

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES DE SIDI-BEL-ABBES  
Faculté de Génie Electrique  
Département d'Électrotechnique

Thèse présentée par :

**MILOUDI Kaddour**

Pour l'obtention du diplôme de :

**Doctorat Es-Sciences en Électrotechnique**

Option : Haute tension

Intitulé de thèse :

**Contribution à l'étude de l'extraction des huiles  
essentielles par champ électrique pulsé haute tension**

Présentée devant le jury composé de :

BENDAOUZ Abdelber	Professeur	UDL-SBA	Président
TILMATINE Amar	Professeur	UDL-SBA	Directeur de thèse
BENMIMOUN Youcef	Professeur	UMS - MASCARA	Co-directeur de thèse
HENNAD Ali	Professeur	USTO-MB- ORAN	Examineur
MILOUA Farid	MCA	UDL-SBA	Examineur
TAIBI Ahmed	MCA	UNIV - TLEMEN	Examineur

Soutenu le : 18 octobre 2018

Année universitaire : 2017-2018

## Remerciement

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance au Professeur Amar TILMATINE, mon directeur de thèse, pour qui la recherche est un vrai plaisir et qui a su me communiquer cet état d'esprit essentiel. Je le remercie pour la confiance qu'il m'a toujours accordée, le temps et l'attention qu'il a consacrés à l'encadrement de ma thèse, et son enthousiasme pour la recherche.

Je tiens aussi à remercier chaleureusement mon co-directeur de thèse, Professeur Youcef BENMIMOUN, qui me fait profiter tout au long de ce travail de sa grande expérience et de son dynamisme, avec toujours beaucoup de disponibilité et de gentillesse. Son imagination débordante est une véritable source d'inspiration pour son activité de recherche. Je lui exprime ici ma profonde reconnaissance.

Tous mes remerciements vont au Professeur Abdelber BENDAOUZ qui me fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Mes sincères remerciements au Professeur Ali HENNAD, qui a bien voulu mobiliser son temps et ses compétences pour être rapporteur et membre du jury.

Je voudrais exprimer mes remerciements ainsi que ma profonde gratitude au Docteur Farid MILOUA, de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être rapporteur de cette thèse. Qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

Je désire encore exprimer ma très vive reconnaissance au Docteur Ahmed TAIBI, pour son amabilité, sa participation active et son aide précieuse pour la réalisation de toutes les étapes pratiques de mon travail, pour avoir accepté d'être rapporteur de cette thèse. Qu'il soit assuré de mes sincères remerciements.

Je tiens tout particulièrement à remercier chaleureusement Directeur de laboratoire LRSBG de l'université de Mascara et ami, Abderrahmane HAMIMED, pour avoir accepté d'assurer la continuité de ce travail dans son laboratoire, pour le soutien et l'aide infiniment précieuse.

Je veux faire part aussi de toute ma gratitude au Professeur Youcef BOUHADDA de laboratoire LCPMIB de l'université de Mascara, qui nous a aidé à faire les analyses physico-chimiques des huiles essentielles dans son laboratoire surtout pendant la période de validation des résultats.

Je remercie naturellement l'ensemble de la communauté scientifique qui ont posé et développé la théorie de ce travail.

D'une manière plus générale, je remercie toutes les personnes du laboratoire à l'université de Sidi Bel Abbès et à l'université de Mascara ou d'ailleurs qui m'ont apporté leurs conseils ou leur aide au cours de ma thèse, que ce soit les techniciens, les doctorants ou les ingénieurs.

Je tiens à remercier les personnes que j'ai eu la chance de côtoyer quotidiennement et qui ont contribué au bon déroulement de cette thèse sont bien trop nombreuses et ne méritent pas d'être simplement énumérées.

Et enfin, je remercie infiniment ma famille, tous mes proches, amis et collègues qui m'ont aidée et soutenue dans ma vie.

*Kaddour MILOUDI*

## Table des matières

Introduction générale .....	1
<b>Chapitre 1 : Technologie du champ électrique pulsé</b>	
1.1. Introduction.....	5
1.2. Aperçu historique.....	5
1.3. Mécanisme d'action du CEP.....	9
1.4. Électroporation.....	10
1.5. Mécanisme d'électro-perméabilisation .....	11
1.6. Mécanismes d'inactivation.....	13
1.7. Effet du CEP sur les micro-organismes .....	14
1.8. Effet du CEP sur les membranes biologiques.....	15
1.9. Principaux paramètres influençant le traitement par CEP.....	19
1.9.1. Intensité du champ électrique.....	19
1.9.2. Durée du traitement.....	20
1.9.3. Forme de l'impulsion.....	21
1.9.4. Température de traitement.....	24
1.9.5. Conductivité.....	25
1.10. Législation.....	26
1.11. Conclusion.....	27
<b>Chapitre 2 : Applications industrielles du champ électrique pulsé</b>	
2.1. Introduction.....	28
2.2. Aperçu sur les techniques de traitement des aliments.....	29
2.2.1. Pasteurisation.....	29
2.2.2. Stérilisation.....	29
2.2.3. Chauffage ohmique.....	29
2.2.4. Tube à passage de courant.....	29
2.2.5. Irradiation.....	30
2.2.6. Ultraviolet (UV).....	31
2.2.7. Infrarouge (IR).....	32
2.2.8. Lumière pulsée.....	33
2.2.9. Ultrasons.....	33
2.2.10. Micro-ondes.....	34
2.2.11. Les Champs électriques pulsés.....	35
2.3. Applications industrielles du CEP.....	35
2.3.1. Traitement des eaux usées.....	35
2.3.2. Conservation des aliments.....	36
2.3.3. Extraction de l'huile végétale.....	37
2.3.4. Intensification de l'extraction des polyphénols.....	39
2.3.5. Amélioration de l'extraction du jus.....	39
2.3.6. Amélioration du séchage.....	40
2.3.7. Traitement des betteraves à sucre à l'échelle industrielle.....	41
2.3.8. Traitement d'exploitation des biomasses comme source d'énergie... ..	43
2.3.9. Applications biologiques.....	45
2.3.10. Application dans la destruction des microorganismes.....	46
2.3.11. Applications de l'électroporation réversible.....	47

2.3.12.	Applications de l'électroporation irréversible.....	48
2.4.	Faisabilité industrielle et coûts de traitement.....	49
2.5.	Conclusion.....	49

### **Chapitre 3 : Dispositifs du champ électrique pulsé et techniques d'extraction des huiles essentielles**

3.1.	Introduction.....	51
3.2.	Matériels composant une installation de traitement par CEP.....	51
3.3.	Description du système de traitement par CEP.....	52
3.3.1.	Générateurs haute tension.....	52
3.3.1.1.	Générateur de Marx.....	52
3.3.1.2.	Circuits en cascade.....	54
3.3.1.3.	Circuit Engetron (Deltatron).....	55
3.3.1.4.	Génération d'impulsion de haute tension et de courant.....	56
3.3.1.5.	Générateurs pour courants impulsionnels exponentiels.....	56
3.3.1.6.	Génération de courants impulsionnels rectangulaires.....	57
3.3.2.	Commutateurs .....	57
3.3.2.1.	Eclateur sphérique à air.....	58
3.3.2.2.	Eclateur à gaz.....	59
3.3.2.3.	Eclateurs à semi-conducteurs.....	62
3.3.3.	Chambre de traitement.....	63
3.3.3.1.	Chambres de traitement statiques.....	64
3.3.3.2.	Chambres de traitement à flux continu (dynamique).....	67
3.3.3.3.	Système de refroidissement.....	68
3.4.	Les huiles essentielles.....	69
3.4.1.	Intérêts économiques et thérapeutique des huiles essentielles .....	70
3.4.2.	Principales techniques d'extraction des huiles essentielles .....	71
3.4.2.1.	Entraînement à la vapeur d'eau.....	71
3.4.2.2.	Hydrodistillation.....	72
3.4.2.3.	Hydrodiffusion.....	72
3.4.2.4.	Extraction par le dioxyde de carbone supercritique.....	73
3.4.2.5.	Extraction par ultrasons.....	73
3.4.2.6.	Extraction assistée par microondes.....	73
3.4.3.	Critères déterminants la qualité des huiles essentielles .....	74
3.4.3.1.	Conservation et stockage des huiles essentielles .....	75
3.4.3.2.	Caractérisation et normalisation .....	75
3.4.3.3.	Méthodes d'identification des composés des huiles essentielles.....	76
3.4.4.	Marché mondial des huiles essentielles.....	77
3.4.5.	Marché Algérien des huiles essentielles.....	77
3.5.	Conclusion.....	79

### **Chapitre 4 : Application du champ électrique pulsé dans l'extraction de l'huile essentielle du *Marrubium Vulgare***

4.1.	Introduction.....	80
4.2.	Présentation botanique de la plante étudiée <i>Marrubium vulgare</i> .....	82
4.3.	Localisation de la zone d'étude.....	82
4.4.	Choix de la méthode d'extraction.....	83
4.4.1.	Protocole d'extraction par hydrodistillation.....	85
4.4.2.	Détermination du rendement en huile essentielle.....	85

4.5.	Protocole de traitement par CEP.....	82
4.6.	Mesure de la conductivité électrique.....	86
4.7.	Chromatographie en phase gazeuse / analyse par spectrométrie de masse...	87
4.8.	Cinétique d'extraction de l'HE de <i>Marrubium</i> sans CEP.....	88
4.9.	Effet du traitement par CEP sur la conductivité de <i>Marrubium</i> $\sigma$ (mS/cm) .	89
4.10.	Effet du traitement par CEP sur le rendement d'extraction.....	89
4.11.	Modélisation du processus d'extraction par CEP.....	92
4.11.1.	Limites de variation des facteurs.....	93
4.11.2.	Détermination du point optimal.....	94
4.12.	Effet du CEP sur la composition chimique de l'HE du <i>Marrubium</i> .....	97
4.13.	Conclusion.....	100

### **Chapitre 5 : Effet combiné du champ électrique pulsé associé aux micro-ondes pour l'extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba***

5.1.	Introduction.....	101
5.2.	Présentation botanique de la plante étudiée.....	102
5.3.	Protocole d'extraction de l'HE par hydrodistillation conventionnelle.....	102
5.4.	Protocole d'extraction de l'HE par micro-ondes .....	104
5.5.	Résultats et discussion.....	105
5.5.1.	Effet du CEP sur la conductivité électrique $\sigma$ (mS / cm) .....	105
5.5.2.	Effet du CEP sur le rendement de l'HE d' <i>Artemisia</i> .....	109
5.5.3.	Effet des micro-ondes sur le rendement de l'HE d' <i>Artemisia</i> .....	109
5.5.4.	Effet du CEP associé aux micro-ondes sur le rendement de l'HE d' <i>Artemisia</i> .....	112
5.5.5.	Analyses physico-chimiques des HEs d' <i>Artemisia</i> par GC-MS.....	113
5.5.5.1.	Cas de l'hydrodistillation conventionnelle .....	113
5.5.5.2.	Effet de HDMO sur la composition physico-chimique d' <i>Artemisia</i> ..	114
5.5.5.3.	Effet de CEP.....	115
5.5.5.4.	Effet de CEP + MO sur la composition de l'HE d' <i>Artemisia</i> .....	115
5.6.	Conclusion.....	118
	Conclusion générale et perspectives .....	119
	Bibliographie.....	122

## **Abréviations**

**ADN** : Acide du noyau des cellules vivantes

**A.E.O.C**: American essential oil comite

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**CEP** : Champ électrique pulsé

**CEP+MO** : Champ électrique pulsé associé à l'hydrodistillation assistée par micro-ondes

**CG/SM** : Chromatographie en phase Gazeuse / Spectrométrie de Masse

**Conv**: Conventiionnelle

**DC** : Courant continu

**FDA**: Food and Drug Administration

**HD** : Hydrodistillation

**HDMO** : Hydrodistillation assistée par micro-ondes

**HE** : Huile essentielle

**HEs** : Huiles essentielles

**HVDC** : Haute tension à courant continu

**IR** : Rayonnement infrarouge

**ISO**: International Organization for Standardization

**MO** : Micro-ondes

**OMS**: Organisation Mondiale de la Santé

**pH** : Potentiel d'hydrogène

**UHT** : Ultra haute température

**UV** : Ultraviolet

# **INTRODUCTION GENERALE**



Ces dernières années, l'intérêt commercial pour l'extraction de composés intracellulaires et de liquides provenant de tissus végétaux en utilisant diverses méthodes d'extraction solide-liquide a augmenté. Nous assistons à un accroissement d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels, c'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des techniques et des procédés mettant en œuvre des extraits d'origine végétale.

Par conséquent, parmi les différentes méthodes de traitement non thermique utilisées dans l'industrie alimentaire, le traitement par champ électrique pulsé (CEP) qui s'est révélé prometteur et peu invasif pour la rupture du tissu cellulaire [1].

L'application du CEP est une technologie physique émergente qui a été proposée pour améliorer les processus de transfert de masse dans l'industrie alimentaire. Elle est explorée pour fournir des aliments sûrs, nutritifs et de haute qualité [2]. Ce traitement implique l'application d'impulsions haute tension pendant un temps très court, dans la plage de microsecondes à millisecondes, à travers un aliment placé entre deux électrodes.

La formation de pores dans les membranes cellulaires en raison de leur exposition à des champs électriques externes capable d'induire la perméabilisation de la membrane cellulaire par un phénomène appelé « électroporation », améliorant ainsi la diffusion des solutés à travers leurs membranes [3].

Le traitement par CEP a des applications utiles dans la biotechnologie, la médecine, le contrôle de l'encrassement biologique et la désintégration des boues et comme technique de conservation des aliments liquides [4].

Un avantage majeur du traitement par CEP par rapport à la conservation par la chaleur est que les composés aromatisants et les nutriments dans les aliments sont mieux conservés et donc la possibilité de développer des aliments sûrs avec des propriétés fraîches peut être accomplie. Les jus de fruits, les vinaigrettes, les sauces et les œufs sont des exemples d'aliments qui présentent un grand intérêt pour le traitement de conservation par CEP.

Cette technologie s'est montrée être une méthode efficace pour la perméabilisation irréversible des membranes cellulaires dans les tissus végétaux et animaux sans augmentation significative de la température de l'échantillon et nécessitant un fonctionnement à faible coût.

Le CEP a déjà été évalué en tant que prétraitement pour l'extraction d'huile de maïs, d'olives, de soja et de colza [5]. Des chercheurs ont montré que le prétraitement avec le CEP améliorerait significativement le rendement d'extraction de l'huile.

L'application du champ électrique pulsé pour améliorer le rendement d'extraction des jus de fruits et légumes, réduire les temps de séchage ou améliorer l'extraction des composés intracellulaires tels que les colorants, le saccharose ou les polyphénols, a été étudiée dans des laboratoires et à l'échelle pilote [2].

Le traitement par champ électrique pulsé (CEP) est une méthode de conservation des aliments utilisée pour inhiber les micro-organismes dans les aliments sans causer de perte significative de saveur, de couleur, de goût et de nutriments. C'est une technique de décontamination non thermique et reconnu comme une méthode alternative et prometteuse.

### **Contexte de l'étude**

Actuellement, près de 3000 huiles essentielles sont décrites, parmi lesquelles environ 300 présentent une importance commerciale dans le cadre d'applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, agronomiques ou dans le domaine de la parfumerie [6].

L'Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques [7].

En Algérie, le marché des huiles essentielles est très modeste et les importations sont en hausse. Les pays de la Méditerranée s'imposent sur ce marché (France, Italie, Espagne, Tunisie et Maroc). Ils proposent une offre croissante de production florale et deviennent, avec la Chine et l'Inde, les principaux fournisseurs d'huiles essentielles pour l'Algérie.

La demande accrue des huiles essentielles pour des applications industrielles met en lumière un besoin d'optimisation des procédés actuels de production.

Comme pour tous procédés industriels ayant à faire face à cette problématique, leur amélioration est orientée vers une augmentation du rendement d'extraction, de la qualité des produits obtenus ainsi que vers la diminution des coûts de production.

Les techniques traditionnelles d'extraction des produits naturelles à partir des plantes nécessitent d'importantes adaptations afin de réduire les coûts d'investissement. Dans le domaine de l'extraction des huiles essentielles, la distillation reste la méthode d'extraction la plus utilisée.

Afin de permettre le maintien et le développement économique de cette filière, des progrès énormes ont été accomplis pour améliorer les techniques d'extraction dont l'optimisation des procédés existants, récupération de l'énergie libérée au cours du procédé, assistance aux procédés existants et innovation de cette dernière.

En effet, cette problématique peut être contournée par le développement des technologies performantes, économiques, propres et durables telles que celles utilisant le champ électrique pulsé. L'impact de l'application du CEP dans l'intensification du rendement de l'extraction des huiles essentielles est socio-économique :

- La création d'emploi et l'augmentation de revenu pour la population et les agriculteurs des régions rurales ;
- Assurer la matière première (quantité et qualité des huiles essentielles) pour les industriels nationaux et internationaux des secteurs : pharmaceutique, agroalimentaire, cosmétique...)
- Protéger l'environnement et le patrimoine de la flore Algérienne

## **Organisation du document**

Notre objectif principal consiste à introduire la technique de CEP pour augmenter le rendement des huiles essentielles contenus dans les plantes aromatiques et médicinales de la flore algérienne.

Ces procédés permettent d'aboutir à un produit de haute qualité (absence de résidus de solvant organique et de dégradation thermique). De plus, les durées usuelles d'extraction en utilisant cette technique sont très intéressantes : entre 30 et 60 minutes permettent d'avoir des rendements globaux d'extraction importants, ce qui conduit à des coûts de fonctionnement attractifs.

Le travail présenté ici s'inscrit dans la démarche scientifique actuelle qui consiste à mieux connaître les mécanismes d'action du champ électrique pulsé sur une cellule végétale. Le choix des paramètres de traitement étudiés a été en fonction du matériels disponibles au laboratoire et des résultats publiés dans la littérature.

L'objectif de ce travail est d'une part, de mettre en évidence l'influence des paramètres électriques du traitement par CEP et d'autre part d'étudier la faisabilité de cette technologie comme procédé d'intensification de l'extraction des huiles essentielle à grande échelle.

Notre intérêt s'est porté sur deux plantes « *Marrubium vulgare* » et « *Artemisia herba alba* » car elles présentent un intérêt thérapeutique énorme bien que relativement abondantes et largement utilisées en médecine traditionnelle.

Pour la présente étude, nous proposons un plan en cinq chapitres :

Le premier chapitre est une synthèse bibliographique qui s'attache plus particulièrement aux phénomènes d'électroporation ainsi que les mécanismes d'action de CEP sur les micro-

organismes et les systèmes biologiques. Ce chapitre décrit aussi les paramètres à contrôler lors d'un traitement par CEP.

Le deuxième chapitre établit un état de l'art sur les applications industrielles de l'énergie pulsée, telles que l'agroalimentaire, le traitement médical, le traitement de l'eau, l'inactivation de micro-organismes, l'intensification de la séparation, l'extraction, le pressage, et le séchage.

Le troisième chapitre présentera le matériel nécessaire pour une installation de traitement par CEP et les méthodes employés, les techniques d'extraction conventionnelles ; ensuite, nous détaillerons les moyens d'analyses et de contrôle des extraits obtenus.

Le quatrième chapitre sera consacré à l'extraction de l'huile essentielle de la plante médicinale *Marrubium vulgare* avec l'application de la technique du CEP, l'optimisation de l'application de cette technique par plan d'expérience.

Le cinquième et dernier chapitre traitera l'étude de l'effet du traitement par champ électrique pulsé associé à l'hydrodistillation assistée par micro-ondes pour l'extraction de l'huile essentielle d'une plante médicinale et aromatique « *Artemisia herba alba* », qui fera l'objet aussi de l'analyse des résultats obtenus par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).

**TECHNOLOGIE  
DU CHAMP ELECTRIQUE PULSE**

## 1.1. Introduction

Le traitement par champ électrique pulsé est devenu très répandu dans l'industrie alimentaire. De nombreux effets et mécanismes importants liés à l'impact du CEP sur les produits biologiques, alimentaires ou agricoles ont été découverts. Le développement et le succès récents des applications CEP ont également été soutenus par le nombre croissant de générateurs CEP disponibles dans le marché avec des caractéristiques particuliers.

Ce chapitre présente une synthèse bibliographique permettant de définir les différents termes abordés dans ce sujet. Ce chapitre se compose de deux parties.

Dans une première partie, Nous présenterons un aperçu des connaissances concernant l'effet du CEP sur une membrane cellulaire, les mécanismes d'action ainsi que le phénomène d'électroporation.

Dans une deuxième partie, nous présenterons les paramètres principaux influençant le traitement par champ électrique pulsé, leurs propriétés et leur utilisation pour l'extraction des substances naturelles.

## 1.2. Aperçu historique

L'utilisation de l'électricité et plus précisément le traitement par CEP dans l'industrie alimentaire était un sujet préoccupant et plusieurs installations d'échelle pilote ont été proposées et examinées pendant la période entre les années 1940 et jusqu'au milieu des années 1990.

Cependant, cette technologie n'a finalement pas été industrialisée en raison des difficultés techniques, de l'absence de soutien financier nécessaire et du manque de connaissances sur les mécanismes de base responsables de l'impact du CEP sur les objets biologiques, leur croissance, la végétation et la germination.

Il y a plus de cent ans, les premières applications d'une grande attention sur une période de plusieurs siècles pour réchauffer les aliments et éliminer les microbes ont également commencé [8].

