

N° d'ordre :03/2014-D-CH

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene  
Faculté de Chimie



## THESE

Présentée pour l'obtention du grade de DOCTEUR EN SCIENCES

DISCIPLINE : CHIMIE

SPECIALITE : CHIMIE ORGANIQUE APPLIQUEE

Par : ASSAMI Karim

Thème

**Extraction assistée par ultrasons des huiles essentielles et arômes  
du *Carum carvi* L. d'Algérie**

*Soutenue publiquement le : 11/03/2014, devant le jury composé de:*

Mr A. TOUABET, Professeur à l'USTHB.	Président
Mr B.Y. MEKLATI, Professeur à l'USTHB.	Directeur de thèse
Mr F. CHEMAT, Professeur à l'UAPV, Avignon, (France).	Co-Directeur de thèse
Mlle C. BOUTEKEDJIRET, Professeur à l'ENP.	Examineur
Mr M. HAZZIT, Maitre de Conférences/A, à l'ENSA.	Examineur :
Mme Z. HACHAICHI, Maitre de Conférences/A, à l'USTHB.	Examineur
Mr S. CHEMAT Directeur de Recherche au C.R.A.P.C.	Invité

## **Remerciements**

*Ce travail a été réalisé essentiellement au Laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle de la Faculté de Chimie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (U.S.T.H.B) et pour une partie au Laboratoire du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (C.R.A.P.C.) de Bousmail.*

*Je tiens à rendre un hommage particulier et respectueux à Monsieur MEKLATI Brahim-Youcef, Professeur à l'U.S.T.H.B et premier Directeur du C.R.A.P.C, auquel je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour m'avoir permis de poursuivre ma formation, de m'inscrire en Doctorat et accepté de diriger ce travail avec beaucoup de patience, pour sa compréhension ainsi que pour ses conseils et encouragements.*

*Je ne saurais assez exprimer mes remerciements à Monsieur CHEMAT Farid, Professeur à l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France), pour son encadrement. Je tiens à lui exprimer ma sincère gratitude d'une part pour la compétence, la patience et le soutien moral permanent qu'il m'a apporté tout au long de ce travail de thèse et d'autre part pour m'avoir accueilli dans son Laboratoire durant un mois. Je suis reconnaissant à tous les membres de ce Laboratoire pour leur gentillesse, leur écoute, leurs conseils et leur disponibilité durant mon séjour.*

*Je tiens particulièrement à remercier Monsieur le Professeur BAALIOUAMER Aoumeur, Directeur du Laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle de la Faculté de Chimie de l'U.S.T.H.B, ainsi que toute son équipe, de m'avoir accueilli dans son Laboratoire.*

*J'exprime mes sincères remerciements à Monsieur TOUABET Abdelkrim, Professeur à l'U.S.T.H.B, pour l'honneur qu'il m'a fait d'avoir accepté de présider ce Jury.*

*Ma gratitude va également à Mademoiselle BOUTEKEDJIRET Chahrazed, Professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique (ENP-ALGER), qui m'a fait l'honneur d'examiner ce document et de juger ce travail.*

*Je tiens à remercier Monsieur HAZZIT Mohamed, Maître de Conférences (A) à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA-Alger), pour avoir accepté de faire partie de ce Jury de thèse.*

*Je prie Madame HECHAICHI Zohra, Maître de Conférences (A) à l'U.S.T.H.B de trouver ici l'expression de mes vifs remerciements pour avoir accepté de participer à ce jury.*

*Je remercie vivement Mr CHEMAT Smain, Directeur de Recherche au C.R.A.P.C, pour sa participation active dans l'initiation quant à l'utilisation des ultrasons, ainsi que pour ses encouragements et sa disponibilité.*

*J'exprime mes remerciements à tous mes collègues du C.R.A.P.C et du Laboratoire L.A.O.F, pour l'aide et l'atmosphère amicale qu'ils ont su créer et pour la confiance et le soutien qu'ils m'ont toujours manifesté tout au long de mes expérimentations.*

*Finalement, je ne saurais jamais exprimer assez mes sincères remerciements et ma reconnaissance à tous les membres de ma famille qui m'ont aidé, soutenu et encouragé tout au long de ce marathon.*

## Liste des abréviations utilisées

HD	Hydrodistillation
EFS	Extraction par Fluide Supercritique
(S)	Etat solide
(L)	Etat liquide
(G)	Etat gazeux
PT	Point triple
Pc	Point critique
CO <sub>2</sub>	Dioxyde de carbone
HDAM	Hydrodistillation Assistée par Micro-ondes
ESSAM	Extraction sans solvant assistée par micro-ondes
DIC	Extraction par Détente Instantanée Contrôlée
FAO	Food and Agriculture Organization
ha	Hectare
Kg/cm	Kilogramme par centimètre
TG	Triglycérides
AG	Acides gras
AGS	Acides gras saturés
AGMI	Acides gras mono-insaturés
AGPI	Acides gras polyinsaturés
C14 : 0	Acide myristique
C16 : 0	Acide palmitique
C16 : 1	Acide palmitoléique
C17 : 0	Acide heptadecanoïque
C18 : 0	Acide stéarique
C18 : 1	Acide oléique
C18 : 2	Acide linoléique
C18 : 3	Acide linoléinique
C20 : 0	Acide arachidique
C20 : 1	Acide gadoléique
C22 : 0	Acide béhénique
C24 : 0	Acide lignocérique
OMS	Organisation mondiale de la santé
HTA	Hypertension artérielle

PA	Pression artérielle
DID	Diabète insulino-dépendant
DNID	Diabète non insulino-dépendant
g/mol	Gramme par mole
CAS	Chemical Abstracts Service
HDAUS	Hydrodistillation assistée aux ultrasons
W	Watt
L	Litre
CG-DIF	Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme
CG-SM	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
TIC	Total ion current
min	Minute
HS-SPME	Headspace solid phase micro extraction
PDMS	Polydiméthylsiloxane
µm	Micromètre
eV	Electron volt
°C	Degré Celsius

<b>Introduction générale</b>	1
<b>Partie I : Synthèse bibliographique</b>	4
<b>Chapitre I : Généralités sur les ultrasons et leurs principales applications</b>	5
I. Les ultrasons	6
I.1. Introduction	6
I.2. Histoire des ultrasons	6
I.3. Principe des ultrasons	8
I.4. Paramètres régissant la cavitation	9
I.4.1. Fréquence ultrasonore	9
I.4.2. Puissance acoustique	9
I.4.3. Nature du solvant	10
I.4.4. Influence de la température	10
I.4.5. Pression du milieu	10
I.4.6. Présence de gaz dissous	10
I.5. Equipements de laboratoire	11
I.5.1. Les bacs	11
I.5.2. Les sondes	12
I.6. Applications des ultrasons	13
I.6.1. Les ultrasons en technologie de transformation	13
I.6.2. Les ultrasons en technologie de préservation	14
I.6.3. Les ultrasons en technologie d'extraction	14
I.6.3.1. Extraction des huiles essentielles	15
I.6.3.2. Extraction des antioxydants	15
Références	16
<b>Chapitre II : Généralités sur le Carvi et l'extraction des huiles essentielles</b>	18
II. Le Carvi	19
II.1. Introduction	19
II.2. Description botanique	19
II.3. Composition chimique et structure morphologique de la graine de Carvi	21
II.4. Huile essentielle de Carvi	21
II.4.1. Biosynthèse de la Carvone et du Limonène dans la graine de carvi	22
II.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	23
II.5.1. Méthodes classiques	23
II.5.1.1. Distillation par entraînement à la vapeur	23

## Sommaire

---

II.5.1.2.	Hydrodistillation	24
II.5.2.	Méthodes innovantes	26
II.5.2.1.	Extraction par Fluide Supercritique (EFS)	26
II.5.2.2.	Hydrodistillation Assistée par Micro-ondes (HDAM)	27
II.5.2.3.	Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes (ESSAM)	28
II.5.2.4.	Extraction par Détente Instantanée Contrôlée (DIC)	29
II.5.2.5.	Extraction par ultrasons	29
	Références	30
	<b>Chapitre III : L'huile d'olive</b>	32
III.1.	Introduction	33
III.2.	Aspect botanique	34
III.3.	L'olivier	34
II.3.1.	Arbre	34
III.3.2.	Feuilles de l'olivier	35
III.3.3.	Fleurs de l'olivier	36
III.3.4.	Fruit	36
III.4.	Huile d'olive	37
III.5.	Fabrication de l'huile d'olive	37
III.5.1.	Procédé discontinu ou système à presse	38
III.5.2.	Procédé continu ou système à centrifugation	39
III.6.	Composition chimique de l'huile d'olive	39
III.6.1.	La fraction saponifiable	40
III.6.1.1.	Les triglycérides	40
III.6.1.2.	Les acides gras	40
III.6.2.	La fraction insaponifiable (composés mineurs)	42
III.6.2.1.	Les hydrocarbures	42
III.6.2.2.	Les stérols	42
III.6.2.3.	Les alcools triterpéniques	43
III.6.2.4.	Les phospholipides	43
III.6.2.5.	Les tocophérols	43
III.6.2.6.	Les composés phénoliques	43
III.7.	Intérêt de la consommation de l'huile d'olive sur la santé humaine	44
	Références	46

<b>Partie II : Matériels et méthodes</b>		49
<b>Chapitre IV: Techniques expérimentales</b>		50
IV.1.	Produits chimiques et matière première	51
IV.2.	Extraction de l'huile essentielle de Carvi	51
IV.2.1.	Hydrodistillation	52
IV.2.2.	Extraction assistée aux ultrasons	52
IV.2.3.	Extraction de l'huile essentielle après épuisement des phases liquide et solide	53
IV.3.	Aromatisation de l'huile d'olive par le Carvi	53
IV.3.1.	Aromatisation conventionnelle	53
IV.3.2.	Aromatisation assistée par ultrasons	54
IV.	Techniques analytiques	54
IV.1.	Analyse par chromatographie en phase gazeuse	54
IV.2.	Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	55
	Analyse par HS-SPME-CG/SM	55
IV.3.	Analyse des acides gras	57
IV.4.	Evaluation des indices d'acide et de peroxyde des extraits d'huile d'olive	58
IV.5.	Acidité libre	58
IV.5.1.	Indice de peroxyde	58
IV.5.2.	Détermination de la qualité de l'huile d'olive en fonction de son degré d'oxydation	58
IV.6.	Evaluation par Rancimat de la stabilité à l'oxydation des huiles d'olive	59
IV.7.	Microscopie Electronique à Balayage	59
IV.8.	Analyses statistiques	60
IV.9.	Références	61
<b>Partie III : Résultats et discussion</b>		62
<b>Chapitre V: Extraction assistée aux ultrasons de l'huile essentielle de graines de Carvi</b>		63
V.1.	Introduction	64
V.2.	Conduite de l'hydrodistillation (HD)	64
V.3.	Conduite de l'extraction assistée aux ultrasons (HDAUS)	64
V.4.	Exploitation des résultats	64
V.4.1.	Analyse par CG/DIF et par CG/SM	65
V.4.2.	Cinétique d'extraction	68
V.4.3.	Evaluation quantitative de la Carvone et du Limonène	69
V.5.	Modélisation des données cinétiques	72
V.6.	Compréhension des phénomènes mis en jeu lors de la HDAUS	76

## Sommaire

---

V.6.1.	Effet sur la morphologie des graines	76
V.6.2.	Effet de la température	77
V.6.3.	Effet de la solubilité	78
V.7.	Mécanisme proposé	78
	Conclusion	79
	Références	80
	<b>Chapitre VI : Extraction de l'huile essentielle après épuisement des phases liquide et solide</b>	82
VI.1.	Introduction	83
VI.2.	Evaluation du rendement d'extraction	83
VI.3.	Analyse qualitative	83
VI.4.	Cinétique d'extraction	87
V.5.	Evaluation quantitative des composés majoritaires	89
V.6.	Analyse en composantes principales (ACP)	90
V.7.	Compréhension des phénomènes	97
	Conclusion	98
	Références	99
	<b>Chapitre VII : Aromatisation d'une huile d'olive assistée par ultrasons</b>	100
VII.1.	Introduction	101
VII.2.	Aromatisation de l'huile d'olive	101
VII.3.	Extraction et analyse de l'huile essentielle de Carvi	101
VII.4.	Analyse par HS-SPME-CG/SM	104
VII.5.	Cinétiques d'aromatisation de l'huile d'olive	105
VII.6.	Analyse des paramètres de qualité	106
VII.6.1.	Indice d'acide	107
VI.6.2.	Indice de peroxyde	109
VII.6.3.	Absorbance en spectrophotométrie ultraviolette	111
VII.6.4.	Test d'oxydation accélérée ou test au Rancimat	112
VII.6.5.	Analyse de la composition en acides gras	114
VII.7.	Analyse statistique	117
	Conclusion	118
	Références	118
	<b>Conclusion générale</b>	121
	<b>Perspectives</b>	124

## Liste des Figures

Figure I.1	Spectre électromagnétique des ultrasons.	6
Figure I.2	Propagation d'une onde acoustique dans un milieu liquide.	8
Figure I.3	Bac à ultrasons.	11
Figure I.4	Réacteur Cup-Horn.	12
Figure I.5	Sonde à ultrasons.	13
Figure II.1	Photo du Carvi.	20
Figure II.2	Plante de Carvi ( <i>Carum carvi</i> L.).	20
Figure II.3	(a) Localisation des structures sécrétrices dans la graine de Carvi (b) Coupe transversale d'une graine jeune (1 : cellules à endospermes, 2 : funicules, 3 : poche d'huile alléculaire, 4 : poche d'huile carinale).	21
Figure II.4	Synthèse biologique de la carvone dans la graine de carvi ( <i>Carum carvi</i> L.)	22
Figure II.5	Schéma de l'extraction par entraînement à la vapeur.	23
Figure II.6	Schéma de l'extraction par hydrodistillation (HD).	24
Figure II.7	Diagramme des phases pour un corps pur.	26
Figure II.8	Schéma de l'extraction par hydrodistillation assistée par micro-ondes (HDAM).	27
Figure II.9	Schéma de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM).	28
Figure III.1	Répartition par pays de la production mondiale de l'huile d'olive.	33
Figure III.2	Photo d'un olivier Algérien (Bejaia).	35
Figure III.3	Photo de feuilles d'olivier.	35
Figure III.4	Photo de fleurs d'olivier.	36
Figure III.5	Photo d'olives.	36
Figure III.6	La drupe d'olive.	37
Figure III.7	Photo d'un ancien extracteur traditionnel d'huile d'olive.	38
Figure III.8	Schéma d'un procédé continu d'extraction d'huile d'olive.	39
Figure IV.1	Schéma du montage d'hydrodistillation (Clevenger modifié).	52

Figure IV.2	Photo du montage ultrason employé dans cette étude.	53
Figure V.1	Histogramme de la composition de l'huile essentielle de Carvi selon le mode d'extraction	66
Figure V.2	Cinétiques d'extraction des huiles essentielles de Carvi obtenues par HDAUS (●) et HD (○).	68
Figure V.3	Courbe de calibration du Limonène.	69
Figure V.4	Courbe de calibration de la Carvone	70
Figure V.5	Evolution de la concentration de la Carvone au cours du temps lors de l'extraction (●) par HDAUS et (○) par HD.	70
Figure V.6	Evolution de la concentration du Limonène au cours du temps lors de l'extraction (●) par HDAUS et (○) par HD.	71
Figure V.7	Application du modèle du « site unique » à la cinétique d'extraction par HD de l'HE de Carvi.	74
Figure V.8	Application du modèle du « site unique » à la cinétique d'extraction par HDAUS de l'HE de Carvi.	74
Figure V.9	Application du modèle des « deux sites » à la cinétique d'extraction de l'HE de Carvi selon la méthode d'extraction HD.	75
Figure V.10	Application du modèle des « deux sites » à la cinétique d'extraction de l'HE de Carvi selon la méthode d'extraction HDAUS.	75
Figure V.11	Micrographies MEB montrant la morphologie d'une graine de Carvi (A) non traitée, (B) après extraction traitée par ultrasons	76
Figure V.12	Représentation d'une bulle de cavitation implosant à la surface d'une poche d'huile essentielle	79
Figure VI.1	Histogramme de la composition des l'huile essentielles des graines de Carvi traitées et non traitées issues des phases liquides et solides.	86
Figure VI.2	Rendement de l'huile essentielle de Carvi en fonction du temps pour la phase liquide (○) graines traitées par ultrasons, (●) graines non traitées par ultrasons.	87
Figure VI.3	Rendement de l'huile essentielle de Carvi en fonction du temps pour la phase solide (○) graines traitées par ultrasons, (●) graines non traitées par ultrasons.	88
Figure VI.4	Cercle des corrélations des variables des huiles essentielles.	92
Figure VI.5	Représentation graphique de la projection des individus des quatre HE suivant les axes F1 et F2 en considérant le traitement ou non par ultrasons.	95

Figure VII.1	Chromatogramme de l'huile essentielle de graines de Carvi <u>1</u> Limonène, <u>2</u> Carvone.	101
Figure VII.2	Schéma du dispositif SPME <b>(a)</b> absorption, <b>(b)</b> désorption.	103
Figure VII.3	Cinétique de l'aromatisation par macération assistée par ultrasons, (○) Limonène, (●) Carvone.	105
Figure VII.4	Cinétique de l'aromatisation par macération conventionnelle, (○) Limonène, (●) Carvone.	105
Figure VII.5	Cinétique de l'évolution de la quantité de Carvone dans l'huile d'olive, (●) Aromatisation assistée par ultrasons, (○) Aromatisation conventionnelle.	106
Figure VII.6	Cinétique de l'évolution de la quantité de Limonène dans l'huile d'olive, (●) Aromatisation assistée par ultrasons, (○) Aaromatisation conventionnelle.	106
Figure VII.7	Histogramme des indices d'acide des huiles étudiées par rapport à la norme CIO.	108
Figure VII.8	Histogramme des indices de peroxyde des huiles étudiées par rapport à la norme CIO	109
Figure VII.9	Détermination de la stabilité oxydative de l'HOAU par la méthode Rancimat	112
Figure VII.10	Détermination de la stabilité oxydative de l'HOAC par la méthode Rancimat	113
Figure VII.11	Détermination de la stabilité oxydative de l'HO par la méthode Rancimat	113
Figure V.9	Chromatogramme des acides gras de l'huile d'olive par CPG/SM	114

## Liste des Tableaux

Tableau III.1	Composition en acides gras de l'huile d'olive - limite fixée par le Codex Alimentarius (1993).	41
Tableau IV.1	Solvants et réactifs utilisés au cours des travaux.	51
Tableau IV.2	Conditions d'analyse par CG/DIF des huiles essentielles.	54
Tableau IV.3	Conditions d'analyse par CG/SM des huiles essentielles.	55
Tableau IV.4	Conditions d'analyse par HS-SPME-CG/SM.	56
Tableau IV.5	Conditions d'analyse par CG/SM des acides gras estérifiés.	57
Tableau V.1	Rendement en huile essentielle de graines de Carvi obtenu par les techniques d'extraction HD et HDAUS.	65
Tableau V.2	Composition chimique de l'huile essentielle de graines de Carvi traitées et non traitées par les ultrasons.	67
Tableau V.3	Concentration des deux composés majoritaires	71
Tableau V.4	Evolution du rapport de concentration Carvone/Limonène dans les huiles obtenues par HD et HDAUS.	71
Tableau V.5	Résultats de la modélisation de la cinétique d'extraction.	73
Tableau V.6	Composés majoritaires de l'huile essentielle de Carvi.	77
Tableau VI.1	Rendement en huile essentielle des phases liquide et solide des graines de Carvi traitées et non traitées aux ultrasons.	83
Tableau VI.2	Composition chimique de l'huile essentielle extraite dans les phases liquide et solide des graines de Carvi traitées et non traitées.	84
Tableau VI.3	Quantification du Limonène et de la Carvone dans les deux phases (liquide et solide) pour les graines traitées et non traitées par ultrasons.	89
Tableau VI.4	Matrice de corrélation (Pearson).	91
Tableau VI.5	Valeurs propres et pourcentage de variance pour chaque facteur.	92
Tableau VI.6	Corrélations entre les variables et les facteurs.	93
Tableau VI.7	Cosinus carrés des variables.	94
Tableau VII.1	Composition de l'huile essentielle de graines de Carvi utilisée dans l'aromatisation.	102

Tableau VII.2	Paramètres de calibration et de calcul des concentrations du Limonène et de la Carvone dans l'huile d'olive.	104
Tableau VII.3	Classification de l'huile d'olive selon l'indice d'acide (CIO 1996).	107
Tableau VII.4	Indice d'acide des huiles étudiées.	107
Tableau VII.5	Classification de l'huile d'olive selon l'indice de peroxyde (CIO 1996).	108
Tableau VII.6	Indice de peroxyde des huiles étudiées	109
Tableau VII.7	Classification de l'huile d'olive selon les coefficients d'extinctions spécifiques (CIO 1996).	110
Tableau VII.8	Coefficients d'extinctions spécifiques des huiles d'olive étudiées.	111
Tableau VII.9	Périodes d'induction des huiles d'olive étudiées.	112
Tableau VII.10	Composition en acides gras des huiles d'olive étudiées.	115
Tableau V.11	Résultats de l'analyse statistique	116

## **Introduction générale**

### **Introduction générale**

Les plantes sont depuis longtemps une source essentielle d'alimentation, de médicaments et de produits de bien être. De nos jours, une partie de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes.

De l'acide acétylsalicylique (aspirine) issue du Salix au Taxol issue de l'If, l'industrie pharmaceutique s'appuie largement encore sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouveaux principes actifs. Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des centaines de milliers d'espèces végétales connues ont été étudiées sur les plans phytochimique et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir plusieurs milliers de constituants différents.

La fin du vingtième siècle a été caractérisée par une prise de conscience mondiale de la dégradation accélérée de notre environnement et de la responsabilité de l'Homme dans cette évolution. Cette prise de conscience a ouvert la voie à la reconnaissance et à la nécessité d'un développement durable. Dans ce contexte, la recherche de nouveaux modes de production est au coeur des préoccupations des industriels, à savoir, continuer à répondre aux besoins humains en mettant en oeuvre des procédés moins polluants. C'est dans cette optique que les travaux de cette thèse ont été développés pour fournir une huile essentielle, répondant à la norme AFNOR NF T 75-006 (qui définit l'huile essentielle comme « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation ») mais en mettant moins de temps dans le souci de réduire la consommation électrique et ainsi les rejets dans l'environnement.

Les travaux de thèse décrits dans ce manuscrit ont été coordonnés par le Centre de Recherche en Analyses Physico-Chimiques (C.R.A.P.C) et le Laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle (L.A.O.F) de l'USTHB.

Ce mémoire comprend trois parties : **La première partie** se subdivise en trois chapitres, dont le premier est consacré aux ultrasons et à leurs principales applications, le second pour rappeler des généralités, sur l'extraction des huiles essentielles et le Carvi et le troisième donne un aperçu sur l'huile d'olive et ses intérêts.

La **deuxième partie** rassemble les matériels et méthodes utilisés. Nous y aborderons les conditions opératoires de l'extraction des huiles essentielles et de leurs analyses. Puis, nous

décrivons les procédés employés pour la détermination des paramètres physico-chimiques ainsi que le protocole d'estérification des acides gras de l'huile d'olive.

Enfin, dans la **troisième** et dernière **partie**, un chapitre sera consacré à la comparaison des résultats obtenus dans l'extraction de l'huile essentielle des graines de Carvi par l'hydrodistillation soit conventionnelle, soit assistée par les ultrasons. Dans le second chapitre, nous nous intéresserons à l'extraction de l'huile essentielle après épuisement des phases liquide et solide. Alors que, le dernier chapitre sera réservé à l'aromatisation de l'huile d'olive par le Carvi sous l'effet des ultrasons.

**Partie I**  
**Synthèse bibliographique**

## **Chapitre I**

### **Généralités sur les ultrasons et leurs principales applications**

## I. Les ultrasons

### I.1. Introduction

Les ultrasons sont des ondes mécaniques, capables de se déplacer dans un milieu élastique à une fréquence supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (16 kHz). La gamme de fréquences des ultrasons est comprise entre 16 kHz et 200 MHz (Figure I.1). Les ultrasons sont utilisés à faible puissance ( $< 1$  Watt) pour des contrôles non destructifs (Dumont-Fillon 1996) et à forte puissance pour l'extraction solide-liquide et la sono-chimie. Cette dernière est l'application des ultrasons (US) à une réaction chimique. Elle est en plein essor dans le secteur industriel, en particulier dans le domaine agroalimentaire (Luche 1998).

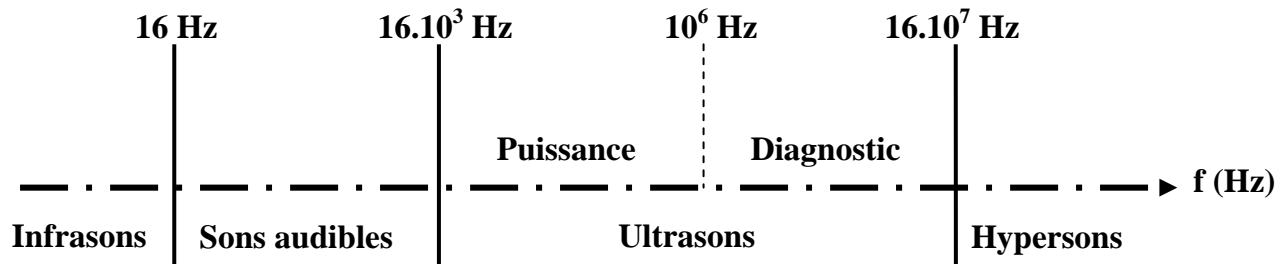


Figure I.1 : Spectre électromagnétique des ultrasons

### I.2. Histoire des ultrasons

La découverte des ultrasons est à créditer au biologiste italien L. Spallanzani, en 1794 lorsqu'il a observé la capacité des chauves souris à se déplacer dans l'obscurité totale avec précision, grâce à l'écho-réflexion des ondes sonores à très haute fréquence. En 1876, les premières ondes acoustiques à très haute fréquence au dessus de la limite de l'audition humaine, furent générées par le physiologiste anglais F. Galton lorsqu'il inventa le sifflet qui porte toujours son nom. En 1880, les français Pierre et Jaques Curie observèrent pour la première fois l'effet piézoélectrique où un potentiel électrique est produit suite à une pression mécanique sur un cristal de quartz (rochelle de sel). De là, l'écho-réflexion des ondes sonores connut une remarquable percée. Ainsi, le premier brevet d'invention sur le « Sonar » sous marin fut déposé en 1912 par le météorologiste L. Richardson au British Patent Office, un mois après le tragique naufrage du Titanic. Entre 1915 et 1918, l'invention du triplet de Langevin par le physicien français P. Langevin en collaboration avec le scientifique russe C. Chilowsky donnera un véritable essor

aux ultrasons. Ils ont baptisé leur invention « hydrophone » plus connu de nos jours sous le nom de « transducteur », mosaïque de lames de cristaux de quartz, collées entre deux plaques d'acier avec une fréquence de réponse de 150 KHz. Cette invention constitua un redoutable équipement de détection de sous-marin. Durant la Première Guerre Mondiale, en 1916 le premier sous marin noyé fut détecté par l'hydrophone dans l'Océan Atlantique.

En 1920, Langevin remarqua la capacité destructrice des ultrasons de haute intensité en observant des colonies de poissons morts et les douleurs induites en touchant un bac soumis aux ultrasons. De là, les scientifiques se tournèrent vers des applications en médecine. En même temps, les premières observations de l'effet de la propagation des ondes sonores sur des réactions chimiques furent faites par A. Loomis en 1927, qui put constater que la cavitation peut être produite par des ondes sonores dans un milieu liquide.

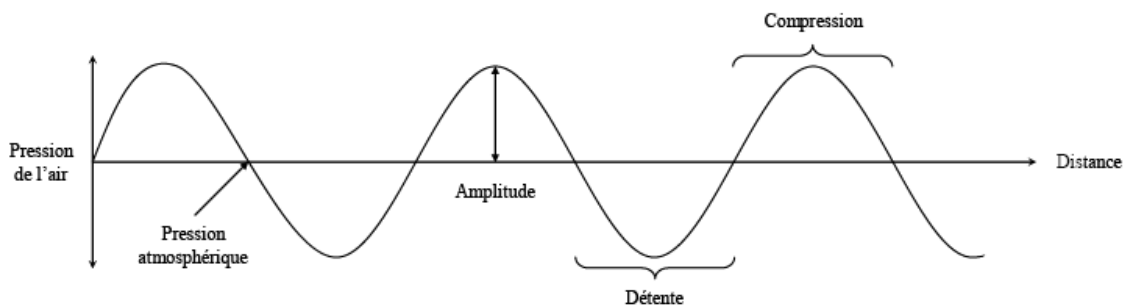
En 1950, avec la collaboration de son frère Francis, le Professeur américain W.J. Fry, physicien de l'université de l'Illinois a mené des études sur l'aspect des ultrasons en biologie et en médecine. C'est ainsi qu'ils arrivent avec le concours du Professeur américain en neurochirurgie, R. Meyers à faire une craniotomie en employant les ultrasons sur des patients atteints de la maladie de Parkinson. Mais le grand boom des ultrasons eut lieu en 1966 lorsque l'autrichien A. Kratochwil, professeur en gynécologie, étudia la localisation du placenta à l'aide des rayons X et trouva d'énormes difficultés à interpréter ses résultats. En assistant à une conférence donnée par un neurochirurgien sur le diagnostic de l'hémorragie cérébrale par échographie, il a rapidement réalisé que cette méthode pouvait s'appliquer à ses recherches. Il contacta alors P. Kretz, fondateur de la Société Kretztechni qui fabriquait des systèmes ultrasons destinés aux diagnostics en ophtalmologie et en neurochirurgie pour solliciter l'utilisation de ses équipements. Cette application couronnée d'une grande réussite est utilisée à nos jours en gynécologie.

(Résumé non exhaustif de l'histoire des ultrasons du Docteur Woo).

En chimie, l'utilisation des ondes sonores se développa à partir de 1980 avec l'apparition de premiers générateurs ultrasonores fiables (Haunold 1991). Cette dynamique d'utilisation des ultrasons pour des applications en chimie fut concrétisée en 1994 par l'apparition de la revue scientifique « Ultrasonics Sonochemistry » (abrégé *Ultrason. Sonochem.*), journal bimestriel présentant des articles originaux à l'interface de la chimie et des ultrasons.

### I.3. Principe des ultrasons

Les ultrasons sont des ondes acoustiques générées par un transducteur par effet piézoélectrique inverse. Ils mettent en jeu des phénomènes dits de cavitation, correspondant à la formation de bulles de gaz dans un liquide, lorsque la pression en un point de celui-ci devient inférieure à sa pression de vapeur saturante (Mason et Lorimer 1988). Les bulles de cavitation ainsi formées sont alors soumises à l'onde ultrasonore qui provoque leur oscillation, leur croissance, leur résonance et leur implosion. Cette phase engendre, à des endroits très localisés, des températures de l'ordre de 5000 K et des pressions d'environ 1000 atmosphères, ce qui constitue la théorie du point chaud (Suslick 2001). La propagation de ces ondes ultrasonores dans un milieu liquide n'est pas continue et entraîne une succession de compressions et de dépressions autour d'une valeur moyenne (Figure I.2). L'organisation du milieu réactionnel est perturbée par l'onde, qui va jusqu'à provoquer la rupture de cohésion du milieu (Suslick 1989).



**Figure I.2 :** Propagation d'une onde acoustique dans un milieu liquide

Il existe deux types de cavitations selon l'amplitude de la variation de pression :

- A faible amplitude, la bulle de cavitation répond de façon linéaire. Son diamètre varie simultanément à la pression. Il s'agit de la cavitation stable qui ne conduit pas aux phénomènes sonochimiques.
- A forte amplitude de variation de pression, la réponse de la bulle devient non linéaire. Elle va augmenter jusqu'à atteindre une valeur critique pour laquelle elle entre en résonance avec l'onde incidente. C'est le phénomène de cavitation transitoire qui conduit aux effets sonochimiques (Pétrier et coll. 1994).

Actuellement, dans l'eau, il est généralement admis que les fréquences basses (de 20 à 80 kHz) permettent d'obtenir des bulles de cavitation transitoire relativement peu nombreuses mais de dimensions élevées, ce qui privilégie les effets physiques par rapport aux effets chimiques. Pour

de hautes fréquences (de 150 à 2 000 kHz), les bulles de cavitation transitoire possèdent un diamètre plus faible favorisant la production de radicaux hydroxyles et en conséquence les réactions d'oxydation radicalaire des solvants organiques hydrophiles. Les ultrasons entraînent deux types de réactions : physiques (basées sur les effets mécaniques et thermiques des ultrasons) et chimiques (basées sur la formation de radicaux libres par fragmentation du solvant).

#### **I.4. Paramètres régissant la cavitation**

La propagation d'une onde ultrasonore dans le milieu se traduit par des oscillations de pression autour d'une valeur moyenne. Une bulle de cavitation peut se former dans le liquide à partir d'une pression minimale qu'on appelle « seuil de cavitation » ou « seuil de Blake » (Blake 1949). A cause de la multitude des facteurs (fréquence, puissance, solvant, température, pression du milieu et présence de gaz dissous) qui contribuent à l'action de la cavitation ultrasonore, cette dernière est très complexe. Une brève description de l'influence de ces paramètres est présentée.

##### **I.4.1. Fréquence ultrasonore**

La fréquence de sonication est un paramètre très important. L'amplitude de la dépression à fournir pour permettre d'atteindre le seuil de cavitation dépend de la fréquence. Plus la fréquence du son est élevée, plus la période de dépression est courte. Elle peut être trop courte pour former une cavité. Des travaux réalisés par Boucher en 1970 ont montré que l'intensité du seuil de cavitation croît avec la fréquence. Cela signifie qu'il est plus facile d'engendrer la cavitation à basse fréquence. A cette dernière, le rayon critique est grand (de l'ordre de 160  $\mu\text{m}$  à 20 kHz) et le temps de vie (10  $\mu\text{s}$ ) des bulles est relativement élevé (Leighton 1994). De plus hautes fréquences rendent plus difficile la cavitation. Les fréquences le plus couramment utilisées se situent entre 20 et 40 kHz.

##### **I.4.2. Puissance acoustique**

L'activité sonochimique est très dépendante de la puissance ultrasonore ou puissance acoustique ( $\text{W m}^{-2}$ ). Néanmoins, au dessous d'une certaine puissance (seuil de Blake), l'amplitude du champ ultrasonore est trop faible pour permettre la formation des bulles de cavitation. Au dessus de ce seuil, les vitesses de réactions augmentent avec l'augmentation de la puissance acoustique, du fait de l'augmentation de nombre de bulles formées. Mais, il apparaît que cette vitesse atteint une

limite, lorsque la puissance acoustique est trop élevée. Une concentration élevée de bulles engendre des phénomènes de dispersion de l'énergie par coalescence. Pour obtenir un bon rendement énergétique et chimique, il est conseillé d'appliquer à la solution une puissance comprise entre le seuil de Blake et celle induisant des vitesses maximales (Kapustina 1973).

#### **I.4.3. Nature du solvant**

La nature du solvant est un paramètre très important pour la cavitation ultrasonore, car ses propriétés physiques telles que la viscosité et la tension superficielle, influent sur l'efficacité de la cavitation ultrasonore. En effet, une faible viscosité et une faible tension superficielle du solvant permettent d'abaisser le seuil de cavitation (seuil de Blake), vu que les forces de cohésion sont moindres.

#### **I.4.4. Influence de la température**

Plusieurs recherches, ont prouvé que la température a des effets importants sur la cavitation ultrasonore (Cheung et coll. 1994, Goel et coll. 2004). Une augmentation de température du milieu engendre une modification de la viscosité du milieu et une hausse de pression de vapeur saturante, ce qui facilite la cavitation, mais l'implosion des bulles sera moins violente (Mason 1999). C'est pour cette raison que la majorité des réactions sonochimiques sont réalisées à de faibles températures.

#### **I.4.5. Pression du milieu**

Les bulles de cavitation sont produites lorsque la pression appliquée au milieu descend en dessous de la tension de vapeur du liquide. La pression appliquée au milieu, quand celui-ci est soumis aux ultrasons, peut être calculée comme étant la somme des pressions hydrostatique et acoustique. Par conséquent la cavitation sera possible dans le liquide si la tension de vapeur du liquide est supérieure à la somme de ces pressions. Cela signifie que plus la pression appliquée au milieu sera élevée, plus il sera difficile de provoquer de la cavitation (Apfel et Holland 1991).

#### **I.4.6. Présence de gaz dissous**

Les bulles de cavitation peuvent être constituées de vapeur du liquide dans lequel elles sont générées. La cavitation prend naissance à partir de noyaux qui sont constitués par les occlusions

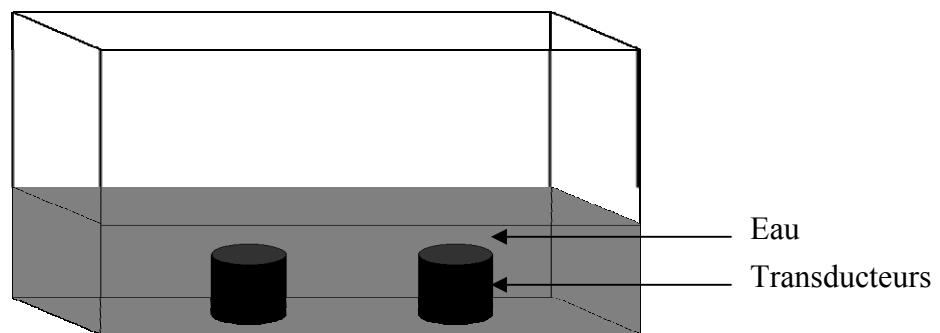
gazeuses au sein du liquide. La présence de gaz dissous favorisera donc le phénomène de cavitation (Niemczewski 2007).

