



HAL
open science

Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions

Petko Ivanov Penchev

► **To cite this version:**

Petko Ivanov Penchev. Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Génie des procédés. Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT; Académie bulgare des sciences. Institut de génie chimique (Sofia, Bulgarie), 2010. Français. NNT : 2010INPT0122 . tel-04278738

HAL Id: tel-04278738

<https://theses.hal.science/tel-04278738v1>

Submitted on 10 Nov 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par *Institut National Polytechnique de Toulouse*
Discipline ou spécialité : *Génie des Procédés et de l'Environnement*

Présentée et soutenue par *Petko Ivanov PENCHEV*
Le 20/07/2010

Titre : *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions*

JURY

| | | |
|-----|------------------------|--------------------|
| M. | BECHKOV Venko | Président |
| Mme | BARTH Danielle | Rapporteur |
| M. | DIMITROV Krasimir | Rapporteur |
| M. | CONDORET Jean-Stéphane | Directeur de thèse |
| M. | ANGELOV George | Directeur de thèse |
| Mme | CAMY Séverine | Membre |

Ecole doctorale : *Mécanique, Energétique, Génie Civil, Procédés (MEGeP)*
Unité de recherche : *Laboratoire de Génie Chimique (Toulouse)*
Institut de Génie Chimique de l'Académie Bulgare des Sciences (Sofia, Bulgarie)
Directeur(s) de Thèse : *CONDORET Jean-Stéphane et ANGELOV George*

REMERCIEMENTS

Nombreuses sont les personnes que je souhaite remercier pour m'avoir aidée et soutenue durant ces quatre ans.

J'adresse mes remerciements à mes co-directeurs de thèse, professeur George Angelov et professeur Jean-Stéphane Condoret qui m'ont encadré pendant ces quatre ans.

Je remercie Séverine de m'avoir aidé au niveau de la science.

Je voudrais remercier mon collègue et ami Pablo pour son aide au niveau de la modélisation mathématique et pour les moments agréables passés ensemble.

J'adresse mes remerciements également à Alec et Jean-Luis pour le support technique.

Merci à tous les collègues et amis de la pause-café de m'avoir fait la vie plus intéressante.

Je n'oublie pas le support de mes parents et mes amis.

Merci à vous tous !

САМО ЛЕВСКИ !

SOMMAIRE

| | |
|--|-----------|
| INTRODUCTION | 1 |
| I. Bibliographie | 5 |
| I.1. Introduction | 5 |
| I.2. Les antioxydants | 6 |
| I.3. L'acide rosmarinique | 7 |
| I.4. La mélisse | 10 |
| I.5. Citral et caryophyllène | 15 |
| I.6. Techniques extractives | 16 |
| I.7. Les fluides supercritiques | 21 |
| I.7.1. Le domaine supercritique | 21 |
| I.7.1.1. Généralités | 21 |
| I.7.1.1.1. <i>Diagramme de phase d'un corps pur</i> | 22 |
| I.7.1.1.2. <i>Masse volumique autour du point critique</i> | 23 |
| I.7.1.1.3. <i>Influence de la température sur la solubilité</i> | 24 |
| I.7.1.2. . Principaux fluides supercritiques | 26 |
| I.7.1.3. Utilisation des fluides supercritiques | 27 |
| I.7.2. Extraction par fluides supercritiques (ESC) | 27 |
| I.7.2.1. Généralités | 27 |
| I.7.2.2. Avantages et inconvénients | 28 |
| I.7.2.3. Mise en œuvre de l'extraction supercritique | 29 |
| I.7.2.3.1. <i>Traitement de matrices solides</i> | 29 |
| I.7.2.3.2. <i>Mélanges liquides</i> | 31 |
| I.7.2.4. Aspects énergétiques du procédé d'extraction semi-batch | 32 |
| I.7.2.5. Choix des conditions opératoires pour l'extraction | 33 |
| I.7.2.6. Solubilité dans le CO ₂ supercritique | 34 |
| I.7.2.7. Utilisation de co-solvants | 35 |
| I.7.2.8. Applications industrielles | 35 |
| I.7.2.9. Extraction supercritique d'acide rosmarinique | 36 |
| I.7.2.10. Modélisation mathématique | 37 |

| | |
|--|-----------|
| I.7.2.11. Conclusion | 38 |
| I.8. Nanofiltration | 39 |
| I.9. Schémas de couplage de diverses techniques d'extraction, de prétraitement et de séparation | 40 |
| I.10. Conclusion | 42 |
| | |
| II. Matériel et méthodes | 46 |
| II.1. Matière végétale - mélisse (<i>Melissa officinalis L.</i>) | 46 |
| II.2. Techniques d'extraction, purification et concentration utilisées | 48 |
| II.2.1. Extraction par CO ₂ supercritique (ESC) | 48 |
| II.2.2. Soxhlet | 50 |
| II.2.3. Extraction en mode batch (échelle laboratoire) | 52 |
| II.2.4. Concentration des extraits par nanofiltration | 53 |
| II.2.5. Application semi-industrielle de l'extraction solide-liquide dans un extracteur rotatif | 54 |
| II.3. Techniques analytiques | 56 |
| II.3.1. Chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC | 56 |
| II.3.2. Chromatographie en phase gazeuse | 58 |
| | |
| III. Extractions par le CO₂ supercritique | 63 |
| III.1. Introduction | 63 |
| III.2. Les expérimentations | 63 |
| III.3. Résultats | 65 |
| III.3.1. Influence des paramètres opératoires sur la cinétique d'extraction supercritique | 65 |
| III.3.1.1. Influence de la température | 67 |
| III.3.1.2. Influence de la pression | 70 |
| III.3.1.3. Influence de la granulométrie | 71 |
| III.3.1.4. Influence du débit du CO ₂ | 74 |
| III.3.2. Influence de la présence de co-solvants dans le solvant supercritique | 77 |
| III.3.2.1. Co-solvant éthanol | 77 |

| | |
|--|------------|
| III.3.2.2. Co-solvant eau | 83 |
| III.3.2.3. Cinétique d'extraction supercritique avec du co-solvant éthanol | 87 |
| III.3.3. Influence de la géométrie de la cellule d'extraction | 88 |
| III.3.4. Modélisation | 90 |
| III.3.4.1. Modèle t^n | 91 |
| III.3.4.1.1. Equation générale | 91 |
| III.3.4.1.2. Résultats du modèle comparés avec l'expérience | 92 |
| III.3.4.2. Single Sphere Model | 94 |
| III.3.4.2.1. Hypothèses générales du modèle | 94 |
| III.3.4.2.2. Equation générale | 94 |
| III.3.4.2.3. Comparaison avec les résultats expérimentaux | 95 |
| III.3.4.3. Single Plate Model | 97 |
| III.3.4.3.1. Hypothèses générales du modèle | 97 |
| III.3.4.3.2. Equation générale | 98 |
| III.3.4.3.3. Comparaison avec les résultats expérimentaux | 98 |
| III.3.4.4. Modèle d'extraction en lit fixe | 101 |
| III.3.4.4.1. Hypothèses générales | 101 |
| III.3.4.4.2. Equations générales | 101 |
| III.3.4.4.3. Comparaison avec les résultats expérimentaux | 103 |
| III.3.4.5. Modèle de J. M. del Valle | 107 |
| III.3.4.5.1. Hypothèses générales du modèle | 108 |
| III.3.4.5.2. Equations générales | 108 |
| III.3.4.5.3. Comparaison avec les résultats expérimentaux | 109 |
| III.3.4.5.4. Application du modèle de del Valle pour diverses configurations géométriques | 115 |
| III.4. Extraction de l'huile essentielle de la mélisse par ESC | 117 |
| III.4.1 Estimation de la capacité de l'installation à récupérer le citral et le caryophyllène | 118 |
| III.4.2. Extraction de la mélisse | 120 |
| III.5. Conclusions | 124 |
| | |
| IV. Extractions à pression atmosphérique et nanofiltration | 129 |
| IV.1. Introduction | 129 |

| | |
|---|------------|
| IV.2. Extraction Soxhlet | 129 |
| IV.2.1. Expérimentations | 130 |
| IV.2.2. Résultats | 130 |
| IV.2.2.1. Extraction Soxhlet de la mélisse avec divers solvants | 130 |
| IV.2.2.2. Double extraction Soxhlet | 132 |
| IV.2.2.3. Prétraitement avec l'ESC | 133 |
| IV.2.3. Conclusions | 135 |
| IV.3. Extraction en mode batch (échelle laboratoire) | 136 |
| IV.3.1. Détermination de la teneur totale en acide rosmarinique dans la matière première | 136 |
| IV.3.2. Résultats et discussion | 136 |
| IV.3.2.1. Influence de la concentration des solvants | 137 |
| IV.3.2.2. Influence de la température | 138 |
| IV.3.2.3. Cinétique générale du processus | 139 |
| IV.3.2.4. Choix du solvant approprié | 140 |
| IV.3.2.5. Cinétique de l'extraction avec le mélange éthanol-eau | 140 |
| IV.3.2.6. Hydromodule | 143 |
| IV.3.2.7. Influence de la granulométrie | 144 |
| IV.3.2.8. Triple extraction | 145 |
| IV.3.2.9. Couplage avec l'ESC | 146 |
| <i>IV.3.2.9.1. Prétraitement supercritique sans co-solvant</i> | <i>146</i> |
| <i>IV.3.2.9.2. Influence de la présence du co-solvant éthanol dans l'étape supercritique</i> | <i>149</i> |
| <i>IV.3.2.9.3. Influence du pré-traitement supercritique sur la cinétique de l'extraction conventionnelle</i> | <i>153</i> |
| IV.3.2.10. Modélisation | 154 |
| <i>IV.3.2.10.1. Hypothèses de modélisation</i> | <i>154</i> |
| <i>IV.3.2.10.2. Equations générales</i> | <i>154</i> |
| <i>IV.3.2.10.3. Comparaison aux résultats expérimentaux</i> | <i>156</i> |
| IV.3.3 Conclusions | 159 |
| IV.4. Nanofiltration | 160 |
| IV.4.1. Paramètres de base | 160 |
| IV.4.2. Choix de la membrane | 161 |
| IV.4.3. Expérimentations | 162 |

| | |
|---|------------|
| IV.4.4. Résultats | 164 |
| IV.4.4.1. Bilan de matière de l'acide rosmarinique | 165 |
| IV.4.4.2. Rejet du composé-cible | 165 |
| IV.4.4.3. Détermination du flux et modélisation | 166 |
| IV.4.4.4. Réutilisation du filtrat en tant que solvant | 171 |
| IV.4.4.5. Conclusions | 172 |
| IV.5. Application semi-industrielle : extraction solide-liquide dans un extracteur rotatif | 173 |
| IV.5.1. Expérimentations et résultats | 173 |
| IV.5.1.1. Influence de la granulométrie sur l'extraction de l'acide rosmarinique | 174 |
| IV.5.1.2. Cinétique de l'extraction | 175 |
| IV.5.1.3. Couplage avec l'ESC | 177 |
| IV.5.1.4. Modélisation | 178 |
| | |
| V. Couplages des différentes techniques | 183 |
| V.1. Couplage de deux extracteurs Soxhlet | 184 |
| V.2. Couplage de l'extraction supercritique avec l'extraction Soxhlet | 185 |
| V.3. Couplage de l'extraction supercritique avec l'extraction batch | 186 |
| V.4. Couplage de l'extraction batch avec la nanofiltration | 187 |
| V.5. Couplage de l'extraction supercritique, de l'extraction batch et de la nanofiltration | 188 |
| V.6. Couplage de l'extracteur rotatif avec l'extraction supercritique | 189 |
| V.7. Conclusion | 190 |
| | |
| VI. Conclusions générales et perspectives | 193 |
| Nomenclature | 199 |
| Références | 205 |
| Annexes | 218 |

INTRODUCTION

Cette thèse de doctorat s'est effectuée en co-tutelle entre l'Institut de Génie Chimique de l'Académie Bulgare des Sciences et le Laboratoire de Génie Chimique (UMR CNRS 5503) de l'Institut National Polytechnique à Toulouse. Elle porte sur l'étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes.

Les substances naturelles connaissent un intérêt croissant pour des applications dans de nombreux produits de consommation. En effet, leur utilisation est encouragée car les produits équivalents issus de synthèses chimiques ont, à tort ou à raison, mauvaise presse parmi le grand public. Les plantes représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis bien longtemps. Il existe donc un besoin de production de substances bioactives isolées, concentrées et purifiées, pour une utilisation dans un large champ d'application (cosmétiques, pharmaceutiques, additifs nutritionnels...), domaines dans lesquels la France est traditionnellement engagée. Pour sa part, la Bulgarie est un producteur important d'herbes médicinales au niveau européen.

Les procédés d'extraction sont basés sur la différence de solubilité des composés présents dans un mélange et dans un solvant. Nous nous intéressons ici à l'extraction à partir d'un système solide, la plante. Il existe plusieurs techniques d'extraction des produits à haute valeur ajoutée présents dans les plantes. Ces techniques peuvent être dites *conventionnelles* (utilisées depuis longtemps) et *nouvelles* (développées plus récemment).

Les techniques conventionnelles utilisent des solvants organiques (tels que l'hexane, l'acétone, le méthanol, l'éthanol etc.) ou l'eau et se réalisent, en général, à pression atmosphérique. Les nouvelles techniques utilisent des pression et/ou des températures élevées.

L'extraction avec un fluide supercritique tel que le CO₂ est une alternative à l'utilisation des solvants chimiques, et le CO₂ a été utilisé pour l'extraction et la séparation des produits naturels à haute valeur ajoutée. Au voisinage du point critique, le pouvoir solvant est sensible aux variations de température et de pression. La séparation des extraits et du solvant est très facile et se réalise tout simplement en diminuant la pression. De plus, les

propriétés de transport des fluides supercritiques (viscosité, diffusivité...) permettent une pénétration plus profonde dans la matrice solide des plantes et donc en général une extraction efficace et rapide.

La mélisse est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle en raison de ses propriétés sédatives, carminatives, antispasmodiques, anti-inflammatoires, antivirales et surtout antioxydantes. Ces propriétés de la mélisse sont attribuées principalement à l'acide rosmarinique. Son huile essentielle présente une activité antibactérienne, anti-parasitique, antihistaminique et antifongique.

Ce doctorat a pour ambition scientifique l'étude des méthodes séparatives puissantes en vue de leur application couplée, visant l'isolement de principes actifs issus de mélisse. Il s'agit de l'extraction conventionnelle solide-liquide (études menées en Bulgarie et en France), l'extraction par fluide supercritique (études menées intégralement en France), ainsi que d'autres techniques séparatives.

Chapitre I

Bibliographie

I. Bibliographie

I.1. Introduction

L'application des antioxydants naturels dans le domaine cosmétique et même pharmaceutique est un domaine très prometteur en plein développement. Cela conduit à des recherches de plus en plus nombreuses, destinées à diversifier les ressources de ses substances naturelles et à améliorer leurs voies de récupération et de purification.

Dans cette synthèse bibliographique, nous définirons les substances oxydantes en général, puis nous détaillerons les propriétés de l'un d'entre eux, l'acide rosmarinique, dont la récupération fait l'objet de ce travail de thèse. La mélisse, plante cultivée en Bulgarie qui constituera notre source d'acide rosmarinique, sera ensuite décrite. Les méthodes d'extraction de l'acide rosmarinique traditionnellement utilisées seront ensuite présentées. Enfin, nous détaillerons les raisons qui nous ont menés à envisager la technique d'extraction au CO₂ supercritique comme méthode d'extraction complémentaire aux méthodes conventionnelles, en vue du traitement de la mélisse.

I.2. Les antioxydants

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. Les antioxydants s'utilisent pour réduire l'oxydation du produit auquel ils sont mélangés. L'effet des antioxydants provient de deux mécanismes : 1) Ils neutralisent les radicaux libres et empêchent les réactions en chaîne initialisées par ces derniers. 2) Les antioxydants détruisent les hydroperoxydes (composés intermédiaires formant des radicaux libres en interrompant la liaison O-O), diminuant ainsi la vitesse de formation de radicaux libres. [1]

L'oxydation des lipides représente un problème important pour certaines industries, puisqu'elle est responsable de la baisse de qualité et de la diminution de la durée de conservation des produits cosmétiques [2] et alimentaires [2-6]. Ce phénomène conduit à l'odeur rance des nourritures en putréfaction. L'addition des antioxydants est une solution pour protéger de tels produits de l'oxydation [6].

Les antioxydants jouent un rôle important dans le métabolisme humain. Les réactions biochimiques qui ont lieu dans notre organisme produisent des radicaux libres initiant des réactions d'oxydation en chaîne qui ont une action néfaste sur les cellules de notre corps, en les abîmant et en accélérant le processus de vieillissement. Normalement, le corps humain maintient l'équilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en produisant simultanément les deux types de substances dans le processus métabolique. Le déséquilibre entre ces deux types de composés conduit à un phénomène appelé *stress oxydatif*. [2]. L'initiation des phénomènes de réactions d'oxydations en chaîne dans l'organisme humain peut conduire à des pathologies comme l'athérosclérose [2, 3], le cancer, l'infarctus, les allergies [3], les rhumatismes et d'autres [2].

Les antioxydants synthétiques sont utilisés depuis de nombreuses années. Mais, récemment, beaucoup d'études ont porté sur la toxicité élevée des antioxydants synthétiques utilisés dans l'industrie alimentaire, comme, par exemple, le butylhydroxytoluène (BHT), l'hydroxyanisole butyle (BHA), le tert-butylhydroquinone (TBHQ), etc. [1-8]. Le besoin de réduire l'utilisation des antioxydants synthétiques (maintenant limitée dans plusieurs pays en raison de leurs possibles effets indésirables sur la santé humaine) impose d'orienter le marché vers des antioxydants d'origine naturelle et stimule la recherche dans ce domaine [9]. Les plantes représentent une source très riche et renouvelable d'antioxydants naturels [1-8]. L'industrie des aliments propose plusieurs antioxydants naturels comme additifs

alimentaires. Le développement de méthodes de production de ces substances naturelles, spécialement à partir de plantes, est un domaine prometteur et en pleine croissance [2].

L'acide rosmarinique, dont les propriétés sont présentées ci-dessous, représente un exemple d'antioxydant pouvant être une bonne alternative aux antioxydants de synthèse car il est présent dans plusieurs plantes.

I.3. L'acide rosmarinique

L'acide rosmarinique ($C_{18}H_{16}O_8$) a été isolé pour la première fois à l'état pur par deux chimistes italiens, Scarpati et Oriente, en 1958 [10, 11, 12]. Son nom provient du nom de la plante à partir de laquelle il a été isolé, le romarin (*Rosmarinus Officinalis*). L'acide rosmarinique (fig.I.1) est un ester de l'acide caféique et de l'acide 3,4-dihydroxyphenyllactique [10-13].

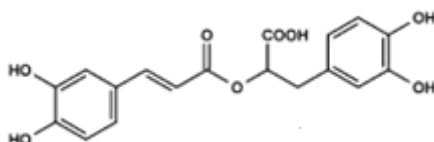


Figure I.1. Structure de l'acide rosmarinique

L'acide rosmarinique pur se présente sous forme de poudre cristalline de couleur crème, sensible aux rayons UV et à la lumière du jour. Dans la nature, l'acide rosmarinique existe sous forme de trans-isomère, mais, exposé à la radiation de la lumière du jour, il se transforme en cis-isomère [14, 15]. C'est un composé polaire, qui est donc soluble dans les solvants polaires comme l'eau et l'éthanol. Ses propriétés physiques sont indiquées dans le tableau I.1.

Tableau I.1. Propriétés physiques de l'acide rosmarinique

| | |
|--|-------------------|
| Formule brute | $C_{18}H_{16}O_8$ |
| Masse moléculaire, g/mol | 360,4 |
| Point de fusion, °C | 171-175 [16] |
| Solubilité dans l'eau à 25 °C, g/L | > 15 [15] |
| Solubilité dans l'éthanol à 25 °C, g/L | 25 [15] |

L'acide rosmarinique est présent dans les espèces de la famille des *Lamiacea* [1, 3, 10, 12, 17-24, 25, 30], ainsi que dans certaines plantes de la famille des *Boraginaceae* [1, 10, 22,

25] et des *Apiaceae* [25]. Le rôle biologique de l'acide rosmarinique chez les plantes est la défense contre les pathogènes et les herbivores [26].

L'acide rosmarinique est intéressant pour ses propriétés biologiques : anti-inflammatoire, antimutagène, antibactérienne [3-10, 13-24, 26-30], antivirale et surtout anti-oxydante [3-10, 13-24]. Une activité anti-VIH de l'acide rosmarinique a également été rapportée dans la littérature [1].

L'activité anti-oxydante de l'acide rosmarinique est due à la présence de quatre groupes hydroxyles dans sa molécule [14].

Certains extraits de plantes aromatiques contenant de l'acide rosmarinique ont des applications dans les domaines alimentaire, cosmétique, pharmaceutique, dans la production des boissons, etc. [20]

Les médicaments *Neurex*[®] (*Smart*), *Persen*[®] (*Lek Pharmaceuticals d.d.*) ou les additifs alimentaires *PAX+*[®] (*Arcopharm*), *Life Extension*[®] (*Herb soul*), ou encore le conservateur alimentaire *Aquarox*[®] (*Vitira*) constituent quelques exemples de produits contenant l'acide rosmarinique.

L'acide rosmarinique constitue donc un bon exemple d'antioxydant, largement répandu dans la nature. Nous l'avons donc choisi comme composé cible pour notre travail.

L'acide rosmarinique peut être extrait de plusieurs sources végétales : la Sauge (*Salvia*) [17, 19, 23, 27, 30], la Bourrache Officinale (*Borago Officinalis L.*) [ec.19], le Lierre (*Hedera Helix L.*) [11], le Romarin (*Rosmarinus officinalis*) [31, 32, 16, 30], la Lavande (*Lavandula*) [4, 17, 22], le Thym (*Thymus Vulgaris L.*) [17, 29], le Tilleul à petites feuilles (*Tilia Cordata Mill.*), le Dactyle aggloméré (*Dactylis Glomerata L.*), le Fétuque (*Festuca Rubra L.*), le Bromus (*Bromus Inermis et Bromus Marginatus*) [29], l'Origan (*Origanum Vulgare*) [ec.2, ec.27], le Lycophe d'Europe (*Lycopus Europaeus*), la Brunelle commune (*Prunella Vulgaris*) [30], la Menthe (*Mentha Piperita*), l'Hysop (*Hyssopus Officinalis L.*), le Basilic (*Ocimum Basilicum L.*), la Sarriette (*Satureja Hortensis L.*) [17]. G. Janicsak *et al.* (1999) [18] ont étudié l'extraction de l'acide rosmarinique à partir de 77 taxons de la famille des *Lamiaceae* (sous-famille des *Nepetoideae*) ; J.L. Lamaison *et al.* [33] - de 52 taxons *Lamiaceae* (sous-famille *Saturejoidae*) et de 24 taxons des familles *Lamiaceae*, *Boraginaceae* et *Apiaceae* [25].

Cependant, la mélisse (*Melissa Officinalis L.*) est rapportée dans la littérature comme une plante contenant de l'acide rosmarinique en grande quantité [7, 9, 13-15, 17, 18, 21, 23-25, 29, 30]. Elle a donc été choisie comme source naturelle d'acide rosmarinique.

La variation du contenu en acide rosmarinique provenant de 10 plantes de la famille des *Lamiaceae*, est présentée sur la figure I.2.[17]

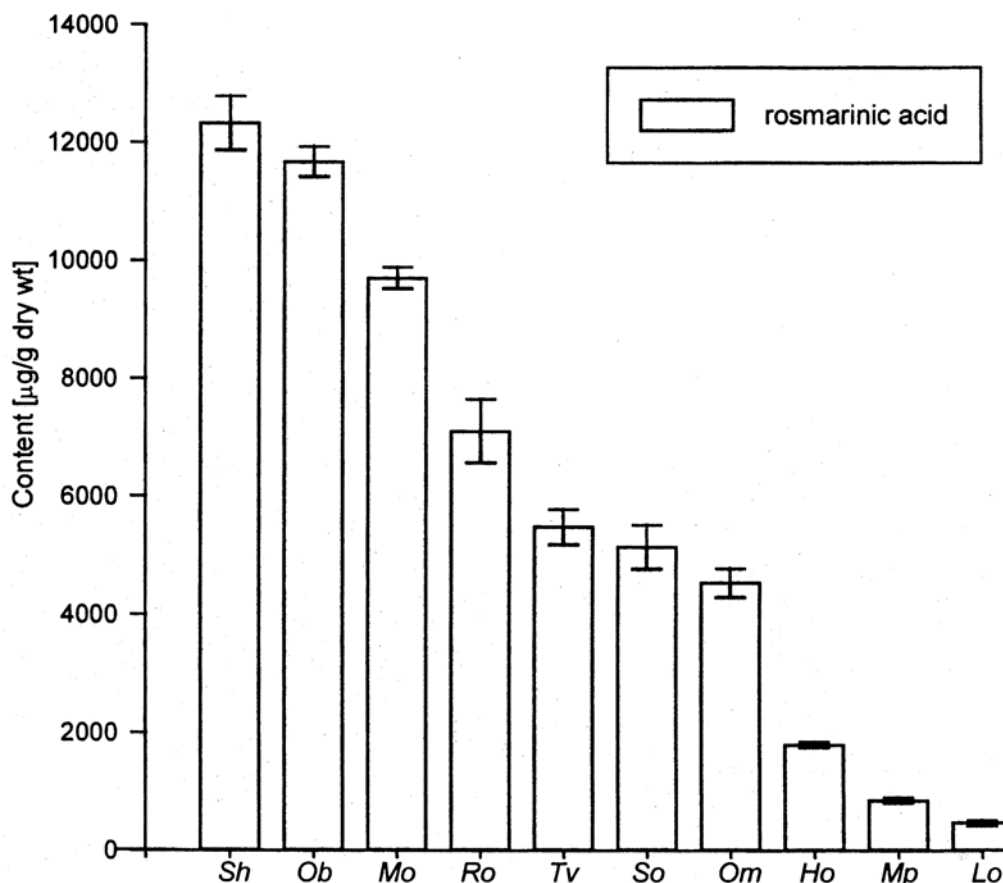


Figure I.2. Contenu en acide rosmarinique de diverses espèces de la famille des *Lamiaceae*.
Sh – Sarriette (*Satureja hortensis* L.) ; *Ob* – Basilic (*Ocimum basilicum* L.) ; *Mo* – Mélisse (*Melissa officinalis* L.) ; *Ro* – Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) ; *Tv* – Thym (*Thymus vulgaris* L.) ; *So* – Sauge (*Salvia officinalis* L.) ; *Om* – Origan (*Origanum majorana* L.) ; *Ho* – Hysope (*Hyssopus officinalis* L.) ; *Mp* – Menthe (*Mentha piperita* (L.) ; Hudson) ; *Lo* – Lavande (*Lavandula officinalis* Chaix) [17]

Cette figure montre que la mélisse est une des plantes les plus riches en acide rosmarinique. De plus, elle est largement répandue en Europe, ce qui justifie notre choix de la mélisse comme source d'acide rosmarinique.

I.4. La mélisse (*Melissa Officinalis L.*)

La mélisse (fig. 3.) est une plante vivace à souche longue. La tige, longue de 30 à 80 cm, est dressée de façon plus ou moins rameuse. Les feuilles, opposées, longuement pétiolées, ovales, crénelées, gaufrées, sont luisantes, d'un beau vert foncé sur le dessus, plus pâles en dessous. Les fleurs, blanches, qui apparaissent de juin à septembre, sont disposées à la base des feuilles supérieures. Le fruit, entouré par un calice persistant, contient des graines luisantes brun foncé.



Figure I.3. La mélisse.

La mélisse est répandue dans la flore naturelle de la région Méditerranéenne, dans l'Europe du Sud, l'Afrique de Nord et à l'est jusqu'au Caucase et l'Iran de Nord [13, 34, 35, 36]. La mélisse est cultivée en France, Allemagne, Italie, Roumanie, Bulgarie [36], Slovaquie du Sud, Moravie [13] et Amérique du Nord [36].

Le nom latin *Melissa* trouve ces racines dans le nom grec *Meleia* (du mot grec *meli*, *melitos* - miel), et provient de l'attraction importante des abeilles pour cette plante. Le terme *officinalis* a été ajouté pour la première fois par celui qui a créé les bases du système moderne de la nomenclature binominale, le naturaliste suédois Carl von Linné (1707 - 1778). Ce terme a été mentionné dans la pharmacopée en France en 1733. L'utilisation du mot français *officine* pour signifier pharmacie, laboratoire, a été documentée pour la première fois en 1812. Le nom *lemon balm* (mélisse en anglais) provient du citron (en raison de l'odeur caractéristique de cette plante) et du *balsam* qui signifie baume, balme [9]. D'autres noms de la mélisse connus en France sont mélisse citronnelle, citronnelle, citronne, herbe au citron, mélisse des boutiques, piment des abeilles ou des ruches, céline, ponchirade, thé de France.

La mélisse est connue depuis des siècles en tant que plante médicale. Le philosophe, écrivain et médecin perse Avicenne (980 - 1037) recommandait la mélisse pour renforcer le cœur. Les moines et nonnes en France ainsi que le médecin suisse Paracelse (1493 – 1541) préparaient des boissons fortifiantes (toniques) appelées « élixir de la vie » contenant de la mélisse. L'écrivain anglais John Evelyn (1620 - 1541) a décrit la mélisse comme une plante qui structure le cerveau, renforce la santé mentale et supprime la mélancolie [36].

Cette plante est très utile pour le traitement des agitations nerveuses, comme somnifère [9]. Dans la médecine traditionnelle, la mélisse est utilisée sous-forme de jus, crème ou thé [9] pour soigner : céphalée, nervosité, troubles gastro-intestinaux [9, 14, 15, 34, 35, 37], bronchite, dépression, hystérie [9, 35], rhumatisme [9, 14], flatulence, nausée, anémie, vertige, syncope, asthme, aménorrhée, insuffisance cardiaque, troubles de la conduction cardiaque, insomnie, épilepsie, psychose, ulcères, blessures [35], troubles de l'abdomen inférieur, migraine, faiblesse nerveuse, mal de dents, hypertension artérielle [9]. Par voie externe, (sous forme de compresse), elle est utilisée contre la douleur des nerfs et le torticollis [9].

La plante contient une grande variété de composés dont les principaux, selon diverses sources, sont présentés dans le tableau I.2.

Tableau I.2. Composés principaux de la mélisse selon différentes sources

| Composés | Référence |
|----------------------------|---|
| Huile essentielle | [1, 14, 13, 24, 34-38] |
| Composés flavonoïdes : | [9, 24, 34] |
| - Cynaroside | [9] |
| - Cosmosin | [9] |
| - Rhamnocitrin | [9] |
| - Isoquercitrin | [9] |
| Dérivées du Luteolin | [24] |
| Dérivées hydroxycinnamique | [24] |
| Cires | [21, 24] |
| Stérols | [21] |
| Chlorophylles | [1, 21] |
| Acides phénoliques : | |
| - Acide rosmarinique | [9, 13-15, 17, 18, 20, 21, 24, 25, 30, 37]. |
| - Acide protocatechuique | [14, 17, 21] |
| - Acide caffeique | [9, 14, 17, 18, 20, 21], |
| - Acide P-hydroxbenzoïque | [17] |
| - Acide gentisique | [17] |
| - Acide carsonique | [9] |
| Acides de triterpene | |
| - Acide ursolique | [9] |
| - Acide olénoïque | [9] |

Les propriétés sédatives, carminatives, antispasmodiques, anti-inflammatoires, antivirales et surtout anti-oxydantes de la mélisse sont attribuées à l'acide rosmarinique [1, 8, 13, 15, 14, 21, 35, 37]. La teneur en acide rosmarinique par rapport au poids sec de la plante varie de 0,5 à 4,75 % selon les études [13, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 24, 25, 30, 37].

La quantité d'huile essentielle présente dans la mélisse n'est pas très importante (0,02 – 0,32 % du poids sec de la mélisse) [1, 13, 24], mais son prix est élevé [1]. L'huile essentielle de mélisse présente des activités antibactériennes, anti-parasitiques, antihistaminiques et antifongiques [34]. Les composés principaux de l'huile essentielle sont le citral (représenté par les deux stéréo-isomères néral et geranial), le caryophyllène et le citronellal [1, 13, 24, 34-36, 37, 38]. D'autres composés y sont présents en petites quantités tels que germacrène D, ocimène, citronellol [24], oxyde de caryophyllène [1, 38], néral acétate [38], linalol, geraniol [1]. La composition de l'huile essentielle de mélisse selon trois sources et deux différentes techniques d'extraction (hydrodistillation et extraction au CO₂ supercritique) est présentée dans le tableau I.3.

Tableau I.3 Composition de l'huile essentielle de mélisse (exprimée en pourcentage) selon différentes sources.

| Référence | [34] | [24] | [38] | [38] |
|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------|
| Technique | Hydro-Distillation | Hydro-distillation | Hydro-distillation | ESC |
| Composé | | | | |
| Octen-3-ol | 1,3 | - | - | - |
| 6-methyl-hepten-2-one | 0,3 | 0,35 | - | - |
| Trans- β -ocimene | 0,5 | 0,3 | - | - |
| Linalool | 0,9 | 0,56 | - | - |
| Para-menth-3-en-8-ol | 0,2 | - | - | - |
| Citronellal | 12,9 | 39,47 | 5 | 2,87 – 3,53 |
| Citronellol | 6,2 | 0,63 | - | - |
| Néral | 24,5 | 20,40 | 33,63 | 21,77 – 23,3 |
| Geraniol | 0,7 | 0,18 | - | - |
| Geranial | 35,3 | 27,84 | 47,06 | 61,40 – 63,23 |
| α -Cubebène | 0,2 | - | - | - |
| Eugénol | 0,1 | - | - | - |
| Acétate de Geranyl | 7,1 | 0,58 | - | - |
| Caryophyllène | 4,9 | 2,37 | 1,23 | 6,63 - 8,47 |
| Germacrène | 0,2 | - | - | - |
| Acétate d'Eugenol | 0,1 | - | - | - |
| Oxyde de caryophyllène | 2,7 | 0,67 | 3,56 | 0,9 – 2,63 |
| Acétate de néral | - | - | N/A | 0 – 1,57 |
| α -pinène | - | 0,11 | - | - |
| Cis- β -ocimène | - | 0,1 | - | - |
| Oxyde de cis-linalool | - | 0,39 | - | - |

I.5. Citral et Caryophyllène

En parallèle de notre composé cible, l'acide rosmarinique, l'huile essentielle de la mélisse présente un intérêt particulier pour nous. Cette huile au prix élevé [1] (entre 6 et 34 €/mL dans le commerce) est utilisée en médecine, en pharmacologie, en cosmétique et dans l'industrie alimentaire [34, 35]. Dans l'huile essentielle obtenue par extraction supercritique ces deux composés représentent plus de 90 % [38].

Le citral (ou lémonal) est un aldéhyde aliphatique, liquide de couleur jaune pâle avec une forte odeur de citron. Sa formule brute est $C_{10}H_{16}O$. Il est présent sous forme de deux stéréo-isomères, le géraniol (trans) et le néral (cis) (fig. 4).



Figure I.4. Structure des isomères du citral : a) Néral ; b) Général

Le géraniol a une très forte odeur de citron alors que le néral a une odeur plus douce. Le citral est insoluble dans l'eau et très soluble dans les solvants organiques. Certaines propriétés physiques du citral sont données dans le tableau I.IV. Le citral étant un composé aromatique, il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire (comme flaveur des nourritures, boissons, bonbons etc.) et en parfumerie pour son odeur de citron [39, 40]. Il est également utilisé pour enrichir l'huile de citron. Le citral est utilisé dans la pharmacie pour la synthèse des vitamines A et E, ainsi que comme caroténoïde [40]. Il a de fortes propriétés antimicrobiennes [41], antivirales, sédatives, antifongiques. Il est aussi considéré comme anti-tumoral [39].

Le rôle du citral dans les plantes est relié à son effet phéromone pour les insectes [42, 43].

Le caryophyllène (ou β -caryophyllène, ou encore (-)-*trans*-caryophyllène) est un sesquiterpène bicyclique [44, 45]. Sa formule brute est $C_{15}H_{24}$. A l'état pur, c'est un liquide huileux incolore à jaune pâle avec une forte odeur ligneuse (boisée), sèche, épicée [46]. Il est

insoluble dans l'eau et soluble dans des solvants organiques et certaines huiles [46, 47]. Quelques-unes de ses propriétés physico-chimiques sont listées dans le tableau I.4. Il est utilisé dans la cosmétique et la parfumerie pour ces qualités d'arôme (fragrances) [45]. Le caryophyllène a un effet anti-inflammatoire [44, 48, 50] et antiallergique [50] et possède une activité analgésique avec des effets gastriques cytoprotectifs [44]. Cela le rend utilisable dans les domaines de la pharmacie et de la médecine. Le caryophyllène est approuvé par la FDA (*U.S. Food and Drug Administration*) comme additif alimentaire et est ingéré quotidiennement comme additif alimentaire aux Etats-Unis.

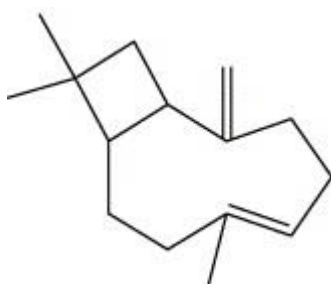


Figure I.5. Structure du caryophyllène

Tableau I.4. Propriétés physiques du citral et du caryophyllène

| | Citral | Caryophyllène |
|---------------------------|-----------------|----------------|
| Formule brute | $C_{10}H_{16}O$ | $C_{15}H_{24}$ |
| Masse moléculaire, g/mol | 152,24 | 204,36 |
| Point d'ébullition, °C | 229 | 261 |
| Masse volumique, kg/m^3 | 893 | 905,2 |

I.6. Techniques extractives

Le procédé d'extraction est basé sur la différence de solubilités des composés d'un mélange dans un solvant. Le mélange peut être solide ou liquide et le solvant liquide ou fluide supercritique. Dans notre travail, nous nous intéressons aux procédés d'extraction à partir d'un système solide, la plante.

Il existe plusieurs techniques d'extraction des produits de haute valeur ajoutée présents dans les plantes. Ces techniques peuvent être dites *conventionnelles* (utilisées depuis longtemps) et *nouvelles* (développées plus récemment) [51].

Parmi les techniques conventionnelles, on trouve l'entraînement à la vapeur (hydrodistillation) [24, 31, 32, 35, 38, 52], l'extraction par Soxhlet [13, 29, 53 54],

l'extraction en mode batch [9, 17, 24, 27, 32] et l'extraction assistée par sonication [14, 18-20 55].

Dans la catégorie « techniques nouvelles » on peut citer l'extraction assistée par microondes (Microwave Assisted Extraction) [29, 53, 54], l'extraction accélérée par solvants (Accelerated Solvent Extraction) [21, 54, 56], et l'extraction avec des fluides supercritiques [21, 29, 31, 32, 53-55, 87].

Il existe également d'autres techniques extractives, moins répandues, comme, par exemple, l'extraction solide-liquide à moyenne pression (medium-pressure solid-liquid extraction - MSLE) dont le principe est le suivant : le solvant, alimenté par une pompe, traverse sous une certaine pression (~10 bar) une colonne remplie de matériel à extraire (colonne à lit fixe) [35].

L'entraînement à la vapeur (hydrodistillation) est une technique largement utilisée pour l'extraction des huiles essentielles [24]. L'avantage de cette technique réside en l'abaissement de la température de distillation ; les composés sont donc entraînés à des températures beaucoup plus basses que leur température d'ébullition, ce qui évite leur décomposition [24].

Le Soxhlet est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. Les avantages du Soxhlet sont les suivants : l'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. Cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction. Le Soxhlet est indépendant de la matrice végétale. Les inconvénients les plus significatifs de cette méthode, par comparaison avec les autres techniques conventionnelles sont : la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée, ce qui conduit non seulement à des pertes économiques mais pose aussi des problèmes sur le plan environnemental. Les échantillons étant portés à haute température pendant une période relativement longue, le risque de thermodestruction de certains composés n'est pas à négliger si la matière végétale contient des composés thermolabiles. Étant donné la grande quantité de solvant utilisée, l'étape postérieure d'évaporation/concentration devient limitante. Des échauffements locaux sont également possibles [53]. Cette technique est limitée d'un point de vue de la sélectivité du solvant et n'est pas facilement automatisable [51, 53, 56].

L'avantage majeur de l'extraction en mode batch par agitation devant le Soxhlet est la possibilité de travailler facilement avec des mélanges de solvants (par exemple diverses proportions alcool-eau) et de contrôler la température d'extraction, en évitant le risque de

destruction des composés thermolabiles. C'est une méthode simple et efficace mais qui exige des procédures postérieures de filtration et de concentration relativement longues [53].

L'extraction par sonication est une méthode simple, efficace et peu coûteuse. Ses avantages les plus significatifs sont liés à l'augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique par rapport à une extraction classique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Cette technique est facile à mettre en œuvre. Comme le Soxhlet, l'extraction par sonication permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels. Cependant, l'effet de l'extraction par ultrasons sur le rendement et la cinétique d'extraction est lié à la nature de la matrice végétale. La présence d'une phase dispersée mène à l'atténuation des ondes ultrasonores et les zones actives dans l'extracteur restent à proximité de l'émetteur d'ultrasons [56]. Cette méthode ne permet pas de renouveler le solvant pendant le processus. L'étape limitante est la filtration et le rinçage après l'extraction [58].

L'extraction assistée par microondes est également une alternative aux méthodes d'extraction conventionnelles [56]. Elle utilise de plus petites quantités de solvant, n'est pas coûteuse [53, 54, 56] et est considérablement rapide. Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement haute (100 – 150 °C), ce qui pose des problèmes quand il s'agit de l'extraction d'antioxydants [53, 54]. Les autres inconvénients de cette technique sont d'une part le rendement faible lorsque les solutés ou les solvants sont apolaires et d'autre part le besoin de l'étape postérieure de filtration ou de centrifugation pour éliminer le résidu solide de l'extrait [56].

L'extraction accélérée par solvants (Accelerated Solvent Extraction – ASE®) est une technique brevetée de la société DIONEX qui utilise les solvants conventionnels à des températures (50 – 200 °C) et des pressions 100 – 150 bar) élevées. La pression est maintenue assez élevée pour maintenir le solvant à l'état liquide à température élevée. Pendant l'ASE®, le solvant reste toujours en dessous de ses conditions critiques [56]. Les avantages de cette technique devant les techniques conventionnelles sont les suivants : on évite les échauffements locaux et on consomme de plus petites quantités de solvant en comparaison à l'extraction par Soxhlet et par batch avec agitation. Ses inconvénients sont liés à sa non-sélectivité, ce qui impose des procédures supplémentaires de nettoyage des extraits [54, 56]. Les températures opératoires élevées peuvent mener à une dégradation des solutés thermolabiles [56].

L'extraction avec des fluides supercritiques est une méthode très attractive qui mérite une attention particulière (cf. I.7.2). Les avantages de cette méthode devant les méthodes conventionnelles sont basés sur une durée d'extraction plus courte, une sélectivité élevée et la facilité d'éliminer le solvant après l'extraction par simple décompression [58].

Ces différentes techniques ont été utilisées pour réaliser des études sur l'extraction de l'acide rosmarinique à partir de mélisse. Janicsak et al. (1999) [18] ont appliqué l'extraction par ultrasons avec un mélange méthanol-eau 60 : 40 %. Avec cette technique, ils ont obtenu un extrait contenant 0,44 % d'acide rosmarinique par masse de matière première. Caniova et Brandsteterova (2001) [14] ont appliqué la même méthode avec divers solvants (60 :40 % éthanol-eau ; 60 : 40% éthanol-eau à pH = 2,5; 60 % méthanol-eau ; 60 % méthanol-eau à pH = 2,5 et eau à pH 2,5). Les résultats varient entre 1,2 et 1,7 % d'acide rosmarinique par masse de matière première. Wang et al. (2004) [20] ont obtenu par extraction aux ultrasons (solvant éthanol -eau 30 :70) 2,74 % d'acide rosmarinique par masse de matière première.

Toth et al. (2003) [13] ont appliqué l'extraction Soxhlet avec du méthanol. Les résultats varient entre 3,5 et 3,9 % en fonction de la phase ontogénique de la plante lors de la moisson.

Zgorcka et Glowniak (2001) [17] ont utilisé l'extraction en mode batch, avec du méthanol à reflux, et ont obtenu un extrait contenant 1 % d'acide rosmarinique par masse de matière première. Le contenu maximum en acide rosmarinique est égal à 4,75% et a été obtenu par Fialova et al. (2008) [37] qui ont extrait de l'AR en mode batch à reflux avec un mélange éthanol-eau à 50 % . Les résultats varient de 3,79 à 4,75 % selon la saison de la moisson de la plante. Carnat et al. (1998) [24] ont obtenu un extrait d'acide rosmarinique avec de l'eau bouillante en mode batch et ont ainsi récupéré 4 % par masse de matière première. Le contenu en acide rosmarinique d'extrait obtenus par extraction en mode batch avec de l'éthanol à 50% par Lamaison et al (1990)[25], Lamaison et al (1991)[30] et Lamaison et al (1991)[33] est égal respectivement 2,7, 4,7et 4,7%.

Dastmalchi et al. (2008) [35] ont appliqué l'extraction solide-liquide à moyenne pression (medium-pressure solid-liquid extraction) avec comme solvant un mélange éthanol-eau, et le rendement obtenu est environ 3 % d'acide rosmarinique par masse de matière première.

Ribeiro et al. (2001) [1] ont utilisé l'extraction au CO₂ supercritique pour éliminer des composés non désirés (chlorophylle en grande quantité, vérifié spectrophotométriquement) de la matrice végétale. L'acide rosmarinique a été extrait ensuite, à partir du résidu supercritique

et à partir de la mélisse non-traitée, par extraction en mode batch avec de l'eau bouillante comme solvant. Dans la plupart des cas le prétraitement supercritique améliore l'extraction conventionnelle. Marongiu et al. (2004) [8] ont réalisé l'extraction avec du CO₂ supercritique et ont éliminé les huiles essentielles et les composés plus lourds en deux étapes (90 bar- 50 °C et 300 bar-50 °C, respectivement) et ils ont obtenu des résidus enrichis en acide rosmarinique.

Le tableau I.5 présente les rendement d'extraction de l'acide rosmarinique obtenus à partir de mélisse par différentes techniques d'extraction.

Tableau I.5. Quantité d'acide rosmarinique extraite à partir de mélisse par masse de la matière première, rapporté par différents auteurs

| Référence | Technique | Quantité d'AR extraite, % |
|---------------------------------------|------------|---------------------------|
| Janicsak et al. (1999) [18] | Sonication | 0,44 |
| Caniova et Brandsteterova (2001) [14] | Sonication | 1,2-1,7 |
| Wang et al. (2004) [20] | Sonication | 2,74 |
| Toth et al. (2003) [13] | Soxhlet | 3,5 à 3,9 % |
| Zgorka et Glowniak (2001) [17] | Batch | 1 % |
| Lamaison et al. (1990) [25] | Batch | 4,7 |
| Lamaison et al.(1991) [30] | Batch | 4,7 |
| Lamaison et al.(1991) [33] | Batch | 2,4 |
| Fialova et al. (2008) [37] | Batch | 3,79 - 4,75 |
| Carnat et al. (1998) [24] | Batch | 4 |
| Dastmalchi et al. (2008) [35] | MSLE | 3 |

Etant donné la variation du rendement selon les diverses études, on peut supposer que la teneur initiale en acide rosmarinique dans la matière première n'est pas identique pour tous les échantillons traités. Cependant, la tendance est d'extraire plus d'acide rosmarinique avec le mélange éthanol-eau qu'avec le mélange méthanol-eau. L'extraction en mode batch et par Soxhlet est plus efficace que l'extraction à l'aide d'ultrasons. Le CO₂ supercritique a été utilisé pour prétraiter la matière première avant l'extraction conventionnelle.

Cependant, l'influence des paramètres opératoires (type et concentration du solvant, température, taille des particules solides, hydromodule, etc.) sur la cinétique d'extraction de l'acide rosmarinique à partir de mélisse n'a pas été pas systématiquement étudiée. Il en est de même pour l'influence des conditions opératoires sur le prétraitement supercritique.

Pour la récupération de l'huile essentielle de mélisse, deux techniques ont été utilisées : l'entraînement à la vapeur (hydrodistillation) [24, 34, 35, 38] et l'extraction au CO₂ supercritique [1, 38].

Le rendement de l'huile essentielle issue de l'extraction supercritique est plus élevé et l'extrait est plus riche en composés principaux (plus de 90 % de citral et caryophyllène) que dans le cas de l'hydrodistillation [38]. Pour cette raison nous avons étudié la possibilité d'isoler l'huile essentielle par le procédé d'extraction supercritique.

Dans nos études d'extraction, nous avons utilisé deux techniques conventionnelles – l'extraction en mode batch et l'extraction Soxhlet, choisies pour leur simplicité de mise en œuvre et leur efficacité, ainsi qu'une technique plus récente, l'extraction supercritique, dont les caractéristiques vont maintenant être détaillées.

I.7. Les fluides supercritiques

I.7.1. Le domaine supercritique

I.7.1.1. Généralités

D'un point de vue physique, le phénomène *supercritique* peut être expliqué de la manière suivante : lorsque deux molécules d'un fluide se rapprochent à une température telle que leur vitesse relative est faible, les forces d'attraction agissent pour créer une association temporaire ces molécules. Si la masse volumique du fluide est suffisamment importante (c'est-à-dire si la pression est suffisamment élevée), la condensation sera possible. Au contraire, si la température, et donc la vitesse relative, sont élevées, les forces d'attraction entre molécules seront trop faibles par rapport à la vitesse et la condensation ne se produira pas. Ainsi, pour chaque substance, il existe une température appelée *température critique* au-dessous de laquelle la condensation du liquide est possible mais au-dessus de laquelle cette transformation n'est plus possible. Au-dessus de la température critique la substance n'existe plus en tant que liquide ou gaz, mais plutôt comme un fluide. Ce phénomène a été mis en évidence expérimentalement pour la première fois par le Baron Charles Cagniard de la Tour (1822) [49]. Le domaine supercritique est défini quand la température et la pression de la substance dépassent leurs valeurs critiques. Les fluides supercritiques ont des caractéristiques physico-chimiques intermédiaires entre celles des gaz et des liquides. En les comparant avec les solvants liquides, les fluides supercritiques présentent les avantages principaux suivants:

(1) le pouvoir solvant des fluides supercritiques est très flexible et dépend de leur masse volumique, c.-à-d. qu'il est ajustable en modifiant la température et/ou la pression.

(2) la tension superficielle des fluides supercritiques est très faible, ils ont une diffusivité élevée et une viscosité faible, ce qui favorise le transfert de matière et permet une pénétration facile dans les pores d'une matrice solide [56].

I.7.1.1.1 Diagramme de phases d'un corps pur

Sur le diagramme de phases d'un corps pur, le point critique est défini par sa température et sa pression critique et prend des valeurs particulières pour chaque substance [49]. L'exemple d'un diagramme de phases (dioxyde de carbone) est présenté sur la Figure I. 6.

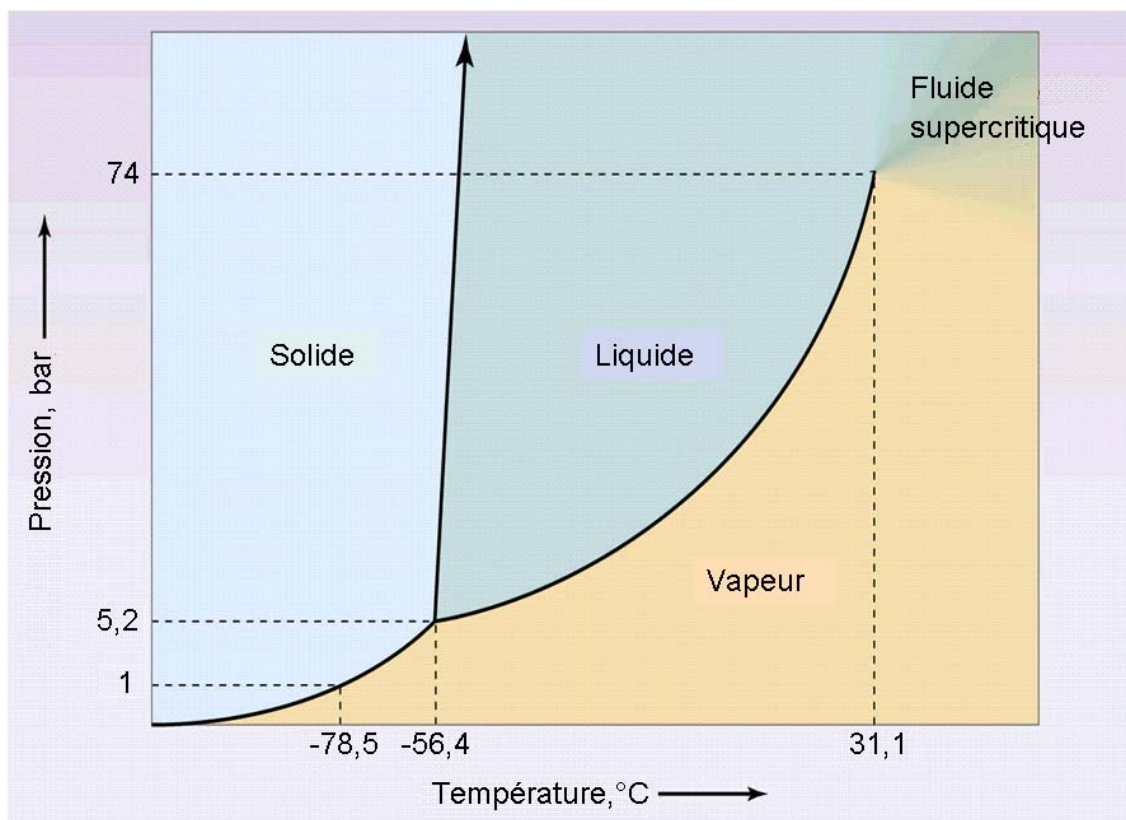


Figure I.6. Diagramme de phases du CO₂

Sur la Figure I. 6, on distingue les zones où la substance existe sous forme de solide, de liquide ou de vapeur. Les courbes représentent la zone de coexistence entre deux phases. Au point triple (-56,4 °C; 5,2 bar) les trois phases coexistent. Si on augmente la température et la pression à partir du point triple, on se déplace vers le haut sur la courbe liquide-vapeur. Le liquide devient moins dense à cause de l'expansion thermique et la vapeur devient plus

dense à cause de l'augmentation de la pression. Finalement, au point critique, les masses volumiques des deux phases deviennent identiques, on ne distingue plus la vapeur et le liquide. Au-delà de ce point les substances existent sous forme d'une seule phase, le fluide supercritique.

I.7.1.1.2 Masse volumique autour du point critique

Les propriétés des fluides supercritiques se situent entre celles des gaz et celles des liquides lorsque la pression augmente. Ainsi en est-il par exemple de la masse volumique comme le montre la Figure I. 7, qui représente le cas du CO₂.

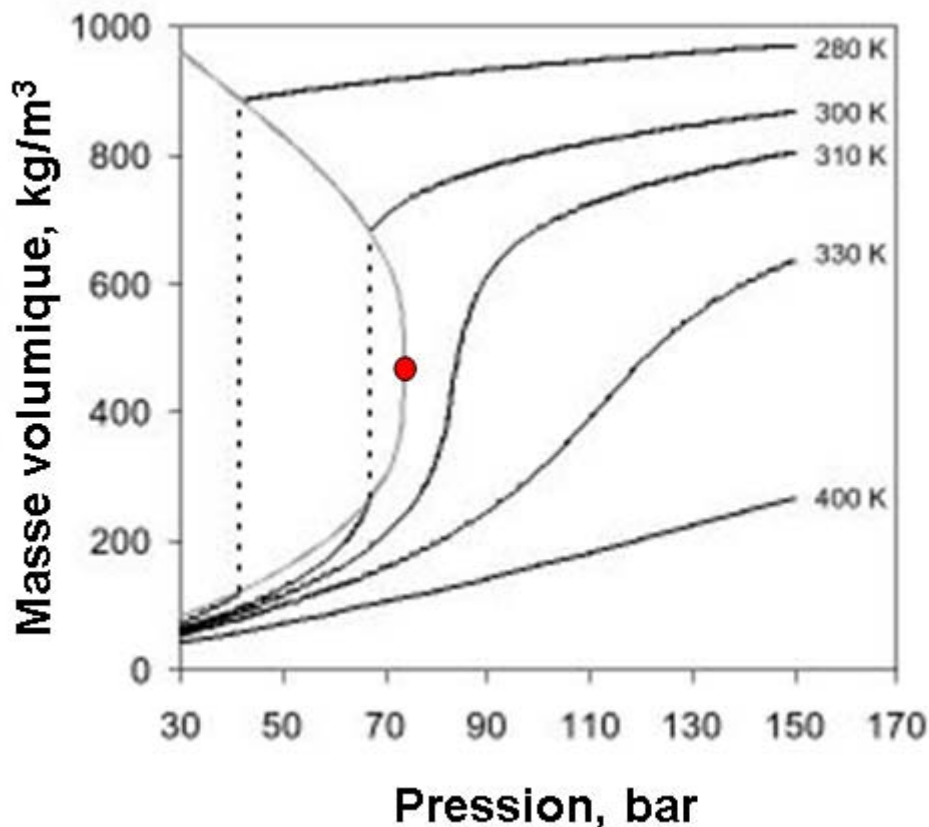


Figure I. 7. Isothermes masse volumique-pression pour le CO₂

Aux températures légèrement supérieures à la température critique, la masse volumique varie beaucoup pour de faibles variations de pression. Aux températures plus élevées ce changement est moins brusque et se manifeste à pressions plus élevées. Par conséquent, il est plus difficile de bien contrôler la masse volumique autour de la température

critique. Les autres propriétés thermodynamiques, telles que l'enthalpie, varient de la même manière [49, 59].

1.7.1.1.3. Influence de la température sur la solubilité

La solubilité dans le CO₂ supercritique change avec la température sous l'influence compétitive de deux phénomènes [49, 60]: la tension de vapeur du soluté qui augmente avec la température, et le pouvoir solvant du CO₂ supercritique qui diminue avec la température en raison de la diminution de la masse volumique du fluide. A basse température, la solubilité diminue lorsque la température augmente en raison de l'effet prédominant de la diminution de masse volumique du fluide devant l'augmentation de la pression vapeur du soluté. Au-delà d'une certaine température, le dernier effet devient prédominant, la solubilité passe par un minimum, puis augmente avec la température. La température à solubilité minimale est plus élevée à pression plus faible. La figure I. 8, qui concerne un mélange modèle naphthalène-CO₂, en représente un exemple : à une faible pression, le pouvoir solvant du CO₂ décroît lorsque la température augmente. Par contre, à pression élevée, la solubilité augmente avec la température.

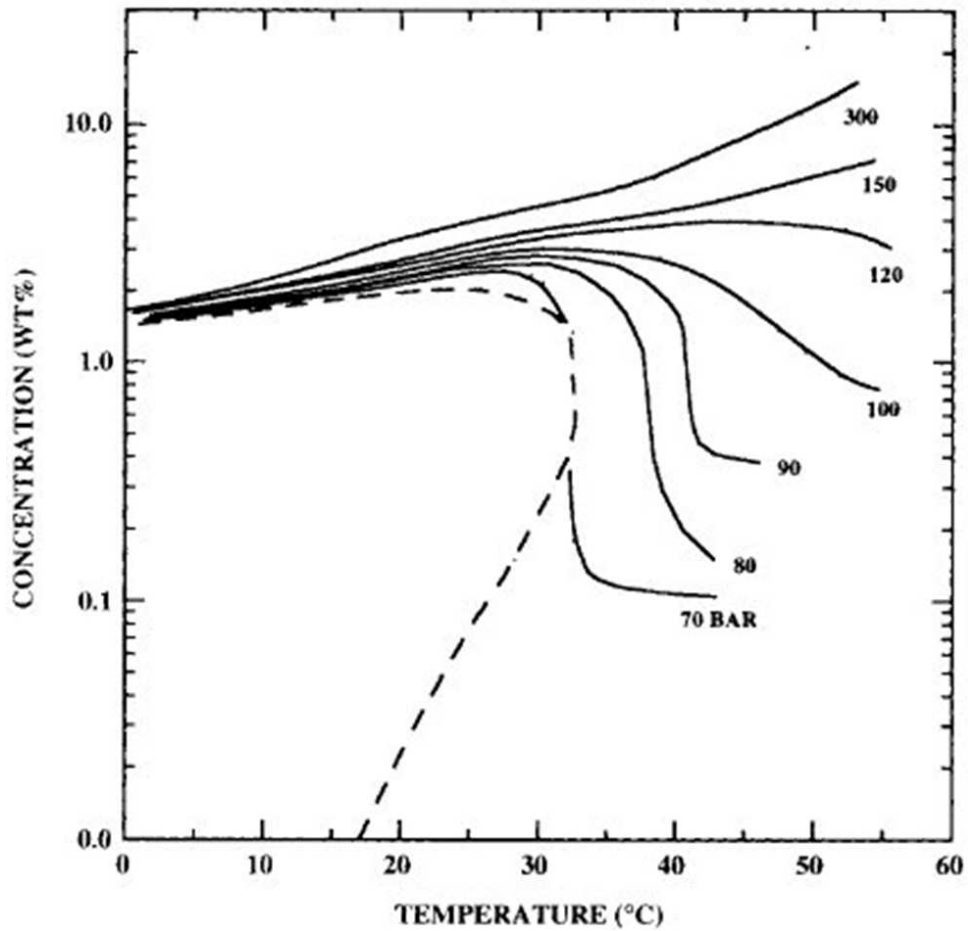


Figure I.8. Solubilité du naphthalène dans le CO₂ en fonction de la température, d'après [61]

Il est souvent plus commode d'exprimer la solubilité d'un composé dans un fluide supercritique en fonction de la masse volumique de ce dernier. Un tel exemple est présenté sur la Figure I. 9.

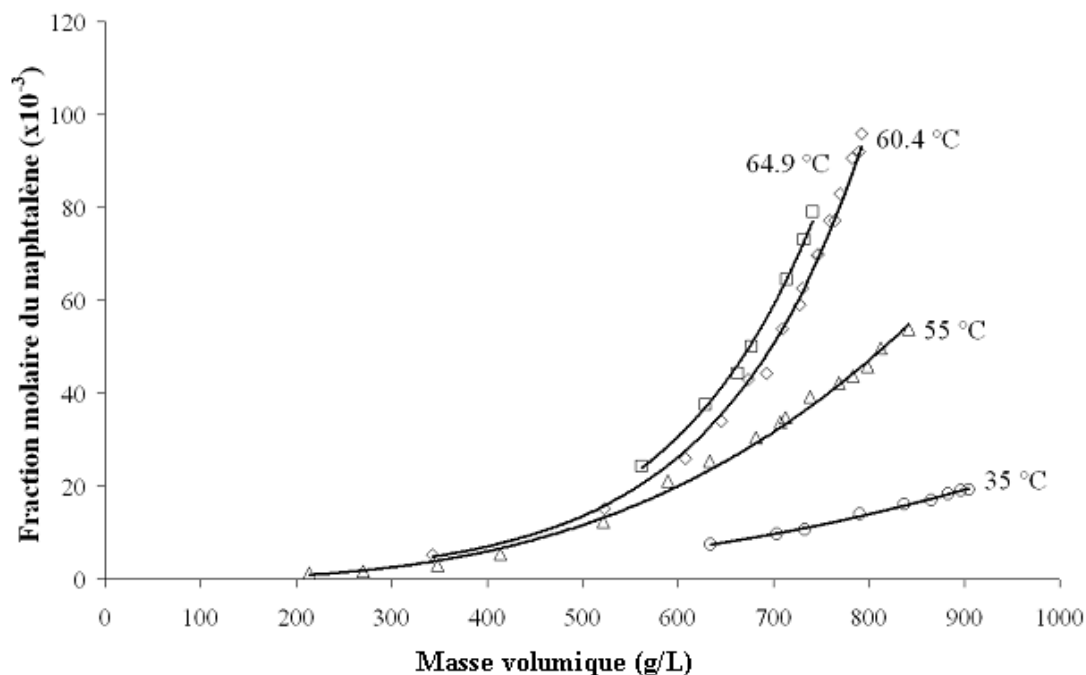


Figure I.9. Solubilité du naphthalène dans le CO₂ en fonction de la masse volumique du CO₂, d'après [61]

Cette figure met en évidence, d'une part, l'augmentation du pouvoir solvant d'un fluide supercritique avec la masse volumique à une température donnée et, d'autre part, l'augmentation du pouvoir solvant d'un fluide supercritique avec la température à une masse volumique donnée.