En 1747, Abbé Nollet (1700-1770, physicien français) a découvert les taux accélérés de germination et de croissance globale lorsqu'il est cultivé sous électrodes chargées. Il a également appliqué des machines électrostatiques et des pots de Leyde pour l'électrothérapie. Les expériences réussies de Nollet et d'autres chercheurs sur l'influence de l'électricité sur la végétation ont été confirmées plus tard [8].

En 1783, Bertholon (1741- 1800, physicien français) décrit un électrovegetomètre spécial pour la pulvérisation d'eau électriée sur les cultures.

En 1779, Comte de Lacedpede (1756 - 1825, zoologiste français) décrit quelques expériences sur les effets de l'électricité sur les légumes cultivés et la germination des graines. Le plus important était la découverte de la bioélectricité par Luigi Galvani (1737-1798, physicien et médecin italien). Son livre "Sur la force de l'électricité dans le mouvement musculaire" a été publié en 1791.

En 1844, une augmentation du rendement a été observée pour les pommes de terre prétraitées électriquement dans une cellule galvanique. L'examen complet des travaux antérieurs sur les effets de l'électricité sur la croissance et le rendement des cultures a été publié en 1845 .

En 1884, des recherches sur les effets de l'électrification sur la culture des plantes, germination des graines et mûrissement des fruits. Il est noté que l'application directe d'un courant électrique doux et stable peut entraîner une croissance plus rapide et une maturité plus précoce de la plante traitée. La nature de l'électrification observée a été expliquée par des effets chimiques dans l'accélération du métabolisme du contenu de la graine ou du fruit.

En 1885, la stimulation de la croissance (jusqu'à 70%) des cultures telles que les pommes de terre, les carottes et le céleri par le traitement par décharge électrique a été observée.

En 1889, dans des expériences au Jardin Botanique de Kiev, un exemple réussi d'application d'électricité dans une agriculture a été démontré.

En 1892, L'action des champs électriques sur la croissance des graines et des plantes fut discutée. L'application de l'électricité aux améliorations sanitaires, à la stérilisation, à la purification des eaux usées et aux eaux usées industrielles a été discutée aussi dans cette année [8].

En 1893, la possibilité et les avantages de l'application de l'électricité pour la cuisson ont déjà été discutés.

En 1894, l'efficacité et les faibles coûts de la cuisson électrique ont été généralement reconnus. Il existe un ancien rapport et un article, publié plus tard, sur le chauffage par effet du joule.

En 1898, les différents aspects de l'application de l'électricité aux tiges et aux racines des plantes ainsi que les effets de l'électricité sur la végétation ont été discutés.

En 1900, l'utilisation du chauffage par résistance dans l'industrie alimentaire [8].

En 1901, les premières expériences sur l'extraction et la purification du jus d'une betterave à sucre assistée par l'électricité ont été faites par Schwerin (1866-1917,

électrochimiste allemand). Une idée de l'extraction était basée sur des phénomènes d'électroosmose et d'électrolyse. Il a construit différents appareils pour l'extraction électroosmotique de sucres et d'autres substances à partir de matières premières végétales, minérales et animales.

En 1904, L'influence du potentiel électrique atmosphérique sur la croissance a été étudiée. Les expériences ont été réalisées en chargeant le boîtier en verre d'air à un potentiel d'environ cinquante volts. Il a été déclaré que l'électricité affecte indubitablement un protoplasma de plante et stimule l'activité de certains processus métaboliques. Un développement remarquable dans une végétation observée dans les régions polaires a été expliqué par les effets de l'électricité atmosphérique. Les effets bénéfiques du traitement actuel sur la germination et la croissance des plantes ont également été démontrés [8].

En 1906, une étude publiée sur l'action des décharges électriques et du courant oscillant rapide de très haute tension sur les bactéries. Les bactéries ont été suspendues dans de l'eau distillée contenue dans les tubes à essai.

En 1907, L'application de la décharge électrique a permis l'accélération de la maturation de fruits de concombre avec une augmentation de 17% du rendement. Différentes applications des courants électriques à la purification de l'eau (élimination des impuretés minérales ou destruction des microbes) ont été données.

En 1909, l'influence de l'électricité sur différents microorganismes en suspension dans l'eau et le lait a été conférée.

En 1911, un brevet sur un système d'irrigation qui utilisent l'eau électriifiée pour les champs d'arrosage. Il a été observé la destruction des divers insectes nuisibles et autres organismes par l'application de sa procédure. Ce système a été utilisé dans les parcs de la ville de Buenos Aires.

En 1919, l'effet de la stimulation électrique sur différentes bactéries et levures a été observé. Il a été trouvé que l'activité bactérienne dans l'eau augmentait énormément lorsque les faibles courants électriques étaient utilisés. Les effets de la stimulation électrique sur la levure ont également été étudiés par comparaison l'activité relative des microorganismes normaux et traités électriquement. Les effets de la stimulation électrique ont également été observés. La destruction des bactéries par l'électricité dans le processus électro-pur était expliquée par une chaleur produite par un courant électrique plutôt que par le courant électrique lui-même.

En 1926, le terme "électroculture" a été proposé pour les effets d'électricité sur la croissance et le rendement des cultures [8].



En 1927, un livre « Electroculture », consacré pour une méthode d'application de l'électricité atmosphérique à la fertilisation des plantes ont été émises. Les différents travaux et revues originaux sur les phénomènes de « l'électroculture » ont été publiés plus tard. Les effets de divers champs électriques, champs électrostatiques, rayonnement micro-ondes, décharges électriques, chocs électriques et courants électriques directement appliqués sur la croissance des plantes, la germination des graines, les organismes vivants et le contrôle des mauvaises herbes ont également été étudiés intensivement.

En 1927, les premières expériences sur le traitement du lait par une méthode électrique et différents appareils électriques pour le traitement des aliments liquides ont été brevetés. L'effet de l'endommagement des cellules dans le tissu de la betterave à sucre sous l'action d'un courant électrique relativement élevé a été observé en 1927. Cet effet s'accompagne d'une diminution de la résistance électrique des tissus. Cependant, une récupération partielle de la résistance électrique a été observée après la coupure du courant.

Au milieu du 20<sup>ème</sup> siècle, le traitement par champ électrique pulsé (CEP) pour le traitement des produits alimentaires et agricoles a commencé à être appliqué. Rôle révolutionnaire dans le domaine a été invoqué par la découverte fondamentale du phénomène électroporation et la compréhension des mécanismes de la rupture électrique des membranes.

En 1958, le premier rapport expérimental sur l'électroporation est apparu et publié par Stampfli (1914-2002, physiologiste suisse) et pratiquement en même temps des différents groupes expérimentaux avaient commencé les premières applications de CEP pour le traitement de produits alimentaires.

Dans les années 1960, les premières expériences avec les applications CEP pour éliminer les micro-organismes ont été rapporté.

En 1964, le terme « électrotropisme léthal » a été suggéré pour caractériser une détérioration observée des plantes lors d'une exposition continue aux champs électriques des extrémités des feuilles. Le mécanisme différent pour expliquer les dommages létaux des cellules végétales dans les champs électrostatiques a également été discuté.

Dans les années 1970, les expériences fondamentales sur la rupture électrique des membranes biologiques ont été réalisées et le concept d'électroporation des membranes a été théoriquement fondé.

À partir des années 1990, l'application du CEP dans la transformation des produits alimentaires et agricoles devient de plus en plus populaire [8].

De nos jours, le CEP est considéré comme un traitement non thermique très prometteur qui permet d'éviter les changements indésirables dans les aliments. De nombreuses études sur les différentes applications du traitement par CEP dans l'industrie alimentaire ont été faites au cours des dernières décennies [8].

### **1.3. Mécanisme d'action du CEP**

Les effets de l'exposition de cellules vivantes en suspension dans une solution aqueuse à un champ électrique pulsé sont connus depuis un certain temps.

Les parties intérieures des cellules biologiques comme le noyau cellulaire, le cytoplasme, la vacuole et d'autres sont séparées de l'extérieur au moyen de la membrane cellulaire, qui consiste en couche lipidique (une bicouche lipidique, ou double couche lipidique, est une fine membrane polaire constituée de deux feuillets de molécules de lipides). L'épaisseur de la couche lipidique est de l'ordre de quelques nanomètres seulement. Une fonction biologique importante de la membrane cellulaire est l'ouverture de pores contrôlés [9].

Ces ouvertures sont l'interface entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule et servent à l'échange de substances métaboliques nécessaires à la vie. Le potentiel électrique naturel est inférieur à 100 mV [9].

En appliquant des champs électriques externes, le potentiel peut être augmenté virtuellement à des valeurs que les pores deviennent irréversibles [9].

D'une part, les effets de polarisation dans le cytoplasme se produisent rapidement sur une échelle de 100 ns. D'autre part, la dynamique de l'ouverture des pores irréversible prend environ une ampleur plus de temps [9].

Les cellules végétales sont très sensibles aux champs électriques, en raison de la très faible conductivité électrique des membranes de lipides qui les entourent ( $\approx 1 \mu S/cm$ ).

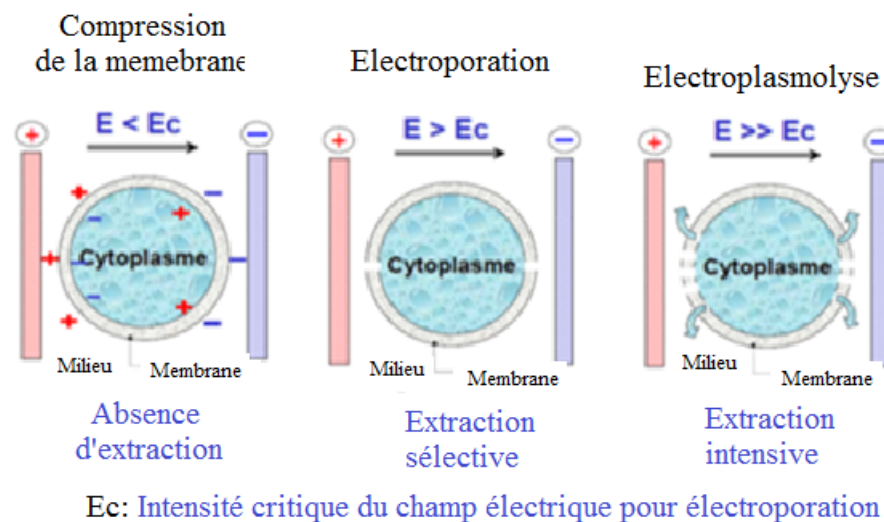
Selon le mécanisme proposé par Zimmermann (1892-1980, botaniste allemand), l'exposition de la membrane à un champ électrique entraîne une accumulation des charges en surface de la membrane, ce qui augmente le potentiel transmembranaire initial. L'accumulation des charges, de signe opposé, provoque une compression de la membrane et donc son amincissement, qui à son tour augmente l'attraction entre les deux faces. À un moment donné, une rupture localisée de la membrane a lieu : il y a formation d'ouvertures microscopiques (électrophores). Lorsque l'intensité du champ électrique est nettement supérieure au champ électrique de rupture, la formation des pores devient irréversible [10].

## 1.4. Électroporation

Le terme « électroporation » a été employé pour la première fois par Neumann (né le 17 juin 1939, biophysicien polonais) et son équipe au début des années 1980. Ce terme servait alors à désigner une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique des cellules, liée à leur exposition à des impulsions électriques [11].

Par augmentation de la perméabilité, on entend que le passage de certaines molécules au travers de la membrane est facilité, voire même que la traversée de la membrane devient possible pour certaines molécules qui ne le peuvent pas d'ordinaire.

Le terme « électroporation » a été choisi car la perméabilisation était interprétée par la formation de pores au travers de la membrane (Figure 1.1) [11].



**Fig.1.1 :** Phénomène d'électroporation [11]

Les micropores créés par l'application des impulsions haute tension contrôlées proviennent de la rupture diélectrique de la membrane cellulaire et si elle est suffisamment petite pour se refermer en raison d'un processus d'auto-guérison [11].

Lorsque les paramètres des impulsions électriques longues sont critiques (par exemple une très forte intensité combinée à une longue durée et/ou un grand nombre d'impulsions appliquées), la perméabilisation de la membrane peut devenir irréversible. Il s'en suit alors une rupture de la membrane et la mort de la cellule. Ce phénomène est plus couramment désigné par le terme d'« électroporation irréversible » [12].

La dégradation irréversible des cellules est due à un grand nombre de pores, ou pores de taille suffisamment grande pour empêcher le processus d'auto-guérison de se produire. Cela conduit à une perte de viabilité cellulaire [11].

La formation de pores est un processus dynamique en fonction de l'intensité du traitement CEP. Lorsque les pores induits sont petits par rapport à la surface de la membrane et s'ils sont générés avec un traitement CEP de faible intensité, la dégradation électrique est réversible [1]. L'électroporation réversible est typiquement obtenue avec des impulsions électriques d'une centaine de microsecondes à quelques millisecondes et d'intensité de l'ordre du kV/cm [12].

Lorsque les cellules biologiques sont exposées à un champ électrique, elles peuvent influencer la perméabilité des membranes cellulaires et peuvent induire des changements structurels et une dégradation de la membrane locale [13].

Auparavant, le procédé, connu sous le nom d'électroporation, a été utilisé avec succès en biotechnologie pour l'incorporation de matériel génétique dans des cellules vivantes [14].

### **1.5. Mécanisme d'électro-perméabilisation**

L'application d'un champ électrique externe sur des cellules biologiques (animales, végétales ou microbiennes) entraîne une perturbation de la membrane cellulaire. Jusqu'à ce jour, un certain nombre de modèles théoriques ont été suggérés, mais il n'y a toujours pas de preuve claire sur le mécanisme d'action sous-jacent au niveau cellulaire [15].

La théorie la plus acceptée est le modèle électromécanique introduit par Zimmerman (1974). Il considère que la membrane cellulaire est un condensateur à faible constante diélectrique. Des charges libres de polarités opposées sont présentes des deux côtés d'une membrane externe, résultant en un potentiel transmembranaire naturel. L'exposition à un champ électrique induit une accumulation de charges internes et externes membrane et donc une augmentation du potentiel transmembranaire. Un potentiel supplémentaire induit par un champ électrique externe augmente la pression de compression sur la membrane en raison de l'attraction simultanée entre les charges opposées des deux côtés de la membrane, ce qui induit un amincissement de la membrane [15].

L'attraction électrostatique entre les deux côtés d'une membrane est encore augmentée en raison de l'amincissement d'une membrane. Lorsque l'électro-compression dépasse la résistance élastique d'une membrane, la rupture avec la formation de pores se produit dans la gamme des sous-microsecondes à une valeur donnée de champ appliqué.

La viabilité de la cellule est maintenue et une biosynthèse supplémentaire de métabolites secondaires peut être déclenchée en réponse à l'état de stress induit du traitement CEP [15].

L'augmentation de l'intensité du traitement, en augmentant la force du champ électrique et / ou le temps de traitement (qui tient compte du nombre d'impulsions et de la largeur

d'impulsion) favorisera la formation de pores dilatés et la perméabilisation réversible deviendra une dégradation irréversible. L'intensité du champ électrique critique pour induire la perméabilisation de la membrane dépend de la géométrie de la cellule et la taille pour les cellules végétales et les microorganismes. Si l'amplitude et la durée des impulsions sont judicieusement choisies, l'édifice membranaire peut suffisamment être perturbé pour autoriser le passage de molécules autrement non perméantes, et ce sans affecter la viabilité cellulaire [15].

Sur la base de ce phénomène, l'électroporation a été étudiée dans des applications pratiques sur divers systèmes biologiques dans le domaine de la médecine et de la biologie.

Bien que l'utilisation de la force de champ modérée soit considérée récemment dans la science alimentaire, la plupart des études ont été faites dans le domaine de la perméabilisation irréversible de la membrane, avec pour objectif principal d'induire une inactivation microbienne ou de faciliter l'extraction de constituants spécifiques et / ou d'augmenter les taux de séchage.

L'application de champs électriques modérés dans la technologie alimentaire a attiré beaucoup d'attention au cours de la dernière décennie, mais on dispose de très peu d'informations sur la cinétique de perméabilisation membranaire et les changements irréversibles de structure réversible des cellules dans les systèmes alimentaires réels pendant et après l'application du CEP [15].

Quand un champ électrique est appliqué à une solution de cellules ou de vésicules, le potentiel électrique dans le système est modifié ; les espèces ioniques en solution et contenues dans le cytoplasme se redistribuent au sein de l'échantillon. Les anions se déplacent vers l'anode et les cations vers la cathode. Ceci a pour conséquence l'établissement d'une différence de potentiel à travers la membrane. Cette différence de potentiel transmembranaire est le paramètre clé déclenchant la perméabilisation.

Il est globalement admis par la communauté scientifique que la perméabilisation apparaît quand excède une valeur critique appelée seuil de perméabilisation, c'est de l'ordre de quelques centaines de mV. Les valeurs dépendent du type de membrane et du système considéré. On appelle transfection le processus de transfert de gène [15].

Ce procédé appelé électro-perméabilisation a des applications thérapeutiques, et semble déclenché par la différence de potentiel transmembranaire induite par le champ. Une description précise de la membrane perméabilisée demeure encore un défi, d'où l'intérêt d'étudier le phénomène sur des systèmes modèles. Quelques études ont été réalisées, et ont

montré qu'il était en effet possible de perméabiliser des vésicules géantes par l'application d'impulsions électriques [15].

Le temps d'apparition de l'électro perméabilisation est estimé à quelques microsecondes après l'application de ces impulsions électriques tandis que le temps nécessaire à la cellule pour retrouver son intégrité peut s'élever à quelques minutes. La perméabilisation irréversible de la membrane cellulaire dans le tissu végétal fournit une large gamme d'applications de processus où la rupture de la membrane cellulaire est nécessaire, y compris l'expression, l'extraction ou la diffusion du matériel cellulaire [1].

## **1.6. Mécanismes d'inactivation**

Les effets primaires du CEP sur les cellules microbiennes comprennent la fatigue structurelle due au potentiel membranaire induit et au stress mécanique. Les effets secondaires comprennent l'écoulement du matériau après la perte de l'intégrité de la membrane cellulaire par le champ électrique, le chauffage local et le stress de la membrane.

Les effets tertiaires comprennent le gonflement ou le rétrécissement des cellules et perturbation due à la pression osmotique déséquilibrée entre le cytosol et le milieu externe.

Le potentiel électrique provoque une séparation de charge électrostatique dans la membrane cellulaire microbienne due à la nature dipolaire des molécules membranaires.

La membrane cellulaire est considérée comme une coquille isolante du cytoplasme en raison de sa conductivité électrique, qui est six à huit fois plus faible que celle du cytoplasme.

Les charges électriques s'accumulent dans les membranes cellulaires lorsque les cellules microbiennes sont exposées à des champs électriques. L'accumulation de charges négatives et positives dans les membranes cellulaires forme un potentiel transmembranaire. Les charges s'attirent et génèrent une pression de compression, ce qui entraîne une diminution de l'épaisseur de la membrane. Une augmentation supplémentaire du champ électrique au-delà d'un potentiel transmembranaire critique conduit à la formation de pores (électroporation) [16].

La transition de phase réduit le potentiel transmembranaire nécessaire à la rupture de la membrane cellulaire. Ainsi, la combinaison du traitement CEP avec un traitement thermique modéré a été recommandée pour l'inhibition efficace des micro-organismes dans les aliments. Dans le traitement combiné (chaleur + CEP), la température des aliments est généralement augmentée avant qu'un traitement CEP ait lieu. Le traitement combiné a également montré des avantages par rapport à une méthode conventionnelle dans l'extraction de jus de plantes alimentaires [16].

Que ce soit dans le cas des micro-organismes ou celui des tissus végétaux, la théorie de base de l'électroporation est la même. Ce sont les membranes cellulaires qui sont visées par l'effet du CEP et qui perdent leur perméabilité sélective après traitement [16].

### **1.7. Effet du CEP sur les micro-organismes**

Le traitement par CEP a des effets mortels sur diverses bactéries végétatives, les moisissures et les levures. Une série d'impulsions courtes et de haute tension brise les membranes cellulaires des microorganismes végétatifs dans les milieux liquides en dilatant les pores existants (électroporation) ou en créer de nouveaux [17].

Pendant le traitement par CEP, les bactéries sont exposées à un champ électrique supérieur à 20 kV/cm pendant une courte durée ( $\mu$ s), ce qui entraîne une rupture de la membrane et une fuite des composants intracellulaires. En fonction du traitement par CEP, les bactéries exposées sont mortes ou juste affaiblis ; dans le dernier cas, les pores induits dans la membrane cellulaire vont se refermer. Pendant ce temps de récupération, les bactéries sont sensibles et stressées ; une condition de la bactérie qui peut être utilisée en combinaison avec d'autres techniques de conservation afin d'obtenir une inactivation bactérienne.

La sensibilité au CEP varie entre différents types de bactéries et aussi avec la taille d'une cellule bactérienne. Les petites cellules telles que *Listeria monocytogenes* sont très difficiles à inactiver par le CEP. Cette bactérie pathogène est une cible importante pour l'optimisation des conditions de CEP notamment pour les aliments prêts à consommer sans traitement thermique préalable [18].

Lors du traitement de produits thermosensibles tels que le lait, il est important d'équilibrer l'apport énergétique en choisissant des combinaisons appropriées de paramètres électriques conduisant à une inactivation bactérienne suffisante.

