masse végétale et le débit est aussi le seul effet considéré comme étant significativement influent pour l'extraction du cinéole dans le domaine expérimental étudié.

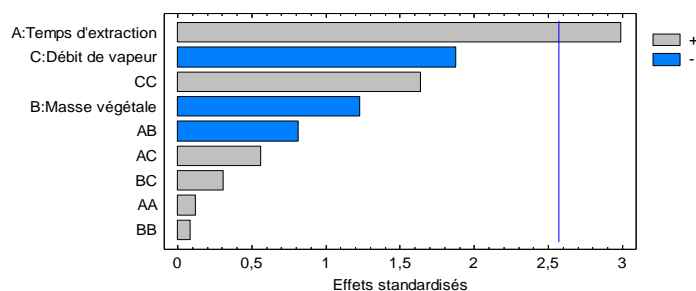
Tableau 4.8 : Résumé de l'étude ANAVAR réalisée pour les composés majoritaires de l'huile essentielle.

Réponses	Chrysanthénone		Camphre		1-8 Cinéole		Filifolide A		Filifolone	
	F- Ratio	P- Value	F- Ratio	P- Value	F- Ratio	P- Value	F- Ratio	P- Value	F- Ratio	P- Value
X_1 : Temps d'extraction	0,46	0,5122	7,21	0,0229	7,70	0,0196	0,29	0,6000	3,40	0,0950
X_2 : Masse végétale	0,05	0,8297	1,21	0,2962	0,08	0,7816	1,01	0,3385	1,27	0,2854
X_3 : Débit de vapeur d'eau	1,44	0,2578	2,84	0,1231	1,65	0,2278	0,63	0,4446	1,68	0,2235
X_1^2	0,09	0,7722	0,01	0,9143	1,70	0,2214	0,01	0,9306	4,77	0,0538
$X_1 X_2$	4,52	0,0594	0,53	0,4819	0,92	0,3602	0,11	0,7497	0,91	0,3622
$X_1 X_3$	0,18	0,6795	0,26	0,6244	0,99	0,3439	0,26	0,6192	2,33	0,1582
X_2^2	0,00	0,9595	0,01	0,9399	1,04	0,3328	0,07	0,7901	0,12	0,7372
$X_2 X_3$	0,29	0,6004	0,08	0,7876	5,99	0,0344	0,69	0,4261	3,74	0,0818
X_3^2	0,11	0,7445	2,16	0,1720	0,09	0,7739	0,16	0,6973	1,46	0,2540

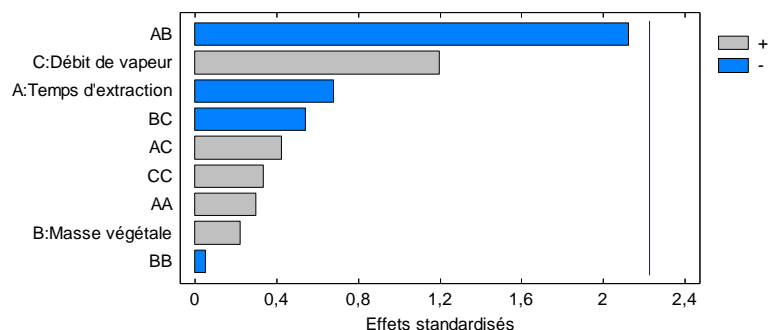
X_1 , X_2 , X_3 sont respectivement le temps d'extraction, la masse végétale et le débit de vapeur d'eau.

Un test de significativité des effets linéaires, quadratiques de chaque paramètre et des interactions est réalisé et représenté par un diagramme de Pareto pour les trois premiers composés majoritaires (figure 4.6).

- Composé1 : *Camphre*



- Composé 2 : *Chrysanthénone*



- Composé 3 : *1-8 Cinéole*

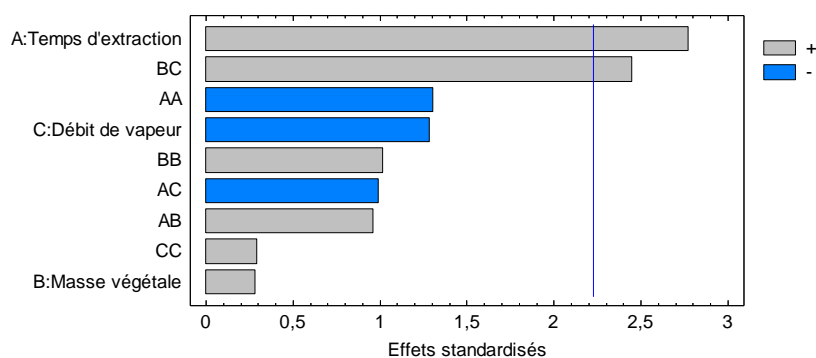


Figure 4.6 : Diagramme des effets standardisés sur les composés.

Il peut être remarqué sur le diagramme de Pareto du camphre que seul l'effet linéaire du temps d'extraction qui soit la variable quantitative présentant l'influence la plus importante et significative sur la teneur en camphre. Concernant la chrysanthénone, il apparaît qu'aucuns des paramètres n'influencent significativement sur la réponse étudiée. Le diagramme de Pareto du cinéole indique que, l'effet linéaire du temps d'extraction et l'effet d'interaction entre la masse et le débit sont considérés significativement influents pour l'extraction de ce composé. L'absence de significativité des autres effets sur les différents composés montre que les différentes réponses étudiées ne sont pas donc influencées par les paramètres opératoires dans le domaine expérimental étudié.

4.3.4.2.3. Etude des effets

Les figures présentées ci-après illustrent l'action des effets simples et d'interactions des paramètres sur l'extraction des différents composés à savoir : Le camphre, la chrysanthénone et le 1,8 cinéole.

- Composé 1 : *Le camphre*

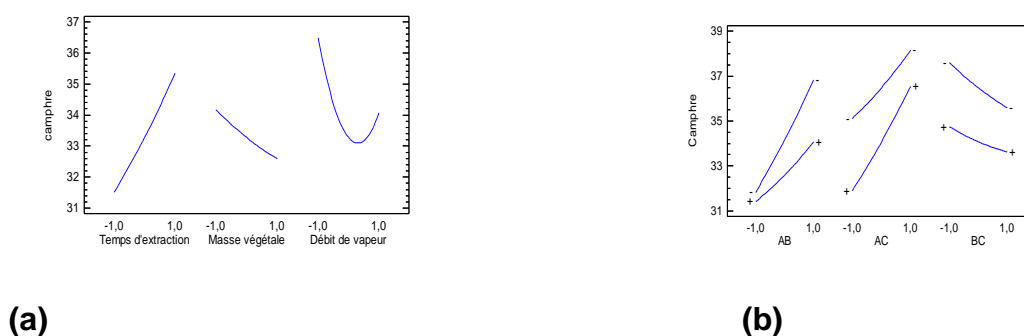


Figure 4.7 : Diagramme des effets simples et des effets d'interactions des paramètres sur le camphre

La figure (4.7.a) présente les effets simples de chaque variable sur la teneur du camphre (%). L'effet de la variable « temps d'extraction » influence de façon significative sur la réponse étudiée, on remarque que lorsque le temps passe de son niveau bas à son niveau haut, la teneur du camphre passe de 31,50 % à 35,34%. Cet effet augmente de façon proportionnelle avec la teneur du camphre. L'influence de l'effet simple de la masse est cependant, plus faible sur la réponse. La teneur du camphre diminue de 34,17% à 32,59% lorsque la masse passe de son niveau bas à son niveau haut. Le débit de vapeur a une influence moins prononcée que le temps d'extraction, il présente un maximum égal à 36,48% du camphre, lorsque le débit se trouve à son niveau bas. Lorsque le débit augmente, la teneur du camphre diminue passant par un minimum (33%) dans l'intervalle codée [0,+1], ensuite, elle augmente pour passer à 34,07% lorsque le débit passe à son niveau haut.

L'examen de la figure (4.7.b) confirme l'absence d'interaction significative entre les différentes variables. La réponse étudiée n'est pas influencée par les effets d'interactions.

- Composé 2 : *La chrysanthénone*

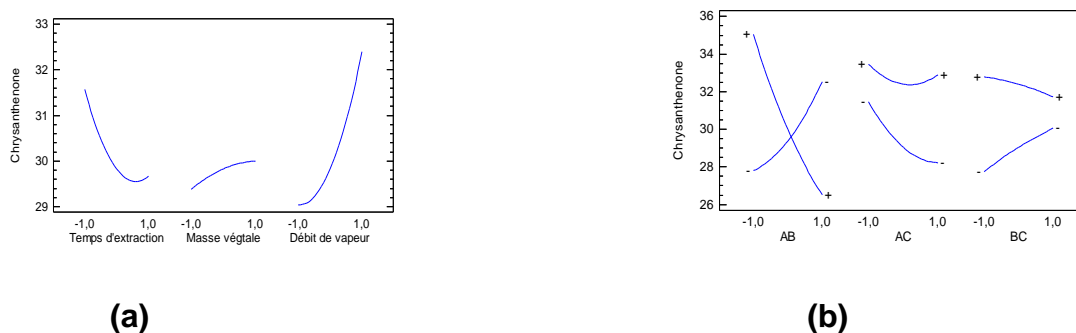


Figure 4.8 : Diagramme des effets simples et effets d'interactions des paramètres sur la chrysanthénone

L'examen de la figure 4.8.a présentant l'influence des effets simples des variables sur la teneur du chrysanthénone montre que seul le débit de vapeur présente une influence sur la réponse étudiée. La teneur du camphre varie de façon proportionnelle avec le débit. Lorsque le débit passe de son niveau bas à son niveau haut, la chrysanthénone passe de 29% à 32,4%. En effet, c'est la variable la plus déterminante par rapport aux autres variables. Mais, l'influence de cet effet reste faible pour devenir influente dans le domaine expérimental étudié comme illustré précédemment lors du diagramme de Pareto.

Les effets d'interactions entre les paramètres sont représentés dans la figure 4.8.b. Cette représentation permet de confirmer l'absence d'interaction significative entre les variables « temps d'extraction- débit de vapeur » et « masse végétale- débit de vapeur ». L'évolution du temps d'extraction sur la masse végétale n'est pas assez significative pour être influente sur la réponse étudiée (voir digramme de pareto), mais elle nous laisse supposer que cet effet pourrait devenir influent et jugé comme étant significatif dans le domaine expérimental étudié.

- Composé 3 : *Le 1,8 cinéole*

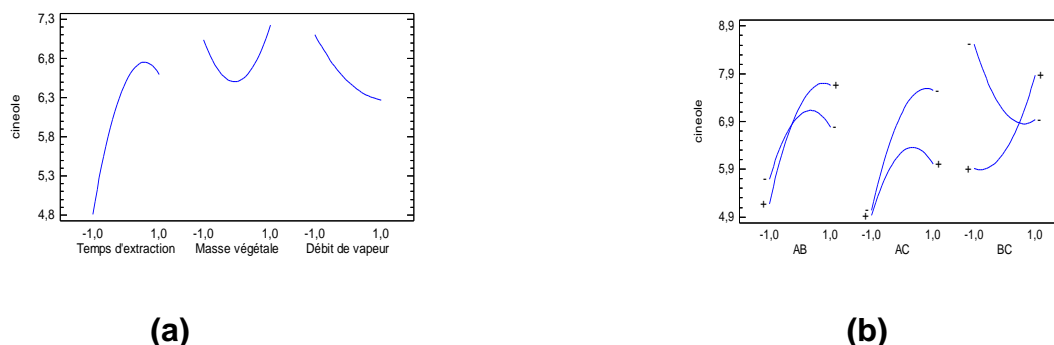


Figure 4.9 : Diagramme des effets simples et effets d'interactions des paramètres sur le 1,8 cinéole

L'analyse de la figure 4.9.a montre que le temps augmente de manière proportionnelle avec la teneur du cinéole avant de se stabiliser, mettant en évidence l'influence significative de cet effet.

La figure 4.9.b illustre les interactions entre les variables inclus dans le modèle. Graphiquement, ces effets sont définis comme significatifs lorsque les courbes représentées ne varient pas dans le même sens à leurs niveaux inférieurs et supérieurs. Les interactions entre la « masse végétale » et « le débit de vapeur » sont plus importantes et plus influentes sur la réponse étudiée. Par contre, on observe un comportement d'interaction très faible entre le « temps d'extraction » et « le débit de vapeur ». Cette étude est considérée comme étant non significative pour être influente. Également, la réponse étudiée n'est pas influée par l'interaction entre le temps et la masse. Cette considération signale le faible comportement d'interaction entre ces deux variables dans le domaine expérimental étudié.