### I.5. Equipements de laboratoire

Les principaux types de sono-réacteurs rencontrés à l'échelle de laboratoire fonctionnent en général avec des convertisseurs piézo-électriques. On distingue deux formes différentes : les bacs et les sondes.

#### I.5.1. Les bacs

C'est certainement le type d'appareils les plus répandus, car ils sont peu chers et sont très utilisés dans le nettoyage de solides, domaines prioritaire dans l'application industrielle des ultrasons. Il en existe de toutes tailles (contenance de moins d'un litre à plusieurs m<sup>3</sup>) avec une large gamme de puissance. Ces bacs sont généralement composés d'une cuve parallélépipédique et ils sont compacts. Le générateur se situe au-dessous du bac. Des convertisseurs sont posés à plusieurs endroits de la cuve sur le fond et/ou les côtés, suivant la répartition du champ acoustique que l'on veut obtenir.



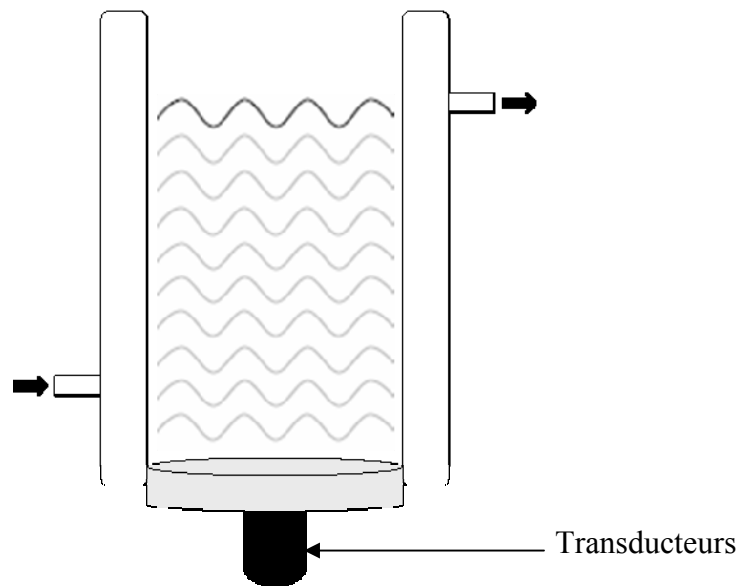
**Figure I.3 :** Bac à ultrasons

Il existe des cuves ayant d'autres formes que celle présentée sur la Figure I.3 tel que des bacs hexagonaux avec des transducteurs placés sur ses six faces latérales. Ces sonoréacteurs peuvent être utilisés de plusieurs façons : soit on se sert directement de toute la cuve comme sonoréacteur (cas du nettoyage d'un solide), soit on remplit la cuve d'un liquide de couplage et on plonge un récipient contenant la solution à soniquer. La hauteur de liquide dans le récipient et la hauteur de liquide de couplage conditionnent la répartition et la transmission de l'onde et donc de la

puissance reçue par le milieu irradié. Bien que très faciles d'utilisation et très répandus, ces sonoréacteurs ne sont pas conseillés pour une étude rigoureuse (Vilarem et coll. 1997).

Leurs principaux inconvénients sont de ne fonctionner qu'à une fréquence fixe avec le temps de sonication comme seul paramètre que l'on peut régler. D'autre part la puissance acoustique de ce genre d'appareils est faible et sa répartition est très hétérogène.

Une variante de ces bacs est le réacteur Cup-Horn où le convertisseur et sa sonotrode sont placés au fond d'un réacteur cylindrique, ouvert, à double enveloppe (Figure I.4).



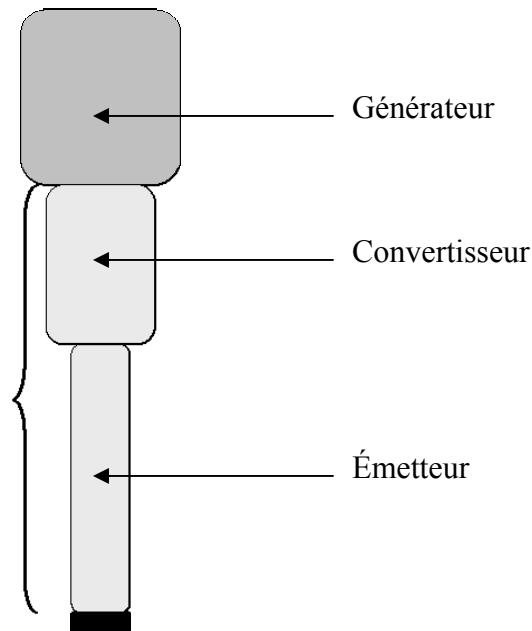
**Figure I.4 :** Réacteur Cup-Horn.

La double enveloppe permet un contrôle de la température grâce à la circulation d'un fluide caloporteur et la répartition du champ acoustique est bien connue. L'espace au-dessus du réacteur est laissé libre pour placer un agitateur mécanique, un capteur de température ou une sonde (pH, oxymètre...). Ce type de réacteur demande une bonne étanchéité à la base entre la sonotrode et le corps du réacteur (Vilarem et coll. 1997).

### **I.5.2. Les sondes**

La vibration mécanique émise par le convertisseur se propage le long de la sonotrode jusqu'à un embout interchangeable (à cause de l'érosion due à la cavitation). On peut aussi changer la sonotrode afin de faire varier la surface émettrice et avoir des puissances surfaciques variables ( $W/cm^2$ ) et des formes de front d'onde différentes. A puissance constante, le volume de zone

active croît avec la surface d'émission. La fréquence de résonance de la sonde dépend de sa géométrie et est réglée en faisant l'accord au générateur : donc, changer la sonotrode revient à changer la fréquence de résonance. Le corps des sonotrodes est en alliage de titane afin d'éviter leur corrosion et leur érosion.



**Figure I.5 :** Sonde à ultrasons

La sonotrode (Figure I.5.) peut être plongée directement dans le récipient à irradier comme un bécher ou un réacteur à double enveloppe. Les sondes peuvent être munies d'une bride qui permet une utilisation dans un grand nombre de configurations. On peut les fixer sur une cellule à l'intérieur de laquelle on fait circuler le fluide à soniquer, donc sur des procédés en continu, ou sur un réacteur autoclave (Vilarem et coll. 1997).

## **I.6. Applications des ultrasons**

La diversité des équipements ultrasons et leurs actions offre un large éventail d'applications dans le domaine de l'agroalimentaire tel que la transformation, l'extraction et la préservation des produits alimentaires (Mason et coll. 2003).

### **I.6.1. Les ultrasons en technologie de transformation**

D'importantes forces de pression et de cisaillement sont générées par les ultrasons de puissance

provoquant de forts gradients de température dans le milieu traité. Ceci améliore le rendement réactionnel, les qualités organoleptiques ainsi que les propriétés visuelles du produit agroalimentaire final destiné à la consommation humaine. Ainsi on dénombre plusieurs exemples de transformation des aliments assistés par ultrasons.

Un exemple d'application est l'émulsification de la mayonnaise sous ultrasons. Elle est utilisée dans l'agroalimentaire pour produire des émulsions très stables car le phénomène de cavitation réduit le diamètre des gouttes

### **I.6.2. Les ultrasons en technologie de préservation**

Il existe plusieurs exemples de microorganismes inactivés par ultrasons et étudiés dans des milieux de cultures de laboratoire, au sein de modèles alimentaires. Les cellules bactériennes ont chacune des sensibilités différentes aux traitements ultrasoniques. De manière générale, les plus grandes cellules sont plus sensibles aux ultrasons. Cela est peut être dû au fait que les grandes cellules ont une plus grande surface les rendant plus vulnérables aux fortes pressions produites pendant la cavitation acoustique. Les cellules Gram positifs paraissent être plus résistantes que les Gram négatifs ; cela est peut être dû à la structure de la paroi cellulaire. Les cellules Gram positifs ont des parois plus épaisses qui procurent à la cellule une certaine protection contre le traitement ultrasonique (Mason et coll. 2003). La cavitation produit de fortes températures et pressions localisées qui désintègrent toutes les cellules biologiques et/ou dénaturent toute enzyme présente. L'implosion des bulles produit des forces de cisaillement et des jets de liquides dans le milieu qui pourraient avoir suffisamment d'énergie pour endommager physiquement les parois cellulaires. L'inactivation par ultrasons a aussi été attribuée à la génération de cavitation intracellulaire pouvant perturber la structure cellulaire et les composants fonctionnels jusqu'à atteindre la lyse cellulaire.

### **I.6.3. Les ultrasons en technologies d'extraction**

L'utilisation des ultrasons pour l'extraction des matrices végétales ou alimentaires est un nouvel outil permettant d'augmenter les rendements ou/et d'accélérer les cinétiques d'extraction. Ces améliorations peuvent être attribuées à l'amélioration de la diffusion des substances dissoutes de l'intérieur de la cellule vers le milieu d'extraction. Les premières applications ont été liées à la détermination des métaux dans les aliments. Les applications couvrent aujourd'hui l'extraction de

nombreux autres composés comme les arômes, les antioxydants, les huiles et les colorants (Chemat 2009).

#### **I.6.3.1. Extraction des huiles essentielles**

Dès 1948, A. Romagnan a développé les premières extractions d'huile essentielle assistées par les ultrasons et a déposé un brevet français intitulé « procédé de séparation des essences aromatiques ou des huiles essentielles de leur support naturel ». Depuis, l'extraction assistée par ultrasons a été utilisée sur un bon nombre de plantes aromatiques telles que l'artémise (Asfaw et coll. 2005) et la lavande (Da Porto et coll. 2009). Les rendements en huile essentielle ont pu être légèrement augmentés. L'autre avantage des ultrasons pour l'extraction de l'huile essentielle est le fait de travailler à froid, ce qui réduit la dégradation des composés volatiles. Concernant les épices on peut citer l'extraction de la vanilline à partir de gousses de vanille (Jadhav et coll. 2009). La carvone a pu également être extraite des graines de carvi de façon plus pure, lors d'une extraction aux ultrasons (Chemat et coll. 2004).

#### **I.6.3.2. Extraction des antioxydants**

De nombreuses études ont été menées sur différentes plantes riches en antioxydants, tels que les fruits et légumes. C'est le cas de l'extraction du lycopène de la tomate assistée par les ultrasons (Liangfu et Zelong 2008), des anthocyanes de la framboise (Chen et coll. 2007) et des composés phénoliques de la fraise (Herrera et Luque de Castro 2005). Les ultrasons permettent une meilleure diffusion du solvant dans les matrices ce qui augmente le rendement d'extraction.

Un autre bon rendement d'extraction de composés phénoliques a été observé à partir de la coque de noix de coco (Rodrigues et coll. 2008).

**Références**

Apfel R.E., Holland C.K. (1991). Gauging the likelihood of cavitation from shortpulse, low-duty cycle diagnostic ultrasound. *Ultrasound Med. Biol.* 17, 179-185.

Asfaw N., Licence P., Novitskii A. A. Poliakoff M. (2005). Green chemistry in Ethiopia: the cleaner extraction of essential oils from *Artemisia afra*: a comparison of clean technology with conventional methodology. *Green Chem.* 7, 352-356.

Blake F. G. (1949). «The onset of cavitation in liquids». *Harvard Acoustics Res. Lab. T.M.9*, 1.

Boucher R. M. G. (1970). Sonochemistry at low and high ultrasonic frequencies. *British Chem. Engin.* 15, 363-367.

Chemat S., Lagha A., Aitamar H., Bartels P.V., Chemat F. (2004). Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. *Flavour Frag. J.* 19, 188–195.

Chemat F. (2009). « Essential oils and aromas: green extraction and applications ». HKB Publishers, Dehradun, India.

Chen F., Sun Y., Zhao G., Liao X., Hu X., Wu J., Wang Z. (2007). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Ultrason. Sonochem.* 14, 767-78.

Cheung H. M., Kurup S. (1994). Sonochemical Destruction of CFC 11 and CFC 113 in Dilute Aqueous Solution. *Environ. Sci. Technol.* 28, 1619-1622.

Da Porto C., Decorti D. Kikic I. (2009). Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L., to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. *Food Chem.* 112, 1072-1078.

Dumont-Fillon J. (1996). Contrôle Non Destructif, Technique de l'Ingénieur, traité « Mesures et Contrôle». 34-41.

Goel M., Hongqiang H., Mujumdar A. S., Ray M. B. (2004). Sonochemical decomposition of volatile and non-volatile organic compounds: a comparative study. *Water Res.* 38, 4247-4261.

Haunold C. (1991). « Extraction de pyréthrinés : Analyse du procédé discontinu et de l'influence des ultrasons, modélisation et mise en œuvre d'un procédé continu ». Thèse INP Toulouse.

Herrera M.C., Luque de Castro M.D. (2005). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. *J. Chromatogr. A.* 1100, 1-7.

Jadhav D., Rekha B. N., Gogate P. R., Rathod V. K. (2009). Extraction of vanillin from vanilla pods: A comparison study of conventional Soxhlet and ultrasound-assisted extraction. *J. Food Engin.* 93, 421-426.

Kapustina O.A. (1973). "Degassing of Liquids, Physical Principles of Ultrasonic Technology, Chapter 5, ed. L.D. Rozenberg Plenum Press, New York, U.S.A.

Liangfu Z., Zelong L. (2008). Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. *Ultrason. Sonochem.* 15, 731-737.

Leighton T.G. (1994). « The Acoustic Bubble ». Academic Press, London, U.K.

Luche, J.L. (1998). « Synthetic Organic Sonochemistry ». Plenum Press, New York, U.S.A.

Mason T.J., Lorimer J.P. (1988). « Sonochemistry: Theory, application and uses of ultrasound in chemistry ». Ellis Horwood limited.

Mason T. J. (1999). *Sonochemistry*. Oxford Science Publications, New York, U.S.A.

Mason T. J., Paniwnik L. Chemat F. (2003). Chapter 16: « Ultrasound as a preservation technique » in « Food Preservation Techniques ». P. Zeuthen & L. Bogh-Sorensen (Ed), CRC Press. Cambridge, U.K.

Niemczewski B. (2007). Observation of water cavitation intensity under practical cleaning conditions. *Ultrason. Sonochem.* 14, 13-18.

Pétrier C., Lamy MF., Francony A., Benahcene A., David B., Renaudin V., Gondrexon N. (1994). Sonochemical Degradation of Phenol in Dilute Aqueous Solutions: Comparison of the Reactor Rates at 20 kHz and 487 kHz. *J. Phys. Chem.* 98, 10514-10520.

Suslick K.S. (1989). The chemical effects of ultrasound. *Sci. Am.* February, 80-86

Suslick K.S. (2001). *Encyclopedia of Physical Science and Technology*, 3rd Ed. «Sonoluminescence and Sonochemistry». R.A. Meyers (ed), Academic Press, Inc. San Diego, California, U.S.A.

Rodrigues S., Pinto G.A.S., Fernandes F.A.N. (2008). Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. *Ultrason. Sonochem.* 15, 95-100.

Romagnan A (1950). Procédé de séparation des essences aromatiques ou des huiles essentielles de leur support naturel. Brevet français, 969905.

Vilarem G., Dumont V., Gaset A. (1997). Extraction assistée par ultrasons. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides, Dossier : « Evolution technologiques et Corps Gras »*. 4, 42-50

Woo J. A short History of the development of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology  
<http://www.ob-ultrasound.net/history1.html>

## **Chapitre II**

### **Généralités sur les Carvi et l'extraction des huiles essentielles**

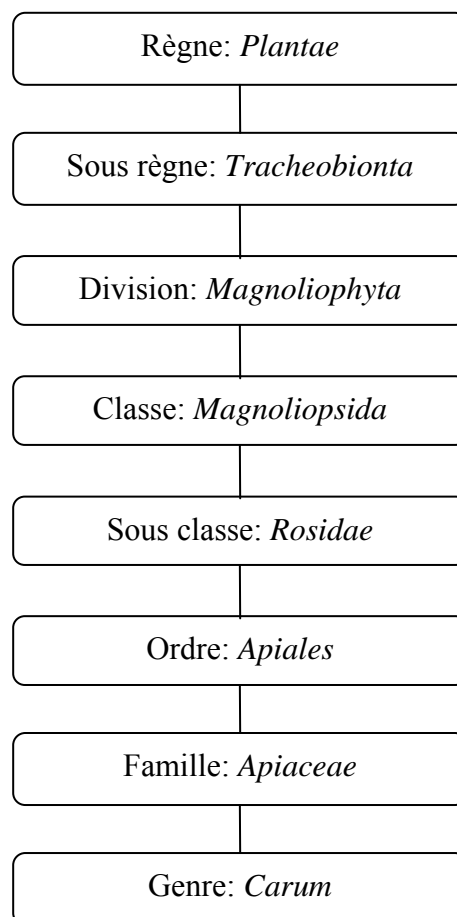
## II. Le Carvi

### II.1 Introduction

Le Carvi est une plante originaire d'Afrique du Nord et de l'Asie de l'Ouest. Il est cultivé dans plusieurs régions du monde (Nemeth et coll. 1978). Il est aromatique, condimentaire et son odeur rappelle celle de l'anis. Le Carvi tire son nom du latin « *Carum carvi* L. ». Il a d'autres noms dialectaux tels que : Anis des Prés, Faux Anis, Anis des Vosges et Cumin des Prés.

Il a été utilisé dans les événements religieux et culturels par les égyptiens qui enterraient les dépouilles de leurs défunts avec des graines de Carvi. Les Grecs conseillaient aux jeunes filles de mettre du Carvi sur leur peau pour avoir un joli teint, tandis que les Romains se servaient du Carvi pour parfumer leur pain.

### II.2 Description botanique



**Classification de Cronquist (1981)**

Le *Carum carvi* L. (Figures II.1 et II.2) appartient à la famille des Ombellifères, de la sous classe des Apiacées (Pimenov et Leonov 1993). Il est communément cultivé dans les pays méditerranéens depuis des siècles.



**Figure II.1 :** Photo du carvi

Le Carvi, espèce annuelle ou bisannuelle, développe une racine aromatique longuement pivotante supportant une tige dressée haute de 50 à 75 cm, rameuse dès sa base. Ses feuilles, dont le contour s'inscrit dans un triangle, sont deux fois profondément divisées en lobes linéaires aigus. L'ombelle florale compte six à douze rayons supportant chacun une ombellule à rayons ultimes très inégaux. Le fruit du Carvi, petit (4 x 1,5 mm), est sec, ovoïde, glabre et de couleur brun foncé. Sa saveur est délicate et dégage une puissante odeur d'Anis. Il renferme des graines ténues, noires incurvées (Hardman 2006).



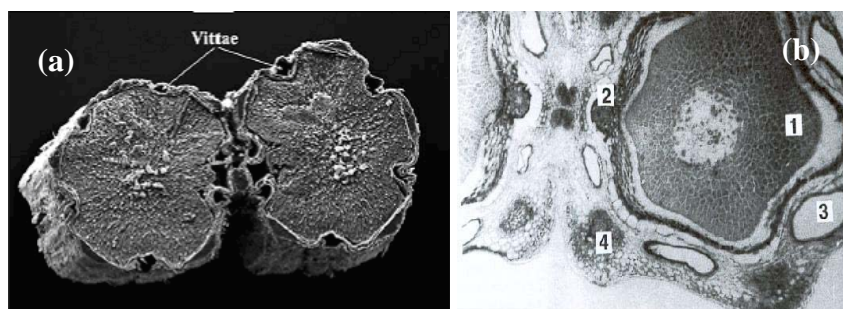
**Figure II.2 :** Plante de Carvi (*Carum carvi* L.)

### II.3. Composition chimique et structure morphologique de la graine de Carvi

Le Carvi est constitué par le fruit sec, dissocié en ses méricarpes. Ces derniers sont séparés du fruit par battage, après séchage.

La composition chimique de la graine de Carvi est principalement constituée d'environ de 8 à 30 % d'huile fixe dont essentiellement des triglycérides et des acides gras comme particulièrement l'acide pétrosélinique (C18:1n-12) qui a une importance industrielle potentielle (Murphy et coll. 1994, 1996). L'huile essentielle, quant à elle, est de 2 à 8%, selon l'espèce annuelle ou bisannuelle. Cette quantité dépend de la période d'échantillonnage et des conditions de stockage (Galambassi et Peura 1996). L'eau est présente à hauteur de 11 à 16%, le sucre de 19 à 25%, les fibres de 17 à 22%, et l'azote libre de 4 à 5%.

La substance la plus intéressante dans la graine est son huile essentielle, qui possède une odeur originale et plaisante. Elle est stockée dans des structures sécrétrices comme le montre les travaux réalisés par Svoboda en 2003 sur la structure cellulaire de la graine de Carvi (Figure II.3).



**Figure II.3 :** (a) Localisation des structures sécrétrices dans la graine de Carvi  
(b) Coupe transversale d'une graine jeune (1 : cellules à endospermes, 2 : funicules, 3 : poche d'huile alléculaire, 4 : poche d'huile carinale)

Comme l'indique la Figure II.3, la localisation des structures sécrétrices est à l'intérieur de l'espace intercellulaire (sécrétion endogène). Ces structures sécrétrices sont situées au niveau des fosses et des crêtes du schizocarpe. Le nombre de cellules les composant diminue aussi au long de la maturation.

### II.4. Huile essentielle de Carvi

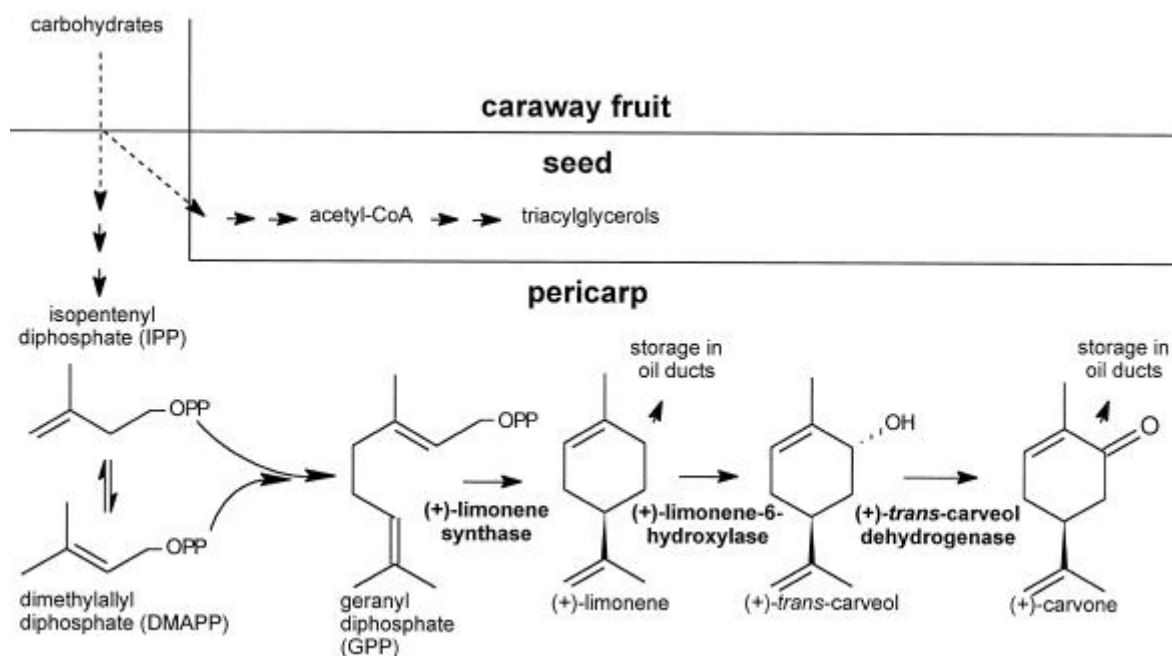
Le constituant majeur de l'huile essentielle de la graine de carvi, est le (5S)-2-méthyl-5-(prop-1-én-2-yl)cyclohex-2-én-1-one, plus connu sous le nom de S(+)-Carvone et aussi de d-Carvone, résultant de l'oxydation allylique du R(+)-Limonène avec l'intermédiaire de Carvéol. La Carvone est utilisée comme inhibiteur de croissance des

bactéries (Helander et coll. 1998) et comme inhibiteur répressif de la germination des pommes de terre (Oosterhaven et coll. 1996, Source et coll. 1997).

Le monoterpène R(+)-Limonène accompagne la Carvone dans l'huile volatile des graines de carvi, avec un rapport entre ces deux principaux composés, variant de 3 pour 2 jusqu'à 3 pour 1, dépendant de la variété de la plante et des conditions de stockage. Plusieurs auteurs ont suggéré que la qualité de l'huile essentielle est exprimée en fonction du rapport molaire de ces deux composés à savoir la Carvone et le Limonène. Nous citons comme exemple les travaux de Puschmann et coll. (1992), qui ont trouvé une variation du rapport Carvone /Limonène de 0,90 à 1,20.

#### II.4.1. Biosynthèse de la Carvone et du Limonène dans la graine de carvi

Von Schantz et Huhtikangas (1971) ont montré que la carvone est sécrétée dans les conduits accumulateur des huiles essentielles dans les graines de carvi (*Carum carvi L.*). Par conséquent le limonène ne peut pas être le précurseur de la biosynthèse de la carvone. Quelques années plus tard, les travaux de Bouwmeester et coll. (1998) ont montré que le geranyl diphosphate est le précurseur du monoterpène, celui-ci est cyclisé par une enzyme la monoterpène synthase à (+) – limonène. Le produit est stocké dans les conduits ou oxydé à (+)- trans-carveol et après par une déshydrogénase (+) – trans-carveol à (+) – carvone (Figure II.4).



**Figure II.4 :** Synthèse biologique de la carvone dans la graine de carvi (*Carum carvi L.*) (Bouwmeester et coll. 1998).

## II.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

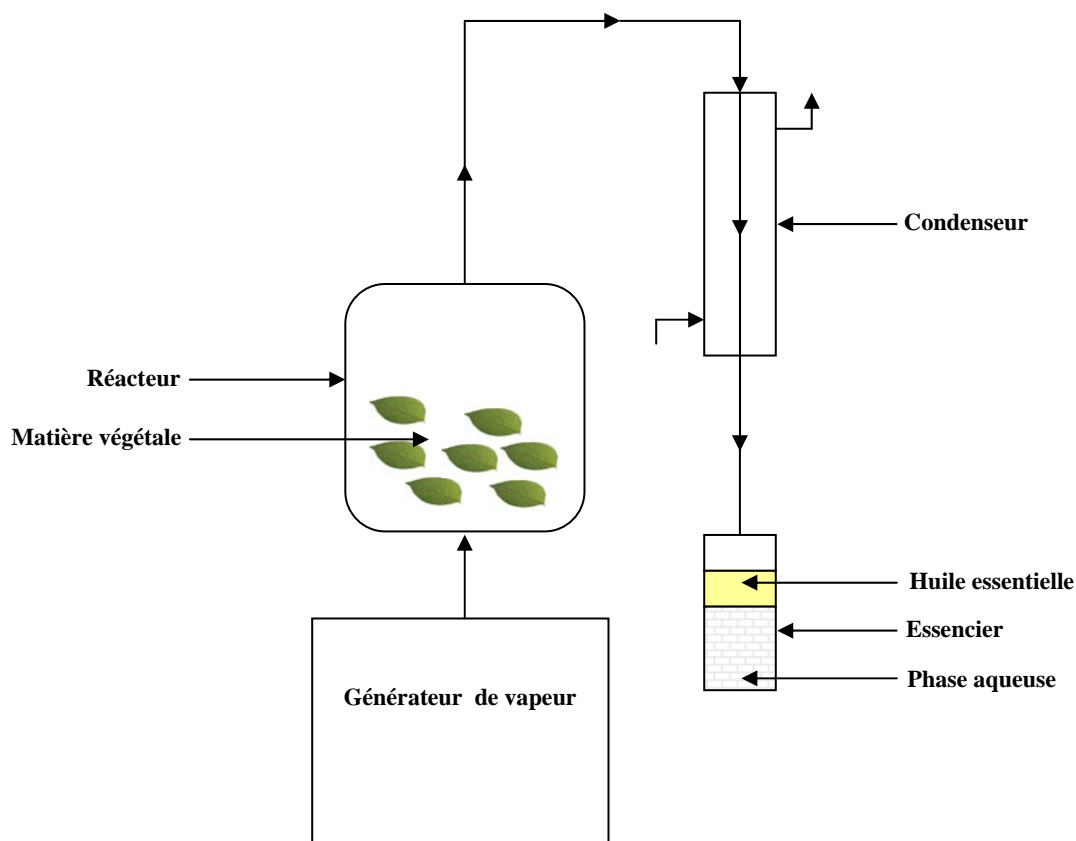
### II.5.1. Méthodes classiques

#### II.5.1.1. Distillation par entraînement à la vapeur

L'entraînement à la vapeur d'eau (Figure II.5) est l'un des procédés d'extraction les plus anciens, utilisés depuis plusieurs millénaires pour l'obtention des huiles essentielles.

Le procédé, correspondant à une distillation hétérogène, fait intervenir l'application de deux lois physiques : La loi de Dalton, dans laquelle la pression du mélange de vapeurs est égale à la somme des tensions de vapeur des divers constituants et la loi de Raoult où le rapport des quantités des entités distillées simultanément est fonction de la tension et des densités des vapeurs à la température de distillation choisie (Pavida et coll. 1976).

Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Cette dernière est soumise à l'action d'un flux de vapeur descendant ou ascendant sans macération préalable. Le plus souvent, de la vapeur d'eau fournie par une chaudière, est injectée au bas d'une charge végétale. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules se vident et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange (eau + huile essentielle). Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles) avant d'être décanté en une phase aqueuse et une phase organique dans ce dernier.



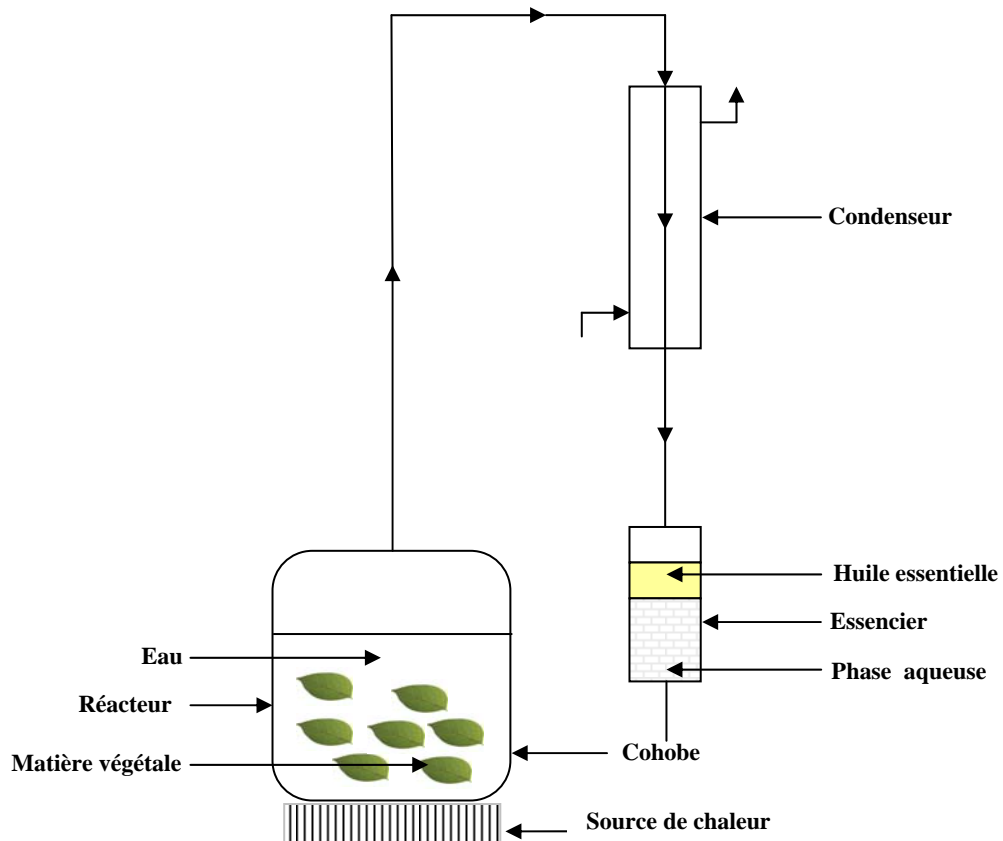
**Figure II.5:** Schéma de l'extraction par entraînement à la vapeur (Farhat 2010)

Dans le cas des huiles essentielles superficielles (contenues dans des glandes situées à la surface du matériel végétal) la vapeur pousse un grand nombre de ces glandes à se rompre et à libérer leur contenu qui se répand à l'extérieur du végétal. Dans le cas des huiles essentielles contenues à l'intérieur du matériel végétal, l'huile essentielle doit diffuser à travers le végétal pour entrer en contact avec la vapeur d'eau. Par conséquent, l'extraction des huiles essentielles non superficielles est plus longue et exige plus de vapeur que celle des huiles essentielles superficielles.

#### **II.5.1.2. Hydrodistillation (HD)**

L'hydrodistillation (Figure II.6) est la méthode normée pour l'extraction des huiles essentielles à partir des épices sèches et pour le contrôle de qualité des huiles essentielles au laboratoire. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène en immergeant la matière végétale dans un bain d'eau, avant de chauffer l'ensemble jusqu'à ébullition sous pression atmosphérique. Sous l'effet de la chaleur, les cellules contenant les molécules volatiles éclatent permettant ainsi leur libération dans le milieu. Durant la distillation, l'eau bouillante s'infiltré dans les cellules végétales et solubilise une partie de l'huile essentielle. La solution aqueuse chargée de composés volatils, diffuserait ensuite à travers le tissu, vers la surface extérieure où l'huile essentielle serait vaporisée et entraînée sous forme d'azéotrope.

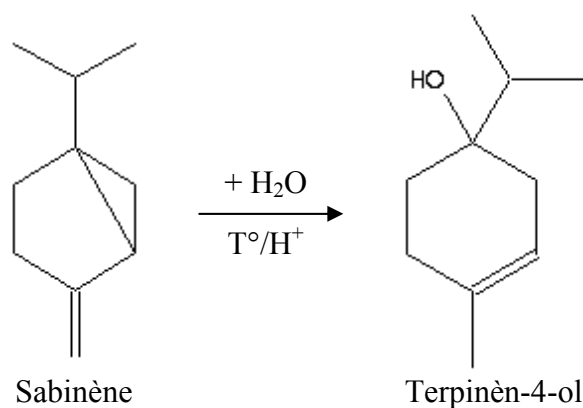
L'huile essentielle forme avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique. Partant du principe que la température d'ébullition d'un mélange azéotropique est inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures, le mélange est distillé à une température égale à 100°C à pression atmosphérique, alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont plus élevées. Le mélange azéotropique est ensuite refroidi dans un condensateur et décanté dans un essencier. Les phases aqueuse et organique (huile essentielle) sont séparées par différences de densité. La distillation est effectuée avec cohobage (recyclage) des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation en accord avec Clevenger (1928) et la Pharmacopée Européenne (1996).



**Figure II.6:** Schéma de l'extraction par hydrodistillation (HD) (Farhat 2010)

L'inconvénient majeur de l'hydrodistillation est lié à la durée particulièrement importante de l'extraction, ce qui provoque une dégradation thermique des composants thermolabiles et la genèse d'artefacts ainsi que la dégradation thermique de la matière résiduelle.

D'après Koedam (1987), lors de l'hydrodistillation, le milieu aqueux résultant de l'immersion de la matrice végétale, atteint des pH compris entre 4 et 7. C'est ainsi que des modifications chimiques diverses (hydrolyses, déprotonations, hydratations et cyclisations) peuvent se produire sous l'effet combiné de l'acidité et de la chaleur. Par conséquent, l'huile essentielle récupérée diffère légèrement de l'essence originelle (Morin et Richard, 1985). La formation d'acides organiques due à l'hydrolyse d'esters est généralement la première réaction qui se produit. Ces acides subissent une réaction de cyclisation et de déshydratation (Teisseire 1987). Lors de l'hydrodistillation, Koedam (1987) a constaté qu'en milieu acide dilué, le Sabinène se dégrade et se transforme en Terpinèn-4-ol.

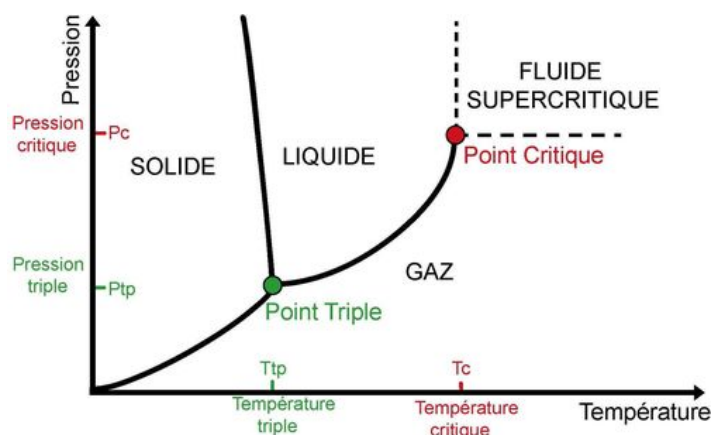


Afin de limiter les artéfacts, Morin et Richard recommandent de conserver le pH voisin de la neutralité et de diminuer la durée de l'hydrodistillation (Morin et Richard, 1985).