L'objectif était de trouver des conditions de fonctionnement où cette bactérie hautement résistante au CEP pourrait être réduite sans augmenter la température au cours du traitement au-dessus de 55 °C [18].

Les principaux paramètres de traitement qui affectent l'inhibition microbienne par le CEP sont l'intensité du champ électrique, le temps de traitement, la largeur d'impulsion, la forme de l'impulsion et la température de traitement. Généralement, lorsque l'intensité de chacun de ces paramètres augmente, l'inhibition microbienne par le CEP augmente également. Une relation log-linéaire entre la force du champ électrique et l'inhibition d'*Escherichia coli* a été rapportée. Plus l'apport d'énergie est élevé, plus la température augmente pendant le traitement [16].

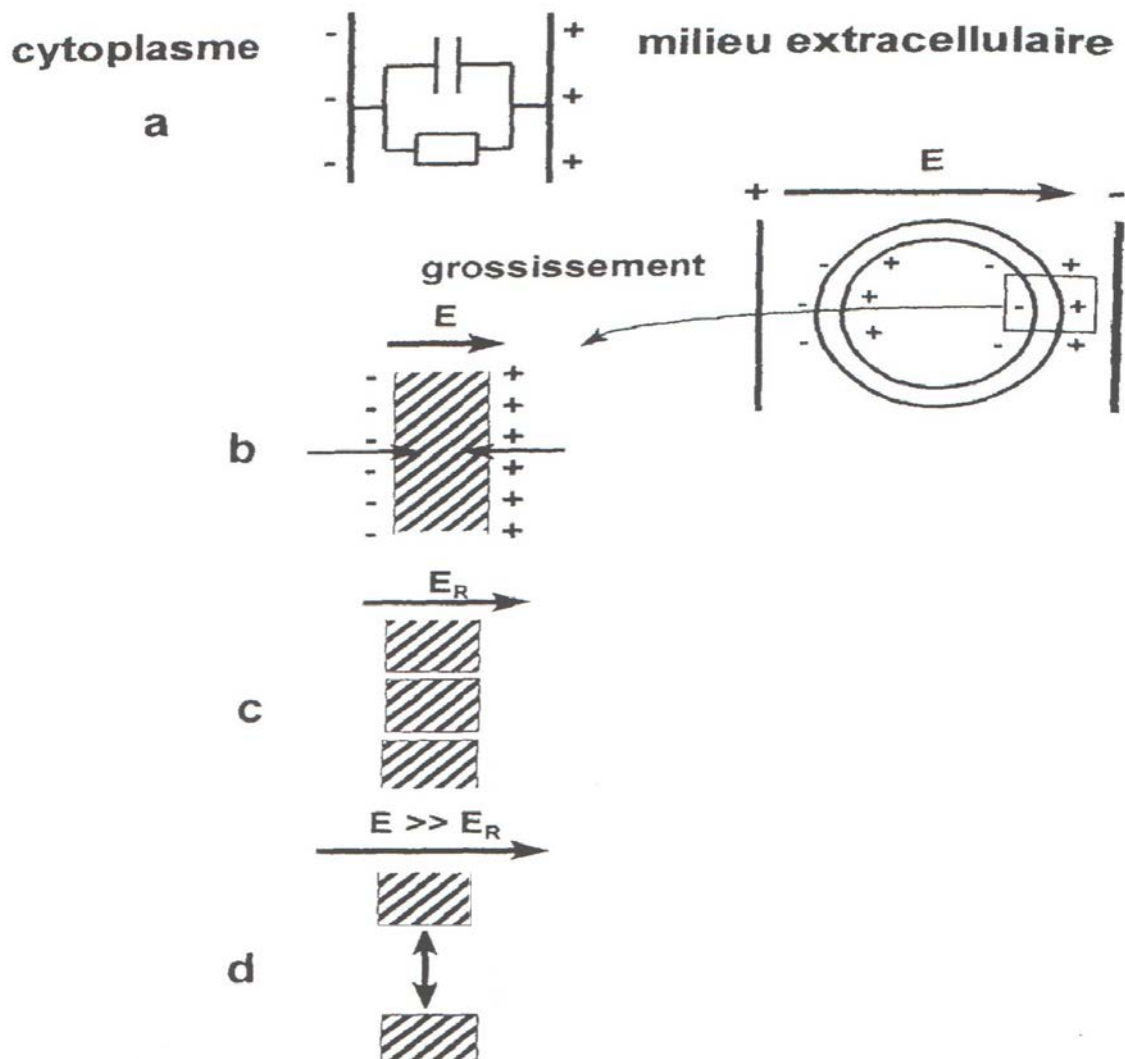
## 1.8. Effet du CEP sur les membranes biologiques

Les effets biologiques des champs électriques pulsés ont été étudiés pendant des années. Des impulsions ultra-courtes de plusieurs nanosecondes se sont révélées capables de manipuler la structure subcellulaire sans affecter la membrane externe [19].

Une cellule biologique (animale, végétale ou microbienne) exposée à un champ électrique pulsé de valeur suffisante subit une perméabilisation membranaire [20].

Un modèle électromécanique considère la membrane comme un condensateur de faible constante diélectrique. Des charges libres de signe opposé existent sur les deux faces de la membrane mais pas à l'intérieur. Le potentiel électrique transmembranaire initial  $V'_m$  est défini par la différence entre les potentiels intra et extracellulaire (Figure 1.2a).

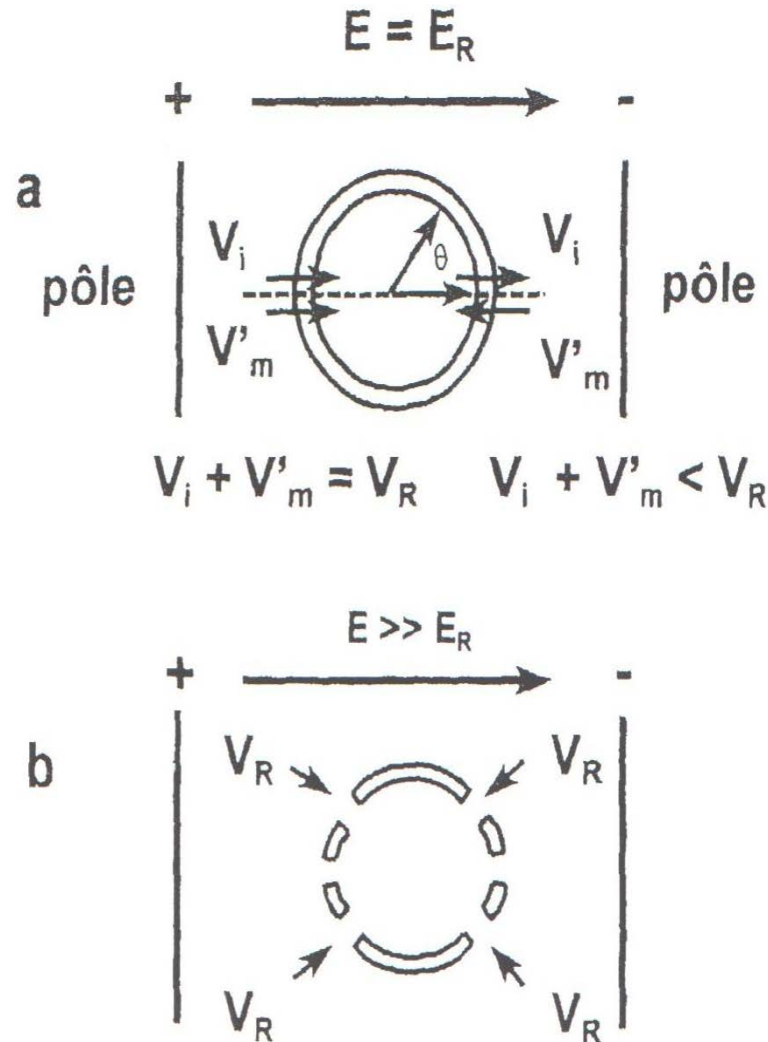
L'exposition à un champ électrique entraîne une accumulation de charges de surface et donc une augmentation du potentiel transmembranaire local  $V_m$  [20].



**Fig.1.2 :** Evolution d'une membrane cellulaire soumise à un champ électrique d'intensité croissante [20]



Le potentiel  $V_i$  induit par l'application du champ électrique se superpose au potentiel membranaire intrinsèque  $V'_m$  (Figure 1.3). L'attraction des charges de signe opposé présentes sur les deux faces provoque une pression de compression et un amincissement de la membrane (Figure 1.2b) [20].



**Fig.1.3** : Répartition du potentiel transmembranaire dans une cellule sphérique [20]

On suppose que la cellule présente une symétrie sphérique au niveau de sa structure et de la répartition des charges. L'augmentation du potentiel transmembranaire induit répond à l'équation suivante [20] :

$$V_i = 1,5 \cdot m \cdot r \cdot E_0 \cdot \cos(\theta) \cdot [1 - e^{(-\frac{t}{\tau R})}] \quad (1-1)$$

Où :

- Pour des cellules non sphériques, le coefficient retenu est différent de 1,5
- La constance  $m$  dépend des propriétés membranaires
- $r$  : le rayon de la cellule (m)

- $E_0$  : la valeur du champ électrique appliqué (V/m)
- $\theta$  : l'angle (rad) entre le vecteur du rayon et le vecteur du champ au point de la membrane considéré
- $t$  : la durée d'application de  $E_0$  (s)
- $t_R$  : temps de relaxation , qui mesure la vitesse à laquelle la membrane excitée atteint un potentiel électrique stable.

$t_R$  est donné par l'équation suivante :

$$1/t_R = 1/(R_m \cdot C_m) + 1/[r \cdot C_m \cdot (\rho_i + 0,5 \cdot \rho_e)] \quad (1-2)$$

Où :

- $R_m$ : la résistance spécifique de membrane ( $\Omega \cdot m^2$ )
- $C_m$  : la capacité spécifique de la membrane ( $F \cdot m^{-2}$ )
- $\rho_i$  : la résistivité intracellulaire ( $\Omega \cdot m$ )
- $\rho_e$  : la résistivité extracellulaire ( $\Omega \cdot m$ )

Pour une cellule placée dans une solution conductrice, le terme  $1/(R_m \cdot C_m)$  devient négligeable par rapport au deuxième terme de l'équation (1-2). On peut alors écrire :

$$t_R = r \cdot C_m \cdot (\rho_i + 0,5 \cdot \rho_e) \quad (1-3)$$

Le temps de relaxation est plus court si le rayon de la cellule est plus petit, c'est-à-dire que le potentiel transmembranaire induit  $V_i$  atteint plus vite sa valeur maximum (d'équilibre) dans le cas de petites cellules.

Le terme  $m$  de l'équation (1-1) peut être défini par :

$$m = 1/[1 + r \cdot G_m \cdot (\rho_i + \rho_e)] \quad (1-4)$$

Où :

- $G_m$  : la conductance membranaire par unité de surface ( $S \cdot m^{-2}$ )

Le potentiel transmembranaire induit dépendrait aussi de la fréquence  $F$  de l'impulsion, qui ne peut pas être négligée à haute fréquence. A un moment et en un point donnés, l'électrocompression devient supérieure à la résistance élastique de la membrane. Une rupture locale avec formation de pore (s) se produit pour une certaine valeur du champ  $E_0$  appliqué. Le potentiel transmembranaire atteint une valeur critique, dite potentiel de rupture ( $V_R$ ) [20].

Les essais expérimentaux montrent de manière indubitable que le champ électrique nécessaire pour la rupture est d'autant plus élevé que le rayon de la cellule est faible.

Pour tenir compte de ces faits, Zimmermann (1892-1980, botaniste allemand), a proposé l'équation suivante pour des cellules sphériques :

$$V_R = 1,5 \cdot E_R \cdot r \cdot \cos(\theta) \quad (1-5)$$

Où :

- $E_R$  : champ électrique de rupture (V/m)
- $\theta$ : l'angle entre le vecteur du champ et le vecteur du rayon au point de la membrane considéré.

L'équation (1-5) est compatible avec une valeur de  $V_R$  à peu près constante, quel que soit le type de cellule, tandis que  $E_R$  serait inversement proportionnel au rayon de la cellule.

Plus précisément, la rupture de la membrane se produit à l'endroit et au moment où la somme des potentiels initial et induit atteint le potentiel de rupture [20].

Le CEP a deux effets importants sur les produits, bien que les deux soient dus aux mêmes phénomènes, l'un est l'inactivation microbienne et l'autre est la désintégration des tissus biologiques. Cette désintégration est souvent une étape clé dans le traitement des aliments avant de gagner des composés intracellulaires. Le CEP peut être appliqué en continu et dans une échelle de temps de quelques secondes, et peut donc facilement être mis en œuvre dans les lignes de traitement existantes [13].

Cette méthode a été essayée dans le traitement des jus, pour traiter les microalgues, les algues et autres espèces aquatiques. Il a été utilisé dans l'extraction d'huile végétale, l'amélioration de séchage, le sucre transformation et traitements de viande et de poisson.

La désintégration du tissu cellulaire animal est intéressante pour améliorer les processus dans lesquels une absorption de substance est requise, telle que la marinade ou le durcissement du poisson ou des produits à base de viande [13].

Les derniers résultats non publiés sur le traitement par CEP du jambon montrent des changements dans la structure tissulaire entraînant une augmentation de poids après injection de saumure et d'abord une plus grande capacité de rétention d'eau et moins de pertes pendant la cuisson. L'explication du gonflement et de la plus grande capacité de rétention d'eau dans le tissu de jambon est que le traitement par CEP provoque une structure perméable et marécageuse (force capillaire) qui retient mieux la saumure injectée que le jambon non traité [13].

L'évaluation de l'efficacité de l'électroporation dans les tissus végétaux biologiques ou la suspension de cellules est une tâche plutôt compliquée. En général, il faut tenir compte de la distribution inhomogène des champs électriques locaux, de la distribution des tailles et des formes des cellules, de leur état et des concentrations locales de solutés, de la conductivité électrique locale, etc. [21].

Il a été rapporté que la fraction de cellules électroporées diminue avec l'augmentation de la densité cellulaire. Cependant, les changements dans La conductivité électrique due au processus d'électroporation doit être prise en compte [21].

## **1.9. Principaux paramètres influençant le traitement par CEP**

L'intensité du champ électrique, le temps de traitement, la forme et le nombre d'impulsion sont les paramètres les plus importants affectant la performance du traitement par CEP.

### **1.9.1. Intensité du champ électrique**

De tous les facteurs influençant l'inactivation microbienne par CEP, l'effet de l'intensité du champ électrique est la plus évidente. Une fois que le champ électrique appliqué dépasse une valeur critique pendant un temps suffisant, le potentiel transmembranaire est induit, ce qui entraîne la mort cellulaire. Une relation log-linéaire entre la force du champ électrique et l'inactivation microbienne indiquant clairement que l'efficacité du traitement par impulsions dépend fortement du champ appliqué.

Plus le champ est élevé à des niveaux d'énergie constants, plus la létalité (capacité à provoquer la mort) du traitement est élevée, les études sur l'effet des fluides de traitement du CEP montrant que la puissance de destruction augmente plus avec la force du champ électrique qu'avec la durée de l'impulsion [22].

Il est important qu'un champ électrique sensiblement uniforme soit fourni dans toute la zone de traitement des aliments liquides. Autrement, des filaments de courant ou la formation d'arcs peuvent se développer dans la zone de traitement, mais la conception actuelle ne permet pas un traitement uniforme, de sorte que le produit a tendance à produire des filaments ou des arcs de courant [22].

La force du champ électrique est un paramètre important qui contrôle l'efficacité de l'électroporation du tissu cellulaire. Avec un faible champ électrique, le temps de traitement doit être plus long pour l'électroporation des membranes cellulaires [22].

Il a été trouvé expérimentalement que le temps nécessaire pour l'électroporation de la membrane cellulaire des différents tissus biologiques est inversement proportionnel à la force du champ électrique par dépendance aux facteurs [1].

Dans la littérature, les informations sur l'intensité du champ électrique (E) sont limitées et les données sont principalement basées sur des études d'effets secondaires post-

électriques, tels que le taux d'inactivation des microorganismes, la réaction de stress sur le tissu biologique et la diffusion du matériau des cellules [1].

### 1.9.2. Durée du traitement

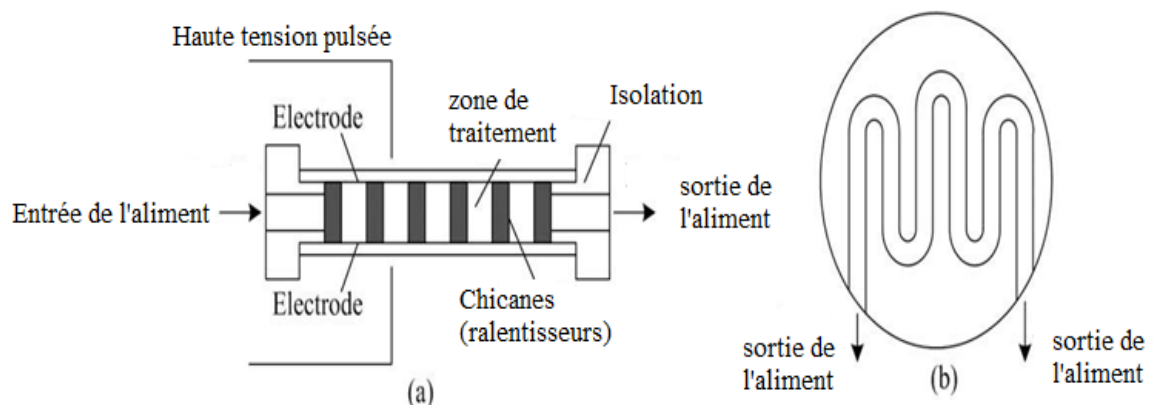
La plupart des études sur la cinétique d'inactivation des microorganismes par le CEP ont été basées sur la relation entre la fraction de survie et le temps de traitement (largeur d'impulsion - nombre d'impulsions) à différents niveaux de champ électrique. Cependant, l'utilisation de l'intensité du champ électrique et du temps de traitement pourrait présenter certaines limites en tant que paramètres de contrôle CEP appropriés [23].

Au fur et à mesure que le temps de traitement du CEP augmente, le taux d'inactivation des microbes augmente rapidement, puis doucement, graduellement écraser, finalement, aucun changement significatif n'est observé avec plus de temps de traitement [22].

Le temps de traitement est calculé en multipliant le nombre d'impulsions appliquées par la largeur d'impulsion, car la durée d'impulsion et /ou le nombre d'impulsions augmentent, le temps de traitement par CEP va également augmenter, ce qui entraîne une inactivation microbienne accrue. Néanmoins, il est nécessaire d'éviter d'augmenter la largeur d'impulsion, car cela entraînera une augmentation de la température des aliments à un niveau indésirable. Ainsi, la largeur d'impulsion doit être déterminée dans la plage qui n'augmente pas la température [16 ; 22].

Pour augmenter le temps de séjour de la nourriture liquide à l'intérieur de la chambre de traitement, des canaux d'écoulement déflecteurs ont été ajoutés à l'intérieur de la chambre, fournissant un trajet tortueux d'aliments liquides dans la zone de traitement (Figure 1.4).

Le refroidissement de la chambre a été assuré en faisant circuler l'eau à une température sélectionnée à travers des chemises construites dans les deux électrodes en acier inoxydable [22].



**Fig.1.4 :** Chambre de traitement continue avec des filtres  
(a) Vue en coupe. (b) Vue de dessus [22]

### 1.9.3. Forme de l'impulsion

Le champ électrique pulsé implique l'application d'impulsions de haute tension aux aliments placés entre 2 électrodes.

Pour les attributs de qualité alimentaire, la technologie CEP est considérée comme supérieure à la chaleur traditionnelle de traitement des aliments, car il évite ou réduit considérablement les changements néfastes des propriétés sensorielles et physiques des aliments, comme la couleur, la saveur, la texture et les nutriments [24].

Les impulsions de champ électrique sont généralement appliquées sous la forme d'ondes carrées, de décroissance exponentielle ou d'impulsions oscillatoires (Figure 1.5). L'impulsion d'onde carrée minimise l'absorption d'énergie dans les aliments et est plus efficace pour inhiber les micro-organismes que d'autres types d'impulsions [24].