4.4. Composition chimique de l'huile essentielle obtenue avec les conditions optimales

Les conditions optimales d'extraction déterminées préalablement ont été appliquées dans l'extraction de l'huile essentielle par hydrodiffusion. L'huile essentielle récupérée à l'issue de l'utilisation du procédé a été analysée par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les conditions opératoires sont détaillées précédemment. Le tableau 4.9 regroupe la composition chimique de l'huile essentielle constituée par des composés oxygénés et non oxygénés (30 composés). La fraction oxygénée est la plus importante. Elle est principalement composée de cétones monoterpéniques : Le camphre (37,2%) et la chrysanthénone (31,4%). La fraction oxygénée est également constituée par d'autres composés avec des teneurs aussi notables à savoir : 1-8 cinéole, (8,25%), le Filifolide A (4,56%), filifolone (3,10%), le α -thujone (1,67%) et le β -thujone (1,23%). La fraction hydrocarbonée est minoritaire.

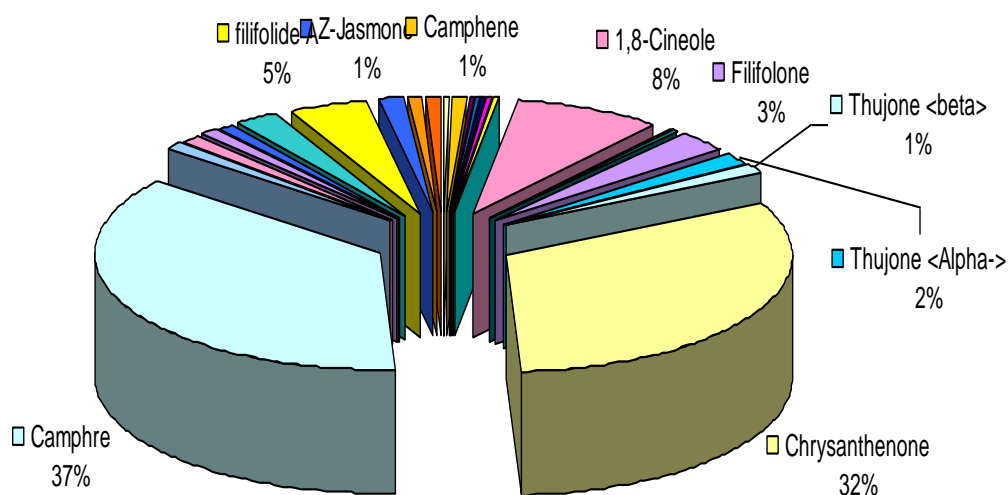


Figure 4.10: Distribution en pourcentage des différents composants de l'huile essentielle d'artemisia herba alba

Tableau 4.9: Composition chimique de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba obtenue avec les conditions optimales.

n°	Composés	R.I. ^a	R.I. ^b	Composé optimal (%)
1	Tricylene	926	1009	0,10
2	α -Thujene<Alpha->	928	1022	0,00
3	α -Pinene<Alpha->	937	1031	0,20
4	Camphene	955	1065	1,1
5	Verbenene	958	1121	0,15
6	Sabinene	977	1116	0,10
7	β -Pinene	983	1105	0,20
8	Myrcene	991	1165	0,10
9	α -Terpinene	1022	1181	0,10
10	<i>p</i> -Cymene	1030	1268	0,30
11	Limonène	1035	1206	0,28
12	β -phellandréne	1038	1296	0,21
13	1,8-Cinéole	1039	1210	8,25
14	Gamma-Terpinene	1064	1238	0,10
15	Trans-sabinene- hydraté	1078	1431	0,31
16	Filifolone	1109	1547	3,10
17	α -Thujone <Alpha->	1117	1355	1,67
18	β -Thujone <beta>	1128	1413	1,23
19	Chrysanthénone	1133	1493	31,40
20	Camphre	1160	1506	37,20
21	Pinocarvone	1174	1548	1,21
22	Bornéol	1184	1682	1,25
23	4-Terpinéol	1191	1590	0,94
24	P-Mentha-1,8-dien-3-one	1198		0,10
25	Verbénone	1221	1696	0,63
26	1,2-benzenediol,4-(1,1-dimethylethyl)	1329		2,50
27	Filifolide A	1333	1996	4,56
28	Z-Jasmone	1404	1923	1,21
29	Germacrene D	1498	1696	0,96
30	Oxide de Caryophyllene	1513	1953	0,79
	Composés oxygénés totaux (%)			96,31
	Composés non oxygénés totaux (%)			3,64
	Temps d'extraction (min)			180,00
	Masse végétale (g)			32,82
	Débit de vapeur d'eau (ml/min)			2,2

4.5. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle d'Artemisia herba alba (optimale)

L'huile essentielle obtenue par le procédé hydrodiffusion est liquide, de couleur jaune foncé à légèrement vert, caractéristique d'une odeur fraîche plus ou moins camphrée.

Tableau 4.10 : Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle d'A. Herba alba

<i>Constantes physico-chimiques</i>	<i>Valeurs mesurées</i>
Indice de réfraction n_D^{20}	1,4740
Densité	0,9443

4.6. Conclusion

L'hydrodiffusion est une voie de valorisation des ressources végétales aromatiques pour l'extraction des huiles essentielles. L'optimisation du procédé d'extraction est accommodée par un choix judicieux des facteurs et de leurs domaines d'études. Trois facteurs : temps d'extraction, masse végétale et débit de vapeur d'eau ont été utilisés comme variables dans un plan composite à faces centrées. Ce plan associé à un modèle mathématique sous forme de polynôme de 2^{ème} degré a permis l'estimation des effets simples, quadratiques et interaction entre facteurs. L'optimisation par planification d'expériences nous a permis de mettre en évidence l'influence de l'effet linéaire du temps et de la masse végétale à traiter sur le rendement en huile essentielle. Aussi, nous sommes parvenus à conclure que l'effet d'interaction entre la masse et le débit de vapeur d'eau, ainsi que l'effet quadratique de la masse et du débit sont les paramètres qui influent de façon significative le rendement. Nous avons aussi essayé de vérifier l'influence des conditions opératoires sur la composition chimique, cette étude nous a amené à conclure que l'effet linéaire de la durée d'extraction soit le paramètre qui influe le plus sur la teneur relative des constituants de l'huile essentielle dans le domaine expérimental étudié.

CHAPITRE 5

EXTRACTION ASSISTEE PAR MICRO-ONDES

5.1. Introduction

Depuis l'arrivée des micro-ondes dans le domaine de la chimie au cours de ces vingt dernières années, des solutions de choix aux problèmes de la chimie analytique et plus particulièrement à l'étape préparative d'une analyse ont été apportées. Les procédés d'extraction assistée par micro-ondes se sont ainsi développés.

Les technologies d'extraction sont parmi les thématiques les plus prometteuses qui peuvent apporter une contribution significative au développement durable. Les procédés d'extraction requièrent souvent 70% des investissements et consomment 50% de l'énergie dans les procédés industriels des secteurs agroalimentaires, chimie fine, pharmacie et cosmétique [175].

C'est dans ce cadre que nous nous sommes intéressés à l'application de la technique d'extraction de l'huile essentielle de l'*Artemisia herba alba* par micro-ondes. Il est à noter, que le procédé d'extraction de l'huile essentielle intervient de façon déterminante dans sa composition [176, 177]. Deux techniques innovantes seront appliquées : L'extraction sans solvant assistée par micro-onde (ESSAM) et l'extraction par hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité (MHG). Les résultats obtenus seront comparés à ceux obtenus par les techniques conventionnelles : l'entraînement à la vapeur d'eau et hydrodiffusion en terme de rendement, de cinétique d'extraction et de composition chimique.

5.2. Extraction des huiles essentielles

5.2.1. L'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (EV)

Dans ce système d'extraction. Le matériel végétal est soumis à l'action d'un flux de vapeur ascendant. De la vapeur d'eau est injectée au bas d'une charge

végétale, les vapeurs ainsi, chargées en composés volatils sont condensées dans le réfrigérant et le mélange « eau –huile » est récupéré dans un vase de décantation. L'huile essentielle collectée est séchée sur du sulfate de sodium anhydre et stockée à l'obscurité à 4°C.

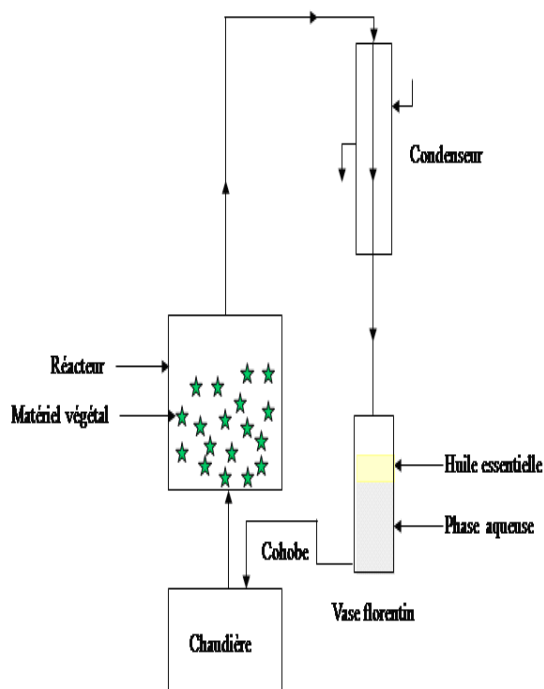


Figure 5.1: Schéma du montage de l'entraînement à la vapeur d'eau

5.2.2. L'extraction par Hydrodiffusion

Le procédé hydrodiffusion (Hdf) consiste à mettre en oeuvre un flux descendant de vapeur d'eau au niveau d'un réacteur où est placée la matière végétale. Le passage de la vapeur à travers ce matériel végétal conduit à l'éclatement des glandes renfermant l'huile essentielle. Ainsi l'huile essentielle qui est diffusée avec la vapeur sous l'action de la chaleur forme de mélange « vapeur d'eau + huile essentielle ». Ce mélange ainsi formé, est véhiculé vers le système de refroidissement. Le mélange « eau + huile essentielle » est dirigé vers le vase florentin. L'huile essentielle collectée est séchée par le sulfate de sodium et stockée à 4°C

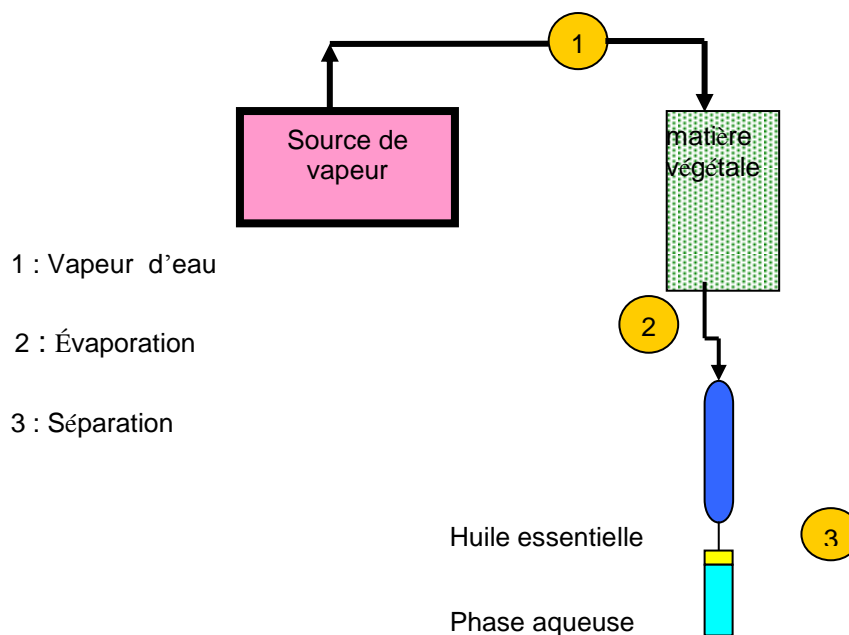


Figure 5.2 : Schéma du montage de l'hydrodiffusion

5.2.3. L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes

L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes est l'une des techniques les plus récentes, pour l'extraction des huiles essentielles par micro-ondes, sans solvant et sans eau à pression atmosphérique. Ce procédé a été déjà appliqué à plusieurs types de plantes : telle que les épices [103], les herbes aromatiques [102] et les citrus [106]. Cette technique a été réalisée dans un four micro-ondes de laboratoire Dry Dist commercialisé par la société Milestone (Italie).