I.7.1.2. Principaux fluides supercritiques

Au cours des dernières années, les propriétés de beaucoup de fluides supercritiques ont été étudiées. Parmi eux, le CO₂ est le fluide supercritique présentant les propriétés les plus satisfaisantes : il est peu couteux et disponible à une pureté élevée, sa pression (74 bar) et sa température (31°C) critiques sont relativement faciles à atteindre, il est inerte, non-inflammable et non-toxique, et en dehors des applications radioactives il est chimiquement stable [38, 49, 56]. Cependant, le CO₂ n'a pas de moment dipolaire permanent et sa polarité est comparable celles du pentane ou de l'hexane liquides [38, 49, 54]. Cela en fait un bon solvant pour les composés apolaires mais pas pour les composés polaires. Un fluide alternatif est le monoxyde d'azote, N₂O, dont le moment dipolaire est légèrement plus élevé (0,17 D). Les inconvénients du N₂O sont le risque d'oxydation et d'explosion en présence de composés organiques [54]. L'utilisation d'autres fluides supercritiques est également limitée en raison des risques vis-à-vis de l'environnement et/ou pour leurs températures et pressions critiques

élevées. Il s'agit de composés de moment dipolaire élevé comme le Freon-22, le Fréon-23, le méthanol [54, 56] ou l'hexane [56]. L'eau supercritique [49, 56], subcritique ou surchauffée [49, 54, 56] est un très bon solvant pour les composés polaires mais sa température et pression critiques sont relativement élevées, ce qui la rend inadaptée pour le traitement de composés thermolabiles. De plus, elle est très corrosive en présence d'oxygène [49, 54, 56]. Les propriétés physiques et les moments dipolaires de quelques fluides sont présentés dans le tableau I.6. D'autres substances utilisées comme fluides supercritiques sont le diméthyl éther [26], le propane, le méthane, le fluoroforme, l'éthylène, l'éthane etc. [62].

Tableau I.6. *Coordonnées critiques et moment dipolaire de certains fluides supercritiques [54]*

| Fluide | Température critique, °C | Pression critique, bar | Moment dipolaire, D |
|--------------------------------|--------------------------|------------------------|---------------------|
| CO ₂ | 31,1 | 74 | 0 |
| H ₂ O | 374,1 | 221,1 | 1,85 |
| N ₂ O | 36,5 | 72,6 | 0,17 |
| Freon-22 (CHClF ₂) | 96 | 49,1 | 1,29 |
| Freon-23 (CHF ₃) | 25,9 | 47,5 | 1,65 |
| Méthanol | 240 | 79,5 | 1,7 |

I.7.1.3. Utilisation des fluides supercritiques

Dans les trente dernières années les fluides supercritiques ont été utilisés en tant que solvants dans divers procédés : la micronisation à haute pression, la chromatographie [26, 63] et pour des réactions chimiques et biochimiques [26, 31]. Cependant, leur application la plus répandue et la plus développée à l'échelle industrielle concerne les procédés d'extraction [49, 59], que nous allons décrire plus en détails dans le paragraphe suivant.

I.7.2. Extraction par fluides supercritiques (ESC)

I.7.2.1. Généralités

Le développement de nouvelles technologies de séparation dans l'industrie chimique, pharmaceutique, cosmétique et alimentaire est lié aux exigences pour la protection de l'environnement, la santé publique et au besoin de minimiser la consommation énergétique des procédés. Par exemple, l'utilisation des solvants organiques pour le traitement des matières végétales est soumise à des restrictions de plus en plus fortes, en particulier depuis la mise en œuvre de la directive REACH, visant à assurer un niveau élevé de protection de la

santé humaine et de l'environnement, contre les risques que peuvent poser les produits chimiques. Ces restrictions sont particulièrement importantes dans le domaine de l'industrie alimentaire, pour laquelle il devient urgent de proposer des substances alternatives aux solvants organiques traditionnellement utilisés dans les procédés d'extraction ou de purification de la matière végétale. L'extraction par fluide supercritique et plus particulièrement par le CO₂ supercritique a été introduite comme alternative à ces procédés d'extraction par solvants [2].

Le phénomène au cours duquel une molécule (soluté) ou un groupe de molécules transfère vers la phase supercritique, peut être présenté, d'une part, comme une vaporisation, puisque la molécule en question passe de la phase condensée vers une phase plus expansée (le solvant supercritique). D'autre part, ce phénomène peut aussi être considéré comme une dissolution car une interaction soluté-solvant apparaît. Les phénomènes de vaporisation/dissolution caractérisent la nature intermédiaire de l'état supercritique. Pour comprendre le comportement soluté-solvant, il est nécessaire de connaître la masse volumique du solvant et l'interaction entre le solvant et les divers composés qui composent la phase solide [32].

I.7.2.2. Avantages et inconvénients

Les plus grands avantages des fluides supercritiques apparaissent au voisinage de sa température et pression critiques, car leur masse volumique et donc leur pouvoir solvant sont très flexibles, ce qui peut offrir une grande sélectivité [49, 56]. Cependant, ils sont aussi très utilisés aux pressions beaucoup plus élevées, puisque le pouvoir solvant augmente avec la pression [32, 56, 60, 8, 65, 66, 68]. Les fluides supercritiques sont des solvants puissants avec des propriétés uniques. Ils ont un potentiel important d'application dans un grand nombre de procédés d'extraction [62].

Les avantages les plus importants de l'extraction au CO₂ supercritique par rapport à l'extraction conventionnelle sont les suivants :

- (1) Les propriétés déjà mentionnées des fluides supercritiques : sa diffusivité élevée, sa viscosité faible [38, 49, 56], et sa tension de surface faible [38, 56],
- (2) C'est un procédé flexible dans lequel il est possible de contrôler le pouvoir solvant et donc la sélectivité du fluide supercritique en modifiant les conditions de température et de pression.
- (3) L'extraction supercritique est généralement plus rapide.

(4) La température critique est relativement basse (31 °C) [49, 56, 60], ce qui permet d'éviter la thermodestruction éventuelle des composés, de minimiser les risques d'hydrolyse et d'isomérisation des produits [38].

(5) Cette méthode permet d'éliminer des manipulations postérieures coûteuses de purification de l'extrait par élimination des solvants car il suffit tout simplement de baisser la pression pour éliminer le solvant. On évite aussi l'utilisation d'eau [38] ou de solvants organiques polluants. C'est donc un procédé non-toxique.

(6) Le CO₂ est facilement disponible. Il est produit en grande quantité comme sous-produit de la fermentation, combustion, la synthèse d'ammoniac etc. Il est émis dans l'atmosphère s'il n'est pas utilisé comme fluide supercritique [1, 49]. Ces procédés n'ont donc pas d'impact négatif supplémentaire en tant que gaz à effet de serre.[1].

Les inconvénients majeurs de l'extraction supercritique concernent surtout l'aspect économique, car ces procédés sont considérés comme plus coûteux en investissement que les procédés d'extraction traditionnels [56]. Cette technologie exige une consommation d'énergie non-négligeable pour établir les pressions et les températures pendant les différentes étapes d'extraction (extraction, séparation et recyclage du solvant).

I.7.2.3. Mise en œuvre de l'extraction supercritique

Dans la plupart des cas la matière première se présente sous forme solide. Cependant, dans certains cas, comme par exemple un procédé de désolvantisation d'huile essentielle obtenue grâce à un procédé d'extraction traditionnel, la matière à traiter est sous forme liquide. Suivant l'état de la matière à traiter, le procédé sera différent [64], comme nous allons le voir maintenant.

I.7.2.3.1. Traitement de matrices solides

L'extraction supercritique à partir de matrices solides peut être menée en mode batch ou en mode semi-batch.

En mode batch, la matière première est disposée dans l'extracteur et le solvant supercritique est introduit jusqu'à ce que les conditions opératoires souhaitées soient atteintes. Le contact entre la matrice et le solvant est maintenu pendant un temps relativement long (plusieurs heures) afin d'atteindre la composition à l'équilibre. Dans ce type de fonctionnement, il faut éviter les variations locales de température et de pression.

Cette approche est similaire à la méthode analytique qui sert généralement à mesurer la solubilité d'un soluté dans un fluide supercritique, mais elle peut être limitée par l'affinité éventuelle du soluté avec la matrice solide. La force motrice du procédé est plutôt égale à la concentration à l'équilibre des solutés entre la phase solide et le fluide, qu'à la solubilité du composé pur dans la phase fluide. De plus, plusieurs solutés peuvent être extraits simultanément, il faut donc faire l'hypothèse que les solutés n'influencent pas l'un sur l'autre. Enfin, si on ne peut pas extraire toute la quantité du soluté, l'échantillon de la phase fluide ne nous fournit pas d'information sur le contenu total de ce composé dans la matrice.

Le procédé en mode semi-batch est le plus largement utilisé. La matière première est dans ce cas placée dans l'extracteur sous forme d'un lit fixe de particules. Le solvant supercritique est introduit en continu par une pompe à haute pression et le débit est maintenu constant. Un ou plusieurs étages de séparation peuvent être utilisés dans ce schéma afin de séparer les solutés de la solution supercritique. Ces systèmes utilisent des extracteurs de volume allant de 10 à 200 cm³ à l'échelle laboratoire et jusqu'à 5 L environ à l'échelle pilote[64]. Dans ces systèmes, le solvant est en général recyclé. Dans ce cas, la pression et la température dans le dernier séparateur doivent être maintenues à des valeurs telles que le solvant gazeux qui en est issu puisse être liquéfié dans le condenseur.

Plusieurs procédures de séparation soluté-solvant ont été mises en œuvre, en commençant par le cas le plus simple, la séparation en une étape. La séparation en plusieurs étapes peut être conduite lorsque la masse volumique du solvant à l'étape d'extraction est élevée. Il est aussi possible de séparer une partie des solutés en modifiant la température plutôt que la pression. Le choix des conditions opératoires appropriées pour les étapes de séparation peut conditionner la réussite du procédé de récupération.

Le principe du procédé d'extraction en mode semi-batch suivie de la séparation soluté(s)-solvant par détente multi-étagée avec recyclage du CO₂ est schématisé sur la figure I.10.

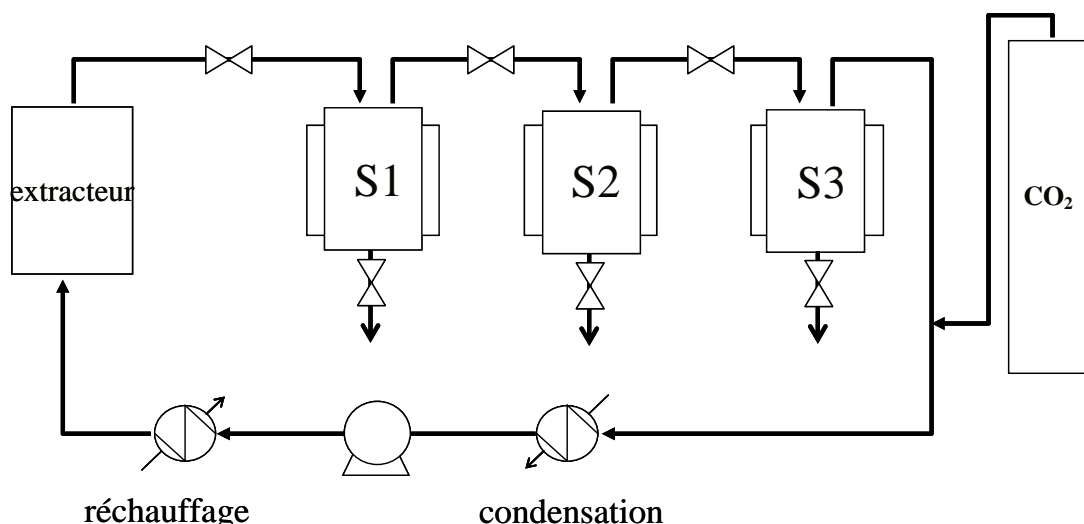


Figure I.10 Représentation schématique d'un procédé semi-batch d'extraction supercritique avec détente multi-étagée et recyclage du solvant

Même si la séparation fractionnée a été utilisée principalement à l'échelle laboratoire, ce mode de séparation des solutés pourrait mis en œuvre à l'échelle industrielle.

1.7.2.3.2. Mélanges liquides

Dans le cas des mélanges liquides, le fractionnement peut s'effectuer en mode semi-batch ou en continu. Le mode semi-batch peut être mis en œuvre en adsorbant le matériel sur un support qui retient sélectivement les divers composés de la matrice liquide. Les dispositifs d'extraction semi-batch utilisés pour l'extraction à partir de matrices solides, peuvent alors être utilisés pour réaliser une désorption fractionnée du liquide.

L'autre possibilité consiste à réaliser un fractionnement en mode continu en utilisant une colonne de séparation à contre-courant fonctionnant à haute pression. Dans ce type de procédés, le mélange liquide est introduit en tête de colonne et le solvant supercritique est introduit en pied, de manière à circuler à contre-courant. Deux fractions liquides sont collectées : la fraction légère au sommet de la colonne et la fraction lourde en pied. Les paramètres du procédé à choisir sont : la pression, la température ou le profil de la température (pour éventuellement créer un reflux interne), le type de garnissage de la colonne, le rapport hauteur/diamètre, le taux de reflux [64]. Dans ce type de procédé, le solvant peut être recyclé après récupération du soluté par décompression.

I.7.2.4 Aspects énergétiques du procédé d'extraction semi-batch

Le comportement de l'enthalpie et de l'entropie des fluides supercritiques peut être présenté sur l'exemple de l'extraction au CO₂ supercritique avec recyclage issu de la référence [49]. Le processus est schématisé sur la figure I.11. Afin de bien illustrer la situation, on suppose que les propriétés du fluide restent égales à celles du CO₂ pur dans tout le procédé.

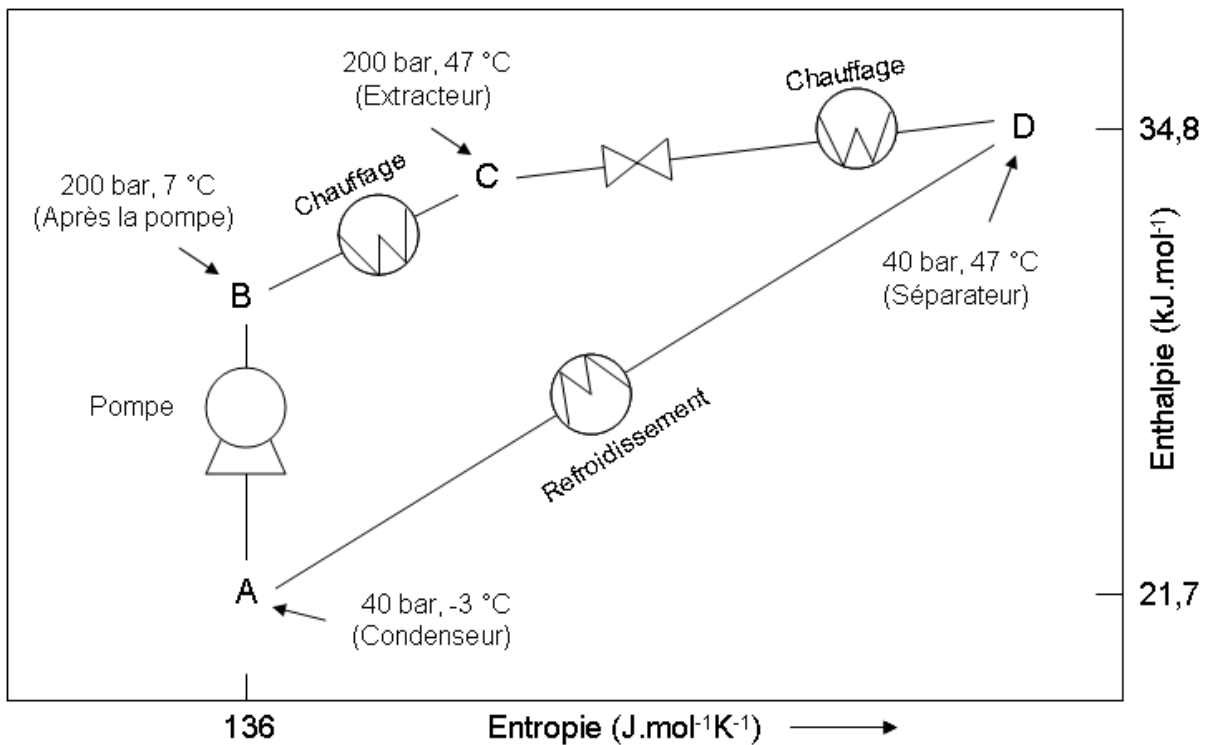


Figure I.11. Diagramme schématisique du processus d'extraction supercritique [49]

Le point A correspond au moment où le CO₂ se trouve dans le condenseur à une température égale à -3 °C et une pression égale à 40 bar. Ensuite, il est comprimé jusqu'à 200 bar au point B, réchauffé jusqu'à 47 °C et introduit dans l'extracteur (point C) où le processus d'extraction a lieu. Après extraction, le CO₂ est détendu jusqu'à 40 bar dans le séparateur (point D) tout en étant chauffé pour rester à l'état gazeux (la température reste ainsi égale à 47 °C). Le CO₂ est ensuite refroidi puis renvoyé au point A pour être recyclé.

La compression d'un liquide pouvant être considérée comme adiabatique et réversible, l'entropie du CO₂ entre le point A et le point B reste pratiquement constante et égale à 136 J.mol⁻¹.K⁻¹. La température du CO₂ augmente de 10 °C, au raison du travail de compression qui a été fourni. Au point A, à -3 °C et 40 bar, l'enthalpie est égale à 21,7 kJ.mol⁻¹ tandis qu'à 7 °C et 200 bar, elle est légèrement supérieure et égale à 22,4 kJ.mol⁻¹. La différence de 0,7 kJ.mol⁻¹ correspond au travail nécessaire pour comprimer le CO₂ liquide de 40 à 200 bar. Au

point B le CO₂ le CO₂ doit être vaporisé pour devenir supercritique. Cette opération requiert 3,8 kJ.mol⁻¹ à l'échangeur de chaleur. Après l'extraction, le CO₂ est détendu et chauffé, ce qui nécessite 8,6 kJ.mol⁻¹. C'est cette étape qui nécessite l'apport énergétique sous forme d'énergie thermique le plus important, du fait du changement important des propriétés du fluide, qui va passer de l'état liquide à l'état vapeur entre les points C et D. Afin de condenser à nouveau le CO₂ jusqu'à 40 bar, l'enthalpie doit être réduite jusqu'à sa valeur au point A. Entre ces étapes, 13,1 kJ.mol⁻¹ doivent donc être retirées au fluide dans l'échangeur entre le point D et A. La quantité totale d'énergie retirée au niveau de cet échangeur doit être égale à l'énergie totale fournie au système pour la compression et le réchauffement entre les points A et D [49].

I.7.2.5. Choix des conditions opératoires pour l'extraction

Le choix des conditions opératoires pour l'extraction de matrices solides dépend du composé ou du groupe de composés soumis à l'extraction. Il est nécessaire de toujours tenir compte de la masse molaire et de la polarité du constituant à extraire. Cependant, quelques règles générales peuvent être appliquées [60] :

Si l'on extrait des composés thermolabiles, la température doit être maintenue dans la gamme de 35 à 60 °C, c.à.d. supérieure à la pression critique du CO₂ et la plus basse possible afin d'éviter la thermodestruction. Pour une pression fixée, nous avons vu plus haut que l'influence de la température sur la solubilité des composés dans un fluide supercritique était relativement complexe et difficile à prédire à priori.

Aussi, le paramètre le plus significatif pour le procédé est la pression. Elle peut être utilisée pour ajuster la sélectivité de l'extraction supercritique. La règle générale est la suivante : une pression élevée conduit à une capacité solvant plus élevée mais, en même temps, la sélectivité diminue. Souvent, la capacité solvant aux conditions opératoires données est décrite en fonction de la masse volumique du CO₂, qui dépend de la température et de la pression.

Les autres paramètres importants de l'extraction supercritique sont le débit de CO₂, la taille des particules, la durée d'extraction, et éventuellement le pré-traitement de la matière première. Le choix approprié de ces paramètres permet d'effectuer l'extraction complète d'un composé en un temps le plus court possible. Ces paramètres sont reliés à la thermodynamique (la solubilité) et au transfert de matière. Le choix des conditions opératoires est totalement dépendant du mécanisme qui contrôle l'extraction : le plus lent parmi eux détermine la vitesse totale du processus. Le débit de CO₂ est un paramètre significatif si le processus est contrôlé

par la résistance au transfert de matière externe ou par la solubilité du soluté dans le solvant. Dans ce cas, la vitesse d'extraction est déterminée par la quantité de CO₂ introduite dans l'extracteur. La taille des particules joue un rôle déterminant si le procédé est contrôlé par la résistance au transfert de matière interne. Une petite taille de particules diminue la durée de la diffusion du solvant au sein des particules. Cependant, si les particules sont trop petites, des problèmes de passages préférentiels (canalisations) du solvant peuvent apparaître. Dans ce cas, une partie du solvant peut circuler par des canaux formés dans le lit d'extraction sans entrer en contact avec les solutés. La durée d'extraction est généralement reliée au débit de CO₂ et à la taille des particules et doit être minimisée afin d'obtenir le rendement maximal d'extraction.

I.7.2.6. Solubilité dans le CO₂ supercritique

La connaissance de la solubilité du composé cible dans le solvant ainsi que celle des composés non-désirés dont la co-extraction doit être évitée est une information fondamentale dans le domaine de l'extraction supercritique. Cette information est autant plus utile quand il s'agit de l'extraction de saveurs ou de fragrances [64].

Les matrices végétales contiennent beaucoup de composés lipophiles qui sont facilement extractibles avec du CO₂ supercritique. La connaissance de la solubilité de ces composés va donc permettre de sélectionner la pression et la température d'extraction. Elle donne aussi certaines informations sur les conditions de séparation, en particulier dans le cas où une séparation en plusieurs étapes est envisagée.

Les données de solubilité doivent généralement être obtenues expérimentalement car il est souvent difficile de les obtenir par des calculs prédictifs. Les données de solubilité sont obtenues par diverses méthodes expérimentales, les plus largement utilisées étant les méthodes statistique-analytique, statistique-synthétique et dynamique. Dans le cas des méthodes statistiques, le composé est placé dans un volume fermé et les conditions d'équilibre sont obtenues en attendant un temps assez long. Dans le cas de la méthode dynamique le solvant supercritique passe au travers du soluté. Le temps de contact établi dans le système est suffisamment long pour que les conditions proches de l'équilibre soient obtenues. La différence principale entre la méthode analytique et la méthode synthétique est que pour cette dernière, à l'équilibre, des petits échantillons des deux phases sont retirés et la quantité récupérée dans la phase condensée est mesurée en pesant les flacons des échantillons. Dans le cadre de la méthode synthétique, on ne prélève pas d'échantillons et la détection de la

transition des phases est obtenue par observation visuelle du phénomène à l'intérieur de la cellule d'équilibre.

I.7.2.7. Utilisation de co-solvants

Comme cela a été dit plus haut, la polarité du CO₂ est intermédiaire entre celle d'un solvant non-polaire comme l'hexane et d'un solvant faiblement polaire [26, 59, 65, 69, 70]. Le CO₂ est alors très bon solvant pour des molécules apolaires mais un mauvais solvant pour des molécules polaires. Cependant, la polarité du solvant peut être augmentée en ajoutant des co-solvants polaires au CO₂ [49]. Le résultat est une amélioration de l'affinité et du pouvoir solvant par rapport aux molécules polaires. Les co-solvants généralement utilisés sont le méthanol [49, 66], l'éthanol [53, 68], l'eau ou des huiles végétales [68]. Ces trois derniers sont non-toxiques et donc plus intéressants. Des tests avec de l'acide caprylique et de l'ester méthylique de l'acide caprylique pour l'extraction d'antioxydants à partir de l'herbe aux bisons (*Hierochloë odorata*) ont montré qu'ils sont moins efficaces que l'éthanol, et que, par ailleurs, leur élimination de l'extrait est difficile [53]. Par contre, les hydrocarbures aliphatiques diminuent la polarité du solvant CO₂ [49].

Au-delà de la polarité, les co-solvants peuvent permettre de modifier d'autres caractéristiques des solvants. Par exemple, dans le cas du CO₂, le toluène peut lui être ajouté pour lui transmettre de l'aromaticité [49], le (*R*)-butan-2-ol pour ajouter de la chiralité [49] et le phosphate de tributyle, pour augmenter la solvation des complexes métalliques [49].

I.7.2.8. Applications industrielles

Une large gamme de résultats expérimentaux de l'extraction grâce aux fluides supercritiques est disponible aujourd'hui. L'extraction à partir de matière végétale naturelle est l'application la plus répandue. Le plus souvent, les végétaux sont traités afin d'atteindre deux objectifs : produire des extraits naturels sans usage de solvants organiques, ou bien « laver » la matière première et éliminer des composés non-désirés, afin de faciliter ensuite l'extraction conventionnelle [1, 26, 8, 71.].

La plupart des études portant sur l'extraction supercritique a été réalisée sur des installations à l'échelle laboratoire [1, 2, 26, 32, 38, 52, 53, 56, 8, 70, 72-75] ou à l'échelle pilote [31, 69, 76-78]. Malgré l'abondance des produits qu'il est possible d'obtenir grâce à cette technique, seule une petite partie est aujourd'hui produite à l'échelle industrielle : extraction d'épices (Inde, Allemagne), décaféination du café et du thé (Allemagne, Etats-Unis, Italie), extraction du houblon pour la brasserie (Europe) (figure I.12.), œuf liquide

dégraissé (Chine), nettoyage du riz pour élimination de pesticides (Taiwan), élimination de l'acide trichloracétique (TCA) des bouchons de liège (Espagne) [71].

Pourtant, d'autres applications industrielles paraissent également intéressantes, en particulier pour l'extraction/isolément des huiles essentielles, l'extraction d'huiles végétales, l'extraction des alicaments et médicaments etc. [56, 60]



Figure I.12. Application industrielle pour l'extraction supercritique du houblon (Pologne)

Source M. Perrut SEPAREX

I.7.2.9. Extraction supercritique d'acide rosmarinique

Des composés antioxydants ont été extraits à partir des plantes, comme par exemple, la coriandre (*Coriandrum sativum*) [2], l'herbe aux bisons (*Hierochloe odorata*) [53], l'origan (*Origanum vulgare*), [77] etc

Dans les schémas d'extraction supercritique de la mélisse [1] et des autres plantes de la même famille (par exemple le romarin [26, 72]), la substance qui présente l'activité antioxydante, notamment l'acide rosmarinique, reste dans le résidu supercritique. Certains antioxydants moins actifs passent dans les extraits supercritiques ([32, 63, 73]), comme par exemple l'acide carnosique dans le cas du romarin, ou le squalène et l' α -tocopherol (vitamine E) dans le cas de la mélisse.

Il y a peu d'information sur l'extraction supercritique de la mélisse et aucune étude approfondie systématique sur l'optimisation des conditions opératoires et sur le couplage avec d'autres techniques séparatives.

I.7.2.10. Modélisation mathématique

La modélisation mathématique est une approche rationnelle ouvrant la possibilité d'analyser les résultats expérimentaux et, si elle est réussie, d'obtenir par simulation des indications pour des systèmes différents des systèmes expérimentaux. La modélisation est également utile en cas de passage de l'échelle laboratoire à une échelle plus grande (pilote ou industrielle). Tout cela rend la modélisation mathématique intéressante, ce qui, dans le cas de l'extraction supercritique se reflète aux travers des nombreuses tentatives présentées dans la littérature [39, 60, 67, 76, 79-83 89, 90].

Lorsqu'on applique un modèle mathématique à un procédé d'extraction supercritique à partir de végétaux, il faut tenir compte de certains aspects généraux :

a) L'aspect botanique et/ou les structures macroscopiques de la matière végétale (peuvent être visualisées par microscopie optique ou par microscopie électronique à balayage MEB (SEM, abréviation anglaise pour Scanning Electron Microscopy)).

b) L'emplacement du soluté à extraire. La substance extractible peut être libre à la surface du solide ou fermée dans la structure de la matrice végétale. En général, si le soluté est libre, le processus est contrôlé soit par la solubilité du soluté dans le solvant soit par la résistance au transfert de matière externe. D'autre part, si le soluté est fermé dans la structure, c'est la résistance au transfert de matière interne qui limite le processus d'extraction.

c) Les interactions des solutés avec la matrice végétale. Selon ces interactions, divers équilibres peuvent avoir lieu. S'il n'y a pas d'interaction entre le solide et le soluté, un équilibre basé sur la solubilité aurait lieu. En cas d'adsorption du soluté à l'extérieur ou/et à l'intérieur du solide, l'équilibre de partition entre la phase fluide et solide doit être pris en compte.

d) Les cellules cassées ou intactes. Dans le cas des cellules cassées, une quantité de soluté peut être plus facilement disponible au solvant à cause de la destruction des parois des cellules pendant le prétraitement de la matière première. Dans ce cas une partie considérable du soluté se trouve à la surface des particules. Dans le cas de cellules intactes, le soluté est enfermé dans les cellules et son contact avec le solvant est beaucoup plus difficile.

e) La forme des particules. Les particules peuvent être sphériques, plates, cylindriques etc. en fonction de la forme de la matière végétale (par exemple, grain, feuilles, tiges etc.). La forme peut influencer la diffusion du solvant supercritique.

Pour modéliser les mécanismes d'extraction, d'autres considérations sont nécessaires.

L'extraction peut être contrôlée par l'équilibre si le soluté est largement disponible et est distribué sur ou proche de la surface. Le type d'équilibre dépend de l'interaction (si elle existe) avec le solide.

La résistance au transfert de matière peut être, en général, de deux types : externe ou interne. Afin de prendre en compte la résistance au transfert de masse, l'intégration du bilan différentiel du transfert de masse doit être appliqué [60].-

En général, trois approches différentes sont appliquées à la modélisation de l'extraction supercritique : (1) empirique ; (2) basée sur l'analogie avec le transfert de matière et de la chaleur ; (3) intégration du bilan différentiel de transfert de masse [60, 89].

L'analyse la plus complète est obtenue par l'intégration du bilan différentiel du transfert de masse. Dans ce cas des profils de concentration sont obtenus pour la phase fluide et solide en fonction du temps. La courbe d'extraction est calculée à partir de la concentration dans la phase fluide à la sortie de l'extracteur.

Certains modèles mathématiques utilisés dans ce travail seront décrits plus en détails dans la partie de ce mémoire de thèse relative aux résultats (III.4).

I.7.2.11. Conclusion

En ce qui concerne l'utilisation de l'extraction au CO₂ supercritique, trois applications majeures peuvent être distinguées : l'extraction d'huiles végétales, l'extraction de composés à haute valeur ajoutée et d'arômes pour les besoins de l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique et l'élimination de composés non-désirés de la matrice végétale en vue d'une extraction conventionnelle.

L'extraction supercritique est donc une méthode d'extraction et purification puissante, que nous allons mettre en œuvre dans l'objectif d'obtenir de l'acide rosmarinique à partir de la mélisse.

Dans un objectif de compréhension des mécanismes mis en jeu, et en vue d'un éventuel changement d'échelle, nous allons utiliser différents modèles mathématiques et sélectionner celui qui décrit le mieux notre système. Le choix d'un modèle mathématique approprié nous permettra de simuler le comportement de l'extraction pour différentes conditions opératoires et identifier les paramètres caractérisant le processus de transfert de

matière à partir de données expérimentales. Les résultats et l'information reçue vont faciliter le choix de modèles pour des systèmes extractifs similaires et seront utiles au transfert du procédé de l'échelle laboratoire à l'échelle industrielle.

I.8. Nanofiltration

Le domaine des opérations de séparation par membranes est interdisciplinaire. Il comprend la science et le génie des matériaux, la synthèse chimique et la caractérisation de matériaux membranaires, la fabrication et la modification des membranes, le génie des procédés, l'intégration des procédés membranaires dans les procédés industriels, ainsi que les aspects économique, écologique, et de sécurité etc.

En général, la sélectivité des membranes est basée sur la taille des pores et il est évident que les pores plus petits retiendront les particules plus petites. Il existe plusieurs procédés pour les séparations au niveau moléculaire. Parmi eux nous allons regarder plus en détails la *nanofiltration*, qui va être mise en œuvre dans ce travail dans un objectif de concentration des extraits.

Une nanomembrane sépare des substances en fonction de leur masse moléculaire liée à la taille de la molécule. Une telle membrane laisse passer le solvant et les substances ayant une masse moléculaire plus faible que celle du composé-cible en retenant ce dernier et des substances de masse moléculaire plus élevée. La force motrice est la différence de pression des deux cotés de la membrane.

Le terme *nanofiltration* a été utilisé pour la première fois en 1984 pendant le *Filmtech meeting*. A cette époque il n'a pas été encore bien défini. En 1996, la nomenclature UICPA (IUPAC) a distingué ce processus en fonction de la taille du soluté retenu. La nanofiltration est définie comme un procédé membranaire retenant des solutés de taille inférieure à 2 nm. Ainsi est-elle située entre le procédé d'*osmose inverse* (où ce n'est que le solvant qui passe à travers la membrane) et le procédé d'*ultrafiltration* (où les solutés entre 2 nm et 0,1 μm sont retenus) [84]. Dans le cas de la nanofiltration, le transfert de matière à travers la membrane est une combinaison de deux mécanismes – la diffusion (loi de Fick) due à la différence de concentration et le tamisage poreux (*pore sieve separation*) (loi de Poiseuille) [85].

La filtration par nanomembranes représente donc une méthode de séparation de composés en solution en fonction de leur masse moléculaire [85]. Ce procédé trouve aujourd'hui des applications pharmaceutiques et biologiques où beaucoup de composés sont séparés par cette technique. [86].

I.9. Schémas de couplage de diverses techniques d'extraction, de prétraitement et de séparation

Divers schémas de couplage de techniques d'extraction, prétraitement et séparation sont rapportés dans la littérature.

Afin d'obtenir des produits riches en antioxydants, l'extraction supercritique a été utilisée pour « nettoyer » des extraits conventionnels du romarin en les concentrant ainsi en acide rosmarinique [26] ou en autres antioxydants [31]. Dans ces études deux solvants supercritiques ont été utilisés – le CO₂ et l'éther de diméthyle. Dans le cas du dioxyde de carbone, le produit concentré en antioxydants a été le résidu supercritique [26, 31], tandis que dans le cas de l'éther de diméthyle, l'extrait supercritique est le produit riche en composé cible [26]. Ribeiro *et al.* (2001) [1] ont utilisé le résidu de l'extraction supercritique à partir de la mélisse comme matière première de l'extraction conventionnelle avec de l'eau bouillante. Le produit final de ce schéma est plus riche en antioxydants. Un schéma similaire est rapporté Hodulin *et al* [26].

Marongiu *et al.* (2004) [8] ont effectué une double extraction avec du CO₂ supercritique. Ils ont travaillé d'abord à basse pression, puis ont réalisé un traitement à haute pression. Pendant la première étape ils ont extrait l'huile essentielle. L'extrait à haute pression est enrichi en composés de masse moléculaire élevée.

Afin d'isoler des antioxydants à partir de l'herbe aux bisons (*Hierochloë odorata*), Grigonis *et al.* [53] utilisent trois techniques à une ou deux étapes selon les schémas présentés sur la figure I. 13

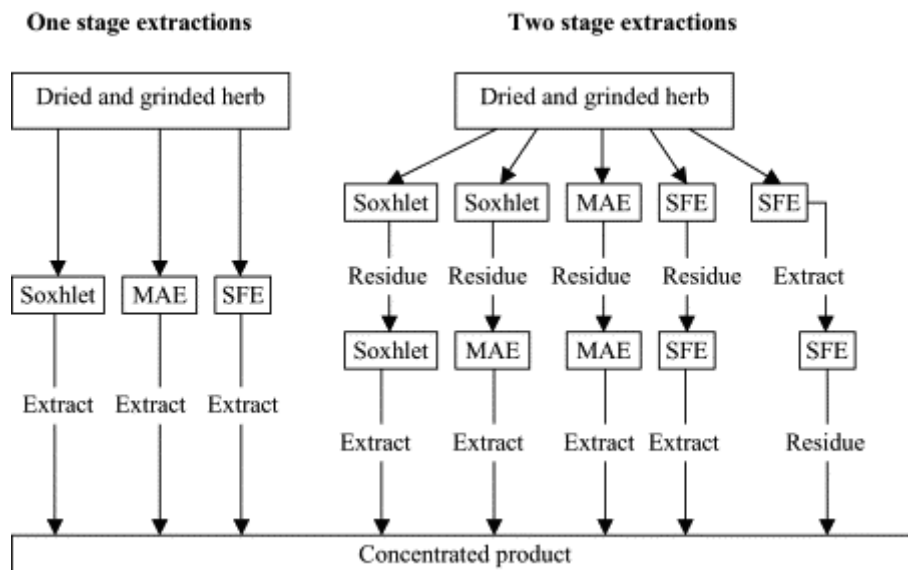


Figure I.13. Schémas d'utilisation des diverses techniques d'extraction [53] :
 extraction Soxhlet, extraction assistée par microondes (MAE) et extraction au CO₂
 supercritique (SFE)

Selon cette étude, en travaillant en une étape il n'y a pas de différence remarquable entre les résultats obtenus par les trois techniques. De plus, aucune des méthodes ne donne des résultats satisfaisants et on doit appliquer les schémas à deux étapes. Le Soxhlet donne les meilleurs résultats, mais selon les auteurs, cette technique n'est pas toujours acceptable à l'échelle industrielle du fait de la durée élevée de l'extraction, de la consommation élevée de solvants dangereux etc. L'alternative proposée est l'extraction supercritique avec le deuxième meilleur résultat. L'extraction assistée par microondes est plus rapide, mais elle nécessite du temps supplémentaire pour refroidir l'extrait, ce qui aboutit à une durée totale du procédé plus élevée.

En développant une méthode automatisée rapide pour l'identification des antioxydants dans le romarin, Tena et Valcarcel (1997) [55] ont appliqué l'extraction supercritique ou l'extraction assistée par sonication à la matière première prétraitée par broyage ordinaire et tamisage, et par broyage en présence d'azote liquide. On constate que 1) les résultats obtenus par le broyage conventionnel sont meilleurs 2) les résultats de l'extraction supercritique sont meilleurs par rapport à ceux obtenus par sonication.

Un couplage de l'extraction en mode batch et de pré-concentration avec membrane liquide est rapporté Boyadzhiev et Dimitrova [15] qui ont mis en œuvre ce couplage pour traiter des extraits aqueux d'acide rosmarinique obtenus à partir de mélisse. Les résultats sont

prometteurs, mais le procédé est relativement compliqué, exigeant en particulier un bon contrôle et ajustement du pH.

Une combinaison intéressante est le couplage de l'extraction par CO₂ supercritique avec la nanofiltration [87]. L'idée est d'utiliser la pression dans des séparateurs comme force motrice pour la nanofiltration.

Wang et Waller (2006) [81] proposent des systèmes innovants tels que des extracteurs intégrant, par exemple, la haute pression ou l'énergie des microondes avec l'extracteur Soxhlet, ce qui amènerait des nouveaux modèles de Soxhlet à haute pression ou assistés par microondes. Le CO₂ supercritique pourrait aussi être intégré dans un appareil avec le Soxhlet. L'utilisation d'ultrasons combinée avec l'extraction supercritique pourrait augmenter le transfert de matière, etc.

I.10. Conclusion

Nous avons effectué cette étude bibliographique afin d'évaluer l'état de l'art ainsi que les tendances concernant les domaines couverts par notre étude : les antioxydants d'origine naturelle, les sources, les techniques d'extraction et de séparation et leur couplage.

On constate que, souvent, les antioxydants synthétiques sont considérés comme toxiques, ce qui impose l'orientation du marché vers des antioxydants d'origine naturelle.

Cette recherche bibliographie nous a aidé à choisir l'acide rosmarinique comme composé cible. Le choix est justifié par le fait que cette substance de forte activité antioxydante est présente en grande quantité dans certaines plantes.

Une des sources naturelles les plus riches de cet antioxydant - la mélisse, a été choisie comme matière première pour étudier les processus d'isolation de l'acide rosmarinique. Etant donnée la valeur ajoutée élevée de l'huile essentielle de mélisse, l'étude sur les conditions de sa séparation représente un intérêt supplémentaire.

Il n'existe pas d'études systématiques sur les différents procédés et sur l'optimisation des conditions opératoires d'extraction de l'acide rosmarinique.

Diverses techniques sont utilisées pour effectuer l'extraction solide-liquide. Chaque technique a ses avantages et inconvénients. Le couplage entre elles a le potentiel de combiner leurs points forts, permettant ainsi de créer des schémas synergiques.

Dans ce travail nous avons choisi d'étudier séparément et en couplage plusieurs méthodes extractives :

- Deux méthodes conventionnelles simples, efficaces, et largement utilisées - l'extraction en mode batch et l'extraction Soxhlet ;

- Deux méthodes plus récentes et plus sophistiquées : l'extraction avec du CO₂ supercritique, offrant la possibilité d'obtenir des fractions de compositions différentes en jouant sur le régime opératoire de SCE, et la nanofiltration, appropriée pour la réalisation de notre objectif de concentration des extraits.

Les objectifs généraux de ce travail sont :

- L'élargissement des connaissances sur les mécanismes de transfert de matière en milieux polyphasiques, à basse et haute pression, en vue de mieux maîtriser les processus.

- La détermination des conditions optimales d'extraction et purification d'une substance particulière (notre composé cible, l'acide rosmarinique), ainsi que d'autres composés d'intérêt se trouvant dans la plante mélisse.

- L'étude des schémas de couplage de techniques choisies avec l'idée de rassembler leurs avantages pour obtenir le composé cible dans l'état plus concentré et purifié.

Chapitre II

Matériels et méthodes

II. Matériels et méthodes

II.1. Matière végétale - mélisse (*Melissa officinalis* L.)

La mélisse provient de la société bulgare Bilcoop®, et se présente sous forme de parties aériennes (feuilles et tiges) sèches, récoltées en 2006 et 2007 dans la région orientale sous-Balkanique de la Bulgarie (Karlovo/Kazanlak). La plante a subi un traitement préliminaire : broyage, tamisage et séparation en fractions de différentes granulométries. Trois fractions ont été principalement utilisées dans nos études : particules de taille 0,630 – 1,25 mm (taille moyenne 0,94 mm) ; 1,25 – 1,4 (taille moyenne 1,33) et 1,4 – 2 (taille moyenne 1,70 mm).

La matière broyée contient des particules de deux formes géométriques – planes et cylindriques, provenant de diverses parties de la plante (feuilles et tiges). Le pourcentage de feuilles (particules de forme plane) varie de 70 à 90 % selon le lot.

Nous avons utilisé la microscopie électronique à balayage MEB (ou SEM, abréviation anglaise pour Scanning Electron Microscopy) pour déterminer les dimensions caractéristiques des particules. Nous avons trouvé une épaisseur moyenne de feuilles égale à 30 μm et un diamètre moyen de tiges égal à 626 μm . (voir les photos sur figure II.1).

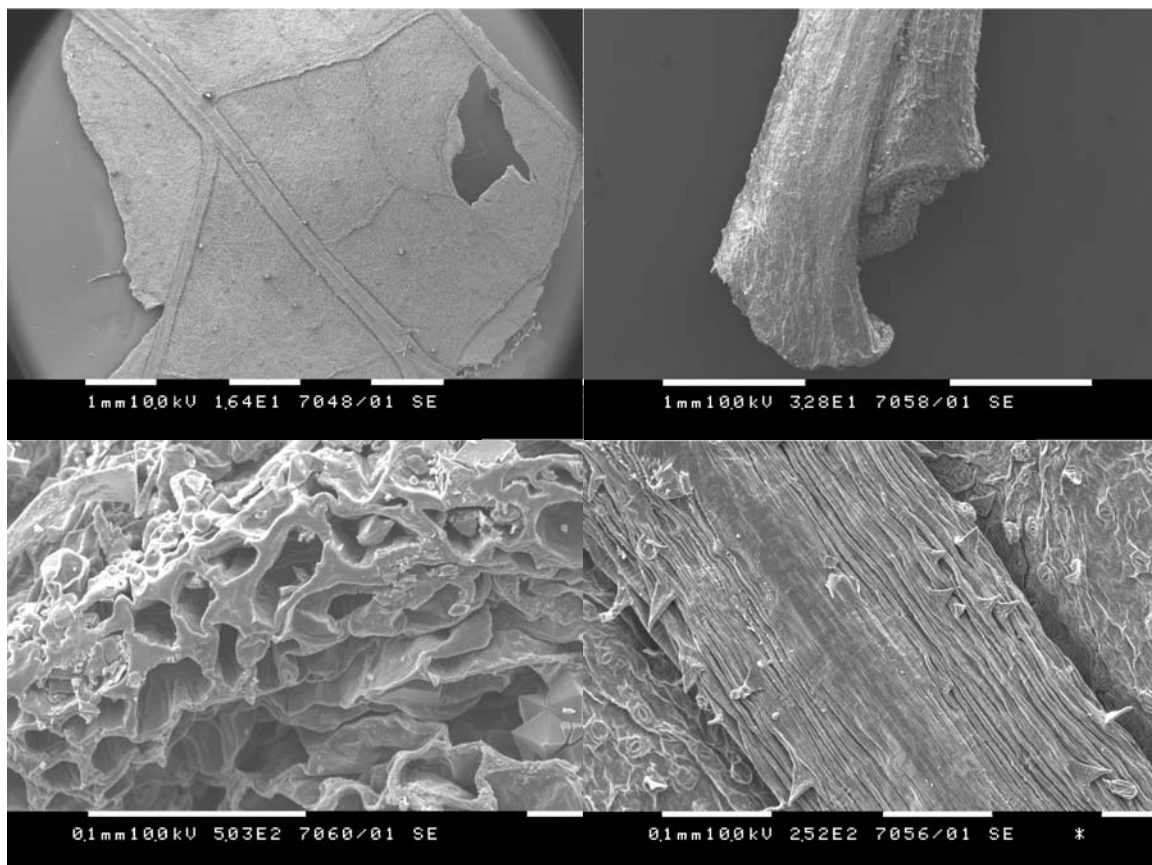


Figure II.1 Photographies des diverses parties de la plante mélisse (*Melissa officinalis* L.) obtenues par microscopie électronique à balayage à différents agrandissements

La masse volumique de la mélisse a été déterminée par la méthode suivante : dans un cylindre gradué nous avons mis une masse donnée de mélisse, puis nous avons ajouté jusqu'à 20 ml d'hexane et nous avons pesé la masse de mélange mélisse+hexane. La masse d'hexane a été calculée en retirant la masse de la plante de celle du mélange. Le volume d'hexane a été calculé en divisant sa masse à sa masse volumique. Ensuite, en soustrayant le volume d'hexane du volume total (20 ml) nous avons obtenu le volume de la plante. Enfin, la masse volumique de la mélisse a été calculée en divisant sa masse par son volume. La valeur moyenne ainsi déterminée est égale à $\rho_s = 799 \text{ kg/m}^3$.

II.2. Techniques d'extraction, purification et concentration utilisées

Les techniques d'extraction, purification et concentration utilisées dans ce travail sont décrites en détails dans les chapitres respectifs. Ici, nous donnons simplement une liste des techniques d'extraction, purification et concentration utilisées dans ce travail. Elles sont décrites en détails dans les chapitres indiqués ci-dessous.

II.2.1. Extraction par CO₂ supercritique (ESC)

Le CO₂ supercritique a été utilisé en tant que solvant d'extraction. Nous avons utilisé cette technique principalement pour prétraiter la matière végétale (la mélisse), et pour réaliser l'extraction des substances de haute valeur ajoutée (citrinal, cariophyllène etc.) se trouvant dans l'huile essentielle de la plante.

Les expériences ont été réalisées avec une installation pilote construite par la société Separex Chimie Fine, France (série 3417 type SF 200). L'installation comprend un extracteur de 200 ml et trois séparateurs (photo : figure II.2.a)). Le débit maximal de CO₂ est 5 kg/h. Le schéma de l'installation est présenté sur la figure 13.



Figure II.2. a) L'installation d'extraction Separex

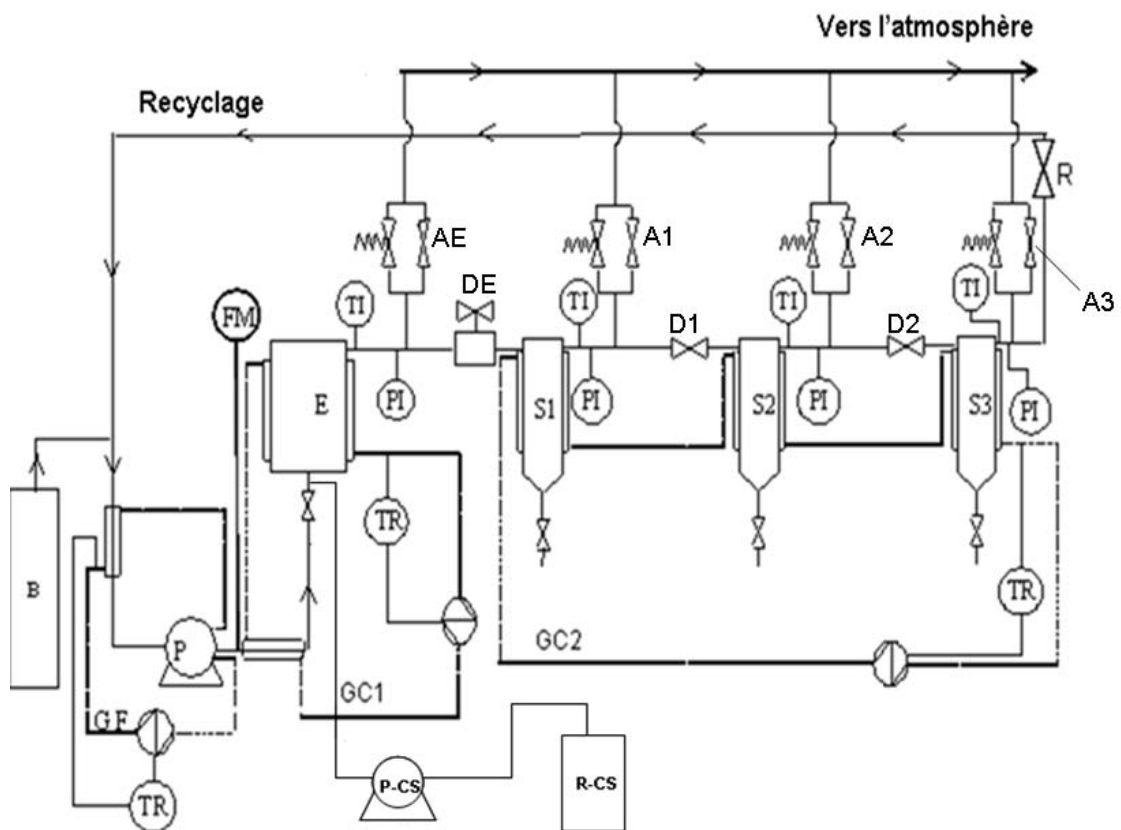


Figure II.2. b) Schéma de l'installation d'extraction supercritique

L'extracteur *E* et les trois séparateurs *SI*, *S2* et *S3* sont connectés en série. Les températures sont maintenues constantes par un système de contrôle de température qui comprend les groupes chauds *GCI* et *GC2* et des échangeurs de chaleur « doubles enveloppes » autour *E*, *SI*, *S2* et *S3*. Dans certains schémas d'extraction, le séparateur *SI* peut être aussi refroidi à l'aide du groupe froid *GF*. Le système est alimenté grâce à du CO_2 liquide contenu dans une bouteille sous pression *B* (pression égale à la tension de vapeur à la température ambiante). Le CO_2 est maintenu à l'état liquide avant et dans la pompe *P* à l'aide du groupe froid *GF* puis est porté au-delà de sa température critique grâce à un échangeur tubulaire avant d'être introduit dans l'extracteur *E* en passant par le débitmètre *FM*. La pression dans l'extracteur est maintenue constante à l'aide du régulateur de pression (déverseur de pression) *DE*. Les pressions dans les séparateurs *SI* et *S2* sont maintenues grâce aux vannes de contrôle *D1* et *D2*. En sortie de l'extracteur et de chaque séparateur se trouve une vanne de vidange (*AE*, *A1*, *A2* et *A3*, respectivement) permettant de diriger le solvant vers l'évent (en cas de travail en circuit ouvert). Il est également possible de travailler en circuit fermé (avec recyclage du CO_2) en fermant les vannes de vidange et en ouvrant la vanne de recyclage *R*. Dans ce cas le CO_2 passe par la ligne de recyclage.

Sur la figure II.2, les symboles *TI* et *PI* sont respectivement des indicateurs de température et de pression. Ces indicateurs sont reliés à un enregistreur (Endress+Hauser) permettant l'enregistrement de ces grandeurs au cours du temps. Les *TR* sont des régulateurs de la température des groupes chauds et du group froid.

Cette installation permet également l'utilisation de co-solvants. Ils sont introduits par la pompe *P-CS* à partir du réservoir du co-solvant *R-CS*, mélangés et dissous dans le CO_2 juste avant l'entrée de l'extracteur.

II.2.2. Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première. Dans cette étude, l'extraction Soxhlet a été utilisée pour évaluer l'influence du prétraitement supercritique de la matière première sur l'extraction conventionnelle de l'acide rosmarinique

Le schéma d'un appareil Soxhlet est représenté sur la figure II.3 Il est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage,

l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant.

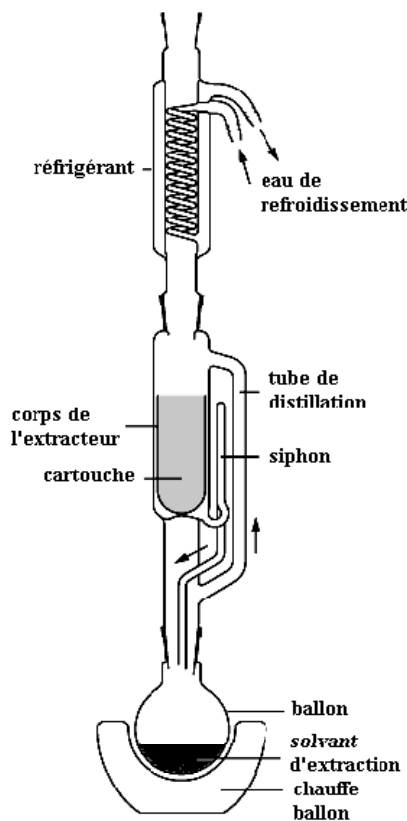


Figure II.3. Schéma de l'extracteur Soxhlet

Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à l'ébullition, les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. Ainsi le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche.

La séparation du solvant de l'extrait est fait à l'aide de l'appareil appelé Rotavapor (voir la photo – figure II.4). Dans cet appareil on réalise une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en

rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide.



Figure II.4. Photo de l'appareil Rotavapor

L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide

II.2.3. Extraction en mode batch (échelle laboratoire)

Il s'agit d'un dispositif simple composé de fioles de 500 ml (où l'on dispose la matière première et le solvant) et d'un agitateur secoueur (figure II.5.) thermostaté. Les expériences qui ont été réalisées grâce à cette technique nous ont permis d'estimer l'influence de divers paramètres (nature et concentration du solvant, hydromodule (rapport solvant-matière solide), granulométrie, température etc.) sur le processus d'extraction de l'acide rosmarinique.



Figure II.5. Photographie de l'agitateur secoueur utilisé pour l'extraction batch

Les expériences d'extraction de l'AR ont été menées en mode batch. Des échantillons de la matière première végétale (la mélisse) sont pesés et introduites dans des fioles de 500 mL. Ensuite, les volumes nécessaires de solvant sont mesurés et ajoutés. Après fermeture, les fioles sont placées dans un agitateur-secoueur thermostaté pour assurer des conditions d'agitation intensive à température constante. Afin de suivre le développement du processus au cours de temps, des échantillons sont pris périodiquement et analysés par la technique HPLC.

II.2.4. Concentration des extraits par nanofiltration

La partie principale du dispositif expérimental de nanofiltration est une membrane dont les pores sont de tailles moléculaires. La membrane sépare des substances en fonction de leur masse moléculaire. Dans notre cas, elle laisse passer le solvant et certains produits non-désirés, mais retient le composé cible – l'acide rosmarinique. La force motrice est la différence de pression de part et d'autre de la membrane. La pression est imposée grâce à du gaz inerte (azote) provenant d'une bouteille sous pression. Nous avons utilisé cette technique afin de concentrer les extraits liquides contenant l'acide rosmarinique.

Nous avons utilisé un schéma de nanofiltration (fig. 17) avec alimentation frontale (voir le dessin en encadré sur la même figure). Cette méthode d'alimentation est typique pour des études expérimentales. L'équipement utilisé (cellule agitée de 270 ml et régulateur de pression – Figure II.6 photo) a été fourni par Membrane Extraction Technology Ltd., Grande-Bretagne. Dans la cellule, la surface effective de la membrane est 54 cm². Les expériences ont été menées à température (21 ± 0.5 °C) et pression (30 bar) constantes, cette dernière étant maintenue par de l'azote haute pureté (99,996 %) provenant d'une bouteille sous pression après détendeur. Une agitation de 350 trs/min a été appliquée afin de minimiser la *couche de polarisation* (en anglais *concentration polarization*). Il s'agit de la formation d'une couche de plus haute concentration en composé cible à proximité de la membrane qui provoque un gradient de concentration en sens inverse du flux.

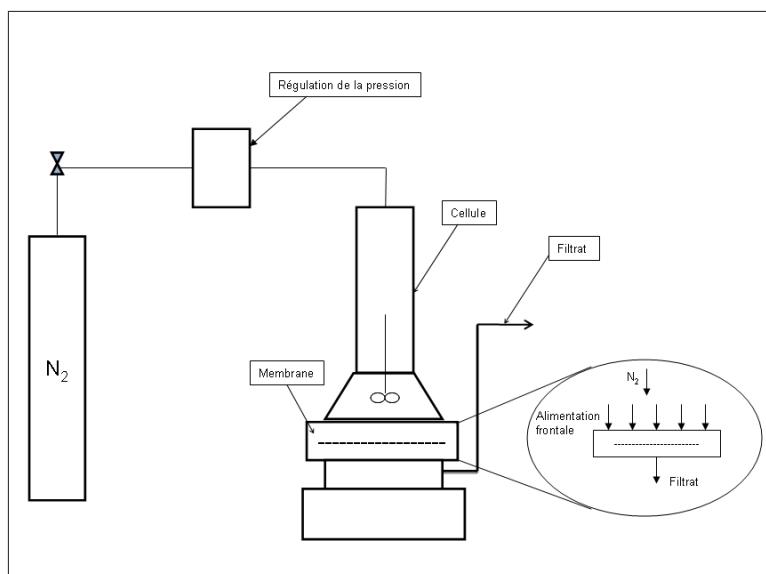


Figure II.6 a) Schéma de l'appareillage de nanofiltration



Figure II.6. b) Photo de la cellule avec le régulateur de la pression

II.2.5. Application semi-industrielle de l'extraction solide-liquide dans un extracteur rotatif

Il s'agit d'une installation d'extraction solide-liquide conventionnelle de capacité plus importante (semi-industrielle – tambour de diamètre intérieur 45 cm et hauteur 25 cm). La matière végétale chargée dans l'appareil est mise en contact avec le solvant par rotation de l'extracteur, créant ainsi des conditions intensives de transfert de matière, proches de celles de l'extraction à l'échelle laboratoire en mode batch.

C'est un extracteur solide-liquide (photo) dont la partie principale est un tambour tournant (figure II.7). Le tambour (1) est perforé et divisé en sections, dans lesquelles on

charge des conteneurs (2) remplis de la matière solide. Les conteneurs sont faits en tissu filtrant. Le tambour est placé dans un autre tambour immobile (5). Le solvant (3) est introduit par l'ouverture supérieure (6) du tambour (5) et occupe sa partie basse. L'ouverture (7) du tambour sert pour l'évacuation des vapeurs



Figure II.7. a) Photo de l'extracteur rotatif (tableau de commande et réservoirs)

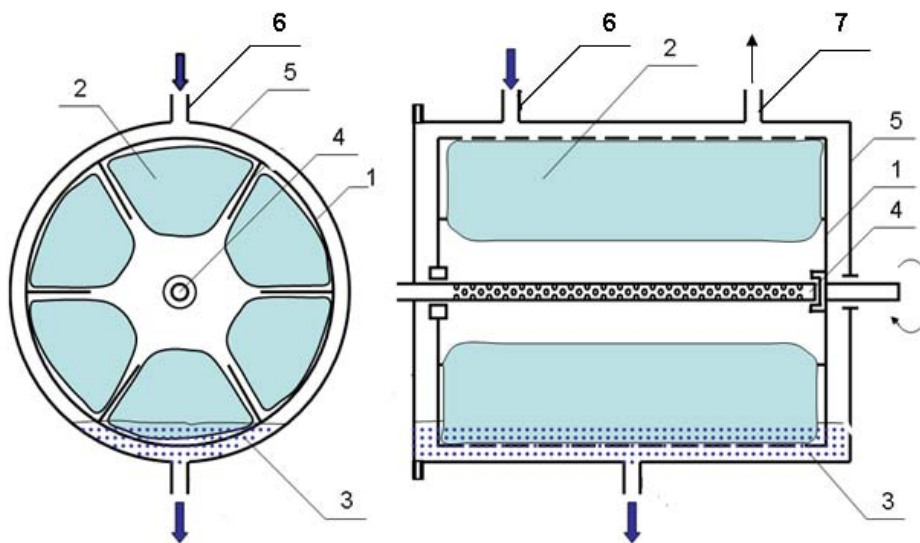


Figure II.7. b) Schéma principal de l'extracteur rotatif

Pendant le cycle d'extraction, le tambour tourne lentement autour de son axe (4) et à chaque tour la matière végétale se trouvant en partie basse du tambour est immergée dans le solvant. En passant par la partie haute du tambour, le solvant éliminé partiellement de la matière solide par gravité. Par répétition de cette action une séquence de trempage et

égouttage est réalisée, générant ainsi un bon mélange entre le matériel végétal et le solvant, ainsi que l'évacuation et le renouvellement du solvant autour des particules solides.

A la fin du cycle de contact, la séparation du solvant de la matière solide est assurée par augmentation de la vitesse de rotation du tambour en utilisant la force centrifuge. Afin de récupérer ou éliminer les résidus de solvant dans la plante, un cycle de lavage de solide peut être ajouté.

Le système de réservoirs et vannes permet la réalisation de différents schémas de contact – contact simple, extraction multiple, percolation, courants croisés, contre-courant.

Le mode opératoire contient plusieurs cycles de longueur réglable. Toutes ces opérations sont automatisées sauf la charge et décharge de la matière solide.

C'est un appareil polyfonctionnel, capable de réaliser plusieurs actions : extraction solide-liquide, séparation des phases, filtration, ainsi que plusieurs schémas de contact du solide avec le solvant. Il est bien adaptable au traitement de matières premières différentes.

La capacité de l'extracteur est environ 5 kg de matière végétale sèche. Il produit autour de 10 L/h d'extrait liquide. Nous avons utilisé cet appareil d'abord pour étudier la cinétique du processus d'extraction et ensuite pour produire une quantité plus importante d'extrait de mélisse nécessaire aux expériences prévues dans l'étape suivante de l'étude

II.3. Techniques analytiques

II.3.1. Chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC

La chromatographie en phase liquide à haute performance (l'abréviation anglaise HPLC - High Performance Liquid Chromatography est plus fréquemment utilisé) est une technique de séparation analytique basée sur l'hydrophobicité des molécules d'un composé ou d'un mélange de composés. L'échantillon à analyser est poussé par un éluant liquide (appelée aussi phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire composée de grains solides très fins. Le débit d'éluant est assuré par une pompe à haute pression. Dans la colonne, les divers composés de l'échantillon sont séparés l'un de l'autre en raison de leurs diverses affinités à l'égard des deux phases – stationnaire et mobile. A la sortie de la colonne les composés sont détectés à l'aide d'un détecteur (pouvant être UV, IR etc.). Dans nos études, des détecteurs UV basés sur la mesure de la longueur d'onde des composés ont été utilisés. Le schéma (fig. II.8.) présente le principe général de la méthode.