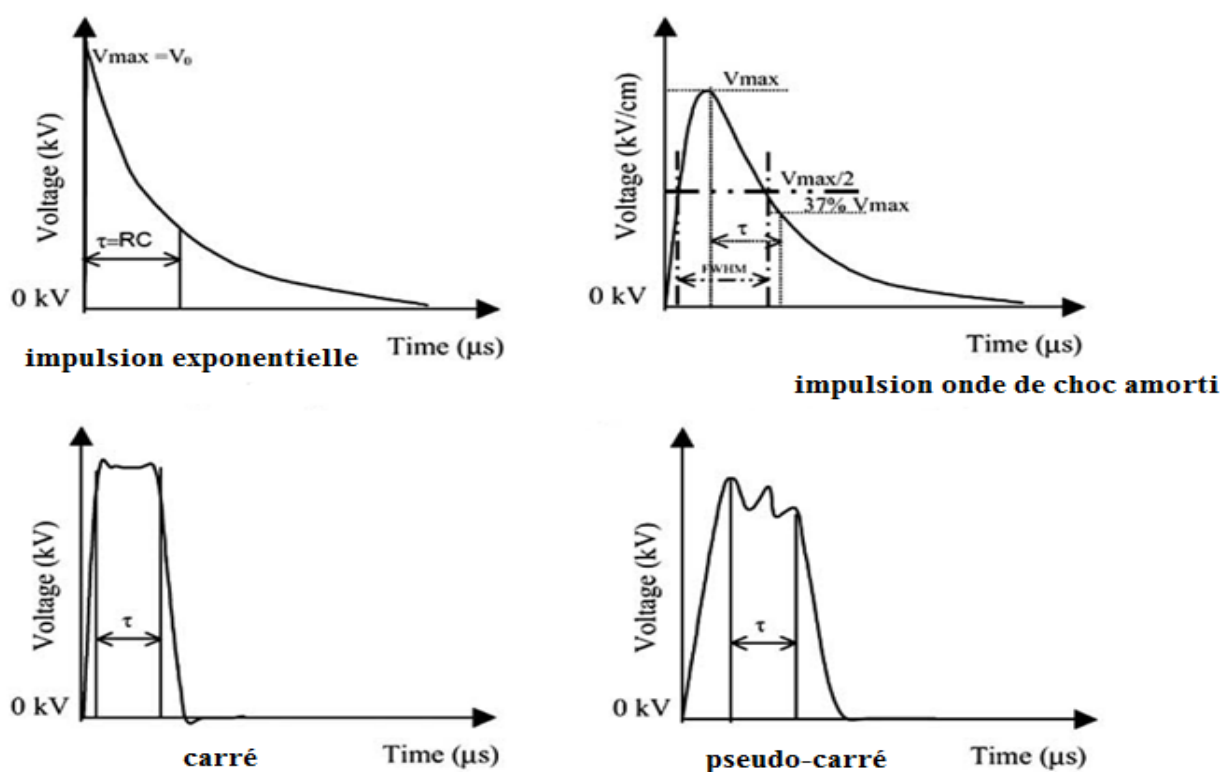


Fig. 1.5 : Forme d'impulsion utilisée en haute tension pulsée [25]

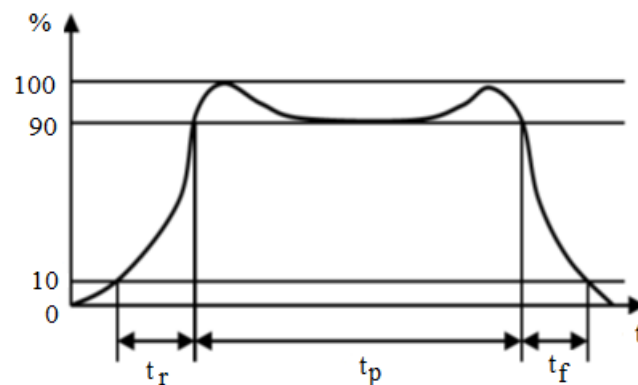
Une onde de tension de décroissance exponentielle est une tension unidirectionnelle qui monte rapidement à une valeur maximale et décroît lentement jusqu'à zéro. Les formes d'onde à impulsions carrées sont plus mortelles et plus économes en énergie que les impulsions décroissantes exponentielles. Les impulsions de décroissance oscillatoires sont les moins efficaces, car elles empêchent l'exposition continue de la cellule à un champ électrique de forte intensité pendant une période prolongée, empêchant ainsi la membrane cellulaire de se rompre irréversiblement sur une grande surface [12].

En raison de ce fait et la mesure moins précise de la largeur d'impulsion dans l'impulsion à décroissance exponentielle, l'énergie spécifique totale a été proposée comme nouveau paramètre de contrôle pour le traitement du CEP [23].

Pendant le traitement par CEP, une couche de protection peut être formée sur des électrodes dans la chambre de traitement de CEP lorsque des molécules chargées (par exemple des protéines) migrent vers la surface d'électrodes. La couche de blindage réduit l'efficacité du traitement. Les impulsions bipolaires sont utilisées pour empêcher la formation de la couche de blindage [1].

Les impulsions bipolaires sont probablement plus mortelles que les impulsions monopolaires parce qu'une inversion de l'orientation ou la polarité du champ électrique change la direction des molécules chargées dans la membrane cellulaire, ce qui provoque une contrainte dans la membrane cellulaire des micro-organismes [1].

La largeur spectrale d'une impulsion dont la forme temporelle s'approche d'un rectangle est globalement inversement proportionnelle à la durée de l'impulsion (Figure 1.6). Pour une impulsion rectangulaire (temps de montée et de descente supposés infinis), la fréquence du premier zéro du spectre (c'est-à-dire le premier minimum local) est donnée par  $1/T$  [12].



**Fig.1.6 :** Caractéristiques réelle d'une impulsion carrée [26]

Durée ou largeur de l'impulsion ( $t_p$ ) : la valeur de l'impulsion est supérieure à 90% de sa valeur finale - Temps de montée ( $t_r$ ) : c'est le temps requis par l'impulsion pour passer de 10% de sa valeur finale à 90% de sa valeur finale - Temps de descente ( $t_f$ ) : c'est le temps requis par l'impulsion pour passer de 90% de sa valeur finale à 10% de sa valeur finale.

Plusieurs études concernant l'effet de la durée des impulsions sur la capacité de la cellule à intégrer des molécules de tailles différentes ont été réalisées. Ces résultats montrent que la durée de l'impulsion contrôle le pourcentage de pénétration de macromolécules dans la cellule [27].

Plus récemment, plusieurs études ont mis en évidence un effet avec des impulsions de durée encore plus courtes et cela sur des membranes contenues dans le milieu intracellulaire.

En effet, dans le cas d'impulsions nanosecondes et sub-nanosecondes, les charges électriques n'ont pas le temps de se déplacer et de modifier le potentiel transmembranaire permettant d'aboutir au processus d'électroporation. Dans ce cas, le champ électrique se propage ainsi dans le milieu intracellulaire et peut créer un phénomène d'électroporation des membranes du noyau ou des mitochondries [27].

Des amplitudes beaucoup plus importantes de champ électrique sont nécessaires (quelques centaines de kV/cm) pour obtenir une efficacité d'électroporation notable. Enfin, certaines publications ont montré que la combinaison d'impulsions de forte et de faible amplitude augmentait l'efficacité de l'électro-transfert de gènes dans les muscles [27].

Des impulsions électriques peuvent aussi avoir des effets sur les bicouches lipidiques beaucoup plus dramatiques qu'une simple déformation. Elles peuvent bouleverser l'édifice membranaire, de manière réversible ou permanente [17].

La fréquence de répétition joue un rôle important sur la perméabilisation des membranes. Dans le domaine de l'électro-chimiothérapie, il a été montré que l'augmentation de la fréquence de répétition des impulsions réduisait sensiblement les effets secondaires au cours du traitement et notamment les effets dus aux fortes contractions musculaires [27].

Certaines études ont montré que la forme de l'impulsion représente un paramètre influant sur l'efficacité de l'électroporation. Des résultats montrent que des impulsions de forme bipolaire sont plus efficaces que des impulsions rectangulaires pour l'électroporation des membranes externes des cellules. Des impulsions d'amplitude inférieure de 20 % par rapport à des impulsions monopolaires ont permis d'obtenir une efficacité de perméabilisation identique. La forme bipolaire et symétrique des impulsions réduit aussi sensiblement la contamination des cellules par le phénomène d'électrolyte de l'applicateur (cuvette à électrode d'aluminium ou de fer par exemple) [27].

Pour une électroporation des membranes internes de la cellule (noyau, mitochondries), des impulsions plus courtes sont nécessaires. Les profils de celles-ci ont également un impact notable sur le processus membranaire, ce qui montre une dépendance du taux de perméabilisation en fonction des fréquences présentes dans le spectre des impulsions.

Dans ces conditions, l'amplitude, la durée, la forme, le nombre et la fréquence de répétition des impulsions sont des paramètres influant sur le phénomène de perméabilisation des cellules [27].



Des impulsions plus longues se sont révélées plus efficaces et leur effet a été particulièrement prononcé à température ambiante et dans des champs électriques modérés ( $E = 100\text{-}300 \text{ V/cm}$ ). Les impulsions bipolaires semblent être plus avantageuses, dans la mesure où elles provoquent des contraintes supplémentaires dans la structure membranaire, permettant ainsi une réduction de l'asymétrie des dommages membranaires dans la cellule et offrant une consommation énergétique minimale, avec dépôt réduit de solides sur les électrodes et en outre, un protocole complexe avec longue pause réglable entre les trains permet une régulation fine de la désintégration des tissus sans élévation de température notable pendant le traitement par CEP [21].

#### **1.9.4. Température de traitement**

Il a été démontré que la température d'application du CEP était un paramètre clé affectant l'électroporation de la membrane cellulaire. Plusieurs études ont démontré que l'augmentation de la température diminue le champ électrique critique nécessaire pour provoquer l'électroporation dans les cellules eucaryotes et procaryotes et améliorer les effets dérivés du traitement par CEP comme l'inactivation microbienne ou l'amélioration de l'extraction des composés intracellulaires [28].

La température de traitement joue également un rôle important dans l'inactivation microbienne. L'application de CEP à des températures douces a été suggérée comme un moyen d'améliorer l'efficacité du CEP comme méthode de conservation, mais l'effet de la température sur l'inactivation est compliqué. D'une part, une température plus élevée induit des dommages aux qualités organoleptiques des aliments [22].

La température préférée pour la chambre de traitement et les électrodes se situe dans la plage d'environ  $0$  à  $65 \text{ }^\circ\text{C}$ , de préférence de  $10$  à  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ , encore plus préférablement de  $15$  à  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . De plus, il a été suggéré que le traitement par CEP soit combiné avec un traitement thermique, car si la température des aliments était élevée avant un traitement CEP, le produit alimentaire subirait ainsi moins de charge thermique que le produit soumis à un traitement CEP sans préchauffage [22].

En utilisant des effets synergiques d'une température de traitement élevée sur l'inactivation microbienne, l'apport énergétique pourrait également être réduit de plus de  $100$  à moins de  $40 \text{ kJ/kg}$ , conduisant à une réduction drastique des coûts d'exploitation.

Globalement, le traitement CEP combinant le traitement thermique a des effets significatifs et parfois dommageables sur le goût, la couleur et d'autres propriétés des produits alimentaires résultants [22].

Puisque les dommages thermiques au jus de fruits fraîchement pressés sont minimales à une température inférieure à 50 °C, les conditions du procédé doivent être maintenues à cette température ou en dessous [22].

### **1.9.5. Conductivité**

L'énergie spécifique totale est définie comme un paramètre intégré qui implique l'influence du champ électrique, du temps de traitement et de la résistance électrique de la chambre de traitement, qui dépend de ses dimensions et de la conductivité du milieu de traitement [24].

Lorsqu'une impulsion est appliquée, il se produit un effet de chauffage par effet Joule qui augmente sa température et, par conséquent, la conductivité électrique. Cet incrément pourrait modifier la largeur d'impulsion et l'intensité du champ électrique [23].

Les paramètres critiques du produit comprennent la conductivité électrique, la densité, la viscosité, le pH et l'activité de l'eau. Des informations sur les propriétés physiques des aliments sur une large plage de température sont nécessaires pour trouver des conditions optimales de traitement de CEP et concevoir des unités de traitement [16].

Le traitement par CEP est le plus efficace pour l'inhibition microbienne des aliments à faible conductivité électrique. L'augmentation de la conductivité électrique d'un milieu de traitement entraîne une diminution de l'inhibition des microorganismes à apport d'énergie constant [16].

Une faible conductivité électrique augmente la différence de conductivité électrique entre un milieu et un cytoplasme microbien. Cette différence accrue de conductivité électrique affaiblit la structure membranaire des microorganismes en raison d'un flux accru de substances ioniques à travers la membrane pendant les traitements de CEP [16].

La conductivité électrique la plus faible a provoqué l'intensité de champ électrique la plus élevée et, par conséquent, a abouti à la plus grande efficacité dans l'inhibition microbienne. La température à l'intérieur des chambres de traitement CEP augmente pendant les traitements [16].

Une faible conductivité électrique des aliments entraîne un petit changement de température pendant le traitement par CEP. Le changement de température est également faible avec les aliments de haute densité [16].

L'augmentation de la température pendant les traitements CEP peut diminuer la solubilité de l'air dans les aliments. L'air généré par l'augmentation de la température peut provoquer

une rupture diélectrique sous champ électrique. Ainsi, l'augmentation de la température devrait être minimisée pour des traitements efficaces par CEP [16].

La viscosité alimentaire détermine les caractéristiques d'écoulement dans les systèmes CEP. Un flux uniforme d'un produit alimentaire dans la chambre de traitement entraîne un traitement uniforme [16].

Jusqu'à présent, la plupart des méthodes utilisées pour expliquer le transport de masse dans les tissus après le CEP ont été basées sur l'interprétation théorique des données de conductivité. La conductivité est une mesure pertinente du point de vue de l'électroperméabilisation, mais ne fournit aucune information sur la distribution spatiale des cellules perméabilisées dans le tissu [18].

### **1.10. Législation**

La transformation alimentaire par CEP est actuellement soumise au règlement sur les aliments nouveaux pour son application dans les pays européens. La sécurité est supposée si aucun additif n'est introduit dans un produit alimentaire et aucun changement dans la composition du produit n'est effectué pendant le traitement [16].

Cependant, pendant les traitements par CEP, les électrodes chargées sont en contact avec un produit alimentaire, ce qui pourrait inévitablement entraîner la libération du matériau d'électrode dans le flux de produit, selon l'intensité, la durée de l'impulsion et la constitution du produit [16].

Ainsi, une étude a été faite sur la conception d'électrodes qui ont amélioré la durabilité des électrodes et les systèmes de développement qui génèrent des formes d'onde minimisant la corrosion de l'électrode. Le titane a été récemment introduit comme matériau d'électrode de remplacement pour la durabilité [16].

Un changement potentiel dans les compositions alimentaires, induit par les actions électrochimiques du CEP, peut être un autre facteur qui doit être étudié plus avant pour la sécurité [16].

Les jus commerciaux comprennent les arômes de pomme, de fraise, d'orange et d'autres arômes sont emballés dans des bouteilles en verre avec des étiquettes pleines et vendus à partir de caisses réfrigérées. Pour que les traitements par CEP soient appliqués à davantage d'aliments, il faut signaler d'autres études démontrant la sécurité microbiologique et chimique de divers aliments traités au CEP et le maintien de la qualité fraîche pendant un stockage prolongé [16].

## 1.11. Conclusion

Pour résumer ce chapitre, nous avons tout d'abord constaté que l'application du champ électrique intéresse les scientifiques il y a plus de cent ans. Les premières applications importantes visent le secteur agroalimentaire puis elles se sont étendues à plusieurs autres domaines en relation directe avec la santé publique.

Les exigences des consommateurs en regard de la qualité et de la sécurité sanitaire des aliments poussent les recherches à mieux comprendre les mécanismes d'action du champ électrique avec l'organisme vivant afin de réduire au minimum les risques de contamination microbienne des aliments tout en maintenant la valeur nutritionnelle et le goût de l'aliment.

Nous avons vu que les cellules végétales sont très sensibles aux champs électriques, en raison de la très faible conductivité électrique. Lorsque les valeurs seuils de la tension de crête et de la durée d'impulsion sont dépassées, une rupture réversible ou irréversible des membranes cellulaires se produit. Ceci fournit une large gamme d'applications comme l'extraction ou la diffusion du matériel cellulaire.

Les paramètres les plus importants affectant la performance du traitement par CEP sont l'intensité du champ électrique, le temps de traitement, la largeur et la forme d'impulsion et la température de traitement.

Le chapitre suivant sera consacré à la description des principales applications du traitement par CEP.

**APPLICATIONS INDUSTRIELLES  
DU  
CHAMP ELECTRIQUE PULSE**

## 2.1. Introduction

De nombreuses études sur les applications industrielles de l'énergie pulsée, telles que l'agroalimentaire, le traitement médical, le traitement de l'eau, la génération d'ozone, l'allumage du moteur, l'implantation ionique et autres, ont vu le jour depuis de nombreuses années.

La technologie de puissance pulsé a été principalement développée pour des études de fusion nucléaire et pour des applications de défense militaire. Pour ces études, des générateurs d'énergie à impulsions ont été développés avec une puissance de crête extrêmement élevée et typiquement un fonctionnement à une seule impulsion [29].

Le domaine d'application du CEP dans l'industrie agroalimentaire reste actuellement étroit : il s'agit essentiellement de la destruction des micro-organismes à basse température en utilisant du CEP de haute intensité, déshydratation osmotique et de l'extraction de constituants cellulaires des végétaux en utilisant du CEP de moyenne intensité. Parmi de nombreux exemples d'applications du CEP : l'inactivation de micro-organismes, l'intensification de la séparation, l'extraction, le pressage, la congélation, la diffusion et le séchage peuvent être marqués [8].

Des applications de champ électrique pulsé peuvent être utilisées pour désintégrer des tissus biologiques ou des microbes. Diverses applications ont été identifiées, telles que l'amélioration du transfert de masse pendant l'extraction ainsi que la conservation des aliments en douceur. [22].

La technologie de CEP est donc un outil précieux qui peut améliorer la fonctionnalité et la récupération de composés ayant une valeur nutritionnelle, ainsi que la biodisponibilité de micronutriments et de composants dans une variété de produits alimentaires [21].

Par conséquent, garder les caractéristiques de saveur et de couleur originales ainsi qu'une valeur nutritive élevée pendant le traitement des aliments est de plus en plus important. Traditionnellement, l'inactivation des micro-organismes est réalisée par traitement thermique, mais la chaleur produit altérations de la saveur et du goût en plus de la perte de nutriments. Comme alternative aux méthodes conventionnelles, le CEP a été étudié en tant qu'une méthode de conservation non thermique pour le processus de pasteurisation des aliments [22].

## **2.2. Aperçu sur les techniques de traitement des aliments**

### **2.2.1. Pasteurisation**

C'est un traitement thermique modéré permettant la destruction des microorganismes pathogènes et d'un grand nombre de microorganismes d'altération. La température du traitement est généralement inférieure à 100°C et la durée, de quelques secondes à quelques minutes. Ce traitement thermique doit être suivi d'un brusque refroidissement afin de ralentir le développement des germes encore présents. Les aliments pasteurisés sont ainsi habituellement conservés au froid. La durée de conservation des aliments pasteurisés est tout de même limitée [27].

### **2.2.2. Stérilisation**

C'est un traitement thermique qui a pour finalité de détruire toute forme microbienne vivante. Le traitement à ultra haute température (UHT) consiste à chauffer le produit à une température assez élevée, entre 135°C et 150°C, pendant un temps très court, de 1 à 5 secondes. Le produit stérilisé est ensuite refroidi puis conditionné aseptiquement [30].

### **2.2.3. Chauffage ohmique**

Le chauffage ohmique, développé dans les années 1970, consiste à faire passer un courant électrique à l'intérieur d'un aliment situé entre deux électrodes, ce qui, de par la résistance offerte par l'aliment, fait hausser sa température.

Cette technologie ne nécessite qu'un appareillage simple et permet d'éviter de ne se fier qu'à la conduction pour le transfert de chaleur, diminuant la consommation d'énergie requise. L'augmentation rapide de la température des liquides constitue le principal avantage de cette technique, ce qui en fait une technologie intéressante pour la stérilisation commerciale rapide à température élevée. Le courant alternatif ne produit aucun changement ionique et aucune modification significative du pH des aliments. Le chauffage ohmique est utilisé principalement au Japon, en Angleterre et aux États-Unis [31].

### **2.2.4. Tube à passage de courant**

Le tube à passage de courant, une technologie générant une chaleur élevée (jusqu'à 950°C), consiste à faire circuler un fluide (souvent une huile) à l'intérieur d'un tube lisse en acier inoxydable dont les parois servent de résistance électrique et transforment le courant, par effet Joule, en énergie et chauffent le produit par convection.

Malgré la haute température déployée, cette technologie a comme avantage de ne pas surchauffer les produits alimentaires qui y sont soumis et sert principalement à réduire ou éliminer l'utilisation des agents de conservations chimiques, à chauffer les liquides à forte viscosité telles les huiles alimentaires ou les confitures, ainsi qu'à pasteuriser et/ou stériliser les œufs, produits du lait, concentrés de jus de fruits, d'arômes, de sirop, de purée et coulis de fruits et de chocolat. La lourde facture énergétique de ce procédé représente son principal inconvénient [32].

### **2.2.5. Irradiation**

L'irradiation des aliments consiste à soumettre des aliments, emballés ou en vrac, à un processus ionisant à partir de trois sources possibles : les rayons X, les rayons gamma et les électrons générés par des appareils émettant des rayonnements de 10 MeV ou moins.

L'irradiation parvient à détruire les microorganismes présents dans les aliments à l'aide de radicaux libres générés au moyen des rayons émis. Ces radicaux libres, instables, inhibent une multitude de phénomènes, dont la germination et le mûrissement, en se liant très rapidement à d'autres molécules afin de se stabiliser, créant de ce fait un déséquilibre au sein des molécules auxquelles ils se lient et entraînant une chaîne de réaction.

Généralement, la dose maximale absorbée par un aliment devrait être inférieure à celle qui compromettrait la sécurité sanitaire ou l'intégrité structurelle, fonctionnelle ou organoleptique de l'aliment.

L'irradiation sert donc trois principales fonctions dans le secteur agroalimentaire soit :

- ❖ La réduction de la charge microbienne des aliments ;
- ❖ La prévention de la détérioration des aliments par les microorganismes pathogènes, les insectes et l'infestation parasitaire ;
- ❖ L'augmentation de la durée de conservation des aliments en ralentissant la maturation ou la germination des aliments.