Le montage est présenté dans la Figure 5.3. Il est constitué d'un réacteur placé dans un four micro-ondes Dry-Dist surmonté d'une colonne assurant la liaison avec la partie du montage située à l'extérieur de la cavité du four. Ce four micro-ondes délivre une puissance maximale de 1000W, fonctionnant à une fréquence de 2,45 GHz. Le temps et la température peuvent être contrôlés par le logiciel « easy-wave » pendant les expériences. La température peut être suivie et relevée à l'aide d'un thermocouple de type ATC-300 insérée directement dans le réacteur ou à l'aide d'une sonde infrarouge interne à la cavité du four micro-onde. L'enceinte du four micro-onde présente une cavité multi mode.

Le système de condensation des « vapeurs aromatiques » est composé d'un réfrigérant à boules, relativement long orienté verticalement afin de respecter

l'orientation initiale du flux de vapeur provenant du réacteur, d'assurer une condensation maximale des vapeurs saturées en molécules aromatiques et d'obtenir un condensât le moins chaud possible pour éviter une dégradation thermique éventuelle des molécules aromatiques. L'orientation verticale du réfrigérant a nécessité de placer le retour du piège de vapeur directement à la sortie du four situé entre le réfrigérant et le réacteur. Elle permet au mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » de se diriger vers le réfrigérant afin d'être condensé avant d'être piégé, puis de se diriger vers l'essencier équipé du système de cohobation.

Le protocole expérimental de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes s'articule autour de trois points importants :

- la qualité de la matière végétale traitée,
- la puissance micro-ondes appliquée,
- la durée totale de l'extraction.

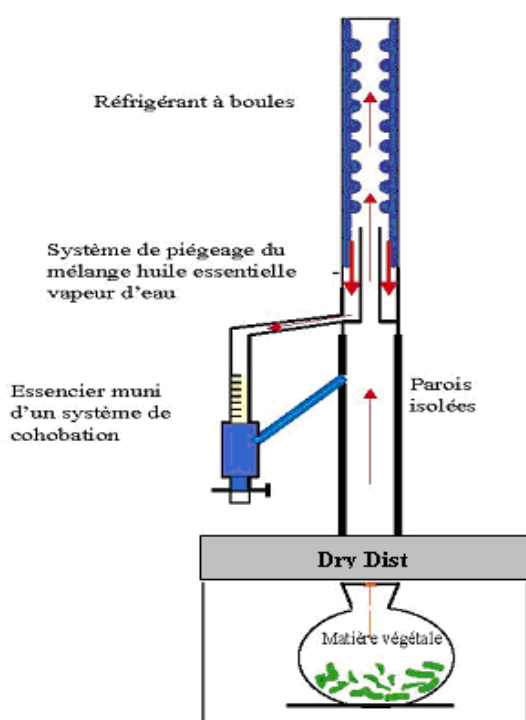


Figure 5.3 : Schéma du montage de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM)

L'extraction de point de vue thermique se déroule en deux étapes:

- une première étape de chauffage proprement dite où la température doit atteindre le palier de 100°C (température d'ébullition de l'eau),
- une seconde étape d'extraction se déroulant à la température de distillation, soit 100°C.

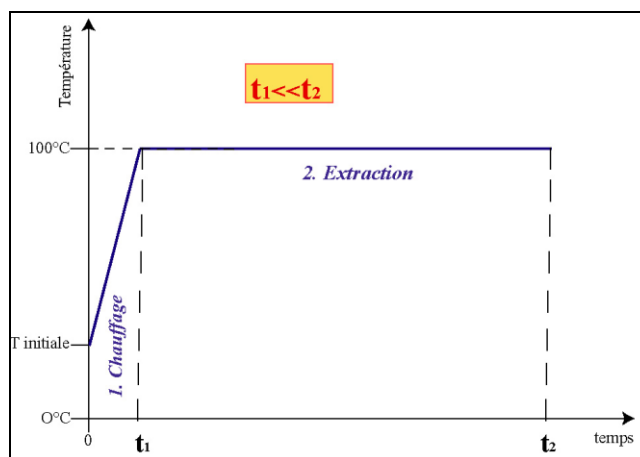


Figure 5.4 : Principe de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes.

Le temps total de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes est composé du temps de chauffe (première étape) et du temps d'extraction (seconde étape). La matière végétale fraîche est introduite dans un réacteur d'une contenance de 2L placé dans le four micro-ondes (figure 5.3). La durée de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes de végétaux frais a été fixée après observation de la quantité d'huile essentielle extraite au cours du temps. Il est apparu qu'après trente minutes d'extraction celle-ci cesse d'évoluer de façon significative. La durée totale d'une extraction sans solvant assistée par micro-ondes a donc été fixée à trente minutes, étape de chauffage comprise. Grâce au système de cohobation, le taux d'humidité au sein du ballon est quasiment le même tout au long de l'extraction. L'huile essentielle obtenue est séparée de l'eau par simple décantation. Aucun solvant organique n'est utilisé au cours de ce protocole. L'huile essentielle est au préalable placée sur un desséchant de type sulfate de sodium (Na_2SO_4), afin d'éliminer toute trace éventuelle d'eau, puis pesée afin de calculer le rendement de l'extraction par rapport à la masse du matériel végétal

frais. L'expérience d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes menée lors de ce travail est exclusivement réalisée à pression atmosphérique.

Tableau 5.1: Conditions opératoires utilisées lors de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes.

Masse végétale fraîche (g)	200
Pourcentage d'humidité (%)	90
Puissance MO maximale (W)	200
Temps de chauffe (min)	6
Durée totale de l'extraction (min)	30

5.2.4. L'extraction par Hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité

L'extraction par hydrodiffusion a présenté un avantage certain dans le temps nécessaire, l'énergie utilisée et le rendement à partir des travaux réalisés par Chemat et col [110]. Ce procédé a été réalisé dans un four à micro-ondes (Milestone, Bergamo, Italie) (figure 5.5). Ce four micro-ondes délivre une puissance maximale de 1000 W, fonctionnant à une fréquence de 2,45 GHz. Le temps et la température peuvent être contrôlés par le logiciel « easy-wave » pendant les expériences. La température peut être suivie et relevée à l'aide d'une sonde infrarouge interne à la cavité du four micro-onde. L'enceinte du four micro-onde présente une cavité multi-mode. Dans cette technique, le matériel végétal est placé dans un réacteur à l'intérieur du four micro-ondes, sans addition d'eau ou de solvant. La durée totale de l'extraction a été fixée à quinze minutes, l'étape de chauffage est comprise. La densité de puissance est fixée à 1w/g. Ces paramètres ont été fixés en tenant compte des résultats des études antérieures [111-113]. Trois expériences ont été effectuées. L'huile essentielle obtenue est séparée de l'eau par simple décantation. Aucun solvant organique n'est utilisé au cours de ce protocole. L'huile essentielle est au préalable placée sur un desséchant de type sulfate de sodium (Na_2SO_4), afin d'éliminer toute trace éventuelle d'eau, puis pesée afin de calculer le rendement de l'extraction par rapport à la masse du matériel végétal frais. L'expérience d'extraction menée lors de ce travail est exclusivement réalisée à pression atmosphérique. Les micro-

ondes provoquent le chauffage de l'eau contenue dans la plante. Les cellules contenant les huiles essentielles se détendent provoquant la rupture et la dislocation des glandes contenant les huiles essentielles. Les huiles essentielles sont ainsi libérées et peuvent être transférées de l'intérieur de la plante vers l'extérieur. Il s'agit du phénomène d'hydrodiffusion.

Tableau 5.2: Conditions opératoires utilisées lors de l'extraction par hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité.

Masse végétale fraîche (g)	200
Pourcentage d'humidité (%)	90
Puissance MO maximale (W)	200
Temps de chauffe (min)	0,84
Durée totale de l'extraction (min)	15

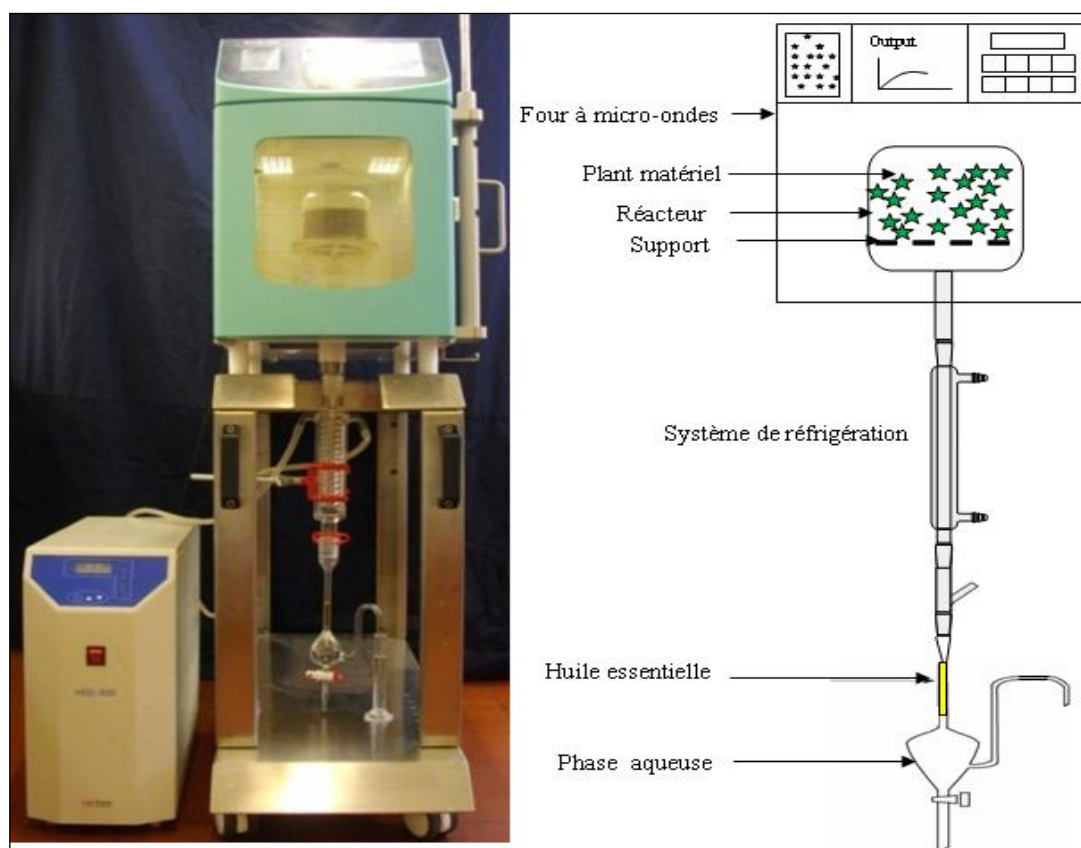


Figure 5.5: Schéma du montage de l'extraction par hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité

5.3. Extraction de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba : Analyse quantitative

Le tableau 5.3 présente les rendements en huiles essentielles obtenus par les différents procédés : ESSAM, MHG, EV et HDF. De façon générale, l'extraction par chauffage micro-ondes présente une durée d'extraction plus courte. L'extraction par MHG et par ESSAM permet respectivement l'obtention d'huile essentielle avec des rendements de l'ordre de 3,00% et de 3,1% et ces résultats sont d'autant plus intéressants que le temps d'extraction ne dépasse pas 15min pour MHG et 30 min pour ESSAM, alors que l'EV et le HDF nécessitent respectivement un temps d'extraction égale à 120 min et 210 min pour obtenir un rendement équivalent de l'ordre de 3,1% pour l'EV et 3,00% pour le HDF. Nous avons donc conclu que l'avantage de l'extraction par micro-onde est incontestablement le gain de temps et par conséquent l'économie d'énergie.

Tableau 5.3 : Rendements en huile essentielle de l'artemisia herba alba selon les quatre méthodes d'extractions

<i>Type d'extraction</i>	<i>ESSAM</i>	<i>MHG</i>	<i>EV</i>	<i>HDF</i>
Durée totale de l'extraction (min)	30	15	120	210
Rendement (%)	3,1± 0,1	3,00± 0,1	3,1± 0,1	3,00± 0,1

5.4. Influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle

Lors de cette étude, nous avons suivi la cinétique d'extraction de l'huile essentielle d'Artemisia herba alba par EV, HDf, ESSAM et par MHG. Les figures (5.6, 5.7, 5.8, 5.9) présentent l'évolution du rendement en huile essentielle lors de l'extraction avec ces différentes techniques.