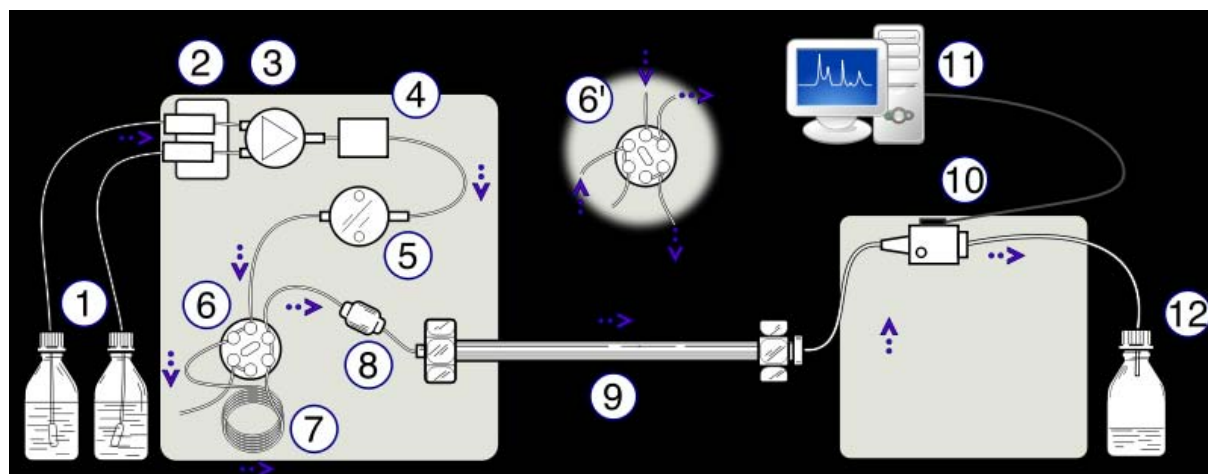


Figure II.8. Schéma principal de la chromatographie en phase liquide à haute performance.
1- Réservoirs des solvants, 2 - Dégazeur, 3 - Valve de gradient d'élution, 4 - Doseur de phase mobile (ou éluant), 5 - Pompe à haute pression, 6 - Vanne d'injection en position "inject", 6' - Vanne d'injection en position "load", 7 - Boucle d'injection de l'échantillon, 8 – Précolonne (éventuelle), 9 - Colonne analytique, 10 – Détecteur, 11 - Acquisition du signal, 12 - Décharge déchets

La méthode HPLC a été utilisée pour analyser la concentration en acide rosmarinique dans les extraits. Les systèmes chromatographiques utilisés pour nos études ont été les suivants :

Pour les analyses effectuées à l'Institut de Génie Chimique, ABS –Sofia (en Bulgarie), le système HPLC comprend les éléments suivants :

- Pompe s-1000 Knauer
- Colonne Discovery® C18 (25cm x 4.6 mm, 5 μ), Supelco
- Intégrateur Chromatopac C-R6A Shimadzu
- Détecteur UV variable wavelengh detector-Knauer

Pour les analyses effectuées au Laboratoire de Génie Chimique, INP –Toulouse, (en France), le système HPLC est le suivant :

- Pompe Spectra System p1000XR
- Colonne Discovery® C18 (25cm x 4.6 mm, 5 μ), Supelco
- Chromatographe Spectra SYSTEM
- Détecteur UV 2000

Dans les deux cas, l'éluant utilisé est un mélange méthanol : eau 80 : 20 (v:v) avec une valeur de pH fixé à 2,5 à l'aide de l'acide formique. Le débit d'éluant est égal 0,4 ml/min et le volume injecté à 20 µl. Le spectre UV pour l'analyse de l'AR a été fixé à 280 nm. Toutes les analyses ont été effectuées à température ambiante.

La solution standard a été préparée à partir d'acide rosmarinique pur (Fluka). Les solutions opératoires ont été préparées en diluant la solution standard avec du méthanol. La courbe de calibration : cf. Annexe 10.

II.3.2. Chromatographie en phase gazeuse

Comme l'HPLC, la chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique permettant de séparer les composés d'un mélange. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. La différence principale par rapport à l'HPLC vient du fait que dans la CPG la phase mobile est gazeuse. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée de la colonne. La phase stationnaire dans la colonne peut être solide (notre cas) ou liquide. Le mélange est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur). Les différentes molécules du mélange se séparent et sortent de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps dépendant de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules. A la sortie de la colonne, les composés rencontrent un élément essentiel - le détecteur. Il évalue en continu la quantité de chacun des constituants séparés au sein du gaz porteur grâce à la mesure de différentes propriétés physiques du mélange gazeux et envoie un signal électronique vers un enregistreur. Dans nos études, nous avons utilisé un détecteur à ionisation de flamme (FID). Le principe de fonctionnement de ce type de détecteur est le suivant : une tension de l'ordre de la centaine de volts est maintenue entre la buse de la flamme hydrogène-air et une électrode entourant la flamme. Lorsque les molécules traversent la flamme, elles deviennent ionisées, ce qui provoque un courant électrique entre les électrodes qui est ensuite amplifié. Le schéma principal de la CPG est présenté sur la figure II.9.

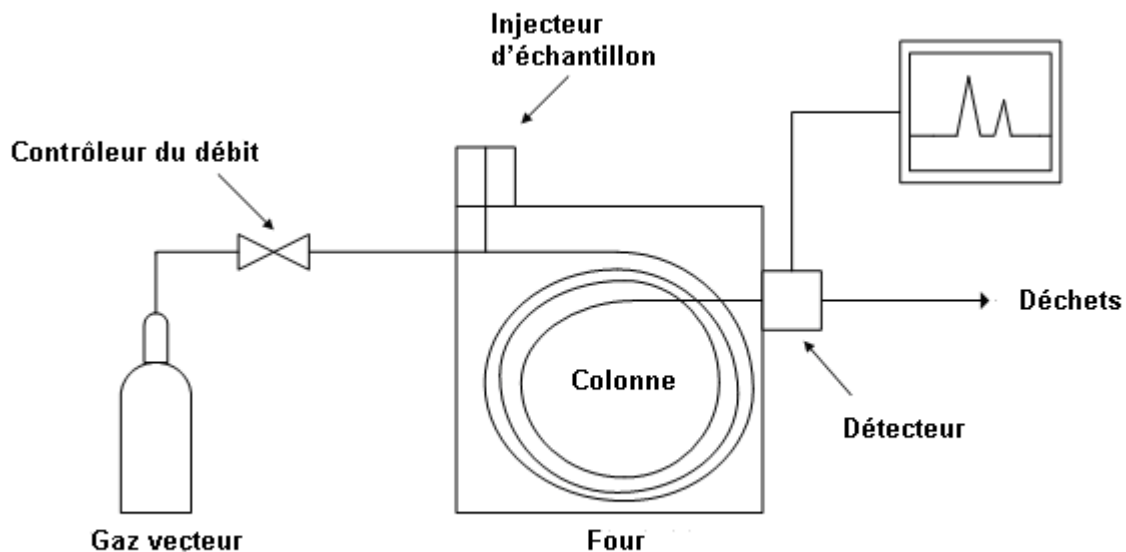


Figure II.9. Schéma simplifié de la chromatographie en phase gazeuse

Nous avons utilisé ce type d'analyse pour analyser le contenu des composés majeurs de l'huile essentielle de la mélisse dans les extraits supercritiques.

Le dispositif CPG utilisé est le suivant :

- Chromatographe comprenant l'injecteur, le four et le détecteur FID : Thermo Frinnigan ®
- Colonne : Varion ® WCOT Fused Silica (25 m x 0,25 mm; épaisseur du film 0,4 μm)
- Conditions opératoires : gaz vecteur : hélium, 2 ml/min ; température de la colonne = 40 – 240 °C, 7 °C/min, température d'injection 240 °C ; le volume d'injection 2 μl , ratio split 1:5.

Les composés purs nécessaires à l'identification des composés dans l'extrait ont été achetés dans le commerce : Citral (Sigma-Aldrich), Citronellal (Sigma-Aldrich), β -caryophyllène (Fluka). Les solutions standards ont été préparées et les solutions opératoires ont été faites en diluant les solutions standards avec de l'éthanol. Les courbes de calibration : cf. Annexe 9.

Chapitre III

Extractions par le CO₂ supercritique

III. Extractions par le CO₂ supercritique

III.1. Introduction

Le CO₂ étant un solvant apolaire, il ne dissout quasiment pas les composés polaires tels que notre composé cible, l'acide rosmarinique. Pour cette raison, dans la plupart de nos études, l'extraction au CO₂ supercritique a été utilisée pour éliminer des composés non-désirés, c'est-à-dire pour prétraiter la matière végétale, ainsi que pour isoler des composés de haute valeur ajoutée (autres que l'AR) pouvant être contenus dans l'huile essentielle de mélisse. L'influence de divers paramètres sur la cinétique du processus (la pression et la température dans l'extracteur, le volume de la cellule d'extraction, la taille des particules, le débit de CO₂ etc.) et sur la pureté de l'extrait supercritique (la pression et la température de l'extracteur et des séparateurs, la durée d'extraction) a donc été étudiée en détails.

III.2. Les expérimentations

Avant une expérience, la matière première est chargée dans une cellule d'extraction qui est ensuite pesée avant d'être positionnée dans l'extracteur. Ce dernier est alors fermé et le CO₂ est alimenté avec un débit constant. La pression et la température dans l'extracteur et dans les trois séparateurs sont maintenues également constantes. En fin d'extraction, la cellule est à nouveau pesée afin d'estimer la perte de masse de la matière première.

Lors des expériences servant à établir la cinétique d'extraction, l'extraction est périodiquement arrêtée, l'extracteur ramené à pression atmosphérique, la cellule pesée et la perte de masse de matière première déterminée. Ensuite l'extraction est reprise. A partir de ces mesures de perte de masse nous avons construit les courbes cinétiques d'extraction.

Les résultats concernant la cinétique d'extraction sont présentés en traçant l'évolution de la *fraction de masse extraite* (*g extrait/kg matière première*) en fonction de la *quantité de CO₂ utilisée par unité de masse de matière première* (*kg CO₂/kg matière première*).

L'autre paramètre utilisé pour exprimer les résultats dans ce chapitre est le *Rendement total de l'extrait supercritique*:

$$Y_{EX}^{SC} (\%) = \frac{m_{EX}}{m_{Mat.prem.}} \times 100 \quad (III.1.)$$

où : $m_{Mat.prem}$ est la masse initiale de la mélisse et m_{EX} est la masse de l'extrait supercritique

total. Ce paramètre caractérise la perte de matière non-désirée de la matrice végétale lorsque l'ESC est utilisée comme étape du prétraitement de la mélisse.

Dans les cas de la récupération des composés à haute valeur ajoutée, les résultats sont exprimés par la *concentration dans l'extrait supercritique* C_i :

$$C_i(\%) = \frac{m_i}{m_{EX}} \times 100 \quad (\text{III.2.})$$

avec m_i étant la masse extraite du composé i .

Lorsque des co-solvants sont utilisés, on calculera le *rendement en acide rosmarinique* :

$$Y_{AR}^{SC}(\%) = \frac{m_{AR}}{m_{Mat. prem.}} \times 100 \quad (\text{III.3.})$$

ici m_{AR} est la masse de l'acide rosmarinique extraite.

Afin d'étudier la cinétique d'extraction supercritique en termes de perte de masse de la matière première, nous avons choisi d'utiliser une cartouche en papier: La cartouche, type « Soxhlet » (papier filtre, hauteur 52 mm, diamètre extérieur 32 mm, diamètre intérieure 28 mm, volume 32 mL) a été placée dans la cellule d'extraction sur le support inox fritté, et remplie avec la matière première puis bouchée avec un couvercle du même matériau que la cartouche elle-même. Après une période donnée l'expérience a été arrêtée, la cartouche pesée et la perte de masse calculée.

Pour les études sur le couplage de l'ESC avec d'autres techniques séparatives (cf. chapitre IV), nous avons travaillé avec la cellule originelle (hauteur 152 mm, diamètre intérieur 32 mm donc de volume égal à 122 mL) de façon à pouvoir traiter une quantité plus importante de matière végétale pour produire suffisamment de résidu supercritique, en vue de son utilisation en tant que matière première pour l'extraction conventionnelle de l'acide rosmarinique. Nous avons également utilisé la cellule originelle lors de l'étude de l'influence du co-solvant sur la cinétique d'extraction.

III.3. Résultats

La Figure III.1. donne une idée générale des résultats (exprimés en *Rendement de l'extrait total supercritique*) obtenus avec la cellule cartouche pour différentes valeurs de pression et température.

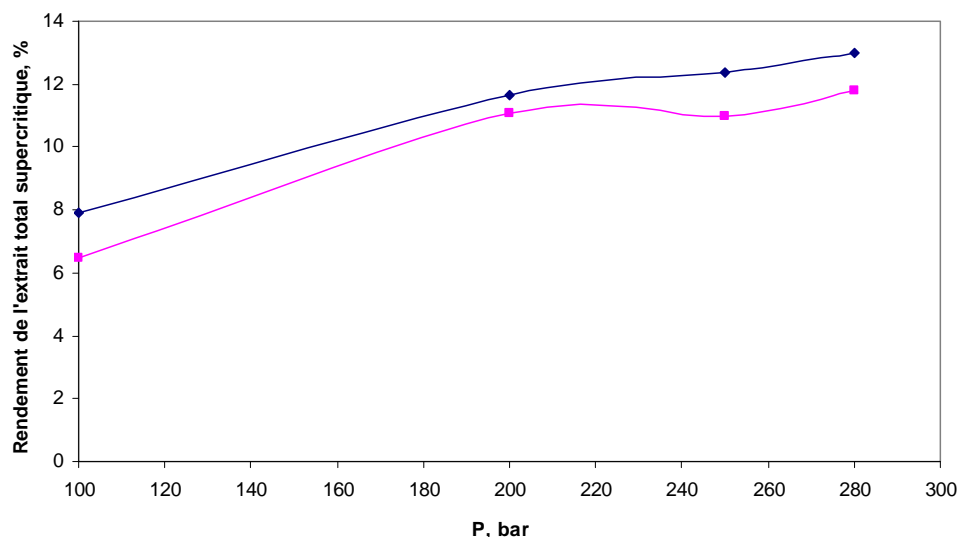


Figure III.1. Rendement de l'extrait total supercritique Y_{EX}^{SC} en fonction de la pression, débit de CO₂ = 5 g/min, taille moyenne des particules 0,94 mm. . ● 60 °C ■ 40 °C ;;

L'ensemble de ces résultats montre globalement une amélioration du rendement total d'extraction à plus hautes pressions et températures. Dans ce qui suit, nous allons présenter en détails les cinétiques des processus d'extraction supercritique sous ces conditions opératoires, de manière à décrire l'influence des paramètres pression et température sur l'extraction

III.3.1. Influence des paramètres opératoires sur la cinétique d'extraction supercritique.

L'objectif de ce chapitre est d'étudier expérimentalement l'influence des paramètres opératoires principaux (température, pression, granulométrie, débit de CO₂ et présence de co-solvant) sur la cinétique du processus d'extraction supercritique, afin de pouvoir sélectionner des conditions opérationnelles favorables à l'extraction.

La *vitesse d'extraction* représente la masse de matière extraite (mg) par unité de temps (min). Ce paramètre permet de mettre en évidence le régime d'extraction à un temps donné.

La Figure III.2. présente la variation de la *vitesse d'extraction* en fonction de la quantité de CO₂ passée dans l'extracteur (*kg CO₂/kg matière première*), pour une expérience classique.

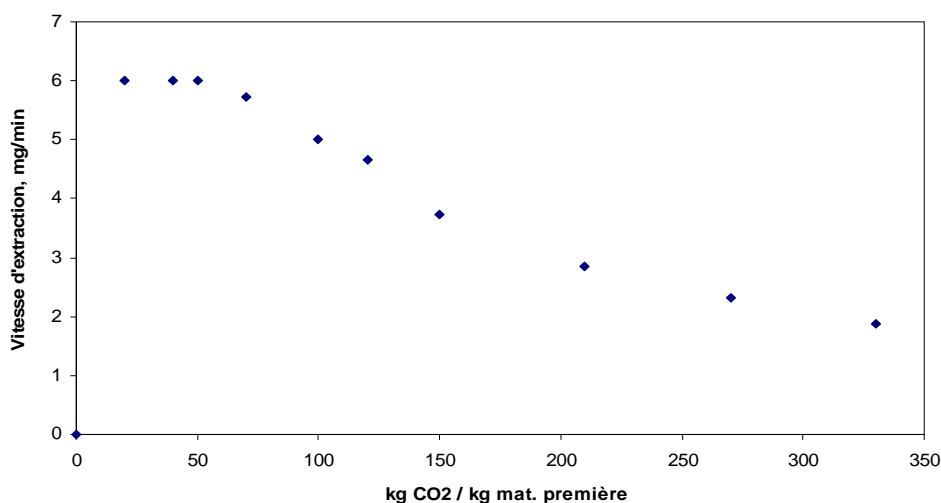
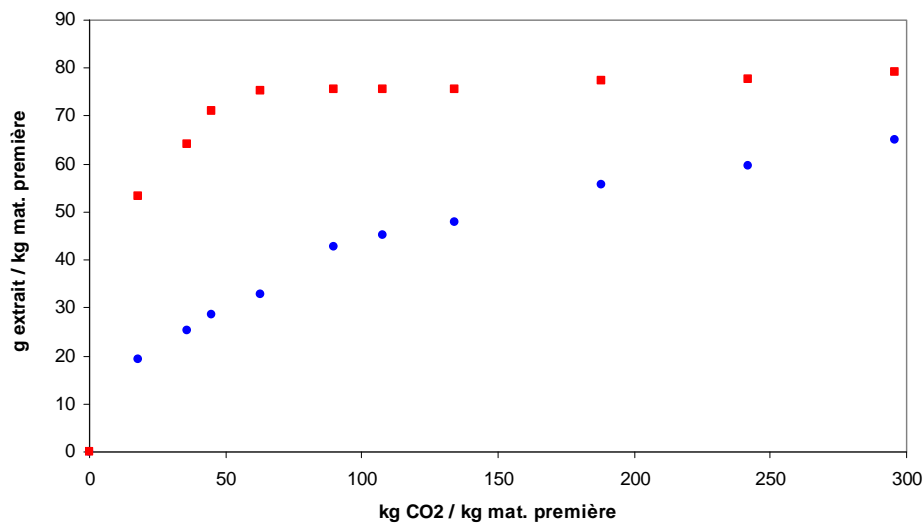


Figure III.2. Vitesse moyenne d'extraction *en fonction de la quantité du CO₂ par kg de la matière première, T= 40 °C, P=200 bar, taille de particules moyenne 0.94 mm, débit du CO₂ = 30 g/min.*

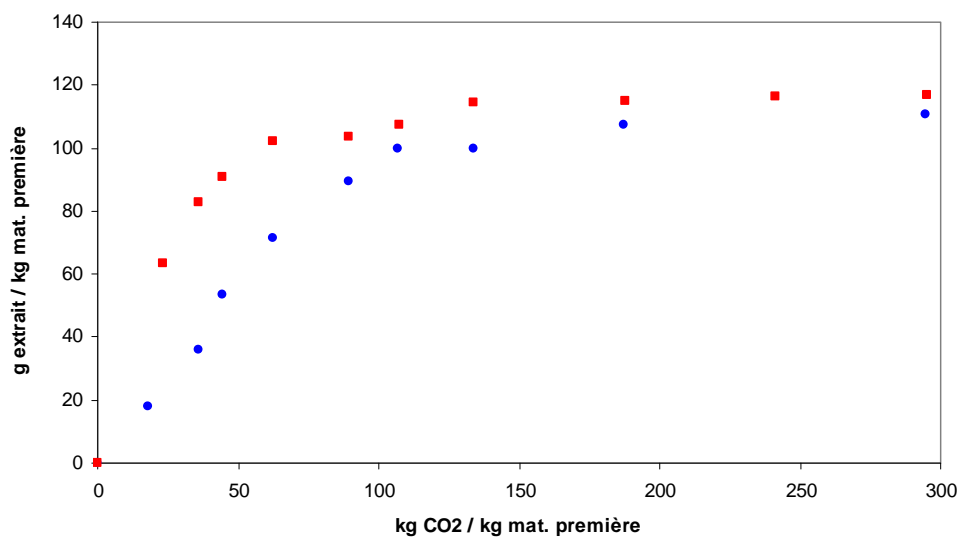
Cette Figure III.2. montre une courbe typique d'extraction supercritique, sur laquelle on peut distinguer trois périodes. Une courbe similaire est décrite dans [67]. Pendant la période initiale, relativement courte, la vitesse d'extraction est élevée et constante. Cela correspond à l'extraction du soluté facilement accessible se trouvant à la surface des particules. Pendant cette période, le processus est essentiellement contrôlé par la solubilité des solutés dans le CO₂ et/ou le transfert de matière externe autour de la particule. Pendant la deuxième période, la vitesse d'extraction commence à diminuer. Cette période correspond à une extraction simultanée des substances se trouvant à la surface, mais aussi à l'intérieur des particules (c.à.d., certaines zones dans la cellule sont en limitation la solubilité/transfert externe et d'autres en limitation diffusionnelle). La troisième période est caractéristique d'une vitesse d'extraction diminuant plus faiblement par rapport à la période précédente. Le soluté sur la surface est déjà consommé et le processus continue à faible vitesse, déterminée par le transfert à partir des cellules internes (contrôlé par la résistance interne). Notre système d'extraction correspond donc à un système de cinétique standard [79].

III.3.1.1. Influence de la température

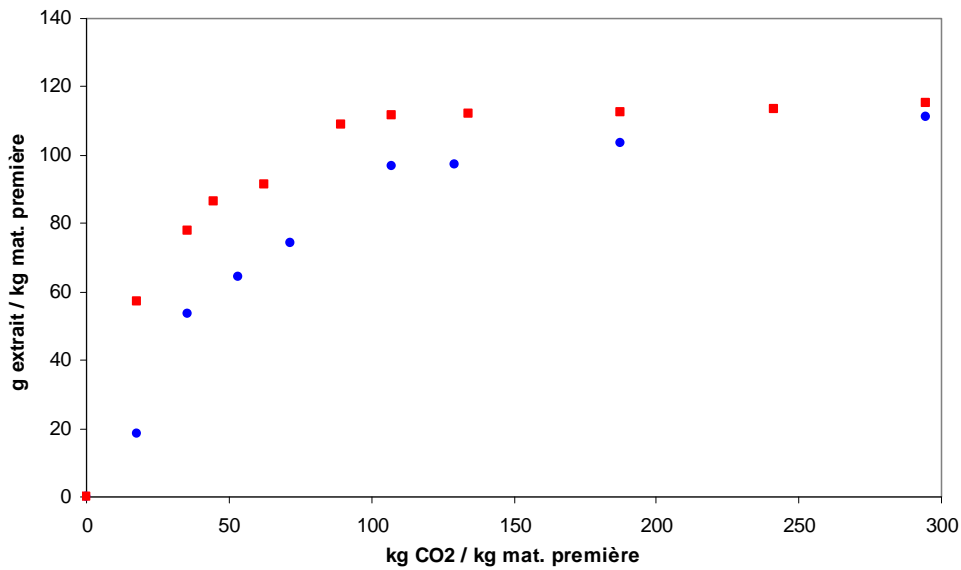
La Figure III.3 a - d présente des isothermes d'extraction à 40 et 60°C. Sur chacune de ces figures, on remarque une période initiale pendant laquelle le rendement d'extraction évolue linéairement en fonction de la quantité de CO₂, et qui correspond à un processus contrôlé par la solubilité. La pente de cette partie linéaire de l'isotherme peut servir à la détermination d'une valeur approximative de la solubilité apparente de la substance extraite dans le fluide supercritique. [67]



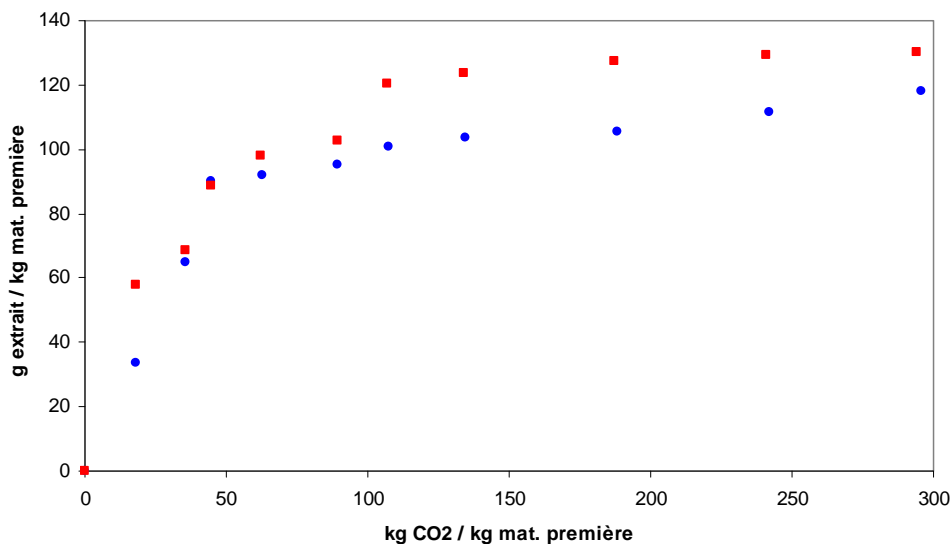
a) 100 bar



b) 200 bar



c) 250 bar



d) 280 bar

Figure III.3. Courbes cinétiques à températures différentes, taille moyenne de particules 0.94 mm, débit de CO₂ = 5 g/min. ■ 60 °C ; ● 40 °C ; a) P = 100 bar, b) P = 200 bar, c) P = 250 bar, d) P = 280 bar

On observe que pour tous les régimes de pression, la résistance due à la solubilité du soluté dans le CO₂ est plus grande à température plus faible. Ce comportement peut être attribué à l'augmentation de la solubilité avec la température. Il semble que la gamme de

température dans laquelle nous travaillons correspond à la zone où la solubilité augmente avec la température. On est donc dans la zone où l'effet de la tension de vapeur des solutés sur la solubilité est prédominant par rapport celui de la masse volumique du solvant. En comparant les figures 23. a-d, on constate que l'influence de la température pendant la première période linéaire devient plus faible à plus haute pression. Cela peut être expliqué par l'amélioration de la solubilité grâce à l'augmentation de la masse volumique du solvant.

Pour l'interprétation de résultats concernant la résistance interne, nous allons distinguer deux zones de pression : celle de basse pression, 100 bar, illustrée par la Figure III.3 a) et celle à haute pression, supérieure ici à 200 bar, figures 23. b - d). Cette distinction est nécessaire, puisque, d'après les informations de la littérature [1, 8, 60, 89] la sélectivité change en fonction de la pression. En effet, à basse pression, on extrait préférentiellement les huiles essentielles et des cires, tandis qu'à plus haute pression on extrait aussi des molécules de masse moléculaire élevée (chlorophylle, etc.). Visuellement, nous avons pu constater une différence d'aspect des extraits, les extraits obtenus à basse pression étant plutôt jaunâtres. En solubilisant ces extraits dans de l'éthanol, nous avons constaté une précipitation des cires (qui sont peu solubles dans l'éthanol). La séparation des cires de l'huile essentielle est présentée plus loin dans la partie III.3.5. Les extraits obtenus à hautes pressions sont verts foncés, en raison de la présence probable de chlorophylle [1].

A basse pression (fig.23 a), on observe que l'influence de la température est très prononcée. A 60 °C, le plateau, correspondant au début de la période où l'extraction est limitée par la diffusion interne, est assez rapidement atteint, tandis qu'à température plus basse (40 °C) il semble que ce régime ne soit pas atteint à la fin de l'expérience, puisque le plateau n'est pas encore mis en évidence (dans ce cas le processus est encore en régime transitoire, avec l'influence des deux résistances, la solubilité et la résistance interne). Ce comportement peut être attribué à la une solubilité du ou des solutés, plus faible à 40°C,

Dans la zone des pressions élevées la résistance interne (plateaux, fig. 23. b, c, d) est peu affectée par la température.

Les résultats expérimentaux de ce chapitre montrent que pour tous les régimes de pression l'efficacité du processus augmente avec la température. Nous allons donc considérer que 60 °C est une valeur raisonnable, préservant, d'une part les composants actifs de la plante d'une destruction thermique et, d'autre part, assurant un régime cinétique intensif.

III.3.1.2. Influence de la pression

Sur la Figure III.4 l'influence de la pression sur le rendement de l'extrait total supercritique Y_{EX}^{SC} est présentée.

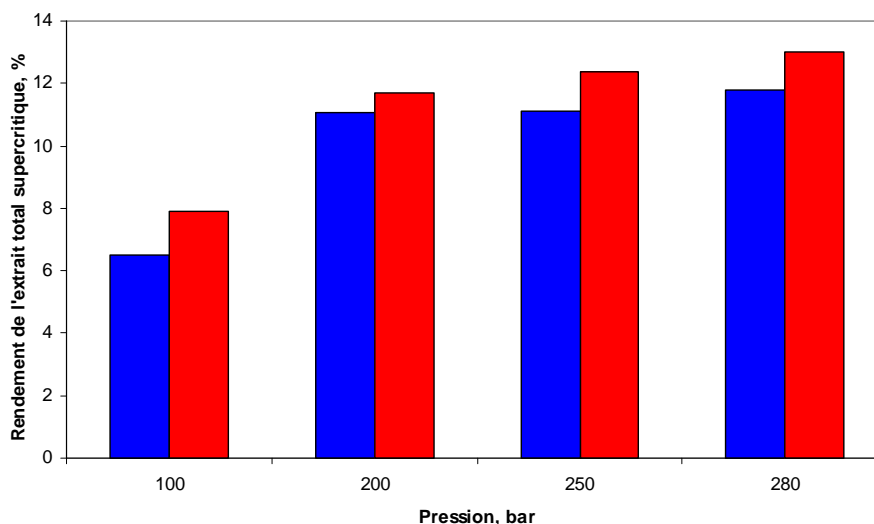


Figure III.4. Rendement de l'extrait total supercritique Y_{EX}^{SC} à différentes pressions.

■ 40 °C ; ■ 60°C. Débit de CO₂ = 5 g/min. Taille moyenne de particules 0,94 mm.

Durée d'extraction = 330 min

Les résultats expérimentaux montrent une augmentation du rendement avec la pression. Ceci peut être attribué à l'augmentation du pouvoir solvant du CO₂ à haute pression en raison de l'augmentation de sa masse volumique, et d'un hydromodule plus élevé. Comme cela a été mentionné dans la partie III.3.1.1, on distingue deux groupes de régimes. A pression modérée (100 bar) le rendement est sensiblement plus faible et l'extrait contient surtout des cires et de l'huile essentielle. A haute pression (>200 bar) le rendement est amélioré, mais on extrait davantage de composés de masse moléculaire élevée (chlorophylle...).

On peut donc conclure qu'en augmentant la pression d'extraction, on obtient une meilleure efficacité du solvant, mais sa sélectivité diminue. Dans le contexte de notre étude, où l'objectif consiste à éliminer le maximum de matière possible grâce au prétraitement supercritique, il semble donc préférable de choisir une pression opératoire élevée. Dans le cas où l'objectif d'isoler des composés à haute valeur ajoutée, c'est-à-dire l'huile essentielle, il sera par contre indiqué de travailler à pression modérée. Dans ce cas, nous verrons dans la

partie III.3.5 qu'il est nécessaire d'ajuster précisément les paramètres opératoires, car la sélectivité de l'extraction est très sensible à ces changements.

III.3.1.3. Influence de la granulométrie

La Figure III.5. a et b montre l'effet de la pression sur la cinétique d'extraction pour des particules de classes de tailles différentes.

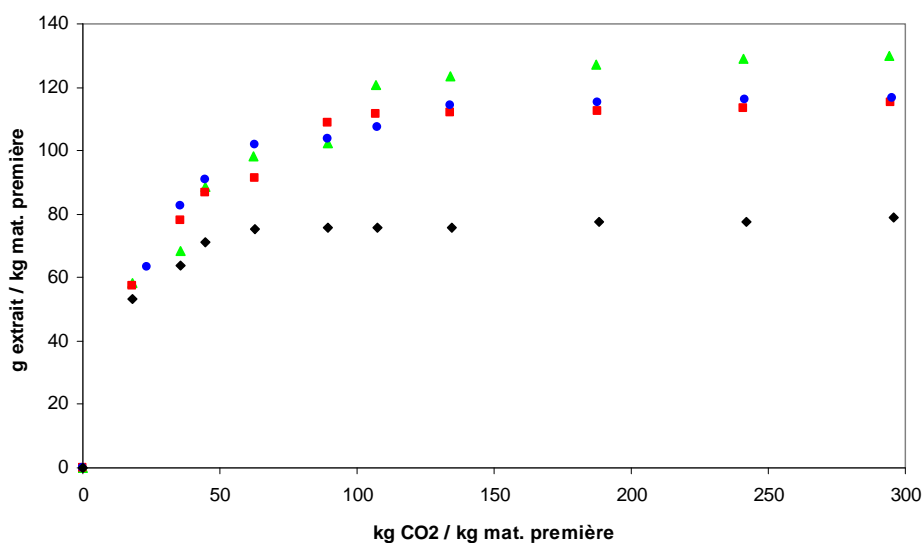


Figure III.5 a) Quantité extraite en fonction de la quantité de solvant utilisée à $T = 60\text{ °C}$, débit de $\text{CO}_2 = 5\text{ g/min}$, taille moyenne de particules = $0,94\text{ mm}$. ▲ – 280 bar ; ■ – 250 bar ; ● – 200 bar ; ◆ – 100 bar

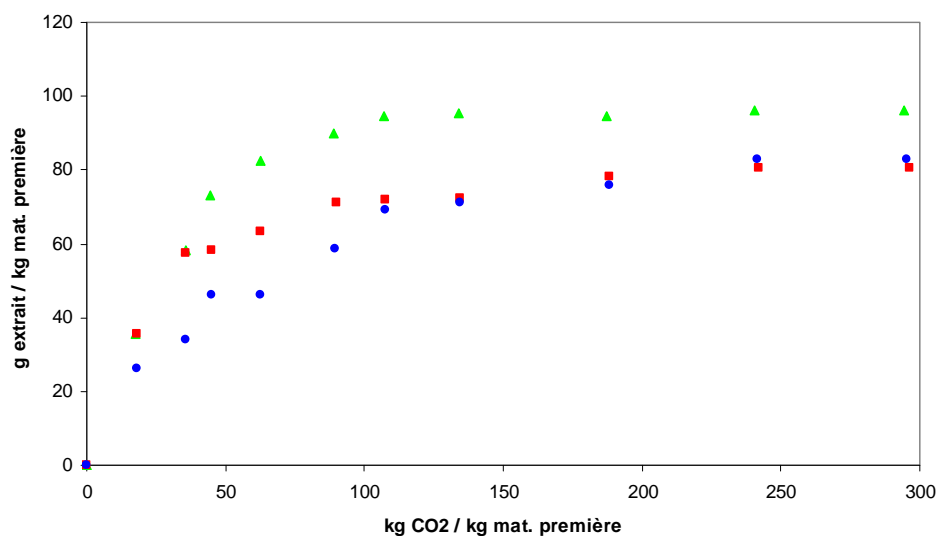


Figure III.5 b) Quantité extraite en fonction de la quantité de solvant utilisée à, $T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, débit de $\text{CO}_2 = 5\text{ g/min}$, taille moyenne des particules = $1,33\text{ mm}$. ▲ – 280 bar ; ■ – 250 bar ; ● – 200 bar

Dans le cas des petites particules (Fig. 25 a), la période initiale est identique et ne dépend pas de la pression. En effet, les différences de comportement apparaissent pendant la période transitoire. Ici on peut facilement distinguer les deux groupes de régimes (à basse et à haute pression). Comme cela a été déjà dit, la sélectivité diminue à haute pression et on extrait une plus grande quantité de composés différents par rapport au régime plus sélectif à basse pression (100 bar). Dans l'intervalle de pressions 200 – 250 bar le processus se développe d'une manière très similaire, tandis que à 280 bar il est sensiblement meilleur vers la fin. L'indication ci-dessus peut servir à la sélection des conditions opératoires convenables selon l'objectif du procédé.

Dans le cas de particules de plus grande taille (fig. 25 b) seule l'extraction à hautes pressions ($> 200\text{ bar}$) a été représentée. A 200 et 250 bar on distingue des cinétiques différentes pour la période initiale et transitoire, tandis que pendant la période finale (plateau) le comportement devient similaire comme dans le cas des petites particules. Ce comportement semble attribuable à l'augmentation de la résistance interne dans le cas des plus grandes particules. Les plus grandes particules présentent une surface spécifique moins importante, rendant l'extraction des solutés présents à l'intérieur des particules plus difficile. Ici encore, les résultats obtenus à 280 bar sont les plus intéressants en termes de rendement total d'extraction.

La Figure III.6 montre la quantité extraite dans la gamme des hautes pressions (>200 bar) pour des particules de taille moyenne différente. On voit clairement une augmentation de la quantité d'extrait lorsque la pression est supérieure à 250 bar. Ce résultat nous indique que le prétraitement efficace de la matière végétale doit être effectué à une pression supérieure à 250 bar.

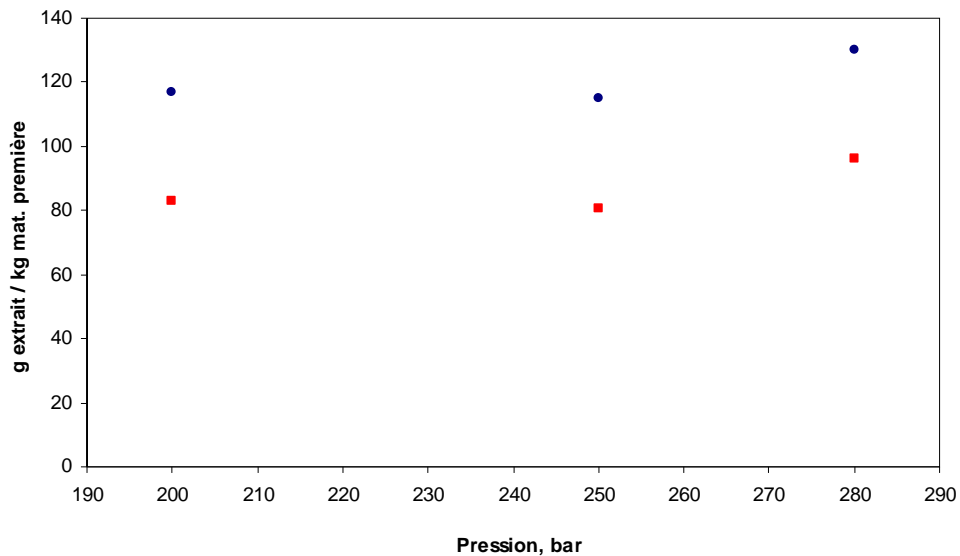


Figure III.6. Quantité extraite en fonction de la pression, $T = 60\text{ °C}$, débit du $\text{CO}_2 = 5\text{ g/min}$.

● - 0,94 mm ; ■ - 1,33 mm

La Figure III.7 présente les cinétiques d'extraction pour des fractions de taille moyenne différente à 60°C et 280 bar.

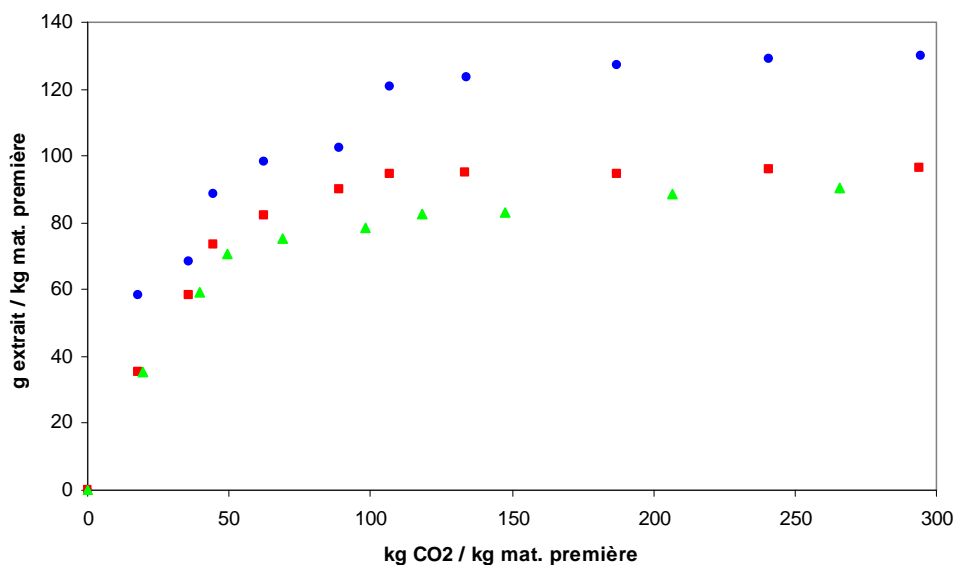


Figure III.7. Cinétique d'extraction pour diverses tailles de particules, $T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P = 280\text{ bar}$, débit de $\text{CO}_2 = 5\text{ g/min}$. ● – 0,94 mm ; ■ – 1,33 mm ; ▲ – 1,7 mm

Logiquement, on observe que le meilleur résultat est obtenu avec des petites particules, ceci en raison de leur plus grande surface spécifique. et donc à une plus grande surface de contact solvant-solide. D'autre part, dans ce cas la quantité de cellules végétales ouvertes et localisées plus près de la surface est plus élevée, ce qui rend le soluté plus accessible au solvant et diminue la résistance interne. On voit sur la figure que la résistance interne augmente avec la taille des particules.

Il est donc préférable de travailler avec des particules plus fines. Cependant, il faut toujours tenir compte au fait que des trop petites particules peuvent entraîner des problèmes technologiques dus à des bouchage des installations, à l'augmentation de la perte de charge dans l'appareil, et contribuer à la création des passages préférentiels (« channelling ») et zones non percolées. D'un point de vue technologique, il faut toujours chercher un compromis entre la taille des particules à utiliser, la construction particulière de l'installation et l'efficacité de son fonctionnement.

III.3.1.4. Influence du débit du CO₂

Afin de couvrir une large plage de variation pour ce paramètre, nous avons testé deux valeurs extrêmes (petite et grande) du débit de CO₂ : 5 et 30 g/min.

D'abord nous avons suivi la cinétique d'extraction présentée en masse extraite par unité de masse de la matière première (g extrait / kg matière première) en fonction de la quantité de CO₂ utilisée par unité de la matière première (kg CO₂ / kg matière première). Les résultats obtenus à 40 et 60 °C sont présentés sur les figures 28 et 29

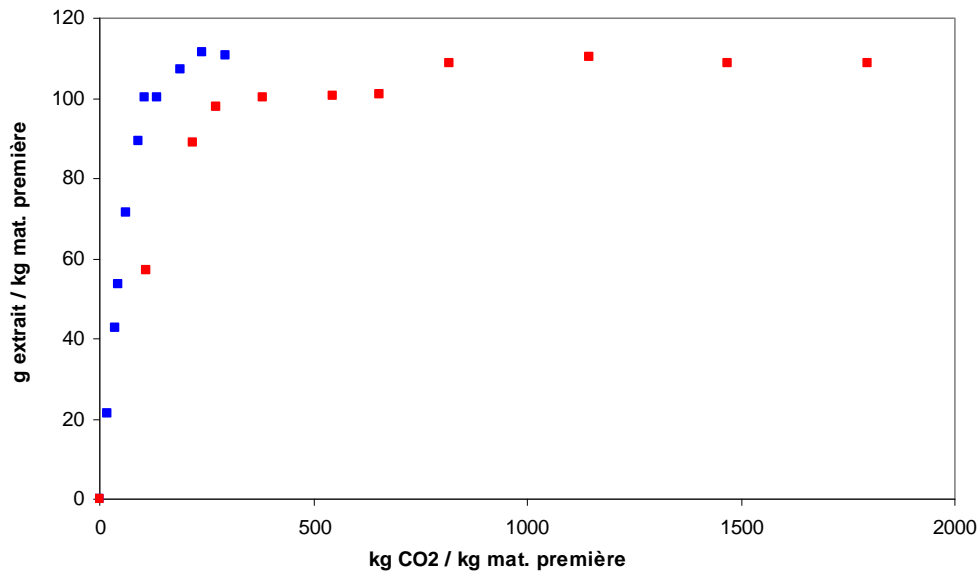


Figure III.8. Influence du débit de CO₂ sur la cinétique d'extraction, T = 40 °C, P = 280 bar, taille des particules 0,94 mm. ■ – 5 g/min ; ■ – 30 g/min

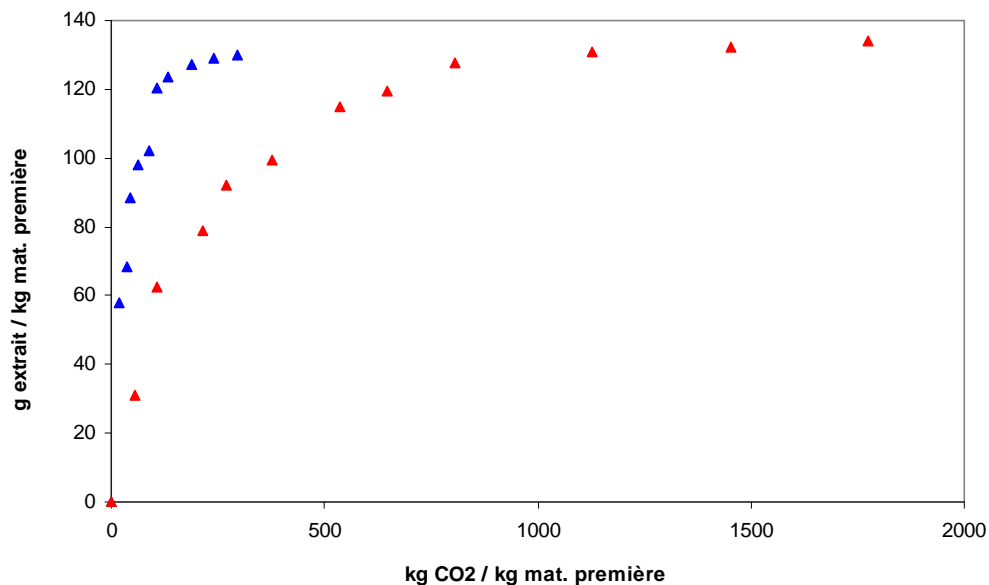


Figure III.9. Influence du débit de CO₂ sur la cinétique d'extraction, T = 60 °C, P = 280 bar, taille des particules 0,94 mm. ▲ – 5 g/min ; ▲ – 30 g/min

Pour chaque température on peut distinguer les trois périodes standards d'extraction: la période initiale contrôlée par la solubilité et/ou le transfert de matière externe, la période transitoire avec l'influence mixte de deux résistances – externe (solubilité et le transfert de matière) et interne, et la troisième période contrôlée par la résistance interne (transfert de matière à l'intérieur des particules). En augmentant le débit de CO₂ le temps de séjour du solvant diminue. Pendant la première période, le transfert de masse devient moins intensif. Cela résulte de l'hydrodynamique, et une limitation de transfert de matière externe apparait. Par conséquence, cette période devient plus longue à débit plus élevé. La même raison est valable pour la seconde période transitoire contrôlée simultanément par les résistances externes et interne. Elle, aussi, devient plus longue à cause du plus court temps de séjour du solvant.

La différence entre les deux débits est beaucoup plus marquée à 60 °C qu'à 40 °C, où les deux courbes sont beaucoup plus proches (fig. 29). Cela signifie qu'à 40 °C la résistance externe est beaucoup plus importante (solubilité plus faible à 40 qu'à 60°C).

D'autre part, il semble qu'à 40 °C le rôle de la résistance interne soit moins important. Pour vérifier cette affirmation, nous avons tracé l'évolution du rendement d'extraction au cours du temps (min) sur la Figure III.10

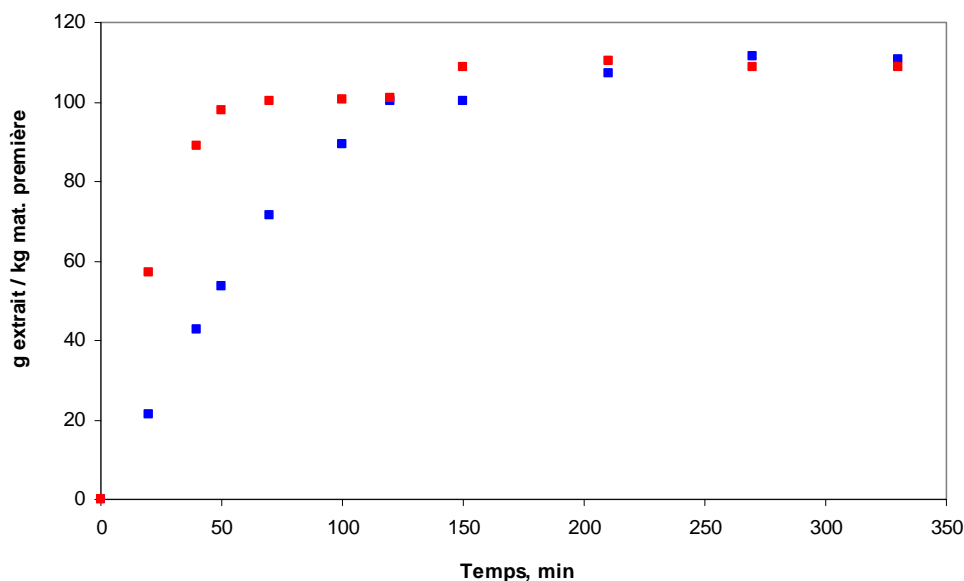


Figure III.10. Influence du débit de CO₂ sur la cinétique d'extraction au cours de temps.

$T = 40^{\circ}\text{C}$, $P = 280 \text{ bar}$, taille des particules 0,94 mm. ■ – 5 g/min ; ■ – 30 g/min

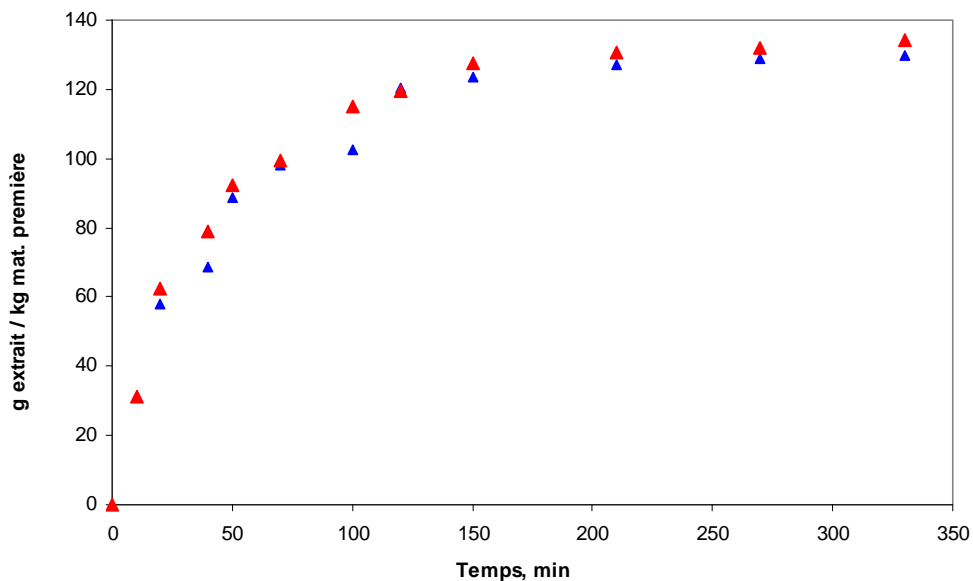


Figure III.11. Influence du débit de CO₂ sur la cinétique d'extraction au cours de temps. $T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P = 280\text{ bar}$, taille des particules 0,94 mm. ▲ – 5 g/min ; ▲ – 30 g/min

A 40 °C (fig. 30), la zone de croissance linéaire (qui correspond à la période contrôlée par la solubilité) apparaît clairement et dépend fortement du débit. Pour un plus grand débit de CO₂, la quantité de solvant entrant en contact avec des solutés pendant un temps Δt augmente, ce qui se traduit par une plus grande quantité d'extrait. Le processus est donc dans ce cas limité par la solubilité du soluté dans le solvant. En conséquence, la pente de la partie linéaire devient plus grande. Au contraire, à 60 °C (fig. 30), les résultats obtenus pour les deux débits sont parfaitement identiques, avec une zone linéaire très courte, signifiant que la résistance liée à solubilité est négligeable et que le phénomène est principalement limité par le transfert de matière interne.

En conclusion, il apparaît, qu'à plus haute température (60 °C) un débit plus faible soit plus convenable tandis qu'à température plus faible (40 °C), il sera préférable de travailler avec un débit plus élevé afin de limiter la durée de l'extraction.

III.3.2. Influence de la présence de co-solvants dans le solvant supercritique

Dans notre dispositif expérimental, le co-solvant a été introduit et mélangé au CO₂ juste avant l'entrée dans l'extracteur grâce à une pompe HPLC. Nous avons testé deux co-solvants, l'éthanol et l'eau. L'éthanol a été choisi car c'est un co-solvant polaire classique, non-toxique largement utilisé. De son côté, l'eau est un co-solvant moins utilisé, mais aussi évidemment non-toxique, sûr et propre. Les deux co-solvants ont un caractère polaire, ce qui permettra de réaliser l'extraction grâce à un solvant polaire [68].

III.3.2.1. Co-solvant éthanol

Les études avec l'éthanol ont été effectuées en deux séries : à basse pression (120 bar) et à haute pression (280 bar). Les expériences ont été menées dans la cellule originelle de l'extracteur en utilisant la fraction de particules de taille moyenne 0,94 mm.

La Figure III.12 montre l'influence de la fraction massique en co-solvant dans l'alimentation sur le *Rendement de l'extrait total supercritique* Y_{EX}^{SC} à 120 bar.

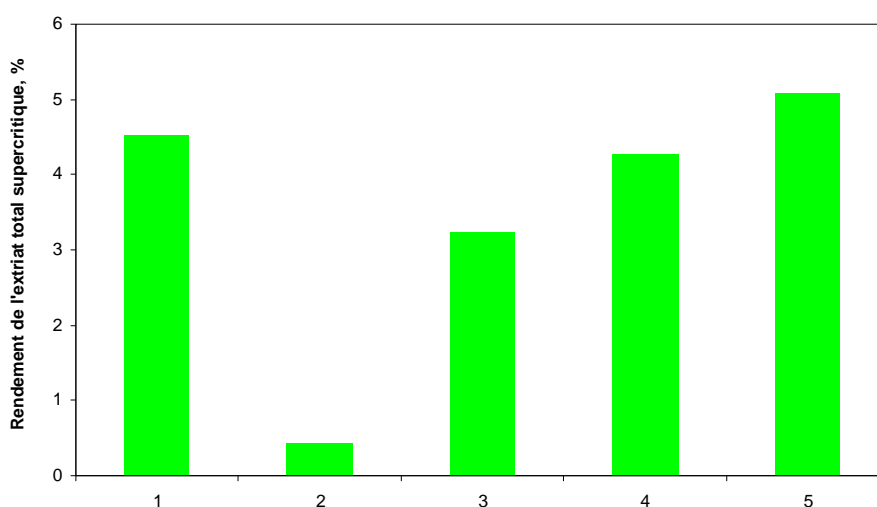


Figure III.12. Rendement de l'extrait total supercritique Y_{EX}^{SC} en fonction de la fraction de co-solvant éthanol dans l'alimentation. $P = 120$ bar, $T = 40$ °C, débit du CO₂ = 6,4 g/min : 1 – Sans co-solvant, durée 15 h ; 2 – Sans co-solvant, durée 4 h ; 3 – 5 % co-solvant, durée 4 h ; 4 – 10 % co-solvant, durée 4 h ; 5 – 15 % co-solvant, durée 4 h

A basse pression (120 bar) le *Rendement de l'extrait total supercritique* est nettement plus grand dans le cas de l'utilisation d'éthanol et augmente avec la fraction massique de celui-ci. Il apparait bien nettement que l'ajout d'éthanol améliore le pouvoir solvant du CO₂. En comparant les processus sans (2) et avec co-solvant (3-5) pour la même durée d'extraction, on voit un rendement beaucoup plus élevé en cas de co-solvant. Pour comparaison, le même rendement sans co-solvant (1) est atteint en 4 fois plus de temps qu'avec 10% de co-solvant (4).

Cependant, l'utilisation d'éthanol en tant que co-solvant va modifier à la fois la quantité et la composition de l'extrait. La quantité d'acide rosmarinique (AR) extraite est caractérisée par le paramètre *Rendement de l'acide rosmarinique* Y_{AR}^{SC} (eq III.2). La Figure III.13 montre la variation de ce paramètre en fonction de la quantité de co-solvant utilisée dans l'alimentation.

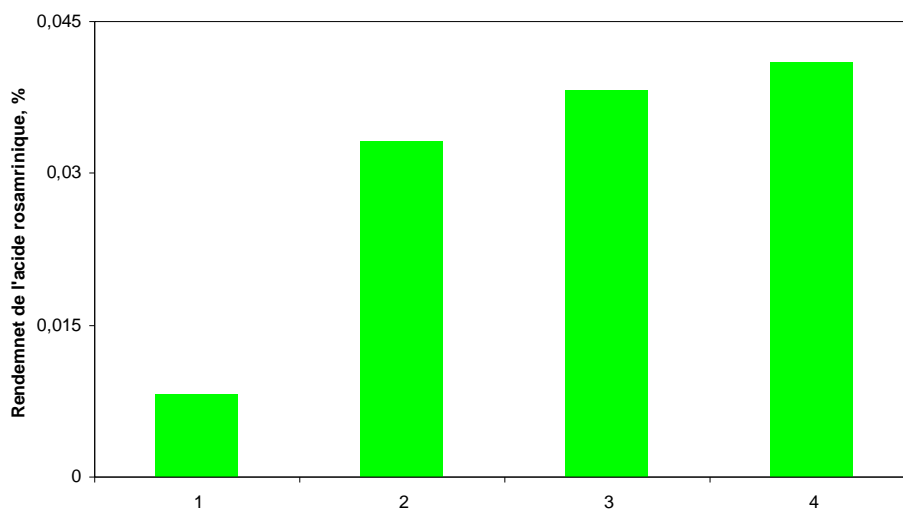


Figure III.13. Rendement de l'acide rosmarinique Y_{AR}^{SC} en fonction de la quantité du co-solvant éthanol, $P = 120$ bar, $T = 40$ °C, débit du CO₂ = 6,4 g/min. 1 – Sans co-solvant, durée 15 h ; 2 – 5 % co-solvant, durée 4 h ; 3 – 10 % co-solvant, durée 4 h ; 4 – 15 % co-solvant, durée 4 h

Ces résultats indiquent que sans co-solvant, pour une durée d'extraction ~ 4 fois plus longue que pour l'extraction avec co-solvant, la quantité d'AR extraite est ~ 4-5 fois plus faible. En augmentant la quantité de co-solvant, on constate que la quantité d'acide rosmarinique extraite augmente aussi. Logiquement, la solubilité de l'AR dans le solvant

devient plus importante lorsque celui-ci est plus polaire. Cependant, il faut noter que le *Rendement de l'acide rosmarinique* ne dépasse pas 0,041 % (alors que le contenu de l'AR dans la mélisse varie de 4 à 7,66 % selon le lot) tandis que le rendement de l'extrait total est de l'ordre de 5 %, ce qui signifie que la majorité de la matière extraite représente des composés non-désirés. Sur la Figure III.14, nous avons mis en évidence l'influence de la fraction de co-solvant sur la *Concentration en AR dans l'extrait* C_{AR} . On observe que cette concentration diminue avec l'augmentation de la quantité de co-solvant même si le *Rendement de l'acide rosmarinique* augmente. On peut donc tirer la conclusion qu'en augmentant la quantité d'éthanol, on augmente de façon majoritaire le pouvoir solvant par rapport à des composés non-désirés, c'est-à-dire autres que l'acide rosmarinique.

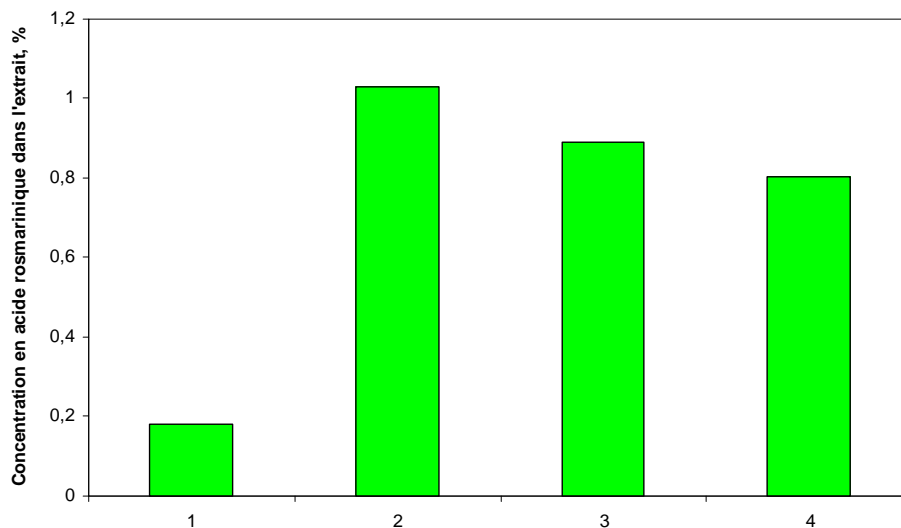


Figure III.14. *Concentration en acide rosmarinique dans l'extrait* C_{AR} en fonction de la quantité du co-solvant éthanol, P = 120 bar, T = 40 °C, débit du CO₂ = 6,4 g/min. 1 – Sans co-solvant, durée 15 h ; 2 – 5 % co-solvant, durée 4 h ; 3 – 10 % co-solvant, durée 4 h ; 4 – 15 % co-solvant, durée 4 h.

D'après ces résultats, il apparaît que l'extraction supercritique à basse pression avec du co-solvant éthanol, peut-être une méthode de pré-traitement intéressante, permettant d'éliminer des composés non-désirés avant l'extraction conventionnelle de l'AR. L'extraction supercritique directe ne constitue pas un moyen efficace de récupération de l'acide rosmarinique.

Les Rendements de l'extrait total supercritique Y_{EX}^{SC} obtenus à 280 bar, sans et avec co-solvant éthanol sont présentés sur la Figure III.15.

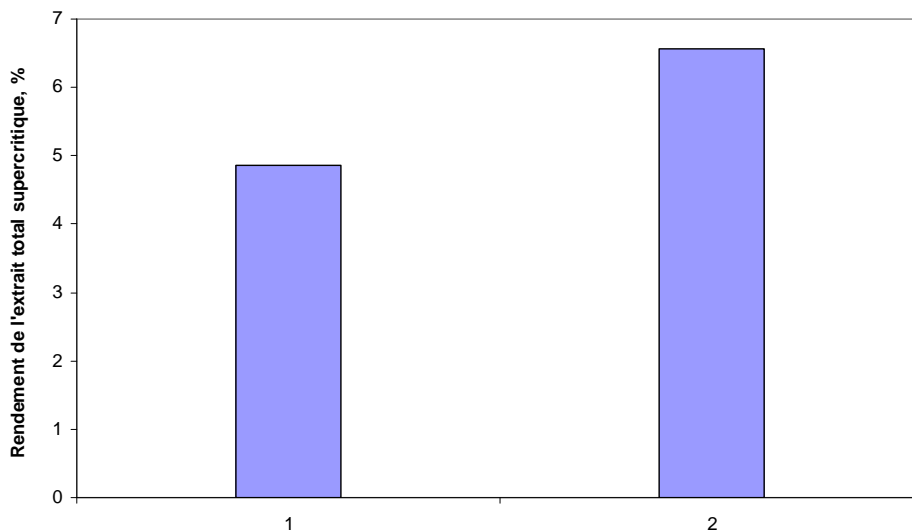


Figure III.15. Rendement de l'extrait total supercritique Y_{EX}^{SC} , $P = 280 \text{ bar}$, $T = 60 \text{ °C}$, débit de $\text{CO}_2 = 5 \text{ g/min}$, durée 5 h. 1 – Sans co-solvant, 2 – 15 % co-solvant éthanol

Ces résultats indiquent que, comme dans le cas de la basse pression, l'introduction de co-solvant augmente la capacité d'extraction du solvant, en raison de sa plus grande polarité. En conséquence, certains produits insolubles en absence du co-solvant, deviennent solubles. On remarque une légère augmentation du Rendement de l'extrait total supercritique par rapport aux essais réalisés à basse pression, le meilleur résultat à basse pression étant 5,08 % contre 6,56 % à haute pression (comp. Fig. 32 et 35).

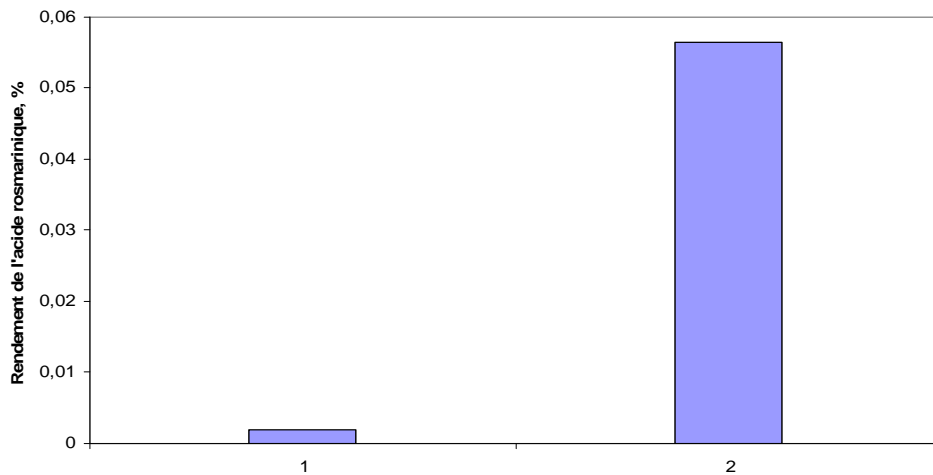


Figure III.16. Rendement de l'acide rosmarinique Y_{AR}^{SC} , $P = 280 \text{ bar}$, $T = 60 \text{ °C}$, débit du $CO_2 = 5 \text{ g/min}$, durée 5 h. 1 – Sans co-solvant ; 2 – 15 % co-solvant éthanol

De plus, la présence du co-solvant augmente le *Rendement de l'acide rosmarinique* d'environ 30 fois, comme le montre la fig. 36. Cependant, le rendement n'est que de 0,06 %, c'est-à-dire très légèrement plus élevé qu'à basse pression (~ 0,04 %).