## II.5.2. Méthodes innovantes

### II.5.2.1. Extraction par Fluide Supercritique (EFS)

Les corps purs peuvent exister sous trois états : solide (S), liquide (L) ou gazeux (G). Le diagramme du corps pur (Figure II.7) illustre les trois régions correspondant à ces trois états (S, L et G), séparées par les courbes de changement d'état et concourantes au point triple (PT).



**Figure II.7 :** Diagramme des phases pour un corps pur

Le fluide supercritique est défini comme étant un liquide où sa masse volumique est voisine de celle des liquides, sa viscosité est à peine supérieure à celle des gaz et sa diffusivité est comprise entre celle des gaz et celle des liquides. Pour obtenir un fluide qualifié de supercritique, la pression et la température doivent être supérieures à celles du point critique ( $P > P_c$  et  $T > T_c$ ), tel que le dioxyde de carbone  $\text{CO}_2$  supercritique, qui se comporte comme un solvant apolaire (Moyler 1993).

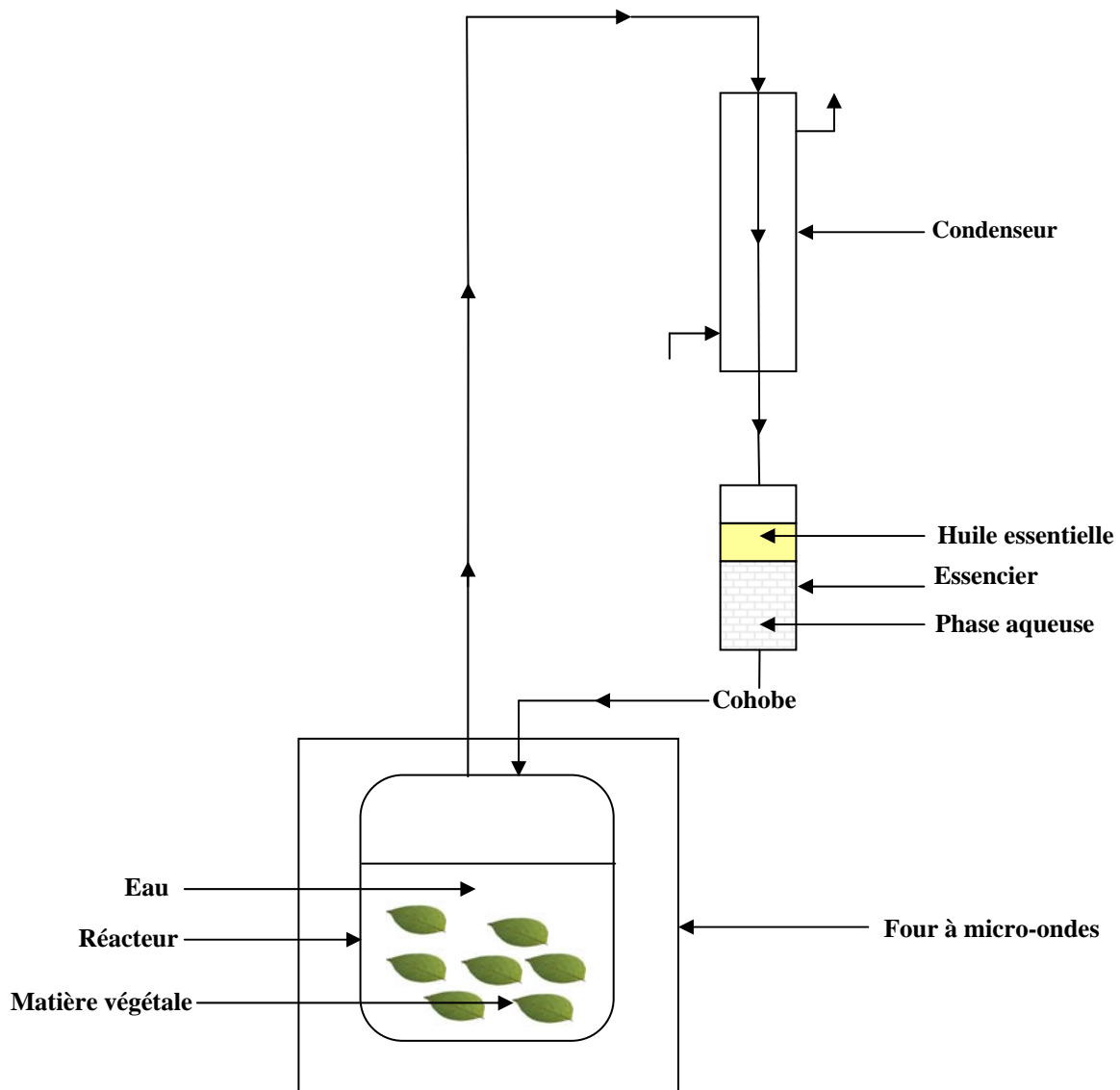
La méthode (EFS) permet de supprimer les dégradations observées lors de l'hydrodistillation

ou de l'entraînement à la vapeur, dues aux températures élevées et à la présence de l'eau. L'application de cette technique à l'échelle industrielle reste onéreuse, car elle est tributaire du coût relativement élevé de ses installations.

### II.5.2.2. Hydrodistillation Assistée par Micro-ondes (HDAM)

L'hydrodistillation assistée par micro-ondes (HDAM) est un procédé innovant, développé par Stashenko et coll. (2004a et 2004b). Le principe de ce procédé diffère de celui de l'hydrodistillation par le mode de chauffage. L'HDAM utilise un chauffage assisté par micro-ondes, basé sur le principe de gradient thermique inversé, alors que l'HD emploie un chauffage classique.

En HDAM (Figure II.8), le matériel végétal est immergé dans l'eau dans un réacteur placé dans l'enceinte d'un four à micro-ondes. Le réacteur est relié à un montage de type Clevenger placé en amont du four.

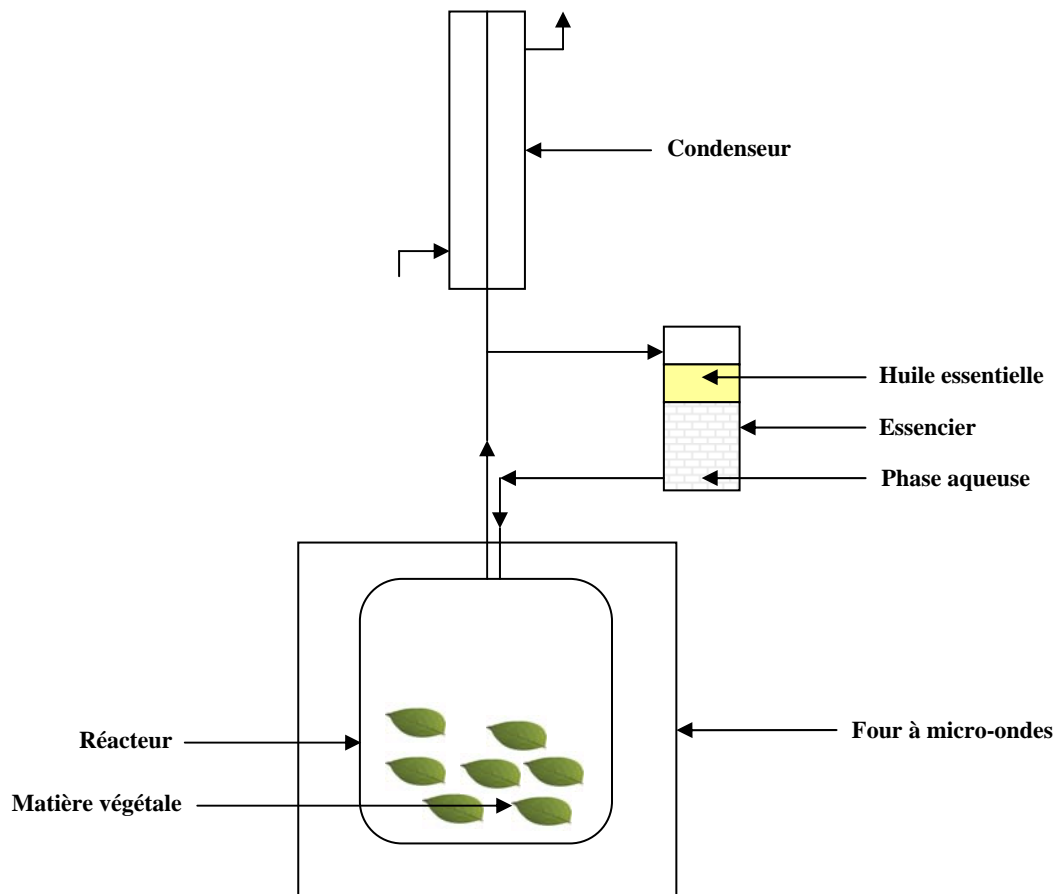


**Figure II.8:** Schéma de l'extraction par hydrodistillation assistée par micro-ondes (HDAM) (Farhat 2010)

La technique (HDAM) pour l'extraction des huiles essentielles à partir de matière végétale, offre un temps d'extraction plus court pour un rendement et une composition chimique de l'huile similaire à celle obtenue par HD.

### II.5.2.3. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM)

L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM) est une technique innovante, pour l'extraction des huiles essentielles sans solvant à pression atmosphérique, développée et brevetée, par Chemat et coll (2004a, 2004b). Le système ESSAM (Figure II.8) est constitué principalement de quatre parties : un réacteur dans lequel est placée la matière végétale, un four à micro-ondes, un système de réfrigération et un essencier où est recueillie l'huile essentielle.



**Figure II.9 :** Schéma de l'Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-Ondes (ESSAM) (Farhat 2010)

Cette technique, repose sur le principe d'une distillation sèche assistée par micro-ondes. Le matériel végétal frais est placé dans un réacteur micro-ondes sans ajout de solvant. Le chauffage de l'eau contenue dans le végétal provoque la rupture des glandes riches en huile essentielle. Cette dernière, libère l'huile est entraînée par la vapeur d'eau générée par l'eau de

la matière végétale. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes, permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, de façon continue et le retour de l'excès d'eau à l'intérieur du ballon permet de maintenir le taux d'humidité propre à la matrice végétale. Ce procédé, a été appliqué à plusieurs types de plantes fraîches et de Citrus (Lucchesie et coll. 2004, Ferhat et coll. 2006).

#### **II.5.2.4. Extraction par Détente Instantanée Contrôlée (DIC)**

La Détente Instantanée Contrôlée a été mise au point par Allaf et coll. en 1992. Le principe de cette technique consiste à soumettre le matériel végétal à un traitement à haute température (>200 °C), sous haute pression (>20 bars) durant une très courte durée (quelques secondes). Des phénomènes d'auto vaporisation dans le produit à traiter sont provoqués, suite à une détente ultrarapide (<200 ms) vers une pression relativement faible.

L'extraction par DIC a l'avantage d'être rapide et sélective et ne nécessite pas l'utilisation de solvants, seule la vapeur d'eau est employée. Cette technique a été appliquée à l'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. par Rezzoug et coll. (1998).

#### **II.5.2.5. Extraction par ultrasons**

Le matériel végétal est immergé dans un solvant et soumis à l'action des ultrasons. Les ondes sonores provoquent des vibrations mécaniques dans le milieu à travers une succession de phases d'expansion et de compression. Des bulles se forment ainsi (phénomène de cavitation). Au voisinage des parois cellulaires, ces bulles se dégonflent. Ceci produit des micro-jets ultra-rapides de liquide qui provoquent la destruction de ces parois et entraînent la libération des molécules recherchées dans le milieu. Une étape d'élimination du solvant est nécessaire pour récupérer l'huile essentielle.

Plusieurs recherches ont été menées sur l'extraction des huiles essentielles par ultrasons en employant des équipements de laboratoire. Nous citerons à titre d'exemple l'étude de l'huile essentielle de Carvi par Chemat et coll. (2003).

**Références**

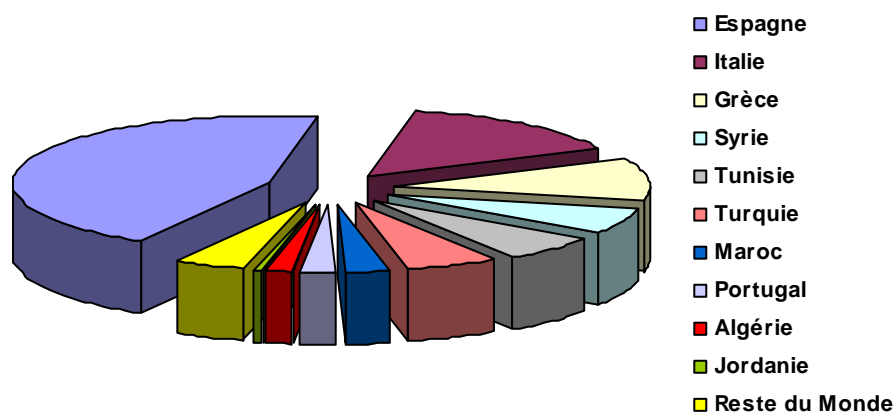
- Allaf K., Louka N., Bouvier J. M., Parent F., Forget M. (1992). « Définition d'un nouveau procédé de Traitement Thermo-Mécanique par Détente Instantanée Contrôlée TTMDIC ». Brevet français, Enregistré en 1992 sous le n° 92 04940 et publié en 1995 sous le n° F2708419.
- Bouwmeester H.J., Gershenzon J., Konings M.C.J.M., Croteau R. 1998. Biosynthesis of the Monoterpenes Limonene and Carvone in the Fruit of caraway. *Plant Physiol.* 117, 901-912.
- Chemat F., Smadja J., Lucchesie M.E. (2004a). «Solvent Free Micro-wave extraction of volatile natural compounds». Brevet Européen, EP 1 439218 B1.
- Chemat F., Lucchesie M.E., Smadja J. (2004b). « Solvent Free Microwave Extraction of volatile natural substances». Brevet Américain, US 0187340 A1.
- Chemat S., Lagha A., Ait Amar H., Chemat F. (2003). Ultrasound assisted microwave digestion. *Ultrason. Sonochem.* 11, 5-8.
- Clevenger J.F. (1928). Apparatus for volatile oil determination. *Am. Perfumer Essential Oil Rev.* 23, 467-503.
- Conseil de l'Europe, Pharmacopée Européenne, second ed. (1996). S.A. Maisonneuve, Moulin-Lès-Metz, France.
- Cronquist A. (1981). « An integrated system of classification of flowering plants ». Columbia University Press, New York, U.S.A.
- Farhat A. (2010). « Vapo-Diffusion assistée par Micro-ondes : Conception, Optimisation et Application ». Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse France et l'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès, Tunisie.
- Ferhat M.A., Meklati B.Y., Smadja J., Chemat F. (2006). An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *J. Chromatogr. A.* 1112, 121-126,
- Galambosi, B., Peura, P. (1996). Agrobotanical features and oil content of wild and cultivated forms of caraway. *J. Essent. Oil Res.* 8, 389-397.
- Hardman R. (2006). « Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles », volume 7: «Caraway ».Taylor & Francis, Amsterdam, Netherland.
- Helander I.M., Alakomi H.L., Latva-Kala K., Pol I., Smid E.J. (1998). Characterization of the action of selected essential oils components on gram negative bacteria. *J. Agr. Food Chem.* 46, 3590-3595.
- Koedam A. (1987). «Some aspects of essential oils preparation in capillary gas chromatography in essential oils analysis ». Ed. Sandra P., Bicchi C. Herdelberg. New York, U.S.A.
- Lucchesie M.E., Chemat F., Smadja J. (2004). Solvent-Free microwave extraction of essential oil from spices. *Flavour Frag. J.* 19, 134-138.
- Morin P., Richard H. (1985). Thermal degradation of linalyl acetate during steam distillation in Proc. 4<sup>th</sup> Weurman Flavour Research Symposium. Ed Elsevier Sci. Amsterdam Netherland. 563-576

- Moyler D.A. (1993). Extraction of essential oil with carbon dioxide. *Flavour Frag. J.* 8, 235-247.
- Murphy D.J., Richards D., Taylor R., Capdevielle J., Guillemot J.C., Grison, R., Fairbairn D., Bowra S. (1994). Manipulation of seed oil content to produce industrial crops. *Ind. Crop. Prod.* 3, 17-27.
- Murphy D.J., (1996). Engineering oil production in rapeseed and other oil crops. *Trend. Biotechnol.* 14, 206-213.
- Nemeth E., Tutin T.G., Heywood V.H., Moore D.M. Valentine D.H., Walters S.M., Webb D.A. (1978) « Caraway the Genus *Carum* Flora Europa » Vol 2. «Rosaceae to Umbelliferae». Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Oosterhaven K., Leitao A.C., Gorris L.G.M., Smid E.J. (1996). Comparative study on the action of S-(+)-Carvone, in situ, on the potato storage fungi *Fusarium Solani* var. *coeruleum* and *F. Sulphureum*. *J. Appl. Bacteriol.* 80, 535-539.
- Pavida D.L., Lampman G.M., Kriz G.S. (1976). «Introduction to organic laboratory techniques ». W.B. Saunders Co. Philadelphia, USA.
- Pimenov M.G., Leonov M.V. (1993). « The genera of the Umbelliferae Nomenclature ». Royal Botanic Gardens, Kew, London, U.K.
- Puschmann G., Stephai V., Fritz D. (1992). Untersuchungen zur variabilität von Kümmel (*carum carvi* L.). *Gartenbauwissenschaft.* 57, 275-277.
- Rezzoug A., Baghdadi M.W., Louga N., Boutekedjiret C., Allaf K. (1998). Study of a new extraction process: Controlled instantaneous decompression. Application to extraction of essential oil from rosemary leaves. *Flavour Frag. J.* 13, 251-258.
- Source C., Lorenzi R., Ranall P. (1997). The effects of (S)-(+)-carvone treatments on seed potato tuber dormancy and sprouting. *Potato Re.* 40, 155-161.
- Stashenko E.E., Jaramillo B.E., Martínez J.R. (2004a). 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. *J. Chromatogr. A.* 1025, 93-103.
- Stashenko E.E., Jaramillo B.E., Martínez J.R. (2004b). Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopiya aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1025, 105-113.
- Svoboda K.P. (2003). Investigation of volatile oil gland of *satureja hortensis* L. (Summer savory) and phytochemical comparison of different varieties. *Int. J. Aromather.* 13, 196-202.
- Teisseire P. (1987). « Industrial Quality Control of Essential Oils by Capillary Gas Chrommatography in Essential Oil Analysis ». Ed Sandra P., Bicchi C. Herdelberg. New York, U.S.A.
- Von Schantz M., Huhtikangas A. 1971. Über die Bildung von limonene undcarvon in Kümmel. *Carum carvi* L. *Phytochemistry.* 10, 1787-1793.

**Chapitre III**  
**L'huile d'olive**

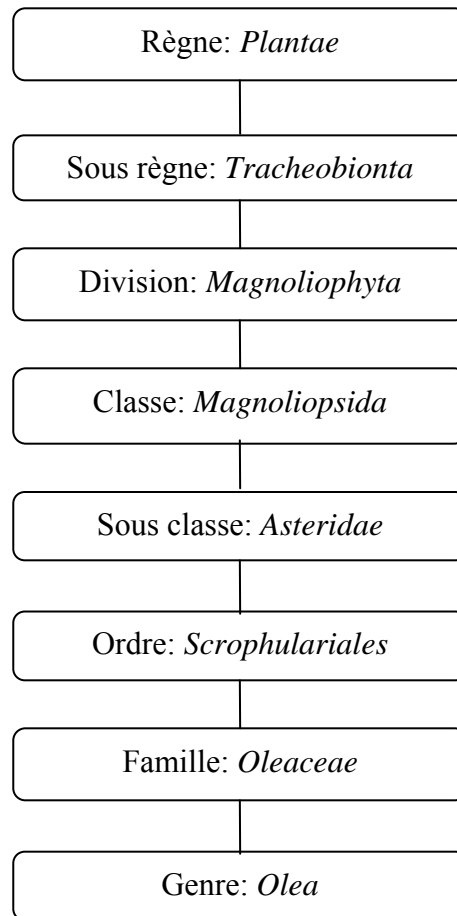
### III.1. Introduction

L'olivier appartient à la famille des oléacées. L'espèce cultivée en Méditerranée est l'*Oléa europaea sativa*. Le patrimoine oléicole mondial compte actuellement environ 830 millions de pieds d'olivier cultivés sur une superficie de plus de 9 millions d'hectares. Les pays méditerranéens comptent 95% du patrimoine oléicole mondial. En Algérie, le secteur oléicole joue un rôle très important sur le plan socioéconomique. Il contribue activement au développement des populations en milieu rural en offrant des milliers de poste de travail saisonniers. La superficie implantée en oliviers s'élève à 309500 ha, soit le tiers de la superficie réservée à la culture des arbres fruitiers. En 2007, l'Algérie occupait ainsi le 9<sup>ème</sup> rang mondial après l'Espagne, l'Italie, la Grèce, la Syrie, la Tunisie, la Turquie, le Maroc, et le Portugal (Figure III.1). L'Algérie compte 32 millions d'arbres, répartis sur tout le territoire national avec ses différents bioclimats, dont 28,3% à l'est, 54,3% au centre et 17 % à l'ouest (FAO 2012).



**Figure III.1 :** Répartition de la production mondiale d'huile d'olive par pays (FAO 2012).

### III.2. Aspect botanique



#### Classification de Cronquist (1988)

### III.3. L'olivier

#### III.3.1. Arbre

L'olivier (Figure III.2) est un arbre à croissance lente qui peut atteindre 15 mètres de hauteur selon la nature du sol et les conditions climatiques. Il est taillé entre 3 et 5 mètres pour en améliorer la productivité. C'est un arbre fruitier à feuilles persistantes toujours vertes (Loukas et Krimbas 1983)



**Figure III.2 :** Photo d'un olivier Algérien (Bejaia)

### III.3.2. Feuilles d'olivier

Les feuilles d'olivier (Figure III.3) sont des feuilles persistantes avec une durée de vie moyenne de 2 à 3 ans. Leurs tailles varient entre 3 et 8 cm de longueur et 1 à 2,5 cm de largeur. Les feuilles de l'olivier sont entières et lancéolées, en se disposant sur les branches avec un pétiole de courte taille. Comme dans toutes les Oléacées, elles sont opposées. Même si la forme générale est lancéolée, ses proportions varient des ovales à presque linéales en dépendant de la variété. Leurs couleurs peuvent aussi varier du vert brillant au gris argenté (Blazquez Martinez 1996).



**Figure III.3 :** Photo de feuilles d'olivier

### III.3.3. Fleurs d'olivier

Les fleurs d'olivier (Figure III.4) sont petites et de couleur blanchâtre, odorantes et regroupées en grappes dressées à l'aisselle des feuilles. Dès le début du mois de mai, on peut voir fleurir les oliviers. Cependant, la floraison ne dure qu'une huitaine de jours. Ce sont des fleurs hermaphrodites, tétramères, de pétales soldats. Elles possèdent deux étamines, de filament très court, et ovaire avec deux carpelles (Blazquez Martinez 1996).



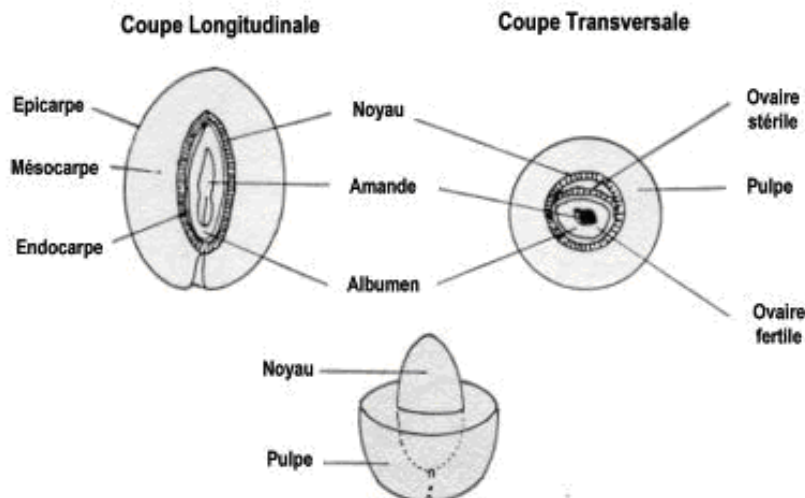
**Figure III.4 :** Photo de fleurs d'olivier

### III.3.4. Fruit d'olivier

L'olive (Figure III.5) est une drupe à mésocarpe charnu (Figure III.6), indéhiscente, à noyau. Sa forme est ovoïde ou ellipsoïde. Sa dimension évolue selon les variétés. La paroi de ce fruit est constituée de l'épicarpe (épiderme ou peau) solidement attaché à la pulpe. A maturation, l'épicarpe passe de la couleur vert tendre (olive verte), à la couleur violette ou rouge (olive tournante) puis à la coloration noirâtre (olive noire) (Montedoro et coll. 1986). Le mésocarpe charnu est riche en huile. L'endocarpe est constitué par un noyau fusiforme, très dur. A l'intérieur du noyau se trouve une seule graine contenant l'embryon et l'albumen.



**Figure III.5 :** Photo d'olives



**Figure III.6:** Drupe d'olive (Maymone 1961)

#### III.4. Huile d'olive

L'huile d'olive est obtenue à partir du fruit de l'olivier, à l'exclusion des huiles obtenues par extraction avec des solvants, par des procédures de ré-estérification, ou par n'importe quel mélange avec d'autres types d'huiles. Le Conseil Oléicole International (COI) a clairement défini les différentes catégories d'huile d'olive selon leurs acidités libres exprimées en acide oléique, (COI 1996):

- **L'huile d'olive vierge extra** : huile d'olive vierge dont l'acidité libre est au maximum de 0,8 gramme pour 100 grammes d'huile.
- **L'huile d'olive vierge** : huile d'olive vierge dont l'acidité libre est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes d'huile.
- **L'huile d'olive vierge courante** : huile d'olive vierge dont l'acidité libre est au maximum de 3,3 grammes pour 100 grammes d'huile.
- **L'huile d'olive vierge lampante** est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre est supérieure à 3,3 grammes pour 100 grammes d'huile. Elle est destinée aux industries du raffinage ou à des usages techniques d'huile.

#### III.5. Fabrication de l'huile d'olive

L'huile d'olive est produite à partir de la pulpe charnue du fruit de l'olivier après la floraison qui s'effectue entre avril et juin et durant laquelle environ 5% de fleurs sont fécondées. Elle est suivie de l'étape de la nouaison ou le noyau durcit habituellement dans la première quinzaine d'août.

Puis, vient l'étape de la véraison qui est le moment où la couleur de l'olive passe du vert acide au vert tendre. A ce stade, le fruit contient un mélange d'acides gras organiques et de sucres. Enfin l'étape de la lipogénèse (phénomène de transformation en huile des acides et des sucres du fruit) termine la maturation du fruit. La transformation en huile débute dans le fruit, de très bonne heure, car le microscope décèle déjà, dès le printemps, dans les éléments cellulaires, des gouttelettes huileuses très fines. La formation des acides gras à partir des hydrates de carbone par réduction énergétique est due à un phénomène fermentaire de transformation du glucose en éthanol). Entre autre, il s'accompagne d'un dégagement de gaz carbonique et d'hydrogène. (Henry 2003).

Deux procédés sont généralement utilisés: un procédé discontinu et un procédé continu.

### III.5.1. Procédé discontinu ou système à presse

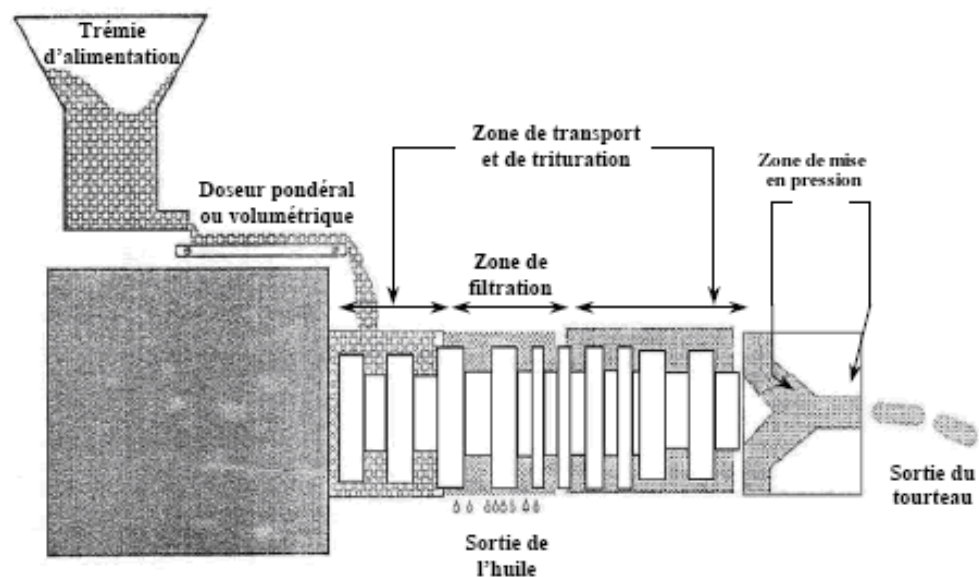
Ce système d'extraction par pressurage est le plus classique et le plus ancien (Figure III.7). Le broyage est réalisé par des meules en pierre de granit, qui tournent dans un bac dont le sol est également en pierre. Les meules dérapent légèrement sur le socle lorsqu'elles tournent, ce qui permet de réduire la pulpe en pâte, de la malaxer et de la placer en couches minces sur des disques en fibre de nylon. Ces couches sont entassées les unes sur les autres autour d'un pivot central monté. L'ensemble est placé sur un piston de presse hydraulique qui permet de faire subir à la pâte une pression de 400 kg/cm. La phase liquide s'écoule dans un bac de réception. Le grignon reste accroché aux scourtins. Des centrifugeuses permettent enfin de séparer l'huile d'olive des margines (eaux de végétation). Ce procédé est discontinu, car il nécessite un nettoyage régulier des scourtins. Il se déroule à l'air libre, ce qui peut induire une auto-oxydation de l'huile.



**Figure III.7 :** Photo d'un ancien extracteur traditionnel d'huile d'olive

### III.5.2. Procédé continu ou système à centrifugation

Dans ce système d'extraction (Figure III.8), le broyage est réalisé par des broyeurs mécaniques constitués d'organe métallique, de forme variable (disque, marteau, dents, cône), qui tourne à grande vitesse agissant comme des « presses purées » en écrasant les fruits contre une surface métallique fixe. Ces broyeurs peuvent travailler en continu et la pâte obtenue est ensuite dirigée dans des "malaxeurs" dont la paroi interne est en acier inoxydable, à axe de rotation horizontal, vertical, à hélices ou à palettes. La pâte malaxée est injectée par une pompe dans une centrifugeuse dont l'axe est horizontal. Cet appareil est appelé décanteur horizontal où les phases solide et liquide sont séparées. La phase liquide est envoyée dans une centrifugeuse, afin de séparer complètement l'huile d'olive des margines. Ce procédé nécessite une forte consommation d'énergie mais les opérations se déroulent en milieu fermé et de façon continue ce qui améliore la qualité de l'huile



**Figure III.8 :** Schéma d'un procédé continu d'extraction d'huile d'olive

### III.6. Composition chimique de l'huile d'olive

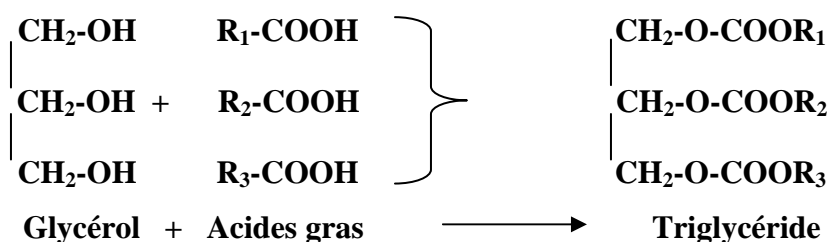
Comme toutes les huiles végétales, l'huile d'olive est composée d'une fraction saponifiable (triglycérides) et d'une fraction insaponifiable (composants mineurs).

### III.6.1. Fraction saponifiable

Cette fraction représente 99 % de l'huile d'olive. Elle est composée essentiellement de triglycérides, d'esters du glycérol et d'acides gras (AG) (Harwood et Aparicio 2000).

#### III.6.1.1. Triglycérides

Découverts par Chevreul dès 1823, les triglycérides (TG) sont des triesters résultant de la combinaison de trois fonctions alcooliques d'une molécule de glycérol avec les fonctions carboxyles de trois molécules d'acides gras.



#### III.6.1.2. Les acides gras

Les acides gras (AG) sont des acides aliphatiques et existent à l'état libre dans la nature. Ce sont des composés organiques à base de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Le nombre de carbone est le plus souvent pair dans le règne végétal et parfois impair dans le règne animal.

Les AG qui constituent les graisses alimentaires sont formées de 16 à 20 atomes de carbone. Dans la nature, les acides gras prédominants sont ceux à 16 et à 18 atomes de carbone (Viola 1997). En plus de la longueur de chaîne, les acides gras se distinguent par leur degré d'insaturation (nombre de doubles liaisons éthyléniques). La longueur de la chaîne détermine les caractéristiques physiques de la matière grasse. Les AG à courte chaîne sont de nature liquide à température ambiante alors que les AG à longue chaîne donnent des graisses solides à cette température. La nomenclature générale d'un acide gras est la suivante : C<sub>n</sub> : x. (où le n représente le nombre d'atomes de carbone et x le nombre de doubles liaisons carbone-carbone). On distingue trois classes d'acide gras :

- Les acides gras saturés (AGS) CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COOH qui représentent de 8 à 25 % de la teneur en lipides de l'huile d'olive (principalement acides palmitique et stéarique).
- Les acides gras mono-insaturés (AGMI) CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH=CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COOH qui représentent de 55 à 80 % de la teneur en lipides de l'huile d'olive (principalement l'acide oléique).

- Les acides gras polyinsaturés contenant au minimum deux doubles liaisons (AGPI)

$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$  qui représentent de 4 à 22 % de la teneur en lipides de l'huile d'olive (principalement l'acide linoléique).

Dans la classe des AGPI se trouvent les deux acides gras dits essentielles à savoir les Omega 6 et Omega 3. L'Omega 6 est un AGPI composé de 18 atomes de carbone et qui compte deux doubles liaisons, dont la première en position 6 à partir du  $\text{CH}_3$  terminal, d'où le nom de cette famille alors que l'Omega 3 est un AGPI composé de 18 atomes de carbone et qui compte trois doubles liaisons dont la première en position 3 à partir du  $\text{CH}_3$  terminal d'où le nom de cette famille.

**Tableau III.1 :** Composition en acides gras de l'huile d'olive - limite fixée par le Codex Alimentarius (1993)

Acide gras	Symbole	% d'acide gras
Acide myristique	C14 : 0	≤ 0,1
Acide palmitique	C16 : 0	7,5 – 20
Acide palmitoléique	C16 : 1	0,3 – 3,5
Acide heptadécanoïque	C17 : 0	≤ 0,5
Acide stéarique	C18 : 0	0,5 – 5
Acide oléique	C18 : 1	55 – 83
Acide linoléique	C18 : 2	3,5 – 21
Acide linoléique	C18 : 3	≤ 1,5
Acide arachidique	C20 : 0	≤ 0,8
Acide gadoléique	C20 : 1	≤ 0,4
Acide béhénique	C22 : 0	≤ 0,2
Acide lignocérique	C24 : 0	≤ 0,2

L'acide oléique est le constituant majoritaire de l'huile d'olive (55 à 83 %), ce qui rend cette dernière exceptionnellement riche en AGMI. Ainsi, l'huile d'olive se distingue des autres huiles et autres corps gras alimentaires car c'est celle qui est la plus riche en acide oléique. Cet AGMI lui confère de nombreuses propriétés ce qui constitue un de ses atouts majeurs comme nous le

verrons dans le paragraphe III.7. D'autre part, on constate que l'huile d'olive est assez pauvre en AGS et contient des AGPI en quantité satisfaisante.

### **III.6.2. La fraction insaponifiable (composés mineurs)**

L'insaponifiable correspond à l'ensemble des constituants d'un corps gras qui, après saponification, sont peu solubles dans l'eau et solubles dans les solvants des graisses. Si l'huile d'olive possède des propriétés médicinales, c'est en partie dû à sa teneur en acide oléique, mais c'est aussi grâce à sa fraction insaponifiable : cette fraction contient des constituants dits « mineurs » pour leurs faibles proportions dans la composition chimique de l'huile d'olive, mais qui lui apportent une valeur biologique d'une grande richesse. L'insaponifiable représente de 0.4 à 0.8 % de l'huile d'olive. Elle est constituée d'hydrocarbures, de stérols, d'alcools terpéniques, de tocophérols, de composés phénoliques, de phospholipides et de pigments (chlorophylle, caroténoïdes).

#### **III.6.2.1. Les hydrocarbures**

Quantitativement, ce sont les principaux composants de la fraction insaponifiable. Ils sont formés lors de la synthèse des acides gras. L'hydrocarbure polyénique majeur de l'huile d'olive est le squalène ( $C_{30}H_{50}$ ) qui représente 30 à 50 % de cette fraction. Le squalène est un précurseur métabolique du cholestérol et autres stérols (Ugawa et coll. 2000). En plus du squalène, l'huile d'olive contient aussi d'autres hydrocarbures, mais en très faibles quantités tel que le  $\beta$ -carotène (provitamine A): 0,03-0,36 mg/100 g (Kiritsakis et Markakis 1987).