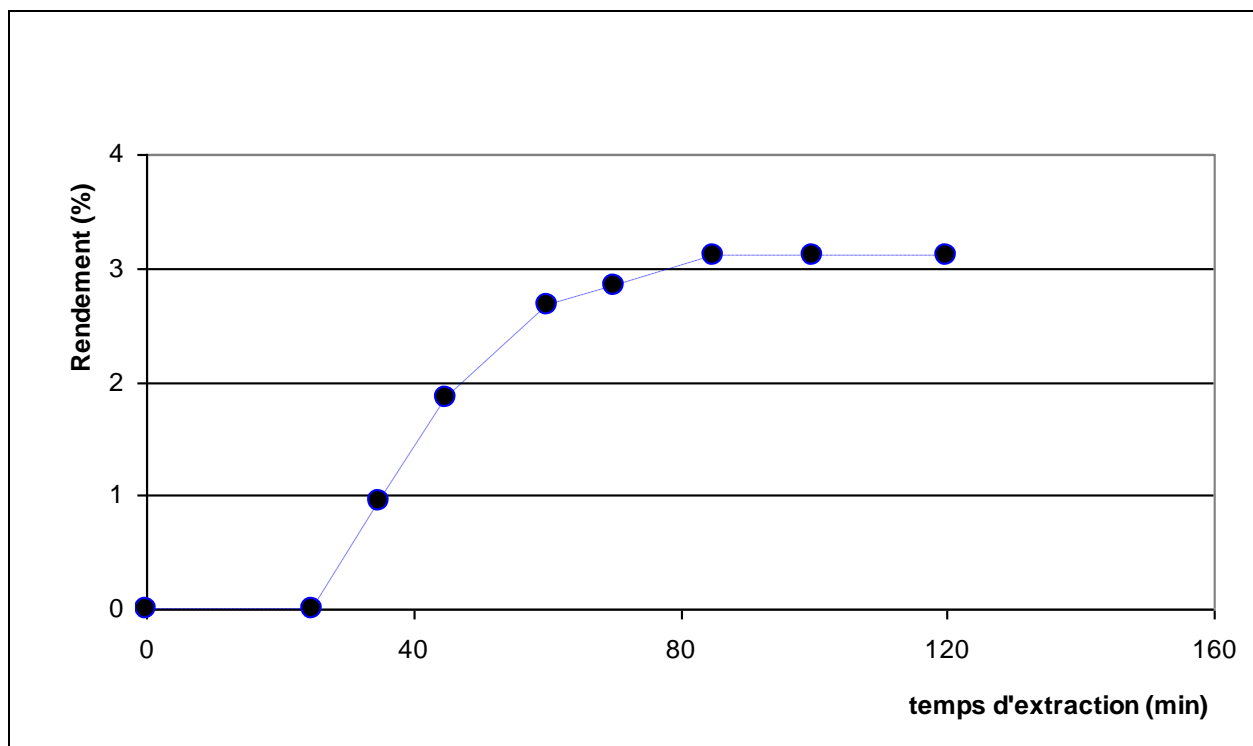


Figure 5.6: Cinétique de l'extraction de l'huile essentielle de l'Artemisia herba alba Par entraînement à la vapeur d'eau

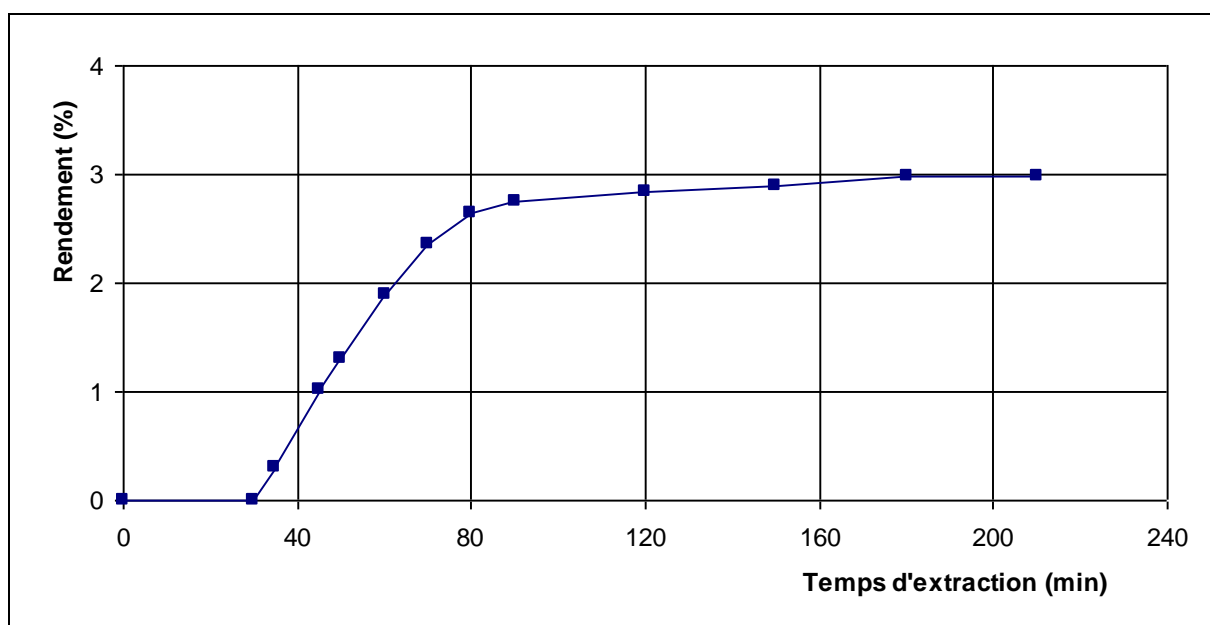


Figure 5.7 : Cinétique de l'extraction de l'huile essentielle de l'Artemisia herba alba par hydrodiffusion

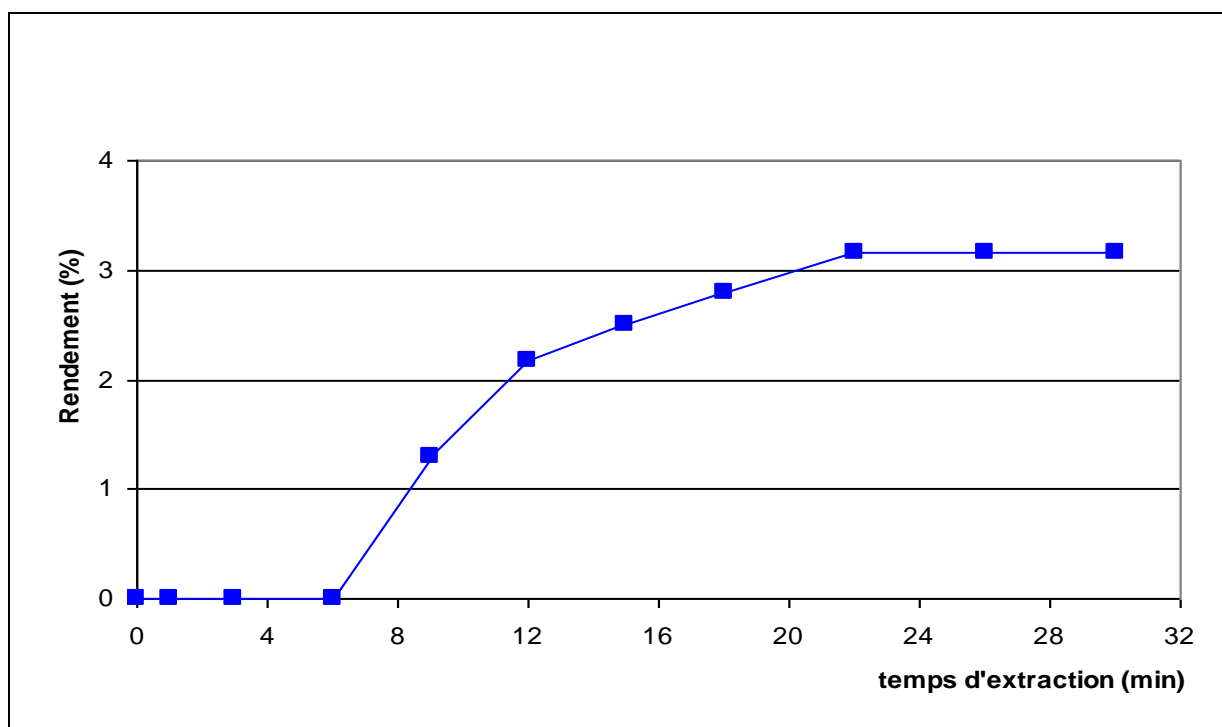


Figure 5.8: Cinétique de l'extraction de l'huile essentielle de l'Artemisia herba alba par ESSAM

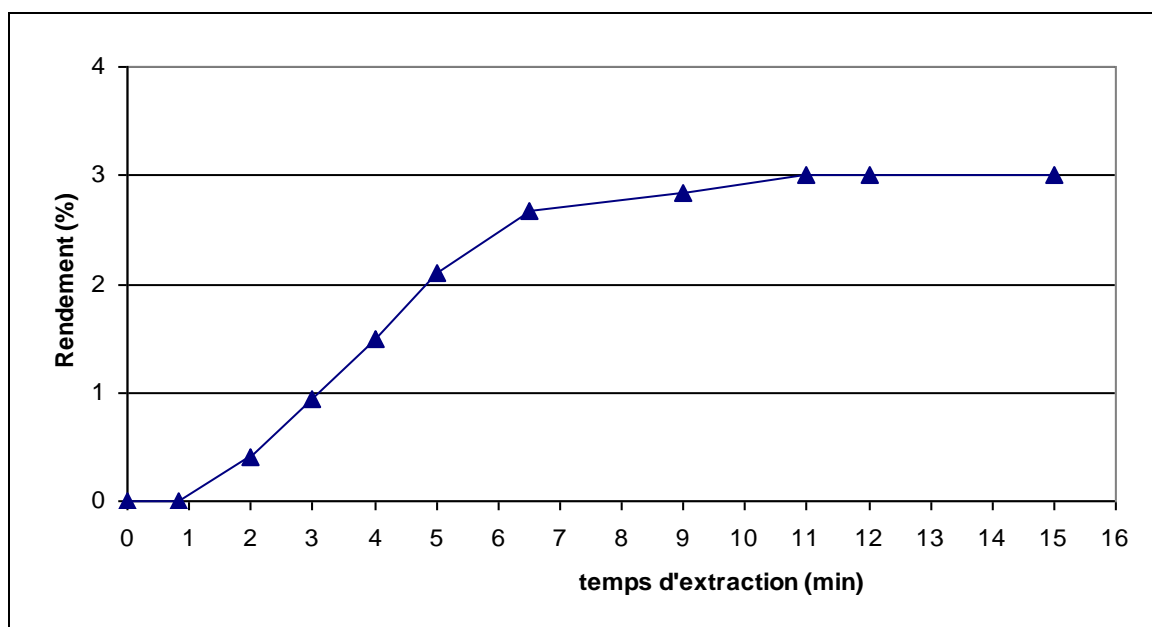


Figure 5.9: Cinétique de l'extraction de l'huile essentielle de l'artemisia herba alba par MHG

L'étude de la cinétique d'extraction montre l'existence de quatre étapes :

- L'étape 0 relative au chauffage de la matière végétale et correspondant à la montée en température au sein du réacteur jusqu'à la température de distillation sensiblement égale à la température d'ébullition de l'eau, étape durant laquelle aucune extraction d'huile essentielle ne se produit. Cette étape est courte pour l'ESSAM, elle est de l'ordre de 6 min ; et encore plus courte pour le MHG, qui est égale à 0,84 min. Alors que, par le chauffage classique, il faut chauffer 25 min lors de l'EV et 30min lors de L'HDF avant d'obtenir la première goutte d'huile essentielle.
- La première étape rapide désigné par une droite croissante, représentant une extraction plus ou moins rapide de l'huile essentielle selon la technique d'extraction. Celle-ci correspondrait à l'extraction de l'huile superficielle (sites exogènes).
- La deuxième étape moins rapide que la première selon la technique d'extraction. Celle-ci pourrait être attribuée à l'extraction de l'huile essentielle située dans les dépôts endogènes.
- La troisième étape correspond à une ligne horizontale qui enregistre la fin de l'extraction et au cours de cette étape la courbe tend vers un palier qui correspond au rendement maximal possible.