La *Concentration en acide rosmarinique* C_{AR} dans l'extrait est présentée sur la Figure III.17.

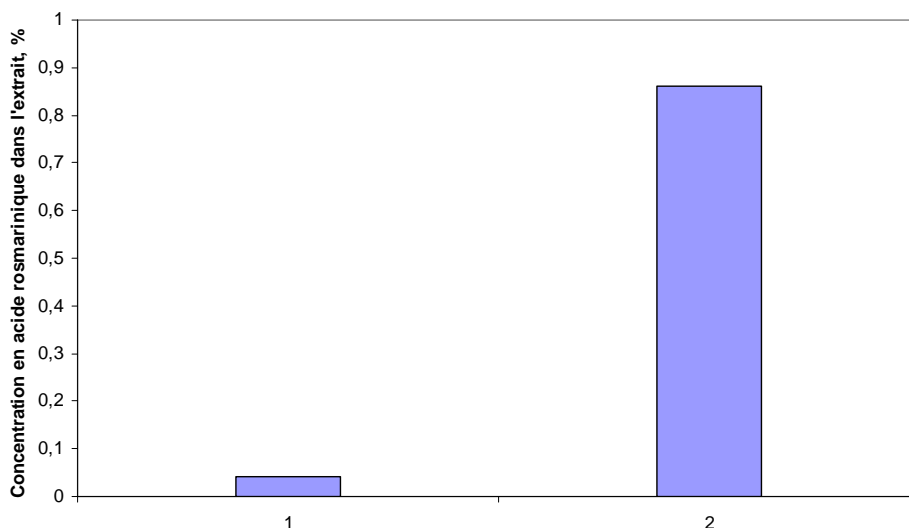


Figure III.17. Concentration en acide rosmarinique dans l'extrait C_{AR} $P = 280 \text{ bar}$, $T = 60 \text{ °C}$, débit du $CO_2 = 5 \text{ g/min}$, durée 5 h. 1 – Sans co-solvant ; 2 – 15 % co-solvant éthanol

Avec du co-solvant la *Concentration en acide rosmarinique dans l'extrait* devient environ 8 fois plus élevée, mais cependant elle reste faible (< 0,9 %). En comparaison avec les résultats à basse pression, il n'y a qu'une petite influence positive de la pression (augmentation de 0,8 à 0,86 % pour 15 % du co-solvant). Par contre, le contenu en AR dans l'extrait diminue en augmentant la quantité du co-solvant (Figure III.17.). On peut alors conclure que le rapport matière non-désirée/acide rosmarinique dans l'extrait supercritique augmente avec la quantité de co-solvant et avec la pression.

De manière générale, d'après les résultats, on peut dire que l'utilisation de l'éthanol comme co-solvant peut-être envisagée dans une étape de lavage préliminaire de la matière première, avec l'objectif d'éliminer une quantité importante de composés non-désirés avant l'étape d'extraction conventionnelle de l'AR à partir de la mélisse. D'après les résultats, qui sont similaires à basse et à haute pression, il semble plus raisonnable de préférer un fonctionnement à basse pression.

III.3.2.2. Co-solvant eau

Nous avons également testé l'extraction de mélisse en utilisant de l'eau comme co-solvant. Les conditions opératoires suivantes ont été réalisées : P = 280 bar, T = 60 °C, débit de CO₂ = 20 g/min. Le débit d'eau a été choisi de telle sorte que la concentration en eau dans le CO₂ soit à égale 80 % de sa solubilité dans le CO₂ à ces conditions. La solubilité de l'eau dans le CO₂ a été déterminée à l'aide de l'équation de Chrastil (1982) qui permet de calculer la solubilité (en g/L de CO₂) en fonction de la température et de la pression du solvant :

$$s = \rho^k e^{\left(\frac{a}{T+b}\right)} \quad (\text{III.4.})$$

Pour l'eau, les paramètres de cette équation prennent les valeurs spécifiques k = 1,549 ; a = -2826,4 et b = -0,807 [Chrastil (1982)]. La variation de la masse volumique du CO₂ (ρ) en fonction de la pression P pour diverses températures T a été obtenue par la base de données standard NIST (<http://webbook.nist.gov/chemistry/>)

La solubilité de l'eau dans le CO₂ à 280 bar et 60 °C, déterminée par cette équation, est s = 2,98 g/L. Nous avons donc travaillé à 80 % de cette valeur soit s' = 2,384 g/L.

La solubilité de l'eau dans le CO₂ étant faible, le débit d'eau à utiliser pour travailler à s' avec un débit de CO₂ égal à 5 g/min était trop faible par rapport aux capacités de la pompe de co-solvant. En conséquence, nous avons été amenés à augmenter le débit de CO₂ à 20 g/min. Le débit d'eau correspondant à s' est alors égal à 0,066 g/min, ce qui correspond à 0,33 % du débit total.

Trois isothermes de solubilité de l'eau dans le CO₂ obtenus grâce à la corrélation de Chrastil et la concentration en eau opératoire pour cette étude sont présentées sur la Figure III.18.

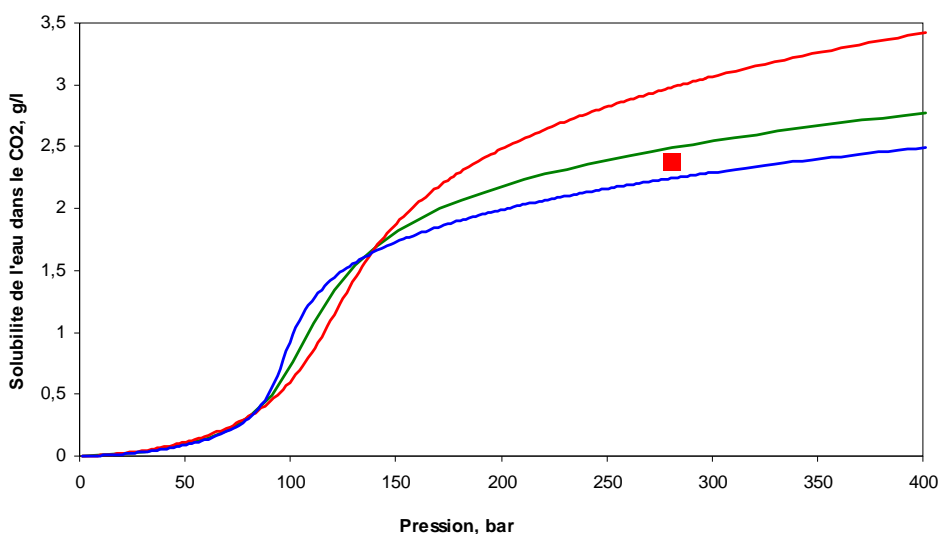


Figure III.18. Isothermes de solubilité de l'eau dans le CO₂ modélisés par l'équation de Chrastil : — 60 °C ; — 50 °C ; — 45 °C. ■ — concentration opératoire du co-solvant eau dans le CO₂ pour cette étude (280 bar, 60°C)

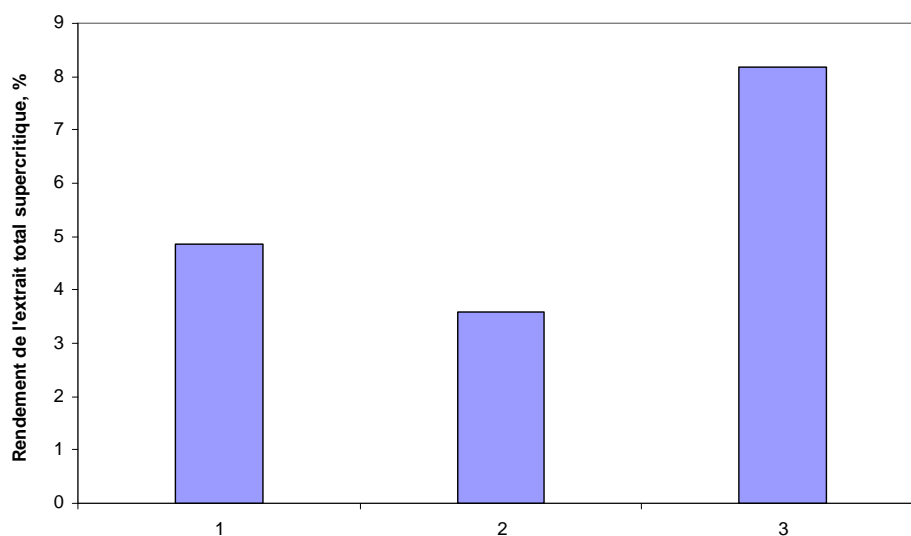


Figure III.19. Rendement de l'extrait total supercritique Y_{EX}^{SC} en fonction du type de co-solvant utilisé. $P = 280$ bar, $T = 60$ °C, durée 5 h : 1 – Sans co-solvant, débit de CO₂ 5 g/min ; 2 – 0,33 % co-solvant eau, débit de CO₂ 20 g/min; 3 – 15 % co-solvant éthanol, débit du CO₂ 5 g/min

La fig. III.19. présente une comparaison des rendements obtenus sans co-solvant et avec de l'eau et de l'éthanol comme co-solvants. Avec l'eau, le *Rendement de l'extrait total supercritique* diminue par rapport au rendement obtenu sans co-solvant, et ce alors que le débit de solvant est 4 fois plus élevé. De manière générale, l'eau, qui est peu soluble dans le CO₂, a tendance à « masquer » certains composés dans la matrice végétale, qui de ce fait ne peuvent plus être facilement extraits par le CO₂ [49]. Un autre effet négatif que l'eau peut causer est la formation d'agrégats de particules, ce qui conduit à une extraction irrégulière dans le lit [60] En effet, même en travaillant sous la concentration de saturation, il est tout à fait envisageable que la matière végétale ré-adsorbe de l'eau sur certaines zones, favorisant la formation d'agrégats.

Cependant, lorsqu'on s'intéresse à la sélectivité de l'extraction, on observe que le *Rendement de l'acide rosmarinique* Y_{AR}^{SC} (voir figure III.20.) devient plus important lorsque l'eau est employée en tant que co-solvant. Ceci provient du fait que la polarité du mélange CO₂+eau est plus importante que celle du CO₂ seul, ce qui en fait un meilleur solvant pour l'AR.

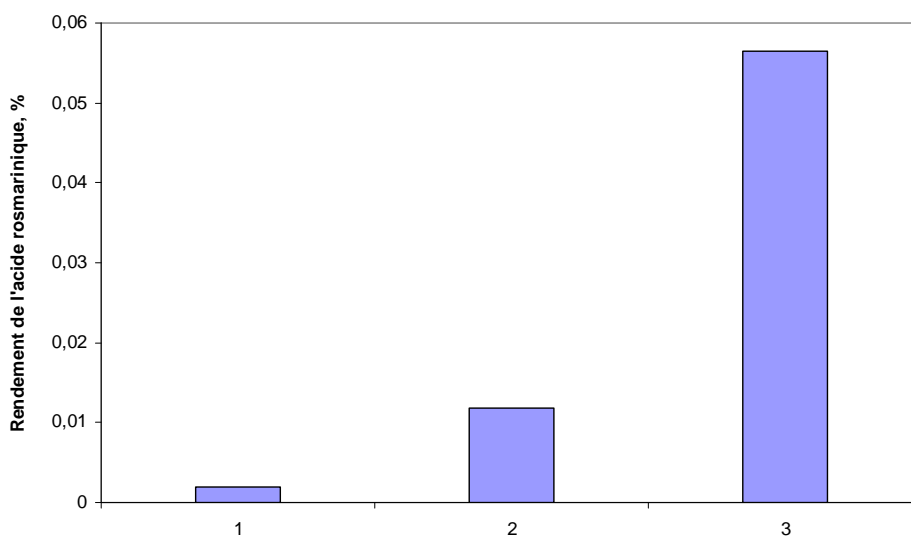


Figure III.20. Rendement de l'acide rosmarinique Y_{AR}^{SC} en fonction du type de co-solvant utilisé $P = 280$ bar, $T = 60$ °C, 1 – Sans co-solvant, débit du CO₂ 5 g/min ; 2 – 0,33 % co-solvant eau, débit du CO₂ 20 g/min; 3 – 15 % co-solvant éthanol, débit du CO₂ 5 g/min

En ce qui concerne la *Concentration en acide rosmarinique dans l'extrait* C_{AR} (voir figure III.21.), on voit la même tendance d'enrichissement de l'extrait en AR, plus fortement marquée en cas du co-solvant éthanol.

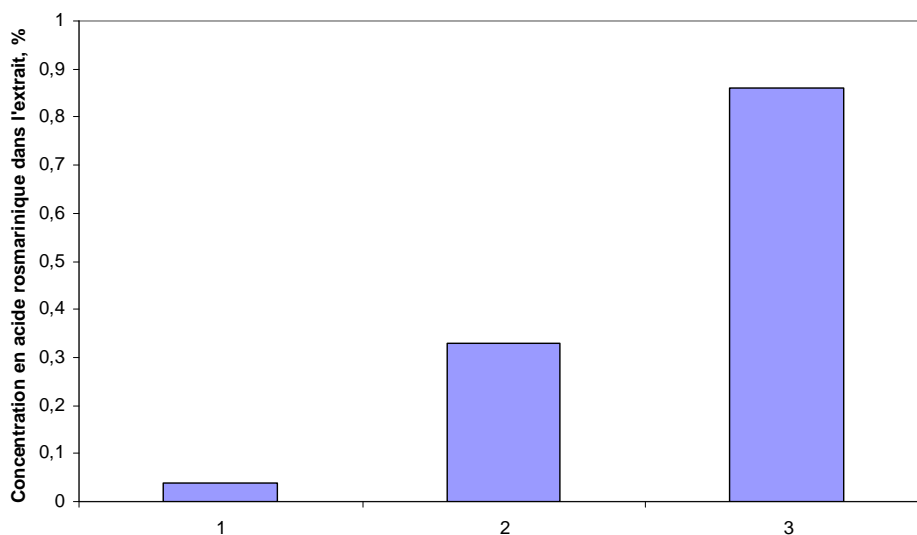


Figure III.21. Concentration en acide rosmarinique dans l'extrait C_{AR} en fonction du type de co-solvant utilisé, $P = 280$ bar, $T = 60$ °C, 1 – Sans co-solvant, débit du CO₂ 5 g/min ; 2 – 0,33 % co-solvant eau, débit du CO₂ 20 g/min; 3 – 15 % co-solvant éthanol, débit du CO₂ 5 g/min

En comparant les résultats des expériences conduites avec ces deux co-solvants, il apparait évident, que l'éthanol est un co-solvant plus approprié pour éliminer des substances non-désirées lors du pré-traitement supercritique de la matière végétale.

III.3.2.3. Cinétique d'extraction supercritique avec du co-solvant éthanol

La cinétique d'extraction supercritique sans co-solvant, présentée précédemment, a été étudiée par une technique indirecte, consistant à suivre la perte de masse de la matière première au cours du temps. Cette approche est techniquement difficile à mettre en œuvre dans le cas de l'utilisation d'un co-solvant, puisqu'il faudrait pouvoir sécher la matière végétale pour éliminer le co-solvant à chaque point de mesure. En conséquence, la cinétique d'extraction avec du co-solvant a été déterminée en suivant la masse d'extrait récupérée au cours du temps. Cependant, il faut noter que cette technique est relativement imprécise en raison de certaines pertes d'extrait, car celui-ci peut-être retenu dans l'installation, sur les parois des tuyaux par exemple. Afin d'améliorer la précision des résultats, nous avons appliqué l'approche suivante : l'extrait a été périodiquement collecté pour obtenir l'information approximative sur l'évolution du processus. En fin d'extraction, nous avons comparé la quantité d'extrait accumulé avec la perte de masse dans l'extracteur. La différence entre ces deux quantités a été prise comme mesure de la quantité retenue dans les tuyaux (nous avons négligé les autres pertes...). Ensuite, toutes les mesures précédentes ont été corrigées en tenant compte de la masse d'extrait retenue.

La comparaison des cinétiques du processus sans et avec co-solvant est illustrée sur la figure III.22.

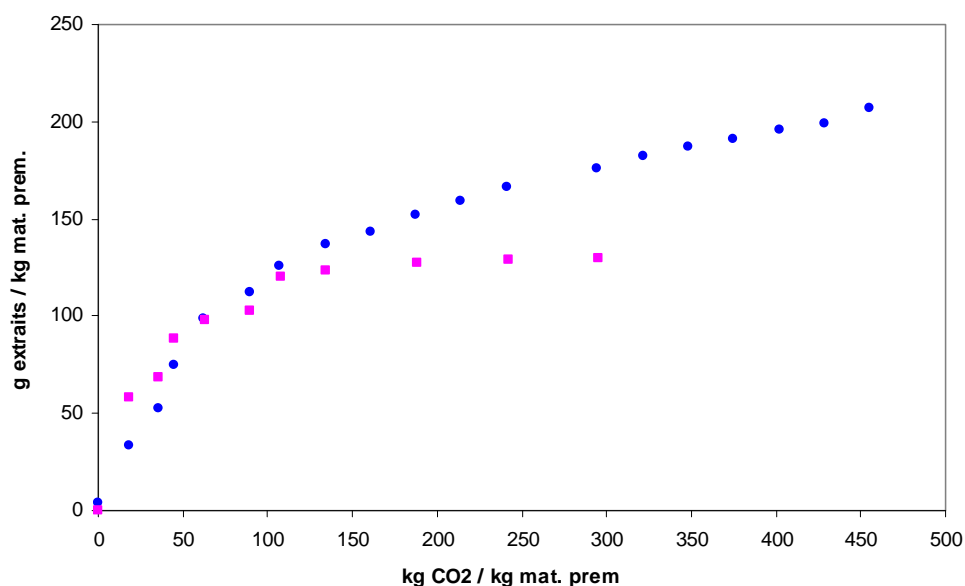


Figure III.22. L'influence de la présence de co-solvant éthanol sur la cinétique d'extraction. $P = 280$ bar, $T = 60$ °C, débit total = 5 g/min : ● – avec du 15 % co-solvant; ■ – sans co-solvant

Concernant le début de l'évolution de ces courbes, il serait hasardeux de tirer de conclusions, parce que les méthodes d'évaluation de l'extrait sont différentes et les courbes trop proches. Par contre, la fin des courbes d'extraction est sensiblement différente, et dans le cas d'extraction sans co-solvants, on observe le commencement d'un plateau vers 107 kg CO₂ / kg de matière première, ce qui signifie que l'extraction s'arrête. Lorsqu'on travaille avec du co-solvant, le plateau n'est toujours pas réent vers 455 kg CO₂ / kg mat. première, signifie que l'extraction continue. Cela met bien en évidence que le co-solvant modifie très significativement la capacité d'extraction du CO₂. Le changement de la polarité dû à l'alcool ajouté est la raison de l'extraction d'autres catégories des substances (polaires), devenant solubles dans ces conditions.

III.3.3. Influence de la géométrie de la cellule d'extraction

Afin d'étudier l'influence de la configuration géométrique de la cellule d'extraction sur le processus d'extraction, nous avons examiné l'influence des dimensions géométriques de la cellule sur le rendement.

Nous avons testé quatre configurations différentes :

1) La cellule originelle de hauteur 152 mm, diamètre intérieur 32 mm donc de volume 122 mL.

2) La cellule de même hauteur (152 mm), mais de diamètre intérieur réduit. Pour cela, une pièce annulaire de hauteur 152 mm et diamètre intérieur 16 mm est placée dans la cellule originale. Dans cette configuration, le volume de la cellule est égal à 30,5 mL

3) La cellule de diamètre de la cellule originelle (32 mm) mais de hauteur réduite à 38 mm. Le volume de la cellule est donc le même que dans le cas 2 (30,5 mL). Afin de réaliser cette réduction de volume, la cellule originelle a été partiellement remplie à l'aide de billes de verre, sur lesquelles un support en inox perforé a été posé et au-dessus duquel la matière première a été chargée.

4) Une cartouche type « Soxhlet » (papier filtre, hauteur 52 mm, diamètre extérieur 32 mm, diamètre intérieure 28 mm, volume 32 mL) a été placée dans la cellule d'extraction sur le support inox perforé, et remplie avec la matière première puis bouchée avec un couvercle du même matériau que la cartouche elle-même.

Les quatre cellules ont été remplies de différentes quantités de matière selon les volumes, mais de telle manière que la masse volumique du lit dans chaque cas soit la même.

Toutes les expériences ont été menées dans les conditions limites de pression et de température de l'installation, soit 280 bar et 60 °C. Ces conditions ont été choisies pour maximiser le pouvoir solvant du CO₂ qui, dans le cas général, augmente avec la pression. Le débit de CO₂ est égal à 5 g/min, la durée d'extraction à 330 min et la taille moyenne des particules est de 0,94 mm. Toutes les expériences ont été réalisées en circuit ouvert. Les résultats, exprimés en *Rendement de l'extrait total supercritique* Y_{EX}^{SC} sont présentés sur la figure III.23.

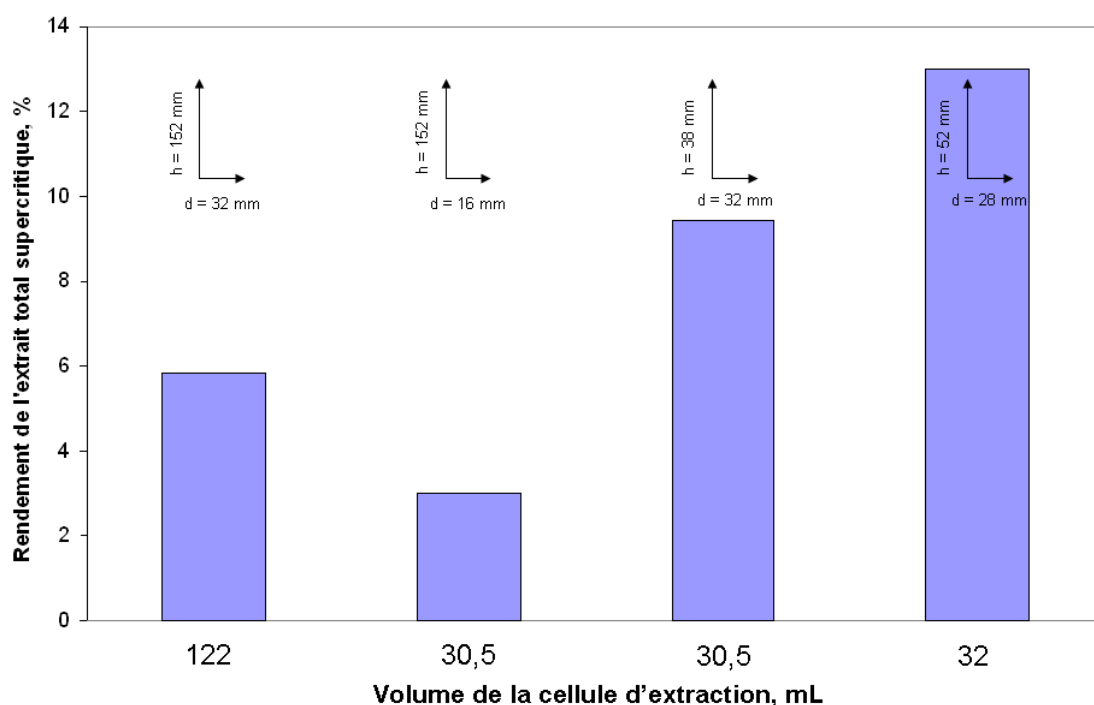


Figure III.23. Rendement de l'extrait total supercritique en fonction de la géométrie de la cellule. $P = 280 \text{ bar}$, $T = 60 \text{ g } ^\circ\text{C}$; Débit de $\text{CO}_2 = 5 \text{ g/min}$, durée d'extraction 330 min, Taille des particules 0,94 mm

Un premier résultat surprenant est la différence significative entre l'extraction du même volume (30.5 mL et 32 mL) pour des configurations géométriques différentes. Plusieurs explications peuvent être données à ces comportements. Pour mieux comprendre la situation, nous utiliserons un modèle mathématique de l'opération d'extraction et les conclusions seront présentées dans III.3.4.5.

III.3.4. Modélisation

De nombreux modèles mathématiques décrivant l'extraction avec des fluides supercritiques sont rapportés dans la littérature [60, 67, 79-81, 89]. En général, trois types d'approches sont appliquées (1) empirique ; (2) basée sur l'analogie transfert de matière-chaleur ; (3) intégration du bilan différentiel de transfert de masse dans un lit fixe [60].

La plupart des modèles considèrent des particules de géométrie sphérique [79, 67, 80, 81, 90]. Cependant, certains modèles tiennent compte de la géométrie réelle des particules végétales (feuilles et tiges) [81, 89]

Pour décrire nos expériences, nous avons appliqué 5 modèles différents : le modèle « t^n » [39], le « *Single Sphere Model* » [90], le « *Single Plate Model* » [81], le modèle de *Reverchon* [89] et le modèle de *del Valle* [80]. A cause de leurs approches et hypothèses spécifiques, ils reflètent de manière différente le contact solide-fluide, ainsi que le transfert de masse. Notre objectif a été de déterminer des modèles donnant des résultats proches de la réalité, la sélection étant basée sur la meilleure correspondance avec les données expérimentales.

Dans toutes les applications, nous avons considéré le soluté comme un pseudo-composant unique.

III.3.4.1. Modèle t^n [39]

C'est un modèle empirique simple présentant l'extraction contrôlée par la diffusion interne. Il est basé sur l'hypothèse que l'isotherme d'extraction a une forme semi-sigmoïdale.

III.3.4.1.1. Equation générale

Le modèle est décrit par l'équation suivante :

$$E(\%) = \left(1 - \exp\left(-\frac{k' t^n}{n'} \right) \right) \times 100 \quad \text{(III.5.)}$$

où E (%) représentant la masse extraite dès le début jusqu'au moment t par rapport à la masse totale extraite à la fin du processus, t (min) est le temps courant du processus, n' est une constante reliée à l'ordre de la courbe, k' (min⁻ⁿ) a la signification d'un coefficient de transfert qui englobe tous les phénomènes de transport ayant lieu lors du procédé. L'inconvénient de ce modèle est tout d'abord la supposition que le procédé d'extraction prend la forme d'une fonction mathématique arbitraire.

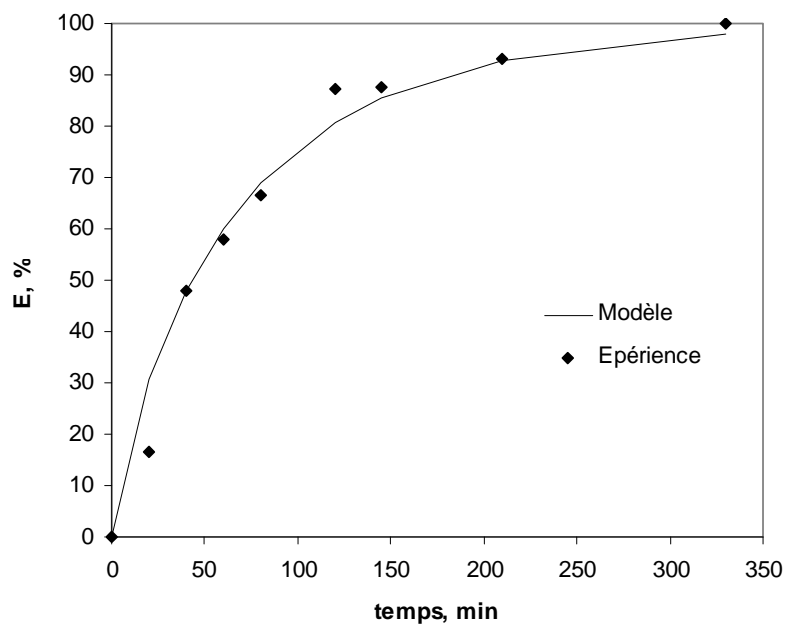
III.3.4.1.2. Résultats du modèle comparés avec l'expérience

Les valeurs de k et n donnant une erreur minimale entre la courbe mathématique et les résultats expérimentaux pour des divers régimes opératoires sont présentées dans le tableau III.1.

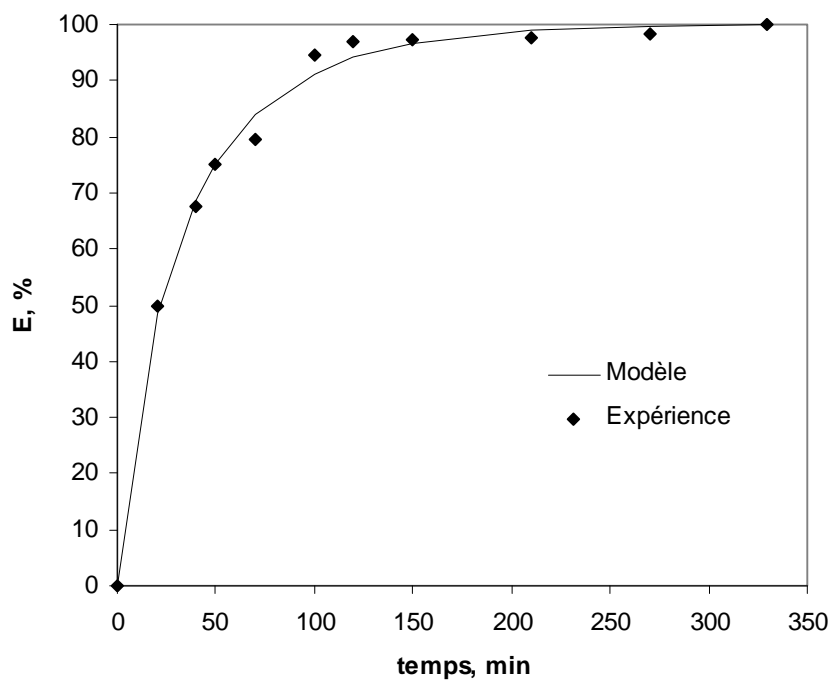
Tableau III.1. Valeurs des constantes k' et n' calculées pour le modèle

| P, bar | T, °C | Taille des particules, mm | k' , min ⁻ⁿ | n' |
|--------|-------|---------------------------|--------------------------|------|
| 200 | 40 | 0,94 | 0,021 | 0,94 |
| 250 | 40 | 0,94 | 0,025 | 0,84 |
| 280 | 40 | 0,94 | 0,029 | 0,84 |
| 200 | 60 | 0,94 | 0,044 | 0,86 |
| 250 | 60 | 0,94 | 0,047 | 0,81 |
| 280 | 60 | 0,94 | 0,036 | 0,84 |
| 250 | 60 | 1,33 | 0,049 | 0,74 |
| 280 | 60 | 1,33 | 0,018 | 1,13 |

La figure III.24. présente des exemples du bon accord entre nos résultats expérimentaux (points) et le modèle (courbes).



a)



b)

Figure III.24. Evolution de la masse extraite par rapport à la masse totale extraite E au cours du temps à $P = 250$ bar, taille des particules $0,94$ mm : a) $T = 40$ °C; b) $T = 60$ °C

Malgré le bon accord, il faut bien noter que, vu sa simplicité et le fait qu'il est basé sur le choix arbitraire d'une fonction mathématique, ce modèle donne peu d'information utile car les paramètres k et n obtenus ont très peu de signification physique. Cependant, il peut servir pour « lisser » les courbes des données expérimentales.

III.3.4.2. Single Sphere Model [90]

Ce modèle admet que le soluté est uniformément distribué dans une particule de forme sphérique et le transfert interne est limitant. La présentation mathématique est simplifiée en prenant en compte uniquement le bilan de matière dans la phase solide.

III.3.4.2.1. Hypothèses générales du modèle

- On ne tient compte que du transfert de matière interne ;
- Le soluté est extrait d'un lit composé des sphères inertes poreuses ;
- Initialement, le soluté est uniformément distribué dans les particules sphériques ;
- La concentration dans la phase fluide est négligeable par rapport à celle dans la phase solide. En conséquence, la masse extraite du lit est égale à celle extraite des particules.
- Toutes les particules à chaque moment donné sont à la même étape d'extraction;

La dernière hypothèse considère donc qu'il n'y a pas que les gradients de concentration suivant la hauteur du lit fixe, que ce soit dans le solide ou le fluide, sont négligeables.

III.3.4.2.2. Equation générale

La forme mathématique exprime le bilan de masse en termes de taux d'extraction

$$\frac{E(t)}{E_{inf}} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{n^2 \cdot \pi^2 \cdot D_e \cdot t}{r^2}\right) \quad (\text{III.6.})$$

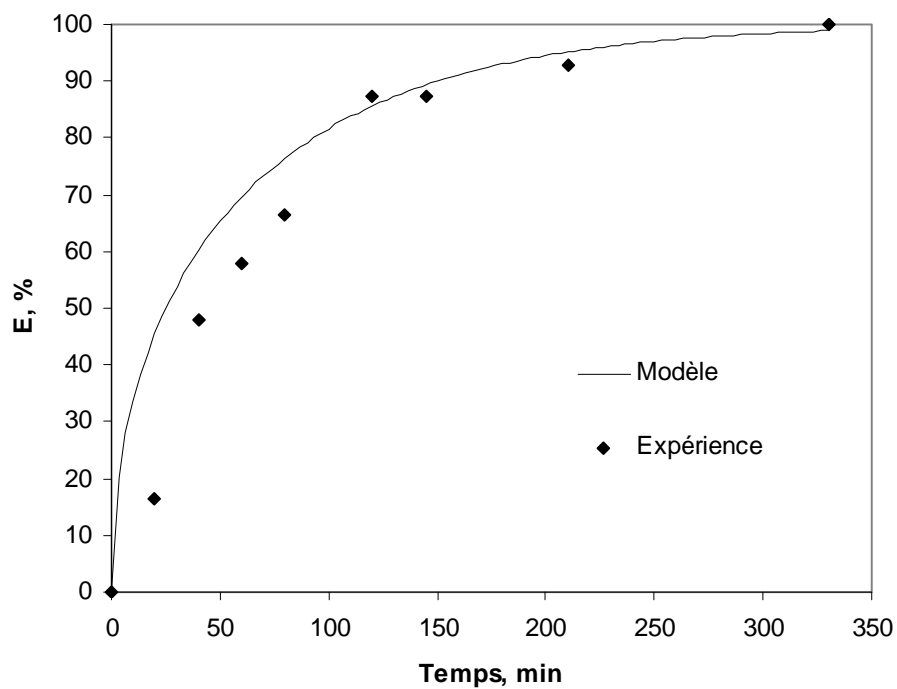
où $E(t)$ et E_{inf} (%) sont les taux d'extraction au temps t (min) et après le temps infinie, D_e (m^2/s) est la diffusivité effective dans la matrice végétale, r (m) est le rayon des particules, n est une variable mathématique muette

IV.3.4.2.3. Comparaison avec les résultats expérimentaux

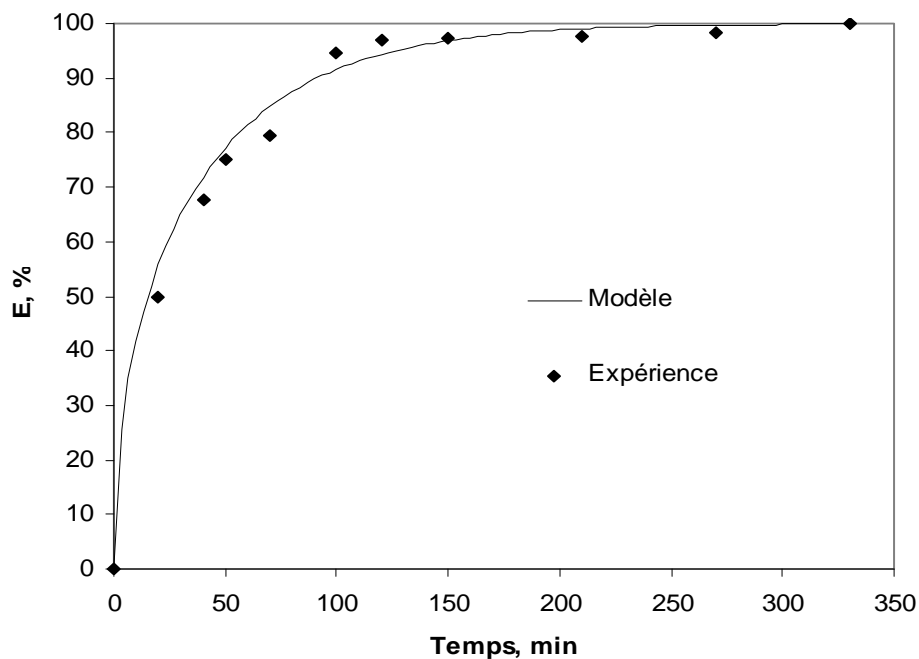
Ce modèle présente l'évolution du taux d'extraction au cours du temps. Certains de ses paramètres peuvent être préalablement quantifiés expérimentalement afin de diminuer le nombre des paramètres inconnus et faciliter la solution:

La valeur du taux d'extraction au temps infini E_{inf} a été déterminée par la partie asymptote de l'isotherme d'extraction évaluée à 330 min. Le rayon des particules a été évalué à partir de la taille moyenne des fractions obtenues par tamisage de la matière végétale moulue. Le seul paramètre à ajuster est alors la diffusivité effective du pseudo composé au travers du solide D_e .

Figure III.25. a) et b) présente les meilleurs solutions du modèle à deux températures différentes.



a) 40°C



b) 60 °C

Figure III.25. Evolution du taux d'extraction E au cours du temps à $P = 250$ bar, taille diamètre des particules $0,94$ mm. a) $T = 40$ °C b) $T = 60$ °C

On voit bien qu'à 40 °C la solution du modèle ne reproduit pas correctement les résultats expérimentaux de la période initiale. Ce désaccord peut être attribué au fait que le modèle ne peut pas tenir compte d'une phase préliminaire de limitation par la solubilité. Comme nous avons montré (III.3.1.), à basse température cette limitation est significative et sa non-prise en compte ne correspond pas à la réalité. Nous présentons dans le tableau III.2. les valeurs de la diffusivité effective D_e déterminées à partir de ce modèle. La valeur de D_e est d'un ordre de grandeur cohérent avec les phénomènes de diffusion dans les solides. On peut constater qu'elle est surtout dépendante de la température (peu de la pression et de la taille) ce qui est aussi cohérent avec le phénomène physique, mais cependant la dispersion des résultats rend ce modèle peu convainquant.

Tableau III.2. Valeurs de la diffusivité effective D_e déterminées par le modèle Single Sphere

| | d_p , mm | T, °C | P, bar | $D_e \times 10^{12}$, m ² /s |
|----|------------|-------|--------|--|
| 1 | 0.94 | 40 | 200 | 4,7 |
| 2 | 0.94 | 40 | 250 | 3,15 |
| 3 | 0.94 | 40 | 280 | 4,0 |
| 4 | 0.94 | 60 | 200 | 7,6 |
| 5 | 0.94 | 60 | 250 | 7,4 |
| 6 | 0.94 | 60 | 280 | 5.5 |
| 7 | 1.3 | 60 | 200 | 12 |
| 8 | 1.3 | 60 | 250 | 15 |
| 9 | 1.3 | 60 | 280 | 4,7 |
| 10 | 1.7 | 60 | 280 | 3,15 |

III.3.4.3. Single Plate Model [81].

Malgré l'accord entre les résultats du modèle précédent pour les expériences à plus haute température (fig. III.26.b), lorsque la limitation par la solubilité est faible, ce modèle ne concerne que les particules sphériques. Cela nous a mené à chercher d'autres modèles prenant mieux en compte la géométrie réelle des particules que nous utilisons

Ce modèle est similaire au dernier décrit ci-dessus, sauf qu'ici il s'agit de particules plates, ce qui correspond à la forme dominante de la matière végétale utilisée qui est constitué essentiellement de feuilles broyées.

III.3.4.3.1. Hypothèses générales du modèle

C'est toujours un modèle simplifié basé sur le bilan de matière dans la phase solide et exprimé en termes de taux d'extraction.

- On ne tient compte que du transfert de matière interne
- Initialement, le soluté est uniformément distribué dans les particules plates
- Toutes les particules à chaque moment du temps sont à la même étape d'extraction ;
- Le transfert interne est décrit par la diffusion par l'épaisseur de la particule
- La résistance du transfert de masse du film stagnant proche du solide est négligeable
- Le contenu de soluté dans la phase fluide est négligeable par rapport à ce dans la phase solide. En conséquence, la masse extraite du lit est égale à celle extraite de la particule.

III.3.4.3.2. Equation générale

$$\frac{E(t)}{E_{\text{inf}}} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{4}{(2n+1)^2} \exp\left(-\frac{(2n+1)^2 \cdot \pi^2 \cdot D_e \cdot t}{\delta^2}\right) \quad (\text{III.7.})$$

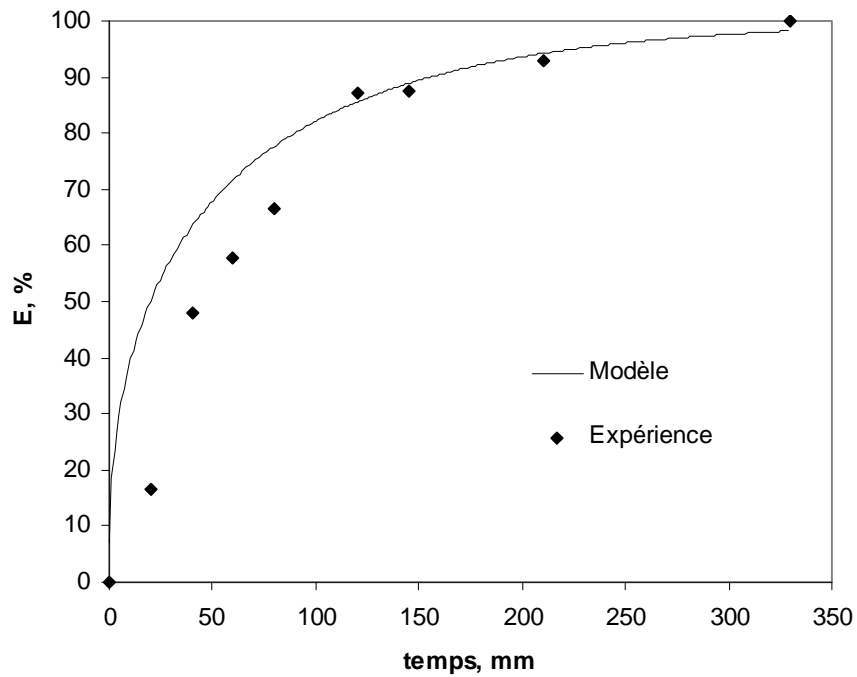
où $E(t)$ et E_{inf} (%) sont les taux d'extraction au temps t (min) et après le temps infini, D_e (m²/s) est la diffusivité effective dans la matrice végétale, δ (m) est l'épaisseur des particules plates,.

III.3.4.3.3. Comparaison avec les résultats expérimentaux

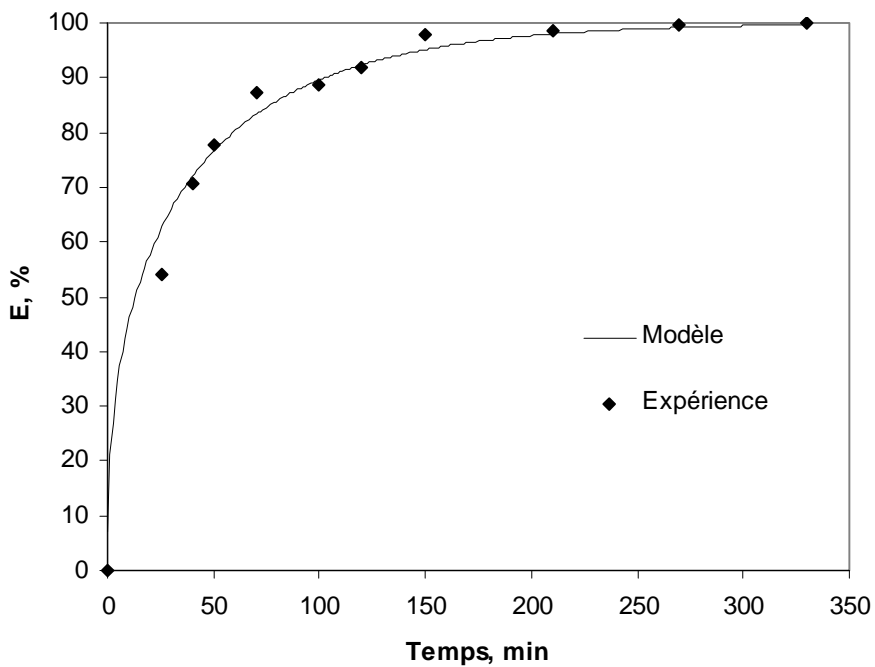
Comme le modèle précédent, l'équation (III.7.) exprime l'évolution du taux d'extraction au cours du temps. Les valeurs des paramètres suivants ont été déterminées à partir des résultats expérimentaux :

La valeur du taux d'extraction à temps infini E_{inf} a été déterminée par la partie asymptote de la courbe d'extraction isotherme, à 330 min. L'épaisseur moyenne des feuilles a été déterminée par la microscopie électronique à balayage MEB (ou SEM abréviation pour Scanning Electron Microscopy) et estimée à une valeur moyenne de 30 μm (voir II.1.). Il en reste un paramètre ajustable - la diffusivité effective D_e .

La figure. III.26. présente la comparaison des solutions du modèle (courbes) avec des résultats expérimentaux (points) pour l'extraction de la mélisse aux diverses températures.



a) 40 °C



b) 60 °C

Figure III.26. Evolution du Taux d'extraction E au cours du temps à P = 250 bar, taille des particules 0,94 mm. a) T = 40 °C ; b) 60 °C

Comme dans le cas précédent, le modèle décrit plus précisément le processus à 60 °C (fig.III.26. b). Cela peut être toujours attribué au fait que le modèle ne tient pas compte d'une probable limitation initiale par la solubilité. Elle est plus faible à 60 °C ce qui résulte en meilleur accord entre le modèle et les résultats expérimentaux. Cependant, comme il était montré expérimentalement (voir III.3), à 40 °C la limitation de solubilité est plus importante (fig. III. 26 a) et, par conséquent, le modèle décrit moins correctement la période initiale, devenant plus précis dans la phase où la résistance interne prédomine.

Les valeurs de la diffusivité effective D_e , identifiées par ce modèle, sont présentées dans le Tableau III.3.

Tableau III.3. Valeurs de la diffusivité effective D_e déterminées par le modèle Single Plate

| | d_p , mm | T, °C | P, bar | $D_e \times 10^{15}$, m ² /s |
|----|------------|-------|--------|--|
| 1 | 0.94 | 40 | 200 | 1.6 |
| 2 | 0.94 | 40 | 250 | 1.65 |
| 3 | 0.94 | 40 | 280 | 1.9 |
| 4 | 0.94 | 60 | 200 | 2.5 |
| 5 | 0.94 | 60 | 250 | 2.5 |
| 6 | 0.94 | 60 | 280 | 2.1 |
| 7 | 1.3 | 60 | 200 | 1.7 |
| 8 | 1.3 | 60 | 250 | 2.0 |
| 9 | 1.3 | 60 | 280 | 2.6 |
| 10 | 1.7 | 60 | 280 | 2.2 |

On constate que la valeur de la diffusivité effective est très inférieure (3 ordres de grandeurs) à celle obtenue avec le modèle sphérique. Cela est très probablement une conséquence mathématique directe de la diminution de la longueur caractéristique de transfert (de 500 μ m à 15 μ m) soit un facteur 30. Si l'on rappelle que ce type de modèle est dépendant de la longueur caractéristique au carré, nous pouvons y retrouver l'explication de la diminution de la valeur de la diffusivité effective. Comme la réalité physique de notre matériel végétal est probablement mieux décrite par ce modèle, ce type de modèle n'est capable de décrire que le cas particulier du transfert contrôlé par la diffusion interne. Nous avons vu que les périodes initiales des extractions sont visiblement limitées par la solubilité

du composé dans le fluide. Ce semble donc inapplicable à la description du processus de transfert sur l'ensemble de la courbe d'extraction. De plus il ne peut pas rendre compte de l'effet de la géométrie du lit fixe d'extraction.

III.3.4.4. Modèle d'extraction en lit fixe [89]

Ce modèle, basé sur l'intégration du bilan différentiel de masse au long du lit, tient compte à la géométrie des particules et du processus de percolation dans un lit fixe.

III.3.4.4.1. Hypothèses générales

- L'extrait est considéré comme une seule substance
- La masse volumique du solvant et son débit sont constants le long du lit
- La dispersion axiale est négligée
- Le procédé est contrôlé par la diffusion interne.

III.3.4.4.2. Equations générales

Le bilan de masse sur un élément dh de la hauteur d'extracteur est exprimé par:

$$uV \frac{\partial c}{\partial h} + \varepsilon V \frac{\partial c}{\partial t} + (1 - \varepsilon)V \frac{\partial \bar{c}}{\partial t} = 0 \quad (\text{III.8})$$

Le flux de transfert de matière à partir des particules solides peut être exprimé comme :

$$(1 - \varepsilon)V \frac{\partial \bar{c}}{\partial t} = -k_s a_p (\bar{c} - \bar{c}^*) \quad (\text{III.9})$$

Conditions initiales :

Au début, la phase fluide ne contient pas de soluté, c.à.d. tout le soluté se trouve dans la phase solide :

$$t = 0, c = 0 \text{ and } \bar{c} = \bar{c}_0 \quad (\text{III.10})$$

Conditions aux limites :

La concentration en soluté dans la phase fluide entrant dans l'extracteur est égale à zéro :

$$h = 0, c(h, t) = 0 \quad (\text{III.11})$$

Dans les équations (III.8 - III.11) u (m/s) est la vitesse superficielle du solvant, V (m³) est le volume de la cellule d'extracteur, c (kg/m³) et \bar{c} (kg/m³) sont les concentrations en soluté dans la phase fluide et solide, respectivement. \bar{c}_0 (kg/m³) est la concentration initiale dans la phase solide, \bar{c}^* (kg/m³) est la concentration en soluté à la surface solide-fluide (selon le modèle de la résistance interne limitante, elle est supposée en équilibre avec la phase fluide), h (m) est la coordonnée géométrique au long du lit, ε est la porosité du lit, t (s) est le temps, k_s (m/s) est le coefficient de transfert de masse interne, a (m²) est la surface totale des particules.

Pour l'équation (III.9), Reverchon [89] a proposé de définir un temps de diffusion interne t_i (s) caractérisant le procédé contrôlé par diffusion interne et dépendant de la géométrie des particules (surface a et volume V)

$$t_i = \frac{(1 - \varepsilon)V}{k_s a_p} \quad (\text{III.12})$$

L'équation (III.9.) devient alors :

$$\frac{\partial \bar{c}}{\partial t} = -\frac{1}{t_i} \left(\bar{c} - \bar{c}^* \right) \quad (\text{III.13})$$

Villiermaux (1987) a proposé une relation entre le temps de diffusion interne et la diffusion interne D_e :

$$t_i = \mu' \frac{l^2}{D_e} \quad (\text{III.14})$$

μ' est un coefficient géométrique (égale à 3/5 pour des particules sphériques, 1/2 pour des particules cylindriques et 1/3 pour des particules plates), $l = V_p/a_p$ est une dimension caractéristique linéaire.

En général, une relation d'équilibre linéaire est utilisée pour résoudre les équations (III.8) et (III.9) dans le cas de l'ESC.

$$c = K_p \bar{c}^* \quad (\text{III.15})$$

K_p est le coefficient de distribution volumétrique du soluté entre la phase solide et fluide en équilibre. Spiro and Kandiah (1990) [97] ont proposé une relation empirique pour déterminer ce coefficient dans le cas de la matière végétale et du CO₂ supercritique.

$$K_p = K_m \frac{\rho}{\rho_s} \quad (\text{III.16})$$

où ρ et ρ_s (kg/m³) représentent la masse volumique du fluide et du solide respectivement, K_m est un facteur de partition. Beaucoup d'auteurs proposent des valeurs de K_m dans l'intervalle 0,2 – 0,3 [89, 97]. Pour nos calculs, nous avons utilisé une valeur similaire à celle proposée par Spiro [97].

III.3.4.4.3. Comparaison avec les résultats expérimentaux

La solution de ce modèle présente l'évolution du taux d'extraction au cours du temps en sortie de l'extracteur. Les équations du modèle ont été résolues en utilisant un programme numérique basé sur la méthode d'intégration de Runge-Kutta Fehlberg [96]. Ce modèle a été résolu pour particules de trois formes: sphériques, plates et cylindriques, ainsi que pour un mélange de particules plates et cylindriques. Trois fractions de particules ont été utilisées : 0,94, 1,33 et 1,7 mm. Les conditions opératoires ont été toujours les mêmes : P = 280 bar, T = 60 °C et débit du CO₂ = 5 g/min.

Les paramètres préalablement déterminés expérimentalement sont l'épaisseur moyenne des feuilles (plates), le diamètre moyen des tiges (cylindres) (les deux par SEM, voir II.1.), la taille moyenne des particules (par tamisage, voir II.1.), la répartition quantitative des différentes formes des particules (déterminée par observation visuelle égale à 9/1, en nombre (plates/cylindres)). et la porosité du lit. Ce dernier a été calculé par la formule suivante :

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_{lit}}{\rho_s} \quad (\text{III.17})$$

où la masse volumique du lit (ρ_{lit} , kg/m³) a été calculée en divisant la masse de la matière première par le volume du lit. La masse volumique de la mélisse est $\rho_s = 799 \text{ kg/m}^3$ (voir II.1.).

Le seul paramètre à ajuster est alors la diffusivité interne D_e .

En postulant la forme sphérique des particules, nous avons identifié la valeur de $D_e = 6.10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$ avec les particules de 0,94 mm. La plus petite fraction de particules a été choisie pour deux raisons :

- la dimension caractéristique est plus similaire et moins dépendante de la forme lorsque la taille des particules est plus petite ;
- avec cette fraction nous avons obtenu le rendement d'extraction le plus élevé.

Cette valeur identifiée de D_e (selon le modèle elle ne doit pas dépendre pas de la taille des particules) a été utilisée pour obtenir des solutions du modèle pour les autres fractions (1,33 et 1,77 mm). Le résultat (présenté sur la figure III.27.) n'est pas satisfaisant, probablement à cause de l'utilisation d'une géométrie sphérique non-réelle et la limitation de solubilité négligée.

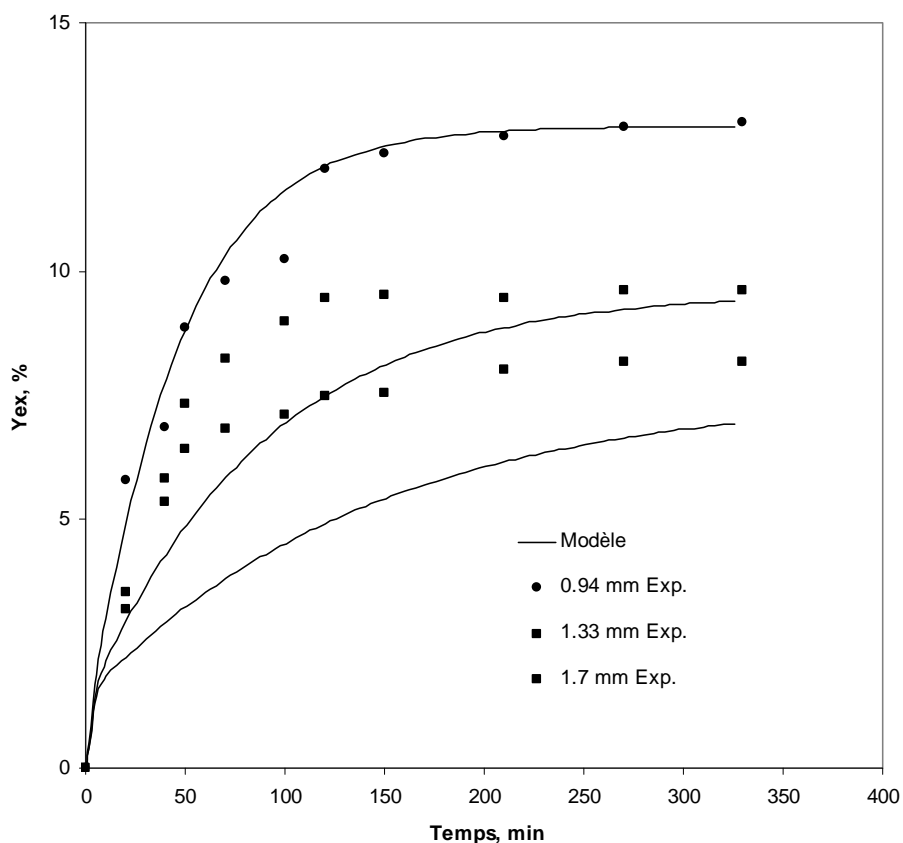
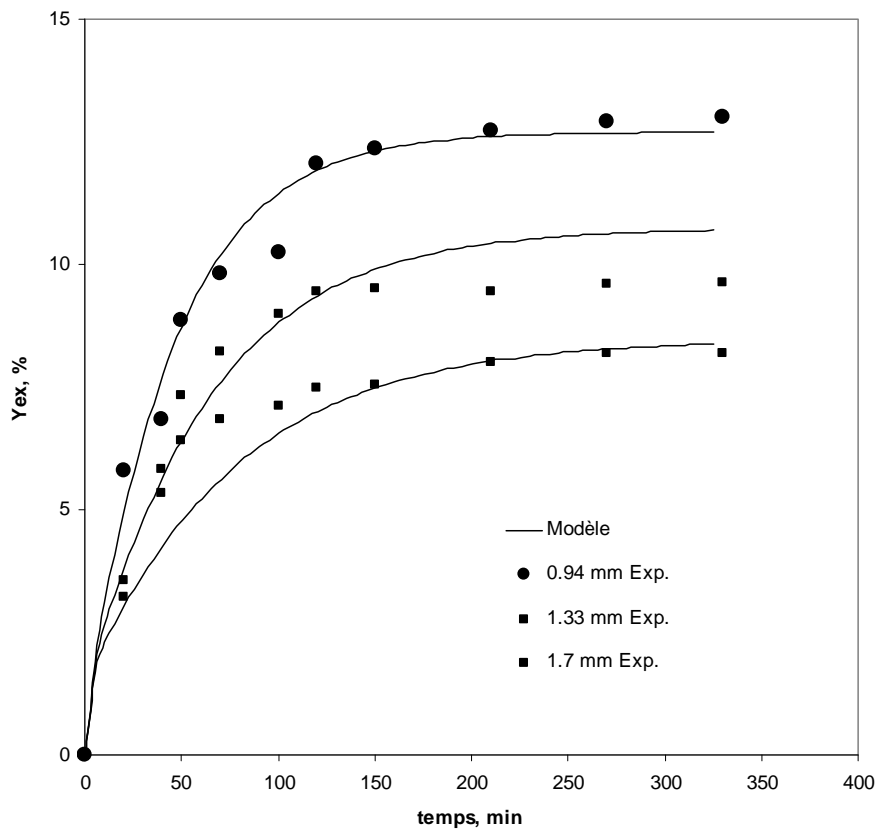


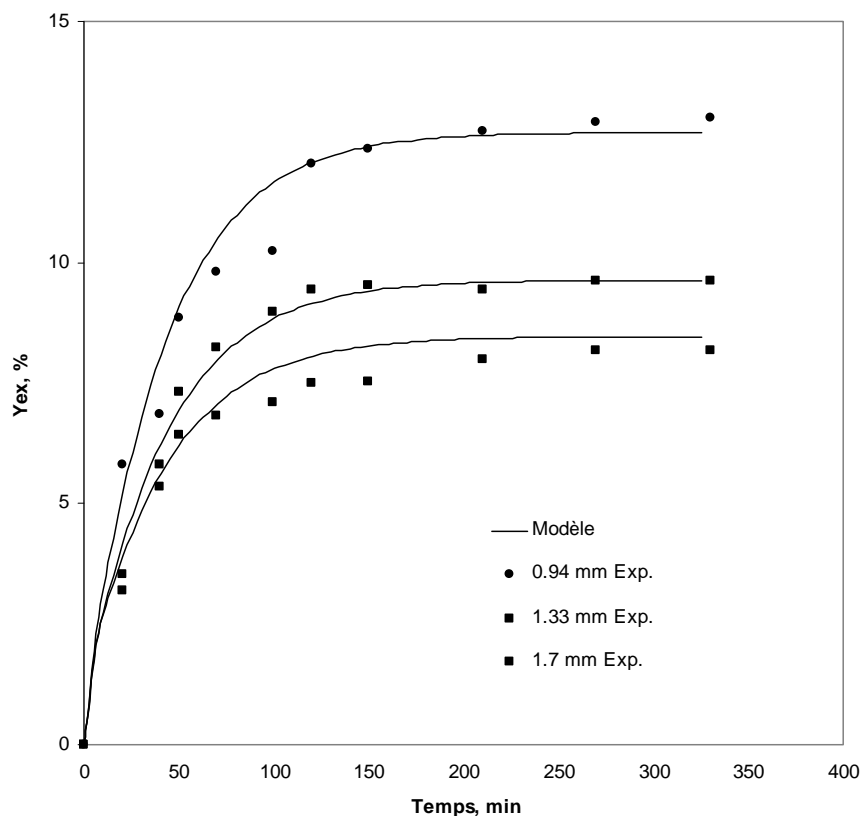
Figure III.27. Application du modèle de Reverchon pour la géométrie sphérique.

$P=280 \text{ bar}$, $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$, débit du CO₂ = 5 g/min

De même, ce modèle a été résolu pour des formes cylindriques et plates. Avec la fraction de 0,94 mm nous avons obtenu les valeurs de la diffusivité interne $D_e = 1.5.10^{-11}$ et 3.10^{-14} m²/s respectivement. La correspondance modèle – expérience est meilleure dans le cas de forme plate (fig. III.28.b) que pour des cylindres (fig. III.28. a). Cela peut être considéré comme un résultat logique parce que la plupart des particules dans le lot soumis à extraction ont la forme plate (feuilles). Dans la plupart des cas, la dernière période de résistance interne est bien décrite par le modèle.



(a)



(b)

Figure III.28. Solution du modèle de Reverchon pour $P=280$ bar, $T = 60$ °C, débit du CO₂ = 5 g/min. a) géométrie cylindre ; b) géométrie plate.

Afin d'être le plus proche de la situation réelle, nous avons déterminé par observation visuelle la répartition quantitative des différentes formes et nous l'avons trouvé égale à 9/1 en nombre (plates/cylindres). Ensuite le modèle a été résolu pour le mélange des particules dans cette proportion et une valeur de la diffusivité interne $D_e = 2.10^{-12}$ m²/s a été identifiée. Dans ce cas nous avons obtenu la meilleure correspondance entre le modèle et les points expérimentaux, justifié par les résultats de l'écart type (voir tableau III.4.). Cette valeur est sensiblement différente de celle obtenue par le modèle « single plate », alors que la forte proportion de particules plates (9/1, en nombre) pourrait laisser penser que les phénomènes sont assez similaires. Cependant, si l'on recalcule la proportion en masse des particules cylindriques, on obtient alors une priorité légère pour les particules cylindriques, 5,6/4,4 par rapport aux particules plates.

Tableau III.4. Ecart type entre les résultats théoriques et expérimentaux pour le rendement d'extrait.

| Forme des particules | Taille des particules, mm | Ecart type |
|----------------------|---------------------------|------------|
| Sphères | 1,33 | 1,57 |
| | 1,70 | 2,26 |
| Cylindres | 1,33 | 1,19 |
| | 1,70 | 0,80 |
| Plates | 1,33 | 0,43 |
| | 1,70 | 0,47 |
| Plates + Cylindres | 1,33 | 0,37 |
| | 1,70 | 0,34 |

On peut conclure que ce modèle représente relativement bien la dernière période d'extraction contrôlée par la diffusion interne. Certaines inconsistances sont manifestées pendant la période initiale d'extraction rapide, du fait de la non-prise en compte de la limitation de solubilité. Les résultats ont pu être améliorés en introduisant la géométrie réelle des particules.