#### **III.6.2.2. Les stérols**

Le contenu en stérols représente environ 15 % de la fraction insaponifiable soit 100 à 300 mg pour 100 g d'huile. Cette teneur évolue selon la variété des olives et leurs degrés de maturité (Ryan, 1998). Les stérols, ayant tous en commun le noyau stérol mais se différenciant par leur chaîne latérale, sont rencontrés dans l'huile d'olive sous forme libre ou estérifiée par les acides gras. Le  $\beta$ -Sitostérol est le principal stérol qui représente jusqu'à 90-95% du total, soit 70 à 90 mg/100 g d'huile d'olive. Ce composé est intéressant car il est connu pour son action anti-carcinogène (Awad et coll. 1998, Raicht et coll. 1980). D'autres composés sont présents tels que le Campesterol et le Stigmastérol, respectivement pour 3% et 1% du total.

### III.6.2.3. Les alcools triterpéniques

Les alcools triterpéniques se trouvent dans l'huile d'olive à la concentration de 100 à 300 mg pour 100 g, à l'état libre ou estérifiés par des acides gras (Soler-Rivas et coll. 2007). Parmi ces composants, se trouve le Cycloarténol qui revêt un intérêt particulier pour son action favorisant l'excrétion fécale du cholestérol. Les  $\alpha$  et  $\beta$  Amyrine, l'Erythrodiol et l'Uvaol sont également présents dans l'huile d'olive, les deux derniers étant rarement rencontrés ailleurs (Somova et coll. 2003).

### III.6.2.4. Les phospholipides

Les phospholipides, connus pour leurs propriétés émulsifiantes, sont présents en très petite quantité, de 5 à 15 mg pour 100 g (Jacotot 1993). Ce sont des constituants essentiels des cellules vivantes. Ils sont représentés par la Phosphatidylcholine et la Phosphatidyléthanolamine qui sont des molécules amphiphiles, possédant deux pôles, l'un hydrophile et l'autre, lipophile.

### III.6.2.5. Les tocophérols

Les tocophérols sont présents dans l'huile d'olive avec des concentrations variant de 7 à 15 mg/100 g. Ils sont liposolubles et connus pour leurs activités vitaminiques (Burton 1986). Ils existent sous quatre formes isomères:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ . L' $\alpha$ -tocophérol est majoritaire et présent à 90 % (Psomiadou et Tsimidou 2000, Gutierrez et coll. 1999). Il constitue la forme la plus active biologiquement (Viola 1997). A l'état libre dans l'huile d'olive, les tocophérols jouent un rôle important dans sa stabilité oxydative et s'opposent au rancissement de l'huile.

### III.6.2.6. Les composés phénoliques

La pulpe de l'olive contient des composés phénoliques simples et complexes qui passent dans l'huile en augmentant ainsi sa stabilité oxydative et en améliorant le goût (Owen et coll. 2000, Fedeli et coll. 1977). Les composés phénoliques sont présents de 20 à 500 mg dans 100 g d'huile d'olive. Ceci dépend essentiellement de la variété et du degré de maturité des olives lors de la récolte (Léger 1999, Botía et coll. 2001, Vinha et coll. 2005). Les principaux composés phénoliques trouvés dans l'huile d'olive vierge sont l'Oleuropéine, le Tyrosol, l'Hydroxytyrosol,

le Diméthyloléuropéine, le Ligostroside, l'acide caféique (Bianchi et coll. 1994, Le Tutour et coll. 1992).

### **III.7. Intérêt de la consommation de l'huile d'olive sur la santé humaine**

La présence combinée des acides gras monoinsaturés, et des composés mineurs de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive confèrent à cette dernière des propriétés préventives à l'égard des facteurs de risque, principalement l'hypertension artérielle et le diabète.

L'hypertension artérielle (HTA) est un authentique problème de santé publique en Algérie. Elle touche un adulte sur trois d'après les rapports du Ministère de la Santé (Nibouche 2013), c'est un facteur de risque d'athérosclérose. Selon les critères de l'OMS, l'HTA se définit par une pression artérielle (PA) systolique supérieure ou égale à 140 mmHg et/ou une PA diastolique supérieure ou égale à 90 mmHg. L'hypertension artérielle est idiopathique (sans cause identifiée) mais elle peut être liée à une hypercholestérolémie, au surpoids, au diabète, au tabagisme, et à un régime alimentaire non équilibré (fast food, soda...). A cet effet, une étude espagnole réalisée sur un groupe de femmes hypertendues âgées de 50 à 60 ans et ayant suivi un régime enrichi en huile d'olive pendant quatre semaines, avait fait remarquer que les pressions systoliques et diastoliques ont toutes les deux significativement baissé après ce régime (Ruiz-Gutierrez et coll. 1996). En 2006, une autre étude avait montré qu'un régime enrichi en huile d'olive vierge réduisait efficacement la tension artérielle chez des sujets présentant un risque cardiovasculaire élevé (Estruch et coll. 2006). Selon Perona et ses collaborateurs (2004), la consommation d'huile d'olive améliore la fluidité membranaire, grâce à l'acide oléique, en normalisant les paramètres membranaires qui sont détériorés en cas d'hypertension.

Le diabète est la conséquence d'une production insuffisante d'insuline par le pancréas. Il est défini par une glycémie supérieure à 1,26 g/L (7 mmol/L) après un jeun de 8 heures. Il existe deux types de diabète :

- Le diabète de type I ou insulino-dépendant (DID). Non lié à la nutrition, il résulte d'une destruction des cellules bêta pancréatiques, d'où une carence absolue en insuline. Il exige donc une insulinothérapie pour être contrôlé.
- Le diabète de type II ou non insulino-dépendant (DNID). Il est caractérisé par des altérations de l'insulinosécrétion et des anomalies des effets de l'insuline sur ses tissus cibles (insulinorésistance).

Cette maladie métabolique touche trois millions de personnes en Algérie soit 10% de la population selon la campagne de dépistage de 2011 (Fortas 2012). Les personnes atteintes de diabète présentent la plupart du temps une hyperlipidémie (taux élevé de graisse dans le sang sous forme de lipoprotéines).

En 2004, Riccardi et ses collaborateurs ont mis en évidence le fait que les AGS détériorent la sensibilité à l'insuline et le profil lipidique et que la substitution des AGS par des AGMI ou des hydrates de carbone diminue ces anomalies. Une autre étude suggère que la fonction des cellules  $\beta$  du pancréas est améliorée progressivement quand les proportions en AGMI sont augmentées par rapport aux AGS dans le régime alimentaire (Lopez et coll. 2008).

**Référence**

Awad A.B., Von Holtz R.L., Cone J.P., Fink C.S., Chen Y.C. (1998). Beta-Sitosterol inhibits growth of HT-29 human colon cancer cells by activating the sphingomyelin cycle. *Anticancer Res.* 18, 471-473.

Blazquez Martinez J.M. (1996). *The World Olive Encyclopaedia*. International Olive Oil Council. Madrid, Spain. 19-54.

Bianchi G., Pozzi N. (1994). 3,4-dihydroxyphenylglycol, a major C6-C2 phenolic in *Olea europaea* fruits. *Phytochemistry.* 35, 1335-1337.

Bonanome A., Visonà A., Lusiani L., Beltramello G., Confortin L., Biffanti S., Sorgato F., Costa F., Pagnan A. (1991). Carbohydrate and lipid metabolism in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus : effects of a low-fat, high-carbohydrate diet vs a diet high in monounsaturated fatty acids. *Ame. J. Clin. Nut.* 54, 586-590.

Botía J.M., Ortuño A., Benavente-García O., Báidez A.G., Frías J., Marcos D., Del Río J.A. (2001). Modulation of the biosynthesis of some phenolic compounds in *Olea europaea* L. fruits : Their influence on olive oil quality. *J. Agric. Food Chem.* 49, 355- 358.

Burton G. W., Ingold K.U. (1986). Vitamin E: application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Acc. Chem. Res.* 19, 194-201.

Canabate-Díaz B., Segura Carretero A., Fernandez-Gutierrez A., Belmonte Vega A., Garrido Frenich A., Martínez Vidal J.L., Duran Martos J. (2007). Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC-MS. *Food Chem.* 102, 593-598.

Commission du Codex Alimentarius, Norme Révisée pour les Huiles d'Olives, CL 1993/15-FO. (1993).

Conseil oléicole international (COI) 1996, normes commerciales applicables aux huiles d'olives et aux huiles de grignon d'olive, COI/T15/NCN°2.

Cronquist A. (1988). «The Evolution and Classification of Flowering Plants». 2nd edition, The New York Botanical Garden, Bronx, New York U.S.A.

Estruch R., Martínez-González M.A., Corella D., Salas-Salvadó J, Ruiz-Gutiérrez V., Covas M.I., Fiol M., Gómez-Gracia E., López-Sabater M.C., Vinyoles E., Arós F., Conde M., Lahoz C., Lapetra J., Sáez G., Ros. E. (2006). Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors : a randomized trial. *Ann. Intern. Med.* 145, 1-11.

Fedeli E. (1977). « Lipids of olives in Progress in the chemistry of Fats and Other Lipids ». Edition Hilman R.T., Academic Press, Oxford, U.K. 57-74.

Food and Agriculture Organization. (2012). Importance de la production oléicole et des sous produits de l'olivier.

- Fortas N. (2012). Inquiétante augmentation de l'hypertension, du diabète et de l'obésité. Santé-MAG. 12, 17.
- Gutiérrez F. Jimenez B. Ruiz A., Albi, MA. (1999). Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties picual and hojiblanca and on the different components involved. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47, 121-127.
- Itoh T., Yoshida K., Yatsu T., Tamura T., Matsumoto T. (1981). Triterpene alcohols and sterols of Spanish olive oil. J. Am. oil Chem. Soc. 58, 545-550.
- Harwood J., Aparicio R. (2000). « Handbook of olive oil – Analysis and properties ». An Aspen publication, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, U.S.A. 1-513.
- Henry S. (2003). « L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique ». Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré - Nancy 1 France
- Jacotot B. L'huile d'olive, de la gastronomie à la santé. Editions Artulen, 1993, 224p
- Kiritsakis A., Markakis P. (1987). Olive oil: a review. Adv. Food Res. 31, 453-482.
- Léger C.L. (1999). Co-produits de l'huile d'olive, les composés phénoliques et leurs propriétés biologiques. Oléagineux, Corps Gras, Lipides. 6, 60-63.
- Le Tutour B., Guedon D. (1992). Antioxidative activities of *Olea europaea* leaves and related phenolic compounds. Phytochemistry. 31, 1173-1178.
- Lopez S., Bermudez B., Pacheco Y.M., Villar J., Abial R., Muriana F.J.G. (2008). Distinctive postprandial modulation of  $\beta$  cell function and insulin sensitivity by dietary fats: monounsaturated compared with saturated fatty acids. Am. J. Clin. Nut. 88, 638-644.
- Loukas M., Krimbas C.B. (1983). History of Olive Cultivars Based on the Generic Distances. J. Hortic. Sci. 58, 121-127.
- Maymone B., Battaglini A., Tiberio M. (1961). Ricerche sul valore nutritivo della sansa d'olive. Alimentazione Animale. 5, 219-250
- Montedoro G.F., Garofolo L., Bertuccioli M. (1986). Factors shaping the quality characteristics of an olive oil. Industrie alimentari. 25, 549-555.
- Nibouche D. (2013). En Algérie, un quart de la population hypertendue n'est pas équilibrée. Santé-MAG. 14, 2-5
- Owen, RW. Giacosa, A. Hull, WE. Haubner, R. Spiegelhalder, B. et Bartsch, H. (2000a). The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. Eur. J. Cancer. 36, 1235-47.

Owen R.W., Mier W., Giacosa A., Hull W.E., Spiegelhalter B., Bartsch H. (2000). Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chem. Toxicol.* 38, 647-659.

Perona J.S., Cañizares J., Montero E., Sánchez-Domínguez J.M., Catalá A., Ruiz-Gutiérrez V. (2004). Virgin olive oil and blood pressure in hypertensive elderly subjects. *Clin. Nutr.* 23, 1113-1121

Psomiadou E., Tsimidou M. (1998). Simultaneous HPLC determination of tocopherols, carotenoids and chlorophylls, for monitoring their effect on virgin olive oil oxidation. *J. Agric. Food Chem.* 46, 5132-5138.

Raicht R.F., Cohen B.I., Fazzini E.P., Sarwal A.N., Takahashi M. (1980). Protective effect of plant sterols against chemically induced colon tumors in rats. *Cancer Research*, 40, 403-405.

Riccardi G., Giacco R., Rivellese A.A. (2004). Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clin. Nutr.* 23, 447-456.

Ruiz-Gutierrez V., Muriana F.J., Guerrero A., Cert A.M., Villar J. (1996). Plasma lipids, erythrocyte membrane lipids and blood pressure of hypertensive women after ingestion of dietary oleic acid from two different sources. *J. Hypertens.* 14, 1483-1490.

Ryan D. (1998). Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae.* 72, 23-33.

Soler-Rivas C., Espin J., Wichers C.H.J. (2007). Oleuropein and related compounds. *J. Sci. Food Agric.* 80, 1013-1023.

Somova L.I., Shode F.O., Ramnanan P., Nadar A. (2003). Antihypertensive, anti-atherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subsp. *africana*, leaves. *J. Ethnopharmacol.* 84, 299-305.

Thomsen C., Storm H., Holst J.J., Hermansen K. (2003). Differential effects of saturated and monounsaturated fats on postprandial lipemia and glucagon-like peptide-1 responses in patients with type 2 diabetes. *Am. J. Clin. Nutr.* 77, 605-611.

Ugawa T., Kakuta H., Moritani H., Matsuda K., Ishihara T., Yamaguchi M., Naganuma S., Iizumi Y., Shikama H. (2000). YM-53601, a novel squalene synthase inhibitor, reduces plasma cholesterol and triglyceride levels in several animal species. *British J. Pharmacol.* 131, 63-70.

Vinha A.F., Ferreres F., Silva B.M., Valentão P., Gonçalves A., Pereira J.A., Oliveira M.B., Seabra R.M., Andrade P.B. (2005). Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. *Food Chem.* 89, 561-568.

Viola P. (1997). L'huile d'olive et la santé. Conseil Oléicole International. Madrid, Spain.

**Partie II**  
**Matériels et méthodes**

**Chapitre IV**  
**Techniques expérimentales**

### IV.1. Produits chimiques et matière première

Les produits chimiques, réactifs et étalons employés au cours de cette étude sont regroupés dans le Tableau IV.1.

**Tableau IV.1** : Solvants et réactifs utilisés au cours des travaux

Nom du produit	Formule	Masse molaire (g/mol)	CAS	Fournisseur
Acide acétique	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	60	64-19-7	VWR
Amidon	(C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ) <sub>n</sub>	-	9005-95-9	Panreac
Carvone	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	150	2244-16-8	Sigma-Aldrich
Chloroforme	CHCl <sub>3</sub>	118	67-66-3	Sigma-Aldrich
Ethanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	46	64-17-5	Sigma-Aldrich
Heptane	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>	100	142-82-5	VWR
Hydroxyde de potassium	KOH	56	1310-58-3	Panreac
Hydroxyde de sodium	NaOH	40	1310-73-2	Panreac
Iodure de potassium	KI	166	7681-11-0	Panreac
Isooctane	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>	114	540-84-1	VWR
Limonène	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	138-86-3	Sigma-Aldrich
Méthanol	CH <sub>4</sub> O	32	67-56-1	VWR
Phénophtaléine	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	320	77-09-08	Sigma-Aldrich
Thiosulfate de sodium	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	158	7772-98-7	Panreac

Les graines de Carvi employées pour l'extraction de l'huiles essentielle ont été achetées directement chez le producteur à El Hamadia - Bordj Bou Arreridj (Algérie). Le taux d'humidité a été évalué à 5,52%. Alors que pour l'aromatisation de l'huile d'olive, les graines de Carvi de la région de Médéa ainsi que l'huile d'olive étudiée ont été acquises dans un supermarché local.

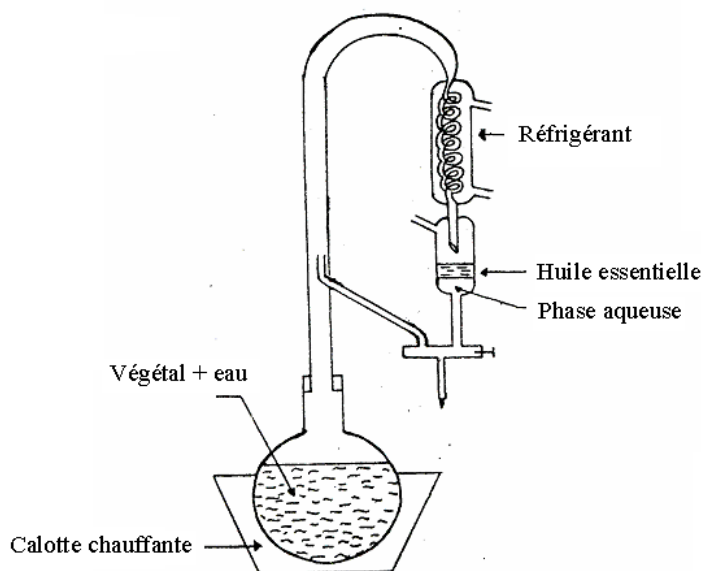
### IV.2. Extraction de l'huile essentielle de Carvi

Afin d'avoir des résultats fiables, l'extraction a été répétée plusieurs fois pour chaque technique d'extraction. Les huiles essentielles obtenues par HDAUS et HD ont été récupérées dans des

flacons ambrés pour les protéger de la lumière ensuite, pesées afin de calculer les rendements respectifs et enfin conservées à une température de 4° C au réfrigérateur jusqu'à leurs analyses.

### IV.2.1. Hydrodistillation

Le schéma du montage utilisé pour l'hydrodistillation est présenté dans la Figure IV.1. La charge de matière végétale, la durée de l'hydrodistillation, ainsi que la quantité d'eau à utiliser sont des paramètres très importants pour avoir un meilleur rendement. Pratiquement, pour chaque extraction, 150 grammes de graines de Carvi (*Carum Carvi* L.) broyées ont été introduites dans un ballon de 2 L à fond rond contenant 1,5 litre d'eau distillée. L'ensemble reste chauffé pendant 3 heures après obtention de la première goutte d'huile essentielle. Grâce au système de cohobation, la quantité d'eau au sein du ballon est quasiment la même tout au long de la distillation. L'huile essentielle obtenue est séparée de l'eau par simple décantation.



**Figure IV.1** : Schéma du montage d'hydrodistillation (Clevenger modifié).

### IV.2.2. Extraction assistée aux ultrasons

Environ 150 g de graines de Carvi broyées, versée dans 1,5 L d'eau distillée ont été introduites, dans le réacteur ultrasons PEX3 (R.E.U.S., Contes, France), disposant d'une fréquence de 25 KHz et d'une puissance de 150 W (Figure IV.2). L'expérience a été réalisée durant 30 minutes à température ambiante avec une homogénéisation du mélange par une tige rotative. Un reflux

d'eau à 25 °C a été employé, afin d'éviter l'augmentation de la température du milieu, qui serait provoquée par la collision des bulles de cavitation avec le solide. L'ensemble a été versé dans un ballon à fond rond pour lancer une hydrodistillation dans les mêmes conditions que celles énoncées dans la Partie IV.2.1.



**Figure IV.2 :** Photo du montage ultrason employée dans cette étude

### **IV.2.3. Extraction de l'huile essentielle après épuisement des phases liquide et solide**

Environ 150 g de graines de Carvi (*Carum carvi* L.) broyées ont été mises dans 1,5 L d'eau distillée. L'ensemble a été soumis aux radiations ultrasonores sous agitation pendant 30 minutes. A la fin du processus, la phase liquide a été séparée de la phase solide au moyen d'un filtre à café. Les phases récupérées ont été soumises à l'hydrodistillation sous les mêmes conditions précédentes. Dans le but de faire une comparaison, la même procédure a été appliquée dans une autre expérience à 150 g de Carvi dans 1,5 L d'eau distillée placés dans le réacteur à ultrasons sous agitation pendant 30 minutes, mais sans avoir recours aux ultrasons.

## **IV.3. Aromatisation de l'huile d'olive par le Carvi**

### **IV.3.1. Aromatisation conventionnelle**

Dans un ballon à fond plat de 2 L, 150 g de graines de Carvi ont été ajoutées à 1L d'huile d'olive. Le tout est laissé macérer pendant 12 h, à température ambiante. Des prélèvements ont été effectués chaque heure, afin de mesurer la cinétique d'aromatisation.

### IV.3.2. Aromatisation assistée par ultrasons

150 g de graines de Carvi broyées et 1L d'huile d'olive ont été placées dans le réacteur ultrasons utilisé dans la Partie IV.2. L'expérience a été réalisée durant 30 minutes à température ambiante avec une homogénéisation du mélange par une tige rotative et avec un reflux d'eau à 25 °C. Chaque 5 minutes, des prélèvements ont été effectués afin de suivre la cinétique d'aromatisation.

## IV. Techniques analytiques

### IV.1. Analyse par chromatographie en phase gazeuse

L'analyse qualitative et quantitative des extraits d'huiles essentielles de graines de Carvi a été effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation de flamme. L'appareil CG/DIF utilisé est de marque Agilent, GC HP 6890 plus, assorti d'un injecteur automatique Autosampler ALS HP7683 B. Les analyses ont été réalisées selon les conditions opératoires reportées dans le Tableau IV.2.

**Tableau IV.2 :** Conditions d'analyse par CG/DIF des huiles essentielles

Colonne	HP5MS	HPWAX
Dimensions de la colonne	30 m x 0,25 mm x 250 µm	60 m x 0,25 mm x 250 µm
Température initiale (°C)	45	45
Palier (min)	3	3
Vitesse de chauffe (°C/min)	3	3
Température finale (°C)	240	240
Palier (min)	15	15
Température de l'injecteur (°C)	250	250
Mode d'injection	Avec division 1/20	Avec division 1/20
Débit du gaz vecteur (mL/min)	0,5	0,8
Température du détecteur (°C)	250	250

### IV.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

L'analyse qualitative des huiles essentielles de graines de Carvi par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a été réalisée en mode « Impact électronique » par un appareil CG/SM de marque Agilent, GC HP 6890 plus, disposant d'un détecteur de masse MSD HP 5973 A, et accompagné d'un injecteur automatique Autosampler ALS HP7683 B. Le mode Courant Ionique Total (TIC, Total Ion Current) a été appliqué au cours de toutes les analyses effectuées, selon les conditions opératoires regroupées dans le Tableau IV.3.

**Tableau IV.3:** Conditions d'analyse par CG/SM des huiles essentielles

Colonne	HP5MS	STABILIWAX
Dimensions de la colonne	30 m x 0,25 mm x 250 µm	60 m x 0,25 mm x 250 µm
Température initiale (°C)	45	45
Palier (min)	3	3
Vitesse de chauffe (°C/min)	3	3
Température finale (°C)	240	240
Palier (min)	15	15
Température de l'injecteur (°C)	250	250
Mode d'injection	Avec division 1/20	Avec division 1/20
Débit du gaz vecteur (mL/min)	0,5	0,7
Température de l'interface (°C)	280	280
Température de la source (°C)	230	230
Température du quadripôle (°C)	150	150
Energie d'ionisation (eV)	70	70
Mode d'analyse	Balayage	Balayage

### IV.3. Analyse par HS-SPME-CG/SM

La composition en molécules volatiles de Carvi transférées dans l'huile d'olive a été estimée par la technique de Micro Extraction en Phase Solide (SPME). Cette technique, développée par Pawliszyn et ses collaborateurs pendant les années 90, est une technique de préparation de l'échantillon, basée sur l'utilisation d'une fibre en silice fondue, recouverte par une phase

stationnaire polymérique appropriée. Les composés sont directement extraits, adsorbés ou adsorbés, en fonction du revêtement de la fibre de la matrice de l'échantillon, et concentrés sur le polymère. La fibre est ensuite rétractée dans une aiguille en acier inoxydable. La configuration de ce système d'échantillonnage permet de réaliser la désorption thermique directement dans un injecteur CG.

Ainsi, les composés volatils contenus dans l'espace de tête des flacons de 20 mL contenant 4 grammes d'huile d'olive, pré-incubés à 40°C, pendant 15 min, ont été adsorbés sur une fibre de microextraction en phase solide (SPME) pendant 30 minutes. La fibre utilisée pour l'adsorption et la désorption était une fibre SPME « Carboxen-PDMS » (polydiméthylsiloxane) de 75 µm. Les composés volatils ont été ensuite séparés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en mode impact électronique. L'appareil CG/SM utilisé est le même que celui utilisé dans la partie IV.2.

**Tableau IV.4:** Conditions d'analyse par HS-SPME-CG/SM

Colonne	HP5MS
Dimensions de la colonne	30 m x 0,25 mm x 250 µm
Température initiale (°C)	45
Palier (min)	3
Vitesse de chauffe (°C/min)	3
Température finale (°C)	240
Palier (min)	15
Température de l'injecteur (°C)	250
Temps de désorption (min)	5
Mode d'injection	Sans division
Débit du gaz vecteur (mL/min)	0,5
Température de l'interface (°C)	280
Température de la source (°C)	230
Température du quadripôle (°C)	150
Energie d'ionisation (eV)	70
Mode d'analyse	Balayage

#### IV.4 Analyse des acides gras

L'estérification des acides gras de l'huile d'olive, a été réalisée à froid au moyen d'une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium. Environ 0,1 g de l'échantillon d'huile ont été mis avec 2 mL d'heptane dans un tube à essai de 5 ml. L'ensemble est agité. Puis 0,2 mL de la solution méthanolique (2 N) d'hydroxyde de potassium ont été ajoutés. Le tube est obstrué avec un bouchon en PTFE et soumis à l'agitation au Vortex pendant 30 secondes. Après repos, la partie supérieure de la solution est devenue limpide et contient les esters méthyliques. Celle-ci est directement injectée dans le chromatographe. L'analyse qualitative des fractions d'acides gras estérifiés contenus respectivement dans les extraits d'huile d'olive aromatisée et non aromatisée par des graines de carvi est effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en mode impact électronique. L'appareil CG/SM utilisé est le même que celui utilisé dans la Partie IV.2. Les conditions analytiques sont présentées dans le Tableau IV.5.

**Tableau IV.5:** Conditions d'analyse par CG/SM des acides gras estérifiés

Colonne	STABILIWAX
Dimensions de la colonne	60m x 0,25 mm x 250 $\mu$ m
Température initiale (°C)	200
Palier (min)	13
Vitesse de chauffe (°C/min)	6
Température finale (°C)	230
Palier (min)	17
Température de l'injecteur (°C)	250
Mode d'injection	Avec division 1/70
Débit du gaz vecteur (mL/min)	0,7
Température de l'interface (°C)	280
Température de la source (°C)	230
Température du quadripôle (°C)	150
Energie d'ionisation (eV)	70
Mode d'analyse	Balayage

## IV.5. Evaluation des indices d'acide et de peroxyde des extraits d'huile d'olive

### IV.5.1. Acidité libre

L'acidité libre de chaque huile a été déterminée selon la norme officielle AOCS Ca 5a-40. Environ 50 g d'huile d'olive ont été solubilisés dans 50 mL d'éthanol (96%, préalablement neutralisé) ensuite, 2 mL d'indicateur coloré (phénolphthaléine) ont été ajoutés et la solution obtenue a été titrée avec une solution d'hydroxyde de sodium (0,1 N). L'acidité libre a été exprimée en pourcentage d'acide oléique libre selon la formule :

$$\% \text{ ac. oléique} = (V_{\text{NaOH}} \times 0,1 \times 28,2) / m_{\text{huile}} \quad (\text{Equation 1})$$

### IV.5.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde a été déterminé par la méthode dite « acide acétique/chloroforme » correspondant à la norme AOCS Cd 8-53. Environ 5 g d'huile d'olive ont été dissoutes dans 30 mL d'un mélange acide acétique:chloroforme (3:2). 0,5 mL d'une solution saturée d'iodure de potassium ont été ajoutés au mélange. On verse ensuite 30 mL d'eau distillée après exactement une minute d'agitation. Cette solution a été titrée avec du thiosulfate de sodium (0,01 N) en utilisant de l'amidon comme indicateur coloré. La valeur peroxyde VP est exprimée en milliéquivalents peroxyde pour 1000 g d'huile, selon la formule :

$$\text{VP (meq.O}_2\text{/kg)} = ((V_{\text{ech}} - V_{\text{blanc}}) \times 0,01 \times 1000) / m_{\text{huile}} \quad (\text{Equation 2})$$

## IV.6. Détermination de la qualité de l'huile d'olive en fonction de son degré d'oxydation

De nos jours, il est connu que le vieillissement de l'huile avec les phénomènes d'oxydation augmente les valeurs des coefficients d'extinction en spectrophotométrie (Amelio 2003). L'extinction spécifique des huiles d'olive dans l'ultraviolet, constitue un paramètre important de leurs qualités. En effet, à 232 nm, elle permet d'évaluer la présence des produits primaires d'oxydation des acides gras (hydroperoxydes linoléiques, acides gras oxydés) tandis qu'à 270 nm, sont détectés les produits secondaires d'oxydation (alcools, cétones,...) des acides gras (Tchiegang et coll. 2005).

Les coefficients des extinctions spécifiques dans l'ultraviolet à 232 nm et à 270 nm ( $K_{232}$  et  $K_{270}$ ) ont été déterminés à l'aide d'un spectrophotomètre de type Cary 50 UV-Vis spectrophotomètre VARIAN, selon la Méthode COI/T.20/Doc. n° 19/Rév. 3 2010. Environ 0,25 g des échantillons d'huiles d'olive sont dilués dans l'isooctane (2,2,4- triméthyl pentane) dans une fiole jaugée de

25 mL. Des cuvettes de 10 mm d'épaisseur en silice fondue synthétique ont été employées. Les cuves avec couvercle sont en quartz prismatique, de parcours optique de 1 centimètre.

#### **IV.7. Evaluation par Rancimat de la stabilité à l'oxydation des huiles d'olive**

Pour évaluer la qualité des huiles et des graisses alimentaires, il convient d'évaluer de façon rapide et simple, la stabilité et la durabilité des produits. Le principe du Rancimat consiste à vieillir prématurément les huiles et les graisses par décomposition thermique. Les produits de dégradation formés sont l'acide formique et l'acide carboxylique. Ils sont entraînés par un courant d'air dans la cellule de mesure remplie de 60 mL d'eau ultra pure. Le temps d'induction est déterminé par conductimétrie. Le changement de la conductivité est essentiellement dû à la formation des acides précités durant l'oxydation. Le degré de rancissement a été déterminé par un Rancimat (743 METROHM) selon la norme ISO 6886. Ce test consiste à mesurer la dégradation d'un corps gras lors d'une auto-oxydation accélérée, dans un appareil automatisé qui chauffe les solutions d'huile d'olive (environ  $3 \pm 0,001$  g) à 120°C avec un apport d'air constant de 20 L.h<sup>-1</sup>. Cet appareil détecte les composés volatils libérés, indiquant indirectement le degré d'oxydation des huiles (Mendez et coll. 1996).

#### **IV.8. Microscopie Electronique à Balayage**

Les échantillons végétaux, recueillis après l'extraction de l'huile essentielle selon le procédé d'hydrodistillation assistée par ultrasons HDAUS ont été analysés par Microscopie Electronique à Balayage au Laboratoire de Microscopie de l'INRA PACA, site de St Maurice à Montfavet, Avignon, France. Après avoir été prélevés avec précaution, les échantillons ont été plongés dans l'azote liquide afin d'éliminer toute trace d'eau et conserver le végétal en état, en vue des analyses MEB futures. Les échantillons ont été métallisés par une fine couche d'or avant d'être observés par microscopie électronique à balayage sur un microscope XL 30 (Philips FEI) sous les conditions opératoires suivantes : sous vide d'air ; tension d'accélération 15 KV ; taille du spot : 5 ; distance de travail 15 mm.

**IV.9. Analyses statistiques**

Les analyses statistiques ont été réalisées d'une part avec le logiciel XLSTAT (version 2013.5.04) pour effectuer les Analyses en Composantes Principales (ACP) et d'autre part avec le logiciel Statgraphics V<sup>®</sup> Centurion (Statistical Graphics Corp., Rockville, Maryland USA). Ce logiciel nous a permis la réalisation de l'analyse de la variance (ANOVA) selon la méthode de Tukey unidirectionnelle de variance. Les paramètres comparés de l'huile d'olive ont été jugés significatifs, lorsque le seuil de signification  $P$  est inférieur à 0,05.

**Références**

Amelio M. (2003). Chemical and physical characteristics of olive oils. Organizzazione Nazionale Assaggiatori Olio di Oliva, ONA OO

AOCS method Ca 5a-40. (1989). « Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society », 4th edn. American Oil Chemists Society. Champaign, Illinois, U.S.A.

AOCS method Cd 8-53. (1989). « Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society », 4th edn. American Oil Chemists Society. Champaign, Illinois, U.S.A.

COI/T.20/Doc. n° 19/Rév. 3. (2010). Méthode d'analyse spectrophotométrique dans l'ultraviolet.

Méndez, E., Sanhueza, J., Speisky, H. et Valenzuela A. (1996). Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73, 1033-1037

Pawliszyn J. (1997). « Solid Phase Microextraction Theory and Practice ». Wiley-VCH, Inc., Waterloo, Ontario Canada.

Tchiegang C., Dandjouma A., Kapseu C., Parmentier M. (2005). Optimisation de l'extraction de l'huile par pressage des amandes de *Ricinodendron heudelotii* Pierre ex Pax. *J. Food Eng.* 68, 79-87.

**Partie III**  
**Résultats et discussion**

## **Chapitre V**

### **Extraction assistée aux ultrasons de l'huile essentielle de graines de Carvi**

### **V.1. Introduction**

Dans ce travail, nous présentons une nouvelle méthode alternative de récupération des huiles essentielles et ce, dans le but d'améliorer le rendement, d'étudier la qualité de l'huile récupérée et de réduire le temps d'extraction.

La méthode d'extraction assistée par ultrasons a été utilisée et développée au sein du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques. Cette nouvelle méthode d'extraction a été validée par des essais expérimentaux sur des échantillons de graines de Carvi. Les résultats des analyses qualitative et quantitative des huiles essentielles obtenues par cette nouvelle méthode ont été comparés à ceux des essences extraites par hydrodistillation (Assami et coll. 2012).

Dans le but d'approfondir la compréhension des phénomènes mis en jeu dans cette étude, des micrographies par MEB (Microscopie Electronique à Balayage) des graines de Carvi traitées ou non par ultrasons ainsi qu'une modélisation mathématique de ce procédé d'extraction sous forme de modèle ont été réalisées.

### **V.2. Conduite de l'hydrodistillation (HD)**

L'extraction par Hydrodistillation a été effectuée dans un montage de Clevenger modifié (Clevenger 1928) à pression atmosphérique. Le schéma du montage ainsi que les conditions opératoires utilisées lors de cette extraction sont présentés dans le Chapitre IV.

### **V.3. Conduite de l'hydrodistillation Assistée aux Ultrasons (HDAUS)**

Le même protocole expérimental appliqué à l'hydrodistillation est repris dans cette méthode, avec un prétraitement par ultrasons pendant 30 minutes. Les conditions expérimentales sont énoncées dans le Chapitre IV.

### **V.4. Exploitation des résultats**

Pour une meilleure fiabilité des résultats, l'expérience a été répétée trois fois pour chaque technique d'extraction. Les huiles essentielles obtenues par HDAUS et HD sont pesées afin de calculer les rendements respectifs des extractions. Elles sont ensuite conservées à la température de 4° C au réfrigérateur, à l'abri de la lumière.

Le Tableau V.1, présente les rendements en huiles essentielles obtenues d'une part par hydrodistillation assistée aux ultrasons et d'autre part, par hydrodistillation classique. Le rendement en huile essentielle obtenu par les deux techniques d'extractions est d'un même ordre de grandeur.

**Tableau V.1** : Rendement en huile essentielle de graines de Carvi obtenu par les techniques d'extraction HD et HDAUS

	<b>HD</b>	<b>HDAUS</b>
Rendement moyen (g huile / 100g graines)	1,68 ± 0,05	1,72 ± 0,03

#### V.4.1. Analyse par CG/DIF et par CG/SM

Les analyses des huiles essentielles étudiées, par chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme (CG-DIF) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) sur deux colonnes capillaires de polarité différentes (HP5-MS apolaire) et (Stabilwax polaire) ont conduit aux résultats regroupés dans le Tableau V.2.