Lors de l'extraction par micro-ondes, la phase du chauffage est relativement faible devant l'extraction par chauffage classique. La durée d'extraction est relativement courte pour l'ESSAM et encore plus courte pour le MHG. Le rendement augmente rapidement durant les 11min pour le MHG où plus de 90% de l'huile essentielle est extraite. Pour l'ESSAM, Le rendement augmente aussi rapidement durant les 20 minutes où plus de 85% de l'huile est extraite. De ce fait, Pour atteindre presque le même rendement, il est suffisant de chauffer seulement 11min pour MHG, et 21 min pour l'ESSAM pour atteindre le même rendement après 85 min en EV et 180 min en Hdf.

Tableau 5.4 : Résultats obtenus à partir de l'extraction des huiles essentielles avec les différents procédés

<i>Type d'extraction</i>	<i>EV</i>	<i>HDF</i>	<i>ESSAM</i>	<i>MHG</i>
Temps initial (temps de chauffe) (min)	25	30	6	0,84
Durée total De l'extraction (min)	120	210	30	15

5.5. Composition chimique de l'huile essentielle

Le tableau 5.5 regroupe la teneur des constituants majoritaires en huile essentielle extraite par les différentes techniques.

Tableau 5.5: Teneur des composés majoritaires de l'huile essentielle obtenue par les différentes techniques

Composés (%)	EV	HDF	ESSAM	MHG
Chrysanthénone (%)	33,3	29,7	35,6	35,2
Camphre (%)	24,1	25,4	19,9	20,4

La chrysanthénone et le camphre sont les composés majoritaires de l'huile essentielle d'*artemisia herba alba*. En effet, la chrysanthénone (composé oxygéné) est présent à 35,6% par ESSAM, à 35,2% par MHG tandis que il est présent à 33,3% par EV et à 29,7% pour celui de HDF. On remarque que avec les procédés d'extraction assistés par micro-ondes, l'huile essentielle est plus riche en chrysanthénone. Pour le camphre (composé oxygéné), les échantillons présentent une teneur de 24,1% pour le procédé EV, 25,4% pour celui de HDF, 19,9% pour ESSAM et 20,4% pour le procédé MHG.

5.6. Compréhension de l'extraction des huiles essentielles

5.6.1. Mécanisme de l'extraction des huiles essentielles

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent identiques quelque soit le « type » d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques

constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation comme cela est explicité dans la figure 5.10.

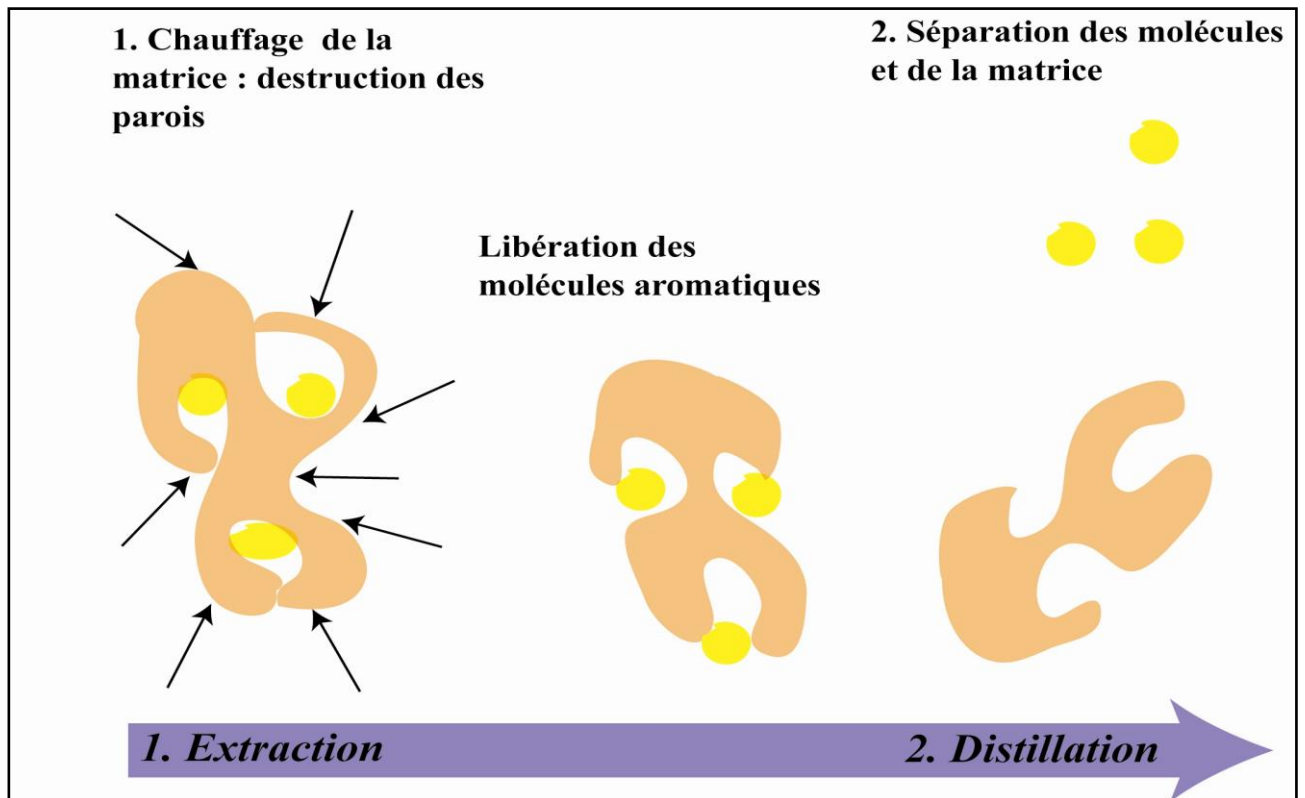


Figure 5.10 : Les étapes d'obtention d'une huile essentielle

Généralement, le mécanisme de l'extraction des huiles essentielles du matériel végétal solide vers le milieu extérieur s'effectue par une diffusion provoquée par un gradient de concentration en soluté. Durant l'extraction, le transfert de matière implique un état non stationnaire, ce qui explique une série de processus successifs traduisant la variation de la concentration du soluté dans le solide végétal et son interaction avec le solvant.

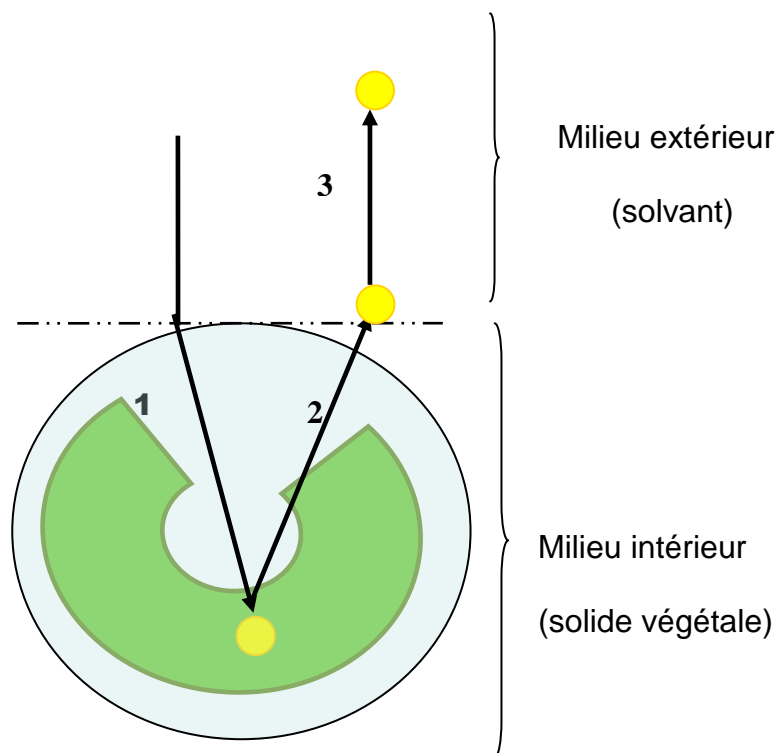


Figure 5.11 : Différentes étapes du processus de transfert de matière lors de l'extraction des huiles essentielles

La totalité de l'opération se déroule en trois étapes successives:

- Diffusion du solvant dans la matrice solide et dissolution du soluté dans le solvant.
- Diffusion du soluté dissous dans le solvant vers la surface solide,
- Transfert du soluté, soit par convection soit par diffusion dans la solution près du solide vers le solvant.

L'analyse de ces trois processus fait que l'opération de l'extraction des huiles essentielles est souvent étudiée en termes de cinétique et de rendement. La pénétration du solvant dans le solide est généralement rapide par rapport aux autres processus. Cette étape peut donc être négligée dans le modèle cinétique. Alors que, la phase du transfert du solvant à travers la matrice solide constitue l'étape la plus lente donc l'étape limitante du processus d'extraction des huiles essentielles dans la plupart des matières végétales solides. En effet, la complexité de la microstructure naturelle des végétaux engendre une mauvaise aptitude quant à la diffusion interne des liquides. Aussi, la diffusion du soluté vers la

surface extérieure du solide joue un rôle également important dans la cinétique de transfert de matière. Cependant, le passage du soluté vers la masse du solvant ne constitue pas l'étape limitante. La vitesse globale d'extraction des huiles essentielles devra prendre en compte les diverses vitesses, alors que le processus diffusionnel est l'étape limitante [167].

5.6.2. Effets de la température

L'huile essentielle de l'artémisia herba alba est dominée par les composés oxygénés (la chrysanthénone et le camphre). Ces deux composés sont présents en proportions variables suivant le mode d'extraction. De manière générale, l'ESSAM et le MHG permettent une meilleure extraction des composés oxygénés par rapport aux composés aromatiques non oxygénés. Les micro-ondes permettent de libérer plus rapidement l'huile essentielle contenue dans la matrice végétale grâce à l'ouverture quasi instantanée des glandes sécrétrices. Lors d'une extraction par micro-onde ou par voie classique, la quantité de molécules aromatiques oxygénées ou non est nettement inférieure à la quantité d'eau présente dans la matrice végétale. La température d'ébullition du mélange eau + composés aromatiques est donc imposée par la température d'ébullition de l'eau c'est-à-dire 100°C et ne dépend en aucun cas de la température d'ébullition des composés de l'huile essentielle. L'explication de la différence de composition chimique entre les procédés d'extraction par chauffage classique et par chauffage micro-onde ne peut être supportée uniquement par les températures d'ébullition des composés oxygénés ou non oxygénés extraits. Elle pourrait être basée principalement sur des phénomènes de solubilité.

5.6.3. Effet de la solubilité

L'huile essentielle est dominée par la chrysanthénone dont la température d'ébullition est de 209,3°C et le camphre dont la température d'ébullition est de 207,4°C. Ces composés majoritaires sont des composés oxygénés présentant un point d'ébullition élevé. Selon Koedam, le point d'ébullition d'un composé organique n'explique pas à lui seul le phénomène de distillation, et qu'il faut introduire la notion de solubilité. Le phénomène d'extraction s'appuiera plus sur la solubilité que sur la température d'ébullition. Il semblerait que ce soit les

composés oxygénés, possédant, un point d'ébullition élevé, qui distillent les premiers du fait de leur solubilité plus élevée dans l'eau. Leur solubilité dans l'eau est de l'ordre de 0,9 g par litre d'eau. En effet, dès qu'on commence à chauffer le milieu réactionnel, ces produits se solubilisent et sont entraînés par les premières vapeurs d'eau. Une fois le milieu est épuisé de façon générale en molécules solubles dans l'eau, les terpènes commencent alors à être entraînés par la vapeur d'eau. Du fait de la courte durée des procédés ESSAM et encore plus pour le MHG, le phénomène d'extraction s'appuiera plus sur la solubilité et le phénomène de vaporisation sera guidé par la solubilité. C'est ainsi que des composés oxygénés plus polaires et plus solubles dans l'eau seraient distillés prioritairement aux hydrocarbures terpéniques dont la température d'ébullition est pourtant plus faible.

5.7. Conclusion

L'extraction des huiles essentielles de la matière végétale *artemisia herba alba* par les quatre différentes techniques a été réalisée. L'étude quantitative a mis en évidence l'efficacité de l'ESSAM et de MHG pour l'extraction des végétaux frais. Nous avons ainsi pu constater qu'il est possible d'extraire autant d'huile essentielle en 30 minutes par ESSAM et 15 minutes pour MHG qu'en 120 minutes par entraînement à la vapeur et 210 minutes pour l'hydrodiffusion. L'un des avantages de l'ESSAM et de MHG est incontestablement le gain de temps et donc par conséquent l'économie d'énergie.