III.3.4.5. Modèle de J. M. del Valle [80]

Ce modèle est basé sur le concept du modèle de Sovova [83], selon lequel on peut distinguer deux types de cellules végétales- cassées et intactes - au sein des particules. Les cellules cassées par le prétraitement mécanique sont localisées près de la surface des particules, tandis que le noyau des particules contient des cellules indemnes. En conséquence, on peut postuler l'existence de deux étapes: au début - une extraction relativement rapide à partir des cellules cassées, suivie par une extraction plus lente à partir des cellules indemnes, essentiellement contrôlée par le transfert de masse dans la phase solide. Le modèle, développé originalement pour des particules sphériques, tient compte de la résistance du transfert de masse interne, ainsi que de la résistance de solubilité et du transfert externe

III.3.4.5.1. Hypothèses générales du modèle

- La vitesse superficielle du fluide est constante
- Les propriétés physiques du fluide sont constantes
- Perte de charge et gradient de température dans le lit négligeables
- Force motrice linéaire pour le transfert de masse interne
- Les concentrations du soluté dans le fluide Y (g/kg) et dans la phase solide X (g/kg matière première) ne dépendent que de la position axiale au long du lit h et du temps d'extraction t .

III.3.4.5.2. Equations générales

Le bilan différentiel de matière dans la phase fluide et solide est présenté par les équations :

Le bilan phase fluide :

$$\rho\varepsilon\left(\frac{\partial Y}{\partial t} + \frac{u}{\varepsilon}\frac{\partial Y}{\partial h}\right) = J \quad (\text{III.18})$$

Le bilan phase solide :

$$\rho_s(1-\varepsilon)\frac{\partial X}{\partial t} = -J \quad (\text{III.19})$$

Les conditions initiales et aux limites sont :

$$t = 0, X = X_0 \text{ and } Y = Y^* \quad (\text{III.20})$$

$$h = 0, Y(h, t) = 0 \quad (\text{III.21.})$$

$$h=H, \partial Y / \partial h = 0 \quad (\text{III.22})$$

où : X_0 (g/kg matière première) est la concentration initiale dans la phase solide, H (m) est la hauteur totale du lit, J (g/(m³.s)) est la quantité du soluté transférée du solide au fluide par unité de volume du lit, Y^* (g/kg CO₂) est la solubilité du soluté dans le CO₂ supercritique.

Deux expressions pour le flux de transfert J sont proposées [49]

- pour la période du contrôle par le transfert externe où $X \geq X_f$ (X_f représente la quantité de soluté dans les cellules indemnes)

$$J = k_f A_s \rho (Y^* - Y) \quad (\text{III.23})$$

- pour la période contrôlée par la diffusion interne où $X \leq X_f$.

$$J = k_s A_s \rho_s X \left(1 - \frac{Y}{Y^*} \right) \quad (\text{III.24})$$

Ici k_f (m/s) et k_s (m/s) sont les coefficients de transfert de masse dans la phase fluide et solide, A_s (1/m) est la surface spécifique du lit de particules

Afin de refléter l'influence de la forme réelle non-sphérique des particules, nous avons remplacé le terme A_s (originellement défini pour une forme sphérique des particules) par des termes modifiés correspondant à la géométrie plate ou cylindrique. Nous les avons obtenus en prenant le rapport de la surface et du volume des particules :

- Pour les plates l'expression prend la forme :

$$A = \frac{4\delta + 2d_p}{d_p \delta} \quad (\text{III.25})$$

- Pour les cylindres elle devient :

$$A = \frac{4 \left(\frac{\delta}{2} + d_p \right)}{d_p \delta} \quad (\text{III.26.})$$

avec δ (m) - l'épaisseur moyenne des plates ou le diamètre moyen des cylindres, d_p (m) - la taille des particules mesurée par tamisage.

III.3.4.5.3. Comparaison avec les résultats expérimentaux

Les résultats sont présentés en termes de la masse extraite par unité de masse de matière première tracée en fonction du temps. . Les équations du modèle ont été résolues en utilisant un programme numérique basé sur la méthode d'intégration de Runge-Kutta Fehlberg [96]. Comme expliqué ci-dessus, le modèle a été résolu avec des expressions

modifiées de la surface spécifique (III.25, III.26) correspondant à la forme réelle des particules. Nous avons d'abord appliqué le modèle pour la géométrie plate, ensuite nous avons appliqué le modèle pour un mélange de particules plates et cylindriques dans sa proportion évaluée 9/1, en nombre.

Le coefficient de transfert de masse dans la phase fluide (k_f) a été calculé par la relation de Tan et al.[80] :

$$Sh = 0.38 Re^{0.83} Sc^{0.33} \quad (III.27)$$

$$Sh = \frac{k_f d_p}{D_{12}} \quad (III.28) \quad Re = \frac{\rho u d_p}{\mu} \quad (III.29) \quad Sc = \frac{\mu D_{12}}{\rho} \quad (III.30)$$

Dans ces équations, le coefficient de diffusion binaire D_{12} est égal à $3,09 \cdot 10^{-8}$ m²/s. Il a été déterminé par la relation proposée par Catchpole and King [91]

$$D_{12} = 5,152 D_c T_r (\rho_r^{-2/3} - 0,4510) R/X', \quad 1 < \rho_r < 2,5 \quad (III.31)$$

(D_{12} calculé pour le pseudo composant supposé proche du citral.)

Les valeurs de la diffusivité critique du solvant (D_c), et les coefficients T_r et ρ_r sont donnés dans cette même publication [91];

Le coefficient correctif R a été calculé par :

$$R = X'^{0,17} \quad 2 < X' < 10 \quad (III.32)$$

Le paramètre identifiant le rapport taille/masse X à été calculé égale à 6,16 par l'équation suivante [91] :

$$X' = (A + (V_{c2}/V_{c1})^{1/3})^2 / (1 + M_1/M_2) \quad (III.33)$$

Ou M_1 et M_2 (g/mol) sont les masses molaires du solvant et du soluté respectivement. La valeur critique du solvant a été prise du tableau dans [91] et le volume critique du soluté a été calculé par l'équation de Marrero et Gani (2001) [92] :

$$V_{c2} = \sum N_i V_{ci} + V_{c0} \quad (III.34)$$

où $\sum N_i V_{ci}$ est la somme des volumes critiques des groupes fonctionnelles du soluté et V_{c0} est paramètre ajustable additionnel dont la valeur égal à 7,95 cm³/mol a été publiée dans [92]

Dans ce modèle, il reste alors deux paramètres à ajuster : le coefficient de transfert pour la phase solide k_s et la quantité de soluté dans les cellules indemnes X_f . Pour chaque expérience, la concentration initiale dans la phase solide X_0 a été déterminée à partir de la quantité extraite après 330 min. Y^* a été déterminée par la partie initiale linéaire de la courbe cinétique qui correspond à l'hypothèse de contrôle de la solubilité.

Pour des particules plates, nous avons commencé nos calculs avec des valeurs de k_s obtenues à partir des valeurs respectives de la diffusivité interne D_e du modèle de Reverchon : dans les équations (III.12.) et (III.14), en éliminant t_i , les valeurs de k_s ont été calculées. Ces valeurs ont été ensuite soumises à optimisation avec les valeurs de X_f , en minimisant l'écart type. Un exemple des résultats de cette optimisation est présenté sur la figure III.29.

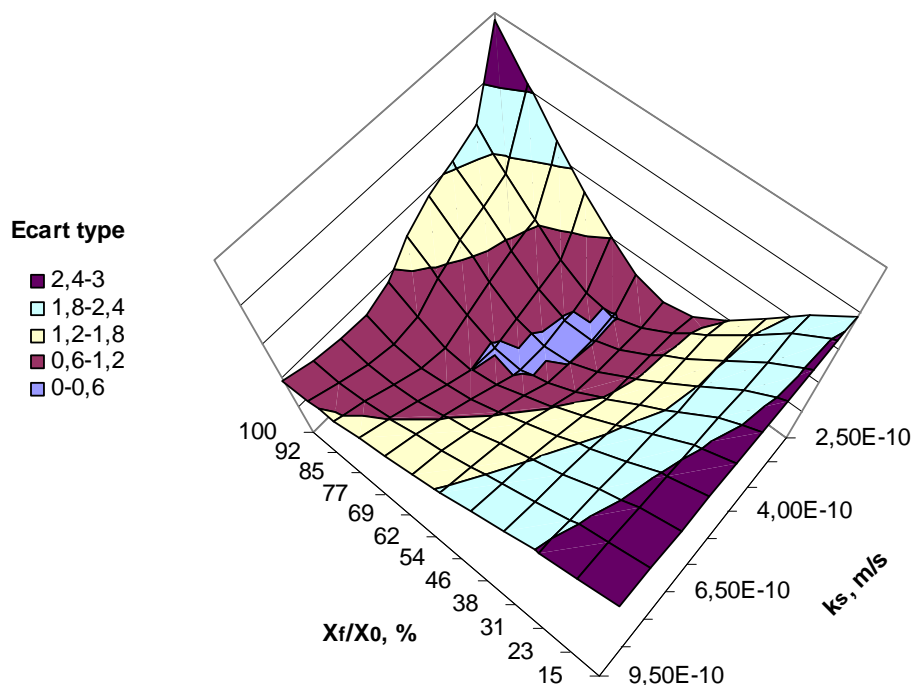


Figure III.29. Optimisation des valeurs de k_s et X_f pour des particules plates, $P = 280$, $T = 60$ °C, taille des particules = 0,94 mm.

Les solutions du modèle de *del Valle* appliquées pour des cinétiques d'extraction des particules plates de taille différente sont illustrées sur la figure III.30.

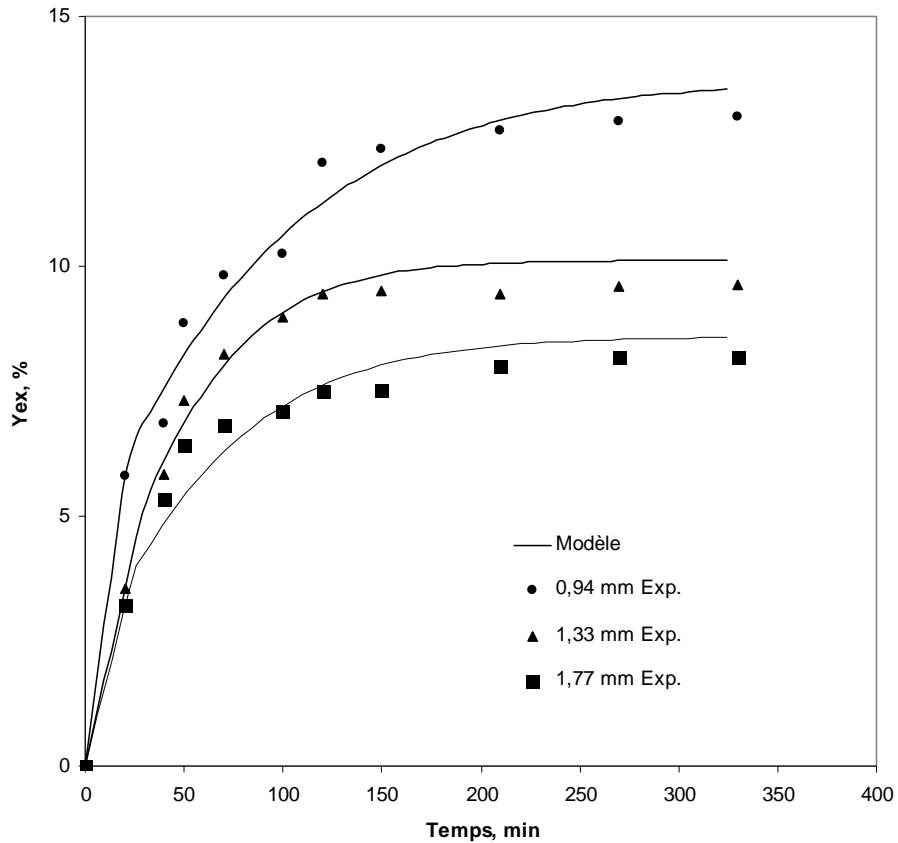


Figure III.30. Résultats des simulations (courbes) pour des particules plates comparées aux résultats expérimentaux (points), $P = 280 \text{ bar}$, $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$, débit du $\text{CO}_2 = 5 \text{ g/min}$

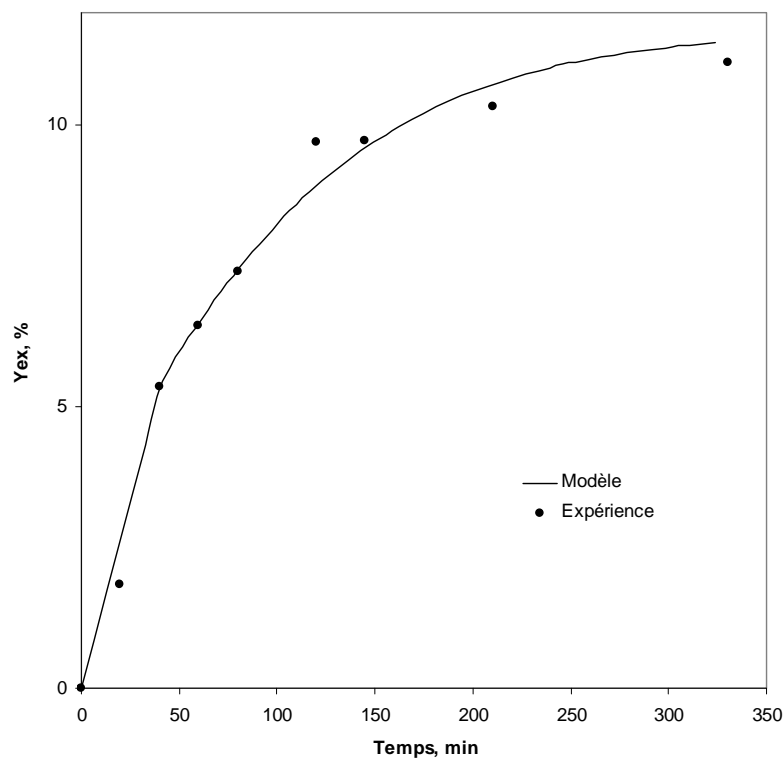
Les valeurs de k_s identifiées par les deux modèles et X_f identifiés par le modèle de *del Valle* sont rapportées dans le tableau III.5.

Tableau III.5. Valeurs de k_s et X_f calculées par des modèles différentes (particules plates)

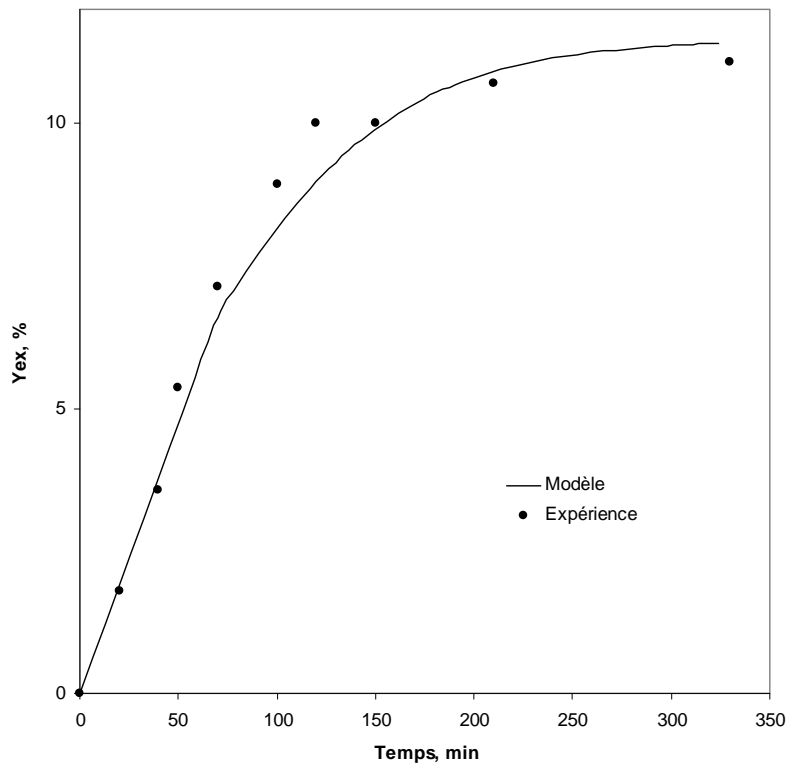
| d_p , mm | $k_s \cdot 10^{10}$, m/s (Reverchon) | $k_s \cdot 10^{10}$, m/s (del Valle) | X_f/X_0 , % (del Valle) |
|---------------|--|--|------------------------------|
| 0.94 | 7,01 | 4 | 69 |
| 1.33 | 6,89 | 6,5 | 71 |
| 1.7 | 6,83 | 8,5 | 73 |

La relativement faible différence entre les valeurs de k_s issues des deux modèles peut être attribuée au fait que le modèle de Reverchon ne tient compte que de la diffusion interne.

Selon del Valle [80], le coefficient k_s dépend uniquement de la structure de la matrice végétale, c'est-à-dire, du prétraitement de la matière première et de la taille des particules, mais k_s reste indépendant de la température et la pression. Il est possible donc d'utiliser les valeurs identifiées de k_s et X_f pour résoudre le modèle pour les autres conditions de la température et la pression. On voit sur la figure III.31. une bonne correspondance des simulations et des points expérimentaux, lorsque les conditions de pression et de la température ont changé. Cela peut être considéré comme preuve que le coefficient de transfert de masse interne k_s est effectivement indépendant de la pression et la température du procédé.



a)



b)

Figure. III.31. Modèle de del Valle comparé aux résultats expérimentaux.

Particules plates avec $d_p = 0.94$ mm, $T = 40$ °C, débit de CO₂ = 5 g/min,

a) $P = 200$ bar ; b) $P = 250$ bar

En ce qui concerne le modèle adapté pour correspondre à la proportion réelle des particules plates et des cylindriques (9/1, en nombre), nous avons répété la procédure déjà décrite. Pour les deux cas (plates et plates+cylindres) nous avons obtenu quasiment le même écart type. Les valeurs identifiées de k_s et X_f sont présentées dans le tableau III.6.

Tableau III.6. Valeurs de k_s et X_f calculées par des modèles différentes (plates+cylindres)

| d_p , mm | $k_s \cdot 10^{10}$, m/s | X_f/X_0 , % |
|---------------|---------------------------|---------------|
| 0.94 | 5 | 69 |
| 1.33 | 6,5 | 71 |
| 1.7 | 10 | 73 |

En comparant les résultats pour k_s et X_f entre les deux cas, on voit que X_f ne change pas, ce qui signifie que la quantité du soluté dans les cellules intactes reste la même. Au niveau de k_s , on ne voit qu'un changement léger entre les deux cas, ce qui peut être expliqué par la quantité relativement faible des particules cylindriques par rapport aux plates dans le cas du mélange plates+cylindres.

Contrairement aux autres modèles testés, dans ce cas nous avons obtenu des simulations proches à la réalité même pour des conditions opératoires caractérisées par une limitation par la solubilité (température 40 °C). Evidemment, cela est dû au fait que ce modèle tient compte de cette résistance prépondérante pendant la période initiale. Par conséquent, le modèle de *del Valle* présente plus précisément le procédé réel et on peut recommander son utilisation dans futures applications.

III.3.4.5.4. Application du modèle de *del Valle* pour diverses configurations géométriques

Afin de mieux analyser le comportement du système lorsqu'on change la géométrie et le volume de la cellule d'extraction (cf. III.3.3.), nous avons simulé l'extraction à l'aide du modèle de *del Valle*. Même si nous n'avons pas assez de points expérimentaux pour décrire les cinétiques d'extraction, les solutions du modèle nous seront utiles pour comparer les rendements à la fin du processus. Nous rappelons la Figure III.32 qui présente le rendement de l'extrait total pour les quatre proportions géométriques testées.

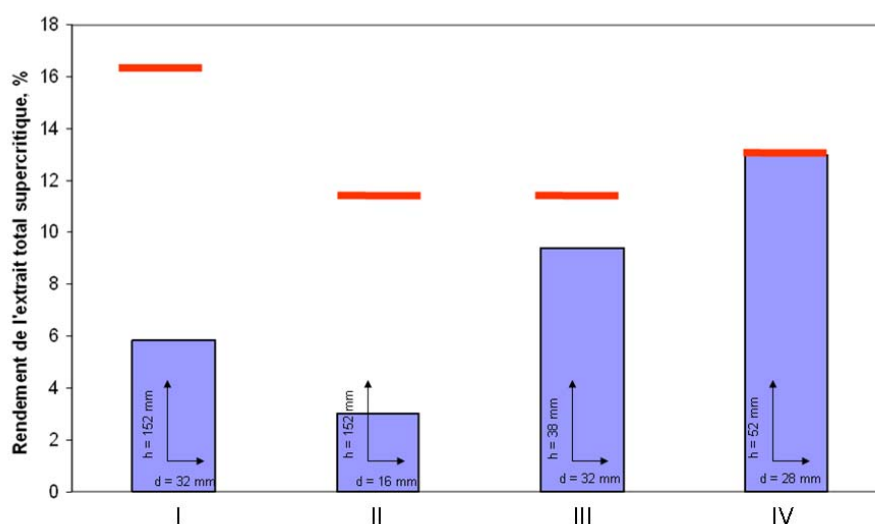


Figure III.32. Rendement de l'extrait total supercritique en fonction de la géométrie de la cellule. $P = 280$ bar, $T = 60$ g °C ; Débit de CO₂ = 5 g/min, durée d'extraction 330 min, taille des particules 0,94 mm ■ - résultats expérimentaux ; — - Valeurs obtenues par le modèle.

Sur cette figure, la configuration IV (volume de la cellule 32 mL) correspond à la géométrie qui nous a servi à ajuster les paramètres du modèle, ce qui est la raison évidente de la concordance modèle-expérimentation. Ce choix arbitraire nous a paru le plus adéquat car le rendement, comparé aux deux expériences à même volume, était le plus élevé). Les solutions du modèle sont marquées avec — sur la figure III.33. Donc, pour les autres configurations, nous avons gardé les valeurs de k_s et X_f obtenues pour la classe des particules de taille 0,94 mm (proportion feuilles/tiges 9/1, en nombre). Les configurations III,II et IV correspondent à un même volume de matière première sous différents diamètres de cellule, ce qui influe sur la vitesse superficielle du CO₂. Le modèle prévoit des rendements assez similaires même si la vitesse est quatre fois plus élevée dans le cas du diamètre le plus petit (configuration II). Cela signifie que, théoriquement, le transfert de matière externe ne limite pas le processus sous ces conditions opératoires, ce qui est tout à fait en accord avec les discussions des résultats de la partie III.3.1. Cependant le modèle donne des résultats surestimés par rapport aux valeurs expérimentales. On peut alors suspecter une hydrodynamique réelle bien différente (et défavorable) de celle considérée dans le modèle, qui est un écoulement piston parfait. Par exemple on peut penser à la formation de passages préférentiels (« channelling »), où le solvant quitte le lit en ayant eu très peu de contact avec le végétal), ou de zones « non percolées » (ou volumes « morts ») qui rendent une grande partie de la matière végétale inaccessible au solvant. Par exemple, le résultat expérimental du rendement dans le cas du diamètre 32 mm par rapport 16 mm pourrait être expliqué par une meilleure distribution du CO₂. Rappelons que dans ce cas, afin de réduire le volume de la cellule, nous avons mis des billes en verre au dessous de la matière première. Le meilleur rendement est obtenu avec la cartouche (configuration IV). Dans ce cas, il n'y avait pas des billes mais, probablement la cartouche elle-même distribue bien le solvant. Une autre explication possible est liée à la forme ovale du fond de la cartouche qui pourrait également améliorer la distribution du solvant.

Selon la simulation numérique, sous ces conditions, le rendement s'améliore lorsque le volume est plus important. Notons que ce n'est là encore pas le cas pour les résultats expérimentaux et on constate à quel point la distribution du solvant joue un rôle important. Il faut donc chercher des solutions technologiques pour améliorer ce paramètre (géométrie des diffuseurs d'entrée, homogénéité de l'empilement...) , surtout si on applique le processus à l'échelle industrielle où à priori des problèmes de passages préférentiels et zones « mortes » sont beaucoup plus probables.

III.4. Extraction de l'huile essentielle de la mélisse par ESC

Dans cette partie, nous présentons les résultats concernant l'utilisation du CO₂-SC dans l'objectif d'isoler l'huile essentielle de la mélisse. Parmi les nombreux constituants présents dans l'huile essentielle de mélisse, nous avons choisi comme composés cibles deux composants majeurs de cette huile, le citral (présent sous forme de deux stéréo-isomères le gèranial et le néral) et le caryophyllène [1, 15, 24, 34, 35 - 38] qui représentent plus de 90 % de l'huile essentielle de la mélisse obtenue par extraction supercritique, selon [38]. Les résultats de cette étude sont présentés sur le tableau III.7.

Tableau III.7. Composition de l'huile essentielle de mélisse obtenue par ESC sous diverses conditions de pression et de température [38]

| T, °C | P, MPa | Citro-nellal | Néral | Geranial | Acetate de Néral | Caryophyllène | Oxyde de Caryophyllène |
|-------|--------|--------------|--------------|--------------|------------------|---------------|------------------------|
| 40 | 13,79 | 3,43 ± 1,25 | 22,57 ± 1,34 | 63,23 ± 1,78 | 0,20 ± 0,17 | 7,63 ± 1,31 | 1,43 ± 0,35 |
| 40 | 27,58 | 3,53 ± 1,17 | 22,17 ± 0,40 | 62,23 ± 2,97 | 1,40 ± 1,11 | 7,27 ± 0,70 | 0,90 ± 0,70 |
| 40 | 41,37 | 3,10 ± 0,61 | 23,03 ± 1,02 | 61,40 ± 1,00 | 1,57 ± 0,55 | 7,37 ± 0,53 | 1,77 ± 0,15 |
| 60 | 13,79 | 3,30 ± 0,75 | 22,20 ± 1,15 | 60,30 ± 2,08 | 0,00 ± 0,00 | 8,47 ± 1,29 | 2,63 ± 1,55 |
| 60 | 27,58 | 3,50 ± 0,75 | 21,77 ± 1,75 | 61,97 ± 1,66 | 0,12 ± 0,13 | 7,37 ± 0,64 | 1,60 ± 0,26 |
| 60 | 41,37 | 2,87 ± 0,67 | 23,30 ± 0,35 | 62,17 ± 0,60 | 1,57 ± 1,24 | 6,63 ± 0,42 | 1,50 ± 0,10 |

Le problème général de l'extraction supercritique d'huile essentielle est la co-extraction des cires (composés protecteurs hydrophobes présents sur la surface des plantes) [1, 54, 60, 89]. Afin d'atteindre notre objectif, nous avons effectué trois actions :

- 1) Extraction des deux composés présents sous forme pure mais mélangés avec de la matière inerte (des billes en verre). L'objectif de cette étude est d'évaluer la capacité de l'installation à récupérer ces composés cibles;
- 2) Extraction des composés cibles à partir de la matière végétale – la mélisse
- 3) Séparation de l'huile essentielle et des cires co-extraites par ajustement des conditions opératoires dans l'extracteur et dans les séparateurs.

Tous les échantillons ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse afin de déterminer la quantité extraite des composés cibles. L'exemple d'un chromatogramme est présenté sur la figure III.3.3.

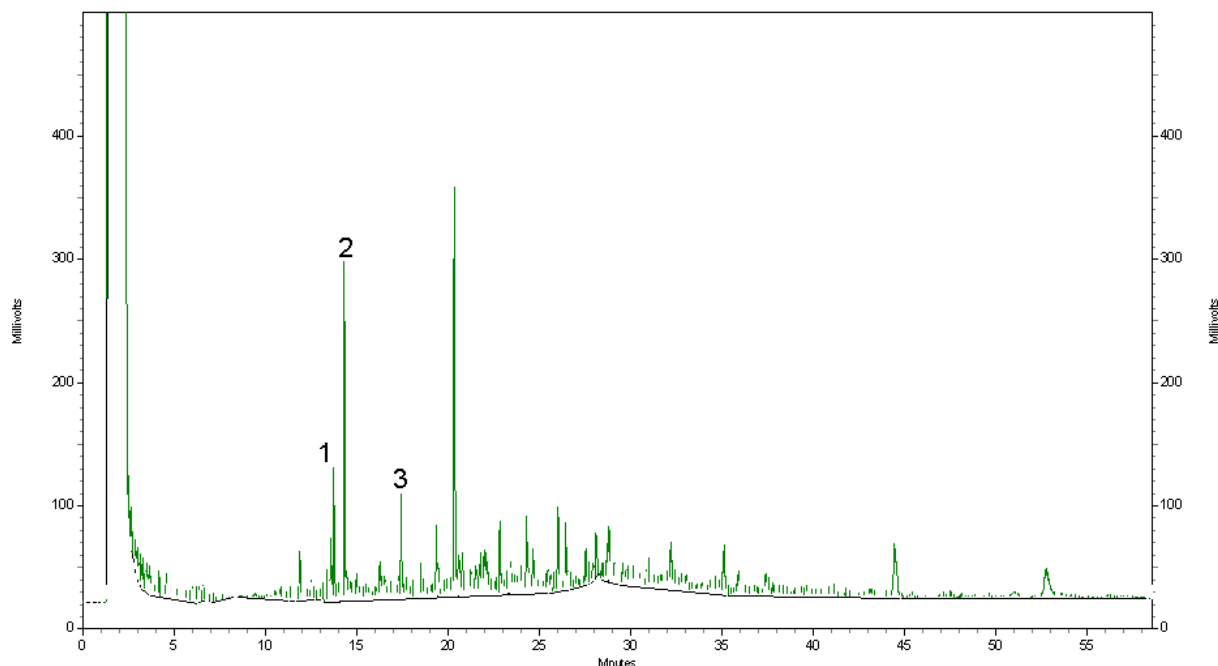


Figure III.33 Exemple d'identification des composés cibles dans l'extrait supercritique par chromatographie en phase gazeuse. 1 – neral ; 2 – geranial ; 3 – caryophyllène

III.4.1 Estimation de la capacité de l'installation à récupérer le citral et le caryophyllène

Afin de vérifier la capacité de l'installation à extraire les composés cibles, nous avons effectué une extraction de ces deux composés purs distribués dans une matière inerte. Les expériences ont été menées de manière suivante : la cellule originelle a été remplie avec des billes en verre et 0,02 g de chacun des deux composés purs y a été ajoutée. La cellule a ensuite été fermée et secouée pour bien homogénéiser les produits dans l'enceinte. L'extraction a été effectuée dans les conditions opératoires suivantes :

- extracteur : P = 90 bar et T = 50 °C (CO₂-SC) ;
- séparateurs : S1 - P = 50 bar, T = 50 °C (CO₂ gaz) ; S2 – P = 30 bar, T = 50 °C (CO₂ gaz) ; S3 – P = 15 bar ; T = 20 °C (CO₂ gaz)
- débit du CO₂ = 30 g/min.

Ces conditions ont été choisies d'après les résultats précédents, qui ont montré qu'elles permettent d'extraire l'huile essentielle sans toutefois extraire l'acide rosmarinique ou d'autres composés lourds.

Au bout de 15 min le processus a été arrêté et la cellule a été pesée. En calculant la perte de masse, nous avons estimé que l'extraction n'était pas encore terminée (97 % de la masse initiale avait été extraite). L'extrait des séparateurs a été récupéré en y introduisant de l'éthanol (car étant très dense il collait sur les parois de l'installation) et ensuite analysé par CPG. Après 30 min, toujours en se basant sur la quantité de matière perdue, nous avons observé que 100 % des composés ajoutés avaient été extraits. Nous avons de nouveau récupéré et analysé l'extrait. La figure III.34. présente les résultats d'analyse de l'extrait à ces deux moments. .

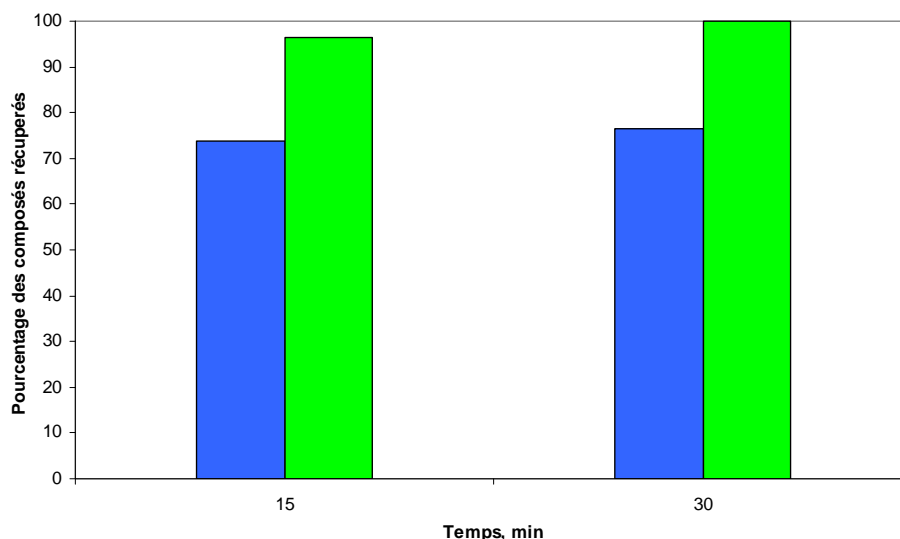


Figure III.34. Evolution de l'extraction des composés purs mélangés dans la matière inerte (billes en verre) au cours du temps, min. ■ – citral (geranial + neral) ; ■ – caryophyllène

On observe qu'après la fin de l'extraction (100 % de la quantité de matière initiale a disparu), le caryophyllène est récupéré à 100 % dans les séparateurs S1-S3, tandis que seulement 76% du citral extrait est récupéré dans les séparateurs S1-S3. Il y a donc une perte de citral, probablement due à sa volatilité plus élevée (point d'ébullition du citral 229°C contre 261 °C pour le caryophyllène).

La solubilité du citral dans le CO₂ à 90 bar et 50 °C est égale à 96.10^{-5} g/g, [95]. Cela signifie qu'avec ce débit, après 41 secondes d'extraction, théoriquement, en cas de limitation par la solubilité uniquement. D'après ces résultats, il semble que l'installation soit utilisable pour l'extraction du citral et du caryophyllène avec du CO₂.

III.4.2. Extraction de la mélisse

Pour l'extraction des huiles essentielles contenues dans la mélisse nous avons utilisé le même protocole et les mêmes conditions opératoires que précédemment. Afin de suivre le processus au cours de temps, trois expériences de durée 15, 30 et 45 min (correspondant respectivement aux quantités de CO₂ 14, 32 et 55 kg/kg mat. première) ont été réalisées. Les extraits des trois séparateurs ont été collectés dans les séparateurs puis mélangés pour être analysés. La Figure III.35. présente le *Rendement de l'extrait supercritique total* Y_{EX}^{SC} à ces différents instants.

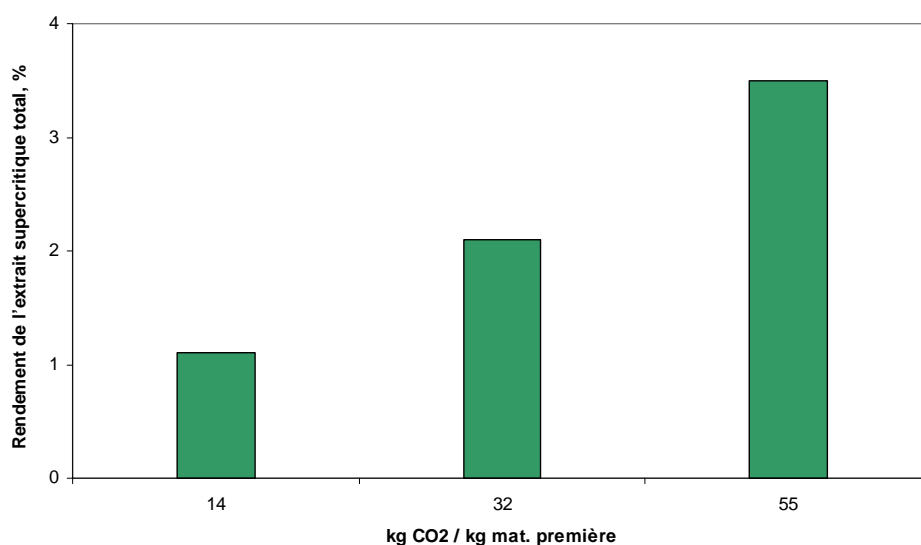


Figure III.35. Evolution du Rendement de l'extrait supercritique total en fonction de la quantité de CO₂ par kg de matière première (kg CO₂/kg matière première)

Les résultats montrent logiquement qu'avec l'avancement du processus le *Rendement de l'extrait supercritique total* augmente, en raison de la plus grande quantité de CO₂ en contact avec la matière première. Puisque nous cherchons à extraire nos composés cibles en état plus concentré, le paramètre plus intéressant pour nous est leur *Concentration dans l'extrait supercritique* C_i . Les résultats sont présentés sur la figure III.36.

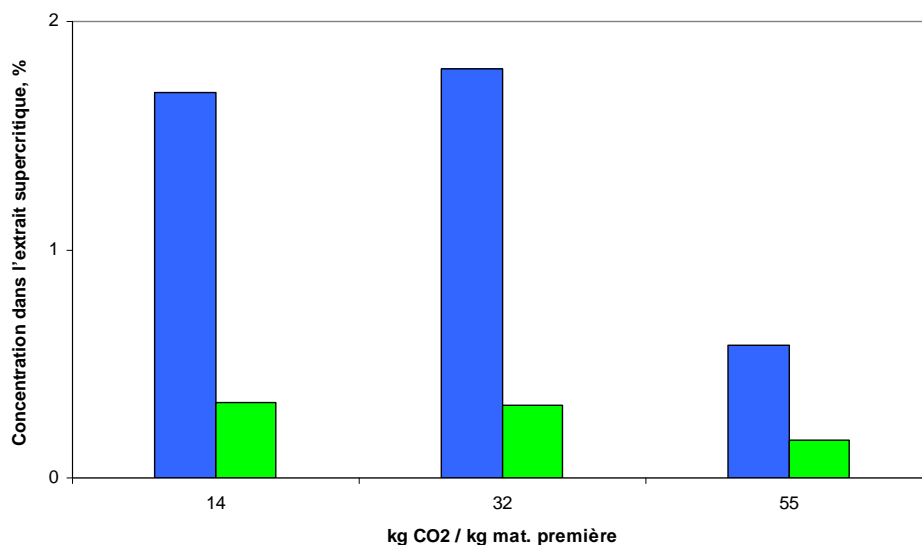


Figure III.36. Evolution de la concentration dans l'extrait supercritique en fonction de la quantité de CO₂ par kg de matière première (kg CO₂/kg matière première)

■ – citral (geranial + neral) ; ■ – caryophyllène

La concentration des deux composés cibles dans l'extrait supercritique est presque identique pour les expériences effectuées avec 14 et 32 kg CO₂/kg mat. première. Lorsque 55 kg CO₂/kg mat. première ont été utilisés, les concentrations en composés cibles diminuent brusquement - ~ trois fois pour le citral et ~ deux fois pour le caryophyllène. Ce comportement peut être expliqué par l'extraction parallèle des cires se trouvant à la surface des particules, qui est contrôlée par leur solubilité et l'augmentation de la quantité du CO₂ augmente donc leur quantité dans l'extrait. D'autre part, l'extraction de l'huile essentielle (présente à l'intérieur des particules) est contrôlée préalablement par la diffusion dans la matrice végétale, cette dernière étant indépendante de la quantité de CO₂ utilisé [54, 60, 89]. La diminution de la concentration plus importante pour le citral par rapport au caryophyllène peut être expliquée par sa volatilité plus élevée

La proportion des isomères du citral (neral : geranial) dans les trois extraits varie de 34:66 à 43:57 %.

En première observation, on peut conclure qu'il semble préférable d'arrêter l'extraction au bout de 30 min pour un débit de CO₂ égal à 30 g/min. (ce qui correspond à 32 kg CO₂/kg matière première) si l'on souhaite obtenir un extrait plus concentré en citral et

caryophyllène. En réalité, la quantité cumulative d'huile essentielle augmente au cours du temps, mais l'extraction des cires devient plus importante, ce qui diminue la concentration de l'huile dans l'extrait. Pour cette raison, si l'objectif est d'extraire plus d'huile essentielle, il est préférable de mener le processus assez longtemps et de séparer ensuite l'huile et les cires.

L'objectif principal et initial de ce travail de doctorat était surtout l'extraction de l'acide rosmarinique. Pour cette raison l'étude de l'extraction des huiles essentielles de Mélisse n'est pas aussi approfondie. En particulier, nous n'avons pas évalué la quantité totale d'huile essentielle contenue dans la mélisse (ce qui reste comme perspective d'un futur travail). Pourtant, selon l'information rapporté dans la littérature, ce contenu varie entre 0,02 à 0,32% du poids sec de la mélisse [1, 13, 24] dont le citral représente ~85 % et le caryophyllène ~7,4 % d'après [38]. Selon cette information et en tenant compte de la solubilité du citral d'après [95], dans le cas limite après 2 minutes et 46 secondes, il n'y aurait plus de limitation de solubilité pour l'extraction du citral. La quantité de citral extraite dans les trois cas est respectivement 0,018 ; 0,02 et 0,037 % de la masse de matière première, tandis que celle de caryophyllène est 0,0036 ; 0,0057 et 0,006 % Il est évident qu'on se trouve entre les deux concentrations limites rapportées dans la littérature et il faut une étude supplémentaire pour déterminer la quantité totale d'huile essentielle dans les échantillons de mélisse soumis à l'extraction supercritique. Ces expériences supplémentaires nous permettraient ainsi d'établir le temps nécessaire pour extraire la quantité totale de ces deux composés présents dans la matière première.

Il est également envisageable de réaliser un fractionnement de l'extrait grâce aux séparateurs présents en sortie de l'extracteur, et ainsi séparer une partie des cires afin d'augmenter la concentration en huile dans l'extrait. Selon les informations de la littérature [54, 60, 89], à une température comprise entre -12 et 6 °C et une pression de l'ordre de 90 bar (le CO₂ est liquide sous ces conditions), on peut réaliser une précipitation des cires puisque elles deviennent alors pratiquement insolubles dans le CO₂. En conséquence, nous avons ajusté les conditions opératoires des séparateurs de manière à se trouver dans les conditions de précipitation des cires :

- Extracteur P = 100 bar et T = 50 °C (CO₂-SC);
- Séparateurs : S1 - P = 90 bar, T= 2,6 °C (CO₂ liquide) ; S2 – P = 40 bar, T = 28 °C (CO₂ gaz), S3 – P = 20 bar ; T = 35 °C (CO₂ gaz);

- Durée d'extraction 10 min ; débit du CO₂ = 15 g/min. Ce débit réduit a été choisi en raison de limitations techniques car il n'était pas possible de maintenir le régime de basse température dans le séparateur S1 à débit de CO₂ plus élevé car les capacités de transfert thermique du séparateur (double enveloppe) sont limitées..

Dans ces conditions, le *Rendement de l'extrait supercritique total* Y_{EX}^{SC} a été égal à environ 1 % dont 0,38 % dans le séparateur S1 et 0,62 % dans séparateurs S2 + S3. La deuxième fraction contenait aussi des cires (la séparation des cires n'a donc pas été parfaitement réalisée), mais la fraction de S1 était incolore tandis que la fraction de S2+S3 était jaunâtre (ce qui est une indication de la présence d'huile essentielle). L'analyse chromatographique de l'extrait de S1 n'a pas fait apparaître de citral ni de caryophyllène. La *Concentration dans l'extrait supercritique* C_i basée sur la quantité collectée dans S2 + S3 est présentée sur la figure.37.

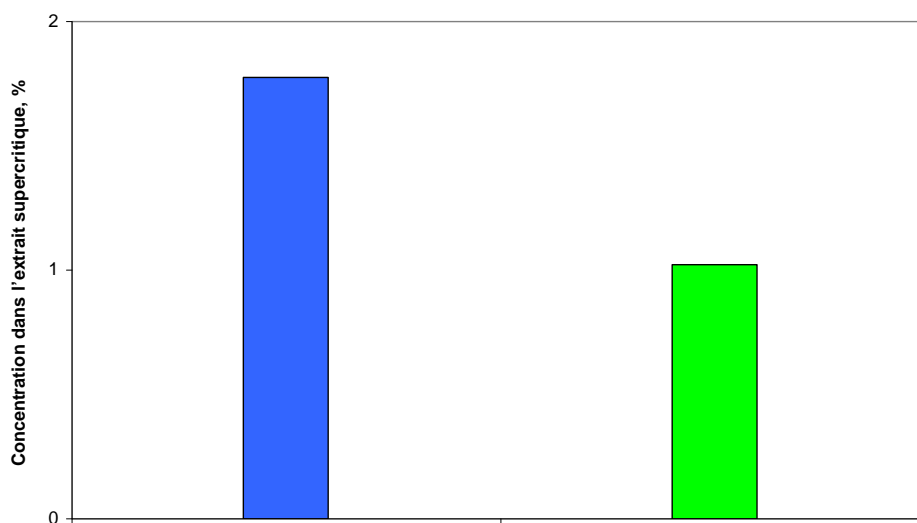


Figure III.37. Concentration du citral (■) et du caryophyllène (■) dans l'extrait obtenu dans S2 et S3. Quantité de CO₂ utilisée 6,2 kg/kg mat .première. Dans l'extracteur $P = 100$ bar et $T = 50$ °C (CO₂-SC); Dans les séparateurs : S1 - $P = 90$ bar, $T = 2,6$ °C (CO₂ liquide) ; S2 – $P = 40$ bar, $T = 28$ °C (CO₂ gaz) ; S3 – $P = 20$ bar ; $T = 35$ °C (CO₂ gaz); Durée d'extraction 10 min ; débit du CO₂ = 15 g/min

Ces résultats, comparés avec la fig. III.37. montrent qu'il est possible d'obtenir un produit de même concentration en citral et ~3 fois plus concentré en caryophyllène. Cela peut provenir de deux phénomènes : 1) La quantité de CO₂ est ici deux fois plus faible, ce qui a

limité l'extraction des cires et 2) On a séparé une partie des cires dans le séparateur S1. Même si la concentration de ces deux composés reste relativement faible, le fait d'avoir précipité dans le séparateur S1 une partie des cires sans huile essentielle est très encourageant. Cela représente une bonne approche pour la séparation des cires, ouvrant des perspectives pour une future étude consistant à préciser l'influence des conditions de pression et de température dans l'extracteur et le séparateur S1, le débit et la durée d'extraction etc.

L'isolement de l'huile essentielle représente un avantage supplémentaire en faveur du couplage des étapes d'extraction supercritique et extraction conventionnelle. Pendant le prétraitement supercritique, en travaillant avec des conditions opératoires appropriées, il est non seulement possible d'éliminer des composés non-désirés de la matrice végétale, mais aussi d'extraire des composés de haute valeur ajoutée tels que le citral et le caryophyllène. Dans l'étape suivante, la plante est soumise aux étapes couplées d'extraction afin d'extraire le composé cible, l'acide rosmarinique.

III.5. Conclusions

Nous avons appliqué l'ESC surtout pour le prétraitement de la matière végétale avant l'extraction conventionnelle de l'acide rosmarinique (peu soluble dans le CO₂ supercritique) à partir de la mélisse. Par traitement avec du CO₂ pur nous avons « nettoyé » la matrice solide des composés non-désirés, ce qui a facilité l'extraction du composé cible pendant l'étape suivante.

Le traitement en présence de co-solvants dans le CO₂ a été également effectué. En général, les co-solvants augmentent la capacité solvante du CO₂ et de cette façon on extrait plus de matière non-désirée mais aussi plus d'acide rosmarinique. Pourtant, sous certaines conditions, leur utilisation peut améliorer le prétraitement de la matière végétale.

Les conditions de l'ESC permettant d'extraire des composés de haute valeur ajoutée se trouvant dans l'huile essentielle de la mélisse ont été aussi étudiées. Une première approche vers la séparation d'huile essentielle et des cires se contenant dans l'extrait supercritique a été effectuée. Cela nous a ouvert des perspectives consistant de préciser les conditions, les études des conditions dans l'extracteur et les séparateurs.

Les études expérimentales de l'influence des paramètres opératoires principaux (température, pression, granulométrie, débit du CO₂, la présence du co-solvant) sur la

cinétique du processus d'extraction supercritique nous ont permis de définir les conditions opératoires favorisant une meilleure extraction.

Les processus étudiés expérimentalement ont été ensuite modélisés mathématiquement. Parmi les 5 modèles testés, les simulations avec le modèle de *del Valle* sont les plus proches à la réalité, produisant des résultats fidèles dans toute la gamme des conditions opératoires. Cela est dû au fait que, contrairement aux autres modèles, celui-ci tient compte des deux types de résistance au transfert de masse existants – externe et interne. D'après nous, le modèle de *del Valle* représente avec une précision suffisante les processus réels et on peut recommander son utilisation, d'autant plus qu'après les modifications appliquées, ce modèle tient aussi compte de l'existence de particules de géométries différentes (plates et cylindres).

Chapitre IV

Extractions à pression atmosphérique et nanofiltration

IV. Extractions à pression atmosphérique et nanofiltration

IV.1. Introduction

Dans le chapitre précédent nous avons présenté l'extraction avec CO₂ supercritique. Nous avons utilisé cette technique surtout dans un but de prétraitement de la matière végétale avant l'extraction solide-liquide conventionnelle.

Dans le chapitre présent, des techniques d'extraction et de séparation à pression atmosphérique ont été étudiées en vue de leur application à l'extraction de la mélisse et de la concentration des extraits. Elles vont être d'abord étudiées séparément pour estimer la plage de leurs paramètres opératoires optimisés.

Des modèles mathématiques décrivant les procédés sont appliqués. Ils donnent accès aux paramètres nécessaires à la caractérisation des processus et à la prévision des résultats lors des futures applications.

Ensuite, des couplages avec l'extraction supercritique et parmi elles-mêmes sont proposés avec l'objectif d'obtenir des schémas intégrés assurant un meilleur rendement ou un produit de concentration élevée.

IV.2. Extraction Soxhlet

L'extracteur de Soxhlet est une pièce de verrerie permettant d'effectuer une extraction solide-liquide avec une grande efficacité. L'appareil porte le nom de son inventeur : Franz von Soxhlet.

L'extraction par l'appareil Soxhlet (nous allons l'appeler simplement Soxhlet) est une méthode simple et convenable nous permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée.

Cependant, le Soxhlet possède quelques désavantages comme, par exemple, le temps d'extraction relativement long, la possibilité de dégradation des composés à cause d'une surchauffe locale, le choix limité du solvant, les difficultés d'utilisation de mélanges de solvants, etc.

Dans cette étude l'extraction solide-liquide par Soxhlet a été utilisée pour évaluer l'influence du prétraitement supercritique de la matière première végétale sur l'extraction conventionnelle de l'acide rosmarinique à partir de la mélisse.

IV.2.1. Expérimentations

La matière à extraire est pesée et ensuite mise dans la cartouche du Soxhlet. Le solvant est introduit dans le ballon puis chauffé pour démarrer l'extraction. L'extraction est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair, cette couleur indiquant que le solvant n'extrait plus rien du solide. Le temps de traitement est différent selon le solvant, souvent plus de 30 heures. Le contenu du ballon (solvant plus matières solubilisées) est ensuite traité à l'aide du Rotavapor pour éliminer le solvant et le résidu est pesé pour quantifier la masse d'extrait total sec m_{EX} . Une partie de l'extrait est ensuite prise, mesurée et dissoute dans 25 mL d'éthanol. La solution est ensuite filtrée et analysée par HPLC pour déterminer la masse d'AR extraite m_{AR} . A partir de ces quantités on définit la *Concentration en acide rosmarinique dans l'extrait* C_{AR} :

$$C_{AR}(\%) = \frac{m_{AR}}{m_{EX}} \times 100 \quad (IV.1)$$

Ce paramètre a été utilisé dans l'étude de l'influence du prétraitement supercritique sur le processus d'extraction conventionnelle. Il s'agit de la comparaison des valeurs C_{AR} obtenues par le traitement Soxhlet des résidus solides de l'extraction supercritique et de la matière première non-prétraitée.

Pour interpréter certains résultats, nous avons utilisé le paramètre *Rendement de l'extrait total*, défini comme:

$$Y_{EX}(\%) = \frac{m_{EX}}{m_{mat.prem}} \times 100 \quad (IV.2)$$

où : $m_{mat.prem}$ est la masse initiale de la mélisse.

IV.2.2. Résultats

IV.2.2.1. Extraction Soxhlet de la mélisse avec divers solvants

Afin de choisir le solvant le plus approprié à l'extraction par Soxhlet de l'acide rosmarinique à partir de la mélisse, nous avons fait des tests avec trois solvants classiques : l'hexane, l'acétone et l'éthanol. L'hexane est un solvant non-polaire, avec un comportement similaire à celui du CO₂ supercritique. L'acétone est un solvant classique, largement utilisé dans plusieurs domaines. L'éthanol est connu comme étant un bon solvant de l'acide rosmarinique.

En suivant la procédure décrite ci-dessus, nous avons déterminé la quantité maximale

extractible m_{EX} pour l'échantillon avec les différents solvants, ensuite nous avons analysé l'extrait pour déterminer m_{AR} et finalement nous avons calculé C_{AR} par équation (...). Le résultat de la comparaison des trois solvants est montré sur la figure IV.1.

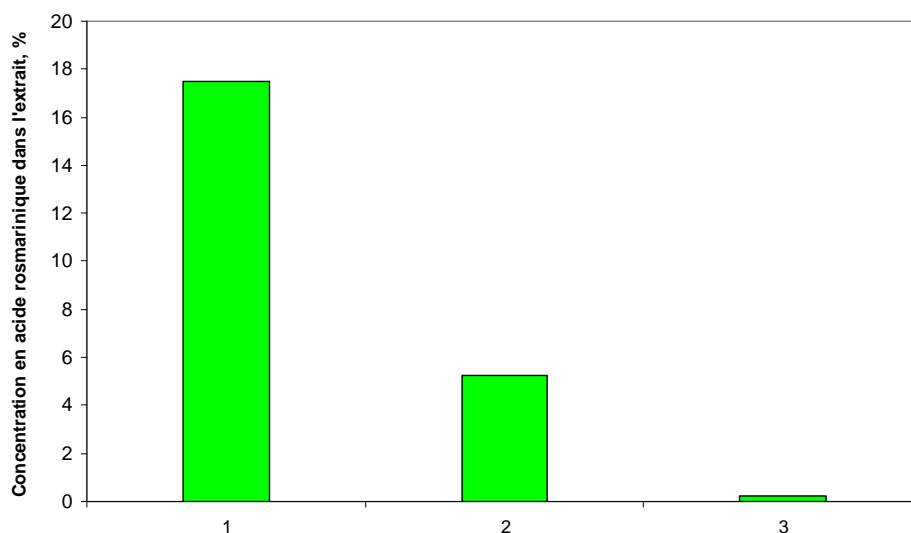


Figure IV.1. Concentration en l'acide rosmarinique dans l'extrait Soxhlet obtenue avec divers solvants. 1 – éthanol ; 2 – acétone ; 3 – hexane.

On voit bien que l'éthanol est de loin le plus efficace parmi ces trois solvants et produit un extrait Soxhlet nettement plus riche en acide rosmarinique.

Il est aussi intéressant de regarder les valeurs d'un autre paramètre – le rendement total de l'extrait (voir figure IV.2.)

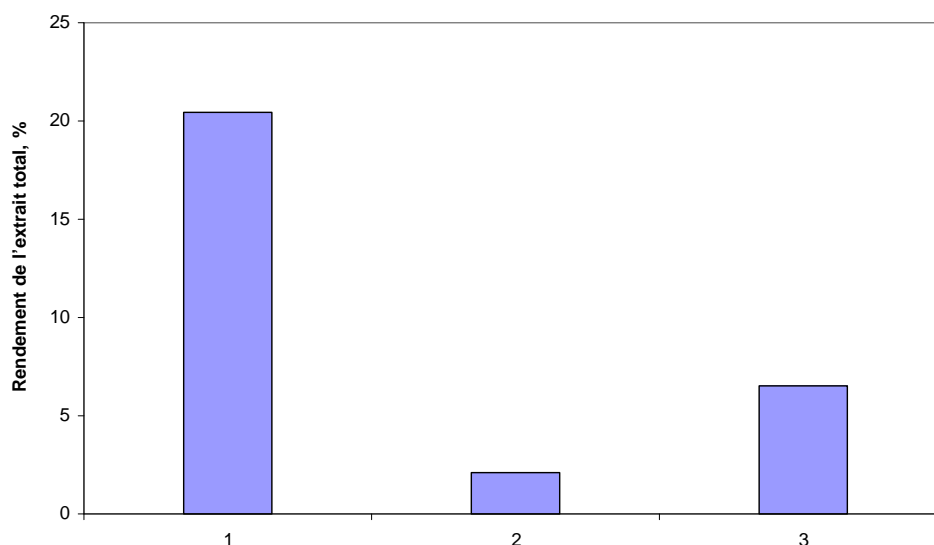


Figure IV.2. Rendement total de l'extrait Soxhlet avec différents solvants. 1 – éthanol ; 2 – acétone ; 3 – hexane.

On constate que l'hexane, qui n'extrait quasiment pas l'acide rosmarinique, extrait cependant une quantité non-négligeable (~7 %) d'autres composés inertes. Il est donc intéressant d'appliquer l'extraction Soxhlet avec de l'hexane comme une étape de prétraitement pour l'élimination des produits inertes (lavage préliminaire de la matrice végétale). A ce niveau l'objectif d'obtenir un extrait plus riche en acide rosmarinique peut être atteint avec un schéma de traitement commençant par l'extraction Soxhlet à l'hexane suivie par l'extraction Soxhlet du résidu avec de l'éthanol. Les résultats de cette double extraction Soxhlet sont présentés ci-dessous.

IV.2.2.2. Double extraction Soxhlet

L'influence du prétraitement avec un Soxhlet à l'hexane sur l'extraction Soxhlet à l'éthanol est illustrée par la figure IV.3., exprimant la concentration en acide rosmarinique dans des extraits différents.

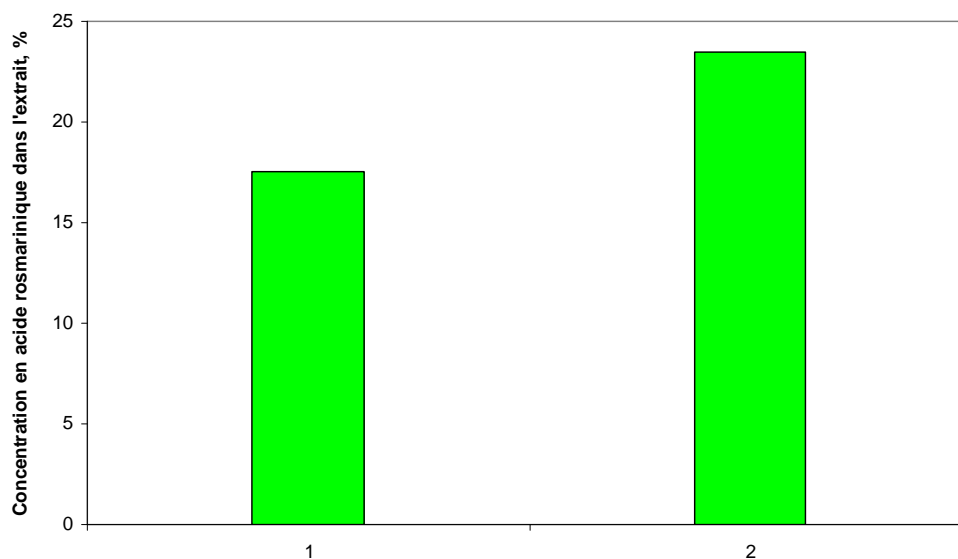


Figure IV.3. Influence du prétraitement avec du Soxhlet (solvant hexane) sur la concentration en acide rosmarinique dans l'extrait Soxhlet (solvant éthanol). 1 – Sans prétraitement ; 2 – avec prétraitement

Il est évident que le prétraitement de la mélisse avec de l'hexane augmente la concentration de l'acide rosmarinique dans l'extrait. Cependant l'hexane est un solvant toxique. Pour cette raison il doit être totalement éliminé du produit d'extraction, ce qui demande un traitement supplémentaire, ainsi créant des difficultés de point de vue application pratique et acceptabilité du produit final. Pour cette raison il nous a paru convenable de chercher une alternative de ce solvant. D'après nous, une telle alternative est l'utilisation du CO₂ supercritique.

IV.2.2.3. Prétraitement avec l'ESC

Nous avons fait un prétraitement de la matière première avec le CO₂ supercritique à des conditions opératoires différentes en faisant varier la température et la pression pour un débit de CO₂ = 30 g/min (cellule originelle, volume = 122 mL). Le tableau IV.1. contient une description de ces régimes.

Tableau. IV.1. Régimes opératoires pour le prétraitement supercritique

| No | P, bar | T, °C |
|----|--------|-------|
| 1 | 280 | 60 |
| 2 | 250 | 60 |
| 3 | 200 | 60 |
| 4 | 100 | 60 |
| 5 | 280 | 40 |
| 6 | 250 | 40 |
| 7 | 200 | 40 |
| 8 | 100 | 40 |
| 9 | 80 | 40 |

Ensuite, nous avons réalisé des extractions Soxhlet à l'éthanol des résidus solides après le traitement supercritique. Les résultats sont présentés sur la figure IV.4. en parallèle avec des résultats sans prétraitement et ceux obtenus après prétraitement Soxhlet à l'hexane.

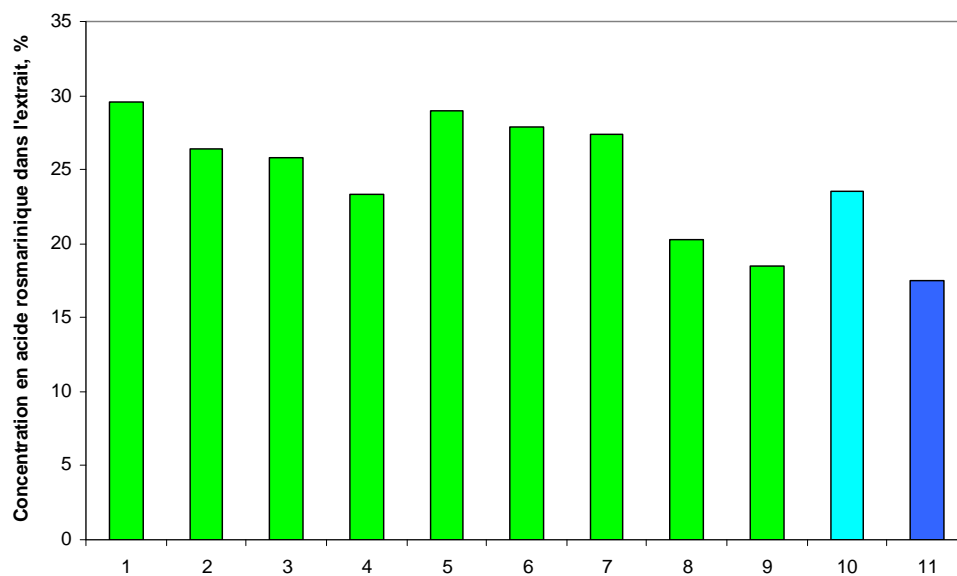


Figure IV.4. Influence du prétraitement sur la concentration en acide rosmarinique de l'extrait Soxhlet (solvant éthanol) : 1 – 9 - prétraitements supercritiques indiqués dans le tableau IV.1. ; 10 - prétraitement avec Soxhlet (solvant hexane) ; 11 - sans prétraitement

Comme on pouvait le prévoir à partir des résultats du prétraitement à l'hexane, le prétraitement supercritique améliore l'extraction Soxhlet à l'éthanol par rapport à l'extraction sans prétraitement (régime 11), en augmentant la concentration en acide rosmarinique de l'extrait. Ce résultat est dû à l'extraction de composés inertes pendant l'étape de prétraitement, ce qui conduit à extraire moins de ces composés pendant l'extraction Soxhlet à l'éthanol, et finalement obtenir un produit plus riche en acide rosmarinique.

Bien que parfois l'augmentation de la concentration du produit est comparable avec celle obtenue avec prétraitement en hexane (régime 10), il y a des régimes de prétraitement supercritique donnant des résultats nettement meilleurs (1, 2, 3, 5, 6, 7). Certes, il y a d'autres raisons pour préférer le prétraitement supercritique devant le prétraitement avec l'hexane : le CO₂ n'est pas toxique et c'est un solvant « vert » qui peut être éliminé du produit très facilement par simple baisse de la pression, où il se transforme en gaz et s'évacue du produit sans laisser aucune trace problématique. Le prétraitement supercritique est encore plus intéressant dans les cas où l'extrait du prétraitement supercritique contient des composés d'intérêt tels que le citral, caryophyllène etc. dans le cas de la mélisse.

IV.2.3. Conclusions

L'extraction Soxhlet est une méthode commode et efficace qui nous a servi à quantifier l'acide rosmarinique présent dans la mélisse et aussi d'étudier l'influence d'un prétraitement de la matière première sur les qualités de l'extrait final à l'éthanol. Elle peut être utilisée pour l'extraction elle-même, pour le prétraitement de la matière première ou pour les deux.