Pour une dose donnée, l'efficacité de l'irradiation dépendra toutefois du nombre de microorganismes présents dans l'aliment.

L'irradiation des aliments engendre par ailleurs une perte de diverses vitamines, protéines et autres éléments nutritifs contenus dans les aliments. C'est le cas notamment des vitamines A, B, C et E [31].



### 2.2.6. Ultraviolet (UV)

Les UV sont des ondes électromagnétiques (Figure 2.1) dont le spectre se situe entre 10 et 400 nm.

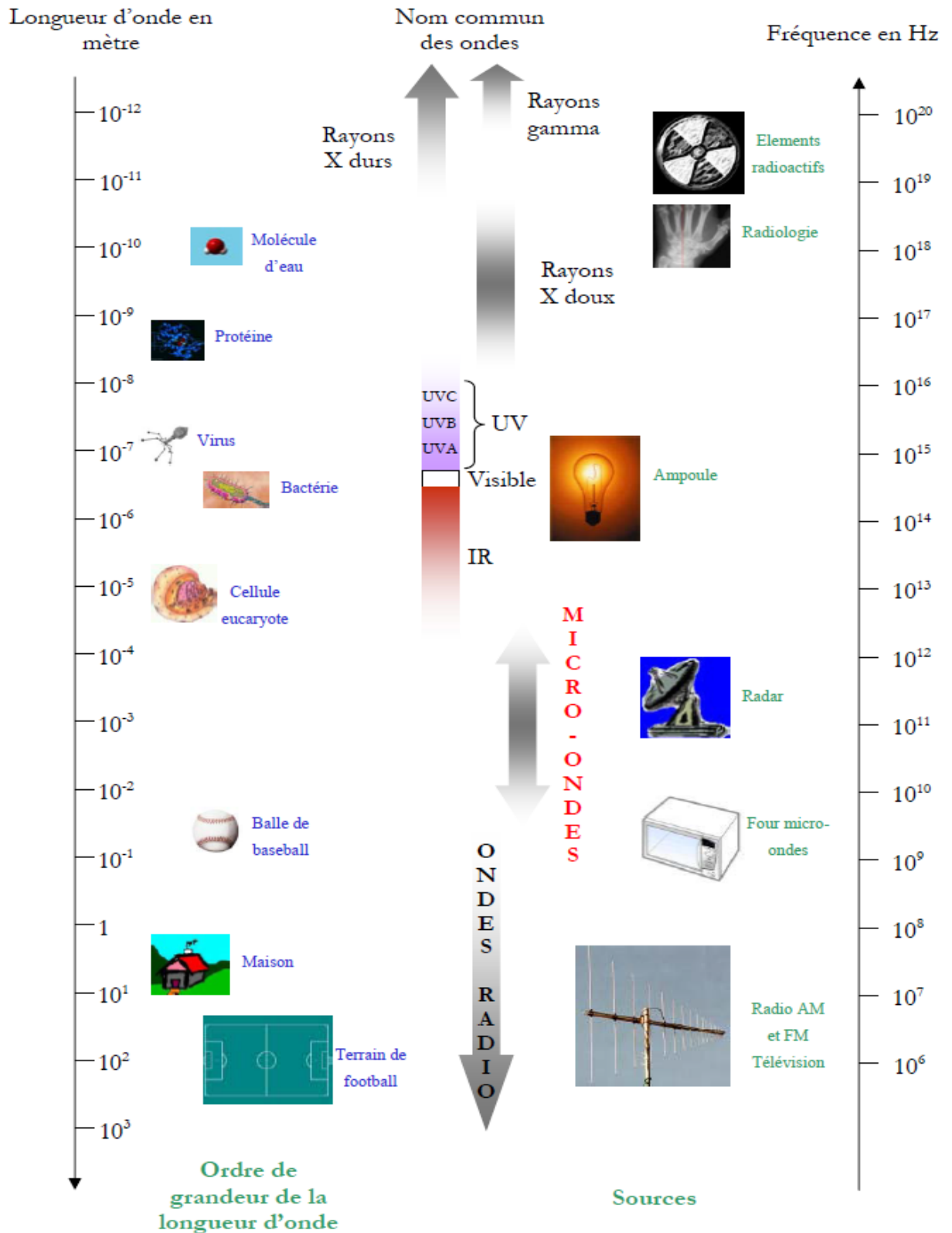


Fig .2.1 : Différents domaines spectraux des ondes électromagnétiques [32]

Ils se divisent en trois groupes : les UV A, les UV B et les UV C. Les UV C sont responsables de l'action bactéricide. Cette activité se manifeste notamment au niveau de l'ADN des micro-organismes.

En effet, les UV C provoquent des altérations photochimiques au niveau des protéines et des acides nucléiques (formation de dimères de thymine par exemple) conduisant à la mort cellulaire. L'une des utilisations de cette technique est la désinfection de l'eau et des effluents à la condition que leur turbidité soit faible [32].

### **2.2.7. Infrarouge (IR)**

Le rayonnement infrarouge (IR) se situe entre le domaine des ondes visibles et celui des ondes radio, avec des longueurs d'onde de 0,8  $\mu\text{m}$  à 1 mm. Il est transmis dans l'air comme le rayonnement visible. Comme la plupart des rayonnements, l'absorption des IR par le produit entraîne une agitation moléculaire et se traduit par une élévation de température qui sera fonction de la nature physique et chimique du produit.

La profondeur de pénétration des infrarouges est faible, de l'ordre de quelques millimètres ; cette technique est donc essentiellement utilisée pour des traitements de décontamination de surface ou à cœur pour des produits dont l'épaisseur n'est pas trop importante [32].

De nombreuses applications potentielles des IR ont été étudiées, mais relativement peu sont développées à l'échelle industrielle. Plusieurs sociétés (japonaises notamment) utilisent les propriétés des infrarouges pour la décontamination des sols, en particulier, des sols des zones de travail des usines de transformation alimentaire [32].

La décontamination par infrarouges permet de traiter le produit en continu. Elle permet également un transfert direct de l'énergie à distance mais aussi une montée rapide en température. Ses principaux inconvénients sont d'abord un fort investissement, la nécessité d'utiliser des emballages transparents aux IR et une limitation du traitement (en surface ou à cœur de produits peu épais) [32].

Le chauffage infrarouge permet d'obtenir des produits de qualité homogène puisque le flux énergétique est facilement maîtrisable et peut être focalisé de façon très précise. De plus, la facilité de régulation des émetteurs infrarouges, sa puissance de densité et la possibilité de combiner cette technologie à la convection lui assurent une grande souplesse d'utilisation.

Dans l'agroalimentaire, cette technologie est entre autres utilisée pour réduire ou éliminer l'utilisation d'agents de conservations chimiques, dorer les biscuits, produits laitiers et plats

préparés, stériliser, à travers l'emballage, les produits frais et les pâtisseries, torrifier et griller les graines et les céréales et stériliser en surface les produits frais et les produits laitiers [31].

#### **2.2.8. Lumière pulsée**

Le système de lumière pulsée utilise quant à lui des flashes de lumière intense émise par une lampe à xénon. Les longueurs d'onde de cette lampe sont comprises entre 200 nm (UV) et 1 mm (infrarouges, IR).

Les effets de cette technologie sont photochimiques (action des UV sur l'ADN par exemple) et photo-thermiques (action des IR qui provoqueraient une brève augmentation de température à la surface du produit). Cette technique est efficace sur tous les microorganismes, elle est rapide et permet un traitement athermique. Cependant, les liquides à traiter doivent avoir une faible turbidité. En effet, les matières en suspension du liquide à traiter semblent avoir un effet protecteur sur les micro-organismes car les UV ont de faibles longueurs d'onde et par conséquent pénètrent mal au sein des liquides à forte turbidité [32].

Ce type de traitement, jugé efficace à condition que la lumière agisse sur toute la surface de l'aliment, a été autorisé par les autorités américaines sur une vaste gamme de produits alimentaires. Les principaux avantages de cette technologie sont sa capacité de pasteuriser efficacement les microorganismes les plus résistants, de prolonger la durée de vie des produits frais conditionnés, de préserver les qualités nutritionnelles, organoleptiques et fonctionnelles des aliments, de même que sa rapidité d'utilisation et sa faible consommation d'énergie [31].

#### **2.2.9. Ultrasons**

Les techniques aux ultrasons, des ondes élastiques dont la fréquence est comprise entre 15 kHz et quelques centaines de mégahertz, sont habituellement répertoriées selon leur catégorie d'utilisation, à savoir les ultrasons de forte ou de faible puissance. Le principe général consiste à émettre une impulsion puis à capter le ou les échos provenant du milieu étudié [31].

Les caractéristiques principales des ultrasons exploitées par l'industrie agroalimentaire sont la vitesse de propagation de l'onde dans l'aliment (qui dépend de la densité, de la compressibilité et de l'élasticité de l'aliment), l'atténuation de l'onde émise (qui dépend de la viscosité et de l'homogénéité de l'aliment) et le temps de parcours de l'onde sonore.

Les possibilités d'application des ultrasons à faible puissance peuvent servir à évaluer le pourcentage d'huile dans une émulsion, de même que le pourcentage de sucre dans les jus

de fruits par des mesures de vitesse de propagation des ondes, ou encore à détecter la cristallisation par une mesure d'atténuation de l'onde sonore.

De plus, la combinaison des technologies aux ultrasons à des techniques thermiques modérées peut également servir à réduire la charge microbienne de certaines boissons [31].

#### **2.2.10. Micro-ondes**

Les micro-ondes se situent dans la bande de fréquences comprises entre 300 MHz et 300 GHz. La technologie micro-ondes a vu le jour avec la conception du radar vers 1930, puis s'est largement développée dans de nombreux domaines, dont celui de la décontamination.

Les principaux avantages de cette technologie sont sa rapidité et l'apport d'énergie calorifique directement dans la masse du produit à traiter.

Des résultats montrent une bonne efficacité des micro-ondes appliquées dans ces conditions faiblement thermiques (environ 40°C) avec un abattement de la charge microbienne compris entre 0,1 et 4,6 unités log selon le produit traité [32].

À l'instar du chauffage ohmique, les modalités de chauffage à hautes fréquences et par micro-ondes présentent l'avantage de ne pas utiliser uniquement la conduction pour le transfert de chaleur. En effet, ces procédés, sous l'effet d'un champ électromagnétique pour le chauffage à hautes fréquences (fréquences variantes entre 13,56 MHz et 27,12 MHz) et par l'entremise d'ondes radio pour les micro-ondes (fréquences variantes entre 915 et 2450 MHz), polarisent l'aliment en alignant les molécules d'eau qui le constituent dans le sens du champ électrique. Cette polarisation provoque des changements d'orientations et crée des frictions entre ces molécules, avec comme résultat une émission rapide de chaleur à l'intérieur de l'aliment [31].

Les aliments traités à l'aide de ces technologies présentent des qualités organoleptiques supérieures à celles des aliments issus des procédés thermiques conventionnels à conduction. Le choix entre les technologies à hautes fréquences ou à micro-ondes dépend de la puissance de l'installation, ainsi que de la dimension du produit à traiter, de sa nature physico-chimique et de son homogénéité [31].

La technologie des hautes fréquences est peu connue mais elle est cependant utilisée dans les domaines suivants : l'industrie du bois, l'industrie du plastique, l'industrie textile, l'industrie du papier/carton, l'industrie des composants et l'industrie des traitements de surface par plasma. La technologie hautes fréquences se développe dans quatre domaines en agroalimentaire : le tempérage, la décongélation, le séchage et la cuisson [32].

### **2.2.11. Technique du champ électrique pulsé**

Cette technologie du champ électrique pulsé (CEP) consiste en l'application d'un champ électrique intense pendant un temps très court (de l'ordre de la microseconde) sur un produit (de préférence liquide) placé entre deux électrodes.

L'efficacité de cette technologie non thermique dépend de nombreux paramètres comme par exemple :

- Des paramètres physiques du système d'exposition (intensité du champ électrique, durée de l'impulsion, forme de l'impulsion, nombre d'impulsions...),
- Des paramètres du produit à traiter (pH, conductivité...),
- Des caractéristiques des microorganismes (espèce, souche, taille, phase de croissance...) [32].

## **2.3. Applications industrielles du CEP**

Au cours des dernières années, la plupart des efforts ont été axés sur la possibilité de pasteurisation ou stérilisation d'aliments liquides avec un champ électrique pulsé. Des études sur l'effet du CEP sur les caractéristiques de déshydratation du tissu de la pomme de terre ont indiqué que le traitement au CEP entraînait une réduction du temps de séchage [18].

Un rapport a indiqué que le traitement par le CEP augmentait le taux de séchage du paprika rouge (Le paprika, aussi connu sous le terme piment doux ou bien ours, est une épice en poudre de couleur rouge obtenue à partir du fruit mûr, séché et moulu du piment doux ou poivron). Plusieurs autres ont également signalé que les champs électriques modérés entraînaient une augmentation significative du rendement en jus des cossettes de pomme et une diminution de la décoloration [18].

### **2.3.1. Traitement des eaux usées**

Malgré ses avantages indéniables, l'électroporation comme méthode de traitement des eaux usées n'a pas à ce jour été implantée au niveau industriel pour des raisons économiques. L'implantation de cette méthode dans les usines de traitement des eaux usées représente en effet des investissements considérables [33].

Les méthodes chimiques, bien que polluantes, prévalent sur les autres du fait de leur très faible coût. Probablement, cette technique trouvera sa place dans les prochaines années dans la décontamination spécifique des eaux usées provenant des hôpitaux.

En effet, les débits d'eaux usées en sortie d'un hôpital sont de l'ordre de quelque  $m^3/h$ , ce qui ne représente pas une consommation électrique trop importante [33].

Par ailleurs, les risques associés au nombre croissant de bactéries résistantes aux antibiotiques que l'on trouve dans les eaux des hôpitaux amèneront très certainement rapidement les autorités compétentes à investir dans les méthodes les plus efficaces et les plus sûres [33].

Pour la station d'épuration commerciale par CEP, l'un des principaux facteurs affectant la conception du système, telles que le diamètre du tuyau, la puissance moyenne requise pour un fluide et un protocole donné augmenté pendant que l'intensité du champ est maintenue. Ce n'est que de cette manière que les protocoles de traitement par CEP passeront de l'échelle de laboratoire et pilote à des opérations à l'échelle commerciale.

Un système de laboratoire traite généralement des litres par heure (ou moins), et une usine pilote fonctionne généralement entre dix et cent litres par heure, tandis que les systèmes commerciaux doivent être capables de traiter des milliers à des dizaines de milliers de litres par heure. Des diamètres de tuyau plus grands supportent des débits plus élevés, mais nécessitent des tensions d'impulsions proportionnellement plus élevées pour maintenir la même intensité de champ. Par exemple, doubler le diamètre du tuyau permet quatre fois le débit à une pression donnée, mais nécessite deux fois la tension de crête pour maintenir la même intensité de champ [21].

### **2.3.2. Conservation des aliments**

A ce jour, parmi les méthodes de conservation, la pasteurisation est la plus répandue. L'inconvénient majeur de cette technique est la perte totale ou partielle des éléments dits thermolabiles (éléments dont les propriétés sont modifiées ou détruites suite à une élévation de température). C'est le cas de nombreux arômes et de nombreuses vitamines. Les traitements thermiques peuvent par ailleurs modifier le goût ou la couleur des aliments traités [33].

L'industrie agro-alimentaire s'intéresse donc aux techniques alternatives, en réponse à la demande croissante des consommateurs pour des produits plus sains et plus naturels. Les méthodes de conservation non-thermiques ont pour but de préserver au maximum la qualité des aliments, et en particulier leurs arômes et leur teneur en vitamines ou substances essentielles. L'aspect économique reste un facteur important à prendre en compte. Il est cependant possible dans l'agro-alimentaire de répercuter les surcoûts sur le prix de vente, à condition de proposer un produit de meilleure qualité [33].

Pour la stérilisation et la pasteurisation des aliments, emballages et autres, des systèmes avancés sont développés et commercialisés par la filiale PurePulse Technologies Inc. de

Maxwell, dont le système Cool-Pure™ PEF est utilisé pour la pasteurisation à température réduite d'aliments liquides tels que lait, jus d'orange ainsi que le fromage, coûtent habituellement moins de 0,04 \$ le litre [30].

Pour obtenir un système de grande capacité, PurePulse travaille avec des organisations militaires américaines et d'autres groupes de l'industrie pour poursuivre la recherche et développer des applications de préservation avancées pour cette technologie.

Aux États-Unis, le Natick Soldier Centre, qui fait partie du US Army Soldier Systems Centre (Natick), en collaboration avec l'industrie et le milieu universitaire, est capable de produire des repas de haute qualité avec une longue durée de conservation. Ils travaillent principalement à l'étude du processus de traitement et de l'efficacité du traitement.

Le traitement par CEP préserve la couleur, la saveur et la concentration des nutriments. Cependant, les électrodes des systèmes CEP commerciaux existants doivent être remplacées toutes les 100 heures environ [30].

L'utilisation de la technologie CEP, peut représenter une alternative durable pour prolonger la durée de conservation de produit pasteurisé, ou pour appliquer un deuxième traitement de conservation au lait thermiquement pasteurisé sans altérer davantage ses attributs sensoriels et nutritionnels. Des études ont démontré que la technologie CEP seule est capable de prolonger la durée de conservation du lait liquide stocké à des températures de réfrigération jusqu'à deux semaines sans causer de changements aux propriétés physiques ou chimiques du lait ou à ses attributs sensoriels [34].

D'autre part, des études ont montré que l'application de CEP en combinaison avec des traitements thermiques doux représente une stratégie de conservation plus efficace, capable de prolonger la durée de conservation du lait liquide jusqu'à quatre semaines sans changements notables de qualité [34].

Ces résultats suggèrent que l'application de CEP à des températures douces peut être utilisée soit immédiatement après la pasteurisation thermique pour prolonger la durée de conservation du lait suffisamment pour assurer un temps d'affichage raisonnable et une qualité acceptable après l'expédition emballée, ou comme un second traitement de préservation appliqué après l'expédition en vrac, de la même manière que la double pasteurisation thermique qui est actuellement utilisée [34].

### **2.3.3. Extraction de l'huile végétale**

Le rendement et la qualité des huiles d'origine végétale ont été étudiés [14], et un schéma de traitement modifié pour la production d'huile de germe de maïs avec une quantité accrue

de phytostérols et un rendement en huile élevé a été développé. Le produit frais moulu, trempé pendant 48 h à 30, 40 et 50 °C dans de l'eau, a été traité à une intensité de champ de 3,0 kV/cm, 120 impulsions [14].

Par la suite, l'huile a été séparée par extraction à l'hexane, pressage et extraction au CO<sub>2</sub> supercritique. Avec un champ électrique de 3,0 kV/cm et une température d'eau de trempage de 50 °C, le rendement en huile pourrait être augmenté de 27,8% pour l'extraction de l'hexane, de 25,2 % pour le pressage et de 14,9 % pour l'extraction du CO<sub>2</sub> supercritique.

Différentes fractions de coques de germes de maïs ont été analysées en ce qui concerne leur teneur en phytostérol et il a été montré que des fractions de coque fines peuvent être utilisées pour améliorer la valeur physiologique de l'huile de germes de maïs. La récupération d'huile des olives a été améliorée de 7,4% après un traitement de CEP à 1,3 kV/cm [14].

L'huile de tournesol est l'huile la plus populaire produite en Fédération de Russie, en Ukraine, en Argentine et dans certains pays européens. Par exemple, la production d'huile de tournesol a atteint 530 millions de tonnes en 2010 et les exportations ont dépassé 340 millions de tonnes. L'huile de tournesol est largement utilisée dans la transformation des aliments, la cuisine, la production de savon, la mayonnaise, etc. [35].

Le pourcentage d'huile dans ces graines peut aller de 45 à 52%. De plus, les graines de tournesol présentent une teneur élevée en protéines. Le pressage et l'extraction par solvant sont les procédés les plus couramment utilisés pour l'extraction de l'huile à partir de graines.

Les presses à vis sont généralement utilisées pour le pressage à l'échelle industrielle, cependant, les presses hydrauliques peuvent également être utilisées.

L'essence, le CO<sub>2</sub> supercritique, l'hexane et l'éthanol sont habituellement utilisés comme solvants pour l'extraction. Pour obtenir la valeur maximale du rendement en huile, l'extraction par solvant est la plus couramment utilisée après le pressage. Cependant, le processus d'extraction nécessite une longue durée et des traitements préliminaires deviennent nécessaires [35].

Pour améliorer l'efficacité de l'extraction par solvant, le champ électrique pulsé apparaisse comme une possibilité de fournir un processus de prétraitement hautement efficace et non-thermique aux graines [35].

En résumé, de nombreux rapports ont démontré l'application du CEP pour l'extraction de l'huile de graines oléagineuses comme méthode d'intensification, augmentant le rendement en huile [35].



#### **2.3.4. Intensification de l'extraction des polyphénols**

L'efficacité du champ électrique pulsé, en tant que technologie d'assistance de l'extraction solide-liquide, a également été étudiée. Lors de ce traitement, la tension induite par l'application d'un champ électrique entre deux électrodes provoque des instabilités locales au niveau de la membrane cellulaire. Ceci a pour conséquence la création de pores ; ce phénomène est appelé électroporation, et a été démontré comme étant efficace pour l'extraction des composés intracellulaires, tels que les polyphénols [36].