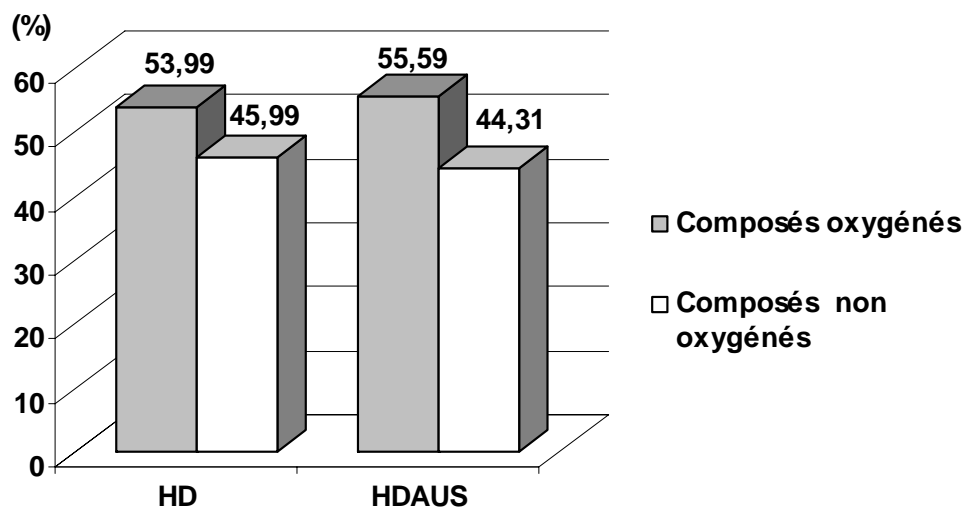
L'identification des composés est basée sur le dépouillement de leurs spectres de masse et sur les indices de rétention calculés à partir de la série des n-alcanes C<sub>5</sub>-C<sub>28</sub> injectés sous les mêmes conditions opératoires que celles des huiles essentielles analysées. Ces dernières, sont constituées principalement de composés oxygénés avec des teneurs de 53,99 % et 55,59 % dans les extraits obtenus respectivement par HD et HDAUS. Les monoterpènes oxygénés représentent 99,8 % de la fraction oxygénée, tandis que les hydrocarbures monoterpéniques, sont présents avec des pourcentages importants de 45,86 % et 44,21 % dans les extraits obtenus respectivement par HD et HDAUS.

21 composés aromatiques sont recensés dans les huiles essentielles HD et HDAUS avec la Carvone et le Limonène comme composés majoritaires. En effet, le Limonène est présent respectivement à 45,59 % et 44% dans les extraits obtenus par HD et HDAUS, alors que, la Carvone y est retrouvée respectivement à 53,6 % et 55,28 %. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature (Farhat et coll. 2010, Bailer et coll. 2001, Pourmortazavi et Hajimirsadeghi 2007)

D'autres composés sont présents à des teneurs très faibles à savoir : le β-Myrcène 0,15% en HD et 0,12% en HDAUS ; la cis-Dihydrocarvone 0,03 % en HD et 0,03% en HDAUS, le Carvéol 0,04 % en HD et 0,03 % en HDAUS et le trans-Caryophyllène 0,08 % en HD et 0,06 % en HDAUS. Ces résultats sont conformes à ceux de Bouwmeester et coll. (1995).

L'ensemble de ces résultats montre que la composition chimique de l'huile essentielle de graines de Carvi, obtenue aussi bien par HD que par HDAUS, est constituée par les mêmes composés aromatiques avec des proportions très semblables. Par conséquent, nous pouvons conclure que l'application des ultrasons ne provoque pas de dégradation des composés chimiques de l'huile essentielle.

Il découle des résultats obtenus (représentés dans l'histogramme de la Figure V.1) que les huiles essentielles sont principalement constituées respectivement de composés oxygénés à des teneurs de 53,99 % (HD) et 55,59 % (HDAUS) et de composés non oxygénés avec des taux de 45,99 % (HD) et 44,31 % (HDAUS).



**Figure V.1 :** Histogramme de la composition de l'huile essentielle de Carvi selon le mode d'extraction

**Tableau V.2.** Composition chimique de l'huile essentielle de graines de Carvi traitées et non traitées par les ultrasons.

n°	Composés <sup>a</sup>	R.I. <sup>b</sup>	R.I. <sup>c</sup>	Carvi	
				Non traitées (%)	Traitées (%)
	<b>Monoterpènes</b>			<b>45,86</b>	<b>44,21</b>
1	$\alpha$ -Pinène	929	1024	0,01	0,01
2	Sabinène	968	1122	0,02	0,01
3	$\beta$ -Myrcène	989	1163	0,15	0,12
4	Limonène	1031	1212	45,59	44
5	$\beta$ -Ocimène	1046	1250	0,04	0,03
6	$\gamma$ -Terpinène	1054	1246	0,05	0,04
	<b>Monoterpènes Oxygénés</b>			<b>53,91</b>	<b>55,52</b>
7	Linalol	1086	1535	0,02	0,01
8	Cis-Limonène oxyde	1127	1445	0,04	0,03
9	Trans-Limonène oxyde	1132	1458	0,01	0,01
10	Cis-Dihydrocarvone	1188	1620	0,03	0,03
11	Isoanéthole	1190	1627	0,02	0,01
12	Trans-Dihydrocarvone	1195	1639	0,08	0,06
13	Carvéol	1226	1869	0,04	0,03
14	Carvone	1218	1763	53,6	55,28
15	Périllaldéhyde	1267	1804	0,06	0,05
16	Anéthol	1273	1842	0,01	0,01
	<b>Sesquiterpènes</b>			<b>0,13</b>	<b>0,1</b>
17	$\beta$ -Elémène	1383	1599	0,03	0,02
18	Trans-Caryophyllène	1409	1611	0,03	0,03
19	$\delta$ -Germacrène	1471	1734	0,06	0,05
	<b>Sesquiterpènes Oxygénés</b>			<b>0,02</b>	<b>0,02</b>
20	Caryophyllène oxyde	1575	2006	0,02	0,02
	<b>Autres composés oxygénés</b>			<b>0,06</b>	<b>0,05</b>
21	Dihydrocarvéol Acétate	1318	1810	0,06	0,05
	<b>Temps de traitement (min.)</b>			<b>30</b>	<b>30</b>
	<b>Temps d'extraction (min.)</b>			<b>180</b>	<b>90</b>
	<b>Rendement (%)</b>			<b>1,68</b>	<b>1,72</b>
	<b>RSD</b>			<b>0,05</b>	<b>0,03</b>
	<b>Total des composés oxygénés (%)</b>			<b>53,99</b>	<b>55,59</b>
	<b>Total des composés non oxygénés (%)</b>			<b>45,99</b>	<b>44,31</b>

<sup>a</sup> Composés chimiques de l'huile essentielle de Carvi classés par familles identifiés par CG-SM sur colonne capillaire apolaire HP5MS<sup>TM</sup>.

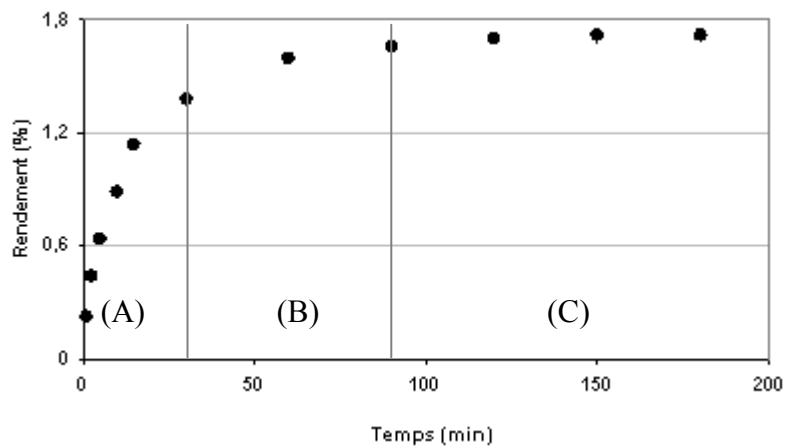
<sup>b</sup> Indices de rétention relatifs calculés par rapport au mélange de n-alcanes C<sub>5</sub>-C<sub>28</sub> sur colonne capillaire apolaire HP5MS<sup>TM</sup>.

<sup>c</sup> Indices de rétention relatifs calculés par rapport au mélange de n-alcanes C<sub>5</sub>-C<sub>28</sub> sur colonne capillaire polaire Stabilwax<sup>TM</sup>.

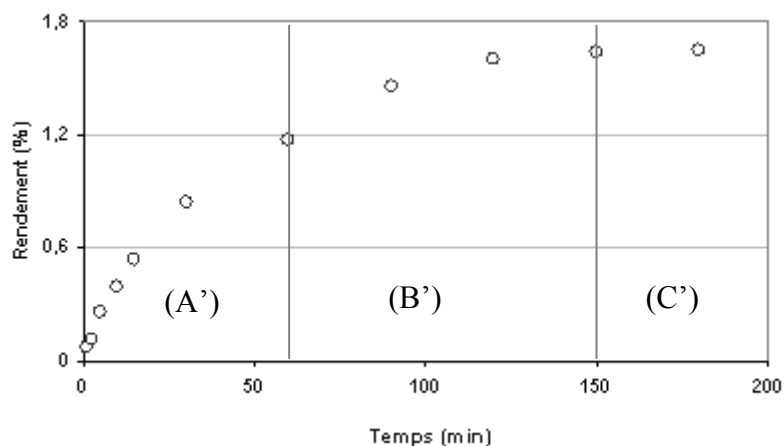
### V.4.2. Cinétique d'extraction

Nous avons suivi les cinétiques d'extraction des huiles essentielles des graines de Carvi obtenues par les procédés HD et HDAUS. L'évolution du rendement en huile essentielle dans les deux techniques présentées dans les Figures (V.2.1, V.2.2) nous fait constater que l'opération d'extraction par HDAUS conduit à l'obtention d'huiles essentielles avec des rendements proches de ceux obtenus par (HD 1,72 % par HDAUS et 1,68 % par HD).

Ces résultats sont d'autant plus intéressants que, par HDAUS le temps d'extraction de 90 minutes permet d'atteindre un rendement maximum alors que la méthode conventionnelle HD nécessite un temps d'extraction de l'ordre de 180 minutes. Ainsi, l'un des avantages que confère la méthode HDAUS est assurément un gain de temps et donc par conséquent une économie d'énergie.



**Figure V.2.1:** Cinétiques d'extraction des huiles essentielles de Carvi obtenues par HDAUS (●).



**Figure V.2.2 :** Cinétiques d'extraction des huiles essentielles de Carvi obtenues et HD (○).

Après le temps de chauffe (nécessaire pour l'obtention de la première goutte d'huile), pour les deux méthodes HD et HDAUS nous avons pu distinguer, trois phases sur les courbes de la cinétique (Figure V.2).

**Dans le cas de l'extraction par HDAUS**, les trois étapes sont décrites comme suit :

- La phase (A) est relative au début de l'extraction. Elle peut être assimilée à une droite croissante représentant une augmentation rapide du rendement de l'huile essentielle de Carvi (environ 80 % sont atteints en seulement 30 minutes).
- La phase (B) correspond à une augmentation très lente du rendement en huile essentielle et ce jusqu'à atteindre le rendement maximum au bout de 90 minutes.
- La phase (C) représente la dernière étape du processus, dans laquelle le rendement en huile essentielle atteint un plateau.

**Dans l'extraction par HD**, le profil de la cinétique, montre également l'existence de trois phases presque similaires à celles décrites par HDAUS mais différentes en termes de temps nécessaires.

En effet, la première partie : phase (A') est également relative au début de l'extraction et ressemble à une droite représentant une extraction plus ou moins rapide de l'huile essentielle (environ 70 % du rendement global est atteint en 60 minutes).

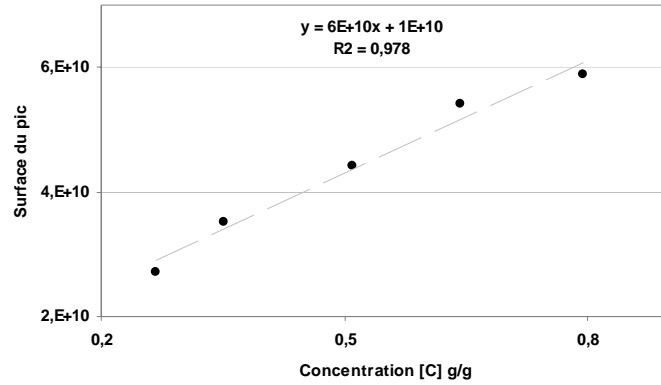
Au cours de la deuxième phase (B'), la courbe augmente lentement jusqu'à atteindre le rendement maximum et requiert 90 minutes.

Enfin, dans la dernière phase (C'), la courbe atteint un palier qui signale la fin de l'extraction. La progression de la cinétique d'hydrodistillation de l'huile essentielle de Carvi est en accord avec celle rapportée en 2005 par Kiran et Kaul sur l'extraction de l'huile essentielle de géranium.

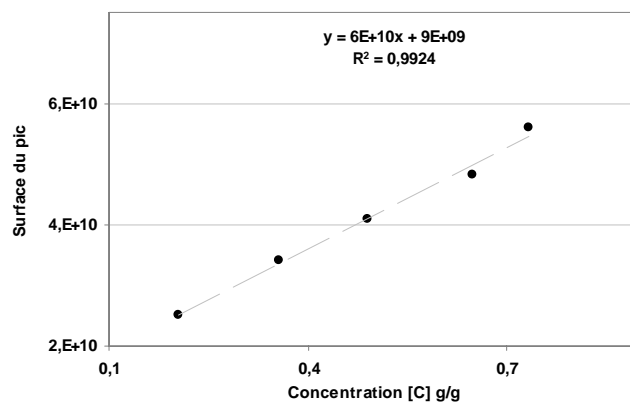
D'autre part, l'exsudation rapide de l'huile essentielle au cours de l'étape initiale pour les échantillons traités par ultrasons peut être attribuée aux forces de cisaillement induites par les phénomènes de cavitation, impliquant des macro-turbulences, ce qui accélère la diffusion interne des particules (Vilkhu 2008), et contribue directement à augmenter le transfert de masse de l'huile essentielle dans le milieu (Jian-Bing 2006).

#### **V.4.3. Evaluation quantitative de la Carvone et du Limonène**

La Carvone et le Limonène sont les deux composés majoritaires retrouvés à plus de 98 % dans les huiles essentielles étudiées. Leur quantification a été réalisée par la méthode d'étalonnage externe, en injectant cinq solutions de mélange des deux étalons à différentes concentrations, pour un intervalle allant de 20 à 80 % en poids (étalon/mélange), sous les mêmes conditions que les extraits analysés. Les courbes de calibration des deux composés sont présentées dans les Figures V.3 et V.4.



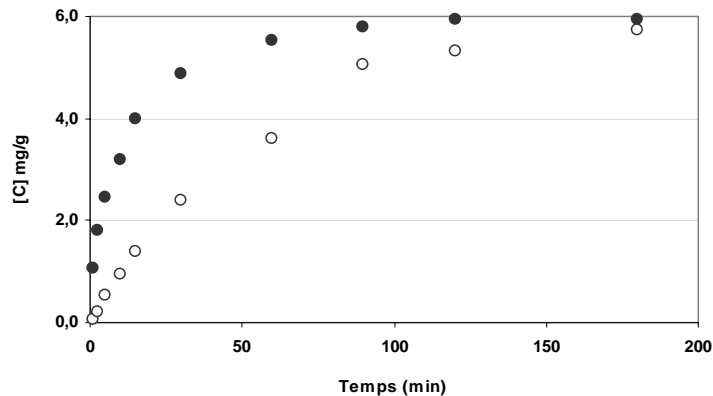
**Figure V.3 :** Courbe de calibration du Limonène.



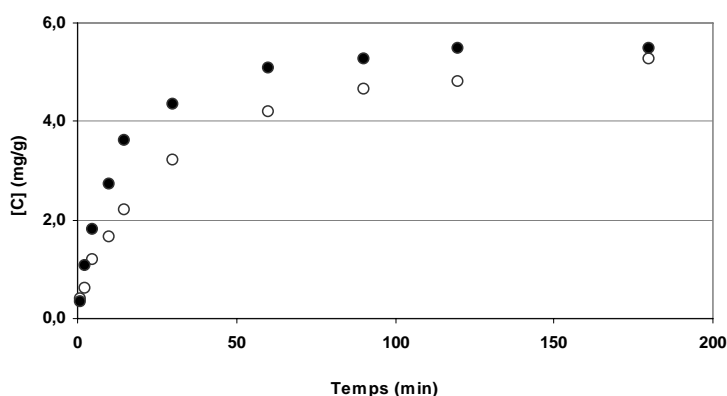
**Figure V.4 :** Courbe de calibration de la Carvone

Nous pouvons constater que la relation entre la surface du pic et la concentration correspondante est bien linéaire dans l'intervalle de concentrations qui nous intéresse. Le facteur de corrélation est de 0,99 pour la Carvone et de 0,98 pour le Limonène.

Au cours de l'étude cinétique d'extraction par les deux méthodes testées, la production horaire de Limonène et de Carvone ont été suivies et représentées dans les Figures V.5 et V.6.



**Figure V.5 :** Evolution de la concentration de la Carvone au cours du temps lors de l'extraction (●) par HDAUS et (○) par HD.



**Figure V.6 :** Evolution de la concentration du Limonène au cours du temps lors de l'extraction (●) par HDAUS et (○) par HD.

Il ressort de ces deux courbes, que la méthode assistée par les ultrasons conduit au rendement le plus élevé en Limonène et en Carvone recueillis dans le distillat. Par contre, la production du Limonène et de la Carvone par HD est légèrement plus faible. Les concentrations correspondantes sont résumées dans le Tableau V.3.

**Tableau V.3 :** Concentration des deux composés majoritaires

	Concentration en (mg/g)	
	Carvone	Limonène
HD	5,73	5,28
HDAUS	5,93	5,47

Le Tableau V.4 regroupe les résultats du rapport de concentration Carvone/Limonène par les deux méthodes HD et HDAUS durant l'extraction des huiles essentielles contenues dans les graines de Carvi

**Tableau V.4 :** Evolution du rapport de concentration Carvone/Limonène dans les huiles obtenues par HD et HDAUS.

Rapport	Méthode	Temps d'extraction									
		1	2,5	5	10	15	30	60	90	120	180
Carvone / Limonène	HD	0,18	0,33	0,44	0,56	0,64	0,75	0,86	1,09	1,09	1,09
	HDAUS	3,24	1,68	1,37	1,17	1,12	1,11	1,10	1,09	1,08	1,08

Le rapport Carvone/Limonène est un critère déterminant pour la qualité des graines de Carvi (Sedláková et coll. 2003). En analysant le rapport Carvone/Limonène des huiles essentielles obtenues par les deux méthodes pour différents temps, on remarque que la valeur maximale de ce rapport est de 1,09 pour la HD. Elle est atteinte après 90 minutes d'extraction. Cette même valeur, minimale pour la HDAUS, est également atteinte aussi après 90 minutes d'extraction. Mais la valeur maximale de ce rapport pour la HDAUS est de 3,24 après seulement 1 minute de distillation.

Il est à noter que des valeurs proches de 1,1 avaient été trouvées par Baysal et Starman (1999) et Chemat et coll. (2004) dans leurs travaux.

Ces résultats sont très intéressants en termes de sélectivité, du fait que l'extraction assistée par ultrasons offre un échantillon très riche en composés oxygénés (principalement la Carvone) en un temps relativement très court (1 minute). A la lecture de ces résultats, une question fondamentale vient à l'esprit : comment les ultrasons influent-ils sur la sélectivité de l'extraction ?

### V.5. Modélisation des données cinétiques

Dans le but d'exploiter les données expérimentales obtenues lors du suivi cinétique de l'extraction et afin de comprendre les phénomènes qui interviennent durant les procédés employés, une modélisation mathématique des extractions a été tentée par application de deux modèles différents de cinétiques connues.

Le premier modèle considère l'existence d'un seul site avec une vitesse constante régie par l'équation suivante :

$$\frac{Y(t)}{Y_{\infty}} = 1 - e^{-k.t}$$

Y (t) : Rendement obtenu après un temps t

$Y_{\infty}$  : Rendement maximal obtenu

k : Constante de vitesse à l'étape initiale

t : Temps

En 1995, Chen et Spiro ont tenté de leur côté de modéliser l'extraction par micro-ondes de métabolites secondaires à partir des feuilles de menthe et de romarin en se basant sur l'équation de l'état quasi-stationnaire. Les résultats obtenus s'étaient nettement écartés des données expérimentales.

Le deuxième modèle proposé en 1977 par Cerf et coll., se base sur l'existence de deux sites distincts : le premier, relève de la fraction facilement extractable (sites exogènes) avec une vitesse de désorption très grande  $k_1$  (fraction rapide), et le second contient la fraction difficilement accessible (sites endogènes), avec une faible vitesse de désorption  $k_2$  (fraction lente). L'équation peut s'écrire comme suit :

$$\frac{Y(t)}{Y_{\infty}} = 1 - f.e^{-k_1.t} - (1 - f).e^{-k_2.t}$$

f : Fraction extraite rapidement,

$k_1$  : Constante de vitesse d'extraction de la fraction rapide (modèle des deux sites)

$k_2$  : Constante de vitesse d'extraction de la fraction lente (modèle des deux sites)

Kubàtovà et Coll ., ont rapporté que l'extraction des huiles essentielles de la *Satureja hortensis* par fluide supercritique (CO<sub>2</sub>) s'effectuait en deux étapes distinctes : la première, appelée « étape rapide », concernait la masse du composé faiblement attaché à la matrice et la seconde, appelée « étape lente », était associée à la masse du composé fortement lié à la matrice. Ils ont constaté également que le modèle des deux sites retraçait exactement la cinétique d'extraction.

D'autre part, les résultats obtenus en 2005 par Chemat (sites endogènes) et en 2007 par Ferhat (sites exogènes) lors de leur étude du modèle des « deux sites » avaient montré que celui-ci décrivait parfaitement les méthodes d'extraction d'huiles essentielles.

Dans le but d'appliquer ces deux modèles, les fonctions sont pré-introduites dans le logiciel Microcal Origin et ont permis d'adapter à ce modèle nos données expérimentales et d'en tirer les résultats reportés dans le Tableau V.5.

**Tableau V.5** : Résultats de la modélisation de la cinétique d'extraction.

Méthode	Site unique	Deux sites		
	k (min <sup>-1</sup> )	f	k <sub>1</sub> (min <sup>-1</sup> )	k <sub>2</sub> (min <sup>-1</sup> )
HD	0,0687	0,38	0,0269	0,0284
HDAUS	0,1075	0,66	0,0717	0,0343

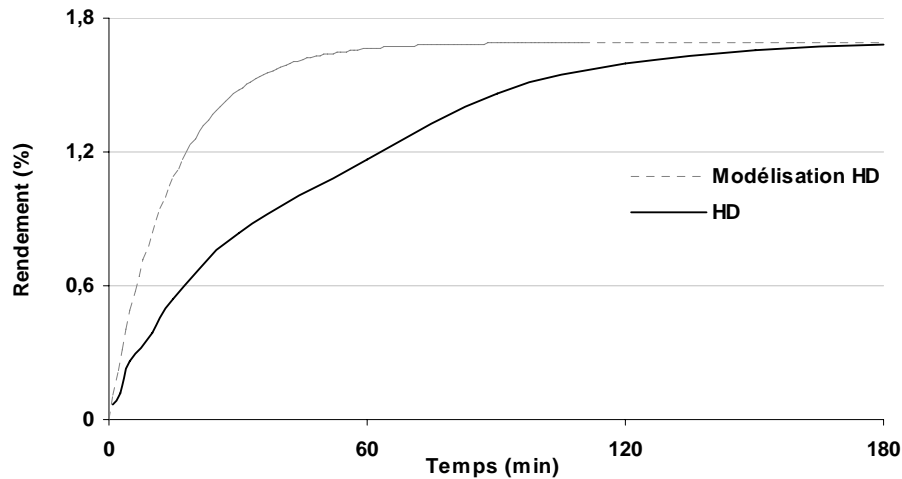
f : fraction extraite rapidement,

k : constante de vitesse d'extraction (modèle du site unique)

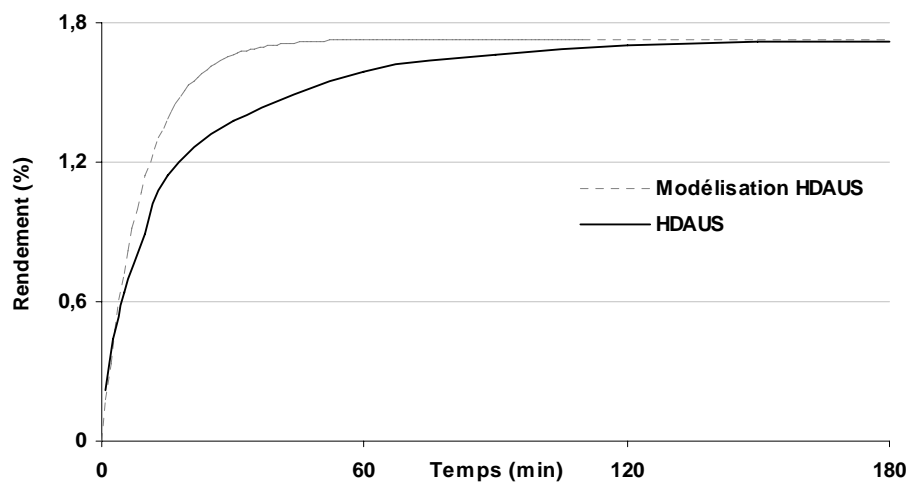
k<sub>1</sub> : constante de vitesse d'extraction de la fraction rapide (modèle des deux sites)

k<sub>2</sub> : constante de vitesse d'extraction de la fraction lente (modèle des deux sites)

L'application du modèle du « site unique » à la cinétique d'extraction par HD et par HDAUS a permis d'aboutir aux résultats présentés dans les Figures V.7 et V.8, et pour lesquelles on constate que le modèle appliqué ne reflète pas la réalité expérimentale avec des écarts types qui atteignent respectivement 44% et 20% pour la HD et la HDAUS . Les huiles essentielles obtenues par HD se caractérisent par une constante de vitesse d'extraction égale à 0,0687 min<sup>-1</sup> alors que pour l'extraction HDAUS cette dernière est de 0,1075 min<sup>-1</sup> comme le montre le Tableau V.6.



**Figure V.7 :** Application du modèle du « site unique » à la cinétique d'extraction par HD de l'HE de Carvi.



**Figure V.8 :** Application du modèle du « site unique » à la cinétique d'extraction par HDAUS de l'HE de Carvi.

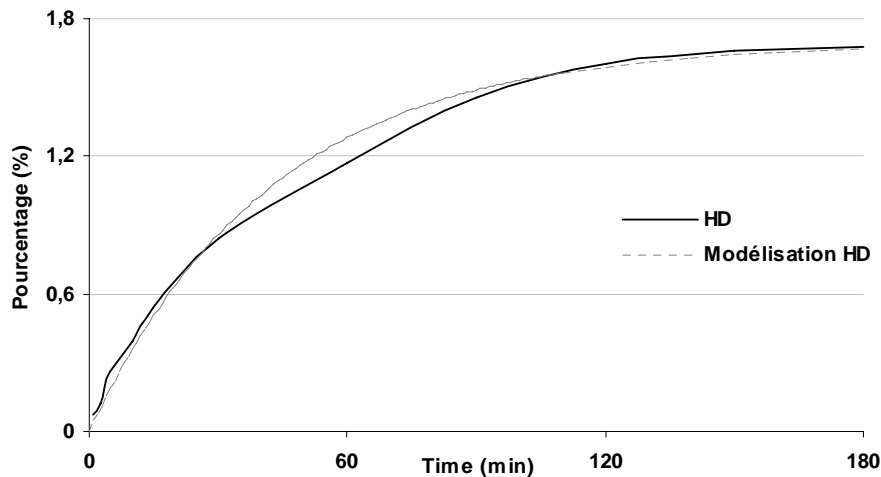
Les résultats de l'application du modèle des « deux sites » à la cinétique d'extraction par les deux méthodes étudiées sont représentés dans les Figures V.9 et V.10. Ils montrent que ce modèle se rapproche de la réalité expérimentale avec des écarts types qui ne dépassent pas respectivement 3% et 7% pour la HDAUS et la HD et qu'il peut s'adapter aux deux méthodes d'extraction. Les données issues de la modélisation de l'extraction par HD indiquent (Tableau V.6) que 38% du rendement final se trouvent dans la fraction rapidement extraite ( $f = 0,38$ ), alors que ce pourcentage croît à 66% ( $f = 0,66$ ) pour la HDAUS.

En analysant les constantes de vitesse d'extraction (Tableau V.6), nous observons la présence de deux périodes :

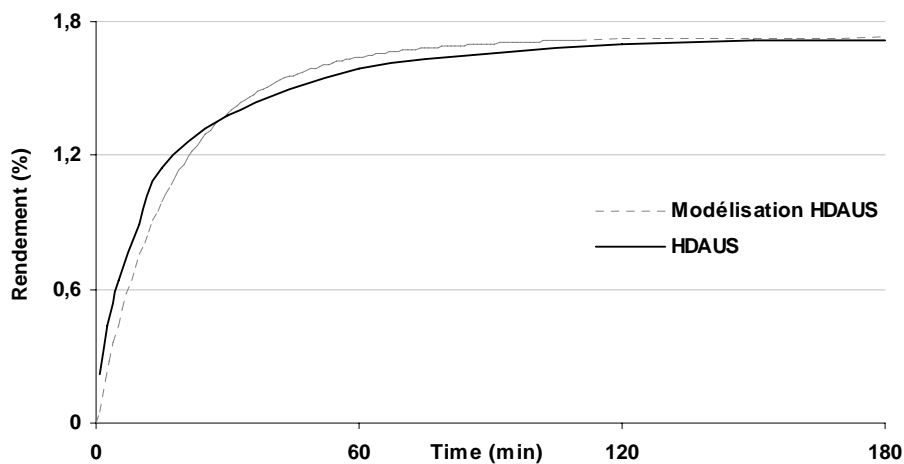
- La première où la constante de vitesse d'extraction de la fraction extraite rapidement  $k_1$  est de  $0,0717 \text{ min}^{-1}$  pour la HDAUS contre  $0,0269 \text{ min}^{-1}$  pour la HD. Elle correspond à

l'extraction de l'huile faiblement liée à la graine et qui se fait par simple évaporation.

- La seconde période où la constante de vitesse d'extraction de la fraction extraite lentement  $k_2$  est de  $0,0343 \text{ min}^{-1}$  pour la HDAUS et de  $0,0284 \text{ min}^{-1}$  pour la HD. Elle est attribuée à l'extraction de l'huile essentielle fortement liée à la graine.



**Figure V.9 :** Application du modèle des « deux sites » à la cinétique d'extraction de l'HE de Carvi selon la méthode d'extraction HD.



**Figure V.10 :** Application du modèle des « deux sites » à la cinétique d'extraction de l'HE de Carvi selon la méthode d'extraction HDAUS.

La procédure assistée par ultrasons présente une augmentation significative du rendement au cours des 30 premières minutes d'extraction, (plus de 80% des composés sont extraits à ce stade), contrairement à l'hydrodistillation qui nécessite 90 minutes pour extraire la même quantité.

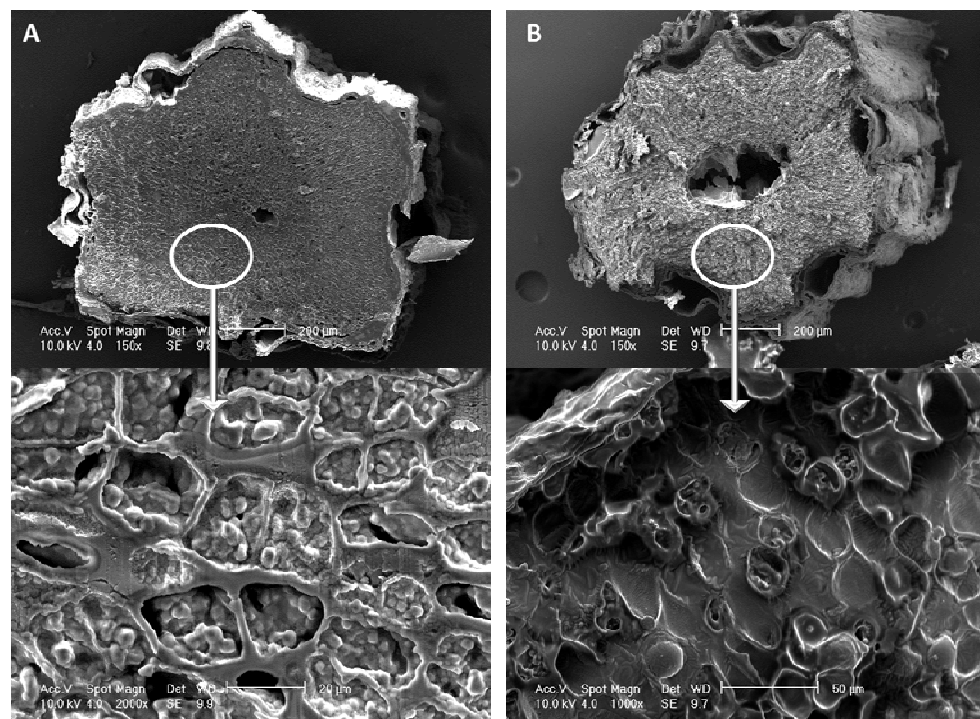
Les résultats de la modélisation mathématique de la cinétique d'extraction par hydrodistillation sont en adéquation avec ceux de Romdhan et Tizaoui (2005) sur l'étude de l'hydrodistillation de l'huile essentielle d'anis.

## V.6. Compréhension des phénomènes mis en jeu lors de la HDAUS

### V.6.1. Effet sur la morphologie des graines

Pour une meilleure compréhension des phénomènes d'extraction de l'huile essentielle de Carvi assistée par les ultrasons, des fragments de graines de Carvi ont été prélevés après extraction et observés ensuite par microscopie électronique à balayage. Les micrographies obtenues ont été comparées à celles des graines non traitées. Le protocole expérimental de la microscopie électronique à balayage est détaillé dans le Chapitre IV.

Cette étude a permis d'observer l'état des cellules avant et après extraction comme le montre les photos (A)-(B) de la Figure V.11.



**Figure V.11:** Micrographies MEB montrant la morphologie d'une graine de Carvi (A) non traitée, (B) après extraction traitée par ultrasons

L'analyse par microscopie électronique à balayage de la graine de Carvi avant traitement (Figure V.11 (A)) a permis d'observer l'huile essentielle emmagasinée dans des glandes sécrétrices à l'intérieur de l'espace intercellulaire.

Lors de l'extraction conventionnelle (hydrodistillation) ces glandes d'huile essentielle vont lentement se vider de leurs contenus sous l'effet combiné d'une diffusion passive et d'un stress thermique, alors que pour l'extraction assistée par ultrasons, les bulles de cavitation générées par les ultrasons permettent l'explosion des glandes (Figure V.11 (B)). Cette

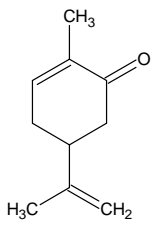
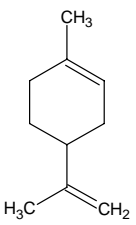
dernière va provoquer une extraction plus rapide puisque le contenu de la glande est directement libéré dans le milieu environnant (solvant d'extraction). Ceci explique la différence de cinétique observée lors de l'hydrodistillation.

### V.6.2. Effet de la température

Durant l'extraction de l'huile essentielle de Carvi par HD ou HDAUS, l'évolution de la température s'effectue en deux étapes : la première, est représentée par une droite croissante jusqu'à l'obtention d'une température sensiblement égale à la température d'ébullition de l'eau (100 °C). On observe ainsi l'apparition de la première gouttelette d'huile essentielle. Pour la HDAUS, le temps nécessaire à l'obtention de la première goutte correspond à 35 minutes alors que pour la HD, 45 minutes sont indispensables. Durant la seconde étape, la température d'extraction se traduit par un palier de température situé au niveau de la température d'ébullition de l'eau à la pression atmosphérique (100°C).

Le temps nécessaire à l'obtention de la première goutte pour la HDAUS est plus court que pour la HD. Cela est dû à l'augmentation de la surface de contact du végétal avec l'eau. En effet, sous l'influence des ultrasons, les parois cellulaires des graines de Carvi se détruisent et augmentent le nombre de particules dans le milieu. Les températures d'ébullition des deux molécules principales de l'huile essentielle de Carvi sont reportées dans le Tableau V.6. Elles ont été calculées par le logiciel de calcul spécifique « ACD boiling point 9.0 ».

**Tableau V.6:** Composés majoritaires de l'huile essentielle de Carvi.

	<b>Carvone</b>	<b>Limonène</b>
<b>Structure</b>		
<b>Point d'ébullition (°C)</b>	231	175
<b>Solubilité (g/L)</b>	1,6	0,00042
<b>Moment dipolaire (D)</b>	24	14

A la lecture du Tableau V.6, une question se pose : Comment ces composés qui ont des températures d'ébullition supérieures à celle de l'eau (175°C pour le Limonène et 231 °C pour la Carvone) distillent à 100°C.

D'après Wallas (1985), plusieurs études ont été menées par le passé concluant que les molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique et que la

température d'ébullition du 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.