CONCLUSION

Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé la méthodologie des plans d'expériences pour étudier l'influence et les effets des paramètres opératoires sur le rendement et sur la composition chimique de l'huile essentielle d'*artemisia herba alba* extraite par les deux procédés conventionnelles : entraînement à la vapeur d'eau et hydrodiffusion dans le but d'évaluer, d'estimer et de comparer les différents effets, d'établir un modèle mathématique décrivant la relation entre les variables étudiés et les réponses mesurables et de définir les paramètres optimums d'utilisation. Aussi, nous avons utilisés deux techniques innovantes appliquées à la récupération de l'huile essentielle : extraction sans solvant assistée par micro-ondes et extraction par hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité. Ces deux techniques innovantes ont été comparées aux deux techniques conventionnelles EV et HDf.

Dans un premier temps, une étude préliminaire composée de plusieurs expériences a été conduite et nous a permis de délimiter le domaine de variation des paramètres opératoires. Trois facteurs sont retenus : Le temps d'extraction, la masse végétale et le débit de vapeur. Un plan composite à faces centrées à trois variables et à trois niveaux a permis l'estimation des effets linéaires, quadratiques et interaction entre facteurs. Sept effets ont montré une influence significative sur le rendement en huile essentielle extraite par entraînement à la vapeur d'eau : le temps d'extraction, la masse de la matière végétale, les interactions entre les facteurs: temps d'extraction, masse de la matière végétale et temps d'extraction, débit de vapeur, ainsi que les effets quadratiques du : « débit de vapeur d'eau », de « la masse végétale » et celui du « temps d'extraction ». Aussi, nous sommes parvenus à conclure que l'effet linéaire du temps et de la masse, l'effet d'interaction entre la masse et le débit de vapeur d'eau, ainsi que l'effet quadratique de la masse et du débit sont les paramètres qui influent de façon significative le rendement en huile essentielle extraite par hydrodiffusion.

Dans un second temps, la composition chimique de l'huile essentielle des vingt essais extraites par entraînement à la vapeur d'eau a été déterminée par les méthodes chromatographiques (CPG et CPG/SM), l'identification de cette

composition est caractérisée par une teneur faible en composés hydrocarbonés et une teneur importante en composés oxygénés avec dominance de chrysanthénone et du camphre dont les teneurs varient de 31,2% à 54,1% pour la chrysanthénone et 11,2% à 26,6% pour le camphre. Aussi, les vingt extractions par hydrodiffusion ont montré que l'huile essentielle soit caractérisée par une teneur importante en composés oxygénés. Le camphre et la chrysanthénone sont les composés majoritaires présents avec des teneurs qui varient respectivement de 30,27% à 38,75% et de 22,54% à 37,28% en fonction de la variation des paramètres opératoires.

L'influence et l'impact des paramètres opératoires sur la composition chimique a permis de mettre en évidence l'extraction spécifique d'un composé par rapport à un autre. Ainsi, la composition chimique est fortement influencée par les conditions opératoires de l'entraînement à la vapeur d'eau et de l'hydrodiffusion.

Dans un dernier temps, une comparaison a été réalisée entre la technique d'extraction par micro-ondes et par voie classique en terme de rendement, de cinétique d'extraction et de composition chimique. En effet, le MHG est beaucoup plus performant, car en 15 minutes, il est possible d'extraire la même quantité d'huile essentielle, de même que pour le procédé SFME en 30 minutes, on peut avoir le même rendement en huile essentielle qu'en 120 min d'entraînement à la vapeur d'eau ou 210 minutes avec l'hydro-diffusion. D'un point de vue quantitatif une variabilité a été observée dans les proportions de la fraction oxygénée selon la technique d'extraction utilisée. Les huiles essentielles obtenues par MHG et par SFME sont, de manière générale, plus riches en composés oxygénés, composés nettement plus valorisables sur le plan olfactif. La technologie de l'extraction par micro-onde paraît être une alternative intéressante puisqu'elle permet un gain de temps et d'énergie considérable.

L'explication du phénomène et du mécanisme d'extraction durant la distillation s'est basé d'une part sur les théories de distillation se rapportant aux températures d'ébullition, et d'autre part sur les théories de diffusion fondées sur la solubilité des

composés en milieu aqueux. Les résultats de cette étude ont montré que durant la distillation, dans le cas de l'extraction par micro-ondes ou par chauffage conventionnel, le phénomène de vaporisation serait guidé non pas par la température d'ébullition des composés mais par leur solubilité. Ainsi, les composés oxygénés plus polaires et plus solubles dans l'eau seraient distillés prioritairement par rapport aux hydrocarbures terpéniques dont la température d'ébullition est pourtant plus faible de plusieurs dizaines de degrés Celsius.

Le procédé d'extraction assisté par micro-ondes présente de nombreux avantages pour l'obtention d'huile essentielle. La rapidité d'extraction, l'économie d'énergie, la spécificité du chauffage micro-onde.

Bien que nous avons commencé nos travaux sur les techniques conventionnelles d'extraction des huiles essentielles présentes dans nos laboratoires et aussi dans plusieurs entreprises en Algérie afin de les étudier et de les optimiser, nos conclusions de cette thèse vont dans la direction de l'innovation. La méthode d'extraction assistée par micro-ondes. Cette méthode deviendra une norme dans le domaine de l'extraction des huiles essentielles au niveau du laboratoire par son temps réduit, sans déchets, ni eaux usées et une réduction drastique de l'utilisation de l'énergie, mais surtout plus rentable d'un point de vue économique. Cette méthode d'extraction par micro-ondes aura un réel intérêt industriel dans notre pays et par le monde.

REFERENCES

1. M. Hammouchi, Plantes alimentaires, aromatiques, condimentaires, médicinales et toxiques au Maroc. CIHEAM- Options Méditerranéennes.
2. M. Ghanmi, B. Satrani, A. Aafi, M.R. Isamili, H. Houti, H. El Monfalouti, K.H. Benchakroun, M. Aberchane, L. Harki, A. Boukir, A. Chaouch, Z. Charrouf. Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental). *Phytothérapie*, 8, 295-301, 2010.
3. C.W.Wright, *Artemisia. Medicinal and Aromatic Plants- Industrial profiles*, First edition, Taylor & Francis, London, 2002. 344p.
4. J.Wang, J. Zhang, X. Wang, B. Zhao, Y. Wu, J. Yao. A comparison study on microwave-assisted extraction of *Artemisia sphaerocephala* polysaccharides with conventional method: Molecule structure and antioxidant activities evaluation. *International journal of Biological Macromolécules*, 45, 483-492, 2009.
5. M. Adams, C. Berset, M. Kessler, M. Hamburger, Medicinal herbs for the treatment of rheumatic disorders- A survey of European herbals from 16th and 17th century- A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 121, 343-359, 2009.
6. G. Deysson, *Organisation et classification de plantes vasculaires*. Ed –SEDES, T2. Paris, 1978. 116p.
7. J. Reynaud, *La flore du pharmacien*, édition TEC& DOC. Lavoisier. Paris, 2002. 250p.
8. J.-L.Guignard, *Botanique : Systématique moléculaire*, 12ème édition, Masson, Paris, 2001. 278p.
9. P. Quezel, S. Santa, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. 2vols. Edition du centre nationale de recherche scientifique. Paris, 1962-1963.
10. N. Benbadji, M. Bouazza, G. Metge & R. Loisel, description et aspects des sols en région semi-aride et aride au sud de Sebdo (oranie-Algérie). *Bull, Inst. Sci, Rabat*, n°20, 77-86, 1996.
11. A. Lapeyronie. *Les productions fourragères méditerranéennes. Techniques agricoles et production méditerranéenne*. 1982. 425p.

12. P. Ozenda, Flore et végétation du Sahara, troisième édition, CNRS Edition, Paris. 1991.
13. Programme d'action national sur la lutte contre la désertification. Algérie
14. Communication nationale initiale de l'Algérie à la convention cadre des nations unies sur les changements climatiques. Mars 2001.
15. D. Nedjraoui, Evaluation des ressources pastorales en zone steppique et définition des indicateurs de dégradation. Unité de recherche sur les ressources biologiques terrestres. Alger.
16. N. Ayad, B. Hellal, M. Maatoug, Dynamique des peuplements d'*Artemisia herba alba* Asso dans la steppe du sud oranais (Algérie occidentale). Sécheresse, 18, 193-198, 2007.
17. M. Ghanmi, B. Satrani, A. Aafi, M.R. Isamili, H. Houti, H. El Monfalouti, K.H. Benchakroun, M. Aberchane, L. Harki, A. Boukir, A. Chaouch, Z. Charrouf, Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental). Phytothérapie 8, 295–301, 2010.
18. A. Ferchichi, C. Chaieb et E. Ferdjani, Caractérisation de la variabilité du comportement phytologique de certaines populations d'*Artemisia herba-alba* du sud tunisien.
19. M.R. González-Tejero, M. Casares-Porcel, C.P. Sanchez-Rojas, J.M. Ramiro-Gutiérrez, J. Molero-Mesa, A. Pieroni, M.E. Giusti, E. Censorii, C. de Pasquale, A. Della, D. Paraskeva-Hadjichambi, A. Hadjichambis., Z. Houmani, M. El-Demerdash., M. El-Zayat, M. Hmamouchi, S. El Johrig, Medicinal plants in the Mediterranean area : Synthesis of the results of the project Rubia. Journal of ethno pharmacology 116, 341-357, 2008.
20. D. Tastekin, M. Atasever, G. Adigüzel, M. Keles, A. Tastekin, Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba-alba* in experimental hyperglycaemic rats. Bull Vet Inst Pulawy 50, 235-238, 2006.
21. M. Iriadam, D. Musa, H. Gumushan and F. Baba. Effects of two Turkish medicinal plants *Artemisia herba-alba* and *Teucrium polium* on blood glucose levels and other biochemical parameters in rabbits. Journal of Cell and Molecular Biology, 5, 19-24, 2006.

22. A.Tahraoui, E.El-Hilaly, Z.H.Israili, B.Lyoussi, Ethno pharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern morocco (Errachidia province). *Journal of ethnopharmacology* 110, 105-117, 2007.
23. O. Said, K. Khalil, S. Fulder, H. Azaizeh, Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology*, 83, 251-265, 2002.
24. M.Eddouks, M. Maghrani, A.Lemhadri, M.-L. Ouahidi, H. Jouad. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morroco (Tafilalet). *Journal of ethnopharmacology*, 82, 97-103, 2002.
25. L. Al-Shamaony, SM. AL-Khazraji, HA. Twaij, Hypoglycemic effect of *Artemisia herba alba*. Effect of a valuable extract on some blood parameters in diabetic animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 43, 167-171, 1994.
26. A.Ziyyat, A.Legssyer, H.Mekhfi, A.Dassouli, M.Serhrouchni, W.Bendjelloun. Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of ethno pharmacology* 58, 45-54. 1987.
27. HA. Twaij, AA. AL-Badr, hypoglycemic activity of *Artemisia herba alba*. *Journal of ethnopharmacology*, 24, 123-126, 1988.
28. SM. Al-Khazraji, LA. AL-Shamaony, HA.Twaij, Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba alba* . Effect of different parts and influence of the solvent on hypoglycaemic activity. *Journal of ethnopharmacology*, 40, 163-166, 1993.
29. H.I.Marrif, B.H.Ali and K.M. Hassan. Some pharmacological studies on *Artemisia herba-alba*(Asso.) in rabbits and mice. *journal of ethnopharmacology*, 49, 51-55, 1995.
30. B.F. Dababneh, Antimicrobial activity of selected Jordanian plant extracts against pathogenic microorganisms, *journal of Food Agriculture & Environment*, 6, 134-139, 2008.
31. M. Bnouham., H. Mekhfi., A. Legssyer., A. Ziyyat, Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Ethno pharmacology Forum. Int J Diabetes & Metabolism* 10 : 33-50, 2002.
32. S.M. Salah, A.K. Jager, Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *Journal of ethnopharmacology* 97, 145-149, 2005.