Plus particulièrement, le CEP a été utilisé dans le cadre de plusieurs études, à l'échelle laboratoire puis à l'échelle pilote, dans le but d'améliorer la diffusion des composés phénoliques, et notamment des anthocyanes, lors des étapes de macération et de fermentation [36].

Ces résultats suggèrent que ce procédé, peu consommateur en énergie, permet de réduire significativement la durée de la macération lors du process de vinification. En ce qui concerne les problématiques de valorisation des co-produits de l'industrie viticole, la technologie de CEP s'est avérée efficace pour l'amélioration de l'extraction des composés phénoliques de diverses matrices [36].

En effet, des études ont montré que le prétraitement des pellicules de raisin par CEP, à une intensité de champ de 3.0 kV/cm, avec une consommation énergétique de 10 kJ/kg, conduisait à une augmentation significative de 17 % des anthocyanes extraites lors de l'étape de diffusion subséquente [36].

Par ailleurs, le pré-traitement CEP appliqué au marc de raisin entier, en milieu aqueux, à une intensité de champ élevée ( $E = 20$  kV/cm, consommation énergétique totale de 212 kJ/kg) provoque l'endommagement des membranes cellulaires et facilite de manière notable la diffusion des bio-composés à l'extérieur du milieu cellulaire [36].

Dans un objectif de diminution des coûts énergétiques, il serait donc intéressant de traiter ce marc par CEP, à l'état sec, dans le but d'en extraire les polyphénols lors d'une étape postérieure de diffusion dans un solvant vert [36].

#### **2.3.5. Amélioration de l'extraction du jus**

La désintégration cellulaire est souvent une condition préalable cruciale avant la séparation liquide-solide pendant l'extraction des jus de fruits et de légumes. Classiquement, une macération enzymatique est appliquée, nécessitant des temps de séjour de 30 à 60 minutes et des cuves de rétention [37].

L'application d'un traitement par CEP continu et de courte durée pour induire la désintégration cellulaire a été étudiée en utilisant une presse à jus d'une capacité de 50 kg. En fonction de la variété de pomme et de l'intensité du traitement par le CEP, une augmentation du rendement en jus a été trouvée, similaire ou supérieure à celle obtenue après un traitement enzymatique. Un apport énergétique spécifique de 3 kJ/kg était suffisant pour augmenter le rendement en jus.

Des intensités de traitement plus élevées ont entraîné une désintégration supplémentaire de la purée de pomme, qui pourrait - en fonction du type de presse - provoquer des difficultés pendant la séparation liquide-solide. Comme une application de CEP ne provoque pas de dépolymérisation des hydrocolloïdes, il est possible d'extraire la pectine structurée native du grignon. Un premier prototype industriel pour cette application a été installé dans une entreprise allemande de production de jus de fruits en 2006 [37].

### **2.3.6. Amélioration du séchage**

Le séchage des produits alimentaires contribue souvent de manière significative aux coûts de production et aux exigences de temps en raison de la diffusion limitée de l'humidité du noyau du produit à sa surface. L'élimination de l'eau de la surface du produit peut être améliorée par diverses conditions de séchage, mais une élimination élevée entraînera la formation d'une croûte sèche empêchant l'apport d'humidité supplémentaire provenant du centre [37].

L'amélioration du séchage de plusieurs fruits et légumes après une application de CEP a été étudiée, permettant une réduction des temps de séchage jusqu'à 30 % pour les cubes de pommes de terre. Bien que l'énergie requise pour l'évaporation de l'eau ne soit pas modifiée par une application CEP, des économies d'énergie significatives peuvent être attendues grâce au transport plus rapide de l'humidité et à l'augmentation des capacités de production des lignes existantes [37].

La production de jambon séché et de saucisses sèches nécessite l'application de conditions de séchage douces et de temps de séchage allant jusqu'à 30 jours. La possibilité d'améliorer les taux de séchage du jambon sec a été étudiée en soumettant des échantillons à un traitement à un champ de 3 et 4 kV/cm et un apport énergétique spécifique de 5 et 20 kJ/kg.

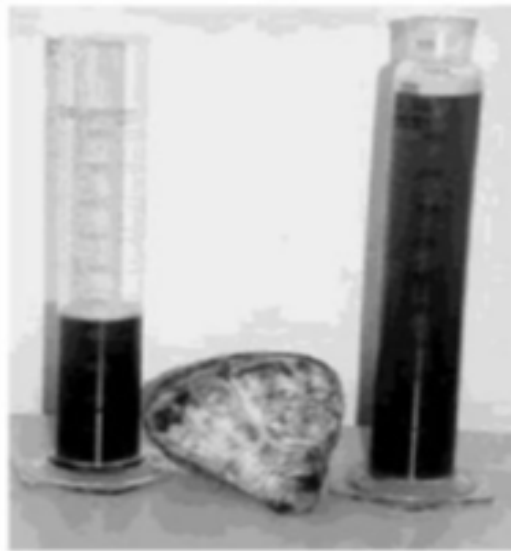
Les temps de séchage les plus courts ont été atteints après un traitement par CEP et une injection de saumure, mettant l'accent sur le potentiel de la technique à améliorer le transport de l'humidité dans les tissus de la viande [37].

Une application de salage manuel en combinaison avec du CEP a provoqué la formation d'une surface de viande sèche et dénaturée, en particulier après un traitement à 4 kV/cm et 20 kJ/kg. Cet effet prononcé pourrait être lié à l'intensité élevée du traitement et aux conditions de séchage appliquées, car la vitesse de l'air (environ 4 m/s) n'était pas variable dans l'enceinte climatique et plus élevée que lors du traitement conventionnel du jambon. En cas de salage de pile, deux processus de transport de masse se produiront, une diffusion d'eau hors du tissu, ainsi que la diffusion du sel dans le tissu [37].

### 2.3.7. Traitement des betteraves à sucre à l'échelle industrielle

Traditionnellement, l'extraction du sucre consiste à détailler les betteraves en petits morceaux (les cossettes), puis à immerger ces cossettes dans de l'eau chaude (70-75°C). Le passage à haute température a pour conséquence la détérioration des tissus biologiques, ce qui nécessite en aval des étapes de purification du sucre [33].

Une alternative prometteuse à ce traitement consiste à appliquer directement des impulsions électriques sur les betteraves à sucre afin de permettre au sucre contenu dans les cellules de s'échapper. Ceci est illustré sur la figure 2.2 :



**Fig.2.2** : Jus extrait d'une betterave à sucre non traitée (tube de gauche) et traitée par CEP (tube de droite). L'extraction du jus est faite par pressage avec les mêmes conditions de pression dans les deux cas [32].

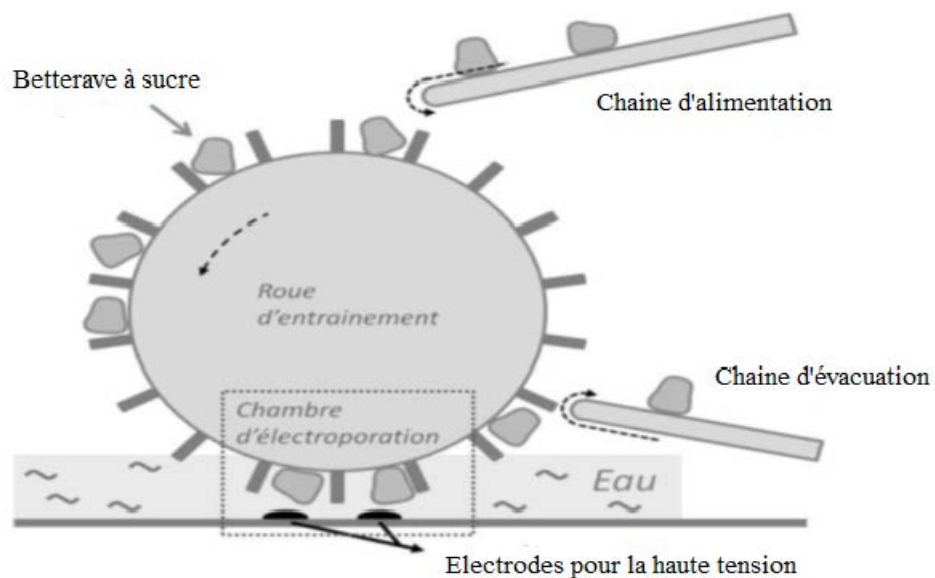
L'exploitation de l'électroporation en milieu industriel nécessite une étape de redimensionnement de tous les dispositifs. Il s'agit en effet de proposer des cadences de traitement réalistes pour un industriel. Dans le cas de la betterave à sucre, les débits dans les usines sont de l'ordre de 15 000 tonnes de betteraves par jour. On se situe bien loin d'une expérience de laboratoire. La figure 2.3 présente le premier prototype industriel pour le

traitement par électroporation des betteraves à sucre. Il s'agit du dispositif KEA (Karlsruher Elektroporation-sanlage), développé pour traiter 10 tonnes de betteraves par heure [33].



**Fig.2.3 :** Premier prototype industriel pour l'électroporation de betteraves à sucre [33]

Le schéma de principe du dispositif est illustré sur la figure 2.4. L'alimentation en betterave s'effectue par l'intermédiaire d'un tapis roulant qui dépose les betteraves au sommet d'une roue d'entraînement d'environ 2 m de diamètre. La roue d'entraînement amène ensuite les betteraves vers la chambre d'électroporation où les betteraves, immergées dans l'eau, sont soumises aux impulsions électriques. Deux électrodes pour la haute tension sont disposées au fond de la chambre d'électroporation. Un ruban métallique disposé tout autour de la roue d'entraînement sert d'électrode de terre [33].



**Fig.2.4 :** Schéma de principe du dispositif KEA [33]

Les premières expériences ont montré qu'une intensité de champ électrique externe de l'ordre de  $E = 3 \text{ à } 5 \text{ kV/cm}$ , avec une longueur d'impulsion de l'ordre de 1 à 2 ms étaient bien adaptées à une désintégration complète du tissu de la betterave à sucre pour l'extraction du sucre [33].

Le champ électrique externe doit être établi dans un milieu fortement conducteur, ce qui implique un courant considérable. La conductivité de la betterave à sucre est d'environ 2 mS/cm, et les betteraves sont immergées dans de l'eau avec une conductivité de 0,7 mS/cm.

Si l'on note  $\sigma$  la conductivité du milieu et sa permittivité relative, le temps de relaxation  $\tau$  du milieu se calcule selon la formule :

$$\tau = \epsilon_0 \epsilon_r / \sigma \quad (2-1)$$

Pour l'eau contenant les betteraves, le temps de relaxation est de 10 ns. Ainsi, pour des impulsions dans le domaine des microsecondes, le réacteur d'électroporation peut être considéré comme une résistance ohmique [33].

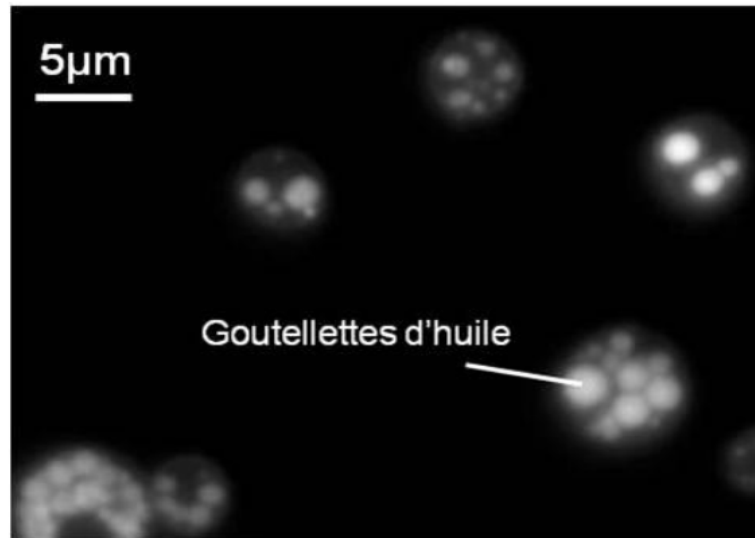
La bétanine est un colorant naturel massivement utilisé pour intensifier la couleur rouge de certains aliments. On le trouve principalement dans les betteraves rouges.

Son extraction traditionnelle repose sur des combinaisons de méthodes telles que la fragmentation mécanique, l'élévation en température ou l'utilisation de différents solvants chimiques. Ces méthodes peuvent néanmoins altérer la qualité de la bétanine. L'utilisation d'impulsions électriques, au contraire, préserve l'intégrité de la molécule et permet l'obtention de hauts rendements à moindre coût énergétique. Lorsque des impulsions électriques sont appliquées, la bétanine (de couleur rouge) s'échappe des compartiments intracellulaires. Des études indiquent que l'utilisation des impulsions électriques est la technique garantissant le taux d'extraction le plus élevé : jusqu'à 90% de la quantité totale de colorant. Les impulsions mises en œuvre sont des impulsions rectangulaires de 10  $\mu\text{s}$  de durée et de 1 kV/cm d'amplitude. Les énergies nécessaires pour une extraction optimale se situent autour de 7 kJ/kg de betterave [33].

### **2.3.8. Traitement d'exploitation des biomasses comme source d'énergie**

Les applications émergentes aujourd'hui relèvent du domaine des énergies renouvelables. Dans le contexte actuel d'appauvrissement des matières premières énergétiques, la communauté scientifique s'exalte pour les alternatives durables telles que les énergies solaires, éolienne ou hydraulique. Une des méthodes de production d'énergie renouvelable consiste à exploiter les microalgues (l'utilisation des microalgues comme source énergétique est un domaine d'activité très large et nous n'effleurons ici qu'un de ses

aspects). Les microalgues ont en effet la propriété de fabriquer et de stocker des lipides (de l'huile) dans des vésicules intracellulaires (Figure 2.5) :



**Fig. 2.5** : Visualisation des gouttelettes d'huile contenues dans des microalgues (*Auxenochlorella protothecoides*) [33]

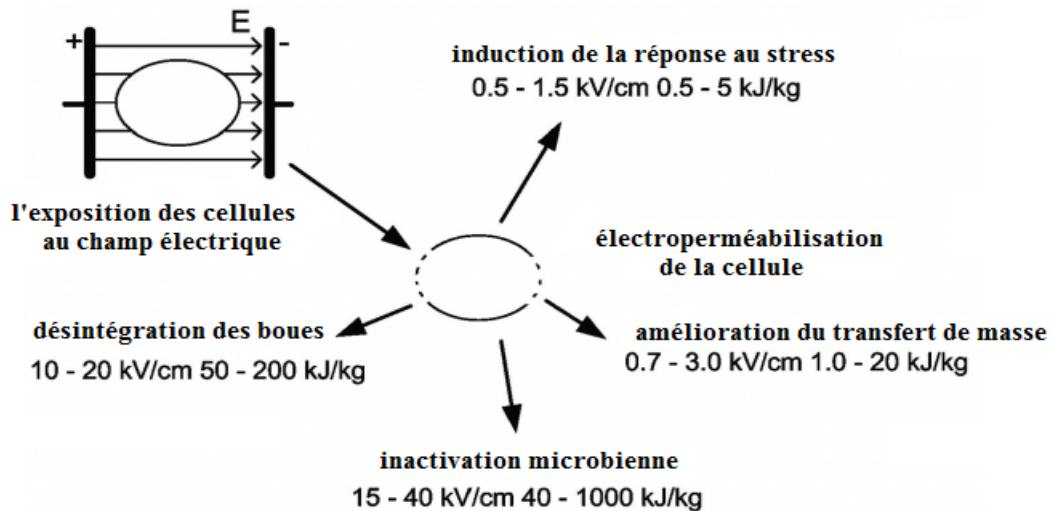
Cette huile pourrait être une matière première prometteuse et durable pour une future production de biocarburants. Le rendement en huile de microalgues par unité de surface est 5 à 10 fois plus élevé que le rendement des plantes également cultivées pour leur huile. Les valeurs typiques pour les graines de colza et l'huile de palme sont 1200 et 5900 L/ha/an, respectivement. Les valeurs optimistes pour le rendement des lipides par les microalgues vont jusqu'à plus de 50.000 L/ha/an [33].

Un autre argument fort pour une utilisation énergétique des microalgues est la possibilité de les cultiver sur des terres non arables, réduisant ainsi la concurrence avec les cultures vivrières. En revanche, en l'état actuel des choses, la culture des microalgues et leur traitement consomme beaucoup d'énergie, trop pour être rentable. Une grande partie de cette énergie est dépensée pour l'extraction de l'huile. Pour produire un biocarburant, on estime que le coup de l'extraction de l'huile représente environ 30 à 50 % du coût total énergétique sur l'ensemble de la chaîne de production (en tenant compte de la culture des algues) [33].

Les traitements par impulsions électriques offrent ainsi des options prometteuses pour améliorer l'efficacité énergétique des microalgues. S'il est possible d'extraire à moindre coût l'huile contenue dans les microalgues au moyen d'impulsions électriques, la fabrication de bio-carburant à base de microalgues deviendra une réalité [33].

### 2.3.9. Applications biologiques

Les applications industrielles utilisant les effets biologiques de la puissance pulsée (Figure 2.6) sont la décontamination de l'air et l'eau, la croissance des cultures, la transformation des aliments et les traitements médicaux [24].



**Fig.2.6 :** Exposition de cellules biologiques à un champ électrique et son application dans le traitement des aliments, des bios et des eaux usées avec une intensité de champ électrique typique et des exigences d'apport d'énergie [37].

Les applications biologiques de la puissance pulsée sont réalisées en sélectionnant le type qui donne aux objets cibles le résultat adéquat parmi ces agents ou sous-produits.

Les rejets de gaz sont sélectionnés pour la stérilisation d'*Escherichia coli* et autres bactéries pour la décontamination de l'air [29].

L'électroporation est habituellement utilisée pour stériliser les bactéries. Cette technique est couramment appliquée pour la stérilisation dans les aliments en traitement. Les micro-organismes naturellement contaminés dans le jus d'orange sont plus difficiles à inactiver par le CEP.

Pour les traitements médicaux, le CEP a attiré l'attention pour le traitement du cancer. L'électroporation par énergie pulsée est connue depuis longtemps pour l'application médicale de la manipulation de gènes. Récemment, de nombreux chercheurs ont intérêt à utiliser des durées d'impulsion plus courtes. La micro chambre à électrodes de dimensions adaptées aux cellules de mammifères vivantes a été étudiée [29].

Le processus d'électro-perméabilisation a connu un intérêt grandissant car il permet notamment d'introduire dans le cytoplasme des molécules thérapeutiques.

Une application d'importance fondamentale est le transfert de petites molécules anticancéreuses comme la bléomycine ou le cisplatine [17].

Ce procédé nommé électro-chimiothérapie permet d'augmenter de manière importante la cytotoxicité de ces molécules et a été utilisé avec succès dans des essais cliniques pour le traitement de cancers de la peau. Il est actuellement utilisé comme soin palliatif dans plus de cinquante centres hospitaliers en Europe. L'électro-perméabilisation a aussi des applications prometteuses dans le cadre des thérapies géniques [17].

### **2.3.10. Application dans la destruction des microorganismes**

Le mécanisme de destruction des microorganismes par le CEP n'est pas encore clairement élucidé. La formation d'instabilités locales au niveau de la membrane des microorganismes par une compression électromécanique et la tension induite par le champ électrique entraîneraient la formation de pores. C'est ce phénomène d'électroporation qui jouerait un rôle majeur dans l'action de CEP sur les cellules [32].

Pour détruire les bactéries, on utilise généralement des impulsions dont la durée est autour de 1 à 10  $\mu$ s avec des amplitudes de champs de l'ordre de quelques dizaines de kV/cm. Pour la majorité des bactéries, les niveaux réglementaires de décontamination peuvent être atteints facilement avec des niveaux énergétiques de l'ordre de 120 kJ/L.

Certaines souches bactériennes, plus résistantes, nécessitent de combiner les impulsions électriques avec un chauffage modéré.

L'utilisation des impulsions électriques pour la décontamination bactérienne ne présente pas les inconvénients majeurs des méthodes traditionnelles. Le traitement par champ électrique pulsé présente également des avantages sur les traitements traditionnels thermiques. En effet, lors d'une forte élévation de température, la mort de la cellule s'accompagne également de la destruction des protéines (macromolécules biologiques) [33].

En particulier, les nucléases (molécules capables de détruire l'ADN) sont détruites. Avec l'utilisation de champ électrique pulsé, ces nucléases sont conservées, et l'ADN des différents microorganismes peut donc être détruit, ce qui évite la propagation de gènes indésirables tels que les gènes de résistance aux antibiotiques (gènes courants dans les eaux usées de milieu hospitalier) [33].

Enfin, il n'a pas été observé à ce jour de développement de résistance des bactéries aux champs électriques. Cette observation est primordiale dans la mesure où elle garantit que l'on n'observera pas de baisse de l'efficacité de l'inactivation au cours du temps et au fur et à mesure des traitements [33].



A ce jour, aucun changement morphologique n'a été détecté, de même qu'aucun dommage dans l'ADN. Au contraire, les méthodes classiques telles que les UV peuvent engendrer des mutations génétiques potentiellement dangereuses [33].

L'induction des pores de la membrane par le CEP peut également être utilisée pour l'inactivation des micro-organismes. La perte de la fonction de barrière membranaire et la fuite du liquide intracellulaire entraîneront la mort cellulaire. La perméabilisation membranaire peut être visualisée en utilisant une coloration de cellules fluorescentes et une analyse par cytométrie de flux [37].