### V.6.3. Effet de la solubilité

D'après Lagunez Rivera et Vilarem (2007), dès 1851 Zeller étudia la cinétique d'extraction de l'huile essentielle de Carvi et constata que la fraction oxygénée (la moins volatile), est recueillie avant les hydrocarbures. Cependant il n'a pu donner une explication satisfaisante à ce phénomène. Quelques décennies plus tard, en 1910, Von Rechenberg entreprit une étude fondamentale sur la distillation des huiles essentielles de quelques ombellifères. Il obtint des résultats similaires à ceux de Zeller. Il publia un ouvrage en allemand intitulé « Theorie der gewinnung und trennung der ätherischen öle » dans lequel il considéra que la température d'ébullition des constituants ne permettait pas à elle seule d'expliquer l'ordre de distillation, mais que l'eau bouillante, pénétrait dans les cellules végétales, solubilisait une partie de l'essence des glandes sécrétrices. La solution aqueuse, chargée de composés terpéniques, diffuserait ensuite à travers une épaisseur de tissu vers la surface extérieure où l'huile essentielle serait vaporisée et entraînée sous forme d'azéotrope. Ce type de transport serait contrôlé par la polarité des constituants et donc il dépendrait de leurs solubilités dans l'eau. Plus récemment, en 1982, Koedam et coll. reprennent les théories de Von Rechenberg et expliquent que les produits polaires se solubilisent dans le milieu réactionnel dès que l'on commence à le chauffer et qu'une fois le milieu épuisé en molécules solubles dans l'eau, les hydrocarbures tels que les monoterpènes commencent alors à être entraînés par la vapeur d'eau.

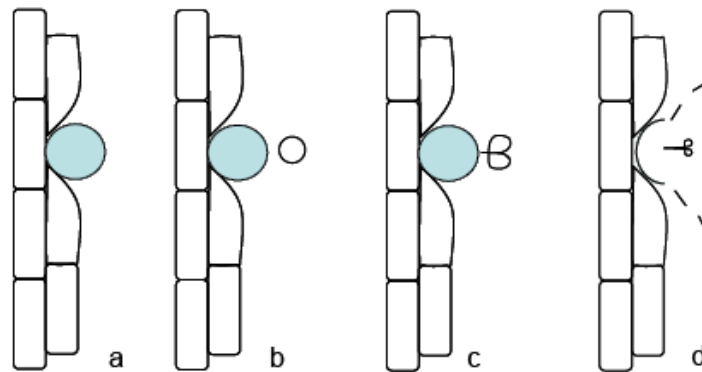
La Carvone qui est un composé oxygéné, possède une solubilité de 1,6 g par litre d'eau alors que celle du Limonène n'est que de 0,00042 g par litre d'eau (Tableau V.6), c'est-à-dire très proche de zéro. Cette différence de solubilité favorise une extraction sélective.

### V.7. Mécanisme proposé

La synthèse des diverses études énumérées ci-dessus de l'effet des ultrasons sur la morphologie de la graine, de l'effet de la température d'ébullition, de la solubilité des molécules qui constituent l'huile essentielle ainsi que de la cinétique d'extraction a permis de faire ressortir un mécanisme possible spécifique aux ultrasons.

Ce mécanisme, dans lequel le contenu de la glande est directement libéré dans le milieu environnant, suite à l'explosion des glandes provoquées par l'implosion des bulles de

cavitation générées par les ultrasons, a été schématisé (Figure V.12) par Veillet et coll. (2010).



**Figure V.12 :** Représentation d'une bulle de cavitation implosant à la surface d'une poche d'huile essentielle, a) schéma en coupe du profil d'une glande d'huile essentielle, b) création d'une bulle de cavitation, c) implosion de la bulle de cavitation d) destruction de la glande et diffusion de l'huile essentielle dans le milieu

### Conclusion

Dans ce chapitre, on a montré que l'extrait de l'huile essentielle à partir de graines de Carvi traitées par les ultrasons était de même qualité que celui obtenu par extraction conventionnelle.

De plus, l'extraction assistée par ultrasons de l'huile essentielle de graines de Carvi est sélective pour les composés oxygénés avec des temps d'extraction plus courts.

Le traitement par ultrasons produit des changements très remarquables sur les parois cellulaires des graines de Carvi, tel que révélé par la micrographie des graines soniquées pendant 30 minutes. En effet, les parois cellulaires sont plus endommagées, ce qui permet d'expliquer la rapidité de l'extraction. Ces résultats confirment la théorie proposée par Lauterborn et coll. (1980), qui ont estimé que la vitesse de ce microjet était de l'ordre de 400 km/h. Les forces de l'impact sur le solide, sont alors considérables, pouvaient causer de sérieux dommages au point d'impact.

## Références

Assami K., Pingret D., Chemat S., Meklati B.Y., Chemat F. (2012). Ultrasound induced intensification and selective extraction of essential oil from *Carum carvi* L. seeds. *Chem. Eng. Process.* 62, 99-105.

Bailer J., Aichinger T., Hackl G., De Hueber K., Dachler M. (2001). Essential oil content and composition in commercially available dill cultivars in comparison to caraway. *Ind. Crop. Prod.* 14, 229-239.

Baysal T., Starmans D.A.J. (1999). Supercritical carbon dioxide extraction of carvone and limonene from caraway seed. *J. Supercrit. Fluid.* 14, 225-234.

Bouwmeester H.J., Davies J.A.R., Toxopeus H. (1995). Enantiomeric composition of carvone, limonene and carveol in seeds of dill and annual and biennial caraway varieties. *J. Agric. Food Chem.* 43, 3057-3064.

Cerf O. (1977). Tailing of survival curves of bacterial spores. *J. App. Bacteriol.* 42, 1-9.

Chemat S., Lagha A., Ait Amar H., Bartels P.V., Chemat F. (2004). Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds, *Flavour Frag. J.* 19, 188-195.

Chemat S. « Contribution à l'étude de l'extraction de la carvone et du limonène à partir des graines de Carvi selon des procédés conventionnels, ultrasons et chauffage micro-ondes : Application à l'extraction de polluants organiques de type PCBs et à l'oxydation des acides humiques ». Thèse de Doctorat USTHB, 2005.

Chen S.S., Spiro M. (1995). Kinetics of microwave extraction of Rosemary leaves in hexane, ethanol, and a hexane + ethanol mixture. *Flavor Frag. J.* 10, 101-112.

Clevenger J.F. (1928). Apparatus for volatile oil determination. *Amer. Perfum. Essent. Oil Rev.* 23, 467-503.

Farhat A., Fabiano-Tixier A.S., Visinoni F., Romdhane M., Chemat F. (2010). A surprising method for green extraction of essential oil from dry spices: microwave drydiffusion and gravity. *J. Chromatogr. A.* 1217, 7345-7350.

Ferhat M.A. « Extraction sans solvant assistée par micro-ondes des huiles essentielles des Citrus d'Algérie : Compréhension, Application et Valorisation ». Thèse de Doctorat USTHB, 2007.

Kiran Babu G.D., Kaul V.K. (2005). Variation in essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium sp.*) distilled by different distillation techniques. *Flavour Frag. J.* 20, 222-231.

Koedam A., Margaris N., Vokou D. (1982). « Aromatic plants: Basic and Applied Aspects ». Martinus Nijhoff publishers, The Hague, Netherland.

- Jian-Bing J., Xiang-hong L., Mei-qiang C., Zhi-chao X. (2006) Improvement of leaching process of geniposide with ultrasound, *Ultrason. Sonochem.* 13, 455-462.
- Kubátová A., Jansen B., Vaudoisot J.F., Hawthorne S. B. (2002). Thermodynamic and kinetic models for the extraction of essential oil from savory and polycyclic aromatic hydrocarbons from soil with hot (subcritical) water and supercritical CO<sub>2</sub>. *J. Chromatogr. A.* 975, 175-188.
- Lagunez Rivera L., Vilarem G. (2007). Hydrodistillation of caraway by Direct Induction Heating-assisted by Magnetic Field process. *Flavour Frag. J.* 22, 178-183.
- Lauterborn W., «Cavitation and Inhomogeneities», Springer Verlag, Berlin, 1980, p.3-12.
- Pourmortazavi S.M., Hajimirsadeghi S.S. (2007). Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *J. Chromatogr. A.* 1163, 2-24.
- Romdhane M., Tizaoui C. (2005). The kinetic modelling of a steam distillation unit for the extraction of aniseed (*Pimpinella Anisum*) essential oil. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 80, 759-766.
- Sedláková J., Kocourková B., Lojková L., Kubáň V. (2003). Determination of essential oil content in caraway (*Carum carvi* L.) species by means of supercritical fluid extraction. *Plant Soil Environ.* 49, 277-282.
- Veillet S., Tomao V., Chemat F. (2010). Ultrasound assisted maceration an original procedure for direct aromatisation of olive oil with basil. *Food Chem.* 123, 905-911.
- Vilkhu K., Mawson R., Simons L., Bates D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry. A review, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9, 161-169.
- Von Rechenberg C. (1910). « Theorie der gewinnung und trennung der ätherischen öle ».Selbstverlag.Von Schimmel & Co, Berlin, Deutschland.
- Wallas S. M. (1985). « Phase equilibria in Chemical Engineering ». Butterworth Publishers: Stoneham, USA.
- Zeller G.H. (1851). *Jahrbush für Praktische Farmakology.* Verw. Bicher. 19, 292.

**Chapitre VI**  
**Extraction de l'huile essentielle après épuisement**  
**des phases liquide et solide**

### VI.1. Introduction

L'étude réalisée dans le Chapitre V, nous a conduit à faire une autre investigation, à savoir la séparation de la phase liquide de la phase solide après traitement aux ultrasons.

Nous avons appliqué les mêmes conditions opératoires insérées dans le chapitre précédent, en ajoutant une étape liée à la de séparation des phases.

### VI.2. Evaluation du rendement d'extraction

Le Tableau VI.1 regroupe les résultats des rendements en huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des phases liquides et solides des graines de Carvi traitées et non traitées aux ultrasons.

**Tableau VI.1:** Rendement en huile essentielle des phases liquide et solide des graines de Carvi traitées et non traitées aux ultrasons.

	Rendement moyen (%)	
	Phase solide	Phase liquide
<b>Graines traitées</b>	0,65 ± 0,03	1,05 ± 0,03
<b>Graines non traitées</b>	1,04 ± 0,05	0,62 ± 0,08

Les résultats obtenus dans cette étude sont surprenants dans la mesure où on trouve beaucoup plus d'huile essentielle dans la phase liquide que dans la phase solide pour les graines traitées, contrairement aux graines non traitées où on trouve plus d'essence dans la phase solide que dans la phase liquide.

### VI.3. Analyse qualitative

Les huiles essentielles obtenues ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) sur deux colonnes capillaires de polarité différentes, l'une apolaire (HP5-MS) et l'autre polaire (Stabilwax). Les conditions opératoires sont détaillées dans la partie expérimentale. Les compositions qualitatives et quantitatives des deux huiles essentielles sont présentées dans le Tableau IV.2. L'identification des composés est basée sur le dépouillement de leurs spectres de masse et sur les indices de rétention calculés à partir d'une série de n-alcanes allant de C<sub>5</sub> à C<sub>28</sub> et injectés sous les mêmes conditions opératoires.

**Tableau VI.2** : Composition chimique de l'huile essentielle extraite dans les phases liquide et solide des graines de Carvi traitées et non traitées.

n°	Composés <sup>a</sup>	R.I. <sup>b</sup>	R.I. <sup>c</sup>	Graines non traitées		Graines traitées	
				PLN (%)	PSN (%)	PLT (%)	PST (%)
	<b>Monoterpènes</b>			<b>40,38</b>	<b>44,68</b>	<b>32,61</b>	<b>54,75</b>
1	$\alpha$ -pinène	929	1024	0,01	0,02	0,01	0,04
2	Sabinène	968	1122	0,01	0,03	0,02	0,06
3	$\beta$ -Myrcène	989	1163	0,16	0,25	0,15	0,25
4	Limonène	1031	1212	40,10	44,23	32,34	54,15
5	$\beta$ -Ocimène	1046	1250	0,07	0,08	0,05	0,16
6	$\gamma$ -Terpinène	1054	1246	0,03	0,06	0,05	0,10
	<b>Monoterpènes oxygénés</b>			<b>58,98</b>	<b>54,56</b>	<b>65,99</b>	<b>44,00</b>
7	Linalol	1086	1535	0,03	0,04	0,03	0,06
8	Cis-Limonène oxyde	1127	1445	0,03	0,07	0,08	0,04
9	Trans-Limonène oxyde	1132	1458	0,02	0,05	0,04	0,02
10	Cis Dihydrocarvone	1188	1620	0,03	0,03	0,03	0,07
11	Isoanéthole	1190	1627	0,04	0,04	0,05	0,09
12	Trans-Dihydrocarvone	1195	1639	0,03	0,08	0,12	0,04
13	Carvéol	1226	1869	0,03	0,04	0,04	0,04
14	Carvone	1218	1763	58,68	54,15	65,54	43,56
15	Périllaldéhyde	1267	1804	0,06	0,05	0,06	0,06
16	Anéthole	1273	1842	0,02	0,01	0,02	0,01
	<b>Sesquiterpènes</b>			<b>0,32</b>	<b>0,28</b>	<b>0,32</b>	<b>0,36</b>
17	$\beta$ -Elémène	1383	1599	0,11	0,09	0,08	0,12
18	Trans-Caryophyllène	1409	1611	0,09	0,11	0,13	0,11
19	$\delta$ -Germacrène	1471	1734	0,11	0,08	0,11	0,13
	<b>Sesquiterpènes Oxygénés</b>			<b>0,01</b>	-	<b>0,02</b>	-
20	Caryophyllène oxyde	1575	2006	0,01	-	0,02	-
	<b>Autre composés oxygénés</b>			<b>0,05</b>	<b>0,10</b>	<b>0,08</b>	<b>0,06</b>
21	Acétate Dihydrocarvéol	1318	1810	0,05	0,10	0,08	0,06

<sup>a</sup> Composés chimiques de l'huile essentielle de Carvi classés par famille et identifiés par CG-SM sur colonne capillaire apolaire (HP5MS<sup>TM</sup>).

<sup>b</sup> Indice de rétention calculé par rapport au mélange de n-alcanes C<sub>5</sub>-C<sub>28</sub> sur colonne capillaire apolaire (HP5MS<sup>TM</sup>).

<sup>c</sup> Indice de rétention calculé par rapport au mélange de n-alcanes C<sub>5</sub>-C<sub>28</sub> sur colonne capillaire polaire (Stabilwax<sup>TM</sup>).

**PLN** Phase Liquide des graines Non traitées

**PLT** Phase Liquide des graines Traitées

**PSN** Phase Solide des graines Non traitées

**PST** Phase Solide des graines Traitées

L'analyse qualitative des huiles essentielles des graines de Carvi traitées et non traitées issues des phases liquides et solides nous a permis d'identifier 21 composés.

Les monoterpènes oxygénés retrouvés dans la phase liquide correspondent à 58,98 % du total de l'essence issue des graines non traitées et à 65,99 % de celles des graines traitées. Inversement, cette famille de composés est présente dans l'huile essentielle de la phase solide à 54,56 % pour les graines non traitées et à 44 % pour les graines traitées.

Les hydrocarbures monoterpéniques constituent respectivement 40,38 % et 32,61 % des huiles essentielles des phases liquides des graines non traitées et traitées. A l'inverse, pour les phases solides, ils représentent respectivement 44,68 % et 54,75% de l'huile, pour les graines non traitées et traitées.

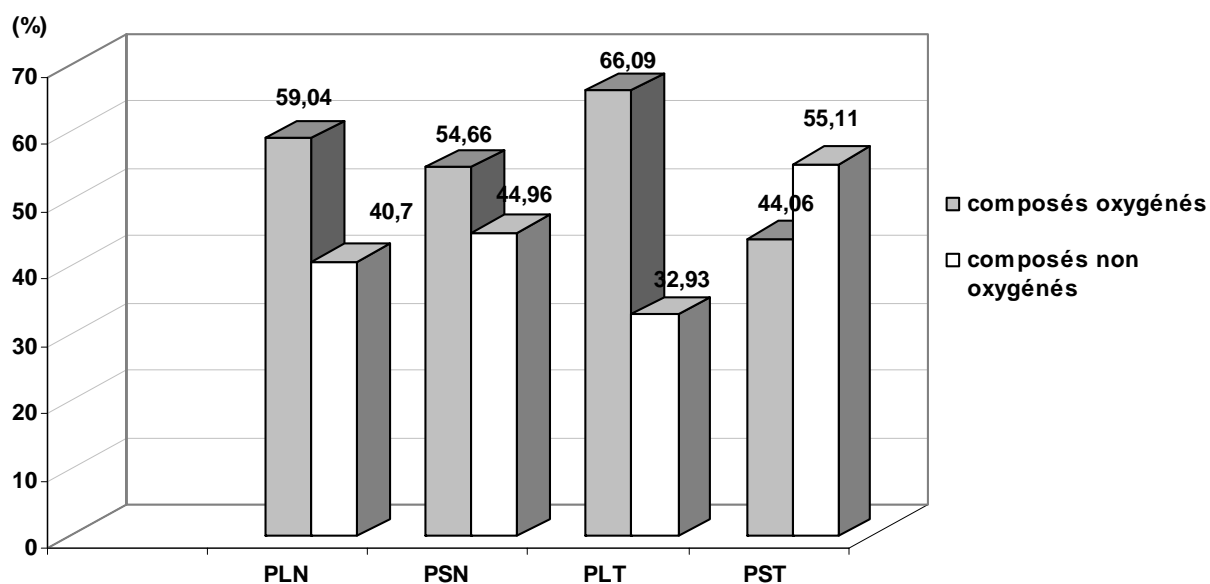
Quel que soit le type de phase (liquide ou solide) extraite et le traitement (ultrasons ou non) des graines, la Carvone et le Limonène restent toujours les deux composés majoritaires des huiles essentielles de Carvi.

En effet, le Limonène est présent respectivement à 40,10 % et à 32,34 % dans les phases liquides pour les graines non traitées et traitées, alors que pour les phases solides, il représente 44,23 % et 54,15 % du total des extraits obtenus respectivement pour les graines non traitées et traitées.

De même, la Carvone constitue 58,68 % et 65,54 % de la teneur en essence des phases liquides, respectivement à partir de graines non traitées et traitées, alors que, pour les phases solides, elle est présente à 54,15 % et à 43,56 %, respectivement pour les graines non traitées et traitées.

On remarque que la Carvone correspond à près des deux tiers de l'huile essentielle issue de la phase liquide des graines traitées. Ceci confirme le caractère sélectif des ultrasons sur les produits polaires (Assami et coll. 2012), car selon Vinatoru (2001), les ultrasons favorisent la diffusion et modifient l'ordre de distillation des constituants en rendant leur solubilisation plus facile.

D'autres composés sont présents avec des teneurs relativement faibles tels que le  $\beta$ -Myrcène avec 0,16 % et 0,15 % respectivement pour les phases liquides pour les graines non traitées et traitées, alors que pour les phases solides, sa teneur est de 0,25 % aussi bien pour les graines traitées que non traitées. On remarque que ce produit, non polaire, est présent avec des quantités plus importantes dans les phases solides des graines traitées et non traitées, que dans les phases liquides. La teneur du carvéol reste constante (0,03% et 0,04 %) alors que celle du trans-Caryophyllène fluctue de 0,09 % à 0,13 %.



**Figure VI.1 :** Histogramme de la composition des l'huile essentielles des graines de Carvi traitées et non traitées issues des phases liquides et solides. (**PLN**: phase liquide des graines non traitées, **PLT**: phase liquide des graines traitées, **PSN**: phase solide des graines non traitées et **PST**: phase solide des graines traitées)

Les huiles essentielles des phases liquides issues des graines non traitées et traitées sont principalement constituées de composés oxygénés avec des teneurs respectives de 59,04 % et de 66,09 %. Dans la phase solide, on retrouve une huile essentielle riche en composés non oxygénés (55,11 %) dans le cas des graines traitées, à l'opposé des graines non traitées où la fraction oxygénée était plus abondante (54,66 %). Dans la phase solide issue des graines traitées, on remarque que l'huile n'est formée seulement que de 44,06 % de composés oxygénés, alors que pour l'huile issue de la phase solide des graines non traitées, les composés non oxygénés atteignent 44,96 % de la teneur totale.

D'autre part, les taux des composés non oxygénés sont respectivement de 40,70 % et de 32,93 % pour les phases liquides issues des graines non traitées et traitées.

Pour les graines traitées par ultrasons, la fraction oxygénée occupe plus de 66 % de la teneur en essence dans les phases liquides, alors que les phases solides contiennent principalement des composés non oxygénés à plus de 55 %. Ceci confirme encore une fois le caractère sélectif de l'extraction sous l'effet des ultrasons par rapport au milieu choisi car selon Colic et Morse (1998), l'eau peut avoir une activité modifiée en présence de radiations ultrasonores et son effet de solubilisation devient alors plus grand, ce qui influe grandement sur l'extraction.

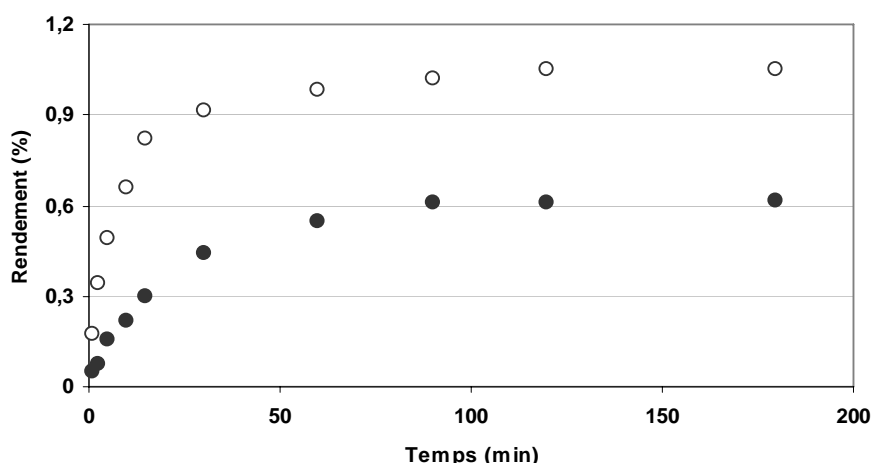
#### VI.4. Cinétique d'extraction

La cinétique d'extraction des huiles essentielles de graines de Carvi traitées et non traitées par ultrasons issues des phases liquides et solides, a été suivie et représentée dans les Figures VI.2 (phases liquides) et VI.3 (phases solides).

D'après la Figure VI.2, nous pouvons constater que l'évolution du rendement en huile essentielle pour la phase liquide est nettement plus rapide pour les graines traitées que pour celles non traitées. Les rendements maximaux atteints sont de l'ordre de 1,05 % pour les graines traitées et de 0,62 % pour les graines non traitées.

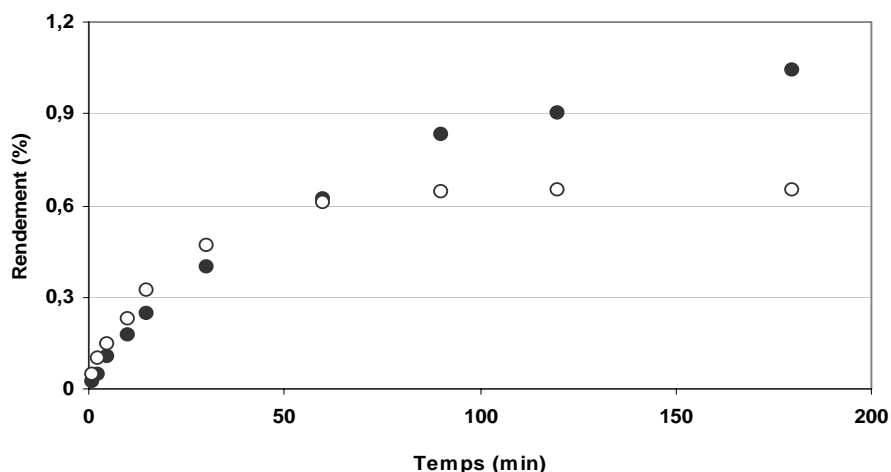
De plus, ces rendements sont atteints au bout de 90 minutes environ pour les graines traitées alors que les graines non traitées nécessitent un temps d'extraction plus important (120 minutes).

Ainsi, pour les échantillons traités par ultrasons, l'un des avantages de l'extraction de l'essence de Carvi après la séparation des phases est incontestablement le gain de temps et donc par conséquent l'économie d'énergie.



**Figure VI.2 :** Rendement de l'huile essentielle de Carvi en fonction du temps pour la phase liquide (○) graines traitées par ultrasons, (●) graines non traitées par ultrasons.

Dans le cas de la phase solide (Figure VI.3), les rendements maximaux atteints sont de 0,65 % pour les graines traitées et de 1,04 % pour les graines non traitées. Ces rendements sont obtenus au bout de 90 minutes d'extraction pour les graines traitées alors que pour les graines non traitées 180 minutes sont nécessaires.



**Figure VI.3 :** Rendement de l'huile essentielle de Carvi en fonction du temps pour la phase solide (○) grains traités par ultrasons, (●) grains non traités par ultrasons.

L'analyse des courbes de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle des grains traités et non traités montre que trois étapes sont observées après l'apparition de la première goutte d'huile.

Dans le cas de l'extraction, à partir de la phase liquide (Figure VI.2), les trois étapes sont décrites comme suit :

- l'étape (A) est relative au début de l'extraction et peut être assimilée à une droite croissante représentant une augmentation rapide en rendement de l'huile essentielle. Pour les grains traités, le rendement atteint environ 79 % en 15 minutes seulement, alors que, pour les grains non traités, 30 minutes sont nécessaires pour atteindre 72 % du total en essence.
- l'étape (B) correspond à une augmentation très lente du rendement en huile essentielle jusqu'à atteindre le rendement maximum. Elle dure 85 minutes pour les grains traités et 120 minutes pour les grains non traités.
- l'étape (C) représente le temps à partir duquel le rendement en huile essentielle reste constant (palier).

Le profil de la cinétique d'extraction à partir des phases solides (Figure VI.3) montre également l'existence de trois étapes semblables à celles décrites pour les phases liquides mais différentes en termes de temps nécessaires.

En effet, la première partie, étape (A'), relative également au début de l'extraction, se rapproche d'une droite représentant une extraction plus ou moins rapide de l'huile essentielle. Environ 92 % du rendement global en essence sont atteints en 45 minutes pour les grains traités et 79 % en 90 minutes pour les grains non traités.

Au cours de la deuxième étape (B'), la courbe augmente lentement jusqu'à atteindre le rendement maximum et requiert 75 minutes pour les graines traitées et 60 minutes pour les graines non traitées. Enfin, la dernière étape (C'), correspond à un palier qui indique la fin de l'extraction.

### VI.5. Evaluation quantitative des composés majoritaires

La méthode de quantification utilisée est la même que celle décrite dans le Chapitre IV, à savoir, la méthode de l'étalonnage externe. Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau VI.3.

**Tableau VI.3:** Quantification du Limonène et de la Carvone dans les deux phases (liquide et solide) pour les graines traitées et non traitées par ultrasons.

	Graines non traitées		Graines traitées	
	Phase solide	Phase liquide	Phase solide	Phase liquide
Carvone (mg/g)	3,00 ± 0,53	2,80 ± 0,75	2,40 ± 0,20	3,40 ± 0,43
Limonène (mg/g)	2,40 ± 0,20	2,70 ± 0,34	3,30 ± 0,55	2,20 ± 0,23
Rapport Carvone/Limonène	1,25	1,03	0,72	1,54
Rendement (%)	1,04 ± 0,05	0,62 ± 0,08	0,65 ± 0,03	1,05 ± 0,03
Rendement total (%)	1,66		1,70	

Pour les graines traitées, les concentrations de la Carvone sont de l'ordre de 3,40 mg/g et de 2,40 mg/g, respectivement pour les phases liquide et solide, alors que celles du Limonène sont de l'ordre de 2,20 mg/g et de 3,30 mg/g respectivement pour ces mêmes phases.

On remarque qu'il y a plus de Carvone dans la phase liquide que dans la phase solide pour les graines traitées à l'inverse du Limonène que l'on retrouve plus abondamment dans la phase solide que liquide.

Pour les graines non traitées, les concentrations de la Carvone sont de l'ordre de 2,80 mg/g et de 3,00 mg/g respectivement pour les phases liquide et solide, à l'inverse du Limonène qui a une teneur de l'ordre de 2,70 mg/g et de 2,40 mg/g, respectivement dans ces mêmes phases.

L'extrait obtenu dans la phase liquide à partir des graines traitées est caractérisé par une forte proportion de Carvone. La valeur du rapport Carvone/Limonène de 1,54, est en excellent accord avec celle (1,4) obtenue lors l'extraction des graines de Carvi assistée par micro ondes (Chemat et coll. 2005).

L'analyse du rapport Carvone/Limonène (Tableau VI.3) des huiles essentielles obtenues dans la phase solide à partir des graines traitées, (valeur de 0,72, atteinte vers la fin de la distillation) nous amène à déduire que durant le traitement ultrasonore le Limonène reste difficilement extractable de la phase solide.

La valeur du rapport Carvone/Limonène (Tableau VI.3) dans les huiles essentielles issues de la phase solide des graines non traitées est de 1,25 et est obtenue en fin d'extraction. Ce résultat signifie que dans cette phase, la quantité de Carvone est plus importante que celle du Limonène. Quant à la phase liquide issue des graines non traitées, la valeur du rapport Carvone/Limonène (Tableau IV.3) est de 1,03. Ceci indique que les deux composés sont présents en proportions presque identiques et que dans cette phase, la polarité de la molécule extraite devrait jouer un rôle mineur.

### **VI.6. Analyse en composantes principales (ACP)**

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) est une méthode statistique d'analyse de données descriptives et qui permet d'explorer la structure de données à caractère multidimensionnel. Elle consiste à rechercher les directions de l'espace qui représentent le mieux les corrélations entre les variables.

Cette approche engage un processus de réduction par la formation de petits ensembles de variables, à partir d'un grand nombre de variables continues, nommées composantes. (Dousset 2008).

Vogt définit l'ACP comme un ensemble de méthodes permettant de procéder à des transformations linéaires d'un grand nombre de variables inter-corrélées de manière à obtenir un nombre relativement limité de composantes non corrélées.

Cette approche facilite l'analyse en regroupant les données en des ensembles plus petits et en permettant d'éliminer les problèmes de multi-colinéarité entre les variables. L'ACP s'apparente à l'analyse factorielle, mais c'est une technique indépendante qui est souvent utilisée comme première étape à une analyse factorielle.

La représentation des données dans des graphiques à deux dimensions facilite considérablement l'analyse et permet d'observer l'homogénéité ou l'hétérogénéité des individus et d'en connaître la cause.

Nous avons adopté la méthode d'ACP comme moyen d'analyse de données multidimensionnelles, d'une part pour l'étude statistique de la composition des quatre huiles essentielles obtenues et d'autre part pour pouvoir différencier les extraits traités et non traités par ultrasons.

On introduit les valeurs expérimentales (Tableau VI.4) dans le logiciel XLSTAT Version 2013.5.04, qui a été utilisé pour l'exploitation des résultats. L'ACP employée est de type Pearson, ce qui signifie que les calculs seront basés sur une matrice composée de coefficients de corrélation de Pearson (Tableau VI.5).

Tableau VI.4 : Valeurs expérimentales

	ALP	SAB	Beta-MYR	LIM	Beta-OCI	Gamma-TER	LIN	Cis-LIM OX	Trans-LIM OX	Cis DHC	Iso-ANET	Trans-DHC	CARV	CAR	PER	ANE	Beta-ELE	Trans-CARY	d-GER	CAR OX	ACT DIHCV
PLN	0,01	0,01	0,16	40,1	0,07	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03	0,04	0,03	0,03	58,68	0,06	0,02	0,11	0,09	0,11	0,01	0,05
PSN	0,02	0,03	0,25	44,23	0,08	0,06	0,04	0,07	0,05	0,03	0,04	0,08	0,04	54,15	0,05	0,01	0,09	0,11	0,08	0	0,1
PLT	0,01	0,02	0,15	32,34	0,05	0,05	0,03	0,08	0,04	0,03	0,05	0,12	0,04	65,54	0,06	0,02	0,08	0,13	0,11	0,02	0,08
PST	0,04	0,06	0,25	54,15	0,16	0,1	0,06	0,04	0,02	0,07	0,09	0,04	0,04	43,56	0,06	0,01	0,12	0,11	0,13	0	0,06

Tableau VI.4 : Matrice de corrélation (Pearson)

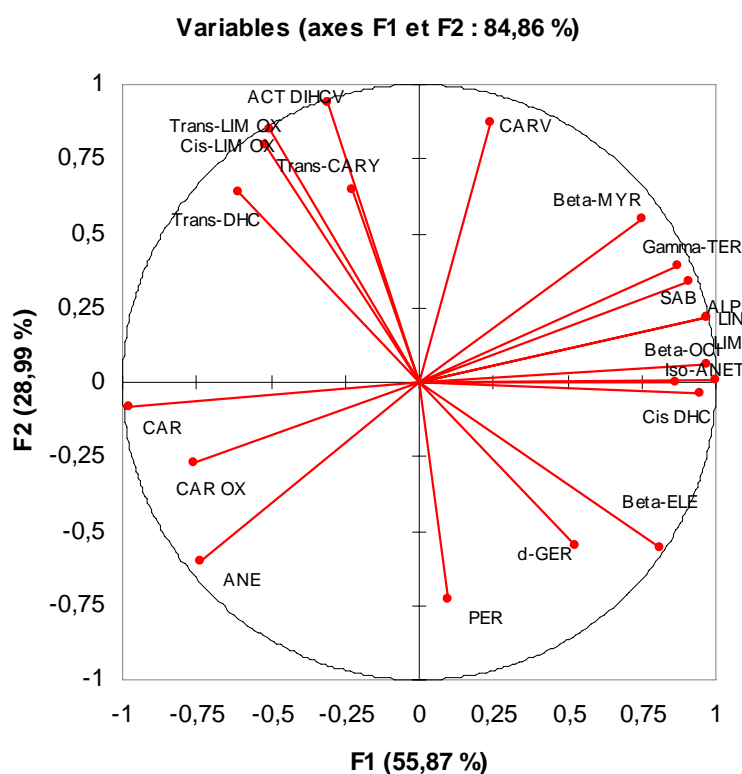
Variables	ALP	SAB	Beta-MYR	LIM	Beta-OCI	Gamma-TER	LIN	Cis-LIM OX	Trans-LIM OX	Cis DHC	Iso-ANET	Trans-DHC	CARV	CAR	PER	ANE	Beta-ELE	Trans-CARY	d-GER	CAR OX	ACT DIHCV
<b>ALP</b>	1	0,98	0,81	0,93	0,97	0,96	1,00	-0,29	-0,31	0,94	0,89	-0,40	0,47	-0,94	0	-0,81	0,64	0	0,45	-0,73	-0,10
<b>SAB</b>	0,98	1	0,78	0,84	0,92	0,99	0,98	-0,13	-0,20	0,92	0,90	-0,22	0,61	-0,87	0	-0,80	0,50	0,18	0,44	-0,64	0
<b>Beta-MYR</b>	0,81	0,78	1	0,84	0,72	0,76	0,81	-0,06	0,15	0,57	0,471	-0,27	0,51	-0,85	-0,57	-0,99	0,36	-0,07	-0,14	-0,93	0,34
<b>LIM</b>	0,93	0,84	0,84	1	0,95	0,79	0,93	-0,52	-0,39	0,84	0,72	-0,66	0,19	-0,99	-0,11	-0,82	0,79	-0,34	0,32	-0,89	-0,19
<b>Beta-OCI</b>	0,97	0,92	0,72	0,95	1	0,89	0,97	-0,49	-0,50	0,96	0,89	-0,57	0,27	-0,96	0,13	-0,71	0,79	-0,16	0,56	-0,72	-0,31
<b>Gamma-TER</b>	0,96	0,99	0,76	0,79	0,89	1	0,96	-0,04	-0,15	0,90	0,90	-0,13	0,67	-0,82	0	-0,78	0,43	0,27	0,43	-0,59	0,05
<b>LIN</b>	1,00	0,98	0,81	0,93	0,97	0,96	1	-0,29	-0,31	0,94	0,89	-0,40	0,47	-0,94	0	-0,81	0,64	0	0,45	-0,73	-0,10
<b>Cis-LIM OX</b>	-0,29	-0,13	-0,06	-0,52	-0,49	-0,04	-0,29	1	0,88	-0,42	-0,29	0,97	0,70	0,50	-0,42	0,00	-0,92	0,85	-0,50	0,366	0,85
<b>Trans-LIM OX</b>	-0,31	-0,20	0,15	-0,39	-0,50	-0,15	-0,31	0,88	1	-0,55	-0,51	0,77	0,55	0,38	-0,77	-0,19	-0,85	0,54	-0,83	0,05	0,97
<b>Cis DHC</b>	0,94	0,92	0,57	0,84	0,96	0,90	0,94	-0,42	-0,55	1	0,98	-0,44	0,33	-0,86	0,33	-0,57	0,73	0,00	0,72	-0,52	-0,37
<b>Iso-ANET</b>	0,89	0,90	0,47	0,72	0,89	0,90	0,89	-0,29	-0,51	0,98	1	-0,28	0,42	-0,75	0,42	-0,48	0,61	0,17	0,78	-0,36	-0,34
<b>Trans-DHC</b>	-0,40	-0,22	-0,27	-0,66	-0,57	-0,13	-0,40	0,97	0,77	-0,44	-0,28	1	0,60	0,63	-0,20	0,21	-0,93	0,89	-0,36	0,57	0,70
<b>CARV</b>	0,47	0,61	0,51	0,19	0,27	0,67	0,47	0,70	0,55	0,33	0,42	0,60	1	-0,23	-0,33	-0,57	-0,36	0,81	-0,08	-0,17	0,67
<b>CAR</b>	-0,94	-0,87	-0,85	-0,99	-0,96	-0,82	-0,94	0,50	0,38	-0,86	-0,75	0,63	-0,23	1	0,09	0,83	-0,78	0,30	-0,34	0,88	0,18
<b>PER</b>	0	0	-0,57	-0,11	0,13	0,00	0,00	-0,42	-0,77	0,33	0,42	-0,20	-0,33	0,09	1	0,57	0,36	0,	0,88	0,52	-0,82
<b>ANE</b>	-0,81	-0,80	-0,99	-0,82	-0,71	-0,78	-0,81	0,00	-0,19	-0,57	-0,48	0,21	-0,57	0,83	0,57	1	-0,31	0	0,14	0,90	-0,39
<b>Beta-ELE</b>	0,64	0,50	0,36	0,79	0,79	0,43	0,64	-0,92	-0,85	0,73	0,61	-0,93	-0,36	-0,78	0,36	-0,31	1	-0,67	0,62	-0,57	-0,74
<b>Trans-CARY</b>	0	0,18	-0,07	-0,34	-0,16	0,27	0,00	0,85	0,54	0	0,17	0,89	0,81	0,304	0	0,00	-0,67	1	0,00	0,42	0,55
<b>d-GER</b>	0,45	0,44	-0,14	0,32	0,56	0,43	0,45	-0,50	-0,83	0,72	0,78	-0,36	-0,08	-0,34	0,88	0,14	0,62	0	1	0,12	-0,78
<b>CAR OX</b>	-0,73	-0,64	-0,93	-0,89	-0,72	-0,59	-0,73	0,36	0,05	-0,52	-0,36	0,57	-0,17	0,88	0,52	0,90	-0,57	0,42	0,12	1	-0,11
<b>ACT DIHCV</b>	-0,10	0,00	0,34	-0,19	-0,31	0,05	-0,10	0,85	0,97	-0,37	-0,34	0,70	0,67	0,18	-0,82	-0,39	-0,74	0,55	-0,78	-0,11	1

On remarque que la variable Gamma TER est fortement corrélée avec la variable SAB (0,99). Pour chaque facteur, le Tableau VI.6 fournit les valeurs propres et le pourcentage de variance correspondant.