Le prétraitement avec l'hexane augmente le contenu de l'acide rosmarinique dans l'extrait Soxhlet à l'éthanol). Cependant l'hexane est trop toxique et son élimination du produit final est difficile et coûteuse. Pour cette raison, il est préférable et même plus efficace d'effectuer le prétraitement de la mélisse par le CO₂ supercritique. Ce procédé devient encore plus intéressant puisque par le traitement supercritique on peut éventuellement obtenir des substances d'intérêt autre que l'acide rosmarinique.

IV.3. Extraction en mode batch (échelle laboratoire)

IV.3.1. Détermination de la teneur totale en acide rosmarinique dans la matière première

Pour déterminer la teneur totale en acide rosmarinique dans la matière première, la procédure suivante a été appliquée:

Dans une fiole on place 0,100 g d'herbe et 80 ml d'éthanol (50 % V/V). Cette concentration a été choisie en se basant sur des essais préliminaires montrant une meilleure solubilité de l'AR. On fait bouillir le mélange dans un bain-marie à reflux pendant 30 min, donnée suffisante pour atteindre un taux d'extraction maximum. Ensuite, l'échantillon est refroidi et filtré. Le filtre est rincé avec 10 mL d'éthanol (50 % V/V). Le filtrat et le liquide de rinçage sont récupérés dans une fiole jaugée, puis dilués jusqu'à 100 mL avec de l'éthanol (50 % V/V). Un échantillon est analysé par HPLC

Nous considérons que la quantité d'acide rosmarinique extraite par cette méthode représente la Quantité Maximale d'Acide Rosmarinique Extractible (QMARE), dont la masse est notée m_{ARmax} .

Cette analyse été appliquée a chaque lot de matière première, parce que le contenu d'acide rosmarinique dans les divers lots est variable (de 4 à 7,66 %).

Les résultats obtenus par cette méthode sont en accord avec les résultats obtenus avec le Soxhlet.

IV.3.2. Résultats et discussion

Les résultats sont présentés en termes de *Taux d'extraction*, défini comme le rapport de la masse de l'AR extraite (m_{AR}) et de la masse maximale de l'AR extractible m_{ARmax} pour un lot donné:

$$E(\%) = \frac{m_{AR}}{m_{ARmax}} \times 100 \quad (IV.3)$$

En parallèle du taux d'extraction, on utilise le paramètre *Concentration en acide rosmarinique dans l'extrait*. Il représente le rapport entre la masse de l'AR extraite (m_{AR}) et la masse de l'extrait total sec (m_{EX}).

$$C_{AR}(\%) = \frac{m_{AR}}{m_{EX}} \times 100 \quad (IV.1)$$

Ce paramètre caractérise la teneur en AR dans un produit sec.

Le choix préliminaire du solvant repose sur un petit nombre de solvants agréés pour l'utilisation dans la production de produits de consommation. Deux solvants différents, largement utilisés, ont été testés afin de déterminer leur capacité à extraire l'AR : le méthanol et l'éthanol. Ces solvants ont des propriétés similaires vis-à-vis de l'AR en se montrant efficaces en tant que solvants de l'AR. En conséquence, ces alcools ont été choisis comme solvants dans les expériences décrites ci-dessous.

IV.3.2.1. Influence de la concentration des solvants

Nous avons étudié la capacité de divers mélanges méthanol-eau et éthanol-eau à extraire l'AR. Les expériences ont été menées à 50°C avec une granulométrie moyenne de 0,94 mm. Afin d'éviter la limitation éventuelle due à la saturation du solvant, la proportion choisie a été 1 g de mélisse dans 100 mL de solvant (hydromodule $R = 100\text{mL}/1\text{g} = 100\text{ mL/g}$).

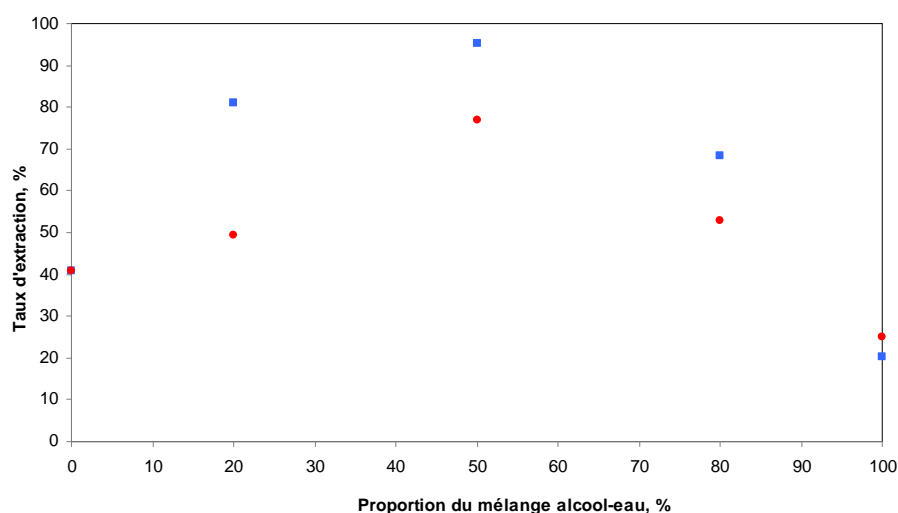


Figure IV.5. Influence de la composition des solvants sur le Taux d'extraction. $T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$.

■ – éthanol ; ● – méthanol durée de l'extraction batch 2h, hydromodule = 100 ml/g

Les résultats de la figure IV.5. montrent que, en diluant les solvants avec de l'eau, le taux d'extraction de l'AR augmente pour atteindre son maximum à 50 % d'eau. Ce comportement peut être expliqué par le fait que la présence de l'eau (ayant un moment

dipolaire plus fort que celui des alcools) déstabilise les parois cellulaires. En conséquence, en pénétrant plus profondément dans la matrice végétale, le solvant peut entrer au contact avec une quantité plus grande de soluté, favorisant ainsi l'extraction. D'autre part, la diminution du taux d'extraction à concentrations plus élevées que 50 % d'eau peut être attribuée à la diminution de la capacité du solvant, devenant de plus en plus pauvre en alcool. Il est à noter aussi que l'eau pure est meilleur solvant que les alcools purs. En état pur le méthanol est légèrement meilleur que l'éthanol, mais les mélanges éthanol-eau extraient plus significativement l'AR que des mélanges analogues à base de méthanol.

La variation de la concentration d'AR dans l'extrait sec, CAR, en fonction de la concentration d'éthanol dans le mélange solvant est présentée sur la figure IV.6.

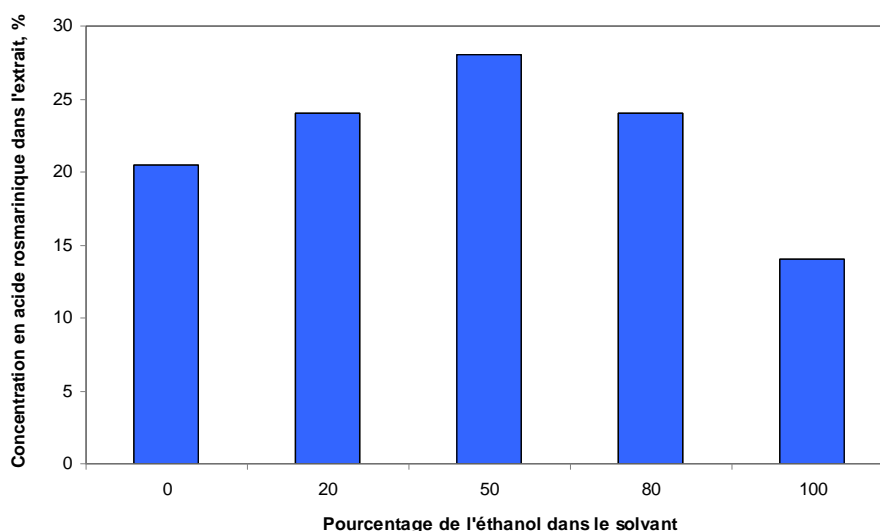


Figure. IV.6. Concentration en acide rosmarinique dans l'extrait à différentes compositions du solvant (mélange éthanol-eau)

Evidemment, le comportement est identique à celui du taux d'extraction, passant par un maximum à 50 % d'eau où une valeur maximale de 24% est atteinte.

IV.3.2.2. Influence de la température

L'influence de la température sur le taux d'extraction a été étudiée en réalisant des extractions avec les deux mélanges solvants à leur concentration optimale d'eau (50%) à quatre températures différentes : 25 ; 40 ; 50 et 60 °C. Cette plage de variation de la

température englobe des valeurs de la température ambiante jusqu'à la limite d'ébullition du solvant.

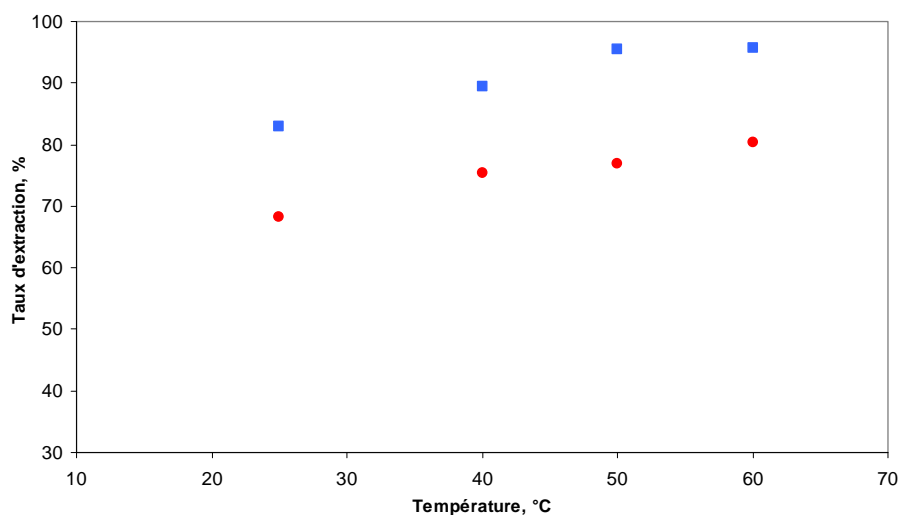


Figure IV.7. Influence de la température sur le Taux d'extraction. Taille moyenne des particules 0,94 mm. ■ – 50 % éthanol ; ● – 50 % méthanol

On voit (fig. IV.7.) que le taux d'extraction augmente avec la température, restant toujours plus élevé pour l'éthanol.

En ce qui concerne l'éthanol, le taux d'extraction ne diffère guère entre 50 et 60 °C. Il est donc préférable de travailler à 50 °C, car le maintien de cette température est plus économique de point de vue consommation de l'énergie. D'autre part, mener un processus à la température plus basse défavorise la dégradation thermique éventuelle des composants de l'extrait.

IV.3.2.3. Cinétique générale du processus

La cinétique générale du processus d'extraction de l'AR avec les deux mélanges solvants à concentration optimale (50 % d'eau) est illustrée sur la figure IV.8.

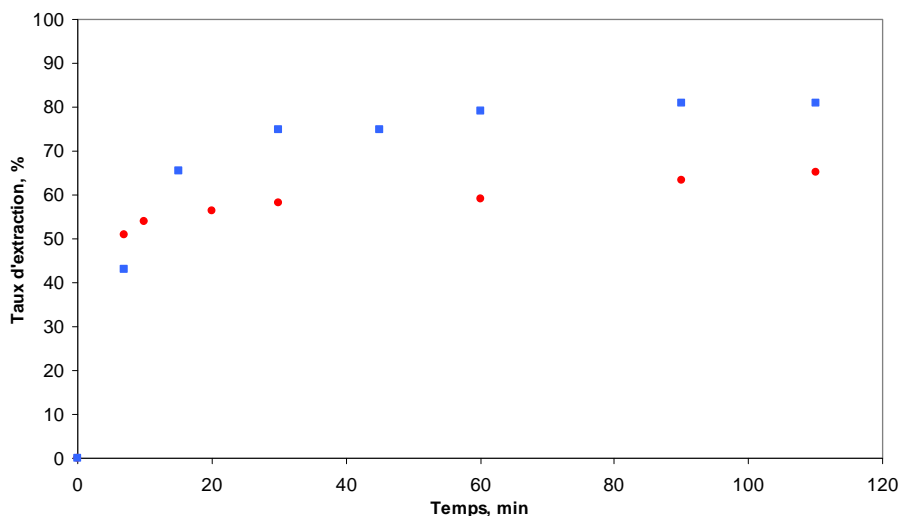


Figure IV.8. Courbes cinétiques de l'évolution du processus dans le temps. Taille des particules 0,94 mm. $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$. ■ – 50 % éthanol ; ● – 50 % méthanol

Dans le cas de l'éthanol le plateau final est plus élevé et sa valeur, correspondant au taux d'extraction maximale, est déjà atteinte. La cinétique d'extraction avec le méthanol est légèrement plus rapide au début du processus, mais ralentit nettement par la suite et il semble que l'extraction continue (la courbe ne cesse pas à monter) pour des durées pour lesquelles l'extraction avec l'éthanol est terminée.

La conclusion ici est que l'extraction avec le méthanol est plus lente, demandant plus de temps pour finir le processus et extraire le maximum possible. En plus, le rendement est plus faible.

IV.3.2.4. Choix du solvant approprié

En comparant les résultats obtenus avec les deux solvants, il est évident que l'éthanol montre un pouvoir d'extraction par rapport à l'AR plus favorable que celui du méthanol. Ce dernier étant beaucoup plus nocif, il nous reste à constater que dans les limites de la gamme considérée des solvants, le choix à préférer est le mélange éthanol-eau, en proportion volumique (1:1).

IV.3.2.5. Cinétique de l'extraction avec le mélange éthanol-eau

Les études cinétiques ont été menées à deux températures : la température ambiante 25°C et la température considérée comme optimale 50°C .

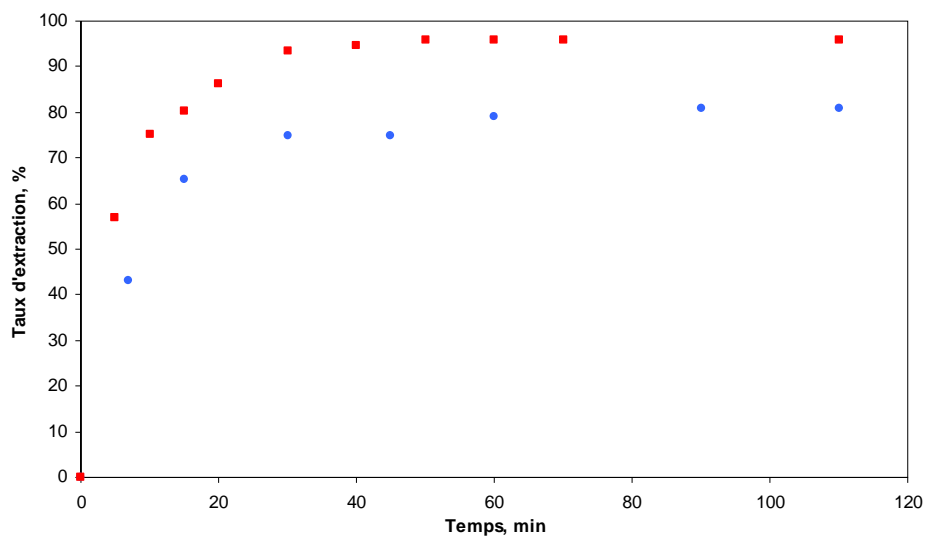


Figure IV.9. Influence de la température sur la cinétique d'extraction. Solvant éthanol-eau 1:1 en proportion volumique. Taille moyenne des particules 0,94 mm. ■ – 50 °C ; ● – 25 °C

Une comparaison des cinétiques à 25 et 50 °C est présentée sur la figure IV.9. On voit clairement que le procédé est nettement plus efficace à 50°C. Pour cette raison, les études cinétiques plus approfondies ont été menées à cette température.

Nous avons suivi la cinétique d'extraction avec différentes concentrations du solvant éthanol dans le mélange eau-éthanol dans l'intervalle 0 à 100 %. Les résultats (figure IV.10.) font apparaître deux régimes cinétiques.

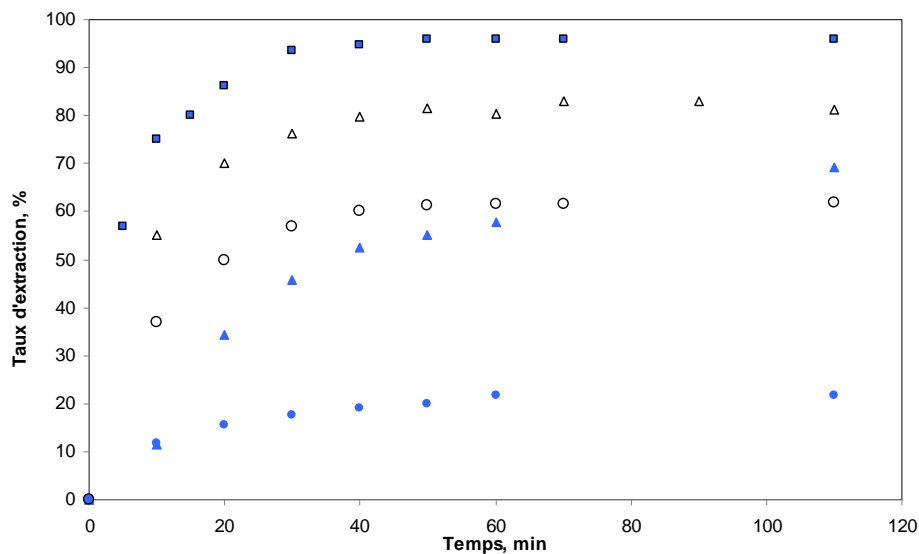


Figure IV.10. Influence de la concentration du solvant éthanol sur la cinétique d'extraction. Solvant éthanol. $T = 50^{\circ}\text{C}$. Taille moyenne des particules 0,94 mm. ○ – 0 % éthanol ; △ – 15 % éthanol ; ■ – 50 % éthanol ; ▲ – 80 % éthanol ; ● – 100 % éthanol

D'abord, pendant la première étape, les courbes montent rapidement, ce qui correspond à l'extraction rapide de l'AR se trouvant dans des pores superficiels de la matrice végétale. Pendant la seconde étape la courbe cinétique change de pente pour prendre une position quasi-horizontale, correspondant à l'épuisement de l'AR dans des pores superficiels et à la transition vers un processus plus lent d'extraction à partir des pores intérieurs. Cette étape s'achève avec un plateau correspondant au taux d'extraction maximal pour les conditions opératoires données. Dans tous le cas, le plateau est atteint à peu près au même temps à l'exception de la concentration 80 %. Le retard du plateau dans ce cas peut être expliqué par le transfert interne plus difficile dû à la faible quantité d'eau dans le mélange solvant (rappelons que la présence d'eau est supposée déstabiliser les parois cellulaire et faciliter le transfert interne dans la matrice végétale). D'autre part le pouvoir solvant à cette concentration est plus important que celui de l'eau pure et la courbe 80%, initialement sous la courbe de l'eau pure (0%), la dépasse finalement au plateau. Le meilleur résultat, correspondant au plateau le plus élevé, est obtenu avec 50 % d'éthanol. Comme nous l'avions constaté, cette concentration correspond à la meilleure synergie entre l'effet déstabilisant de l'eau sur les parois et le pouvoir solvant de l'éthanol.

IV.3.2.6. Hydromodule

Les expériences présentées ci-dessus ont été menées avec un hydromodule égal à 100 (mL solvant/g solide) afin d'éviter la limitation éventuelle due à la solubilité. Dans la pratique il est préférable d'économiser le solvant et de travailler donc avec un hydromodule moins important. Pour cette raison nous avons investigué l'influence de l'hydromodule sur la cinétique de l'extraction de l'AR à partir de la mélisse. Deux hydromodules largement différents ont été choisis pour comparaison : $R = 100 \text{ mL/g}$ et $R = 10 \text{ mL/g}$. Les tests ont été faits avec 80 % d'éthanol. Ce choix est justifié par les raisons suivantes :

- Au niveau de la cinétique, c'est le cas le plus lent et donc limitant. Il est donc souhaitable de l'évaluer afin de mieux connaître les étapes limitantes.
- Pour certains dispositifs qui seront présents dans la phase de purification de l'extrait, nanofiltres par exemple (voir.IV.4.), la présence d'une grande quantité d'eau dans le système n'est pas recommandée, car l'eau endommage la membrane filtrante.

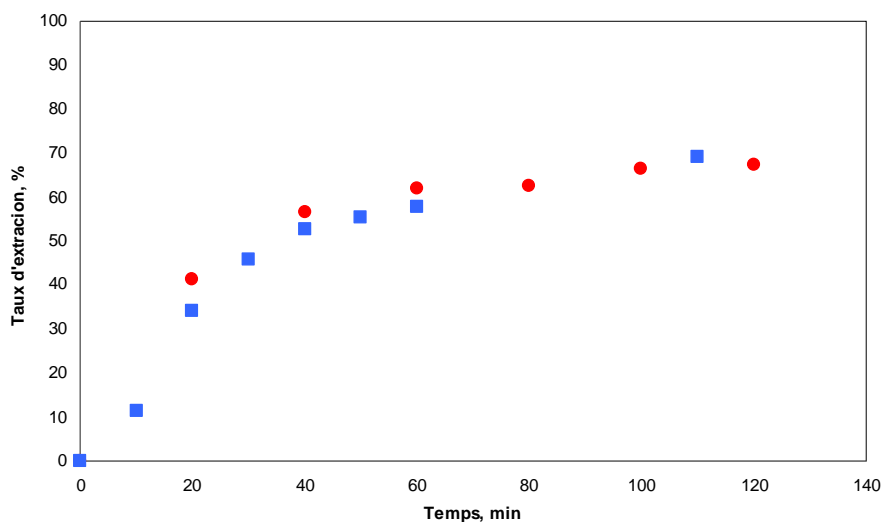


Figure IV.11. Influence de l'hydromodule sur la cinétique d'extraction. $T = 50 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Taille moyenne des particules 0,94 mm. ■ $R = 100 \text{ mL/g}$; ● $R = 10 \text{ mL/g}$

Les résultats présentés sur la figure IV.11. montrent qu'une variation importante (facteur 10) de l'hydromodule n'affecte pas la cinétique du processus. Cela signifie qu'il n'y a pas de limitation à cause de la solubilité et que toute la résistance est due au transfert interne du soluté.

IV.3.2.7. Influence de la granulométrie

Pour préparer des échantillons de matière première ayant des particules d'une certaine taille moyenne, la matière végétale a été d'abord broyée, ensuite tamisée et divisée en cinq fractions de dimension moyenne de particules de 0,7 mm ; 0,94 mm ; 1,5 mm ; 2,5 mm et 5 mm.

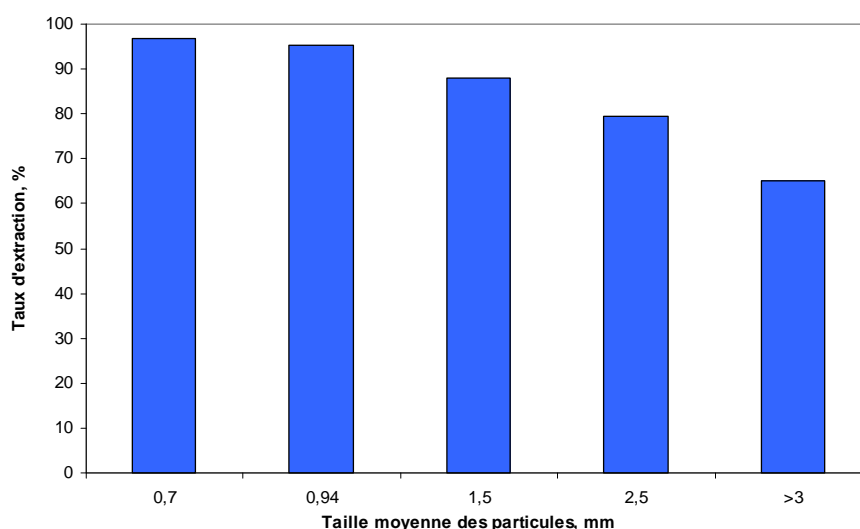


Figure. IV.12. Influence de la granulométrie sur le Taux d'extraction. $T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$.
Solvant 50 % éthanol.

Les résultats (figure IV.12.) suivent la tendance logique - le taux d'extraction devient meilleur dans le cas des particules plus petites. Ceci peut être expliqué par une surface de contact plus grande avec la diminution de la taille de particules, et aussi par un plus grand nombre de pores ouverts facilitant le contact avec le solvant ainsi que les phénomènes de diffusion interne

Il est à noter qu'à l'échelle industrielle, de trop petites particules peuvent gêner le fonctionnement des appareils en augmentant leur résistance (la perte de charge hydraulique élevée), en favorisant la création de zones sèches privées de l'accès du solvant (pénétration difficile du solvant à cause de la densité locale élevée), en créant des cavités solvant sans circulation de solvant (zones stagnantes), etc. De tels effets diminuent l'efficacité des appareils et réduisent le rendement. Pour cette raison, il est toujours nécessaire de chercher le compromis entre la taille des particules, les limitations technologiques des installations réelles et leur efficacité.

IV.3.2.8. Triple extraction

Certains schémas technologiques pour séparer le solvant de l'extrait après l'extraction (les membranes de nanofiltration notamment, voir IV.4.) exigent l'utilisation de solvants ne contenant que de faibles quantités d'eau. Cela nous amène à considérer des solvants contenant moins d'eau, comme par exemple 80 % éthanol. Malheureusement, le taux d'extraction d'un seul contact de ce solvant avec la plante n'est que de 68 % de la QMARE. Afin d'améliorer ce taux d'extraction, nous avons considéré une extraction en trois étapes (triple extraction): après le premier contact l'extrait liquide est séparé du résidu solide par filtration conventionnelle. Le résidu solide de la première étape est mis en contact avec du solvant frais de quantité égale de celle de l'étape précédente. La troisième étape répète la procédure avec le résidu de la deuxième étape. *Le Taux d'extraction E (%)* de la triple extraction de l'AR est montré sur la figure IV.13. Ici on voit que le taux d'extraction cumulatif des trois étapes tend vers 100 %. La performance relativement plus faible de la première étape (par rapport à l'éthanol 50 %) est compensée par l'apport des deux étapes suivantes.

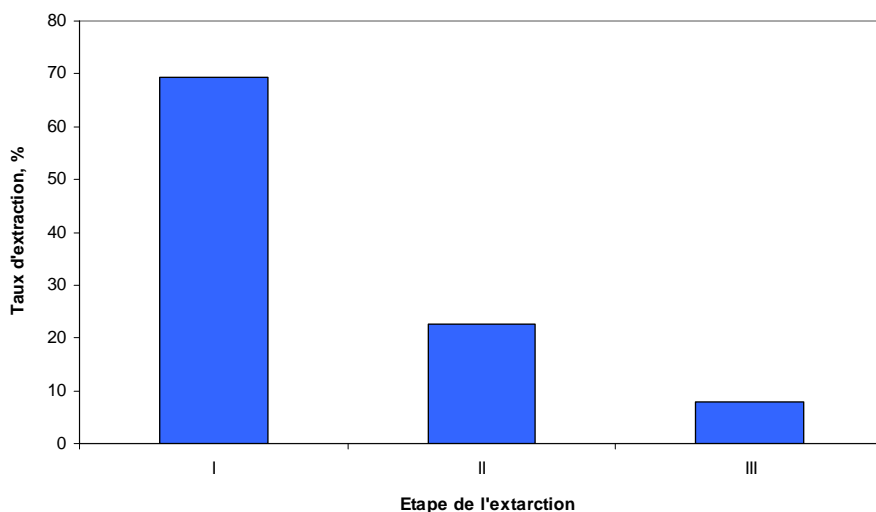


Figure IV.13. Taux d'extraction de l'AR pour les trois étapes de la triple extraction. Solvant : 80 % éthanol.

Cette opération nous permet d'extraire une quantité maximisée d'AR en utilisant un solvant contenant moins d'eau. Cela est important en vue de l'utilisation consécutive de nanofiltration pour la concentration de l'AR.

Le couplage de la triple extraction avec le procédé de nanofiltration est présenté en détails dans chapitre IV. 4.

IV.3.2.9. Couplage avec l'ESC

Afin d'améliorer le processus d'extraction solide-liquide conventionnelle en mode batch, la matière première a été soumise au prétraitement avec du CO₂ supercritique pur ou mélangé avec du co-solvant éthanol (voir chapitre III). L'idée (similaire au cas du couplage de l'ESC avec l'extraction Soxhlet étudié dans IV.1.) est d'extraire des composés non-désirés de la matrice végétale (cires, composants de masse moléculaire élevée...) et d'obtenir des résidus solides avec une concentration en AR plus élevée. Ces derniers sont soumis à l'extraction conventionnelle en mode batch, réalisant ainsi un schéma à deux étapes : prétraitement supercritique couplé avec l'extraction conventionnelle.

IV.3.2.9.1. Prétraitement supercritique sans co-solvant

Afin d'assurer une quantité plus grande de matière solide pour l'extraction batch, pendant l'étape de prétraitement supercritique nous avons toujours utilisé la cellule originelle (volume = 122 mL) pendant l'étape de l'extraction supercritique.

Le prétraitement de la matière première a été fait en deux séries :

- à basse pression (90 et 120 bar) on extrait surtout les huiles essentielles et les cires ;
- à haute pression (280 bar) le pouvoir solvant du CO₂ augmente, mais la sélectivité diminue. On extrait davantage de substances de masses moléculaires élevées.

Les tendances générales de l'influence du prétraitement supercritique à basse pression (120 bar et 40 °C) sur le *Taux d'extraction* de l'acide rosmarinique (extraction conventionnelle du résidu supercritique solide en batch) avec diverses proportions du mélange éthanol-eau (de 0 à 100 %) est illustrée sur la figure IV.14.

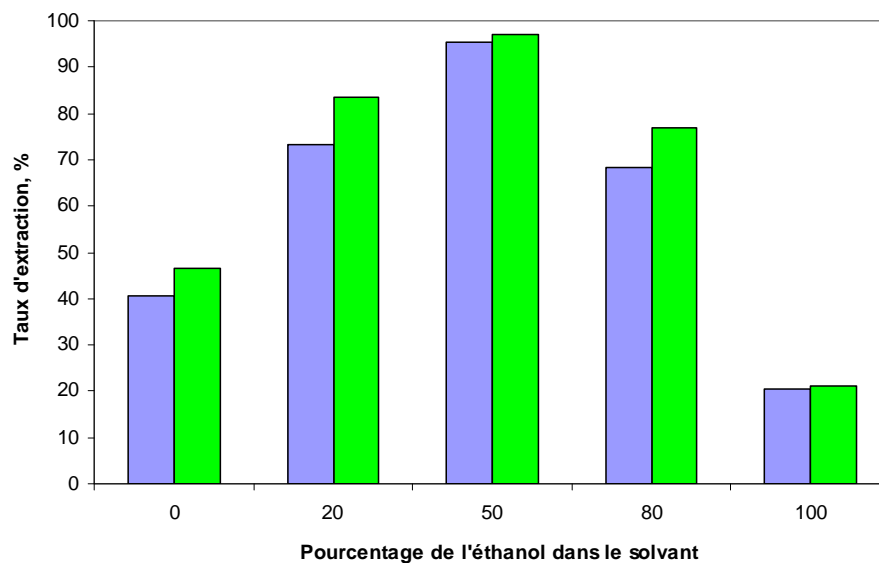


Figure IV.14. Influence du prétraitement supercritique ($P = 120$ bar ; $T = 40^{\circ}\text{C}$; débit de $\text{CO}_2 = 6,4$ g/min ; durée 15h) sur le Taux d'extraction en mode batch (solvant : diverses proportions éthanol-eau). ■ – sans prétraitement ; ■ – avec prétraitement

Les résultats indiquent que ce prétraitement supercritique améliore le *Taux d'extraction* pour toutes les proportions éthanol-eau, la raison étant l'élimination d'une partie de la matière solide (composants non-désirés) pendant le prétraitement supercritique.

Nous allons étudier plus en détails le solvant 80 % éthanol en vue de son utilisation dans le procédé de purification par nanofiltration.

Une comparaison entre l'influence du prétraitement à haute et à basse pression sur le *Taux d'extraction* est présentée sur la figure IV.15.

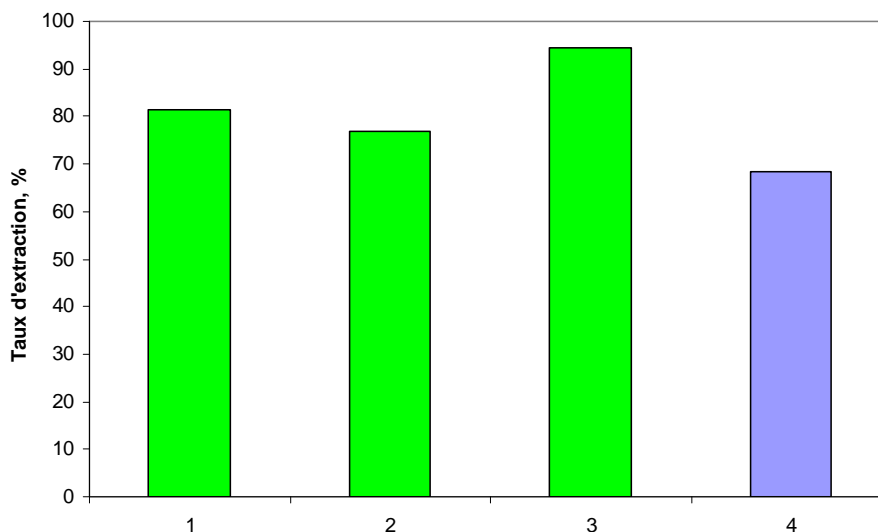


Figure IV.15. Influence du prétraitement supercritique à basse et haute pression sur le Taux d'extraction de l'acide rosmarinique avec 80 % éthanol. 1 – $P = 90$ bar, $T = 50$ °C, débit de $CO_2 = 15$ g/min, durée 45 min.; 2 – $P = 120$ bar, $T = 40$ °C, débit de $CO_2 = 6,4$ g/min, durée 15 h ; 3 – $P = 280$ bar, $T = 60$ °C débit de $CO_2 = 5$ g/min, durée 5 h ; 4 – Sans prétraitement supercritique

En sachant qu'à haute pression on enlève une quantité plus grande de matière inerte sans affecter l'AR (voir résultats dans III.3.1.2, figure. III.4), il est à attendre, que le cas 3 va donner de meilleurs résultats. On voit clairement que pour tous les régimes de prétraitement le *Taux d'extraction* augmente par rapport à celui obtenu à partir de la plante non-prétraitée (cas 4). Il est à rappeler qu'en augmentant la pression on augmente le pouvoir solvant du CO_2 , mais on diminue sa sélectivité. Le prétraitement à basse pression peut être aussi intéressant puisque la sélectivité est sensible aux faibles variations des conditions opératoires et on peut réaliser deux effets positifs : d'une part, diriger l'étape de prétraitement vers l'extraction supercritique de composés de haute valeur ajoutée (le cas 1 notamment, voir III.3.5.) et d'autre part - améliorer le taux d'extraction de l'AR dans l'étape suivante d'extraction classique.

IV.3.2.9.2. Influence de la présence du co-solvant éthanol dans l'étape supercritique

Comme nous l'avons déjà discuté, les co-solvants changent la polarité et la sélectivité du solvant supercritique. Nous avons étudié l'influence du prétraitement supercritique avec CO₂ et co-solvant éthanol à basse (120 bar) et à haute (280 bar) pression sur les résultats de l'extraction conventionnelle réalisée ensuite en mode batch en utilisant comme solvant 80 % éthanol.

Les résultats de l'extraction de la matière solide prétraitée à basse pression sont présentés sur la figure IV.16.

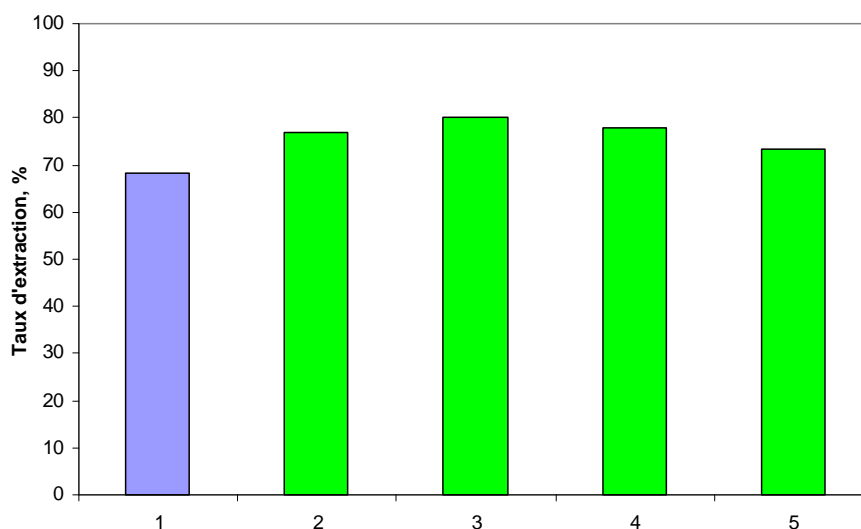


Figure IV.16. Influence de la quantité du co-solvant dans le CO₂ supercritique (prétraitement à basse pression $P = 120$ bar, $T = 40$ °C, débit du CO₂ = 6,4 g/min) sur le Taux d'extraction conventionnelle de l'AR avec solvant 80 % éthanol : 1 – Sans prétraitement supercritique ; 2 – prétraitement sans co-solvant, durée 15 h ; 3 – 5 % co-solvant, durée 4 h ; 4 – 10 % co-solvant, durée 4 h ; 5 – 15 % co-solvant, durée 4 h

A basse pression, le prétraitement avec du co-solvant (cas 3, 4 et 5) fournit un *Taux d'extraction* plus élevé que le cas du prétraitement avec du CO₂ pur (2) et sans prétraitement supercritique (cas 1). De manière générale, la présence du co-solvant rend le CO₂ supercritique plus polaire et ce dernier devient meilleur solvant de l'AR par rapport au CO₂ pur. Cela signifie que avec du co-solvant on va extraire plus d'AR, ce qui n'est pas souhaité dans un tel pré-traitement. Cependant, le mélange [CO₂ + co-solvant] extrait de préférence la matière non-désirée et peu d'AR (confirmé par nos résultats expérimentaux – III.3.2.5.1).

L'élimination de la matière non-désirée ouvre l'accès du solvant au travers du solide et facilite l'étape suivante d'extraction conventionnelle de l'AR.

Cet effet est montré clairement sur la figure IV.17. représentant la *Concentration en acide rosmarinique* C_{AR} dans l'extrait conventionnel.

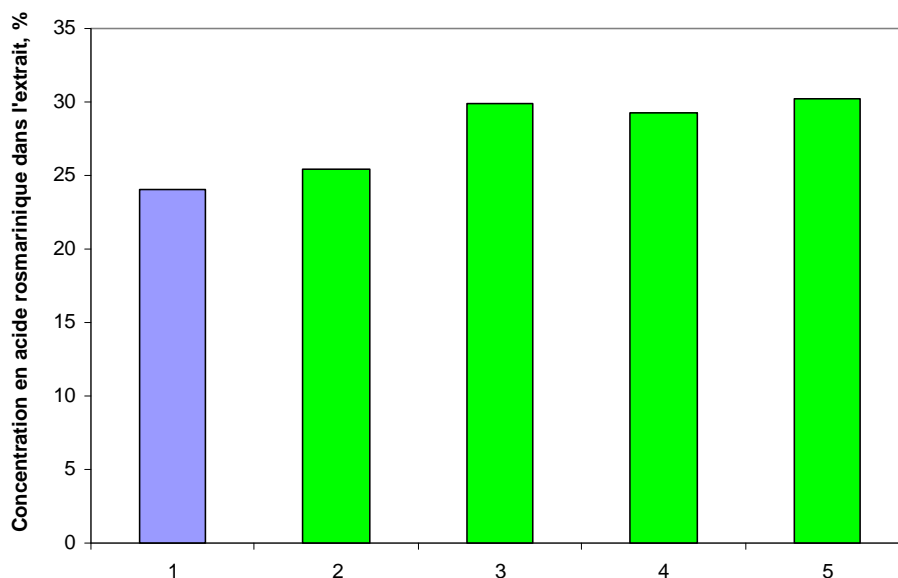


Figure IV.17. Influence de la quantité du co-solvant (prétraitement supercritique à $P = 120$ bar, $T = 40$ °C, débit du $CO_2 = 6,4$ g/min) sur la Concentration en acide rosmarinique dans l'extrait conventionnel avec solvant 80 % éthanol : 1 – Sans prétraitement SC ; 2 – prétraitement sans co-solvant, durée 15 h ; 3 – 5 % co-solvant, durée 4 h ; 4 – 10 % co-solvant, durée 4 h ; 5 – 15 % co-solvant, durée 4 h

On voit bien qu'après le prétraitement avec CO_2 -co-solvant (cas 3 - 5) la *Concentration en acide rosmarinique* dans l'extrait conventionnel est plus grande que celle sans prétraitement (cas 1) ou après le prétraitement sans co-solvant (cas 2). Le fait que les valeurs de ce paramètre dans les trois cas du prétraitement avec du co-solvant (3 - 5) sont très proches l'une à l'autre, nous indique qu'on peut économiser du co-solvant en l'utilisant en faible proportion 5 % – quantité suffisante pour améliorer la *Concentration de l'extrait en acide rosmarinique*.

L'influence du prétraitement supercritique à haute pression (280 bar) sur le *Taux d'extraction* conventionnelle est illustrée par la figure IV.18.

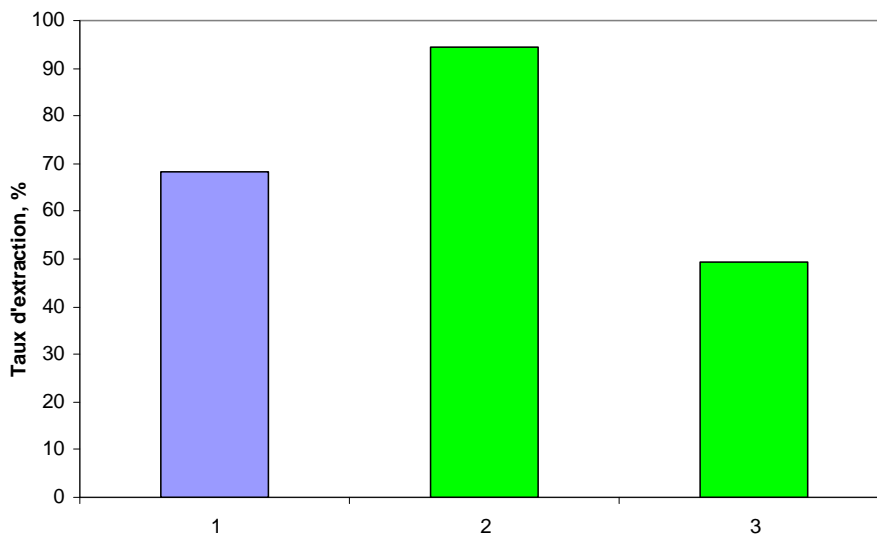


Figure IV.18. Influence du prétraitement supercritique à haute pression ($P = 280$ bar, $T = 40$ °C, débit du $CO_2 = 5$ g/min) sur le Taux d'extraction conventionnelle de l'AR avec solvant 80 % éthanol : 1 – Sans prétraitement SC ; 2 – prétraitement sans co-solvant, durée d'ESC = 5,5 h; 3 – 15 % co-solvant, durée d'ESC = 7,5 h

Les résultats indiquent qu'à haute pression le prétraitement supercritique avec du co-solvant (cas 3) joue un rôle négatif sur le *Taux d'extraction* de l'AR comparé à celui obtenu sans prétraitement (cas 1) ou après le prétraitement sans co-solvant (cas 2). Ce comportement peut être attribué au fait qu'à cette pression le pouvoir solvant augmente et le prétraitement avec du co-solvant enlève une grande quantité des substances non-désirées mais surtout une quantité d'AR beaucoup plus élevée (cf. III.3.2.5.1).

L'influence du prétraitement supercritique sur la *concentration en acide rosmarinique* dans l'extrait conventionnelle est présentée sur la figure IV.19. Les valeurs dans les cas du prétraitement avec du co-solvant éthanol (cas 3) et sans prétraitement de la matière première (cas 1) sont proches. D'autre part, la concentration est plus élevée dans le cas avec prétraitement sans du co-solvant (cas.2) que dans le cas avec le prétraitement avec co-solvant (cas 3). Cela peut s'expliquer toujours par le fait, que, pendant le prétraitement avec du co-solvant, on élimine à la fois de la matière non-désirée, mais aussi du produit-cible – l'acide rosmarinique.

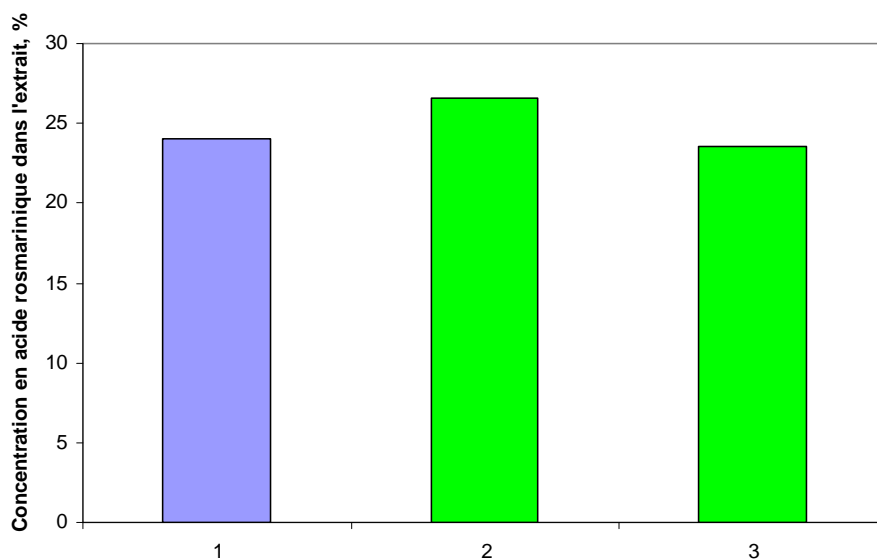


Figure IV.19. Influence du prétraitement supercritique à haute pression ($P = 280$ bar, $T = 40$ °C, débit de $CO_2 = 5$ g/min) sur la Concentration en acide rosmarinique C_{AR} dans l'extrait avec solvant 80 % éthanol : 1 – Sans prétraitement SC ; 2 – prétraitement sans co-solvant, durée 5,5 h ; 3 – 15 % co-solvant, durée 7,5 h

Vu les résultats discutés ci-dessus, on peut conclure, qu'au niveau du prétraitement supercritique en présence du co-solvant éthanol, il est préférable de travailler à basse pression (120 bar) parce que, à tels régimes, le *Taux d'extraction* et la *Concentration en acide rosmarinique* de l'extrait du procédé conventionnel augmentent. De plus, la consommation d'énergie pour le cycle du fluide est réduite. Concernant la concentration d'AR dans l'extrait final, elle est similaire en cas de prétraitement avec beaucoup ou peu de co-solvant. Il vaut mieux alors travailler en basse proportion, autour de 5 %.

IV.3.2.9.3. Influence du pré-traitement supercritique sur la cinétique de l'extraction conventionnelle

Figure IV.20. représente les courbes cinétiques du processus d'extraction conventionnelle pour des régimes différents de prétraitement de la matière première.

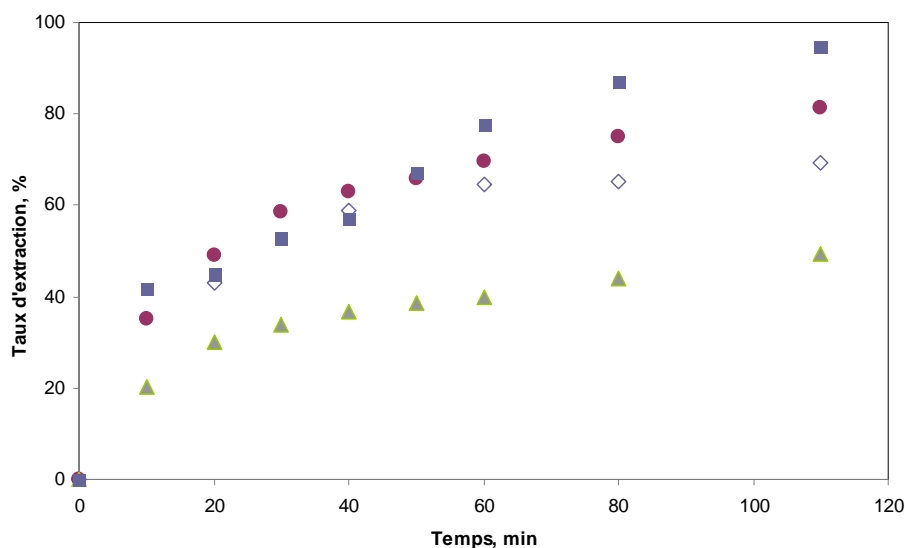


Figure IV.20. Influence du prétraitement supercritique sur la cinétique d'extraction conventionnelle en mode batch. Solvant 80 % éthanol. ■ Sans co-solvant, $P = 280$ bar, $T = 60$ °C, débit de $CO_2 = 5$ g/min, durée 5,5 h ; ● Sans co-solvant, $P = 90$ bar, $T = 50$ °C, débit de $CO_2 = 15$ g/min, durée 45 min, ◇ Sans prétraitement supercritique ; ▲ 15 % co-solvant, $P = 280$ bar, $T = 60$ °C, débit de $CO_2 = 5$ g/min, durée 7,5 h

On constate une amélioration de la cinétique du processus d'extraction après pré-traitement supercritique sans co-solvant (cas ■ et ● sur la figure IV.20.) par rapport à l'extraction sans pré-traitement (◇), dans la zone de résistance interne prédominante. La raison probable est le changement de la structure de la matrice végétale suite au prétraitement (enlèvement des substances non-désirées, ouverture de cellules) facilitant l'accès du solvant à l'acide rosmarinique se trouvant plus profondément dans le solide.

Bien évidemment, le processus d'extraction conventionnelle dans le cas du prétraitement avec du co-solvant éthanol (▲) est le plus défavorisé à cause de l'enlèvement d'une partie importante de l'acide rosmarinique par le solvant supercritique polaire [mélange CO_2 +éthanol].

IV.3.2.10. Modélisation

Dans cette partie, nous allons décrire le processus d'extraction en mode batch, dans les conditions opératoires les plus intéressantes de point de vue pratique, par un modèle mathématique, en cherchant à identifier des paramètres caractérisant le transfert de masse [93].

Le modèle utilisé est basé sur l'analogie entre le transfert de chaleur et de masse. Dans notre cas, nous l'avons utilisé pour décrire le transfert de l'acide rosmarinique de l'intérieur de la particule jusqu'à l'interface des phases et de l'interface au sein de la phase liquide.

Notre matière solide (mélisse broyée) contient des particules de deux formes différentes – tiges et feuilles, assimilés respectivement à des cylindres et des plaques peu épaisses. Dans le lot soumis aux expériences, nous avons déterminé la proportion des tiges et des feuilles qui est égale à 3:7. Nous avons introduit cette proportion dans le modèle. Le logiciel *20 SIM* a été utilisé pour la résolution des équations du modèle. C'est un simulateur dynamique qui permet de résoudre des équations différentielles.

IV.3.2.10.1. Hypothèses de modélisation

- La diffusion du soluté est essentiellement dans la direction transversale (pour les feuilles) ou radiale (pour les tiges);
- Chaque particule est symétrique et homogène;
- La diffusivité du soluté dans la phase solide est constante;
- La phase liquide (solvant) est parfaitement mélangée;
- A l'interface, la concentration dans les pores du solide est égale à celle dans la couche limite de la phase liquide.

IV.3.2.10.2. Equations générales

Le modèle de diffusion générale de l'extraction solide – liquide est représenté par l'équation générale suivante :

$$\frac{\partial C(t, x)}{\partial t} = D \frac{1}{x^{\varphi-1}} \frac{\partial}{\partial x} \left(x^{\varphi-1} \frac{\partial C(t, x)}{\partial x} \right) \quad (\text{IV.4})$$

où : D (m^2/s) est la diffusivité du soluté dans la phase solide, φ - facteur géométrique caractérisant la forme ($\varphi=1$ pour les plans et $\varphi=2$ pour les cylindres), C - concentration dans la phase solide (kg/kg).

Alors, pour les feuilles (*indice 1*) la forme correspondante est :

$$\frac{\partial C_1(t, x)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C_1(t, x)}{\partial x^2} \quad (IV.5)$$

et pour les tiges (*indice 2*) :

$$\frac{\partial C_2(t, x)}{\partial t} = D \left(\frac{1}{x} \frac{\partial C_2(t, x)}{\partial x} + \frac{\partial^2 C_2(t, x)}{\partial x^2} \right) \quad (IV.6)$$

Pour la phase liquide nous avons :

$$V_{sys} \varepsilon \frac{dC_L}{dt} = \beta \left(C_p \Big|_{x=e} - C_L \right) a_p \cdot N \quad (IV.7)$$

où : V_{sys} (m^3) est le volume du système (solvant + la phase solide) ; t (s) est le temps ; $C_p \Big|_{x=e}$ (kg/m^3) - concentration à l'interface des phases ; C_L (kg/m^3) - concentration au sein du liquide ; β (m/s) - coefficient de transfert de masse ; $\varepsilon = (1 - V_{solide}/V_{sys})$ - porosité du solide (égale à la partie de la phase liquide), V_{solide} (m^3) - volume de la phase solide; a_p (m^2) - surface de la particule, N - nombre des particules égale au rapport du volume du solide V_{solide} (m^3) et le volume de la particule V_p (m^3) :

$$N = \frac{V_{solide}}{V_p} = \frac{V_{sys}(1 - \varepsilon)}{V_p} \quad (IV.8)$$

On peut alors introduire le paramètre S englobant le volume et la porosité du système, la surface et le nombre des particules. Ce paramètre est égal :

Pour les feuilles :

$$S_1 = \frac{a_p \cdot N}{V_{sys} \cdot \varepsilon} = 2d_p^2 \frac{V_{sys}(1 - \varepsilon)}{d^2 \delta_1} \frac{1}{V_{sys} \cdot \varepsilon} = \frac{2(1 - \varepsilon)}{\delta_1 \varepsilon} \quad (IV.9)$$

Pour les tiges :

$$S_2 = \frac{a_p \cdot N}{V_{sys} \cdot \varepsilon} = 4\pi \cdot \delta_2 \cdot d_p \frac{V_{sys}(1 - \varepsilon)}{\pi \cdot \delta_2^2 \cdot d} \frac{1}{V_{sys} \cdot \varepsilon} = \frac{4(1 - \varepsilon)}{\delta_2 \cdot \varepsilon} \quad (IV.10)$$

où $\delta_1(m)$ est l'épaisseur des feuilles, $\delta_2(m)$ - diamètre des tiges, d_p (m) - taille des particules.

Conditions initiales ($t=0$)

- Pour la phase liquide : concentration initiale du solvant $C_L = 0$ (solvant pur)
- Pour la phase dispersée $C_1=C_{1,0}$ et $C_2=C_{2,0}$ (IV.11)

Conditions aux limites

- sur le plan central de la plaque ($x=0$)

$$\left(\frac{\partial C(t, x)}{\partial x} \right)_{x=0} = 0 \quad \text{pour } \forall t \quad \text{(IV.12)}$$

- sur l'axe du cylindre ($r = 0$)

$$\left(\frac{\partial C(t, r)}{\partial r} \right)_{r=0} = 0 \quad \text{pour } \forall t \quad \text{(IV.13)}$$

- A l'interface ($x=\delta/2=e$) les deux flux sont égaux

$$\beta.S.(C_p|_{x=e} - C_L) = -D \left(\frac{\partial C(t, x)}{\partial x} \right)_{x=e} \quad \text{(IV.14)}$$

IV.3.2.10.3. Comparaison aux résultats expérimentaux

Les résultats des simulations avec ce modèle sont présentés en termes du *Taux d'extraction* de l'acide rosmarinique au cours de temps. Nous avons déterminé expérimentalement les paramètres suivants : L'épaisseur moyenne des feuilles (plates) δ_1 et le diamètre moyen des tiges (cylindres) δ_2 par microscopie électronique à balayage (cf. II.1.); la taille moyenne des particules d_p par tamisage. Les deux paramètres ajustables sont la diffusivité D et le coefficient de transfert de masse β .

Nous avons appliqué ce modèle pour deux températures différentes (25 et 50 °C) et trois compositions du solvant (15, 50 et 80 % éthanol). La modélisation de l'extraction à ces conditions particulières nous intéresse pour les raisons suivantes : le solvant 15 % éthanol (50 °C), étant moins concentré et moins inflammable, correspond aux exigences opératoires des extracteurs conventionnels avec des solvants moins inflammables (comme, par exemple,

l'extracteur rotatif présenté dans IV.5.) ; 80 % d'éthanol (50 °C) ne contient qu'un peu d'eau, ce qui le rend intéressant pour certaines techniques (notamment la nano-filtration, présentée dans IV.4.). La cinétique d'extraction avec le solvant donnant le meilleur *Taux d'extraction*, 50 % d'éthanol, a été modélisée à la température 50 °C (à laquelle on arrive au *Taux d'extraction* le plus élevé) et à 25 °C (intéressante de point de vue d'application pratique - plus de sécurité, moins de risques d'inflammation et de dégradation thermique).

Les figures IV.21 et IV.22. présentent des exemples de résultats de simulation comparés aux résultats expérimentaux. On y voit un accord très satisfaisant.

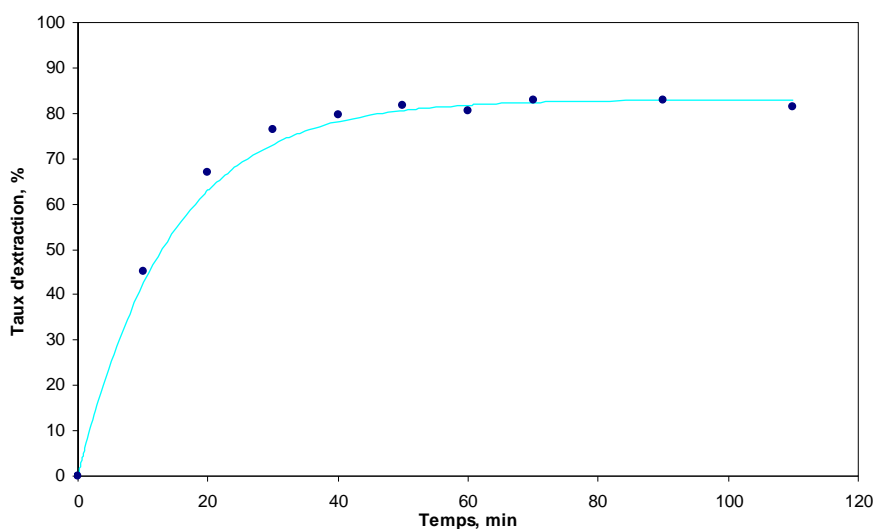


Figure IV.21. Application du modèle sur la cinétique d'extraction solide-liquide avec solvant 15 % éthanol et température 50 °C. Taille des particules 0,94 mm.

● points expérimentaux ; — courbe calculée par le modèle

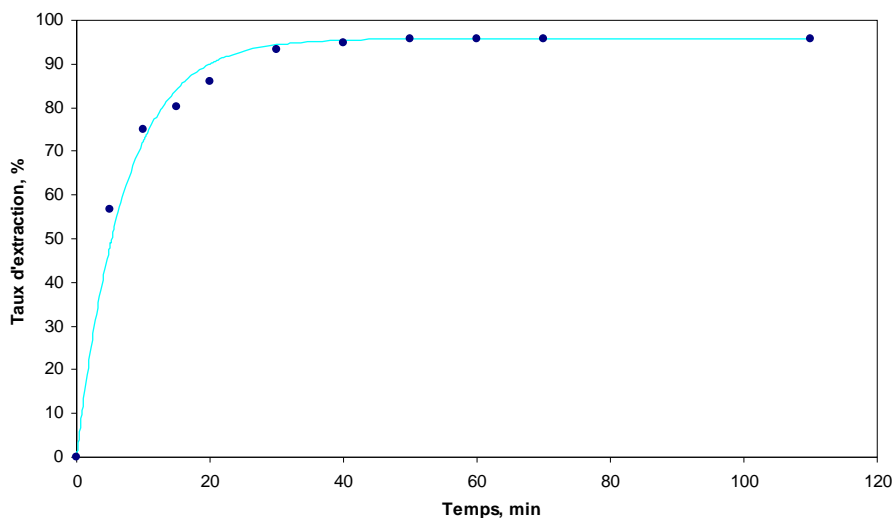


Figure IV.22. Application du modèle sur la cinétique d'extraction solide-liquide avec solvant 50 % éthanol et température 50 °C. Taille des particules 0,94 mm.

● points expérimentaux ; — courbe calculée par le modèle

Le tableau IV.2. présente les valeurs de la diffusivité D et le coefficient de transfert de masse β à diverses conditions opératoires identifiées par la méthode des moindres carrés.

Tableau IV.2. Valeurs de la diffusivité et du coefficient de transfert de masse obtenues avec le modèle

| Solvant | Température, °C | $D \cdot 10^{13}$, m ² /s | $\beta \cdot 10^7$, m/s |
|--------------|-----------------|---------------------------------------|--------------------------|
| 15 % Éthanol | 50 | 9,99 | 3,45 |
| 50 % Éthanol | 25 | 9,02 | 3,31 |
| 50 % Éthanol | 50 | 9,709 | 9,02 |
| 80 % Éthanol | 50 | 10,02 | 4,11 |

Le coefficient de transfert de masse β correspond au transfert à l'interface entre les phases solide et liquide. Il est sensiblement influencé par la température et la composition du solvant parce que ce coefficient reflète le transfert externe dépendant du coefficient de diffusion du soluté, lui-même favorisé par une élévation de température. D'autre part, la diffusivité D (qui ne décrit que le transfert interne dans la particule) n'est pas très influencée par ces deux paramètres parce qu'elle reflète surtout les propriétés de la matrice végétale.

L'augmentation du β de 25 à 50°C correspond à l'amélioration de l'extraction avec l'augmentation de la température. A 50°C les valeurs de β sont relativement proches pour les solvants 15 et 80 % éthanol (ce qui correspond à taux d'extraction similaire – voir fig.), tandis que β pour 50 % éthanol (50 °C) est considérablement plus grand et correspond à la cinétique plus rapide et au *Taux d'extraction* élevé obtenu avec ce dernier solvant.

En conclusion, ce modèle est en bon accord avec les résultats expérimentaux et on peut l'utiliser pour identifier des paramètres caractérisants le transfert de masse. Il sera aussi intéressant de l'appliquer sur des dispositifs à plus grande échelle comme, par exemple, l'extracteur rotatif décrit dans IV.5.

IV.3.3 Conclusions

L'influence de divers paramètres opératoires (le type et la concentration du solvant, l'hydromodule, la température, la granulométrie, etc.) sur l'extraction de l'acide rosmarinique à partir de la plante mélisse a été étudiée. Cela nous a permis de choisir les conditions opératoires les plus appropriées pour ce système pour des applications réalistes.

L'étude de la cinétique d'extraction solide-liquide nous a donné des informations sur l'évolution du processus au cours du temps. Elle nous a permis de distinguer les périodes de contrôle externe ou interne et aussi, de déterminer le temps nécessaire pour l'achèvement de l'extraction.

Le processus a été décrit par un modèle mathématique. La bonne correspondance avec des résultats expérimentaux nous permet d'utiliser cet outil pour la simulation et la prévision des évolutions des processus menées à des conditions opératoires différentes.

Le couplage avec un pré-traitement par extraction supercritique nous a permis d'obtenir des produits enrichis en notre composé cible – l'acide rosmarinique.

IV.4. Nanofiltration

La méthode de nanofiltration permet de séparer des substances en fonction de leur masse moléculaire respectivement taille de la molécule. L'élément essentiel du procédé de nanofiltration est une membrane poreuse, dont les pores sont comparables à la taille des molécules. Cette membrane sépare des substances en fonction de leur masse moléculaire, en laissant passer des molécules plus petites que les pores et en retenant des molécules plus grandes. La force motrice est la différence de pression des deux côtés de la membrane, créée par un gaz inerte (azote dans notre cas). La nanofiltration peut être appliquée pour la concentration des solutions. Le liquide passant par la membrane est appelé *filtrat* (en anglais *permeate*), la solution concentrée contenant le composé cible retenu est appelé *retentat* (en anglais *retentate*). De cette façon, il n'y a pas d'étape spéciale de régénération du solvant. Le filtrat représente un liquide sans soluté pouvant être directement utilisé comme solvant recyclé. Le retentat représente une solution concentrée en produit cible. La nanofiltration possède les avantages principaux suivants :

- En travaillant à basse température on protège les qualités du produit et on évite la thermodestruction éventuelle des composés ;
- La disparition de l'étape d'évaporation rend le procédé plus économique au niveau de consommation d'énergie ;
- On peut ré-utiliser directement le filtrat comme solvant dans un schéma avec recyclage.