En combinant l'application du CEP et de la chaleur douce, une inactivation microbienne peut être obtenue avec une faible consommation d'énergie électrique tout en fonctionnant à une température maximale et à un temps de séjour inférieurs à ceux du traitement thermique.

Une première application commerciale pour la conservation des jus de fruits de qualité supérieure a été réalisée aux États-Unis à la fin de 2005. Les produits sont distribués sous forme réfrigérée pour empêcher la dégradation par l'activité enzymatique résiduelle. Retenir l'activité enzymatique - un inconvénient potentiel pendant le traitement du jus par le CEP - pourrait être un avantage dans les milieux où une décontamination microbienne, mais aucune dénaturation enzymatique ou protéique n'est souhaitée [37].

La production de fromage au lait cru et le traitement des préparations enzymatiques ou protéiques de jaune d'œuf sont des exemples où une réduction de la charge microbienne pourrait être effectuée sans application de chaleur et des changements connexes dans la structure des protéines. Il a été montré que l'activité de la peroxydase lipidique, un composant du système antimicrobien natif, peut être conservée après une décontamination microbienne du lait [37].

Une réduction des températures maximales pendant la décontamination des liquides contenant des protéines pourrait également aider à minimiser l'encrassement des surfaces de l'échangeur de chaleur [37].

### **2.3.11. Applications de l'électroporation réversible**

L'électroporation réversible remporte dès lors un vif succès auprès des biologistes pour rendre possible ou faciliter l'introduction de petites et grandes molécules dans les cellules.

Les grandes molécules ayant plus de difficulté à traverser la membrane, leur introduction nécessite d'appliquer des impulsions électriques microsecondes intenses (un ou plusieurs kV/cm), ou alors, si les impulsions électriques sont d'intensité moindre, la durée des impulsions doit être augmentée à une dizaine de millisecondes [12].

Une troisième possibilité consiste à combiner l'application d'impulsions électriques d'une centaine de microsecondes et d'intensité de l'ordre du kV/cm, à des impulsions d'une dizaine à plusieurs centaines de millisecondes et d'intensité de l'ordre de la centaine de V/cm. Ces protocoles sont utilisés pour le transfert de gènes dans les cellules. L'efficacité des transferts reste cependant limitée et les mécanismes impliqués ne sont pas complètement maîtrisés [12].

L'électroporation réversible est également mise à profit pour le transfert de médicaments dans les cellules, avec possibilité de causer la mort des cellules en introduisant des médicaments cytotoxiques. La bléomycine est un exemple de molécule fortement toxique pour les cellules lorsque celle-ci se trouve dans leur cytosol, mais qui traverse difficilement la membrane plasmique dans les conditions ordinaires. Grâce à l'électroporation, son action peut être potentialisée en facilitant son entrée dans les cellules ciblées [12].

Dans le domaine de la biologie, l'électroporation réversible permet également de faciliter la fusion cellulaire via la membrane, on parle d'électro-fusion. Dans le domaine des sciences environnementales, des impulsions de durée microseconde peuvent aider à lutter contre le biofouling, c'est-à-dire la colonisation de surface en milieu aqueux par des organismes vivants. Sur la surface affectée, l'application répétitive d'impulsions microsecondes de haute tension permet de choquer les organismes et d'éviter ainsi qu'ils ne se fixent [12].

### **2.3.12. Applications de l'électroporation irréversible**

Nous rappelons que l'électroporation irréversible conduit à la mort des cellules en raison de la rupture irréversible de la membrane plasmique. Une application potentielle de l'électroporation irréversible est l'ablation de tumeurs cancéreuses sans médicament.

Cependant, la méthode n'est pas sélective dans le sens où toutes les cellules exposées au champ électrique critique sont tuées, qu'elles soient tumorales ou non [12].

Fin 2007, des travaux réussis ont été publiés sur les traitements par électroporation irréversible pour de tumeurs cutanées implantées dans des souris. Le protocole consistait en l'application de 80 impulsions de 100 microsecondes, d'intensité 2.5 kV/cm et de fréquence de répétition 0.3 Hz. En 2011, ils ont observé la rémission complète de la tumeur d'un patient canin atteint d'un cancer du cerveau inopérable [12].

Ces résultats ont été obtenus grâce à un traitement par électroporation irréversible suivi de radiothérapie. Les impulsions électriques étaient appliquées à l'aide du système NanoKnife R (Angio Dynamics, Queensbury, NY, USA). À ce jour, ce système est approuvé aux États-Unis par la FDA (Food and Drug Administration) pour l'ablation de tissus souples

mais est toujours en attente d'une standardisation pour l'ablation de tumeurs. Davantage d'études cliniques seront certainement nécessaires avant un potentiel établissement d'une procédure standard de traitement anti-cancéreux par électroporation irréversible [12].

## **2.4. Faisabilité industrielle et coûts de traitement**

En général, la technique est réalisable à l'échelle industrielle en augmentant la taille de la chambre de traitement, la tension de crête d'impulsion et la puissance moyenne dans certaines limites techniques. Le manque de matériel industriel fiable et abordable, et le manque d'innovation dû à un traitement conventionnel bien établi ont limité les exploitations industrielles dans le passé.

Pour le succès des implications de la technique, il faudra l'identification d'un avantage de coût ou la qualité pour justifier les coûts d'investissement.

Selon le type d'application, une puissance moyenne de 30 kW est suffisante pour 10 à 15 t/h de tissu végétal ou de viande ou, en raison des besoins énergétiques plus élevés, de 1 à 2 t/h de décontamination de milieux liquides.

Faire tomber les coûts d'une tonne de produit et y compris l'énergie et de l'entretien, une gamme de coût total typique est compris entre 1 € et 2 €t pour la désintégration cellulaire et 1 à 2 ct/l pour la conservation. Des développements récents dans la technologie des semi-conducteurs à l'état solide permettent la conception de modulateurs d'impulsions compacts, fiables et modulaires, tels que réalisés à l'Institut allemand de technologie alimentaire. Une typologie de circuit basée sur une commutation basse tension et une transformation d'impulsion a été développée pour limiter les contraintes sur les composants du modulateur de puissance. Des prototypes d'une puissance de 3 et 30 kW sont disponibles [37].

## **2.5. Conclusion**

Dans ce chapitre, nous avons présenté les principes de base permettant de mieux comprendre la relation entre le contrôle des paramètres du système de traitement par CEP et les applications visées. Pour ceci, une attention particulière a été portée à l'application industrielle du CEP dont l'aspect économique reste un facteur important à prendre en compte. Il est cependant possible dans l'agro-alimentaire de répercuter les surcoûts sur le prix de vente, à condition de proposer un produit de meilleure qualité.

L'étude montre aussi qu'il est possible d'associer sous certaines conditions le traitement thermique avec le traitement par CEP pour intensifier le rendement et minimiser le temps de

traitement ou d'extraction. Ceci peut être particulièrement appréciable dans un contexte de contrôle du procédé, notamment pour minimiser le coût d'énergie.

L'industrie agroalimentaire présente un terrain d'investissement très favorable pour les industriels car cette technologie réduit les coûts énergétiques, elle est plus écologique et plus sûre.

Le chapitre suivant sera consacré à la présentation des dispositifs de CEP utilisés tant en laboratoire que dans l'industrie.

**DISPOSITIFS DU CEP**  
**ET**  
**TECHNIQUES D'EXTRACTION DES HUILES**  
**ESSENTIELLES**

### 3.1. Introduction

Nous allons dans cette partie présenter le matériel nécessaire et les méthodes utilisées dans le traitement par CEP pour l'extraction de l'huile essentielle. Les tensions élevées sont utilisées dans de nombreuses branches des sciences naturelles ou autres applications techniques. Dans cette section, nous présenterons quelques circuits de base de production de haute tension qui sont identiques ou similaires à ceux trouvés dans le marché.

On essaye de présenter les différents matériels et sous-ensembles qui composent une installation à CEP dont chaque élément a un rôle bien défini et contribue à la cohérence de l'ensemble. Ensuite, les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles sont recensées ainsi que les méthodes d'analyse et de conservation. Enfin, un aperçu sur le marché national et international des huiles essentielles est présenté.

### 3.2. Matériel composant une installation de traitement par CEP

Une installation à CEP est constituée par une série de sous-ensembles dont chacun a un rôle bien particulier et dont le tout forme un ensemble cohérent capable de fonctionner et qui donne les résultats attendus. Une installation à CEP peut se composer des sous-ensembles suivants :

- Un générateur à haute tension et courant continu qui fournit l'énergie électrique à la tension  $U_0$  désirée.
- Un (ou plusieurs) condensateur(s), placés en parallèle, qui emmagasinent temporairement une énergie électrique  $W$ . La tension maximale  $U_0$  aux bornes du (des) condensateurs est égale à celle existant aux bornes du générateur.
- Un commutateur qui permet la décharge de l'énergie  $W$  entre les électrodes et dans l'aliment. La durée de l'impulsion électrique est de l'ordre de quelques microsecondes (jusqu'à la milliseconde dans certains cas). Le commutateur doit supporter la tension maximale existant aux bornes du (des) condensateur(s), ainsi que le passage d'un courant d'intensité  $I_{\max}$  dépendant entre autres de la conductivité électrique de l'aliment.
- Une chambre de traitement comportant deux électrodes, en métal ou en carbone. L'acier inoxydable est employé le plus souvent, mais d'autres matériaux seraient préférables, afin de réduire l'attaque électrochimique [38].

### 3.3. Description du système de traitement par CEP

#### 3.3.1. Générateur haute tension

A l'heure actuelle, il existe une large gamme de générateurs d'impulsions commerciaux utilisés dans le domaine de traitement par champ électrique pulsé.

Le tableau 3-1 présente une liste non exhaustive des générateurs utilisés pour l'étude des mécanismes d'électroporation des cellules.

**Tableau 3-1** : Caractéristiques de quelques générateurs haute tension pour une installation à CEP [38]

Commutateur	Thyratron	Ignitron	Thyristor	Triac	Spark gap à courant élevé	Spark gap à tension élevé	Mosfet
<b>Principe de fonctionnement</b>	Tube thermique (gaz ou vide)	Tube à vide et à vapeur métallique	Semi-conducteur solide	Semi-conducteur solide	Ionisation de l'air	Ionisation de l'air	Semi-conducteur solide
<b>Courant</b>	Continu	Continu	Continu	Alternatif	Continu	Continu	Continu
<b>Valeur maximale du courant</b>	14 kA	100 kA	80 kA		850 kA	1 MA	
<b>Valeur moyenne du courant</b>	130 A	80 A	3 kA		12 A		
<b>Valeur de la tension au bornes</b>	120 kV	20 kV	5 kV	≈ 10 kV	120 kV	4 MV	≥ 10 kV
<b>Forme d'onde</b>	Monopolaire à décroissance exponentielle du courant. Démarrage par une amorce		Monopolaire à décroissance exponentielle du courant. Démarrage par une amorce	Bipolaire		Monopolaire à décroissance exponentielle du courant.	Monopolaire à décroissance exponentielle du courant. Contrôle du temps de conduction
<b>Débit du courant</b>	$10^4 \text{ A} \cdot \mu\text{s}^{-1}$	$10^3 \text{ A} \cdot \mu\text{s}^{-1}$	$10^3 \text{ A} \cdot \mu\text{s}^{-1}$	Faible	$10^5 \text{ A} \cdot \mu\text{s}^{-1}$	$10^7 \text{ A} \cdot \mu\text{s}^{-1}$	Elevée
<b>Charge délivrée par impulsion</b>	22 mC	400 mC	Très forte		350 C	1 C	
<b>Fréquence</b>	10 kHz	0.2 Hz	200 Hz	50 Hz	1 imp / 30 s	1 seul imp	>10 kHz
<b>Fiabilité</b>	+	+	+++	+++	+	+	++

Le traitement par CEP d'un aliment nécessite une intensité importante de courant électrique à travers l'aliment pendant des microsecondes. En raison d'une très courte période de temps de décharge, le chauffage des aliments est minimisé [10].

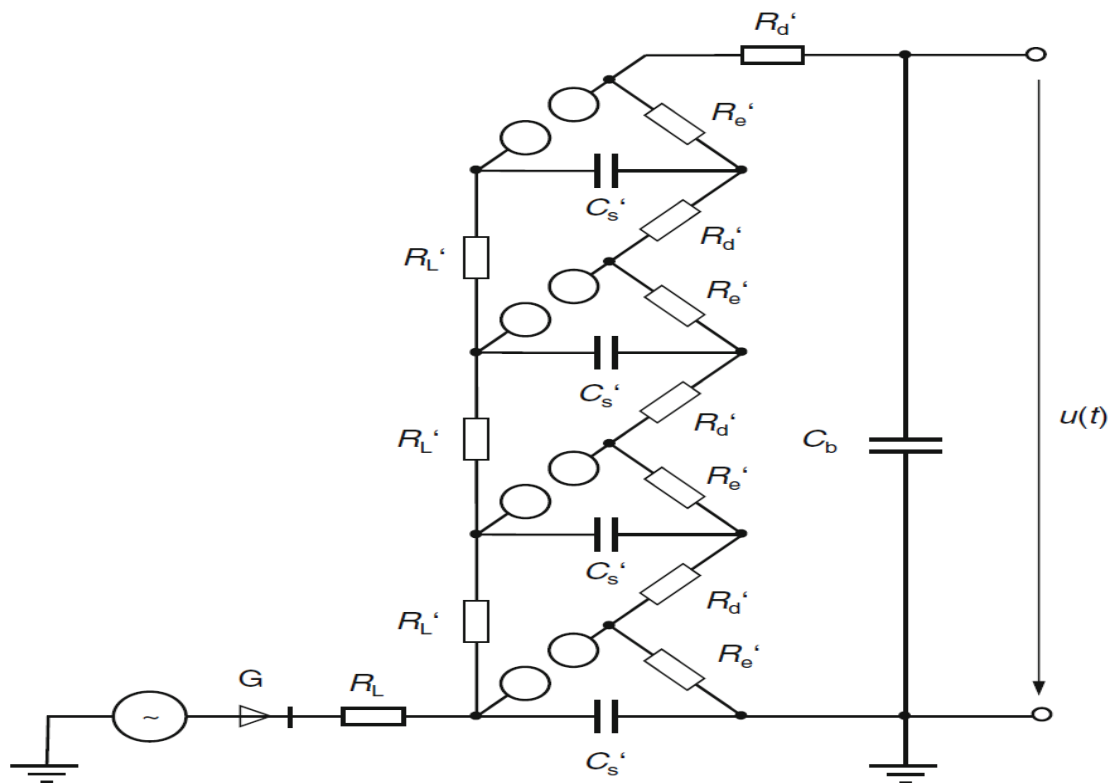
##### 3.3.1.1. Générateur de Marx

Pour les dispositifs d'électroporation à grande échelle, l'utilisation de générateurs de Marx permet de générer efficacement les impulsions requises.

Un générateur de Marx, inventé par Erwin Marx (1893-1980, ingénieur allemand) en 1923, comprend un ensemble de condensateurs, qui sont chargés dans une configuration

parallèle et commutés en série pour la décharge. Par conséquent, la tension de sortie est la tension de charge des capacités  $V_{\text{charge}}$  multipliée par le nombre de condensateurs [33].

La figure 3.1 est un schéma de principe d'un générateur de Marx à quatre étages. Chaque étage comprend le condensateur de l'étage  $C_E$  et un interrupteur  $E_E$  (appelé aussi commutateur) pour commuter les étages en série. Lors de la charge, les interrupteurs sont ouverts. Le montage en parallèle pour charger les condensateurs est établi par l'intermédiaire de résistances  $R_L$ , qui relient les bornes des condensateurs de deux étages adjacents. Les condensateurs se chargent alors de façon progressive grâce à la source de courant  $I_{\text{source}}$  jusqu'à une valeur de tension  $V_{\text{charge}}$ . La connexion en série des condensateurs se fait en fermant les interrupteurs  $F_E$ .



**Fig.3.1** : Schéma électrique du générateur de Marx pour la génération de tensions impulsionnelles de plusieurs mégavolts [39]

Les résistances  $R_L$  limitent alors le courant de décharge indésirable entre deux étages adjacents. Cette configuration a l'avantage majeur de relâcher les contraintes sur le dimensionnement. En effet, chaque élément doit être conçu et dimensionné pour une tension de fonctionnement égale à la tension de charge maximale d'un étage seulement, soit  $V_{\text{charge}}$ .

L'énergie  $E$  contenue dans une impulsion est fixée par la tension  $V_{\text{charge}}$ , par le nombre d'étages, et par la valeur de la capacité sur chaque étage.



Elle vérifie l'équation suivante (où  $n$  est le nombre d'étages) :

$$E = \frac{1}{2} n \cdot C_s \cdot V^2 \quad (3-1)$$

Le générateur de Marx a été initialement développé afin de tester la tenue d'appareils électriques à des impulsions très haute tension, ce qui nécessite l'application de quelques impulsions seulement. Dans une telle application, il est par ailleurs possible d'avoir un délai de plusieurs minutes entre les impulsions. L'exploitation d'un générateur de Marx pour un dispositif d'électroporation nécessite au contraire un fonctionnement en continu, afin d'appliquer l'énergie nécessaire à la désintégration des cellules à chaque élément de volume du produit traité. Le courant maximum délivré par un seul générateur est fixé par la forme d'impulsion souhaitée (donc le type de commande), et par l'inductance du circuit. Pour augmenter la capacité en courant, on peut faire fonctionner plusieurs générateurs de Marx en parallèle de façon simultanée [36].

### 3.3.1.2. Circuits en cascade

En 1920, Heinrich Greinacher (1880-1974, physicien suisse), a publié un circuit qui a été amélioré en 1932 par Cockcroft et Walton pour produire des ions positifs de haute énergie. Pour illustrer le principe uniquement, un circuit en cascade monophasé à  $n$  étages du type « Cockcroft-Walton » est présenté sur la figure 3.2 [40]:

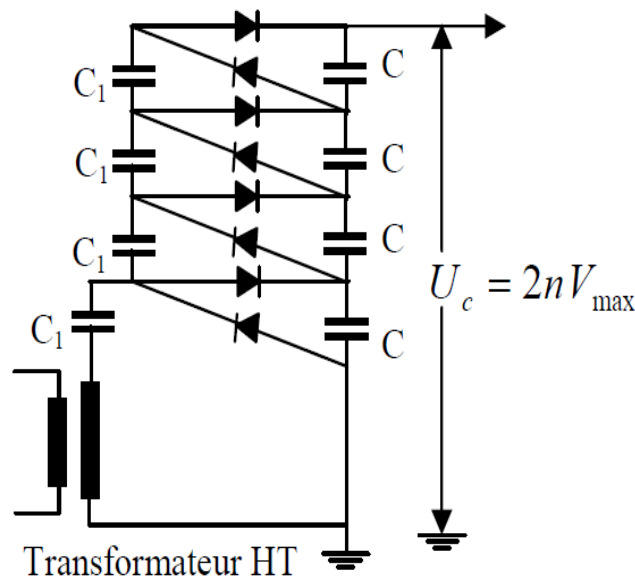


Fig.3.2 : Circuit en cascade selon Cockcroft-Walton ou Greinacher [41]

Comme chaque étage délivre une tension à vide égale à  $2V_{\max}$ , la tension obtenue (à vide) est  $U_c = 2nV_{\max}$ . Avec  $n$  : nombre d'étages [41].

### 3.3.1.3. Circuit Engetron (Deltatron)

Un circuit générateur de transformateur HVDC en cascade très sophistiqué était décrit dans un brevet américain (HA. Enge - Générateur haute tension en cascade - Brevet américain n ° 3 596 167 en juillet 1971). Ce générateur a les caractéristiques suivantes : très petit facteur d'ondulation, une grande stabilité, une régulation rapide et de petites énergies stockées sont capacités essentielles de ce circuit [40].

Il se compose principalement d'une connexion en série de transformateurs (Figure 3.3), qui n'ont pas de noyau de fer. Ces transformateurs sont couplés par des condensateurs série  $C_s$  qui compensent la plupart de l'inductance parasite des transformateurs. En plus de cela, à chaque enroulement primaire et secondaire un condensateur  $C_p$  est connecté en parallèle, ce qui fournit une surcompensation des courants magnétisants. Toute la chaîne des transformateurs en cascade est chargée par une résistance de terminaison ; Ainsi, le réseau agit de la même manière qu'une terminaison ligne de transmission le long de laquelle la tension alternative reste presque constante et a un déphasage entre l'entrée (alimentation haute fréquence) et la sortie (Résiliation). Les transformateurs, par conséquent, ne sont pas utilisés pour augmenter tension alternative [40].