33. S.M. Salah, A.K. Jager, Two flavonoids from *Artemisia herba-alba* Asso with in vitro GABA_A-benzodiazepine receptor activity, *Journal of ethnopharmacology*, 99,145-146, 2005.
34. S. Hatimi, M. Boudouma, M. Bichichi, N. Chaib & N. Guessous Idrissi, Evaluation in vitro de l'activité antileishmanienne d'*Artemisia herba-alba* Asso. *Thérapeutique*, N° 2162, 2000.
35. K. Maiza, R.A. Brac De La Perrière, V. Hammiche, Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional, Actes du 2^{ème} colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11^{ème} Conférence Internationale d'Ethnomédecine, heidelberg, 24-27mars 1993.
36. E-L. Rice, Allelopathy. Academic Press. Orlando, The University of Okalahoma, Norman Okalahoma. 1984.
37. N.M. Modallal, F. M.R. Al-Charchafchi, Allelopathic effect of *Artemisia herba alba* on germination and seeding growth of *Anabasis setifera*, *Pakistan Journal of Biological Science*, 9, 1795-1798,2006.
38. A. Escudero, M.J. Albert. J.M. Pita, F.P. Garcia, Inhibitory effects of *Artemisia herba –Alba* on the germination of the gypsophyte *helianthemum squamatum*. Kluwer Academic Publisher. *Plant ecology* 148, 71-80, 1999.
39. B. Benjilali, H. Richard. Etude de quelques peuplements d'armoise blanche du Maroc. *Artemisia herba alba asso*. *Rivista Italiana EPPOS*,2, 69-74,1980.
40. B. Benjilali, J.Saris,H. Richard. Nouveaux chémotypes d'*Artemisia herba alba*. *Sciences des aliments*, 2,515-527,1982.
- 41 A. Villard, M.L. Calduch, M.C Zafra-Polo, Aceites esenciales de diversas especies de *Artemisia*. *Ars Pharm*, 24, 149-159, 1983.
42. I. Feuerstein, A. Danin, R. Segal, Constitution of the essential oil from *Artemisia herba-alba* population of Spain. *Phytochemistry*, 27, 433-434, 1988.
43. S. Salido, J. Altarejos, M. Nogueras, A. Sanchez, Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso ssp. *Valentina*(Lam.). *Marcl. Journal of essential oil Research*, 13, 221-224, 2001.
44. G. vernin, O. Merad, G. M. F. Vernin, R. M. Zamkotsian, C. Parkanyi, GC-MS analysis of *Artemisia herba alba asso* essential oils from Algeria. *Developments in Food Science*, 37, 147-205, 1995.

45. S.Salido, L.R.Valenzuela, J.Altarejos, M.Nogueras, A.Sanchez.,E.Cano, Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochemical Systematic and Ecology* 32, 265-277,2004.
46. A. Lamiri, S. Lhaloui, B. Benjlali, M. Berrada, Insecticide effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). *Field crops Research*, 71, 9-15,2001.
47. A.Akrouit : Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie).2004.
48. M.M.Hudaiab, T.A. Aburjai. Composition of the essential oil from *Artemisia herba-alba* grown in Jordan. *Journal of essential oil research*, 2006.
49. T.Dob., T.Benabdelkader. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Algeria. *Journal of essential oil research*.2006.
50. M.Benabdellah., M.Benkaddour, B.Hammouti, M.Bendahhou, A.Aouniti, Inhibition of steel corrosion in 2M H₃PO₄ by *Artemisia* oil. *Applied Surface Science* 252, 6216-6217, 2006.
51. F. Boukrich, M. Neffati, A. Chedly, Comparaison des rendements en huiles essentielles de différentes accessions d'*Artemisia herba alba* Asso de la Tunisie. *Revue des régions arides*, 2, 479-482, 2007.
52. L.Messai., M.E. F. Hegazy, A.A. Ahmed, A. Kalla, D. Belkacemi, S. Ohta. Sesquiterpene lactones from Algerian *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry Letters*, 1, 85-88, 2008.
53. M. Houari, A. Ferchichi. Essential oil Composition of *Artemisia herba-alba* from Southern Tunisia. *Molecules*, 14, 1585-1594, 2009.
54. E. Derwich, Z. Benziane and A. Boukir. Chemical Compositions and insecticidal activity of essential oils of three plants *Artemisia* sp: *artemisia herba alba*, *artemisia absinthium* and *artemisia pontica* (Morroco). *Electronic journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 8, 1202-1211, 2009.
55. H. Mighri, H. Hajlaoui, A.Akrouit, H. Najjaa, M. Neffati. Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *C. R. Chimie*, 13,380-386, 2010.
56. J. Garnero, les huiles essentielles. *Techniques de l'Ingénieur*, K345,2003.
57. F. Haddouchi, A. Benmansour, Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de Laboratoire*, 8, 20-27, 2008.

58. Association française de Normalisation, Huiles essentielles, Tome 2, Monographies relatives aux huiles essentielles. 6ème édition. AFNOR, Paris.2000.
59. J. Bruneton, Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème éditions, TEC & DOC. Lavoisier, Paris. 1999.
60. M. Wichtl, R. Anton, Plantes thérapeutiques, 2ème éditions, TEC & DOC. Lavoisier, Paris. 2003.
61. F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar, Biological effects of essential oils-A review. Food and Chemical toxicology, 46, 446-475, 2008.
62. F. Chemat, M. AbertVian, O. Dangles, Essential oils as antioxidant. International Journal of Essential Oil Therapeutics, 1, 4-15, 2007.
63. J. Raynaud. Prescription et conseil en Aromathérapie, éditions TEC & DOC. Lavoisier, Paris. 2006.
64. Normes AFNOR, Recueil des normes françaises, huiles essentielles. AFNOR, paris, 1992.
65. Pharmacopée européenne 1, conseil de l'Europe, Maisonneuve S.A.Editions, Sainte Ruffine, 1996.
66. L.R. Hernadez Ochoa, Substitution de solvants et de matière actives de synthèse par un combiné « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'INP de Toulouse. 2005.
67. M.E. Lucchesie , Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : Conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat de l'Université de la Réunion, 142p, 2005.
68. E. GUENTHER: The essential oils, Ed. Robert Krieger publishing Co. H. Huntington, New York. 1972.
69. J. Smadja. Essential Oils: Chemical Composition and Localization in Essential Oils and Aromas, Green Extractions and Applications. Farid Chemat editor. Har Krishan Bhalla&Son, India 2009.
70. M. C. Martini, M. Seiller, Actifs et additifs en cosmétologie, 2ème éditions, TEC & DOC. Lavoisier, Paris.1999.
71. M. Vinatoru, An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. Ultrasonics Sonochemistry,8,303-313, 2001.
72. F. Chemat, V.Tomao & M. Viroto, ultrasound-assisted extraction in food analysis. In handbook of food analysis instruments by semih otles (pp. 85-103). Boca Raton, Florida, USA: CRC press.

73. K. Suslick. Les effets chimiques des ultrasons. *Pour la science*, 138, 88-93, 1989.
74. J.L.Luque-Garcia, M.D. Luque de Castro, Ultrasound : a powerful tool for leaching. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol 22, No. 1, 2003.
75. S. Chemat, A. Lagha, H. AitAmar, P.V. Bartels, F. Chemat, Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 188-195, 2004.
76. J.L.Luque-Garcia, M.D. Luque de Castro, Ultrasound-assisted Soxhlet extraction : An expeditive approach for solid sample treatment-Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. *Journal of Chromatography A*, 1034, 237-242, 2004.
77. A.C. Kimbaris, N.G. Siatis, D.J. Daferera, P.A. Tarantilis, Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *ultrasonics sonochemistry*, 13, 54-60, 2006.
78. J.M. Roldàn-Gutiérrez, J. Ruiz-Jiménez, M.D. Luque de Castro, Ultrasound-assisted dynamic extraction of valuable compounds from aromatic plants and flowers as compared with steam distillation and superheated liquid extraction. *Talanta*, 75, 1369-1375, 2008.
79. G. Cravotto, L. Boffa, S. Mantegna, P. Perego, M. Avogadro, P. Cintas, Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15, 898-902, 2008.
80. F. Priego-Capote, M.D. Luque de Castro, Analytical uses of ultrasound I. Sample preparation. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol.23, No.9, 2004.
81. L. Wang and C.L. Weller, Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & technology*, 17, 300-312, 2006.
82. J.Y. Anizon, B. Lemaire, M. Surbled, Extraction assistée par micro-ondes. *Techniques de l'Ingénieur*, F3060, 2003.
83. F.Chemat, M. Abert Vian, M. Luchesi, Microwave Isolation of Essential oils. In *Essential Oils and Aromas Green Extractions and Applications*. Editor. Farid Chemat. Har Krishan Bhalla & Sons, India.2009.
84. A.C. METAXAS, R.J.MEREDITH. *Industrial Microwave Heating*. Peter Peregrinus Ltd., London, 1983.

85. G.ROUSSY, J.A. PEARCE. Foundations and Industrial Applications of Microwaves and Radio Frequency Fields. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 1995.
86. K. Ganzler, A .Salgo, J. Valko, Microwave extraction- a novle sample preparation method for chromatography. *Journal of Chromatography*,371, 299-306,1986.
87. J.R.J.Paré , M. Sigouin, J. Lapointe . Extraction de produits naturels assistée par micro-ondes. *Brevet européen*, EP 398798. 1990
88. J.R.J.Paré , M. Sigouin, J. Lapointe. Microwave assisted natural product extraction. *Brevet américain*, US 5 002 784. 1991.
- [89. J.R.,J. Paré, Microwave assisted process for extraction and apparatus therefore. *Brevet canadien*, CA 2055390, 1992.
90. J.R.,J. Paré. Microwave extraction of volatile oils. *Brevet américain*, US 5 338557.1994.
91. M.D. Luque de Castro, M.M. Jiménez-Carmona, V. Fernàdez-Pérez, Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol.18, 708-716, 1999.
92. L. Sanchez-Prado, C. Garcia-Jares, M. Liompart, Microwave-assisted extraction : Application to the determination of emerging pollutants in solid samples. *Journal of Chromatography A*, 1217, 2390-2414, 2010..
93. P. Mengal, B. Mompon, Procédé et installation d'extraction sans solvant de produits naturels par micro-ondes. FR 2 705 035, 1994.
94. E.E. Stashenko, B.E. Jaramillo, J.R. Martinez, Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopiya aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1025, 105-113, 2004.
95. E.E. Stashenko, B.E. Jaramillo, J.R. Martinez, Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*, 1025, 93-103, 2004.
96. M.T. Golmakani, K. Rezaei, Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*, 109, 925-930, 2008.

97. S. Rezvanpanah, K. Rezaei, S.H. Razavani, S. Moini, Use of microwave-assisted hydrodistillation to extract the Essential Oils from *Satureja hortensis* and *Satureja Montana*. *Food Sci.Technol.Res*, 14, 311-314, 2008.
98. W. Phutdhawong, R. Kawaree, S. Sanjaiya, W. Sengpracha and D. Buddhasukh, Microwave-Assisted Isolation of Essential oil of *Cinnamomum iners* Reinw. ex Bl.: Comparison with conventional Hydrodistillation. *Molecules*, 12, 868-877, 2007.
99. M.T. Golmakani, K. Rezaei, Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from *Zataria multiflora boiss*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 448-454, 2008.
100. F. Chemat, J. Smadja, M.E. Lucchesie, Solvent Free Micro-wave extraction of volatile natural compound. EP 1 439218 B₁, 2003.
101. F. Chemat, M.E. Lucchesie, J. Smadja, Solvent Free Microwave Extraction of volatile natural substances. US 0187340 A₁,2004
102. M.E. Lucchesie, F. Chemat, J. Smadja, Solvent-Free microwaves extraction of essential oil from aromatic herbs : comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*,1043, 323-327, 2004.
103. M.E. Lucchesie, F. Chemat, J. Smadja, Solvent-Free microwaves extraction of essential oil from spices. *Flavour and Fragrance Journal*, 19,134-138, 2004.
104. N. Tigrine-Kordjani, B.Y. Meklati, F. Chemat, Microwave 'dry' distillation as an useful tool for extraction of edible essential oils. *The International Journal of Aromatherapy*, 16, 141-147, 2006.
105. M.E. Lucchesie, J. Smadja, S. Bradshaw, W. Louw, F. Chemat, Solvent free microwave extraction of *Elleteria cardamom L.*: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering*, 79,1079-1086, 2007.
106. M.A. Ferhat, B.Y. Meklati, F. Chemat, Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. *Flavour and Fragrance journal*, 22, 494-504, 2007.
107. M. Bendahou, A. Muselli, M. Grignon-Dubois, M. Benyoucef, J.M. Desjobert, A.F. Bernardini, J. Costa, Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food chemistry*,106,132-139,2008.