**Tableau VI.6 :** Valeurs propres et pourcentage de variance pour chaque facteur

	F1	F2	F3
<b>Valeur propre</b>	11,73	6,09	3,18
<b>Variabilité (%)</b>	55,87	28,99	15,14
<b>% cumulé</b>	55,87	84,86	100

La projection des variables initiales des huiles essentielles étudiées sur un plan à deux dimensions constitué par les deux premiers facteurs F1 et F2, est représentée dans le cercle des corrélations (Figure VI.4). Cependant le pourcentage de l'axe F3 est de 15.14 donc n'est pas négligeable, il est à 15,14%. Nous avons retenu la représentation des axes F1 et F2.



**Figure VI.4 :** Cercle des corrélations des variables des huiles essentielles.

**Nombre de variables 21:** Alpha-pinène (**ALP**), Sabinène (**SAB**), Béta-myrcène (**Beta-MYR**), Limonène (**LIM**), Béta-ocimène (**Beta-OCI**), Gamma-terpinène (**Gamma-TER**), Linalol (**LIN**), Cis-Limonène oxyde (**Cis-LIM OX**), Trans-Limonène oxyde (**Trans-LIM OX**), Cis Dihydrocarvone (**Cis DHC**), Isoanéthole (**Iso-ANET**), Trans-Dihydrocarvone (**Trans-DHC**), Carvéol (**CARV**), Carvone (**CAR**), Périllaldéhyde (**PER**), Anéthole (**ANE**), Béta-Elémène (**Beta-ELE**), Trans-Caryophyllène (**Trans-CARY**), d-Germacrène (**d-GER**), Caryophyllène oxyde (**CAR OX**), Acétate Dihydrocarvéol (**ACT DIHCV**)

Il découle de la Figure VI.4 représentant le cercle des corrélations des variables des huiles essentielles, que les axes F1 et F2 contiennent 84,86 % de l'information totale. Ce cercle des corrélations est également utile pour interpréter la signification des axes.

Nous constatons dans le Tableau VI.6, que l'axe F1 est fortement corrélé positivement avec les variables Beta-OCI (+ 0,99), ALP (+ 0,97), LIM (+ 0,97), LIN (+ 0,97), Cis DHC (+ 0,95), SAB (+ 0,91), Gamma-TER (+ 0,87), Iso- ANET (+ 0,86), Beta-MYR (+ 0,75) et négativement avec CAR (- 0,98), CAR OX (- 0,76), ANE (- 0,74). L'axe F2 est corrélé positivement avec les variables ACT DIHCV (+ 0,94), CARV (+0,88), Trans-LIM OX (+ 0,85), Cis-LIM OX (+ 0,78), Trans-CARY (+ 0,65), Trans-DHC (+ 0,64), et négativement avec PER (- 0,73), Beta-ELE (- 0,56), d-GER (- 0,55).

**Tableau VI.7 :** Corrélations entre les variables et les facteurs

	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>
<b>ALP</b>	<b>0,970</b>	0,221	0,101
<b>SAB</b>	<b>0,910</b>	0,339	0,237
<b>Beta-MYR</b>	<b>0,751</b>	0,552	-0,361
<b>LIM</b>	<b>0,970</b>	0,062	-0,236
<b>Beta-OCI</b>	<b>0,998</b>	0,006	0,069
<b>Gamma-TER</b>	<b>0,870</b>	0,392	0,299
<b>LIN</b>	<b>0,970</b>	0,221	0,101
<b>Cis-LIM OX</b>	-0,520	<b>0,796</b>	0,311
<b>Trans-LIM OX</b>	-0,501	<b>0,850</b>	-0,161
<b>Cis DHC</b>	<b>0,946</b>	-0,035	0,321
<b>Iso-ANET</b>	<b>0,866</b>	0,001	0,500
<b>Trans-DHC</b>	-0,608	<b>0,637</b>	0,474
<b>CARV</b>	0,243	<b>0,876</b>	0,418
<b>CAR</b>	<b>-0,978</b>	-0,084	0,191
<b>PER</b>	0,096	<b>-0,730</b>	0,677
<b>ANE</b>	<b>-0,737</b>	-0,602	0,308
<b>Beta-ELE</b>	<b>0,811</b>	<b>-0,558</b>	-0,177
<b>Trans-CARY</b>	-0,224	<b>0,647</b>	0,729
<b>d-GER</b>	0,529	<b>-0,548</b>	0,648
<b>CAR OX</b>	<b>-0,762</b>	-0,269	0,590
<b>ACT DIHCV</b>	-0,306	<b>0,937</b>	-0,168

Ces résultats sont particulièrement nécessaires pour l'interprétation du graphique des individus. Pour confirmer le fait qu'une variable est fortement liée à un facteur, il suffit de consulter le Tableau VI.7 (Cosinus carrés des variables). Plus le cosinus carré est élevé (en valeur absolue), plus la variable est liée à l'axe. Plus il est proche de zéro, moins la variable est liée à l'axe (Ferhat 2007). Dans notre cas, six variables seraient fortement liées à F1 : Béta-OCI (0,99), CAR (0,96), ALP (0,94), LIM (0,94), LIN (0,94), et Cis DHC (0,90), alors que l'axe F2 le serait fortement avec ACT DIHCV (0,88).

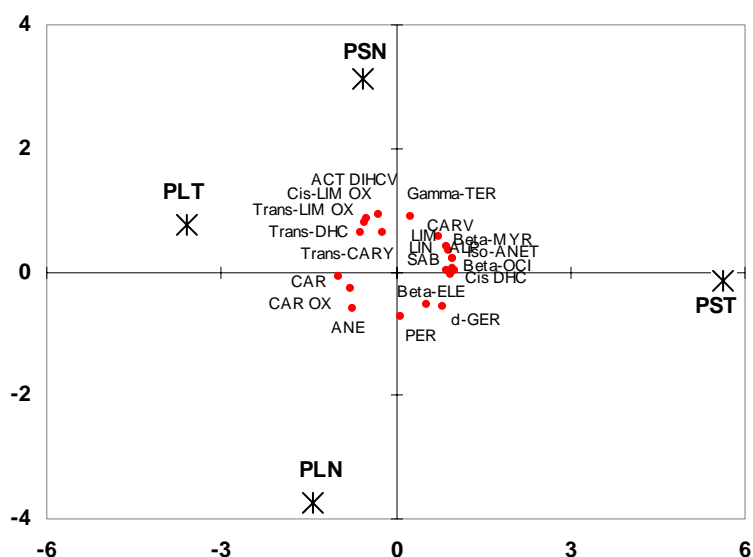
**Tableau VI.8** : Cosinus carrés des variables

	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>
<b>ALP</b>	<b>0,941</b>	0,049	0,010
<b>SAB</b>	0,829	0,115	0,056
<b>Béta-MYR</b>	0,564	0,305	0,131
<b>LIM</b>	<b>0,941</b>	0,004	0,056
<b>Béta-OCI</b>	<b>0,995</b>	0,000	0,005
<b>Gamma-TER</b>	0,757	0,154	0,090
<b>LIN</b>	<b>0,941</b>	0,049	0,010
<b>Cis-LIM OX</b>	0,270	0,633	0,097
<b>Trans-LIM OX</b>	0,251	0,723	0,026
<b>Cis DHC</b>	<b>0,896</b>	0,001	0,103
<b>Iso-ANET</b>	0,750	0,000	0,250
<b>Trans-DHC</b>	0,370	0,406	0,224
<b>CARV</b>	0,059	0,767	0,174
<b>CAR</b>	<b>0,957</b>	0,007	0,036
<b>PER</b>	0,009	0,533	0,458
<b>ANE</b>	0,543	0,362	0,095
<b>Béta-ELE</b>	0,658	0,311	0,031
<b>Trans-CARY</b>	0,050	0,418	<b>0,532</b>
<b>d-GER</b>	0,280	0,300	<b>0,420</b>
<b>CAR OX</b>	0,580	0,072	0,348
<b>ACT DIHCV</b>	0,094	<b>0,878</b>	0,028

Les individus qui représentent les quatre huiles essentielles PSN, PST, PLN et PLT sont portés sur le graphique à deux dimensions de la Figure VI.5, qui permet d'identifier les tendances. De cette figure, se dessine la présence de deux groupes selon l'axe F1: Le groupe 1

comprend trois huiles : à savoir PSN, PLT et PLN, alors que le groupe 2 compte l'huile PST seule.

La composition des huiles essentielles formant le groupe 1 est dominée par la Carvone qui dépasse les 54 % (Tableau VI.2) alors que pour l'huile essentielle formant le groupe 2, c'est le Limonène qui prédomine à hauteur de 54 %.



**Figure VI.5 :** Représentation graphique de la projection des individus des quatre HE suivant les axes F1 et F2 en considérant le traitement ou non par ultrasons.

**Huiles :** phase liquide non traitée par ultrasons (**PLN**), phase liquide traitée par ultrasons (**PLT**), phase solide non traitée par ultrasons (**PSN**) et phase solide traitée par ultrasons (**PST**)

De la Figure VI.5, l'existence d'autres composés discriminants est apparente. A savoir :

- Le bêta-Ocimène qui est présent avec une teneur supérieure à 0,16 % dans le groupe 2, alors que sa présence dans le groupe 1 n'excède pas 0,08 %.
- La Cis-Dihydrocarvone, (0,03 % dans le groupe 2 et 0,07 % dans le groupe 1).
- L'Iso-Anéthole, (0,09 % dans le groupe 2 et de 0,04 à 0,05 % dans le groupe 1).

La distribution des composés des quatre HE représentés dans la Figure VI.6, indique clairement que la Carvone est le composé qui corrèle le mieux avec les individus du groupe 1, ainsi que, le Limonène qui corrèle avec l'individu formant le groupe 2. Ceci est en accord avec les résultats expérimentaux du Tableau VI.2 dans lequel on a trouvé que la Carvone est majoritaire dans les huiles du groupe 1 (PSN, PLT, PLN) et le Limonène est majoritaire dans l'huile PST, unique du groupe 2.

### **VI.7 Compréhension des phénomènes**

Les cellules sécrétrices de l'huile essentielle de Carvi ne sont pas superficielles. Elles sont situées dans le mésocarpe des fruits (Svoboda 2003).

Cela a pour conséquence, que l'extraction de l'huile essentielle de Carvi fait intervenir le phénomène d'hydro-diffusion, qui est défini selon Von Rechenberg (1910) comme un type de transport contrôlé par la polarité des constituants et qui dépend plus de leurs solubilités dans l'eau que de leurs points d'ébullition.

En outre, Panda avait suggéré en 2010, que les glandes d'huiles essentielles localisées sur des sites endogènes pouvaient être libérées par rupture mécanique telle que l'agitation car celle-ci favorise le transfert de l'huile essentielle de la graine de Carvi vers l'extérieur.

Les phénomènes précédemment cités (hydrodiffusion et agitation) peuvent justifier la présence de l'huile essentielle dans la phase liquide des graines non traitées par ultrasons, alors que pour la phase liquide traitée, l'emploi de radiations ultrasonores combinées à l'agitation et à l'hydrodiffusion ont pour effet d'augmenter la quantité transférée de l'huile essentielle vers le milieu (Assami et coll. 2012).

### **Conclusion**

Ce chapitre, a permis de mettre en évidence le fait que l'huile essentielle des graines de Carvi a tendance à se libérer dans le milieu sous l'effet de l'hydrodiffusion et de l'agitation mécanique.

Le traitement par ultrasons augmente le rendement d'extraction en huile essentielle et ouvre une nouvelle voie d'accès vers une extraction rapide et sélective des produits oxygénés et polaires dans la phase liquide. En effet, pour cette phase, le rapport Carvone/Limonène est de l'ordre de 1,54 pour 90 minutes d'extraction seulement.

**Référence**

- Assami K., Pingret D., Chemat S., Meklati B.Y., Chemat F. (2012). Ultrasound induced intensification and selective extraction of essential oil from *Carum carvi* L. seeds. *Chem. Eng. Process.* 62, 99-105.
- Chemat S., Lagha A., Ait Amar H., Bartels P.V., Chemat F. (2004). Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds, *Flavour Frag. J.* 19, 188-195.
- Chemat S., Aït-Amar H., Lagha A. Esveld D.C. (2005). Microwave-assisted extraction kinetics of terpenes from caraway seeds. *Chem. Eng. Process.* 44, 1320-1326.
- Colic M., Morse D. (1998). Effects of Amplitude of the Radiofrequency Electromagnetic Radiation on Aqueous Suspensions and Solutions. *J. Coll. Interface Sci.* 200, 265-272.
- Dousset B. (2008). Extraction d'informations stratégiques par l'analyse en composantes principales. *Datametric. J.* 2, 1-6.
- Ferhat M.A. « Extraction sans solvant assistée par micro-ondes des huiles essentielles des Citrus d'Algérie : Compréhension, Application et Valorisation ». Thèse de Doctorat USTHB, 2007.
- Panda H. (2010). *Handbook on Spices and Condiments (Cultivation, Processing and Extraction)*. Asia Pacific Business Press Inc., New Delhi, India.
- Svoboda K.P. (2003). Investigation of volatile oil gland of *satureja hortensis* L. (Summer savory) and phytochemical comparison of different varieties. *Int. J. Aromather.* 13, 196-202.
- Vinatoru M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrason. Sonochem.* 8, 303-313.
- Vogt W.P. (1993). *Dictionary of statistics and methodology: A nontechnical guide for the social sciences*. Newbury Park, California, U.S.A.
- Von Rechenberg C. (1910). « Theorie der gewinnung und trennung der ätherischen öle ».Selbstverlag.Von Schimmel & Co, Berlin, Deutschland.

## **Chapitre VII**

### **Aromatisation d'une huile d'olive assistée par ultrasons**

### **VII.1. Introduction**

La production oléicole Algérienne a sensiblement augmenté après les différents programmes initiés par le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural et l'arrivée à maturation des nouveaux oliviers implantés. Ainsi, le chiffre de la production d'huile a rebondi et a atteint 5,24 millions de quintaux lors de la campagne 2010/2011, représentant une augmentation de 11% par rapport à la campagne 2008-2009.

Ceci a été une nouvelle opportunité offerte aux producteurs pour diversifier leurs gammes de produits. C'est ainsi que l'on a vu apparaître de nouveaux produits tels que les huiles aromatisées aux herbes. Mais, l'inconvénient de ces aromatisations, pratiquées généralement par macération, est qu'elles sont longues et nécessitent des zones importantes de stockage. De plus, l'infusion d'herbe fraîche dans les huiles à durée prolongée présente un risque potentiel de développement de la toxine responsable du botulisme, ces herbes pouvant transporter des spores produites par la bactérie *Clostridium botulinum* (Topp et coll. 2003).

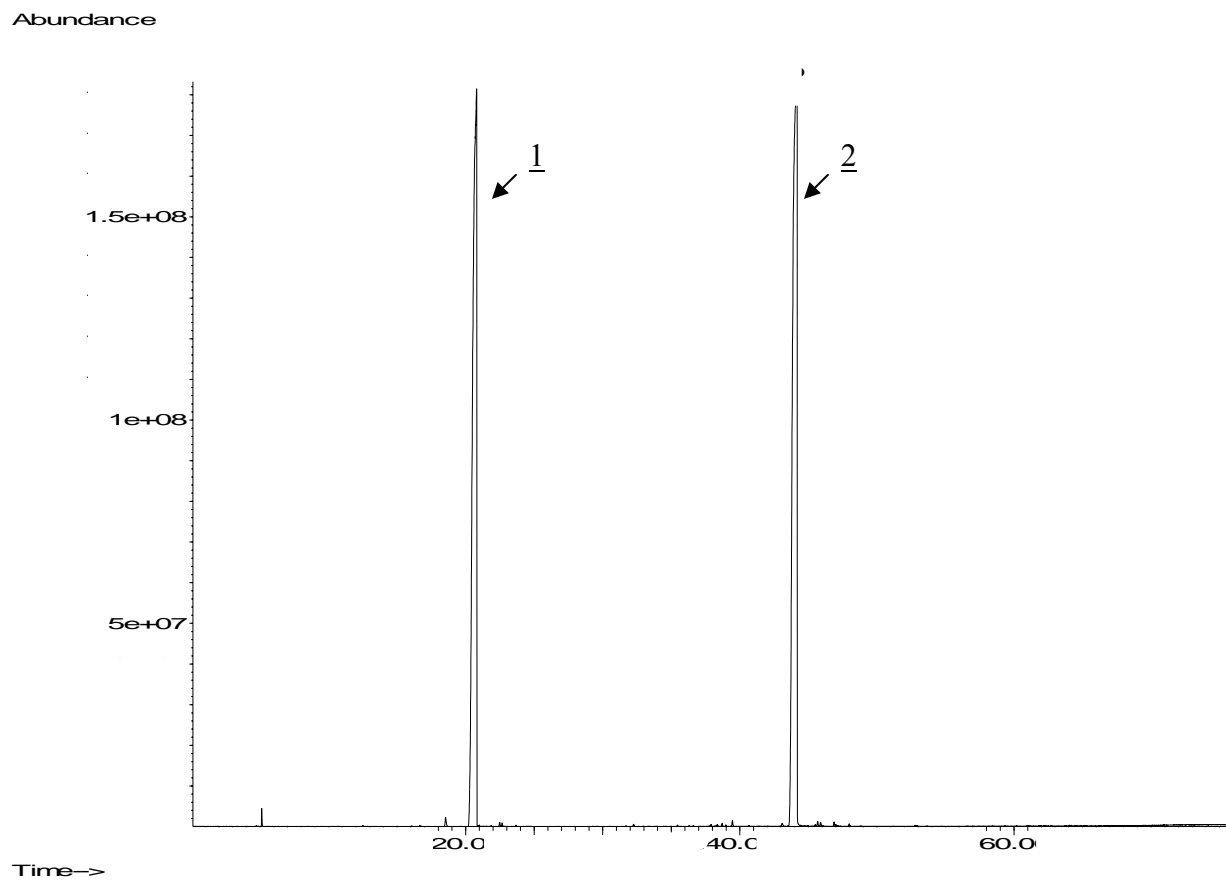
Dans ce travail nous présentons une aromatisation assistée par ultrasons afin de réduire le temps d'aromatisation et de faciliter sa mise en place par la filière «huile d'olive».

### **VII.2. Aromatisation de l'huile d'olive**

L'huile d'olive a été aromatisée par des graines de Carvi broyées, soit selon la méthode conventionnelle ou celle assistée par ultrasons telle que détaillée dans le Chapitre IV. Des prélèvements à intervalles réguliers ont été effectués au cours du processus d'aromatisation.

### **VII.3. Extraction et analyse de l'huile essentielle de Carvi**

Une partie des graines de Carvi broyées a été utilisée pour l'aromatisation de l'huile d'olive et l'autre partie a été soumise à l'hydrodistillation. Les extraits obtenus ont été analysés selon les protocoles cités dans le Chapitre IV. Le rendement obtenu en huile essentielle est de 1,86 %. L'analyse par chromatographie gazeuse a permis de déterminer ses compositions qualitative et quantitative (Tableau VII.1). Cette étude a permis d'identifier 21 composés qui couvrent près de 99% de la totalité de la fraction volatile, avec deux composés majoritaires qui sont le Limonène (45,50 %) et la Carvone (52,80 %). Ces derniers, étant très bien séparés (Figure VII.1), vont servir par la suite de marqueurs d'aromatisation. Leurs concentrations seront également déterminées dans les huiles d'olive aromatisées afin d'estimer leur niveau d'aromatisation.



**Figure VII.1 :** Chromatogramme de l'huile essentielle de graines de Carvi, 1 Limonène, 2 Carvone.

**Tableau VII.1** Composition de l'huile essentielle de graines de Carvi utilisée dans l'aromatisation.

n°	Composé <sup>a</sup>	R.I. <sup>b</sup>	R.I. <sup>c</sup>	HD (%)
<b>Monoterpènes</b>				<b>46,00</b>
1	$\alpha$ -Pinène	929	1024	0,04
2	Sabinène	968	1122	0,03
3	$\beta$ -Myrcène	989	1163	0,35
4	Limonène	1031	1212	45,49
5	$\beta$ -Ocimène	1046	1250	0,01
6	$\delta$ -Terpinène	1054	1246	0,09
<b>Monoterpènes Oxygénés</b>				<b>53,43</b>
7	Linalol	1086	1535	0,02
8	Cis-Limonène oxyde	1127	1445	0,01
9	Trans-Limonène oxyde	1132	1458	0,15
10	Cis-Dihydrocarvone	1188	1620	0,01
11	Isoanéthole	1190	1627	0,02
12	Trans-Dihydrocarvone	1195	1639	0,01
13	Carvéol	1226	1869	0,14
14	Carvone	1218	1763	52,86
15	Périllaldéhyde	1267	1804	0,15
16	Anéthole	1273	1842	0,06
<b>Sesquiterpènes</b>				<b>0,08</b>
17	$\beta$ -Elémène	1383	1599	0,02
18	Trans-Caryophyllène	1409	1611	0,04
19	$\delta$ -Germacrène	1471	1734	0,01
<b>Sesquiterpènes Oxygénés</b>				<b>0,01</b>
20	Caryophyllène oxyde	1575	2006	0,01
<b>Autres composés oxygénés</b>				<b>0,01</b>
21	Dihydrocarvéol Acétate	1318	1810	0,01
<b>Temps d'extraction (min)</b>				<b>180</b>
<b>Rendement (%)</b>				<b>1,86</b>
<b>Total des composés oxygénés (%)</b>				<b>53,45</b>
<b>Total des composés non oxygénés (%)</b>				<b>46,08</b>

<sup>a</sup> Composés chimiques de l'huile essentielle de Carvi classés par famille et identifiés par CG-SM sur colonne capillaire apolaire (HP5MS<sup>TM</sup>).

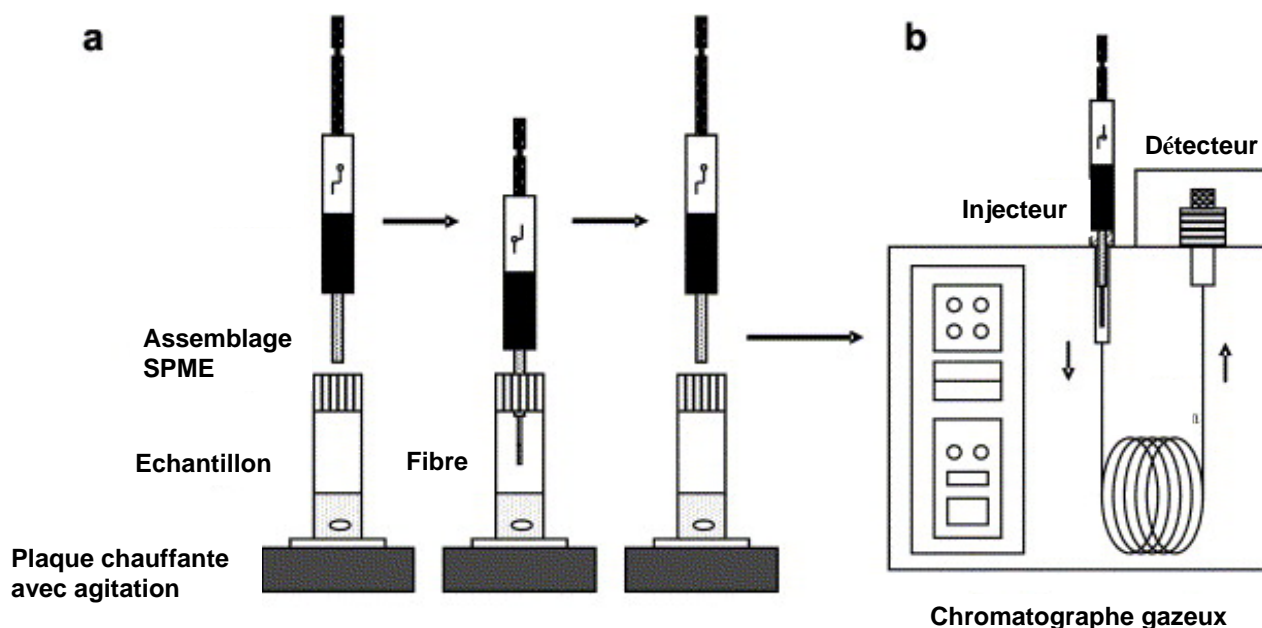
<sup>b</sup> Indices de rétention relatifs, calculés par rapport au mélange de n-alcanes C<sub>5</sub>-C<sub>28</sub> sur colonne capillaire apolaire (HP5MS<sup>TM</sup>).

<sup>c</sup> Indices de rétention relatifs, calculés par rapport au mélange de n-alcanes C<sub>5</sub>-C<sub>28</sub> sur colonne capillaire polaire (Stabilwax<sup>TM</sup>).

#### VII.4. Analyse par HS-SPME-CG/SM

La composition en molécules volatiles de Carvi extraites de l'huile d'olive aromatisée a été évaluée par analyse de « l'espace de tête » (headspace) des flacons contenant l'huile tel que reporté dans le Chapitre VI. Cette méthode a été utilisée parce qu'elle permet à la fois de réduire les temps de préparation de l'échantillon (pas d'extraction), de ne pas utiliser de solvant et de réduire globalement les coûts. Elle a été appliquée avec succès à une grande variété de composés, en particulier pour l'extraction de composés organiques volatils et semi volatils à partir d'échantillons environnementaux (Yassaa et coll. 2009), biologiques et alimentaires (Jia et coll. 2000).

Cette technique, développée par Pawliszyn et ses collaborateurs pendant les années 90, est une technique de préparation de l'échantillon basée sur l'utilisation d'une fibre en silice fondue recouverte par une phase stationnaire polymérique appropriée (Figure VII.2). Les composés sont directement extraits (absorbés ou adsorbés, en fonction du revêtement de la fibre) de la matrice de l'échantillon, et concentrés sur le polymère. La fibre est ensuite rétractée dans une aiguille en acier inoxydable. La configuration de ce système d'échantillonnage permet de réaliser la désorption thermique directement dans l'injecteur GC.



**Figure VII.2 :** Schéma du dispositif SPME (a) absorption, (b) désorption.

Une fibre de type Carboxen-PDMS (polydiméthylsiloxane) de 75  $\mu\text{m}$  a été employée pour tracer les courbes de calibration du Limonène et de la Carvone. Pour cela, des flacons de 20 mL, contenant 4 grammes d'huile d'olive aromatisée et des quantités différentes d'étalons, ont été pré-incubés à 35°C pendant 15 minutes. L'adsorption des monoterpènes sur la phase stationnaire a été réalisée en mode «Head-Space», durant 15 min sur une plaque chauffante thermostatée à 40°C sous agitation. La désorption des composés organiques a été effectuée à 250°C dans l'injecteur du GC, équipé d'un «insert» pour SPME (0.75mm de diamètre interne). La fibre est laissée pendant 5 min dans l'injecteur en mode «splitless», caractérisé par une fermeture d'électrovanne de 5 min. Les résultats des courbes de calibration sont reportés dans le Tableau VII.2.

**Tableau VII.2 :** Paramètres de calibration et de calcul des concentrations du Limonène et de la Carvone dans l'huile d'olive

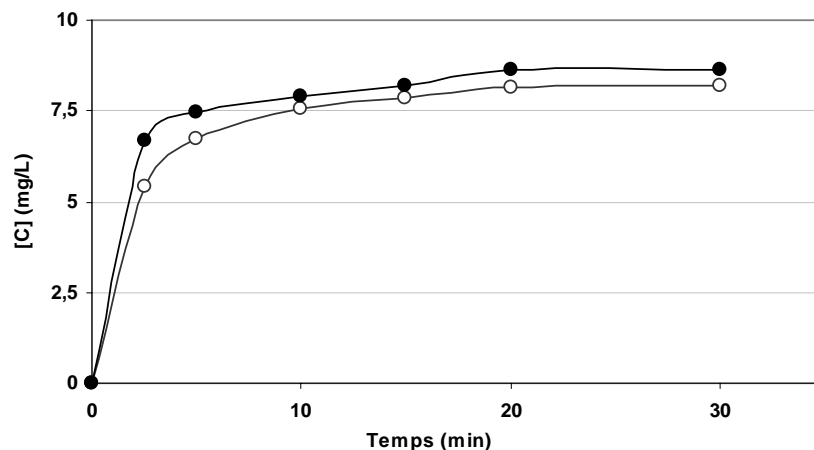
Paramètres de calibration	Limonène	Carvone
Temps de rétention (min)	6,56	10,83
Indice de rétention	1031	1218
Equation de calibration	$Y = 25004636 X + 151381$	$Y = 27189872 X + 173352$
Coefficient de corrélation ( $R^2$ )	$R^2 = 0,982$	$R^2 = 0,963$

La méthode d'analyse quantitative par HS-SPME-CG/SM testée sur les deux monoterpènes s'est avérée linéaire pour une gamme de concentrations allant de 5 à 500 ppm avec un coefficient de corrélation  $R^2$  moyen de 0,982 et de 0,963 respectivement pour le Limonène et la Carvone.

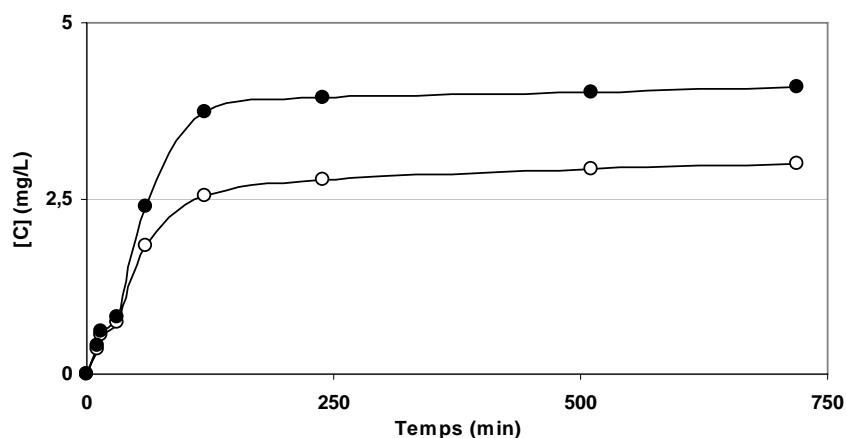
### VII.5. Cinétiques d'aromatisation de l'huile d'olive

Afin d'évaluer le degré d'avancement de l'aromatisation, les concentrations du Limonène et de la Carvone dans l'huile d'olive ont été suivies au cours du temps tour à tour lors de l'aromatisation conventionnelle et de celle assistée par ultrasons (Figures VII.3 et VII.4). Dans les deux cas, les huiles d'olive ont été aromatisées avec 150 grammes de graines de Carvi broyées par litre d'huile. Les concentrations du Limonène et de la Carvone ont été déterminées grâce à des courbes d'étalonnage préparées à partir de solutions étalons de ces deux composés et injectées en chromatographie gazeuse. Des prélèvements ont été réalisés à différents intervalles de temps afin de suivre la cinétique d'aromatisation des huiles.

A partir des équations de calibration du Limonène et de la Carvone les concentrations de ces derniers ont été évaluées pour différents échantillons d'huile d'olive prélevés au cours du procédé d'aromatisation. Des concentrations de 7,56 et 7,89 mg/L ont été retrouvées respectivement pour le Limonène et la Carvone après seulement 10 minutes d'aromatisation assistée par ultrasons. Quant à l'aromatisation traditionnelle, les concentrations respectives de ces deux composés n'ont été seulement que de 0,36 et de 0,31 mg/L par litre d'huile d'olive.



**Figure VII.3 :** Cinétique de l'aromatisation par macération assistée par ultrasons (○) Limonène, (●) Carvone.

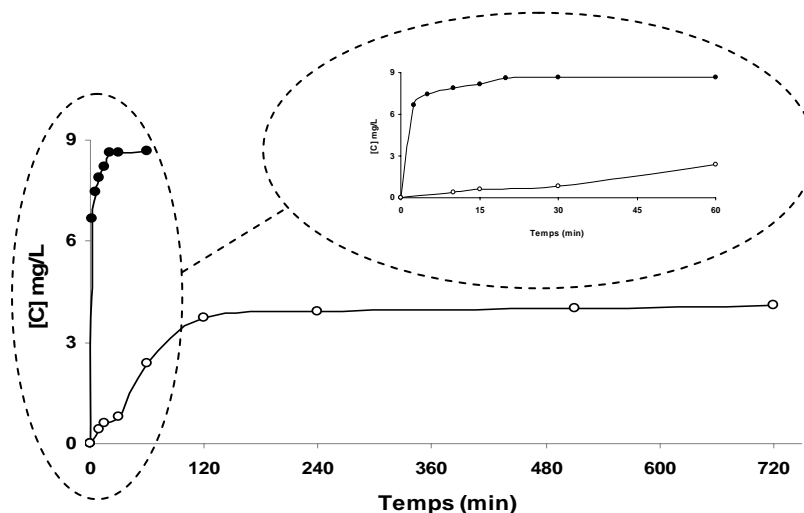


**Figure VII.4 :** Cinétique de l'aromatisation par macération conventionnelle (○) Limonène, (●) Carvone.

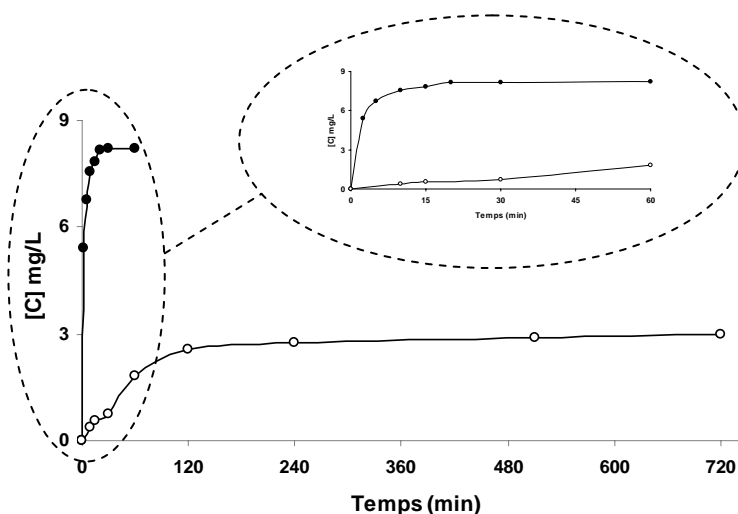
Il apparaît clairement que l'aromatisation assistée par ultrasons est très rapide par rapport à la macération conventionnelle. Après seulement 10 minutes d'aromatisation, les quantités enregistrées dans le cas de l'aromatisation assistée par ultrasons sont 20 fois plus grandes que celles retrouvées dans l'aromatisation conventionnelle.

Les quantités optimales de Limonène et de Carvone sont retrouvées après seulement 20 minutes d'aromatisation assistée par ultrasons et sont 3 fois plus importantes que celles obtenues après 720 minutes par macération conventionnelle.

L'évolution des quantités de Carvone et de Limonène dans l'huile d'olive aromatisée soit par macération conventionnelle, soit par ultrasons dans le temps, sont représentées respectivement dans les Figures VII.5 et VII.6.



**Figure VII.5 :** Cinétique de l'évolution de la quantité de Carvone dans l'huile d'olive (●) Aromatisation assistée par ultrasons, (○) Aromatisation conventionnelle.



**Figure VII.6 :** Cinétique de l'évolution de la quantité de Limonène dans l'huile d'olive (●) Aromatisation assistée par ultrasons, (○) Aromatisation conventionnelle.