Dans nos études, nous avons utilisé la nanofiltration pour concentrer des extraits liquides contenant l'acide rosmarinique.

IV.4.1. Paramètres de base

Les paramètres de base du procédé de nanofiltration sont :

- Le *Rejet* (en anglais *Rejection*) représente le taux de rétention du composé cible - plus la membrane retient le composé cible, moins de ce composé est présent dans le filtrat et plus le rejet devient proche de 1 (100 %)

$$R_j = 1 - \frac{C_F}{C_R} \quad (\text{IV.15})$$

où : C_F est la concentration du composé cible dans le filtrat et C_R est sa concentration dans le retentat.

- Le *Flux du filtrat* - représente le volume du filtrat (V_F) passé par unité de surface (A) de la membrane par unité de temps :

$$J_F = \frac{V_F}{A.t} \text{ (l.m}^{-2}\text{.h}^{-1}\text{)} \quad \text{(IV.16)}$$

Ces deux paramètres sont considérés plus en détail dans *Résultats* (IV.4.4.).

IV.4.2. Choix de la membrane

Le choix d'une nano-membrane dépend de la masse moléculaire du composé à retenir. Chaque membrane est fournie avec sa propre caractéristique appelée *Seuil de coupure* (en anglais « *molecular weight cut off – MWCO* »). Cette valeur est définie à l'aide d'une solution d'oligomères de diverses masses moléculaires connues soumise à nano-filtration. Après la fin du procédé, on estime la masse moléculaire M de l'oligomère retenu à 90 %, c'est-à-dire son rejet $R_j = 90 \%$. Tous les oligomères ayant une masse supérieure sont retenus à plus de 90 %. Un exemple issu de la littérature [86] est présenté sur la figure IV.23

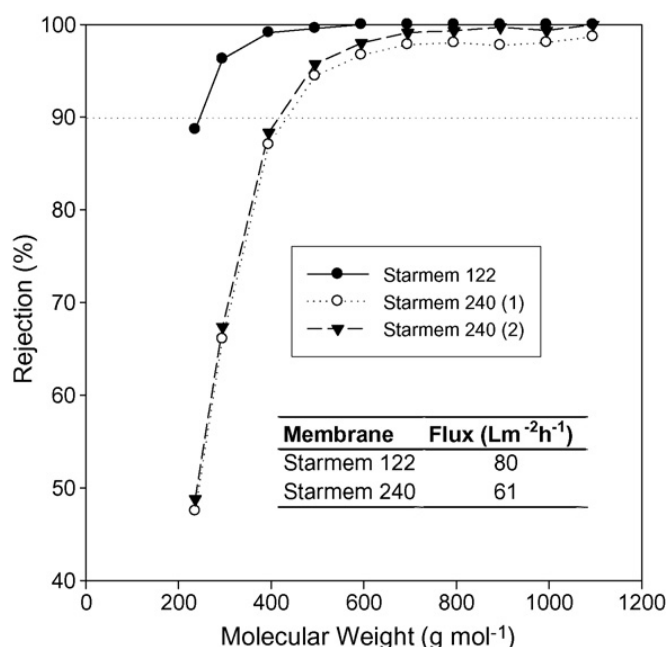


Figure IV.23. Exemple de détermination de Seuil de coupure d'une membrane[86]

Pour nos études nous avons choisi la membrane **DuraMem™ 200** (assurant $R_j = 90\%$ pour des composés avec masse moléculaire $M = 200\text{ g/mol}$). La masse moléculaire de notre composé cible – l'acide rosmarinique ($M = 360,40\text{ g/mol}$) est plus grande que le *Seuil de coupure* de cette membrane, ce qui assure au moins un rejet de 90%. Le *Rejet* effectif de l'AR obtenu avec cette membrane est discuté dans chapitre IV.4.4.2.

IV.4.3. Expérimentations

Dans nos études le procédé de nanofiltration a été utilisé pour concentrer des solutions obtenues par extraction solide-liquide en mode batch. Les solvants utilisés pour l'extraction ont été 50 % et 80 % éthanol. Le premier donne de meilleurs résultats d'extraction de l'acide rosmarinique à partir de la mélisse. Le deuxième correspond mieux aux recommandations du fournisseur de membranes d'éviter le traitement de solutions contenant beaucoup d'eau. Nous avons préféré travailler préalablement avec le solvant plus concentré en alcool pour prolonger la vie de la membrane. Afin de compenser son pouvoir solvant réduit, nous avons effectué des triples extractions (cf. IV.3.2.8.) dont les extraits ont été soumis à nanofiltration. La matière végétale soumise à l'extraction solide – liquide a été de la mélisse broyée, prétraitée ou non avec du CO₂ supercritique.

A la fin de la première extraction, l'extrait liquide est séparé du résidu solide par filtration conventionnelle et ensuite soumis à nano-filtration. Le résidu solide passe par une seconde étape d'extraction avec du solvant frais en même quantité que dans l'étape précédente. De même, l'extrait obtenu est nano-filtré et le résidu solide subit une troisième extraction, toujours avec la même quantité de solvant.

Afin d'étudier le pouvoir solvant du filtrat issu de la triple extraction (1), nous l'avons utilisé comme solvant dans un schéma consécutif de triple extraction (2). Le filtrat obtenu par nano-filtration de l'extrait d'une étape donnée de la triple extraction (1-i) a été réutilisé comme solvant dans la même étape d'un nouveau cycle de triple extraction (2-i) : Le filtrat obtenu par nano-filtration de l'extrait de la première étape de l'extraction (1-I) devient solvant dans la première étape de l'extraction (2-I) d'un nouvel échantillon de plante, le filtrat de la seconde extraction (1-II) est utilisé comme solvant dans la seconde étape de l'extraction (2-II) et le filtrat de la troisième extraction (1-III) devient solvant de la troisième étape d'extraction (2-III).

Avant le début de nano-filtration des extraits, la membrane a été mise en fonction avec 300 ml d'éthanol 80 % à 30 bar pour éviter des effets éventuels de compression de la membrane et pour enlever les huiles mises par le fabricant pour protéger sa couche active. Ensuite, une solution d'AR pur dans 80 % éthanol (4,6 g/l) a été filtrée pour confirmer le haut rejet de la membrane DuramemTM 200 rapportée préalablement [94].

Le volume des extraits soumis à nano-filtration a été de 45 ml. Les filtrats ont été collectés dans un cylindre et le temps de collection d'un volume donné a été mesuré. A la fin, des échantillons du liquide sortant de la cellule ont été pris et analysés pour déterminer leurs concentrations en AR. Les concentrations moyennes du filtrat et rétentat ont également été déterminées. Le procédé a été arrêté pour un volume de rétentat tel que la concentration de l'acide rosmarinique ne dépasse pas sa solubilité afin d'éviter la cristallisation et le colmatage de la membrane. En général, autour de 30 ml du volume initial de l'extrait ont été séparés, ce qui correspond à une concentration triple dans le rétentat. Les extraits obtenus par les deux solvants (50 et 80 % d'éthanol) ont été soumis à nano-filtration en utilisant la même membrane. Entre les deux séries successives la membrane a été trempée dans le solvant de l'extrait à traiter prochainement.

IV.4.4. Résultats

Figure IV.24. montre les concentrations en AR des extraits liquides dans les trois étapes d'extraction à des conditions différentes.

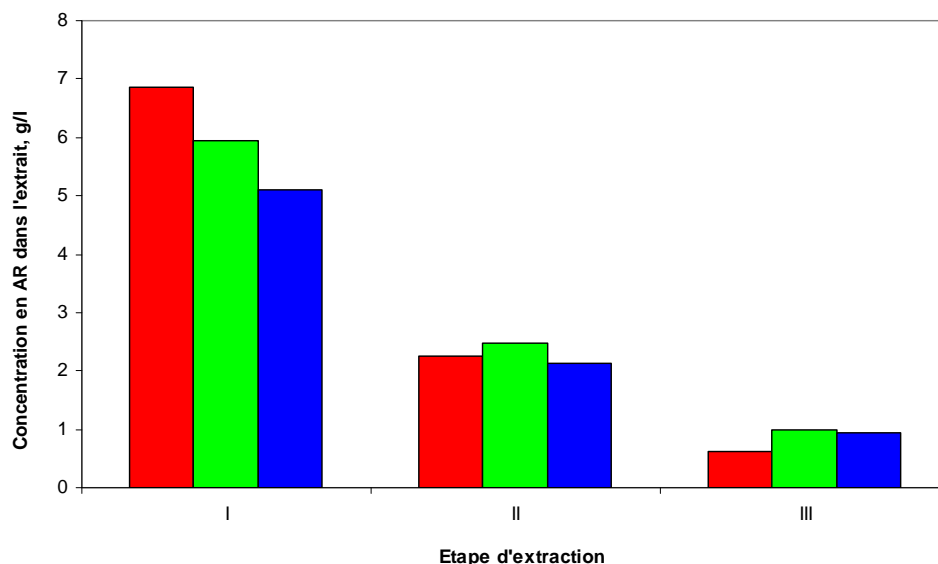


Figure IV.24. Concentration en AR dans les extraits liquides de la première, seconde et troisième étape de la triple extraction : ■ – à partir de la mélisse non-prétraitée, solvant 50 % éthanol ; ■ – à partir de plante prétraité par CO₂ supercritique (90 bar, 50 °C, débit de CO₂ 5 g/min), solvant 80 % éthanol ; ■ – à partir de la mélisse non-prétraitée, solvant 80 % éthanol

L'analyse des résultats de cette figure, basée sur le bilan de matière sur l'AR montre que l'effet prédominant dans la seconde et troisième étape est le lavage. Cependant, surtout dans le cas du solvant 80 % éthanol, une quantité supplémentaire est extraite pendant les étapes II et III, ce qui compense le taux d'extraction inférieur dans la première étape avec ce solvant. Enfin, le rendement total d'AR à partir de la matière végétale sèche après la triple extraction atteint approximativement la même valeur avec les deux solvants. Dans ces circonstances, le solvant contenant 80 % éthanol est plus intéressant que celui à 50 % éthanol. En effet :

- La solubilité de l'acide rosmarinique dans 80 % éthanol est plus grande et cela permet d'obtenir par nano-filtration un retentat plus concentré.

- La durée de vie de la membrane est plus longue, selon les recommandations du fabricant (*MET Ltd*).

IV.4.4.1. Bilan de matière de l'acide rosmarinique

Le bilan matière a été utilisé pour évaluer la validité de chaque expérience. L'erreur a été calculée par le rapport de la différence des deux termes de l'équation de bilan

$$V_A C_A = V_R C_R + V_F \bar{C}_F \quad (\text{IV.17})$$

où : V_A , V_R et V_F (L) sont, respectivement, les volumes d'alimentation, du rétentat et du filtrat, C_A et C_R (g/L) sont, respectivement, les concentrations en acide rosmarinique de l'alimentation et du rétentat, \bar{C}_F (g/L) est la concentration moyenne en AR dans le filtrat.

La valeur moyenne de l'erreur a été environ 3 %. Le terme de droite de l'équation (IV.17) a été toujours inférieur à celui de gauche à cause des volumes non récupérés immobilisés dans la membrane, dans les tubes et sur les parois de la cellule.

IV.4.4.2. Rejet du composé-cible

Le rejet de l'AR par la membrane a été calculé par trois relations :

$$R_1 = 1 - \frac{\bar{C}_F}{C_A} \quad (a); \quad R_2 = 1 - \frac{C_{Ff}}{C_R} \quad (b); \quad R_3 = \frac{\lg\left(\frac{C_R}{C_A}\right)}{\lg\left(\frac{V_A}{V_R}\right)} \quad (c) \quad (\text{IV.18})$$

avec C_{Ff} (g/L) concentration en AR du filtrat à la fin de la filtration.

Les résultats des équations (IV.19 a) et (IV.19 b) ont donné un très bon accord ($R_2 - R_1 \leq 0,01$). Dans la suite des calculs les valeurs moyennes arithmétiques de R_1 et R_2 ont été appliquées ainsi utilisant toutes les quatre valeurs expérimentales de la concentration. L'équation (IV.19 c), obtenue par intégration du bilan de masse différentiel, donne dans la plupart des cas des valeurs inférieures pour R_1 ($R_3 - R_1 \leq 0,02$). Pourtant, toutes les valeurs du rejet ont été déterminées supérieures de 99 %, ce qui confirme la sélectivité excellente de la membrane DuramemTM 200. Ces résultats sont meilleurs que ceux obtenus avec d'autres

membranes testées antérieurement [94] – Duramem™ 500 et Duramem™ 300, qui ne dépassent pas des valeurs de l'ordre de 95 % (dans le cas de Duramem™ 300).

Avec cette valeur élevée du taux de rejet, l'acide rosmarinique a pu être concentré d'un facteur supérieur à 3 pour atteindre des valeurs de 15 – 19 g/L pour les premiers extraits de la plante. Ces valeurs sont proches de la solubilité de l'AR (15g/L dans l'eau et 25 g/L dans l'éthanol à 25°C [12]). Quelques résultats représentatifs sont exposés dans le tableau IV.3. On ne remarque pas d'influence importante de la concentration en éthanol du solvant ni du pré-traitement supercritique sur la valeur du rejet. Il est à noter l'égalité approximative des rejets de la solution modèle de l'AR et des extraits contenant d'AR. Un tel effet a déjà été rapporté dans le cas de la nano-filtration d'extraits d'AR issus de romarin [94]

Tableau IV.3. Données représentatives pour l'extraction et la nanofiltration de l'acide rosmarinique

| Etape d'extraction | Solvant | C_A | V_A/V_R | C_R | \bar{C}_F | C_{Ff} | $\frac{R_1 + R_2}{2}$ | Erreur du bilan de matière |
|-----------------------|-----------|-------|-----------|-------|-------------|----------|-----------------------|----------------------------|
| N° | % éthanol | g/L | - | g/L | g/L | g/L | - | % |
| 1 | 80 | 5,17 | 3 | 15,39 | 0,025 | 0,030 | 0,997 | -0,4 |
| 1 | 50 | 6,68 | 3 | 19,58 | 0,080 | 0,094 | 0,992 | -1,5 |
| 1* | 80 | 5,94 | 2,7 | 15,55 | 0,024 | 0,029 | 0,997 | -1,6 |
| Solution de l'AR pure | 80 | 4,60 | 3 | 13,6 | 0,074 | 0,077 | 0,994 | -0,5 |
| 2* | 80 | 2,47 | 2,9 | 6,96 | 0,012 | 0,013 | 0,996 | -2,7 |

* avec prétraitement supercritique

IV.4.4.3. Détermination du flux et modélisation

L'évolution du volume du filtrat au cours du temps est présentée sur la figure IV.24. Toutes les courbes indiquent que le flux diminue de façon continue avec le temps et peuvent être modélisées par un polynôme d'ordre 2 :

$$\frac{V_F}{A} = at + bt^2 \quad (IV.19)$$

où : A (m^2) est la surface de la membrane.

Les valeurs des paramètres empiriques a et b ont été déterminées par confrontation aux résultats expérimentaux utilisant la méthode des moindres carrés (coefficient de corrélation obtenu 0.997 – 0.999).

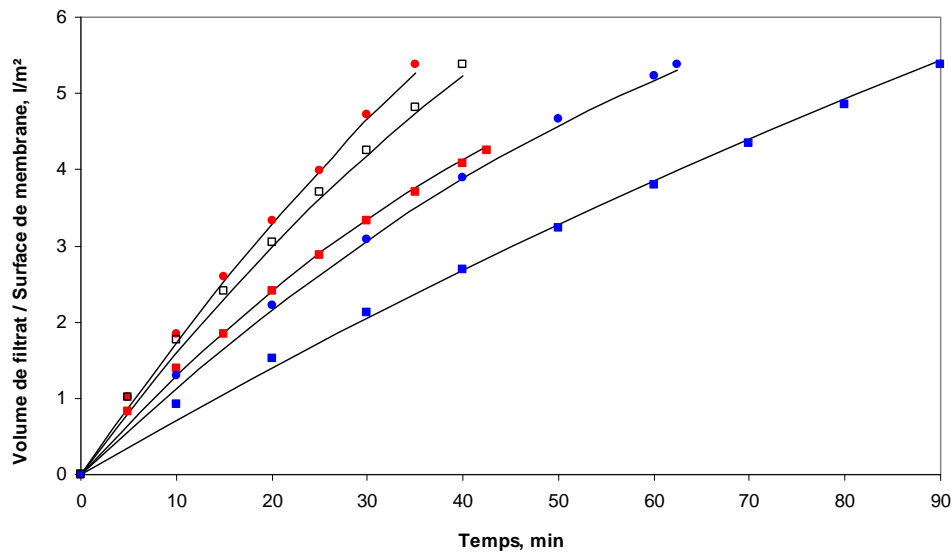
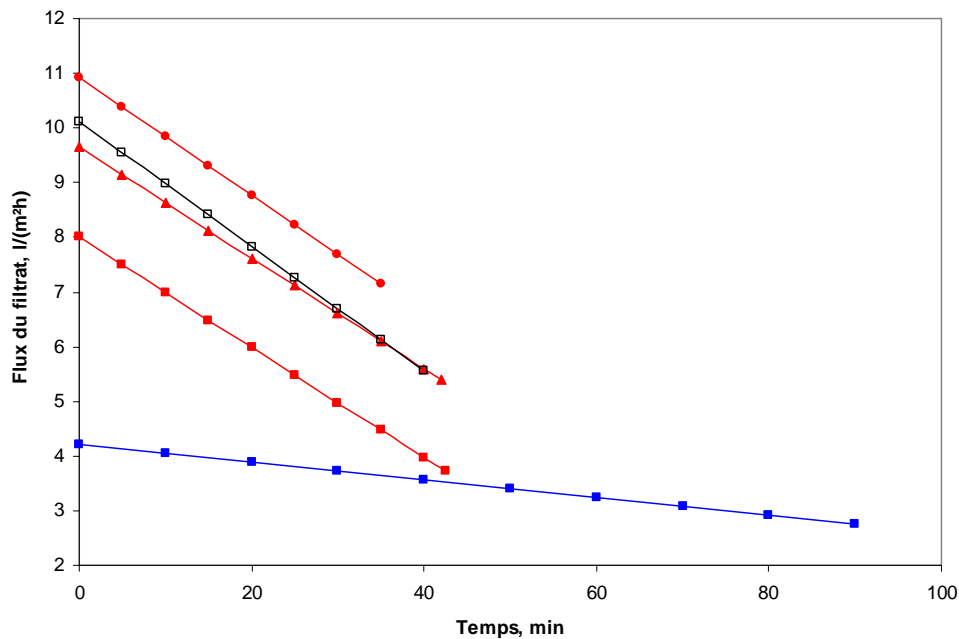


Figure. IV.25. Volume du filtrat accumulé par unité de surface de la membrane en fonction du temps: ● – Solvant 50 % éthanol, étape III ; □ – Solvant 80 % éthanol, solution d'AR pur ; ■ – Solvant 50 % éthanol, étape I ; ● – Solvant 80 % éthanol, étape III, ■ – Solvant 80 % éthanol, étape I ; – courbes calculées par équation (IV.19).

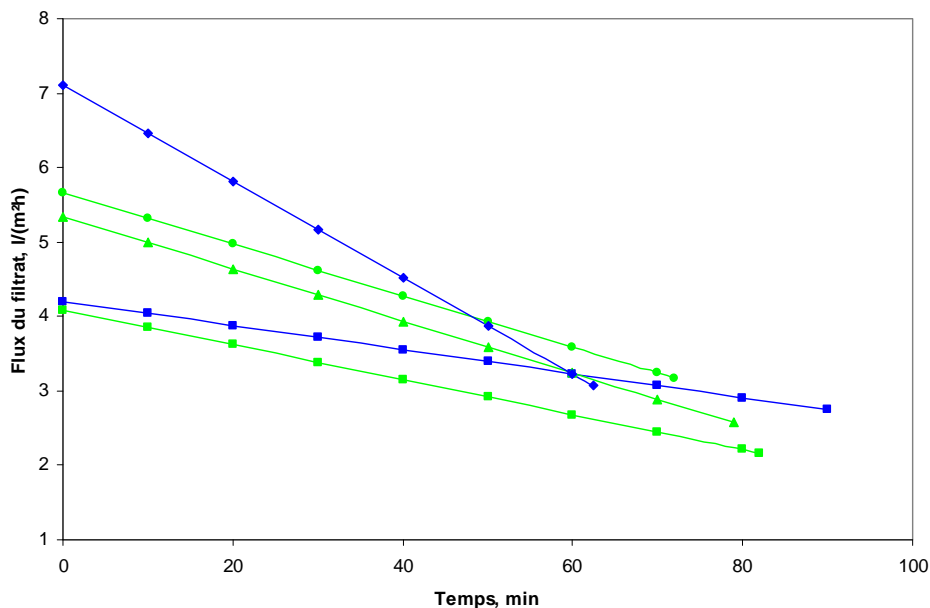
Le flux pour un temps donné a été calculé par l'expression (IV.19) obtenue par dérivation de l'équation (IV.20)

$$J_F = \frac{dV_F}{Adt} = a + 2bt \quad (IV.20)$$

L'évolution du flux de filtrat J_F au cours du temps est présentée sur la figure IV.26. a) et b).



a)



b)

Figure IV.26. a) et b) Variation du flux du filtrat au cours du temps. —●— — Solvant 50 % éthanol, étape III ; —□— — Solvant 80 % éthanol, solution de l'AR pure ; —▲— — Solvant 50 % éthanol, étape II ; —■— — Solvant 50 % éthanol, étape I ; —■— — Solvant 80 % éthanol, étape I ; —●— — Solvant 80 % éthanol, étape III ; —●— — Solvant 80 % éthanol, étape III, prétraitement avec CO₂ ; —▲— — Solvant 80 % éthanol, étape II, prétraitement avec CO₂ ; —■— — Solvant 80 % éthanol, étape I, prétraitement avec CO₂

Pour les extraits avec le solvant 50 % éthanol (figure IV.26.a)), le flux augmente de l'étape I à l'étape III. Cela peut être attribué à la concentration plus faible de l'AR dans les extraits. Le même comportement est valable pour le solvant 80 % éthanol dans le cas de la plante prétraitée avec du CO₂ supercritique (figure IV. 26. b).

Sur la figure IV.26. a), le flux de la solution contenant uniquement de l'AR dans 80 % éthanol est plus élevé que les flux de l'extrait (étape I et II) de la mélisse non-prétraitée. Ce phénomène est sans doute dû à la présence des autres composés extraits parallèlement avec l'AR qui empêchent la filtration et diminuent le flux. Il faut noter que la pente des lignes des extraits sans pré-traitement et la solution modèle est la même.

A des concentrations approximativement égales, les flux avec le solvant contenant 50 % éthanol sont considérablement plus élevés que les flux avec 80 % d'éthanol. Cela peut être attribué à la quantité élevée d'eau dans ce solvant. Malheureusement, la présence d'eau diminue la durée de vie de la membrane et il est donc préférable de travailler avec le solvant contenant moins d'eau. Le pré-traitement avec du CO₂ en état supercritique fait apparaître un flux légèrement plus faible.

L'influence de la *Concentration en AR dans l'extrait* sur la résistance due à la pression osmotique et à la couche de polarisation (le colmatage sur la membrane n'a pas été observé) sur les flux de filtrat et de solvant peut être exprimée par les équations et respectivement

$$J_F = \frac{\Delta P}{R_m + R_O + R_p} \quad (IV.21)$$

$$J_s = \frac{\Delta P}{R_m} \quad (IV.22)$$

où : R_m est la résistance de la membrane, R_O est la résistance due à la pression osmotique, R_p est la résistance due à la couche de polarisation et ΔP est la différence de pression appliquée.

En combinant ces deux équations, la résistance supplémentaire s'exprime par la relation :

$$R_O + R_p = \Delta P \left(\frac{1}{J_F} - \frac{1}{J_s} \right) \quad (IV.23)$$

A faible concentration dans le filtrat (à cause du rejet élevé de la membrane), R_O sera proportionnelle, à chaque instant, à la concentration courante du rétentat. Cette dernière peut être calculée par l'équation (IV.18c) en utilisant la valeur expérimentale du volume de filtrat collecté à cet instant. Le *Flux du filtrat* J_F peut être calculé par l'équation (IV.20) et le *Flux du solvant* J_S peut être déterminé pendant le conditionnement de la membrane avec le solvant pur. A partir de ces considérations ($R_O + R_p$) a été déterminé et tracé en fonction de la concentration courante du rétentat (C_R) pour le solvant 80 % éthanol ($J_S = 19 L/(m^2h)$) (figure. IV.26.). En échelle double-logarithmique, des droites ont été obtenues, ce qui suggère une relation de la forme suivante :

$$R_o + R_p = kC^n \quad (IV.24)$$

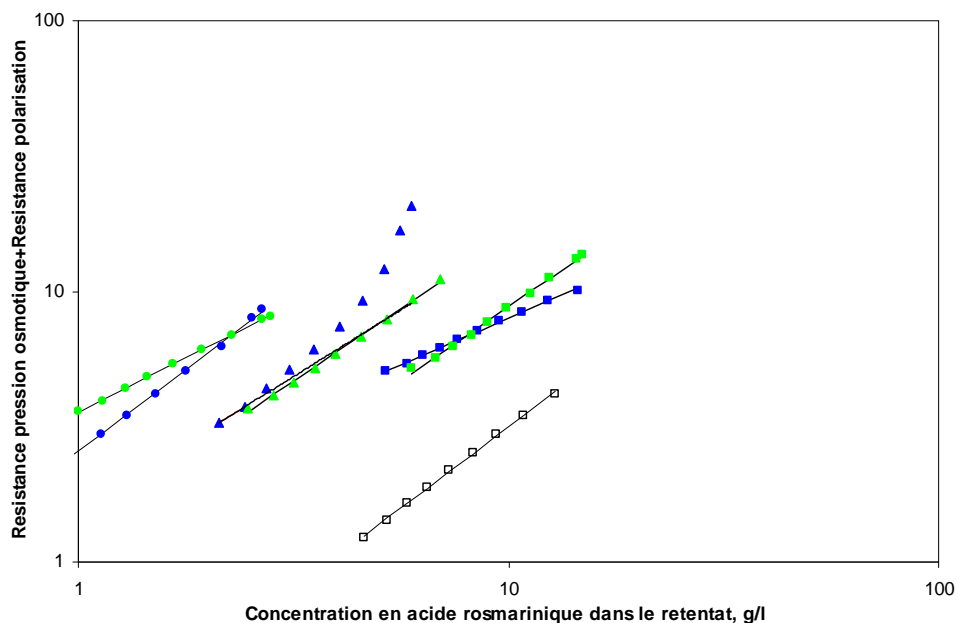


Figure. IV.27. Résistance supplémentaire due à la pression osmotique et à la couche de polarisation en fonction de la concentration courante du rétentat. Solvant 80 % éthanol : ● – Etape III, prétraitement avec CO_2 ; ▲ – Etape II, prétraitement avec CO_2 ; ■ – Etape I, avec prétraitement CO_2 ; ● – Etape III, sans prétraitement ; ▲ – Etape II, sans prétraitement ; ■ – Etape I, prétraitement ; □ – solution de l'AR pur ; — –valeurs calculées

Les valeurs de k et n ont été identifiées par la méthode des moindres carrés. Des valeurs similaires de n pour les extraits et la solution d'AR pur ont été obtenues ($n_e = 0,68 \div$

1,19 et $n_s = 1,2$). Toutes les valeurs de n sont voisines de 1, ce qui est en accord avec l'équation de Van't Hoff pour la pression osmotique, valable pour les faibles concentrations. Cependant, les valeurs de k sont différentes, peut-être à cause de la différence des composés non-désirés présents dans l'extraite. Les valeurs du n voisines de 1 indiquent donc que la résistance supplémentaire est surtout due à la pression osmotique ($R_O \gg R_P$). Lorsque l'agitation est arrêtée (fig. IV.27. - ▲), la valeur de la somme (R_O+R_P) commence à augmenter plus rapidement à cause de l'augmentation de la couche de polarisation. On peut donc conclure que l'agitateur de la cellule réalise à 350 tr/min une bonne homogénéisation du liquide dans la cellule et élimine l'influence de la couche de polarisation.

IV.4.4.4. Réutilisation du filtrat en tant que solvant

Une valeur élevée du rejet élevé signifie que le filtrat est débarrassé du composé-cible. Ceci ouvre la possibilité de réutiliser le filtrat comme solvant d'extraction. Pour confirmer cette option, nous avons mené des expériences en remplaçant le solvant frais par du filtrat. Comme nous l'avons déjà expliqué, nous avons utilisé le filtrat de chaque étape de l'extraction triple comme solvant de la même étape d'un nouveau cycle d'extraction triple. Le solvant utilisé a été 80 % éthanol.

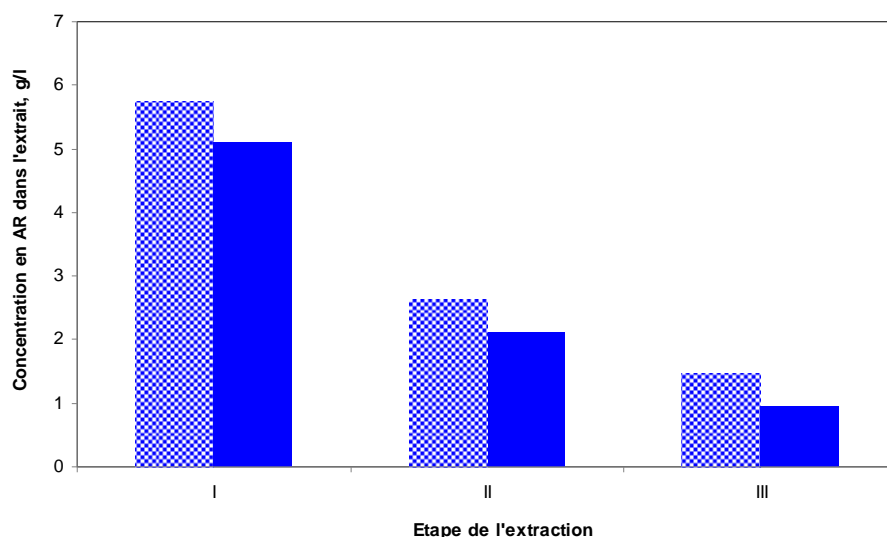


Figure IV.28. Concentration en AR dans l'extraite avec du solvant frais (■) et du filtrat utilisé comme solvant (▨)

Selon les résultats présentés sur la figure IV.28 *Concentration en AR dans l'extrait* liquide obtenue avec le filtrat utilisé comme solvant est même légèrement plus élevée que celle obtenue avec le solvant frais. La différence pourrait être attribuée à la présence inévitable d'acide rosmarinique dans le filtrat recyclé, l'évaporation partielle de l'éthanol pendant les manipulations avec le filtrat, les imprécisions occasionnelles liées à la variation de la teneur en AR dans la matière première etc. Ces résultats sont encourageants puisqu'ils prouvent que le filtrat peut être recyclé comme solvant. De cette façon il devient possible d'organiser des schémas de couplage des étapes du procédé.

IV.4.4.5. Conclusions

Les résultats d'études sur la nano-filtration montrent qu'elle représente une alternative attractive et raisonnable à la concentration des solutions par évaporation, en proposant une consommation d'énergie réduite. Les valeurs élevées du *Rejet* de l'AR ($R_j > 99 \%$) ont été observées, indépendamment du prétraitement, de la concentration du solvant et de la concentration en AR dans les réténats. Les valeurs des flux de filtrat obtenues sont compatibles avec une application industrielle. On n'a pas observé le colmatage sur la membrane jusqu'à des concentrations proches de la solubilité de l'AR dans le mélange solvant.

L'égalité de la valeur des rejets de la solution modèle et de celles des extraits, et l'égalité des pentes des courbes d'évolution du flux font apparaître des avantages supplémentaires. L'utilisation des solutions modèles des composés purs semble utile à la prévision de l'évolution du flux à travers la membrane à des concentrations différentes en composé cible dans le réténat. En connaissant la pente de la courbe du flux pour la solution modèle, on peut tracer la courbe pour le flux d'extrait à partir de quelques mesures seulement. Le même processus est valable pour l'estimation de la résistance due à la pression osmotique des solutés et à la couche de polarisation en fonction de la concentration du réténat. D'après nous, la généralisation de cette conclusion nécessiterait néanmoins des études complémentaires en considérant le comportement d'autres systèmes (membrane, plante, solvant, substances, etc.).

IV.5. Application semi-industrielle : extraction solide-liquide dans un extracteur rotatif

Dans la perspective d'une application industrielle, il est nécessaire de réaliser des tests à plus grande échelle afin d'obtenir des informations sur le procédé dans des conditions plus proches d'un procédé réel industriel.

Pour effectuer des tests nous avons choisi l'appareil *Phytex*[®], construit à l'Institut de Génie Chimique de Sofia. Le principe de cet appareil est de créer des conditions favorables à l'intensification du processus de contact de la matière solide et du solvant, proches des celles réalisées au laboratoire en mode batch.

IV.5.1. Expérimentations et résultats

Nous avons donc étudié plus profondément le processus d'extraction de l'acide rosmarinique contenu dans la mélisse. D'autre part, afin de tester le fonctionnement de l'installation avec des matières premières différentes, l'extraction de feuilles de ginkgo (*Ginkgo biloba*) a été aussi réalisée. Bien que hors du cadre de cette étude, certains résultats sur cette matière première seront présentés à titre de comparaison.

Dans le cas de la mélisse, avant d'être chargée dans l'extracteur, la matière première est d'abord broyée et, dans le cas de la mélisse, tamisée et divisée en deux fractions de taille moyenne 0,94 et 1,33 mm. L'extracteur est chargé avec 4,8 kg de la matière végétale, ensuite mise en contact avec 35 L du solvant (15 % éthanol) à 50°C. Cette valeur de la concentration du solvant a été choisie en respectant les recommandations du constructeur de travailler avec des solutions alcooliques à faible concentration afin d'éviter l'inflammation du solvant ainsi que l'accumulation des vapeurs inflammables. La valeur de l'hydromodule est autour de 7. Ce n'est pas loin de la valeur 10, pour laquelle nous avons montré, qu'il n'y a pas de limitation de solubilité (voir IV.3.2.6).

Dans le cas du ginkgo, la matière est broyée et directement chargée dans l'extracteur (sans fractionnement en fonction de la taille des particules). L'hydromodule est pris à la valeur $R = 6$.

Pendant l'extraction, des échantillons de l'extrait liquide sont pris périodiquement et manipulés suivant le schéma déjà décrit en IV.2.2. - évaporation et séchage sous vide, suivi par analyse HPLC (dans le cas de la mélisse). Après la fin de l'extraction, l'extrait liquide est

soumis à distillation sous vide pour récupérer l'alcool et la solution aqueuse restante est séchée par atomisation. Le produit final représente une poudre brune qui sera traitée plus tard par le CO₂ supercritique (voir IV.5.3.3.) afin d'obtenir une purification supplémentaire de ce produit.

Les résultats sont présentés en utilisant les paramètres :

Taux d'extraction E , % (dans le cas d'extraction de l'acide rosmarinique) :

$$E(\%) = \frac{m_{AR}}{m_{ARmax}} \times 100, \quad (IV.3)$$

Rendement de l'extrait total Y_{EX} , % (lorsqu'on compare la cinétique de l'extraction de la mélisse et de ginkgo :

$$Y_{EX}(\%) = \frac{m_{EX}}{m_{mat.prem}} \times 100 \quad (IV.2)$$

Concentration en acide rosmarinique dans l'extrait C_{AR} , % (pour quantifier la purification du produit après le traitement avec l'ESC) :

$$C_{AR}(\%) = \frac{m_{AR}}{m_{EX}} \times 100 \quad (IV.1)$$

IV.5.1.1. Influence de la granulométrie sur l'extraction de l'acide rosmarinique

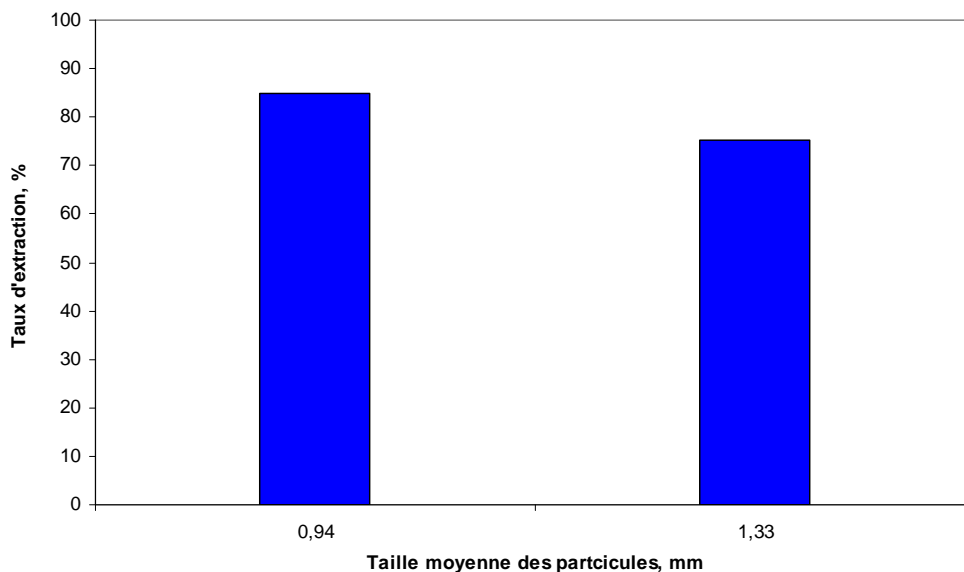


Figure IV.29. Influence de la granulométrie sur le Taux d'extraction

La figure IV.29. présente le taux d'extraction de l'acide rosmarinique en faisant varier la taille des particules de mélisse. Ici on confirme le résultat déjà obtenu en conditions laboratoires batch - le taux d'extraction est plus élevé pour les particules les plus petites.

IV.5.1.2. Cinétique de l'extraction

Pour observer l'évolution de l'extraction au cours de temps, une étude de cinétique du processus dans l'extracteur a été faite. L'objectif ici est double. D'un part, on peut estimer le temps de contact entre la matière végétale et le solvant nécessaire à l'achèvement du processus. Le deuxième objectif est de comparer l'efficacité de cet appareil avec celle d'une extraction laboratoire en batch menée dans des conditions d'agitation parfaite.

Les tests ont été réalisés avec deux plantes – mélisse et ginkgo - avec le même solvant : 15 % éthanol. Les résultats sont présentés sur la figure IV.30. Y_{ex} représente la quantité de matière extraite par rapport à la quantité initiale de matériel végétal.

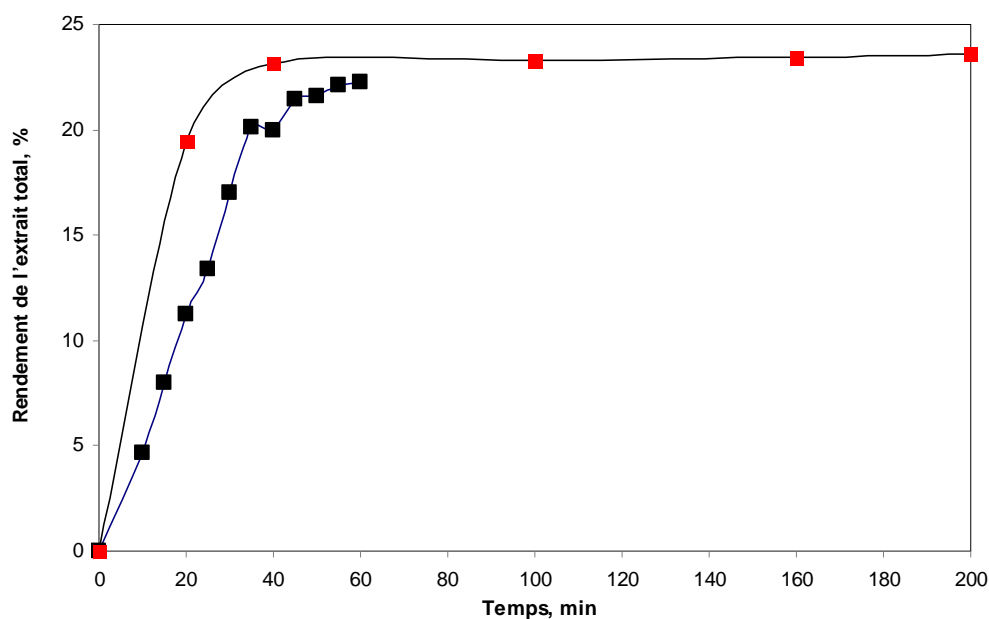


Figure IV.30. Cinétique d'extraction : —■— —Mélisse, —■— —Ginkgo (*Ginkgo biloba*)

On voit que l'équilibre (les plateaux des courbes) est atteint après 40 - 50 min. Cela nous permet de définir le temps de contact nécessaire à l'extraction des plantes dans cet appareil. On voit aussi que pour les deux plantes le rendement est approximativement le même –autour de 23%.

La figure IV.31. présente les résultats de l'extraction de l'acide rosmarinique avec différentes granulométries de la matière solide.

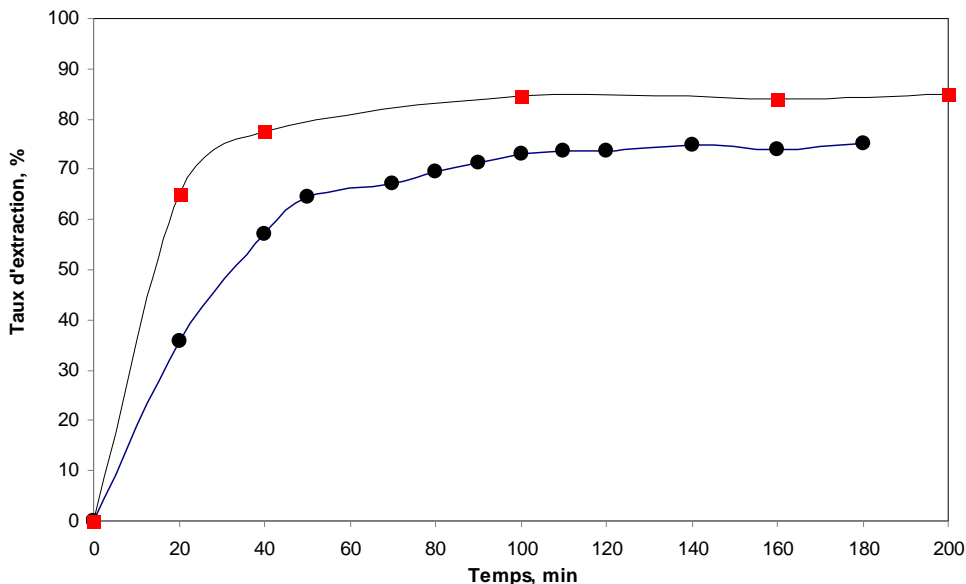


Figure IV.31. Influence de la granulométrie sur la cinétique d'extraction de l'acide rosmarinique à partir de la mélisse. —■— Taille moyenne 0,94 mm ; —■— Taille moyenne 1,33 mm

Comme attendu, le taux d'extraction maximal de l'AR (le plateau) est moins élevé dans le cas de particules plus grosses. C'est un résultat tout à fait logique pour les raisons expliquées plus haut (voir IV.2.3.3 et IV.4.3.1). On constate également ici, que le temps de contact nécessaire pour arriver à l'équilibre devient plus élevé pour des fractions plus grosses.

La figure IV.32. représente une illustration comparative des cinétiques d'extraction de l'acide rosmarinique laboratoire en batch (agitation parfaite) et dans l'appareil rotatif. Selon les résultats, la cinétique du processus dans l'extracteur rotatif suit exactement celle d'une extraction laboratoire. D'où la conclusion que l'extracteur rotatif assure des conditions de transfert intenses, similaires au régime d'agitation parfaite.

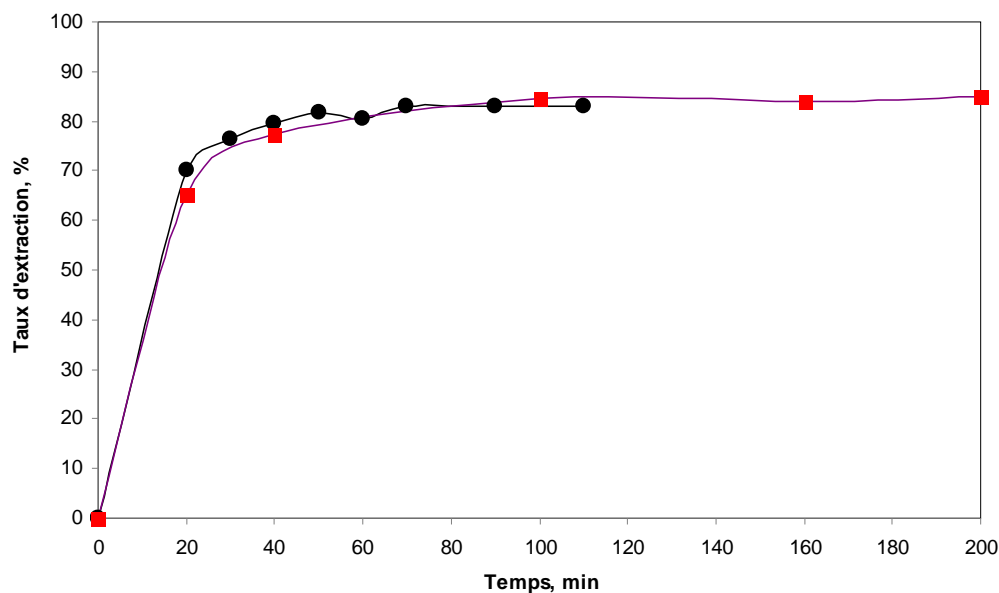


Figure IV.32. Cinétique d'extraction de l'acide rosmarinique à partir de la mélisse. —■— — Dans l'extracteur rotatif (90 tr/min) ; —■— — En mode batch (échelle laboratoire)

IV.5.1.3. Couplage avec l'ESC

Afin d'augmenter le contenu en acide rosmarinique dans l'extrait sec issu de l'extracteur rotatif, nous avons traité cet extrait (sous forme de poudre après le séchage par atomisation) par l'ESC. Ensuite, le résidu supercritique est analysé par HPLC. Le mode opératoire lors de l'extraction supercritique était le suivant : pression dans l'extracteur 200 bar, température de l'extracteur 40 °C, durée de l'extraction 5 heures. Deux débits différents de CO₂ ont été appliqués : Q = 5 et 20 g/min.

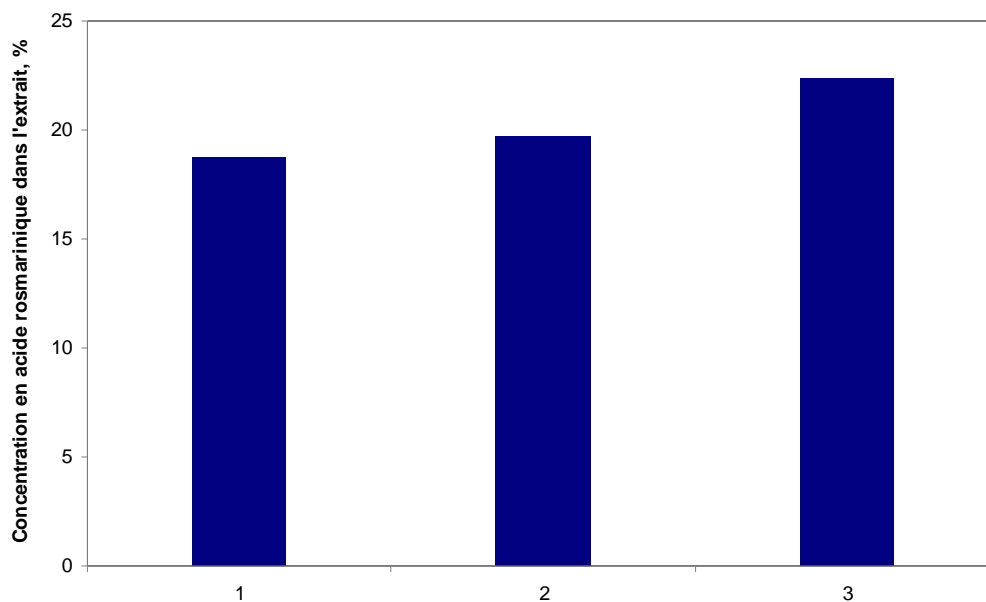


Figure IV.33. Concentration en acide rosmarinique dans l'extrait. 1 – Sans traitement supercritique ; 2 – traitement supercritique, débit de CO₂ = 5 g/min ; 3 – traitement supercritique, débit de CO₂ = 20 g/min

Les résultats (figure IV.33.) montrent une augmentation de la concentration d'acide rosmarinique dans l'extrait, plus élevée dans le cas du débit de CO₂ le plus élevé

Cette amélioration du produit final est plus importante quand on travaille avec un débit plus élevé à cause de la plus grande quantité de CO₂ en contact avec la matière première. Cela signifie que dans le cas du plus faible débit, l'ESC n'est pas encore terminée au bout de 5 h.

IV.5.1.4. Modélisation

Le modèle utilisé pour simuler l'extraction solide-liquide en condition batch à l'échelle laboratoire (cf. IV.3.2.10.) a été appliqué à l'extraction de l'acide rosmarinique à partir de la mélisse, effectuée dans l'extracteur rotatif semi-industrielle. La proportion des tiges et des feuilles a été toujours estimée est égale à 3:7. Les solutions du modèle, dans le cas d'extraction de différentes tailles de particules sont présentées sur les figures IV.34. et IV. 35.

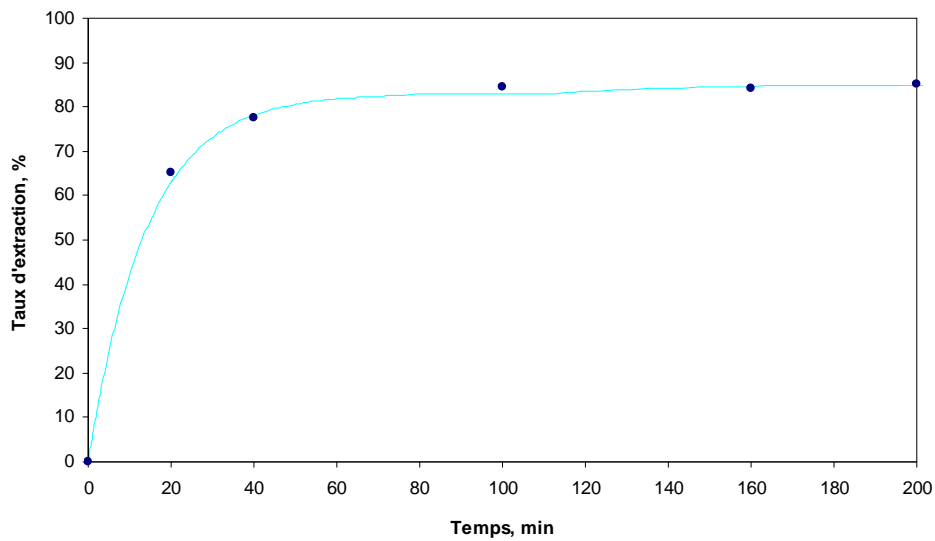


Figure IV.34 Application du modèle sur la cinétique d'extraction solide-liquide dans l'extracteur rotatif. Taille des particules 0,94 mm. ● points expérimentaux ; — courbe de simulation

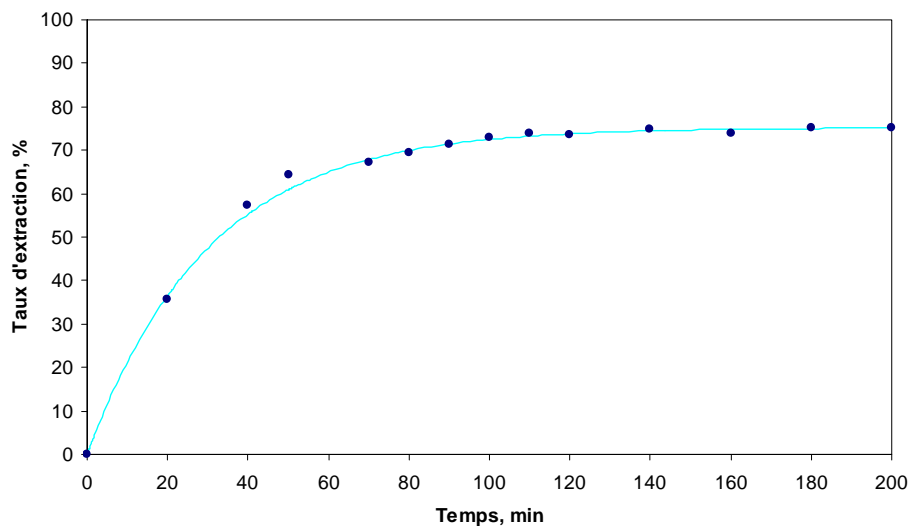


Figure IV.35. Application du modèle sur la cinétique d'extraction solide-liquide dans l'extracteur rotatif. Taille des particules 1,33 mm. ● points expérimentaux ; — courbe de simulation

De même que pour les simulations à l'échelle laboratoire, les solutions du modèle sont en bon accord avec les résultats expérimentaux à l'échelle semi-industrielle. Une comparaison

entre les paramètres ajustables obtenus avec ces deux modes d'extraction en utilisant le même solvant (15 % éthanol) est présentée dans le tableau IV.4.

Tableau IV.4. Valeurs de la diffusivité D et du coefficient de transfert de masse β obtenues avec le modèle (15% éthanol)

| Type extracteur | Taille des particules, <i>mm</i> | $D*10^{13}$, m^2/s | $\beta*10^7$, m/s |
|--------------------|-------------------------------------|-----------------------|----------------------|
| Batch | 0,94 | 9,99 | 3,45 |
| Extracteur rotatif | 0,94 | 9,997 | 3,44 |
| Extracteur rotatif | 1,33 | 10 | 3,46 |

Les valeurs obtenues sont très proches. Cela correspond parfaitement au résultat illustré sur la figure IV.32, montrant la cinétique très similaire du processus en batch et dans l'extracteur rotatif. Les valeurs similaires de D pour des tailles des particules différentes signifient que la diffusivité dans le solide est indépendante de la taille des particules et dépend surtout de la structure de la matrice végétale.

Les résultats ci-dessus signifient que le modèle est applicable pour décrire le procédé à l'échelle semi-industrielle. Les valeurs similaires des paramètres ajustables à deux échelles ouvrent la perspective d'utiliser les paramètres déterminées à l'échelle laboratoire pour décrire le procédé à échelle industrielle.

Chapitre V

Couplages des différentes techniques

V. Couplages des différentes techniques

Dans notre travail, nous avons utilisé d'abord séparément les méthodes d'extraction. Suivante

- L'extraction Soxhlet a été utilisée pour estimer la teneur totale en acide rosmarinique dans les divers lots de mélisse et pour déterminer l'efficacité des divers solvants.

- L'extraction batch nous a permis de déterminer les conditions optimales d'extraction comme le type et la concentration du solvant, la température, la taille des particules solides et la valeur de l'hydromodule sur la cinétique d'extraction d'acide rosmarinique de mélisse. La cinétique du processus nous a servi à déterminer le temps nécessaire pour l'extraction complète.

- Afin d'obtenir des informations sur le procédé dans des conditions plus proches d'un procédé réel industriel, nous avons mis en œuvre cette extraction conventionnelle batch dans un extracteur rotatif semi-industriel. La comparaison avec l'extraction laboratoire en mode batch a montré que l'extracteur rotatif assure des conditions opératoires similaires au régime d'agitation parfaite.

- Nous avons ensuite utilisé la nanofiltration pour concentrer les extraits liquides. Cette technique nous a permis de protéger les qualités du produit en travaillant à basse température et d'éviter l'étape d'évaporation, ce qui rend de plus les procédés plus économiques au niveau de la consommation d'énergie ;

- L'extraction supercritique a été utilisée comme procédé pour extraire l'huile essentielle de mélisse. C'est une technique très performante pour l'extraction d'huiles essentielles mais nous avons néanmoins constaté la co-extraction de composés non-désirés, tels que les cires. Nous avons tenté de séparer les cires de l'huile essentielle en jouant sur les conditions de température et de pression de l'extracteur et du premier séparateur. Nous avons réussi à isoler une partie des cires du produit final et cela représente une approche prometteuse. Cependant, des études complémentaires dans ce domaine restent nécessaires.

Nous avons ensuite testés plusieurs schémas de couplages de ces techniques

V.1. Couplage de deux extracteurs Soxhlet

Il s'agit d'un couplage de deux extractions Soxhlet avec solvants hexane et éthanol respectivement (figure V.1.).

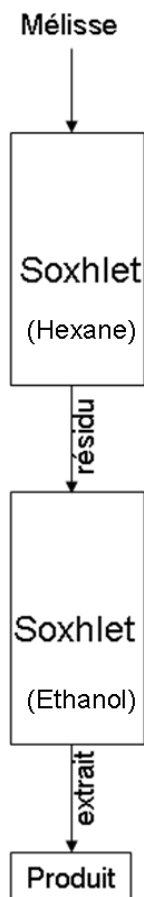


Figure V.1. Schéma de couplage de deux extractions Soxhlet.

La concentration en acide rosmarinique du produit final a augmenté de 6 % par rapport au produit obtenu avec le simple Soxhlet à l'éthanol. Cependant, l'hexane est un solvant toxique et doit être totalement éliminé du produit par des traitements supplémentaires, ce qui pose des difficultés du point de vue de l'application pratique du produit final.

V.2. Couplage de l'extraction supercritique avec l'extraction Soxhlet

Nous avons donc choisi comme alternative l'utilisation du CO₂ supercritique. De plus, l'extraction avec du CO₂ permet d'ajuster la sélectivité et le pouvoir solvant selon les paramètres opératoires. Le schéma présenté sur la figure V.2. a été appliqué.

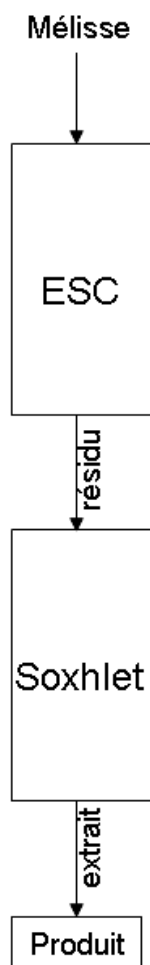


Figure V.2. Schéma de couplage de l'extraction supercritique avec l'extraction Soxhlet

Les concentrations des produits obtenus avec ce schéma sont comprises entre 1 et 12,1% selon les conditions. De plus, le CO₂ n'est pas toxique, ne laisse pas de traces et est facile à être éliminer, tout simplement, en diminuant la pression. On peut donc conclure que le couplage de ces deux techniques a beaucoup plus d'avantages par rapport au couplage présenté auparavant.

V.3. Couplage de l'extraction supercritique avec l'extraction batch

Nous avons ensuite remplacé le Soxhlet de ce schéma par une extraction en mode batch (figure V.3.).

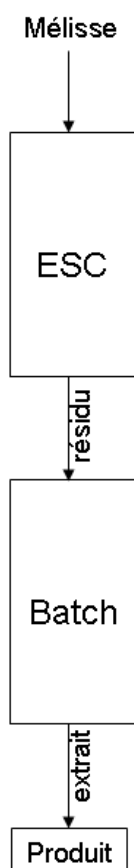


Figure V.3. Schéma de couplage de l'extraction supercritique avec l'extraction batch.

Nous avons testé ce schéma sous diverses conditions pour les deux étapes. On a observé que dans tous les cas, lorsque l'on n'utilise pas de co-solvants et dans certains cas de prétraitement supercritique avec co-solvant, l'extraction a été améliorée et le produit final était plus riche en acide rosmarinique par rapport au procédé batch simple. Si on ajoute que l'extraction en mode batch permet d'ajuster plus de paramètres (la concentration du solvant, la température d'extraction, l'hydromodule etc.) que le Soxhlet et qu'elle requiert beaucoup moins de temps pour atteindre une extraction complète, on peut conclure que ce schéma de couplage est beaucoup plus intéressant que le schéma précédent.

V.4. Couplage de l'extraction batch avec la nanofiltration

Le couplage de l'extraction batch avec la nanofiltration comme traitement de l'extrait liquide a ensuite été réalisé. En plus de l'intérêt de fonctionner à basse température de filtration et d'éviter une étape d'évaporation coûteuse, ce couplage permet également de réutiliser directement le filtrat comme solvant. Le schéma est présenté sur la figure V.4.

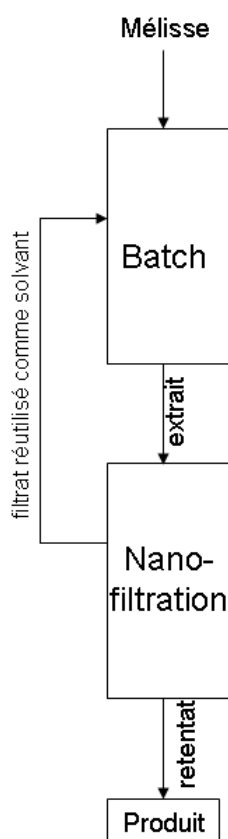


Figure V.4. Schéma de couplage de l'extraction batch avec la nanofiltration.

Les résultats nous ont montré qu'un tel procédé était une alternative attractive à la concentration des extraits par évaporation. Les valeurs élevées du *Rejet* de l'AR ($R_j > 99\%$) indiquent une efficacité importante. De plus, nous n'avons pas observé de colmatage sur la membrane jusqu'à des concentrations proches de la solubilité de l'AR dans le mélange solvant. La réutilisation du solvant a amélioré l'extraction en mode batch ce qui est encore une preuve de la fiabilité du schéma.

V.5. Couplage de l'extraction supercritique, de l'extraction batch et de la nanofiltration

Nous avons également testé une solution hybride des deux derniers couplages qui est présentée sur la figure V.5.

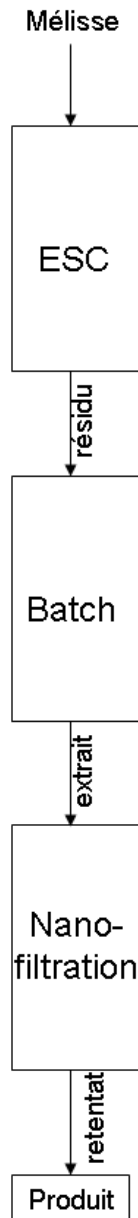


Figure V.5. Schéma de couplage de l'extraction supercritique, de l'extraction batch et de la nanofiltration

En comparant les 2 derniers schémas (V-4 et V-5), les valeurs *Rejet* de l'AR semblent indépendantes du prétraitement supercritique, de la concentration du solvant et de la concentration en AR dans les rétentats. Les valeurs des flux de filtrat obtenues sont compatibles avec une application industrielle et le colmatage sur la membrane jusqu'à des concentrations proches de la solubilité de l'AR dans le mélange solvant n'a pas été observé.

V.6. Couplage de l'extracteur rotatif avec l'extraction supercritique

-Le prochain schéma décrit le couplage de l'extracteur rotatif avec l'ESC.

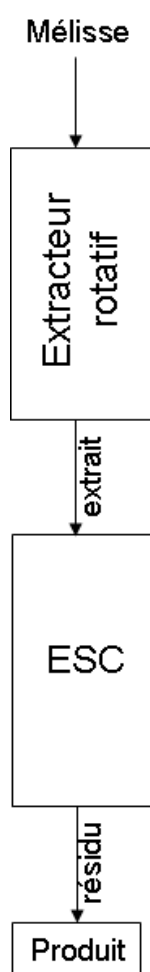


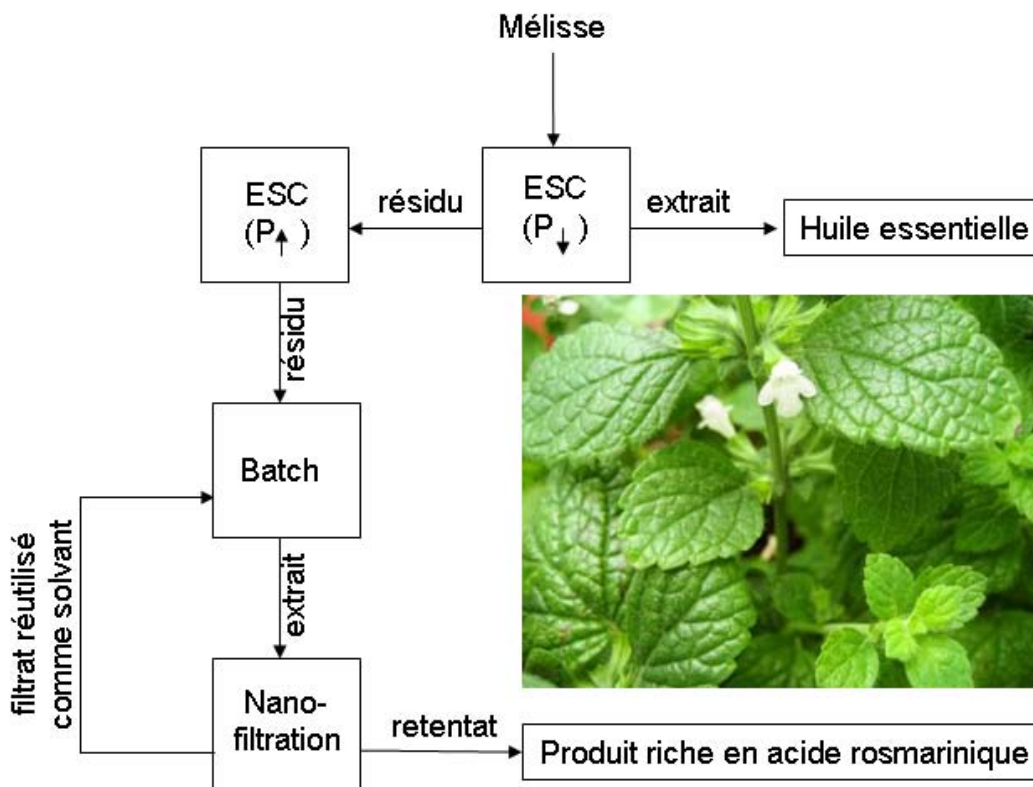
Figure V.6. Schéma de couplage de l'extracteur rotatif avec l'extraction supercritique

Avec ce schéma nous avons « nettoyé » le produit et sa concentration en acide rosmarinique a augmenté de presque 4 %. Les résultats montrent que l'ESC peut être utilisée en couplage non seulement comme étape de prétraitement mais aussi comme étape postérieure à l'extraction d'acide rosmarinique.