108. B. Bayramoglu, S. Sahin, G. Sumnu, Solvent-free microwave extraction of essential oil from oregano. *Journal of Food Engineering*, 88, 535-540, 2008.
- [109. O.O. Okoh, A.P. Sadimenko, A.J. Afolayan, Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave methods. *Food Chemistry*, 120, 308-312, 2010.
110. F. Chemat, M. Vian, F. Visoni, Microwave hydrodiffusion for isolation of natural products. EP 1 955 749 A₁, 2008.
111. M. Abert Vian, X. Fernandez, F. Visoni, F. Chemat, Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *Journal of Chromatography A*, 1190, 14-17, 2008.
112. N. Bousbia, M. Abert Vian, M.A. Ferhat, B.Y. Meklati, F. Chemat, A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering*, 90, 409-413, 2009.
113. N. Bousbia, M. Abert Vian, M.A. Ferhat, E. Peticolas, B.Y. Meklati, F. Chemat, Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chemistry*, 14, 355-362, 2009.
114. N. Sahraoui, M. Abert Vian, I. Bornard, C. Boutekedjiret, F. Chemat, Improved microwave steam distillation apparatus for isolation of essential oils. Comparison with conventional steam distillation. *Journal of Chromatography A*, 1210, 229-233, 2008.
115. C. Buess-Herman, F. Dumont, *Principe d'analyse instrumentale*. Edition DeBoeck Université. 1^{ère} édition. 2003, 968p.
116. M. Herrero, A. Cifuentes, E. Ibanez, Sub-and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, Food-by-products, algae and microalgae - A review. *Food Chemistry*, 98, 136-148, 2006.
117. Q. Lang, C.M. Wai, Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies- A practical review. *Talanta*, 53, 771-782, 2001.
118. M. Valcaracel, M.T. Tena, Applications of supercritical Fluid extraction in food analysis. *Fresenius' Journal of analytical Chemistry*, 358, 561-573, 1997.
119. M.D. Luque De Castro, M.M. Jiménez-Carmona, Where is supercritical Fluid extraction going? *Trends in analytical chemistry*, 19, 223-228, 2000.

120. M. Hamburger, D. Baumann, S. Adler, Supercritical carbon dioxide extraction of selected medicinal plants- effects of high pressure and added ethanol on yield of extracted substances. *Phytochemical Analysis*, 15, 46-54, 2004.
121. E. Reverchon, I. De Marco, Supercritical Fluid extraction and fractionation of natural matter – A review. *The Journal of supercritical fluids*, 38, 146-166, 2006.
122. S.A. Aleksovski, H. Sovova, Supercritical CO₂ extraction of *Salvia officinalis* L. *The Journal of supercritical fluids*, 40, 239-245, 2007.
123. G. Wenqiang, L. Shufen, Y. Ruixiang, T. Shaokun, Q. Can, Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*, 101, 1558-1564, 2007.
124. M. Khajeh, Y. Yamini, F. Sefidkon, N. Bahramifar. Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*. 86, 587-591, 2004.
125. M. Khajeh, Y. Yamini, S. Shariati, Comparison of essential oils compositions of *Nepeta persica* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and steam distillation methods. *Food and Bioproducts Processing*, 88- 227-232, 2010.
126. A. Donelian, L.H.C. Carlson, T.J. Lopes, R.A.F. Machado, Review: Comparison of extraction of patchouli (*Pogostemon Cablin*) essential oil with supercritical CO₂ and by steam distillation. *The Journal of supercritical fluids*, 48, 15-20, 2009.
127. Y. Yamini, M. Khadjeh, E. Ghasemi, M. Mirza, K. Javidnia, Comparison of essential oil compositions of *Salvia mirzayanii* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, 108, 341-346, 2008.
128. H. Ebrahimzadeh, Y. Yamini, F. Sefidkon, M. Chaloosi, S.M. Pourmortazavi, Chemical composition of the essential oil and supercritical CO₂ extracts of *Zataria multiflora* boiss. *Food Chemistry*, 83, 357-361, 2003.
129. S.B. Glisic, D.R. Misic, M.D Stamenic, I, T. Zizovic, R.M. Asanin, D.U. Skala. Supercritical carbon dioxide extraction of carrot essential oil. Chemical composition and antimicrobial activity. *Food Chemistry* 105, 346- 352, 2007.
130. S. Glisic, J. Ivanovic, M. Ristic, D. Skala, Extraction of sage (*Salvia officinalis* L.) by supercritical CO₂ : Kinetic data, Chemical composition and selectivity of diterpenes. *The Journal of Supercritical Fluids*, 52, 62-70, 2010.

131. C.Grosso, V. Ferraro, A.C. Figueiredo, J.G. Brasso, J.A.Coelho, A.M. Palavra, Supercritical carbon dioxide extraction of volatile oil from Italian coriander seeds. *Food Chemistry*, 111, 197-203, 2008.
132. L.T. Danh, R. Mammucari, P. Truong, N. Foster, Response surface method applied to supercritical Carbon dioxide extraction of *Vetiveria Zizanioides* essential oil, *Chemical Engineering Journal*, 155, 617-626, 2009.
133. M. D. Luque De Castro , & C. M. M. Jiménez, Potential of water for continuous automated sample leaching. *Trends in Analytical Chemistry*, 17, 441-447, 1998.
134. D.J. Miller, S. B. Hawthorn, Solubility of liquid organic flavour and fragrance compounds in subcritical (hot/liquid) water from 298 to 473 K. *Journal of Chemical Engineering Data*, 45, 315-318, 2000.
135. A. Basile, M. M. Jiménez-Carmona, & A. A. Clifford, Extraction of rosemary by superheated water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 5205-5209, 1998.
136. M. M. Jiménez-Carmona, J. L. Ubera, M. D. Luque De Castro, Comparison of continuous subcritical water extraction and hydrodistillation of marjoram essential oil. *Journal of Chromatography A*, 855, 625-632, 1999.
137. L. Gàimiz-Gracia, M. D. Luque De Castro, Continuous subcritical water extraction of medicinal plant essential oil: comparison with conventional techniques. *Talanta*, 51, 1179-1185, 2000.
138. V. Fernàndez-Pérez, M. M. Jiménez-Carmona, M. D. Luque De Castro, An approach to the static-dynamic subcritical water extraction of laurel essential oil: Comparison with conventional techniques. *The Analyst*, 125, 481- 485, 2000.
139. R.S. Ayala, M. D. Luque de Castro, Continuous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible essential oils. *Food Chemistry*, 75, 109-113, 2001.
140. E. Sultan Giray, S. Kirici, D. Alpaslan Kaya, M. Turk, O. Sonmez, M. Inan, Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta*, 74, 930-935, 2008.
141. K. Allaf, N. Louka, M. Forget, Brevet Français N° 9309726, 1993.

142. B. Ben amor, Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs; texturation par détente instantanée contrôlée DIC.
143. S.A. Rezzoug, M.W. Baghdadi, N. Louka, C. Boutekedjiret, K. Allaf, Study of a new extraction process : Controlled instantaneous decompression. Application to the extraction of essential oil from rosemary leaves. Flavour and fragrance journal, 13, 251-258, 1998.
144. S.A. Rezzoug, C. Boutekedjiret, K. Allaf, Optimization of operating conditions of rosemary essential oil extraction by a fast controlled pressure drop process using response surface methodology. Journal of Food Engineering, 71, 9-17, 2005.
145. P.Brat, Application du procédé de flash-détente sous vide aux fruits tropicaux et méditerranéens pour la preparation de purées et huiles essentielles. Thèse de Doctorat de l'Université de la Réunion, 137p, 2001.
146. [http://www.inra.fr/press/enrichir le vin en aromes et pigment la flash déte nte. Juin 2004.](http://www.inra.fr/press/enrichir_le_vin_en_aromes_et_pigment_la_flash_dete_nte)
147. P. Brat, Application d'un nouveau procédé d'extraction (jus, pulpe, huile essentielle): la flash-détente. Fruittrop,85, 11-13. Journée professionnelle Technofruits 2001, Montpellier, France. < <http://technofruits2001.cirad.fr> >
148. P.Brat, D. Ollé, A. L. Gancel, M. Reynes and J. M. Brillouet, Essential oils obtained by flash vacuum-expansion of peels from lemon, sweet orange, mandarin and grapefruit. Fruits, 56, 395-402, 2001.
149. <http://www.pera.fr/flash-detente.html> - septembre 2006.
150. C.BOUTEKEDJIRET. Etude des procédés d'extraction appliqués à la récupération des essences de Romarin. Transfert de matière et modélisation. Thèse de doctorat d'état de l'école national polytechnique. Alger. 1999.
151. L.E.Garcia-Ayuso, M.D. Luque de Castro. A multivariate study of performance of microwave-assisted Soxhlet extractor for olive seeds. Analytica Chimica Acta 382, 309-316, 1999.
152. S. ZEBOU DJ N. BELHANE CHE-BENSEMRA, R BELABBES, Use of surface response methodology for the optimization of the concentration of the sweet orange essential oil of Algeria by wiped film evaporator. Journal of food Engineering 67, 507-512.2005.

153. X.Zhang, R.Wang, X.Yang, J.Yu, Central composite experimental design applied to the catalytic aromatization of isophorone to 3,5-xyleneol, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 89, 45-50, 2007.
154. H. Xujie, C. Wei, Optimization of extraction process of crude polysaccharides from wild edible BaChu mushroom by response surface methodology. *Carbohydrate Polymers* 72, 67-74. 2008.
155. S-A. Rezzoug, N. Louka, Thermomechanical process intensification for oil extraction from orange peel, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 530-536, 2009.
156. M.K.Khan, M. Abert-Vian, A.S. Fabiano-Tixier, O.Dangles, F. Chemat, Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel, *Food Chemistry*, 119, 851-858, 2010.
157. A. Farhat, A-S. Fabiano-Tixier., M. El Maataoui, J-F. Maingonnat. M. Romdhane, F. Chemat, Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel : Kinetic data, extract's global yield and mechanism. *Food Chemistry*, 125, 255-261, 2011.
158. M. Khadjeh, Optimisation of process variables for essential oil components from *Satureja hortensis* by supercritical fluid extraction using Box-Behnken experimental design. *The journal of Supercritical Fluids* 55, 944-948, 2011.
159. P. SCHIMMERLING, J-C. SISSON, A. ZAIDI. *Pratique des plans d'expériences*. Tec & doc. Lavoisier. Paris, 1998 .
160. J. Goupy, L. Creighton, *Introduction aux plans d'expériences*, 3^{ème} édition. Dunod. Paris, 2006.
161. J. GOUPY. *Modélisation par les plans d'expériences*. Techniques de l'ingénieur. *Traité Mesure et contrôle*, R 275, 1997.
162. G.E.P.Box & K.B. Wilson. On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* 13, pp. 1-45. 1951.
163. G.E.P.Box & J.S. Hunter. Multifactor experimental design for exploring responses surfaces . *Annals of mathematical Statistics*, 28, 195-241, 1957.
164. J.Yoon. Application of experimental design and optimization to PFC model calibration in uniaxial compression simulation. *International Journal Of Rock Mechanics & Mining Sciences*, 44, 871-889, 2007.

165. Adams R. P. (1995), Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography /Mass Spectroscopy, Allured Publ., Carol Stream, IL.
166. L. Regnier, M. Beguere. Methodologie Taguchi. Le renouveau des plan d'expériences Partiel. 1989.
167. A. Farhat. La vapo-diffusion assistée par micro-ondes : Conception, optimisation et application. Thèse de doctorat en cotutelle de l'école national d'Ingénieur de Gabes. Tunisie. & l'Université d'Avignon et des pays de Vaucluse. France .2010.
168. M. Hurabielle, M. Malsot, M., Paris. Rivista Italiana EPPOS, 6, 296-299, 1981.
169. S. Charchari. Contribution à la connaissance de l'huile essentielle de deux espèces d'Artemisia : A.herba-alba Asso. Et A.judaica L. Aspects technologiques de l'extraction de cette huile et de leur concrète. Thèse de doctorat d'état de l'ENP-Alger-1994.
170. E. Gueorguiev. Produits aromatiques naturels et synthétiques. Edition de l'institut de technologie alimentaire. Plovdiv.Bulgarie.1980.
171. A.Balinova-Zvetkova, G. Diakov. Plant Science, n°2, 79-85. Sofia.Bulgarie.1974.
172. PhysChem–Boiling Point Calculator 7.0. Advanced Chemistry Development, Toronto, 2004.
173. PhysChem– Solubility Calculator 7.0. Advanced Chemistry Development, Toronto, 2004.
174. A. Koedam, N.Margaris, D. Vokou, Aromatic plants: Basic and Applied Aspects. Martinus Nijhoff publishers, The Hague, 1982.
175. F.Chemat. Eco-extraction des produits naturels dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaire. Congrès International sur la santé et l'Agro-alimentaire. Alger. Décembre 2009.
176. Y.R. Naves. Qu'est-ce qu'une huile essentielle? Parfums Cosmétiques Savons, 9(5), 200-209, 1964.
177. Y.R.Naves. Technologies et chimie des parfums naturels. Paris, édition Masson, 1974.