## VII.6. Analyse des paramètres de qualité

### VII.6.1. Indice d'acide

C'est un indice qui permet d'évaluer l'altération de la matière grasse, consécutivement à de mauvais traitements ou à une mauvaise conservation. Il permet de déterminer la teneur en acides gras libres résultant de l'hydrolyse des triglycérides. Il est mesuré par la quantité de potasse nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans 1 gramme de corps gras. Il conduit à la classification représentée dans le Tableau VII.3.

**Tableau VII.3 :** Classification de l'huile d'olive selon l'indice d'acide (CIO 1996)

Catégories d'huile d'olive	Valeur limite de l'indice d'acide
Vierge extra	$\leq 0,8$
Vierge	$\leq 2$
Vierge courante	$\leq 3,3$
Raffinée	$\leq 0,3$

Les indices d'acide des huiles d'olive étudiées sont reportés dans le Tableau VII.4, dans lequel l'huile d'olive aromatisée par ultrasons (HOAU) possède le plus grand indice d'acide ( $0,53 \pm 0,02$ ), suivi par celui de l'huile d'olive aromatisée conventionnellement (HOAC) à  $0,48 \pm 0,03$  et enfin celui de l'huile d'olive (HO) à  $0,46 \pm 0,02$ . Cette conclusion est applicable à l'acidité, puisque celle-ci représente la moitié de l'indice d'acide. Ces valeurs restent en dessous de la valeur limite autorisée par le Conseil Oléicole International C.O.I. (Figure VII.7), qui prescrit une valeur limite inférieure ou égale à 0,8. A la lecture des résultats, on remarque que l'indice d'acide a évolué lors de l'aromatisation. Ainsi on observe une augmentation de cet indice d'environ 4 % pour la méthode conventionnelle et de 15 % pour la méthode assistée par ultrasons. Cela peut être attribué au processus d'aromatisation avec l'effet de l'agitation pour la méthode conventionnelle et à l'effet des ultrasons combiné avec celui de l'agitation pour la méthode assistée par ultrasons. Ces augmentations n'ont pas d'impact sensible sur la qualité des huiles car ils restent inférieurs à la limite tolérée.

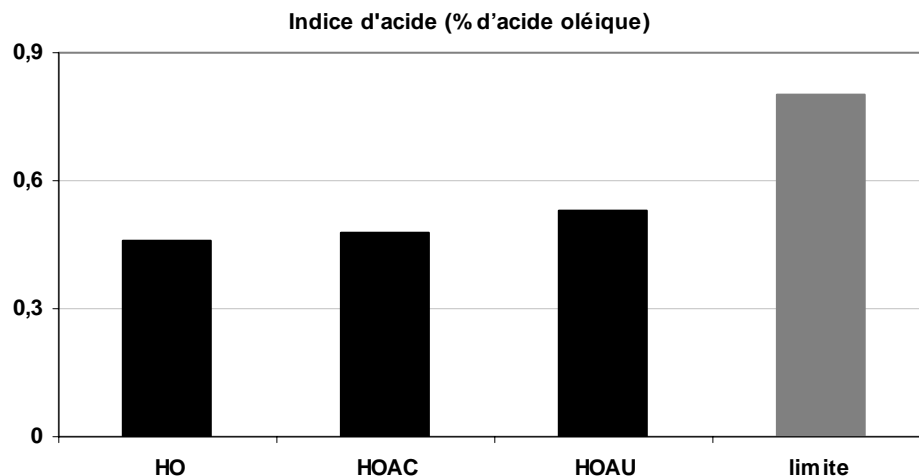
**Tableau VII.4 :** Indice d'acide des huiles étudiées

Paramètres	HO	HOAC	HOAU
Indice d'acide (% d'acide oléique)	$0,46 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,03$	$0,53 \pm 0,02$

**HO:** Huile d'Olive.

**HOAC:** Huile d'Olive Aromatisée Conventionnellement.

**HOAU:** Huile d'Olive Aromatisée par Ultrasons.



**Figure VII.7 :** Histogramme des indices d'acide des huiles étudiées par rapport à la norme CIO.

## VI.2. Indice de peroxyde

L'altération chimique des corps gras provoquée par l'oxygène de l'air débute par la formation de peroxydes ou d'hydro-péroxydes qui évoluent ensuite vers d'autres composés d'oxydation secondaire qui regroupent entre autres les acides gras à courte chaîne, les aldéhydes et les cétones qui sont caractérisés par leur odeur et goût désagréables. L'indice de peroxyde est un critère très important pour détecter les premières étapes d'une détérioration oxydative. La détermination de cet indice est basée sur l'oxydation des iodures en iode par l'oxygène actif du peroxyde. Les résultats sont exprimés en milliéquivalents d'oxygène actif par kg de corps gras. La norme internationale (Tableau V.5) recommandée pour les huiles d'olive, fixe le minimum de cet indice à 20 mEq d'oxygène actif par kg d'huile. La détermination de cet indice est insuffisante pour avoir une image exacte de l'état d'oxydation d'une huile, car un chauffage à 130°C détruit les peroxydes pour donner naissance à des aldéhydes et des cétones, responsables des corps rances (Henry 2003).

**Tableau VII.5 :** Classification de l'huile d'olive selon l'indice de peroxyde (CIO 1996)

Catégories d'huile d'olive	Valeur limite de l'indice de peroxyde
Vierge extra	$\leq 20$ mEq O <sub>2</sub> /kg
Vierge	$\leq 20$ mEq O <sub>2</sub> /kg
Vierge courante	$\leq 20$ mEq O <sub>2</sub> /kg
Raffinée	$\leq 5$ mEq O <sub>2</sub> /kg

Les résultats des indices de peroxyde estimés pour les échantillons étudiés sont regroupés dans le Tableau VII.6 et représentés dans la Figure VII.8.

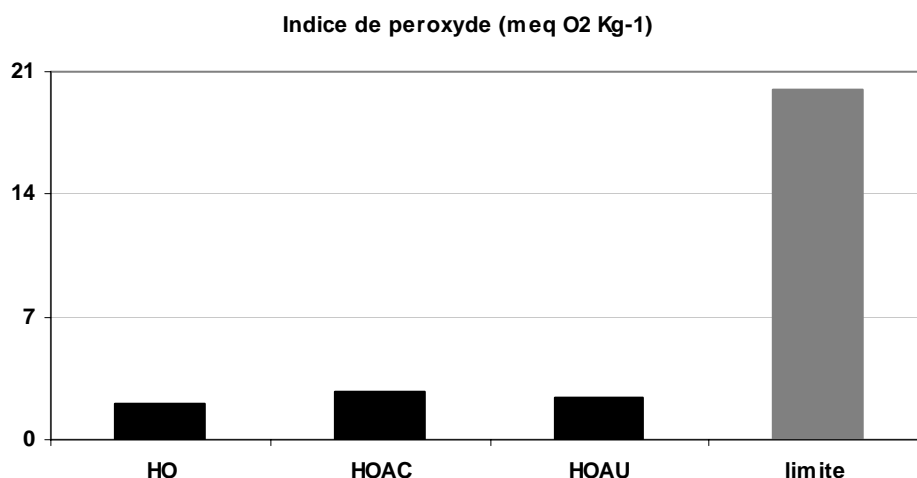
**Tableau VII.6 :** Indices de peroxyde des huiles étudiées

	HO	HOAC	HOAU
Indice de peroxyde (meq O <sub>2</sub> Kg <sup>-1</sup> )	2,1 ± 0,4	2,7 ± 0,2	2,4 ± 0,4

**HO:** Huile d'Olive.

**HOAC:** Huile d'Olive Aromatisée Conventionnellement.

**HOAU:** Huile d'Olive Aromatisée par Ultrasons.



**Figure VII.8:** Histogramme des indices de peroxyde des huiles étudiées par rapport à la norme CIO

Les valeurs des indices de peroxyde obtenues pour les trois échantillons étudiés restent inférieures à la valeur limite tolérée. La valeur la plus basse retrouvée, de 2,1 meq O<sub>2</sub> Kg<sup>-1</sup>, correspond à l'échantillon HO, suivie par HOAU (2,4 meq O<sub>2</sub> Kg<sup>-1</sup>). La valeur la plus élevée (2,7 meq O<sub>2</sub> Kg<sup>-1</sup>) se rapporte à HOAC. Les indices restent d'un même ordre mais avec une légère différenciation entre l'échantillon non aromatisé et ceux aromatisés. Ceci peut être dû aux procédés d'aromatisation. La différence entre l'indice de peroxyde de HOAC et celui de HOAU peut être influencée par les variables expérimentales : durée de réaction de 30 minutes pour HOAU sous ultrason à 20°C avec agitation à 1000 tr/min et de 720 minutes pour HOAC à 20°C avec agitation à 1000 tr/min. Pendant tout ce temps (720 minutes), l'huile d'olive est en contact avec l'oxygène de l'air, ce qui peut favoriser les réactions d'oxydation.

Les acides gras contenus dans l'huile d'olive sont très sensibles à l'oxydation. Les produits d'oxydation primaire sont généralement déterminés en utilisant leurs potentiels d'oxydation. Les hydroperoxydes ne sont pas des indicateurs d'altération car ils sont sans odeur ni flaveur. Ils indiquent par contre la possibilité ultérieure d'apparition de composés responsables de la dégradation sensorielle du produit (Kiritsakis et coll. 1998).

### VII.6.3. Absorbance en spectrophotométrie ultraviolet

La spectrophotométrie UV est utilisée pour déceler les composés oxydés, produits lors de la dégradation d'une huile d'olive vierge. La détermination des coefficients d'extinction spécifique (K) dans l'ultraviolet, respectivement à 232 nm et 270 nm est très importante. Elle permet d'évaluer le degré de dégradation de l'huile d'olive (Marquez-Ruiz et coll. 2008) :

- 232 nm pour les hydroperoxydes
- 270 nm pour les composés carbonylés

L'extinction spécifique dans l'UV est calculée selon l'équation (1) à partir d'une solution à 1% sous une épaisseur de 1 cm, pour des longueurs d'onde de 232 et 270 nm.

$$K_{\lambda} = A_{(\lambda)} / (D \times L) \dots \dots \dots (1)$$

D : dilution gr/L

L : longueur de la cuvette

La norme commerciale du COI recommandée pour les coefficients d'extinctions de l'huile d'olive est présentée dans le Tableau VII.7.

**Tableau VII.7 :** Classification de l'huile d'olive selon les coefficients d'extinctions spécifiques (CIO 1996)

Catégories de l'huile d'olive	Valeur limite autorisé		
	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Δ K
Vierge extra	≤ 0,20	≤ 2,4	≤ 0,01
Vierge	≤ 0,25	≤ 2,5	≤ 0,01
Vierge courante	≤ 0,30	-	≤ 0,01
Raffinée	≤ 1,10	-	≤ 0,16

Ainsi, il est à noter que plus la valeur K<sub>270</sub> est élevée, plus l'huile d'olive est riche en produits secondaires d'oxydation. Ces coefficients d'extinctions spécifiques nous renseignent sur la qualité

de la matière première (exemple : olives piquées), le procédé de fabrication (défectueux ou prolongé), le stockage inadapté ou bien sur une adultération de l'huile par ajout d'huile raffinée.

Les résultats des coefficients d'extinctions correspondant aux huiles d'olives étudiées sont regroupés dans le Tableau VII.8.

Une légère augmentation des coefficients d'extinctions spécifiques  $K_{232}$  (Diènes conjugués) et  $K_{270}$  (Triènes conjugués) a été observée pour l'échantillon traité aux ultrasons (HOAU) par rapport aux autres échantillons, l'un soumis à la macération classique (HOAC) et l'autre, l'huile d'olive (HO).

Néanmoins, cette augmentation attribuée à la production de diènes et triènes conjugués n'est pas alarmante car elle reste inférieure aux valeurs autorisées : à savoir 2,5 pour  $K_{232}$  et 0,25 pour  $K_{270}$ .

**Tableau VII.8 :** Coefficients d'extinctions spécifiques des huiles d'olive étudiées

	HO	HOAC	HOAU
$K_{232}$	1,69 ± 0,05	1,76 ± 0,01	1,99 ± 0,05
$K_{270}$	0,14 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,19 ± 0,03

**HO:** Huile d'Olive.

**HOAC:** Huile d'Olive Aromatisée Conventionnellement.

**HOAU:** Huile d'Olive Aromatisée par Ultrasons.

#### VI.4. Test d'oxydation accélérée ou test au Rancimat

Ce test consiste à mesurer la dégradation d'un corps gras face à une auto-oxydation accélérée, en utilisant un appareil automatisé qui chauffe les solutions à 120°C avec un apport d'air constant de 20 L.h<sup>-1</sup>. Cet appareil détecte les composés volatils libérés, indiquant indirectement le degré d'oxydation des huiles (Mendez et coll. 1996).

L'oxydation des corps gras présents dans les aliments est un problème de qualité en industrie agroalimentaire. Elle provoque la réduction de la durée de conservation du produit et influe sur sa qualité nutritionnelle (Hidalgo et coll. 2006). Dans ce travail, la mesure de la stabilité oxydative de l'huile a été réalisée par l'équipement automatisé « Rancimat » modèle 734 (Metrohm, Herisau, Suisse) (Moser 2009).

Ce test est basé sur la variation de la conductivité électrique de l'huile. Le changement de celle-ci est dû à la production de composés secondaires tels que l'acide formique et d'autres acides carboxyliques à cause de l'oxydation forcée.

Les résultats de la mesure de la stabilité oxydative des échantillons d'huiles (HO, HOAC et HOAU) sont reportés dans le Tableau VII.9. On remarque que les Périodes d'Induction (PI) varient d'un échantillon à un autre (Figures VII.9-VII.11). La période d'induction la plus courte ( $3,45 \pm 0,5$  h) a été relevée pour l'huile d'olive (HO), alors que pour les huiles aromatisées (HOAC et HOAU) elles sont respectivement de  $4,53 \pm 0,5$  h et de  $6,39 \pm 1$  h. Les deux huiles aromatisées ont une période d'induction plus importante que celle de l'huile non aromatisée.

La période d'induction est influencée par la présence, à forte teneur, des acides gras saturés combinée à celle, à faible teneur, d'acides gras insaturés (Farmani et coll. 2007, Hrnčirik et Fritsche 2005).

**Tableau VII.9 :** Périodes d'induction des huiles d'olive étudiées.

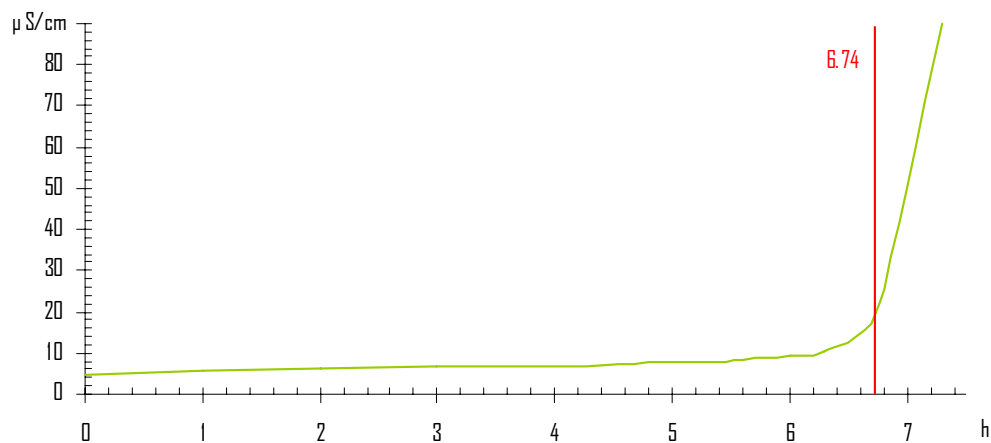
	<b>HO</b>	<b>HOAC</b>	<b>HOAU</b>
<b>PI (h)</b>	$3,45 \pm 0,5$	$4,53 \pm 0,5$	$6,39 \pm 1$

**HO:** Huile d'Olive.

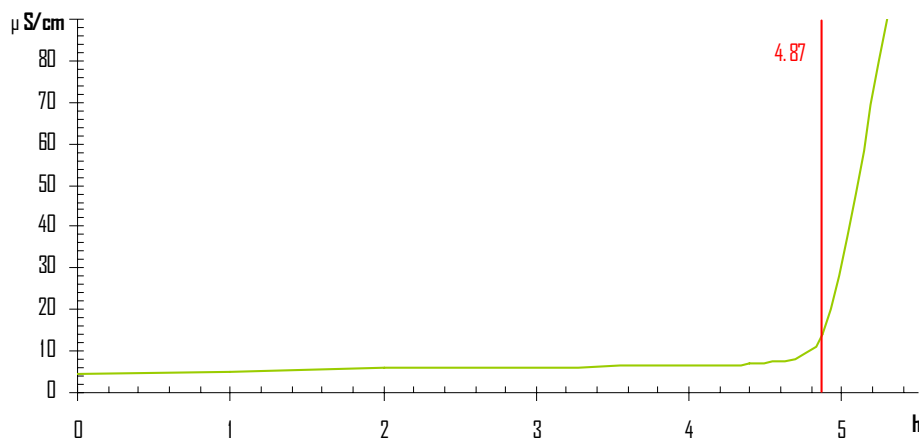
**HOAC:** Huile d'Olive Aromatisée Conventionnellement.

**HOAU:** Huile d'Olive Aromatisée par Ultrasons

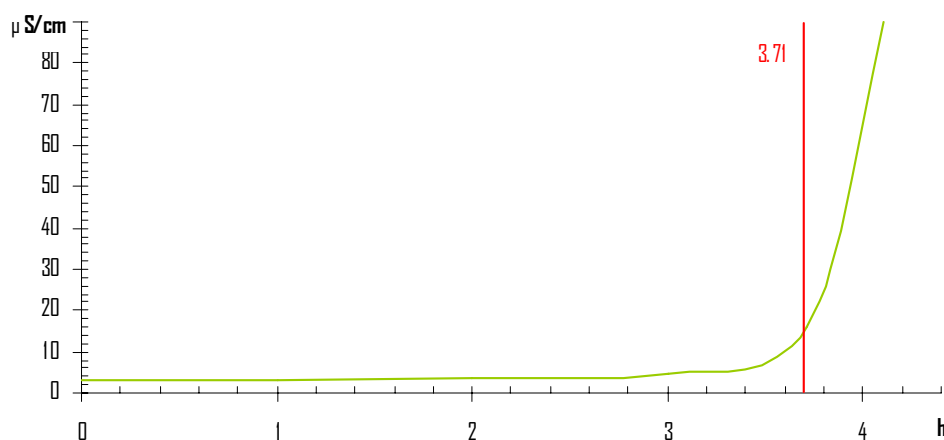
**PI:** Période d'Induction



**Figure VII.9 :** Détermination de la stabilité oxydative de l'HOAU par la méthode Rancimat



**Figure VII.10 :** Détermination de la stabilité oxydative de l'HOAC par la méthode Rancimat



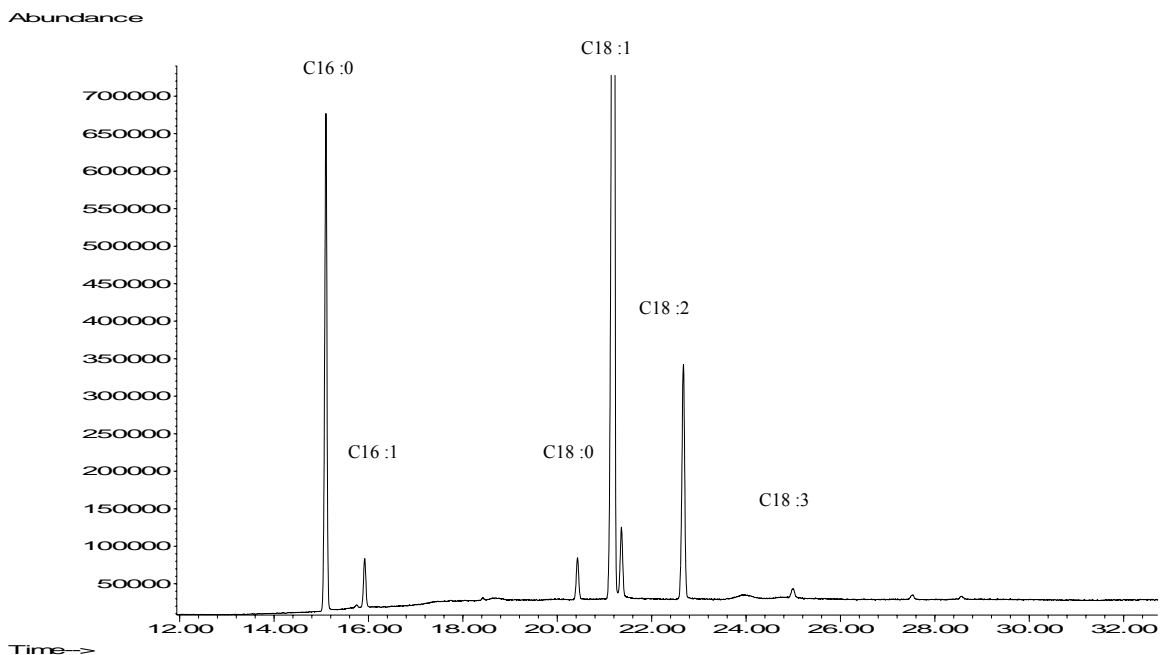
**Figure VII.11 :** Détermination de la stabilité oxydative de l'HO par la méthode Rancimat

La stabilité oxydative des trois échantillons est probablement due à la composition en acides gras et à l'effet antioxydant des huiles essentielles de Carvi (Elmastas et coll. 2006, Roberto et coll. 2010, Samojlik et coll. 2010). Ceci explique l'augmentation de la période d'induction de l'huile d'olive aromatisée, en particulier l'huile soniquée parce que le transfert d'huile essentielle en utilisant les ultrasons est plus important que par la méthode conventionnelle.

### V.5. Analyse de la composition en acides gras

Après transestérification, suivant le protocole décrit en partie expérimentale, les huiles d'olive aromatisées et non aromatisée sont analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) sur colonne capillaire polaire (Stabilwax).

Pour l'huile d'olive HO le chromatogramme obtenu (Figure VII.12), révèle que l'acide gras majoritaire est l'acide oléique (C18 :1) suivi de l'acide palmitique (C16 :0) et de l'acide linoléique (C18 :2).



**Figure IV.12:** Chromatogramme des acides gras de l'huile d'olive HO par CPG/SM

Les résultats de l'analyse quantitative sont reportés dans le Tableau VII.10. Les trois huiles étudiées présentent une composition de même profil en acides gras avec une grande prépondérance (de 62 à 64 %) d'acides gras mono-insaturés, notamment l'acide oléique qui représente de 62,36 à 63,96 % de la teneur totale.

Les acides polyinsaturés sont présents à hauteur de 10 % (l'acide linoléique principalement). Les teneurs d'acides gras saturés sont de l'ordre de 25 à 27 % (particulièrement l'acide palmitique de 17,78 à 18,39 %).

En outre, la somme des acides gras mono-insaturés AGMI reste proche. Ceci indique qu'aucune oxydation ne se produit pendant le traitement. D'autre part, pour les huiles d'olive non traitées (HO) et traitées (HOAC et HOAU) le calcul des rapports acide oléique/acide linoléique respectivement de 6,23, 6,10 et 6,36, montre une bonne corrélation entre la composition des acides gras d'une huile et sa durée de vie, tel que reporté par ailleurs (Aparicio et coll. 1999, Rotondi et coll. 2004). De toutes les huiles végétales consommées, l'huile d'olive est celle qui présente le rapport acides gras mono-insaturés/acides gras polyinsaturés le plus élevé.

Cette particularité confère à l'huile d'olive une plus grande stabilité envers l'auto-oxydation (Ryan et coll. 1998).

**Tableau VII.10 :** Composition en acides gras des huiles d'olive étudiées

Acides gras (%)	HO	HOAC	HOAU
Acide palmitique	17,78 ± 0,58	18,39 ± 0,57	18,14 ± 0,57
Acide palmitoléique	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,03	0,10 ± 0,02
Acide margarique	1,77 ± 0,04	1,89 ± 0,04	1,68 ± 0,03
Acide stéarique	1,57 ± 0,04	1,59 ± 0,06	1,57 ± 0,01
Acide oléique	63,96 ± 1,33	62,47 ± 1,08	62,36 ± 0,87
Acide linoléique	10,26 ± 0,16	10,24 ± 0,13	9,79 ± 0,13
Acide linoléique	0,55 ± 0,03	0,53 ± 0,01	0,51 ± 0,01
Acide arachidique	0,28 ± 0,06	0,36 ± 0,02	0,35 ± 0,05
AGS	25,13 ± 0,26	26,66 ± 0,27	27,24 ± 0,27
AGMI	64,06 ± 0,92	62,57 ± 0,74	62,46 ± 0,60
AGPI	10,81 ± 0,09	10,77 ± 0,08	10,30 ± 0,08
AGMI /AGPI	5,92	5,80	6,06
Rapport des acides Oléique / Linoléique	6,23	6,10	6,36
<b>Ox</b>	0,126392	0,125494	0,120572

AGS : Somme des acides gras saturés

AGMI : Somme des acides gras mono insaturés

AGPI : Somme des acides gras poly insaturés

**Ox** : Oxydabilité

Le procédé d'aromatisation n'influe pas grandement sur la composition en acides gras des huiles (Tableau VII.10). La présence de composés minoritaires dans les huiles protège les acides gras de l'oxydation ou de la dégradation.

L'oxydabilité ou la tendance d'un corps gras à l'oxydation (Ox) est calculée à partir des teneurs des trois acides gras insaturés suivants C18:1, C18:2 et C18:3 d'après la formule proposée par Cosgrove et coll. (1987), et reprise par Farmani et coll. (2007) comme suit :

$$\mathbf{Ox = [0.02 (C18:1\%) + C18:2\% + 2(C18:3\%)]/100}$$

On remarque que les valeurs d'oxydabilité des huiles étudiées sont faibles et très proches de 0,12 ce qui montre clairement la résistance de ces huiles à l'oxydation.

### VI.6. Analyse statistique

L'analyse statistique par la méthode de Tukey (test des comparaisons multiples) a été appliquée à tous les résultats obtenus sur les paramètres relatifs à la qualité de l'huile d'olive. Des résultats statistiques significatifs ont été observés pour deux paramètres (Indice d'acide, Période d'induction) regroupés dans le Tableau VII.11

**Tableau V.11:** Résultats de l'analyse statistique

Paramètres	HO	HOAC	HOAU
Indice d'acide	0,46 ± 0,02	0,48 ± 0,03	0,53 ± 0,02 <sup>a</sup>
Période d'induction	3,45 ± 0,5	4,53 ± 0,5	6,39 ± 1 <sup>a</sup>

P : valeur déterminée par une analyse de variance (ANOVA) avec la méthode de Tukey (test des comparaisons multiples). <sup>a</sup>P < 0,05 niveau de signification.

L'analyse statistique a révélé que l'augmentation de l'indice d'acide pour HOAU était significative par rapport à HOAC et HO (P < 0,05). D'autre part, statistiquement parlant, la valeur de la période d'induction pour l'huile HOAU était significativement plus élevée (P < 0,05) que celle de HOAC et de HO.

Néanmoins, même avec ces augmentations légèrement observées, tous les paramètres physico-chimiques sont restés en dessous de la limite autorisée par le COI, attestant ainsi que le processus d'aromatisation n'a pas affecté la qualité de l'huile d'olive.

### Conclusion

L'aromatisation de l'huile d'olive n'est pas un procédé récent et de nombreuses huiles aromatisées existent sur le marché mondial. L'intérêt de notre étude porte sur l'innovation et la technologie d'aromatisation de l'huile d'olive en général.

En effet, le procédé conventionnel d'aromatisation par macération des plantes aromatiques dans l'huile, présente l'avantage d'être très simple. Cependant les temps de macération sont très longs. De ce fait, ils posent de nombreux problèmes de stockage et les volumes de matériel végétal sont

également très importants (Gambacorta et coll. 2007, Damechki et coll. 2001). De plus, cette longue période de contact entre la plante et l'huile pourrait présenter un risque potentiel de développement de la toxine responsable du botulisme (Topp et coll. 2003). L'aromatisation assistée par ultrasons apporte une amélioration très nette de ces paramètres. En effet, nous avons pu montrer ici, qu'il est possible d'obtenir des huiles parfaitement aromatisées en seulement quelques minutes, et ce sans affecter la qualité de ces huiles. Ce nouveau procédé peut être étendu à de nombreuses autres matrices végétales, afin d'obtenir de façon rapide un grand choix d'huiles d'olive aromatisées.

La stabilité à l'oxydation des huiles aromatisées a été également mise en valeur, les huiles obtenues présentant une stabilité à l'oxydation plus importante que celle de l'huile non aromatisée.

**Références**

Aparicio, R., Roda, L., Albi, M.A., Gutierrez, F. (1999). Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by rancimat. *J. Agric. Food Chem.* 47, 4150 - 4155.

Conseil Oléicole International C.O.I. (1996). Normes commerciales applicables aux huiles d'olives et aux huiles de grignon d'olive, COI/T15/NCN°2.

Cosgrove, J. P., Church, D. F., & Pryor, W. A. (1987). Kinetics of the auto-oxidation of polyunsaturated fatty acids. *Lipids.* 22, 299.

Damechki M., Sotiropoulou S., Tsimidou M. (2001). Antioxidant and pro-oxidant factors in oregano and rosemary gourmet olive oils. *Grasas Aceites.* 52, 207-213.

Elmastas, M., Dermirtas, I., Isildak, O., Aboul-Enein, H.Y. (2006). Antioxidant activity of S-Carvone isolated from Spearmint (*Mentha Spicata L. Fam Lamiaceae*). *J. Liq. Chromatogr. Related Technol.* 29, 1465-1475.

Farmani J., Hamed M., Safari M. Madadlou A. (2007). Trans-free Iranian vanaspati through enzymatic and chemical transesterification of triple blends of fully hydrogenated soybean, rapeseed and sunflower oils. *Food Chem.* 102, 827-833

Gambacorta G., Faccia M., Pati S., Lamacchia C., Baiano A., La Notte E. (2007). Changes in the chemical and sensorial profile of extra virgin olive oils flavored with herbs and spices during storage. *J. Food Lipid.* 14, 202-215.

Henry S. (2003). « L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique ». Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré - Nancy 1, France.

Hidalgo F.J., Leon M.M. Et Zamora R. (2006). Antioxidative Activity of Amino Phospholipids and Phospholipid/Amino Acid Mixtures in Edible Oils As Determined by the Rancimat Method. *J. Agric. Food Chem.* 54, 461-5467.

Hrnčirik, K., Fritsche, S. (2005). Relation between the endogenous antioxidant system and the quality of extra virgin olive oil under accelerated storage conditions. *J. Agric. Food Chem.* 53, 2103 - 2110.

Jia M., J. Koziel and J. Pawliszyn (2000) Fast field sampling/ sample preparation and quantification of volatile organic compounds in indoor air by Solid Phase Microextraction and portable gas chromatography. *Field Anal. Chem. Technol.*, 4, 73-84.

Kiritsakis A., Nanos G.D., Polymenopoulos Z., Thomai T., Sfakiotakis E.M. (1998). Effect of fruit storage conditions on olive oil quality. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75, 721-724.

Marquez-Ruiz G., Martin-Polvillo M., Velasco J., Dobarganes C. (2008). Formation of oxidative compounds in sunflower and olive oils under oxidative stability index conditions. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 465-471

Méndez, E., Sanhueza, J., Speisky H., Valenzuela A. (1996). Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73, 1033-1037.

Moser B. R. (2009). Comparative Oxidative Stability of Fatty Acid Alkyl Esters by Accelerated Methods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 86:699-706

Pawliszyn J. (1997). « Solid Phase Microextraction Theory and Practice ». Wiley-VCH, Inc., Waterloo, Ontario Canada.

Roberto D., Micucci P., Sebastian T., Graciela F., Anesini C. (2010). Antioxidant activity of limonene on normal murine lymphocytes: Relation to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> modulation and cell proliferation. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 106, 38-44.

Rotondi A., Bendini A., Cerretani L., Mari M., Lercker G. & Gallina Toschi T. (2004) Effect of Olive Ripening Degree on the Oxidative Stability and Organoleptic Properties of Cv. Nostrana di Brisighella Extra Virgin Olive Oil. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3649-3654

Ryan D, Robards K, Lavee S, 1998. Evolution de la quantité de l'huile d'olive. *Olivae*. 72, 23-41.

Samojlik, I., Lakic, N., Mimica-Dukic, N., Dakovic-Svajcer, K., Bozin, B. (2010). Antioxidant and hepatoprotective potential of essential oils of coriander (*Coriandrum sativum* L.) and caraway (*Carum carvi* L.) (Apiaceae). *J. Agric. Food Chem.* 58, 8848-8853.

Topp E.B., Cook F.J., Topp G.C. (2003) Heating oil with fresh vegetable inclusions: modelling and measurement of heating pattern. *Food Res. Int.* 36, 831-842.

Yassaa N., Wishkerman A., Keppler F., Williams J. (2009). A method for fast determination of methyl chloride and methyl bromide emission from plant leaf litter, soil and salt samples using HS-SPME and GC-MS. *Environ. Chem.* 6, 311-318.

## **Conclusion générale**

Depuis longtemps, la recherche sur l'extraction des huiles essentielles s'était intéressée au rendement et à la qualité des extraits. L'apparition du concept de « Chimie Verte » a induit le développement de nouvelles méthodes d'extraction et de purification des extraits aromatiques. Ainsi, des techniques innovantes telles que l'Extraction par Fluide Supercritique (EFS), l'Extraction Assistée par Micro-ondes (EAM) et l'Extraction Assistée par Ultrasons (EAU) ont vu le jour. Elles convergent vers des buts communs, à savoir l'amélioration du rendement et de la qualité des extraits, tout en réduisant le temps d'extraction et en minimisant par conséquent l'énergie nécessaire.

Dans cette optique, vient ce travail de thèse, dans lequel nous avons étudié l'effet du traitement aux ultrasons des graines de Carvi (*Carum Carvi* L.) pour l'extraction de leur huile essentielle.

D'un point de vue quantitatif (rendement), la comparaison des méthodes d'extraction des huiles essentielles des graines de Carvi, telle que d'une part, l'hydrodistillation assistée par ultrasons (HDAUS) et d'autre part, l'hydrodistillation (HD) a permis de mettre en évidence des disparités de comportement. En effet, la HDAUS est nettement plus performante que la HD, vu qu'en 90 minutes il a été possible d'extraire la même quantité d'huile essentielle qu'en 180 minutes par HD.

Cette différence de cinétique peut être attribuée aux bulles de cavitation ultrasonores qui produisent des dommages importants sur les parois cellulaires jusqu'à provoquer l'explosion des glandes d'huile essentielle et la libération de leurs contenus dans le milieu.

D'autre part, la comparaison d'un point de vue qualitatif (composition chimique) des huiles essentielles issues des deux méthodes étudiées, a révélé une similitude presque parfaite entre elles. Néanmoins, une légère augmentation de la fraction oxygénée a été observée pour les extraits traités par ultrasons. Cette variation est plus importante pour des temps d'extraction très courts (moins de 5 minutes), ce qui confirme le caractère sélectif de la HDAUS pour les composés oxygénés.

L'étude de l'extraction des huiles essentielles après épuisement des phases liquide et solide a montré qu'il a été possible d'avoir une faible quantité d'huile essentielle dans le milieu sans avoir recours au chauffage. Cette quantité augmente lorsque l'échantillon subit préalablement un traitement aux ultrasons. La séparation de cette huile du milieu nécessite cependant une

hydrodistillation, en un temps pas très long (moins de 60 minutes), surtout pour la phase solide des graines traitées.

L'avantage majeur de cette investigation est la possibilité de produire une huile riche en composés oxygénés notamment dans les phases liquides.

L'aromatisation assistée par ultrasons de l'huile d'olive par les graines de Carvi est une autre application étudiée dans cette thèse. Les expériences menées ont montré qu'il est possible d'obtenir des huiles parfaitement aromatisées par ultrasons en seulement quelques minutes. Cette nouvelle technique a été comparée à la technique conventionnelle qui nécessitait une longue période d'infusion conduisant à une huile d'olive aromatisée mais avec un taux de transfert moins important que celui offert par les ultrasons. L'évaluation des paramètres de qualité des huiles d'olive obtenues a permis de déduire que l'aromatisation n'altérerait pas la qualité. La stabilité à l'oxydation des huiles aromatisées a été mise en valeur. En effet, les huiles obtenues présentaient une stabilité à l'oxydation plus importante que celle de l'huile non aromatisée.

## **Perspectives**

Etendre l'application du procédé assisté par ultrasons à d'autres matrices végétales, afin d'obtenir de façon rapide un grand choix d'huiles d'olive aromatisées.

Exploiter les résultats obtenus à l'échelle laboratoire pour les transférer à l'échelle pilote et industrielle.

## RÉSUMÉ

L'influence du pré traitement par ultrasons des graines de carvi a été étudiée pour l'extraction de l'huile essentielle (HE) par hydrodistillation. Les résultats indiquent que le traitement par ultrasons engendre une libération plus rapide de l'huile essentielle avec 80 % extrait après seulement 30 minutes contre 90 minutes pour les graines non traitées.

D'autre part, l'étude d'une approche innovante assistée par ultrasons pour aromatiser l'huile d'olive avec les graines de carvi. Après le processus d'aromatisation, la carvone et le limonène ont été identifiés dans l'huile d'olive par HS-SPME CG/SM.

**Mots clés :** *Carum carvi L.*, Huiles essentielles, Hydrodistillation, Ultrasons, Carvone, Limonène, Aromatisation, Huile d'olive, Stabilité oxydative.