On voit donc que plusieurs procédés, couplant les différentes techniques, ont donné des résultats intéressants et le choix pour leur application industrielle dépendra de l'analyse de leur extrapolation

V.7. Conclusion

Nous avons testé plusieurs schémas de couplages entre les différentes techniques, ce qui nous ouvre plusieurs perspectives. Ainsi, une perspective pourrait consister à travailler sur le choix des conditions opératoires de telle façon qu'on puisse isoler les produits cibles dans les extraits et dans les résidus des diverses étapes, ce qui donne la possibilité de « jouer » avec la place de l'étape dans le schéma technologique. Par exemple, utiliser l'ESC à basse pression pour extraire l'huile essentielle et ensuite l'ESC à haute pression pour éliminer les composés non-désirés avant l'extraction conventionnelle dont l'extrait pourrait être concentré par nanofiltration (figure V.8)



Figures V.7. Perspectives de schémas couplés

Chapitre VI

Conclusion générales et perspectives

VI. Conclusion générales et perspectives

L'objectif de ce travail visait la mise au point d'un procédé d'extraction d'antioxydants à partir d'une source naturelle par diverses techniques extractives à haute et basse pressions, séparément ou couplées.

Dans un premier temps, nous avons effectué une recherche bibliographique qui porte sur quelques axes principaux :

- Les antioxydants en général et le besoin de remplacer les antioxydants synthétiques par des produits d'origine naturelle : nous avons donc choisi un composé cible – l'acide rosmarinique, ayant une activité biologique importante, mais qui est surtout un antioxydant très fort. La mélisse étant très riche en ce composé, ce végétal a été choisi comme source naturelle. De plus, l'huile essentielle de mélisse est de haute valeur ajoutée et est utilisée dans la pharmacie, la cosmétique et l'industrie alimentaire. Cela nous a conduit à choisir les composés majeurs de cette huile, le citral et le caryophyllène, comme composés cibles secondaires après l'acide rosmarinique.

- Les techniques d'extraction : la suite de la recherche bibliographique concerne les différentes techniques d'extraction utilisées. Une étude comparative a été faite et trois techniques ont été choisies pour nos études : nous avons utilisé deux techniques conventionnelles, l'extraction en mode batch et l'extraction Soxhlet, choisies pour leur simplicité de mise en œuvre et leur efficacité. Ce sont des techniques classiques mais, pourtant, l'influence de ces paramètres opératoires sur l'extraction d'acide rosmarinique de mélisse n'avait pas été systématiquement étudiée. Une nouvelle technique a été également choisie, l'extraction supercritique, qui a l'avantage d'être considérée comme une technologie « verte » et performante et qui permet de varier facilement sa sélectivité et sa capacité solvant. Cette technique a été utilisée pour le prétraitement de la matière végétale et l'extraction de l'huile essentielle. Pour cette technique, l'influence de la variation des paramètres opératoires de prétraitement et d'extraction de mélisse a également dû être étudiée. En plus de ces techniques extractives, une technique de concentration d'extrait à basse température a été également considérée, la nanofiltration. Nous avons ensuite orienté l'étude bibliographique vers le couplage des techniques extractives.

- La modélisation mathématique des procédés d'extraction a également été prise en compte dans cette recherche bibliographique car c'est une approche rationnelle ouvrant la possibilité d'analyser les résultats expérimentaux, d'obtenir par simulation des indications pour des systèmes différents des systèmes utilisés et qui fournit les éléments et les règles d'extrapolation pour le passage de l'échelle laboratoire à l'échelle pilote ou industrielle.

Dans notre travail, nous avons utilisé d'abord séparément ces méthodes d'extraction. Ensuite, le couplage des différentes techniques a été testé en plusieurs schémas:

On voit donc que plusieurs procédés, couplant les différentes techniques, ont donné des résultats intéressants et le choix pour leur application industrielle dépendra de l'analyse de leur extrapolation.

Un des outils clés pour réaliser une telle analyse réside dans la mise au point de modèle mathématiques pour simuler les cinétiques d'extraction de ces processus..

Le processus de l'extraction batch a été modélisé mathématiquement. La bonne correspondance avec les résultats expérimentaux nous permet d'utiliser cet outil pour la simulation et la prévision des évolutions des processus menées à des conditions opératoires différentes. Le même modèle mathématique a été ensuite utilisé pour simuler la cinétique d'extraction dans l'extracteur rotatif et les résultats ont montré que le modèle est applicable pour décrire le procédé à l'échelle semi-industrielle. Les valeurs similaires des paramètres ajustables à ces deux échelles ouvrent la perspective d'utiliser les paramètres déterminés à l'échelle laboratoire pour décrire le procédé à échelle industrielle

Les cinétiques d'extraction supercritique étudiées expérimentalement ont également été modélisées mathématiquement. Cinq modèles différents ont été testés, les simulations avec le modèle de *del Valle* sont les plus proches à la réalité, produisant des résultats fidèles dans toute la gamme des conditions opératoires. Cela est dû au fait que, contrairement aux autres modèles, celui-ci tient compte des deux types de résistance au transfert de matière existants, externe et interne. D'après nous, le modèle de *del Valle* représente avec une précision suffisante les processus réels et on peut recommander son utilisation, d'autant plus

qu'après les modifications appliquées, ce modèle tient aussi compte de l'existence de particules de géométries différentes (plates et cylindriques).

Les études effectuées dans le cadre de cette thèse ont abordé plusieurs domaines : l'extraction conventionnelle, l'extraction supercritique, la nanofiltration, le couplage de ces techniques selon divers schémas afin d'améliorer l'extraction d'un antioxydant puissant, l'acide rosmarinique, ainsi que des sous-produits à activité biologique, le citral et le caryophyllène. Ces résultats ouvrent plusieurs perspectives pour compléter notre travail dont certaines sont présentées ci-dessous :

En ce qui concerne l'ESC, il nous paraît intéressant d'améliorer la séparation de l'huile essentielle des cires, c'est-à-dire d'étudier plus en détails les conditions dans l'extracteur et le séparateur.

En ce qui concerne l'extraction conventionnelle, le passage de l'échelle semi-industrielle à l'échelle industrielle pourrait faire l'objet d'une étude.

Concernant les couplages, une étude supplémentaire serait nécessaire pour évaluer : l'efficacité d'un couplage de l'ESC directe et la nanofiltration

Une perspective pourrait consister à travailler sur le choix des conditions opératoires de telle façon qu'on puisse isoler les produits cibles dans les extraits et dans les résidus des diverses étapes, ce qui donne la possibilité de « jouer » avec la place de l'étape dans le schéma technologique.

Notons également que le savoir-faire acquis ici permettrait de considérer d'autres systèmes (plante, solvant, composés cibles, etc.) qui pourraient être testés avec ces schémas et cette approche.

Nomenclature

NOMENCLATURE

| | | |
|-------------|----------------------|---|
| a | | <i>paramètres d'équations III.4 et IV.20</i> |
| A_s | (1/m) | surface spécifique |
| a_p | (m ²) | surface de la particule |
| A | (m ²) | surface de la nanomembrane |
| b | | <i>paramètres d'équations III.4 et IV.21</i> |
| c | (kg/m ³) | concentrations en soluté dans la phase fluide |
| C | (kg/kg) | concentration dans la phase solide |
| \bar{c} | (kg/m ³) | concentrations en soluté dans la phase solide |
| \bar{c}^* | (kg/m ³) | concentration en soluté à la surface solide-fluide |
| \bar{c}_0 | (kg/m ³) | concentration initiale dans la phase solide |
| C_A | (g/L) | concentration en acide rosmarinique d'alimentation |
| C_{AR} | (%) | concentration en acide rosmarinique dans l'extrait |
| \bar{C}_F | (g/L) | concentration moyenne en acide rosmarinique dans le filtrat |
| C_{Ff} | (g/L) | concentration en acide rosmarinique du filtrat à la fin de la filtration. |
| C_i | (%) | concentration en composé i dans l'extrait supercritique |
| C_L | (kg/m ³) | concentration au sein du liquide |
| C_p | (kg/m ³) | concentration à l'interface des phases |
| C_R | (g/L) | concentration en acide rosmarinique du rétentat |
| D | (m ² /s) | diffusivité du soluté dans la phase solide |
| D_{12} | (m ² /s) | coefficient de diffusion binaire |
| D_c | (m ² /s) | diffusivité critique du solvant |
| De | (m ² /s) | diffusivité effective dans la matrice végétale |

| | | |
|-----------------|-------------------------|---|
| d_p | (mm) | taille des particules |
| E | (%) | Taux d'extraction |
| h | (m) | cordonnée géométrique au long du lit |
| H | (m) | hauteur totale du lit |
| J | (g/(m ³ .s)) | flux de transfert |
| J_F | (L/(m ² h)) | flux de filtrat |
| J_s | (L/(m ² h)) | flux de solvant |
| k | | paramètre d'équations III.4 et IV.24 |
| k' | (min ⁻¹) | coefficient de transfert |
| k_f | (m/s) | coefficient de transfert de masse dans la phase fluide |
| K_m | | acteur de partition |
| K_p | | coefficient de distribution volumétrique du soluté entre la phase solide et fluide en équilibre |
| k_s | (m/s) | coefficient de transfert de masse dans la phase |
| l | (m) | dimension caractéristique (équation III.14) |
| M_1 | (g/mol) | masse molaire du solvant |
| M_2 | (g/mol) | masse molaire du soluté |
| m_{ARmax} | (g) | la masse extraite de l'acide rosmarinique |
| m_{EX} | (g) | masse d'extrait total sec |
| m_i | (g) | la masse extraite du composé i . |
| $m_{Mat. prem}$ | (g) | masse initiale de la mélisse |
| n | | variable mathématique muette (équation III.6 et III.7) |
| n' | | constante reliée à l'ordre de la courbe (équation III.5) |
| N | | nombre des particules |
| P | (bar) | pression |

| | | |
|-----------|--------------------|---|
| r | (m) | rayon de la particule |
| R | (ml/g) | hydromodule |
| R_1 | | rejet de l'acide rosmarinique (équation IV.18a) |
| R_2 | | rejet de l'acide rosmarinique (équation IV.18b) |
| R_3 | | rejet de l'acide rosmarinique (équation IV.18c) |
| Re | | nombre de Reynolds |
| R_m | | résistance de la membrane |
| R_O | | résistance due à la pression osmotique (équation IV.21) |
| R_P | | résistance due à la couche de polarisation (équation IV.21) |
| s | (g/L) | solubilité de l'eau dans le CO ₂ (équation III.4) |
| S | (1/m) | paramètre <i>qui</i> englobe le volume et la porosité du système, la surface et le nombre des particules (équation IV.9 et IV.10) |
| Sc | | nombre de Schmidt |
| Sh | | nombre de Sherwood |
| T | (°C) | température |
| t | (s, min, h) | temps |
| t_i | (s) | temps de diffusion interne |
| T_r | | coefficient de l'équation III.31 |
| u | (m/s) | vitesse superficielle de fluide supercritique |
| V | (m ³) | volume de la cellule d'extracteur |
| V_A | (m ³) | volume d'alimentation |
| V_{sys} | (cm ³) | volume du système |
| V_{c1} | | volume critique du solvant |
| V_{c2} | | volume critique du soluté |
| V_F | (m ³) | volume du filtrat |
| V_p | | volume de la particule |

| | | |
|---------------|----------------------|---|
| V_R | (m ³) | volume de retentat |
| V_{solide} | (m ³) | volume de la phase solide |
| X' | | paramètre identifiant le rapport taille/masse de l'équation <i>III.31</i> |
| X | (g/kg) | concentration dans la phase solide |
| X_0 | (g/kg) | concentration initiale dans la phase solide |
| X_f | (g/kg) | quantité de soluté dans les cellules indemnes |
| Y | (g/kg) | concentrations du soluté dans le fluide |
| Y^* | (g/kg) | solubilité du soluté dans le CO ₂ supercritique |
| Y_{AR}^{SC} | (%) | rendement en acide rosmarinique |
| Y_{EX} | (%) | rendement de l'extrait total |
| Y_{EX}^{SC} | (%) | rendement total de l'extrait supercritique: |
| β | (m/s) | coefficient de transfert de masse |
| δ | (m) | épaisseur moyenne des plates ou le diamètre moyen des cylindres, |
| ε | | poriosité |
| ρ | (kg/m ³) | masse volumique du CO ₂ |
| ρ_{lit} | (kg/m ³) | masse volumique du lit |
| ρ_r | | coefficient de l'équation <i>III.31</i> |
| ρ_s | (kg/m ³) | masse volumique de la mélisse |
| μ | (Pa.s) | viscosité du CO ₂ |
| μ' | | coefficient géométrique de l'équation <i>III.14</i> |
| φ | | facteur géométrique caractérisant la forme (équation <i>IV.4</i>) |

Références

REFERENCES

- [1] M.A. Ribeiro, M.G. Bernardo-Gil and M.M. Esquivel., *Melissa officinalis*, L.: study of antioxidant activity in supercritical residues, *Journal of Supercritical Fluids*, 21 (2001) 51 – 60.
- [2] B. Yepez, M. Espinosa, S. López and G. Bolaños, Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction, *Fluid Phase Equilibria* 194–197 (2002) 879–884.
- [3] N. Yanishkieva and E. Marinova, Antioxidant activity of selected species of the family Lamiacea grown in Bulgaria, *Die Nahrung*, 39 (1995) 5/6, 458 – 463.
- [4] E. G. Kovatcheva, I. I. Koleva, M. Ilieva, A. Pavlov, M. Mincheva and M. Konushlieva, Antioxidant activity of extracts from *Lavandula vera* MM cell cultures, *Food Chemistry* 72 (2001) 295 – 300.
- [5] M. Wang, J. Li, M. Rangarajan, Y. Shao, E. J. LaVoie, T.-C. Huang and C.-T. Ho, Antioxidative Phenolic Compounds from Sage (*Salvia officinalis*), *J. Agric. Food Chem.*, 46 (1998), 4869 – 4873.
- [6] M. Kosar, M. J. D. Dorman, O. Bachmayer, K. H. C. Baser and R. Hiltunen, An Improved On-line HPLC-DPPH* Method for the Screening of Free Radical Scavenging Compounds in Water Extracts of Lamiacea Plants, *Chemistry of Natural Compounds*, 39, 2 (2003), 161 – 166.
- [7] D. Ivanova, D. Gerova, T. Chervenkov and T. Yankova, Phenols and antioxidant activity of Bulgarian medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 96 (2005) 145 – 150.
- [8] B. Marongiu, S. Porcedda, A. Piras, A. Rosa, M. Deiana and A. Dessi, Antioxidant Activity of Supercritical Extract of *Melissa officinalis* Subsp. *Officinalis* and *Melissa officinalis* Subsp. *Inodora*, *Phytoter. Res.*, 18 (2004) 789 – 792.

- [9] S. S. Herodez, M. Hadolin, M. Skergeta and Zeljko Knez, Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves, *Food Chemistry*, 80 (2003) 275 – 282.
- [10] M. Petersen and M. S.J. Simmonds, Rosmarinic acid, *Phytochemistry*, 62 (2003) 121 – 125.
- [11] A. Trute and A. Nahrstedt, Separation of Rosmarinic Acid Enantiomers by Three Different Chromatographic Methods (HPLC, CE, GC) and the Determination of Rosmarinic Acid in *Hedera helix* L, *Phytochemical Analysis*, *Phytochemical Analysis*, 7 (1996) 204 – 208.
- [12] M. Scarpati and G. Oriente, Isolamento e costituzione dell'acido rosmarinico (dal *Rosmarinus off*) *Ric. Sci.*, 28 (1958) 2329-2333.
- [13] J. Toth, M. Mrlinova, D. Tekelova and M. Korenova, Rosmarinic acid – an important phenolic active compound of lemon balm (*Melissa Offcinalis* L.), *Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae* 50 (2003), 139-146.
- [14] A. Caniova and E. Brandsteterova, HPLC Analysis of Phenolic Acids in *Melissa Officinalis*, *J. Liq. Chrom. & Rel Technol.*, 24 (17) (2001) 2647 – 2659.
- [15] L.Boyadzhiev and V.Dimitrova, Extraction and Liquid Membrane Preconcentration of Rosmarinic Acid from Lemon Balm (*Melissa Officinalis* L.), *Separation Science and Technology*, 41 (2006), 877 – 886.
- [16] B.Zelic, M. Hadolin, D. Bauman and D. Vasic-Racki, Recovery and Purification of Rosmarinic Acid from Rosemary Using Electrodialysis, *Acta Chim. Slov.*, 52 (2005) 126 – 130.
- [17] G. Zgorcka and K. Glowniak, Variation of free phenolic acid in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family, *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 26 (2001) 79 – 87.

- [18] G. Janicsak, I. Mathe, Vilmos Miklossy-Vari and G. Blunden, Comparative studies of the rosmarinic and caffeic acid contents of Limiaceae species, *Biochemical Systematics and Ecology*, 27 (1999) 733 -738.
- [19] G. Janicsak and I. Mathe, Parallel Determination of Rosmarinic and Caffeic Acids by TLC-densitometry, *Chromatographia*, 46 (1997) 322 – 324.
- [20] H. Wang, G. J. Provan and K. Helliwell, Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC, *Food Chemistry*, 87 (2004) 307 – 311.
- [21] A. Ziakova, E. Brandsteterova and E. Blahova, Matrix solid-phase dispersion for the liquid chromatographic determination of phenolic acids in *Melissa officinalis*, *Journal of Chromatography A*, 983 (2003) 271 – 275.
- [22] T. Lopez-Arnaldos, M. Lopez-Serrano, A. Ros Barcelo, A.A. Calderon and J.M. Zapata, Spectrophotometric determination of rosmarinic acid in plant cell cultures by complexation with Fe^{2+} ions, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 351 (1995) 311 -314.
- [23] D. Bandoniene, Determination of Rosmarinic Acid in Sage and Borage Leaves by High-Performance Liquid Chromatography with Different Detection Methods, *J Chromatogr Sci.* 2005 Aug;43(7):372-6.
- [24] A. P. Carnat, A. Carnat, D. Fraisse, L. Ricoux and J. L. Lamaison, The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *Officinalis*) tea, *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 72 (5) (1998), 301-305.
- [25] J. L. Lamaison, C. Petitjean-Freytet, A. Carnat, Rosmarinic acid, total hydroxycinnamic derivatives and antioxidant activity of Apiaceae, Borraginaceae and Lamiceae medicinals, *Ann Pharm Fr.*, 48(2) (1990), 103-8.
- [26] M. Hodulin, Z. Knez and D. Bauman, Concentration of Rosmarinic Acid with Supercritical Fluids, *Kem. Ind.* 52 (9) (2003), 427 – 432.

- [27] Ai-Hua Liu, L. Li, M. Xu, Y.-H. Lin, H.-Z. Guo and D.-A. Guo, Simultaneous quantification of six major phenolic acids in the roots of *Salvia miltiorrhiza* and four related traditional Chinese medicinal preparations by HPLC-DAD method, *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41 (2006) 48 – 56.
- [28] F. Buiarelli, G. Cartoni, F. Coccioli and Z. Levetsovitou., Determination of phenolic acids in wine by high-performance liquid chromatography with a microbore column, *Journal of Chromatography A*, 695 (1995) 229-235.
- [29] D. Sterbova, D. Matejcek, J. Vlcek and V. Kubán, Combined microwave-assisted isolation and solid-phase purification procedures prior to the chromatographic determination of phenolic compounds in plant materials, *Analytica Chimica Acta*, 513 (2004) 435 – 444
- [30] J. L. Lamaison, C. Petitjean-Freytet, A. Carnat, Medicinal Lamiaceae with antioxidant properties, a potential source of rosmarinic acid, *Pharm Acta Helv.*, 66(7) (1991) 185-8.
- [31] M. Hadolin, A. R. Hras, Davorin Bauman and Zeljko Knez, Isolation and concentration of natural antioxidants with high-pressure extraction, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5 (2) (2004) 245-248.
- [32] R. N. Carvalho Jr., L. S. Moura, P. T.V. Rosa, M. A. A. Meireles, Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity, *J. of Supercritical Fluids* 35 (2005), 197–204.
- [33] J.L. Lamaison, C. Petitjean-Freytet, F. Duband and A.P. Carnat, Rosmarinic Acid Content and Antioxidant Activity in French Lamiaceae, *Fitoterapia*, 62 (2) (1991), 166 – 171
- [34] H. Sadraei, A. Ghannadi and K. Malekshahi, Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions, *Fitoterapia*, 74 (5) (2003), 445-452.
- [35] K. Dastmalchi, H.J. Damien Dorman, P.P. Oinonen, Y. Darwis, I. Laakso and R. Hiltunen, Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract *LWT*, 41 (2008), 391 – 400.

- [36] R. Bahtiyarca Bagdat, B. Cosge, The Essential Oil of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.), Its Components and Using Fields, *J. of Fac. of Agric., OMU*,21(1), (2006)116-121.
- [37] S. Fialová, D. Tekeľová, M. Mrlianová, D. Grančai, The Determination of Phenolics Compounds and Antioxidant Activity of Mints and Balms Cultivated in Slovakia, *Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae* 55, (2008), 96-102.
- [38] N. L. Rozzi, W. Phippen, J. E. Simon and R. K. Singh, Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil Components from Lemon-Scented Botanicals, *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 35 (2002), 319 –324.
- [39] C.A. Filho, C.M. Silva , M.B. Quadri and E.A. Macedo, Tracer diffusion coefficients of citral and d-limonene in supercritical carbon dioxide, *Fluid Phase Equilibria* 204 (2003) 65-73.
- [40] K. Xing, K. You, D. Yin, Z. Yuan and L. Mao, A simple and efficient approach for synthesis of pseudoionone from citral and acetone catalyzed by powder LiOH-H₂O, *Catalysis Communications* 11 (2009) 236–239.
- [41] G.O. Onawunmi, Evaluation of the antimicrobial activity of citral. *Lett. Appl. Microbiol.* 9 (1989), 105-108.
- [42] D. C. Robacker and L. B. Hendry, Neral and geranial: Components of the sex pheromone of the parasitic wasp, *Itopectis conquisitor*, *Journal of Chemical Ecology*, 3 (5) (1977), 1573-1561.
- [43] Y. Kuwahara, H. Suzuki, K. Matsumoto, and Y. Wada, "Pheromone study on acarid mites. XI. Function of mite body as geometrical isomerization and reduction of citral (the alarm pheromone) *Carpoglyphus lactis*". *Appl. Entomol. Zool.* 18 (1983), 30–39.
- [44] C. Ghelardini, N. Galeotti, L. Di Cesare Mannelli, G. Mazzanti and A. Bartolini, Local anaesthetic activity of β -caryophyllene, *Il Farmaco* 56 (2001) 387–389.

- [45] M. Skold , A.-T. Karlberg, M. Matura and A. Borje, The fragrance chemical β -caryophyllene—air oxidation and skin sensitization, *Food and Chemical Toxicology* 44 (2006) 538–545.
- [46] Moellhausen S.p.A.
(<http://www.moellhausen.com/products.aspx?cat=&item=466100&view=detail&np=>)
- [47] The Good Scents Company
(<http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1060851.html>)
- [48] E. S. Fernandes, G. F. Passos, R. Medeiros, F. M. da Cunha, J. Ferreira, M. M. Campos, L. F. Pianowski and J. B. Calixto, Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*, *European Journal of Pharmacology* 569 (2007), 228–236.
- [49] Tony Clifford, *Fundamentals of Supercritical Fluids*; Oxford University Press, New York (1989).
- [50] E. M. Z. Michielin, S. R. Rosso, E. Franceschi, G. R. Borges, M. L. Corazza, J. V. Oliveira and S. R.S. Ferreira, High-pressure phase equilibrium data for systems with carbon dioxide, α -humulene and trans-caryophyllene, *J. Chem. Thermodynamics* 41 (2009) 130–137.
- [51] M.D. Luque de Castro and L.E. Garcia-Ayuso, Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *Analytica Chimica Acta* 369 (1998) 1-10.
- [52] M. Bocevska and H. Sovova, Supercritical CO₂ extraction of essential oil from yarrow, *J. of Supercritical Fluids* 40 (2007) 360–367.
- [53] D. Grigonis, P.R. Venskutonis, B. Sivik, M. Sandahl and C.S. Eskinsson, Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*), *The Journal of Supercritical Fluids*, 33 (3) (2005) 223-233.

- [54] T. S. Reighard and S. V. Olesik, Bridging the Gap Between Supercritical Fluid Extraction and Liquid Extraction Techniques: Alternative Approaches of the Extraction of Solid and Liquid Environmental Matrices, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 26 (2&3) (2006), 1-39.
- [55] M. T. Tena and M. Valcarcel, Supercritical Fluid Extraction of Natural Antioxidants from Rosemary: Comparison with Liquid Solvent Sonication, *Anal. Chem.*, 69 (1997), 521-526.
- [56] L. Wang and C. L. Waller, Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Trends in Food Science & Technology*, 17 (2006) 300 – 312.
- [57] K. H. Kiriamiti, Extraction de pyréthrinés par CO₂ liquide et supercritique, PhD Thesis, INP Toulouse (2003)
- [58] L. Danielski, L. M.A.S. Campos, L. F.V. Bresciani, H. Hense, R. A. Yunes and S. R.S. Ferreira, Marigold (*Calendula officinalis* L.) oleoresin: Solubility in SC-CO₂ and composition profile, *Chemical Engineering and Processing*, 46 (2) (2006) 99–106.
- [59] M.B. King and T. R. Bott, *Extraction of Natural Products Using Near-Critical Solvents*, Chapman & Hall (1993).
- [60] E. Reverchon and I. De Marco, Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter, *J. of Supercritical Fluids*, 38 (2006), 146 – 166.
- [61] M. McHugh and V. Krukonis. *Supercritical Fluid Extraction - Principles and Practice*. Butterworths, London (1986).
- [62] J. F. Brennecke and C. A. Eckert, Phase Equilibria for Supercritical Fluid Process Design, *AIChE Journal*, 35 (9) (1989), 1409-1423.
- [63] P. Ramírez, T. Fornari, F. J. Señoráns, E. Ibañez and G. Reglero, Isolation of phenolic antioxidant compounds by SFC, *The Journal of Supercritical Fluids*, 35 (2) (2005), 128-132.

- [64] E. Reverchon, Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products, *Journal of Supercritical Fluids* 10 (1997), 1-37.
- [65] M. Angela and A. Meireles, Supercritical extraction from solid: process design data (2001 – 2003), *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 7 (2003), 321 – 330.
- [66] A. Chafer, T. Fornari, A. Berna, E. Ibanez and G. Reglero, Solubility of solid carnosic acid in supercritical CO₂ with ethanol as a co-solvent, *J. of Supercritical Fluids* 34 (2005), 323–329.
- [67] H.K. Kiritimi, E. Rascol, A. Marty and J.S. Condoret, Extraction rates of oil from high oleic sunflower seeds with supercritical carbon dioxide, *Chemical Engineering and Processing* 41 (2001) 711 – 718.
- [68] J. Shi, C. Yi, S. J. Xue, Y. Jiang, Y. Mac and D. Li, Effects of modifiers on the profile of lycopene extracted from tomato skins by supercritical CO₂, *Journal of Food Engineering* 93 (2009) 431–436.
- [69] F. J. Señoráns, E. Ibañez, S. Cavero, J. Tabera and G. Reglero, Liquid chromatographic–mass spectrometric analysis of supercritical-fluid extracts of rosemary plants, *Journal of Chromatography A*, 870 (2000), 491 – 499.
- [70] M. Vaher and M. Koel, Separation of polyphenolic compounds extracted from plant matrices using capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A*, 990 (2)(2003) 225-230.
- [71] P. Zacchi, A. Pietsch, S. Voges, A. Ambrogio, R. Eggers and P. Jaeger, Concepts of phase separation in supercritical processing, *Chemical Engineering and Processing*, 45 (2006) 728 – 733.
- [72] M. Hadolin, E. Vagi, Z. Knez, D. Bauman and B. Simandi, Isolation of rosmarinic acid and antimicrobiological properties of the extracts.

- [73] I. Rodríguez-Meizoso, A. Cifuentes, J. San Román, E. Ibáñez and Carlos Elvira, A systematic study on the interactions between carnosic acid and ethylpyrrolidine methacrylate–methyl methacrylate copolymer in supercritical media, *The Journal of Supercritical Fluids* Volume 41(3), (2007), Pages 452-460.
- [74] H.K. Kiriamiti, S. Camy, C. Coudron and J.S. Condoret, Perythrin Extraction from Flowers using Carbon Dioxide, *J. of Supercritical Fluids*, 26 (2003), 193 – 200.
- [75] H.K. Kiriamiti, S. Camy, C. Coudron and J.S. Condoret, Supercritical Carbon Dioxide Processing of Pyrethrum Oleoresin and Pale, *Agric. Food Chem*, 51 (2003), 880 – 884.
- [76] F. J. Señoráns, E. Ibáñez, S. Cavero, J. Tabera and G. Reglero, Liquid chromatographic–mass spectrometric analysis of supercritical-fluid extracts of rosemary plants, *Journal of Chromatography A*, 870 (2000) 491 – 499.
- [77] S. Caveroa, M. R. García-Riscoa, F. R. Marína, L. Jaimea, S. Santoyoa, F. J. Señoránsa, G. Regleroa and E. Ibáñezb, Supercritical fluid extraction of antioxidant compounds from oregano. Chemical and functional characterization via LC–MS and in vitro assays, *The Journal of Supercritical Fluids*, 38 (1) (2006), 62 – 69.
- [78] T. Lu, F. Gaspar, R. Marriott, S. Mellor, C. Watkinson, B. Al-Duri, J. Seville and R. Santos, Extraction of borage seed oil by compressed CO₂: Effect of extraction parameters and modelling, *The Journal of Supercritical Fluids*, 41 (1) (2007), 68 – 73.
- [79] H. Sovova, Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation, *J. of Supercritical Fluids*, 33 (2005), 35 – 52.
- [80] J.M. del Valle, O. Rivera, M. Mattea, L. Ruetsch, J. Daghero and A. Flores, Supercritical CO₂ processing of pretreated rosehip seeds : effect of process scale on oil extraction kinetics, *J. of Supercritical Fluids* 31 (2004), 159 – 174.
- [81] F. Gaspar, T. Lu, R. Santos and B. Al-Duri, Modelling the extraction of essential oil with compressed carbon dioxide, *J. of Supercritical Fluids* 25 (2004) 247 – 260.

- [82] H. Sovova, Rate of the Extraction with Supercritical CO₂ – I. Modelling of Extraction curves, *Chemical Engineering Science*, 49 (3) (1994), 409 – 414.
- [83] H. Sovova, J. Cucera and J. Jez, Rate of the Extraction with Supercritical CO₂ – II. Extraction of grape oil, *Chemical Engineering Science*, 49 (3) (1994), 415 – 420.
- [84] P. Vandezande, L. E. M. Geversb and I. F. J. Vankelecom, Solvent resistant nanofiltration: separating on a molecular level, *Chem. Soc. Rev.*, 37 (2008), 365–405.
- [85] S.J. Sarrade, G.M. Rios and M. Carlès, Supercritical CO₂ extraction coupled with nanofiltration separation Applications to natural products, *Separation and Purification Technology* 14 (1998), 19–25.
- [86] Y.H. See Toh, X.X. Loh, K. Li, A. Bismarck and A.G. Livingston. In search of a standard method for the characterisation of organic solvent nanofiltration membranes *Journal of Membrane Science* 291 (2007), 120–125.
- [87] S.J. Sarrade, G.M. Rios and M. Carlès, Supercritical CO₂ extraction coupled with nanofiltration separation Applications to natural products, *Separation and Purification Technology* 14 (1998), 19–25.
- [88] Instruction Manual for MET Cells, Membrane Extraction Technology Ltd., London, UK, (2008).
- [89] E. Reverchon, Mathematical modelling of Supercritical Extraction of sage Oil, *AIChE Journal*, 42 (6) (1996), 1765 – 1771.
- [90] M.M. Esquivel, M.G. Bernardo-Gil and M.B. King, Mathematical models of supercritical extraction of olive husk oil, *J. of Supercritical Fluids*, 16 (1999), 43 – 58.
- [91] O.J. Catchpole and M. B. King, Measurement and Correlation of Binary Diffusional Coefficient in Near Critical Fluids, *Ind., eng. Chem. Res.*, 33 (7) (1994), 1828 – 1837.

- [92] J. Marrero and R. Gani, Group-contribution based estimation of pure component properties, *Fluid Phase Equilibria*, 183-184 (2001), 183-208.
- [93] R. Wongkittipong, L. Prat, S. Damronglerd, and C. Gourdon, Solid-liquide extraction of andrographolide from plants – experimental study, kinetic reaction and model, *Separation and Purification Technology*, 40 (2004), 147 – 154.
- [94] D. Peshev, L.G. Peeva, G. Peev, I.I.R., Baptista and A.T. Boam, Application of organic solvent nanofiltration for concentration of antioxidant extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*), *Chemical Engineering Research and Design*, (2010), submitted.
- [95] G. Di Giacomo, V. Brandani, Giovanni Del Re and Vittoria Muciante, Solubility of Essential Oil Components in Compressed Supercritical Carbon Dioxide, *Fluid Phase Equilibria*, 52 (1989), 405 – 411.
- [96] P. Hegel (2009), programme sous Excel, rapport interne de l'ANR LIPICAERO.
- [97] M. Spiro and M. Kandiah, Extraction of Ginger Rhizome: Partition Constants and Other Equilibrium Properties in Organic Solvents and in Supercritical Carbon Dioxide, *J. Food Sci Tech.*, 25 (1990), 566.

Annexes

Annexe 1PHYTEX[®] R**Technical data**

Extraction scheme applied: Cross-current or counter-current extraction, percolation

Additional operations:

- Separation of phases with preliminary filtration
- Rinsing of exhausted vegetable mass with complete removal of solvent used

| | |
|--|--------------------------------|
| Production capacity for liquid extract: | 5 to 15 l/h |
| Power consumption (with no solvent heating): | 0.6 kw |
| Cooling water consumption (when applied): | 0.3 m ³ /h |
| Operational temperature: | 20-60 °C |
| Recommended solvent: | water/ethanol (0-20 %) mixture |
| Over-all dimensions (L/W/H): | 1100/900/2600 mm |
| Weight (not loaded): | 140 kg |

Annexe 2

Distribution granulométrique de l'extrait obtenu par l'extracteur rotatif PHYTEX® R

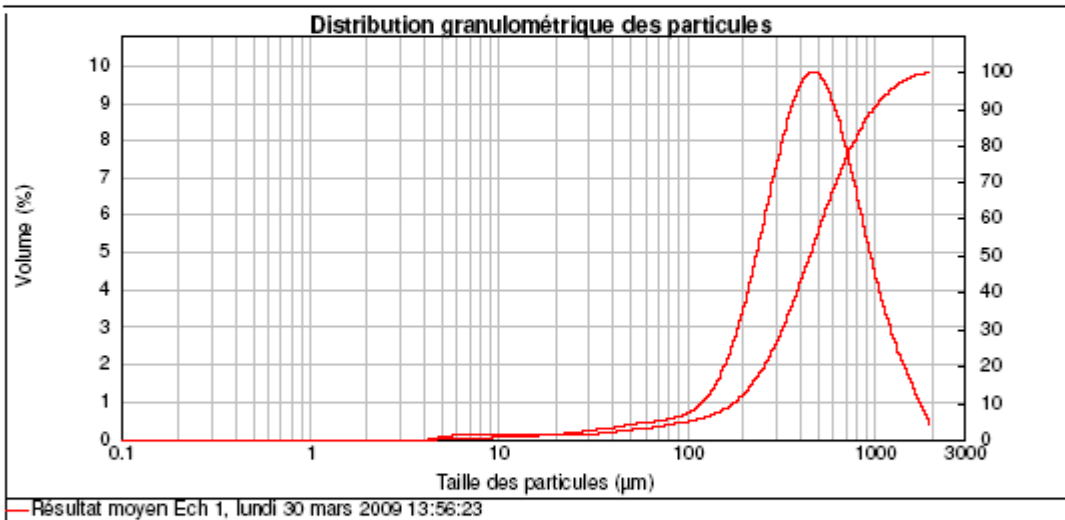


Laboratoire de Chimie Analytique
 INP - INRA/CIAT
 Site Batte-Cambo - 5, rue Paulin Talbot - BP1001
 31106 Toulouse cedex 03
 Tél. : +33 (0) 534 615 202 - Fax : +33 (0) 534 615 203
<http://gpc.inra.fr>



Rapport d'analyse

| | | | |
|---|--|--|---|
| Echantillon: Résultat moyen Ech 1 | SOP: Scirocco DEFAULT 1_50 | Mesuré: lundi 30 mars 2009 13:56:23 | |
| | Mesuré par: Christine Rey-Rouch | Analysé: lundi 30 mars 2009 13:56:24 | |
| Sample bulk lot ref: | Source Resultat: Moyenne établie | Pression : 1 Bars % Vibration : 50 | |
| Nom Particule: Default | Accessoire: Scirocco 2000 (A) | Modèle d'analyse: Analyse standard | Sensitivity: Normal |
| RI Particule: 1.520 | Absorption: 0.1 | Gamme de Mesure: 0.020 to 2000.000 μm | Obscurcissement: 0.95 % |
| Dispersant: | RI Dispersant: 1.000 | Résiduel Pondéré: 1.329 % | Modif. de Résultat: Désactivé |
| Concentration: 0.0074 %Vol | Span : 1.781 | Uniformité: 0.554 | Type de Distribution: Volume |
| Surface Spécifique: 0.0252 m^2/g | Surface Weighed Mean D[3,2] ou Diamètre de Sauer : 237.959 μm | Vol. Weighted Mean D[4,3] ou Diam Moyen pondéré (dm) : 528.060 μm | |
| d(0.1): 180.338 μm d(0.5): 452.621 μm d(0.9): 986.624 μm | | | |



| Taille (µm) | Volume en % | Taille (µm) | Volume en % | Taille (µm) | Volume en % | Taille (µm) | Volume en % | Taille (µm) | Volume en % | Taille (µm) | Volume en % |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 0.020 | 0.00 | 0.142 | 0.00 | 1.002 | 0.00 | 7.006 | 0.08 | 50.238 | 0.30 | 355.656 | 6.37 |
| 0.022 | 0.00 | 0.159 | 0.00 | 1.125 | 0.00 | 7.962 | 0.08 | 55.368 | 0.30 | 390.052 | 7.28 |
| 0.025 | 0.00 | 0.178 | 0.00 | 1.282 | 0.00 | 8.934 | 0.08 | 60.246 | 0.33 | 447.744 | 7.30 |
| 0.028 | 0.00 | 0.200 | 0.00 | 1.418 | 0.00 | 10.024 | 0.08 | 70.683 | 0.36 | 502.377 | 7.22 |
| 0.032 | 0.00 | 0.224 | 0.00 | 1.580 | 0.00 | 11.247 | 0.08 | 79.821 | 0.38 | 583.577 | 7.22 |
| 0.036 | 0.00 | 0.252 | 0.00 | 1.763 | 0.00 | 12.610 | 0.08 | 90.337 | 0.42 | 652.456 | 6.70 |
| 0.040 | 0.00 | 0.283 | 0.00 | 2.000 | 0.00 | 14.150 | 0.09 | 100.237 | 0.47 | 709.627 | 6.18 |
| 0.045 | 0.00 | 0.317 | 0.00 | 2.244 | 0.00 | 15.887 | 0.09 | 112.468 | 0.55 | 796.214 | 5.36 |
| 0.050 | 0.00 | 0.358 | 0.00 | 2.518 | 0.00 | 17.825 | 0.10 | 126.191 | 0.62 | 893.357 | 4.53 |
| 0.056 | 0.00 | 0.399 | 0.00 | 2.825 | 0.00 | 20.000 | 0.11 | 141.580 | 0.70 | 1002.374 | 3.70 |
| 0.063 | 0.00 | 0.448 | 0.00 | 3.170 | 0.00 | 22.440 | 0.11 | 158.888 | 1.24 | 1124.883 | 2.95 |
| 0.071 | 0.00 | 0.502 | 0.00 | 3.557 | 0.00 | 25.170 | 0.13 | 178.250 | 1.80 | 1261.015 | 2.20 |
| 0.080 | 0.00 | 0.564 | 0.00 | 3.991 | 0.00 | 28.251 | 0.14 | 200.000 | 2.27 | 1415.802 | 1.74 |
| 0.089 | 0.00 | 0.632 | 0.00 | 4.477 | 0.02 | 31.696 | 0.16 | 224.404 | 2.97 | 1586.656 | 1.28 |
| 0.100 | 0.00 | 0.710 | 0.00 | 5.024 | 0.06 | 35.556 | 0.21 | 251.786 | 4.63 | 1782.502 | 0.82 |
| 0.112 | 0.00 | 0.796 | 0.00 | 5.637 | 0.08 | 39.905 | 0.24 | 282.508 | 6.48 | 2000.000 | 0.47 |
| 0.126 | 0.00 | 0.893 | 0.00 | 6.325 | 0.07 | 44.774 | 0.27 | 316.970 | 8.26 | | |
| 0.142 | 0.00 | 1.002 | 0.00 | 7.093 | 0.00 | 50.238 | 0.27 | 355.656 | 8.26 | | |

Opérateur notes: Moyenne de 3 mesures de Pezzo 30-03-09

Annexe 3

Evolution d'équation IV.18 c)

$$\left| \begin{aligned} \frac{d(V_R \cdot C_R)}{dt} &= -J.A.C_F \\ R_3 &= 1 - \frac{C_F}{C_R} \end{aligned} \right.$$

$$\frac{d(V_R \cdot C_R)}{dt} = -J.A.C_F$$

$$d(V_R C_R) = -\frac{J.A.dt}{V_A} V_A C_F$$

Mais $J.A..dt = dV_F$ et $N = \frac{V_F(t)}{V_A}$, $dN = \frac{1}{V_A} dV_F$

$$dN = \frac{J.A.dt}{V_A}$$

$$d(V_R \cdot C_R) = -dN \cdot C_F \cdot V_A$$

$$V_R \cdot dC_R + C_R \cdot dV_R = -(1-R)C_R \cdot V_A \cdot dN$$

$$dV_R = V_A \cdot dN$$

$$V \cdot dC_R = -R \cdot C_R \cdot V_A \cdot dN$$

$$\frac{dC_R}{C_R} = -R \cdot V_A \frac{dN}{V_R} \Leftrightarrow \frac{dC_R}{C_R} = -R \cdot V_A \frac{dN}{V_A - N \cdot V_A}$$

$$\int_0^{C_R} \frac{dC_R}{C_R} = R \int_0^N \frac{d(N-1)}{(N-1)}$$

$$\frac{V_R(t)}{V_A} = 1 - \frac{V_F(t)}{V_A} = 1 - N$$

$$N - 1 = -\frac{V_R(t)}{V_A}$$

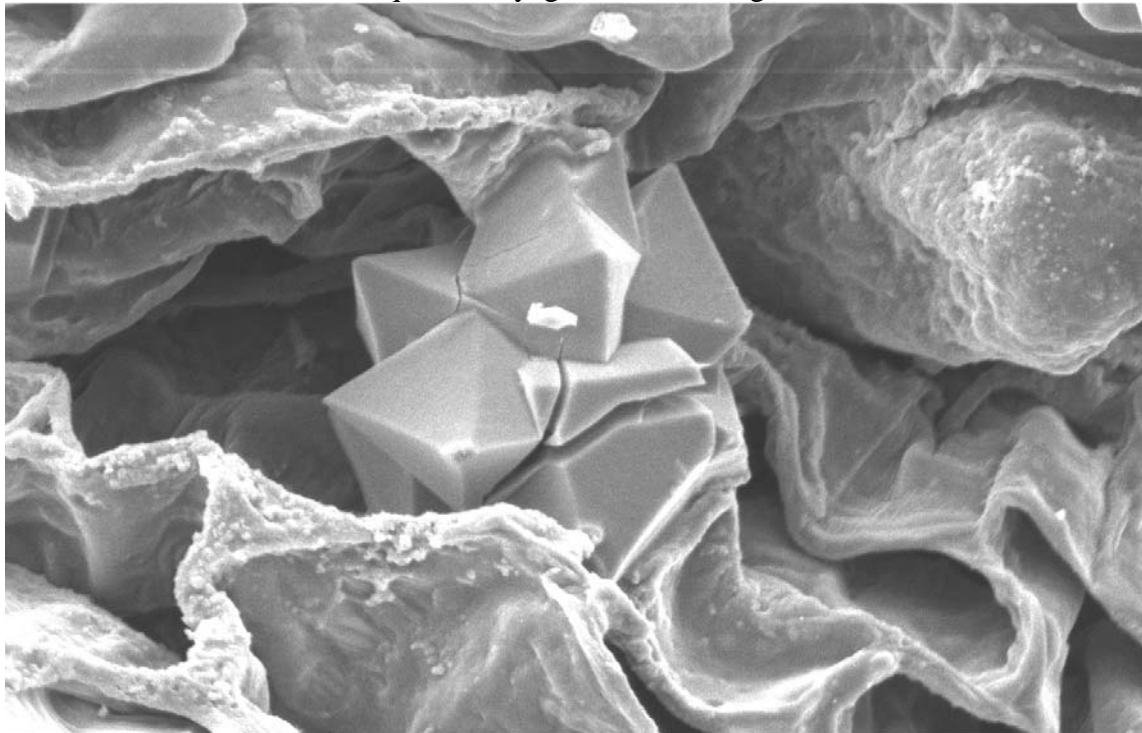
$$\int_0^{C_R} \frac{dC_R}{C_R} = -R \int_0^{V_R} \frac{dV_R}{V_R}$$

$$\ln\left(\frac{C_R}{C_A}\right) = -R \ln\left(\frac{V_R}{V_A}\right)$$

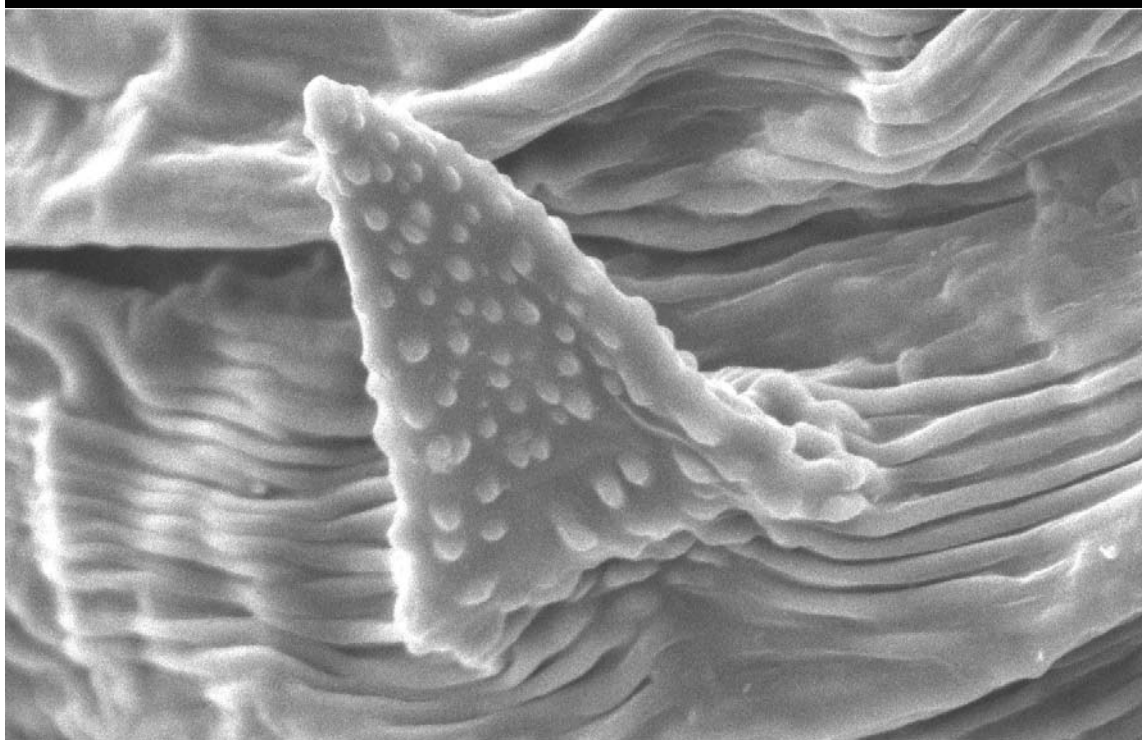
$$R = \frac{\ln\left(\frac{C_R}{C_A}\right)}{\ln\left(\frac{V_A}{V_R}\right)}$$

Annexe 4

Photographies de la plante mélisse (*Melissa officinalis* L.) obtenues par microscopie électronique à balayage à différents agrandissements



10 μ m 100kV 1.01E3 7061/01 SE



10 μ m 100kV 2.50E3 7055/01 SE *

Annexe 5**Acide Rosmarinique / Rosmarinic acid****1 - Résumé**

| | |
|---|--|
| DESCRIPTION GENERALE | <ul style="list-style-type: none"> Composé phénolique |
| PRINCIPAUX EFFETS BIOLOGIQUES | <ul style="list-style-type: none"> Anti-oxydant Bactéricide / fongicide Inflammation Système cardiovasculaire Maladies neurodégénératives |
| ALLEGATIONS EXISTANTES | <ul style="list-style-type: none"> Aucune |
| OBJECTIFS DES UTILISATIONS ACTUELLES | <ul style="list-style-type: none"> Ingrédient alimentaire |

2 - Description globale**Description globale**

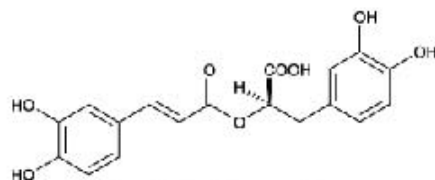
Nom chimique: Acide (R)-a-[[3-(3,4-Dihydroxyphényl)-1-oxo-2E-propényl]oxy]-3,4-dihydroxy-benzenepropanoïque

Formule chimique: C₁₈H₁₆O₈

Masse moléculaire: 360.3 g/mol

Nom anglais: rosmarinic acid

L'acide rosmarinique est un composé phénolique, dérivé de l'acide hydroxycinnamique. Il appartient au groupe des polyphénols.



Structure de l'acide rosmarinique

Le rôle biologique de l'acide rosmarinique chez les plantes est un rôle de défense contre les pathogènes et les herbivores.

Annexe 6

Moellhausen S.p.A. - Direzione e Uffici (Head Office):
Via Tomi bianche, 9 - 20059 Vimercate (MI), Italy
Tel. +39 039 866 6262 - Fax. +39 039 866 6263
E-mail: ho@moellhausen.com - Website:
www.moellhausen.com
C.F. 03149330155 - P.IVA [VAT Code] IT
11300860159

Code No. 466100
Issue date / Last revision Rev. 1.0 of 01 set 2006

TECHNICAL DATASHEET
BETA CARYOPHYLLENE 95%

| | |
|---|--|
| Code No. | 466100 |
| Product name | BETA CARYOPHYLLENE 95% |
| Natural status | natural |
| Current name | trans-Caryophyllene |
| NUMERICAL REFERENCES | |
| Cas | 87-44-5 |
| FEMA | 2252 |
| EINECS | 201-746-1 |
| Ref. CoE | 2118 |
| GENERAL DESCRIPTION | |
| Organoleptic note | olfactory note: woody, oily; taste: spicy, oily, citrus; |
| Chemical name (IUPAC) | Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-9-methylene- |
| Empirical Formula | C ₁₅ H ₂₄ |
| PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES | |
| INCI Name | caryophyllene (Fragrance) |
| Natural status | natural |
| Appearance | clear colourless to pale yellow liquid |
| Typical purity / assay | 80%min. beta caryoph., 95%min. beta+alpha caryoph. |
| Specific gravity | 0.889 - 0.909 |
| Solubility | insoluble in water, soluble in oils and organic solvents; |
| Flash point | 97°C +/- 2 (closed cup) |
| Refractive index | 1.493 - 1.503 |
| STABILITY AND STORAGE | |
| Stability | 24 months shelf life |
| Storage | to be kept in closed container, in a dark, fresh and dry place |
| REGULATIONS IN FORCE/ CERTIFICATES | |
| Regulations in force/ certificates | KOSHER. kosher certificate: available upon customer request; |

The information contained herein represents the extent of Moellhausen S.p.A.'s understanding of the art and must not in any way be considered an intimation or warranty of the fitness of the product for any particular purpose.

The product referred to herein is sold on the basis of its compliance with relative specifications and the manufacturer makes no warranties, express or implied, as to the fitness of the product for any particular purpose and on the condition that the purchaser/user performs the necessary controls and tests to verify the fitness of the product for the intended use.

Moellhausen S.p.A. shall not be liable for any irresponsible, improper or illegal use, direct or indirect, of the information or of the product represented herein and it shall not be liable for any damage arising from any use in connection therewith.

This document annuls and replaces any previous edition thereof.

WWW.MOELLHAUSEN.COM

Moellhausen S.p.A. - R.E.A. MI n.1456445 - Reg.Impr. MI e C.F. 03149330155
Cap.Soc. € 1.650.000,00 I.V. - P.IVA 11300860159 [VAT Code IT 11300860159]
Sede Legale [Registered Office]: Via Freguglia, 2 - 20122 Milano IT
Produzione Italia [Factory IT]: Viale delle Industrie, 95 - 20040 Cambiagio
(MI), IT

Annexe 7

MSDS: Rosmarinic Acid

2/27/02 4:30 PM

**MATERIAL SAFETY DATA SHEET**

This form complies with OSHA's Hazard Communication Standard, 29 CFR 1910.1200.
 IDENTITY (As Used on Label and List): Rosmarinic Acid

SECTION I - Product Identification
Rosmarinic Acid

| | | | |
|--------------------------------|----------------------|---------------|---------------------------|
| Manufacturer Name and Address: | | Telephone #: | Dates: |
| Cayman Chemical Company | Cayman Chemical Comp | (800)364-9897 | Date Entered: 08/10/1999 |
| 1180 E. Ellsworth Rd. | | | Last Revision: 08/10/1999 |
| Ann Arbor, MI. 48108 | Cayman Chemical Comp | (734)971-3335 | MSDS Printed: 06/02/2000 |

Synonyms:
 (R)-.alpha.-[[3-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-oxo-2E-propenyl]oxy]-3,4 -dihydroxy-benzenepropanoic acid
 Chemical Family: Antioxidant
 Hazard Label: Health: 2
 Molecular Formula: C₁₈H₁₆O₈ Flammability: 0 , Molecular Weight: 360.30 Reactivity: 0

SECTION II - Hazardous Ingredients/Identity Information
Rosmarinic Acid

| Hazardous Components (Specific Chemical Identity/Common Name) | CAS # | OSHA PEL | ACGIH TLV | Other Limits | Percentage |
|---|------------|----------|-----------|--------------|------------|
| Rosmarinic Acid | 20283-92-5 | | | | 100.0 |

SECTION III - Physical/Chemical Characteristics
Rosmarinic Acid

Boiling Point: NE or NA Specific Gravity (Water = 1): NE or NA Melting Point: 168.0 C Vapor Pressure (mm Hg): . . . NE or NA to:
 170.0 C Vapor Density (Air=1): . . . NE or NA Evaporation Rate: NE or NA Physical States: [] Gas (Butyl Acetate=1) [] Liquid
 Solubility In Water: >15 mg/ml* at 25.0 C [X] Solid *PBS pH 7.2, sol. in EtOH, DMSO, & DMF Percent Volatile: NE or
 NA Appearance and Odor:
 A crystalline solid.

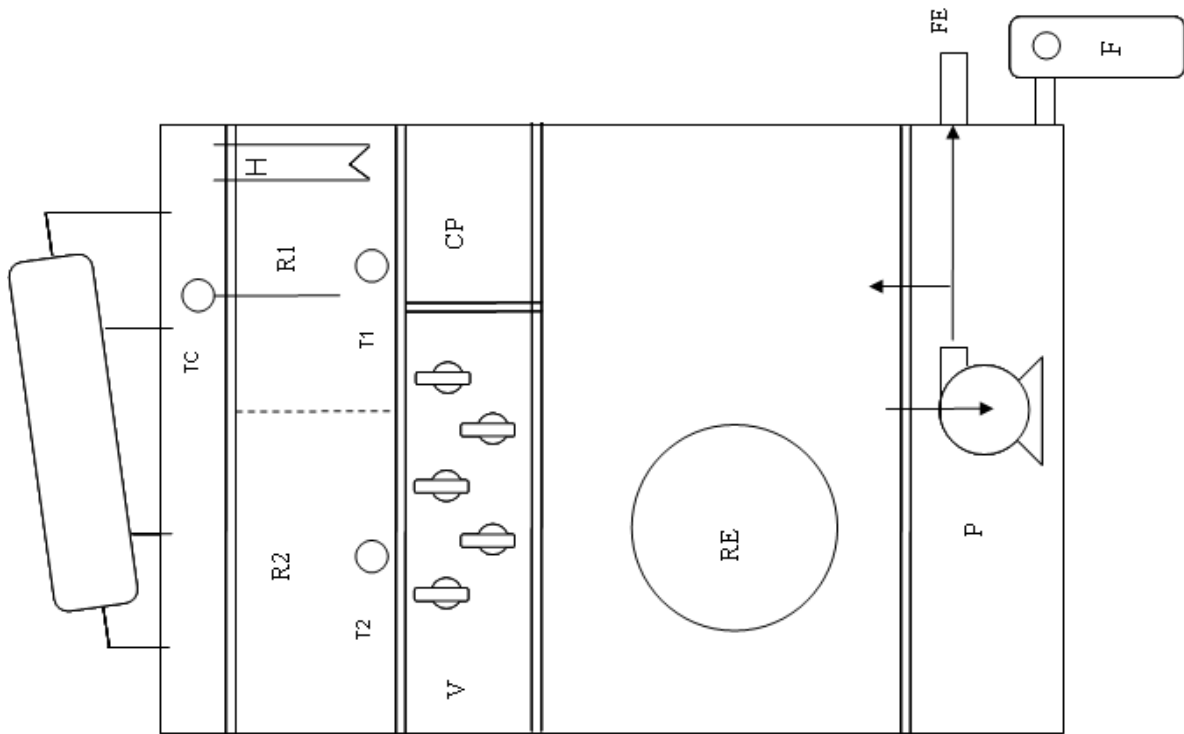
SECTION IV - Fire and Explosion Hazard Data
Rosmarinic Acid

file:///CAYMAN.SYS/SHARE/PDFs/MSDSs/70900.htm

Page 1 of 3

Annexe 8

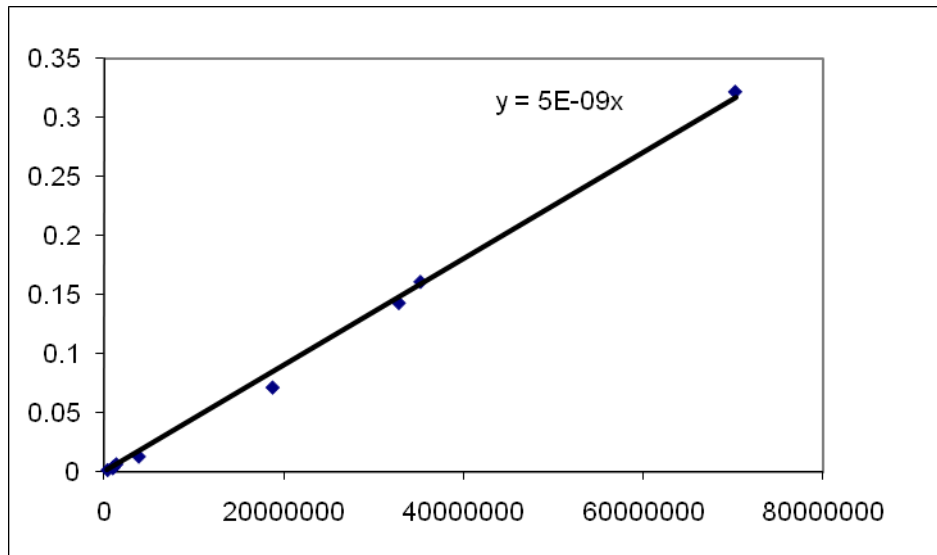
Schéma de l'extracteur rotatif PHYTEX[®] R



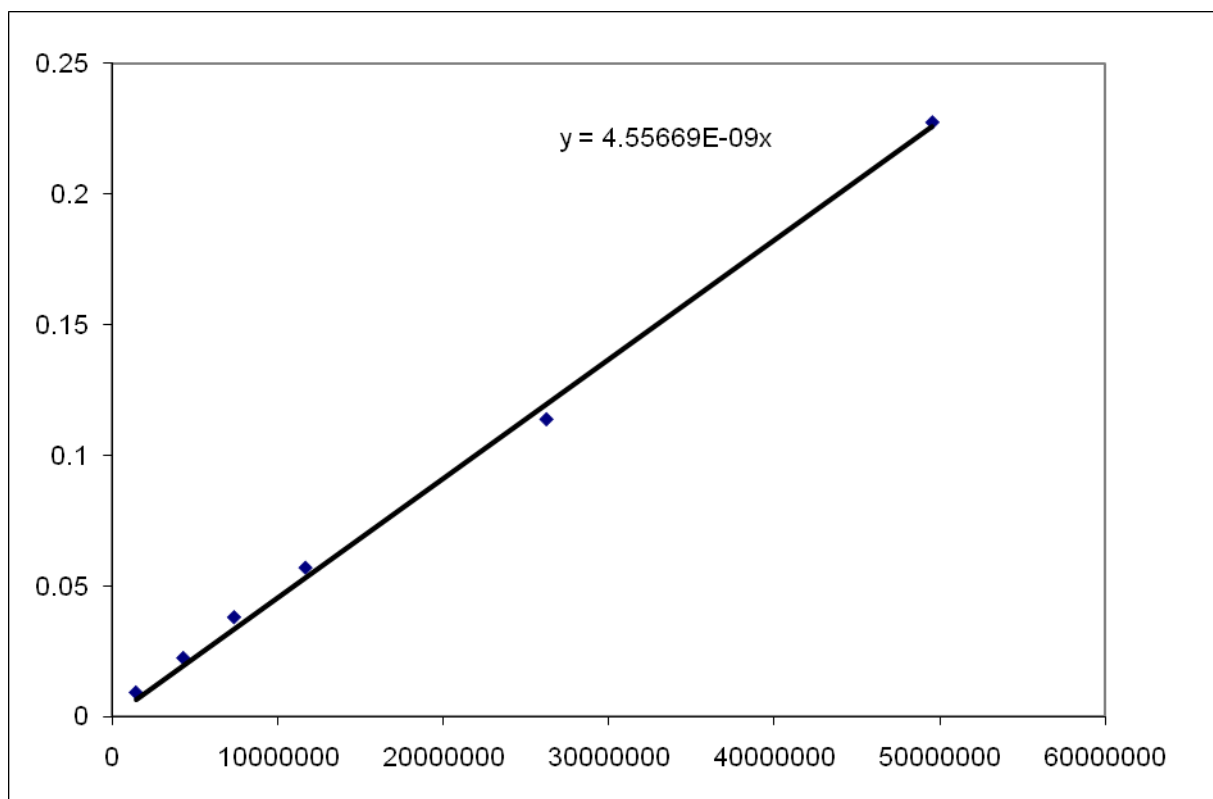
Annexe 9

Courbes de calibration de CPG :

Caryophyllène



Citral



Annexe 10

Courbes de calibration de HPLC :

Acide rosmarinique