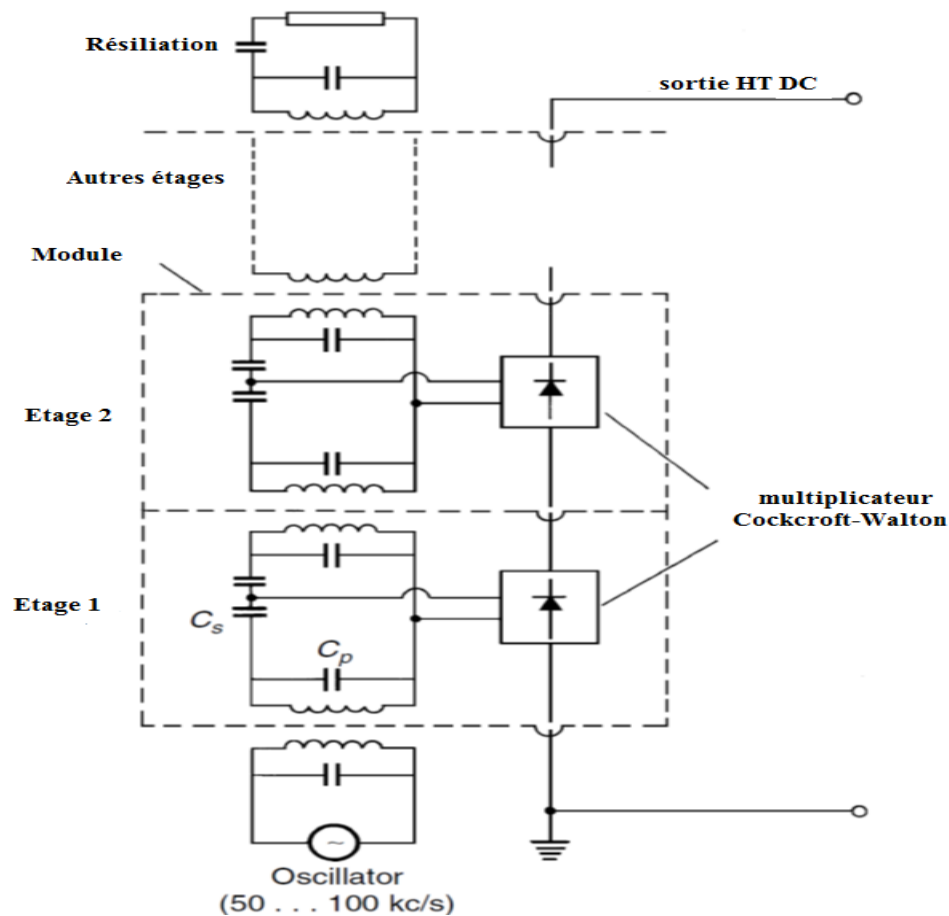


Fig. 3.3 : Principe de circuit « Engetron » ou Deltatron [40]

### 3.3.1.4. Génération d'impulsion de haute tension et de courant

Pour la génération de la foudre et des tensions d'impulsion de commutation, deux circuits de base sont disponibles (Figure 3.4). Le condensateur  $C_s$ , qui est chargé lentement à la tension  $U_0$  par un redresseur Courant alternatif via la résistance de charge  $R_L$ . Lorsque  $U_0$  atteint la tension de claquage de l'éclateur FS,  $C_s$  se décharge dans un temps très court à travers le circuit de décharge, qui se compose de la résistance d'amortissement  $R_d$ , le condensateur de charge  $C_b$  et la résistance de décharge  $R_e$ . La tension d'impulsion  $u(t)$  peut être obtenue aux bornes de  $C_b$ . Son impédance affecte à son tour le circuit et influence la forme d'onde de la tension d'impulsion générée plus ou moins [39].

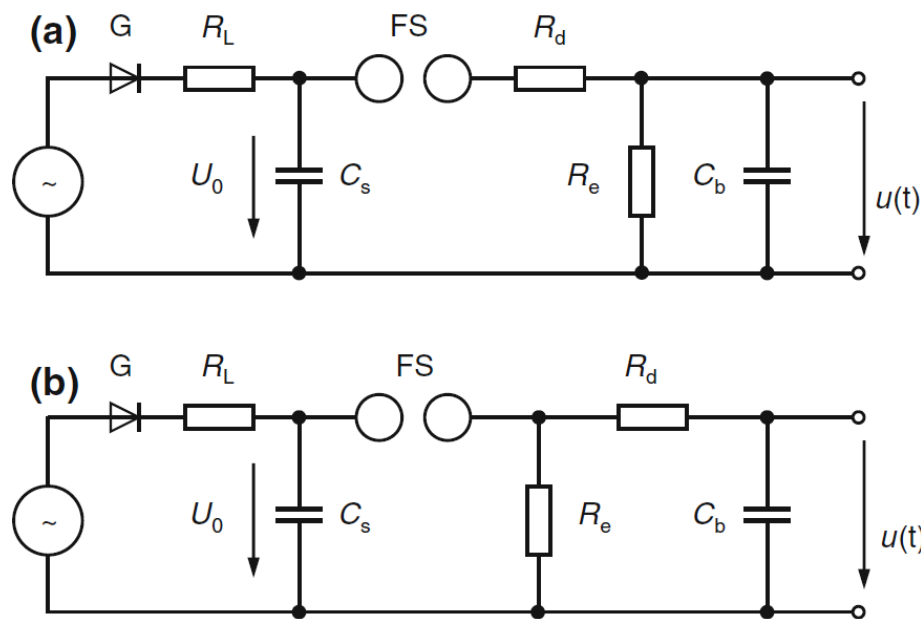


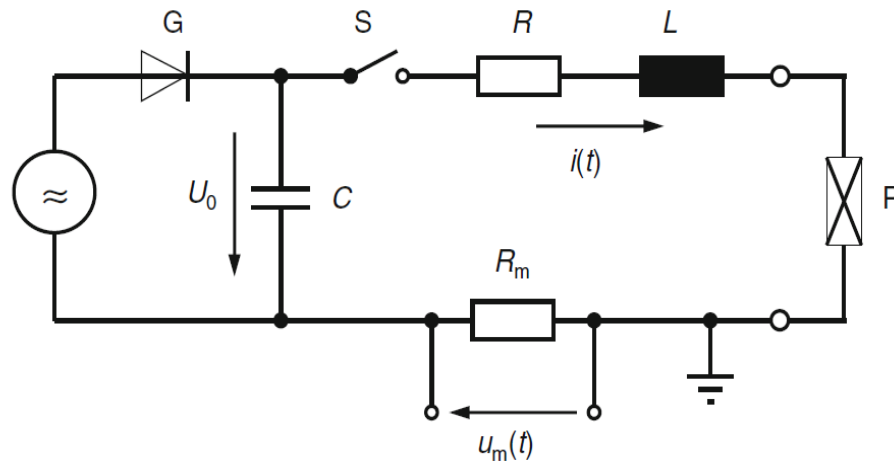
Fig. 3.4 : Deux Circuits de base à un étage pour la génération de tensions de choc [39]

Dans les types modernes de générateurs d'impulsions, après la mise hors tension, les charges résiduelles de tous les condensateurs sont automatiquement évacuées vers la terre .

### 3.3.1.5. Générateurs pour courants impulsionnels exponentiels

Pour générer des courants d'impulsion exponentiels dans un laboratoire de test, en règle générale, un circuit avec un stockage d'énergie capacitif est utilisé (Figure 3.5). Le condensateur  $C$  est chargé à une tension prescrite  $U_0$  et déchargé brusquement sur l'objet de test  $P$  via la résistance  $R$  et inductance  $L$  au moyen d'un interrupteur, qui pourrait être un thyristor ou un éclateur déclenché. Sur la résistance de mesure intégrée  $R_m$ , une tension  $U_m(t)$  proportionnelle au courant  $i(t)$  peut être prélevée.

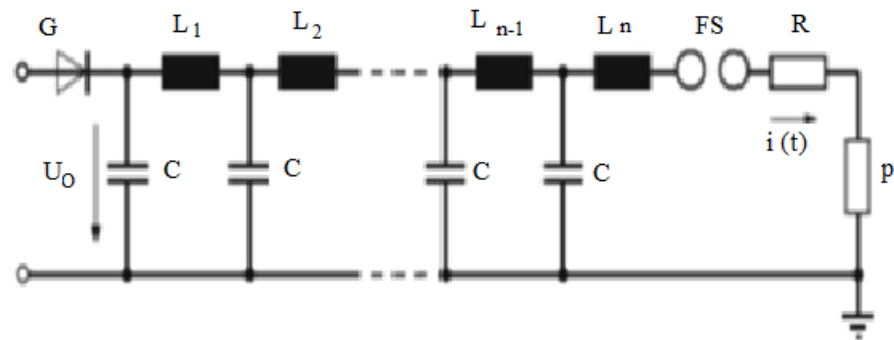
La forme d'onde de l'impulsion générée le courant dépend non seulement de  $R$ ,  $L$  et  $C$ , mais aussi de  $R_m$  et de l'impédance de l'objet de test [39].



**Fig. 3.5 :** Schéma de principe d'un générateur à accumulation d'énergie capacitive pour la génération de courants impulsionnels exponentiels [39]

### 3.3.1.6. Génération de courants impulsionnels rectangulaires

Le schéma de principe d'un générateur d'impulsion rectangulaires (long duration) est présenté dans la figure 3.6. Les éléments LC connectés en série forment n étages. Les capacités  $C_0$  connectées en parallèle sont chargées directement en tension  $U_0$  à partir d'une tension alternative redressée et déchargée dans la terminaison la résistance  $R_1$  et l'objet de test P à travers un éclateur déclenché FS [35].



**Fig. 3.6 :** Schéma d'un générateur pour courants impulsionnels rectangulaires [39]

### 3.3.2. Commutateurs

Les commutateurs sont couramment utilisés dans les générateurs de puissance pulsés pour des applications industrielles. Le développement de dispositifs semi-conducteurs de puissance a amélioré les performances des dispositifs de commutation rapides et de forte puissance. Les progrès réalisés dans la mise au point de tous les générateurs d'énergie à impulsions à l'état solide sont examinés en mettant particulièrement l'accent sur les applications environnementales [29].

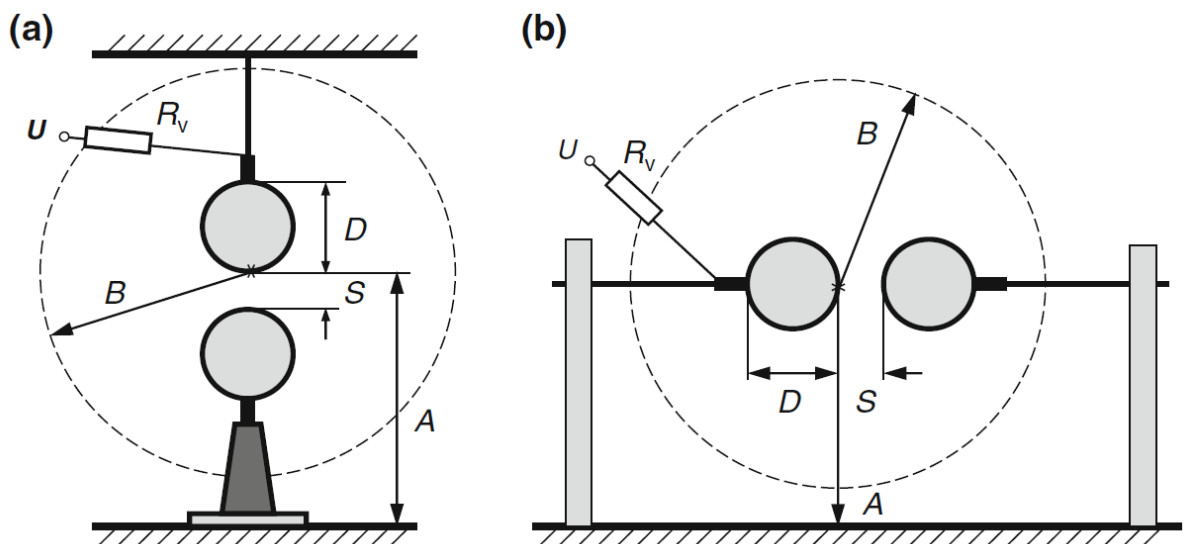
Ces dernières années, la recherche et le développement d'applications industrielles pratiques de la puissance pulsée répétitive a été fait en utilisant un commutateur à semi-conducteur et un commutateur magnétique [29].

Le choix de la technologie de commutation affecte les performances des générateurs (forme et amplitude des impulsions, taux de répétition, efficacité de commutation, temps de montée et durée de vie). Les commutateurs à base de semi-conducteurs de puissance peuvent être classés selon leurs possibilités de commande : composants non commandables (diode), composants commandables à la fermeture (thyristor) et les composants commandés à la fois à la fermeture et à l'ouverture (transistor bipolaire, transistor MOS, IGBT) [27].

### 3.3.2.1. Eclateur sphérique à air

Elles sont disponibles en disposition verticale ou horizontale, avec une des sphères mises à la terre (Figure 3.7). En plus des distances minimales  $A$  et  $B$  à la terre et objets voisins, d'autres exigences concernant la géométrie de la structure supportant les sphères doivent être maintenues, qui sont prescrites pour chaque diamètre de sphère  $D$ .

La résistance  $R_v$  doit amortir les oscillations dans le circuit d'essai de décharge disruptive de l'espace de la sphère et protéger la surface de la sphère de dommages dus à des densités de courant élevées [39].



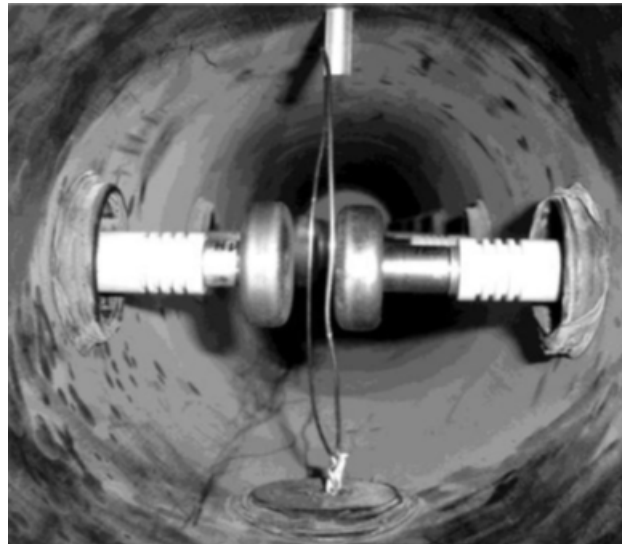
**Fig. 3.7 :** Ecartement des sphères pour la vérification des systèmes de mesure de la tension de choc.  
 Arrangement vertical des sphères. b) Disposition horizontale des sphères [39]

Si les générateurs d'impulsions sont équipés avec des intervalles de commutation encapsulés, une source séparée d'ionisation est nécessaire pour l'écart de mesure. Cela peut être une lampe ultraviolette qui génère un rayonnement spectre dans la gamme d'ondes UV.

En raison du danger potentiel d'irradiation pour les travailleurs qui se trouvent à proximité, les préparations ionisantes (émetteurs) utilisées ne pas être utilisé - ou utilisé uniquement dans le cadre de mesures de sécurité spéciales [39].

### 3.3.2.2. Eclateur à gaz

Il s'agit de la technologie la plus utilisée jusqu'à présent [38]. Les interrupteurs qui permettent de commuter les différents étages de la configuration parallèle à la configuration série sont le plus souvent réalisés avec des éclateurs à gaz. Un éclateur n'est rien d'autre que deux électrodes dans un gaz (Figure 3.8). Lorsqu'une décharge (claquage) s'établit entre les deux électrodes, il existe un passage pour le courant. C'est cette décharge qui correspond à l'état fermé de l'interrupteur [33].



**Fig.3.8 :** Photo d'un éclateur à gaz. Un fil corona entre les deux électrodes permet de générer des électrons d'amorçage afin de limiter le jitter (ou gigue) [33]

Ces commutateurs fonctionnent, généralement, en mode relaxé : après l'initialisation de la décharge pour une tension donnée, une fréquence de répétition est entretenue tant que la tension reste supérieure à une tension de maintien [42].

Cet avantage, ajouté au fait que leur rigidité diélectrique, liée à la pression d'utilisation, autorise des tenues en tension intéressantes, fait qu'ils sont pratiquement les seuls à être utilisés pour des applications fortes puissances pulsées. Toutefois, si l'aspect filamentaire de l'arc n'est pas une contrainte pour le diélectrique, il existe des problèmes d'érosion aux électrodes. De façon générale, les paramètres modifiables, selon les objectifs à atteindre pour des applications spécifiques, sont la nature et la pression du gaz, la nature et la géométrie des électrodes, le moyen de déclenchement [42].

Pour qu'un commutateur soit performant, on cherche à optimiser les paramètres électriques tels que la tenue en tension, le temps de montée et la largeur de l'impulsion, le jitter, le délai, l'énergie dissipée ou la quantité de charges commutées. Ces paramètres dépendent, plus ou moins, de la pression. En effet, la pression n'intervient pas seulement dans la tenue en tension des commutateurs. Elle conditionne la rapidité des phénomènes qui conduisent à la formation du plasma conducteur dans les gaz. Lorsque la pression augmente, le délai et le jitter diminuent et le temps de recouvrement augmente. On peut ainsi associer la diminution de la pression à la capacité de fonctionner en fréquence. On peut accélérer le processus de recombinaison des porteurs en employant un gaz électronégatif qui attache les électrons du milieu [42].

On trouve dans cette technologie des commutateurs à gaz aussi bien :

- Des éclateurs ou trigatrons hautes pressions pour les applications très rapides et très haute tension ;
- Les éclateurs sous vide dont les très fortes densités de courant permettent de très forts courants crêtes ;
- Les tubes à vide qui, en l'absence de milieu à refroidir, sont utilisés pour les applications très haute fréquence ;
- Les ignitrons, dont la cathode liquide s'érode peu, qui permettent de transférer une quantité de charges importante ;
- Les thyratrons dont la grande souplesse d'utilisation, tant en dynamique de tension qu'en courant, en font des commutateurs très répandus ;
- Les commutateurs de puissance à pseudo-étincelle (Pseudo Spark Switch) qui permettent de véhiculer une densité de courant élevée sur une surface de plusieurs centimètres carrés, entraînant un taux d'érosion faible au niveau des électrodes [42].

#### **A. Synchronisation d'éclateurs à gaz**

Un éclateur à gaz, composé de deux électrodes séparées par le diélectrique gazeux, peut fonctionner soit de façon autonome (mode relaxé), soit de façon imposée (mode déclenché).

En mode relaxé, l'initiation de la décharge s'effectue de façon spontanée pour une tension donnée. La valeur de cette tension dépend de celle du front de l'onde de la tension appliquée [43].

La synchronisation d'éclateurs à gaz fonctionnant dans ce mode est très médiocre, sauf en régime de forte surtension. En mode déclenché, il est nécessaire d'ajouter un élément mécanique supplémentaire (en général une troisième électrode) permettant d'appliquer le signal de synchronisation. Le choix du mode, déclenché ou relaxé, dépend directement de

l'étude considérée. Lorsque la contrainte la plus sévère de l'étude concerne le synchronisme, il faut travailler en mode déclenché. Dans les cas où la brièveté du temps de montée est le paramètre prépondérant, il vaut mieux travailler en mode relaxé car on peut alors augmenter la tension du système de façon à accélérer les phénomènes de décharge [43].

La commutation des éclateurs à gaz d'un générateur de Marx peut donc être commandée, entre autres, à l'aide d'une électrode de déclenchement intermédiaire sur laquelle est envoyée une impulsion électrique servant à favoriser la décharge.

En général, on utilise des trigatrons pour réaliser de tels éclateurs à gaz : il s'agit d'un éclateur commandé, constitué de trois électrodes, dans lequel l'impulsion de tension injectée sur la troisième électrode a pour rôle d'augmenter localement la valeur du champ électrique et de créer des germes qui facilitent l'initiation de la décharge qui s'effectue sous l'effet de la tension à commuter [42].

Deux paramètres temporels interviennent alors : le retard à l'amorçage et la gigue (ou jitter). Le retard à l'amorçage est l'intervalle de temps qui s'écoule entre l'application de l'impulsion de déclenchement et l'apparition de l'onde de tension en sortie du générateur.

La valeur de ce retard fluctue et on appelle jitter l'écart entre les valeurs extrêmes de ce retard. Une étude paramétrique, portant sur la synchronisation à la commutation d'éclateurs à gaz à pression atmosphérique, a consisté à observer, à forme d'impulsion de déclenchement donnée, l'influence :

- De la position de l'électrode de déclenchement sur la commutation d'un éclateur à gaz à pression atmosphérique dans une configuration représentative d'un générateur de Marx,
- De la polarité de l'impulsion de déclenchement sur cette même commutation [42].

### ***B. Usure des éclateurs***

Un dispositif d'électroporation pour la betterave à sucre par exemple doit être conçu pour un fonctionnement continu pendant la récolte de la betterave à sucre, qui dure généralement de fin Septembre jusqu'à fin Décembre. Avec un taux de répétition d'environ 20 Hz, cette durée se traduit par environ 200 millions d'impulsions. La durée de vie du générateur de Marx mis en œuvre est de plus de 109 impulsions. Les électrodes des éclateurs font partie des éléments les plus soumis à l'usure. Leur usure est proportionnelle à l'intégrale de Joule (c'est-à-dire l'intégrale du courant au carré par rapport au temps) [33].

Les éclateurs sont fabriqués à partir d'un alliage de cuivre au tungstène, qui présente une faible usure. En raison de l'usure, la distance entre les électrodes des éclateurs augmente légèrement avec la durée de fonctionnement, ce qui se traduit par une augmentation de la



tension de claquage. Afin de limiter cette augmentation de la distance, des électrodes d'un diamètre supérieur peuvent être utilisées. Par ailleurs, l'augmentation de la distance peut être compensée en fonction de la loi de Paschen, soit en ajustant en continu la distance de l'électrode soit en ajustant la pression à l'intérieur du tube de l'éclateur [33].

Les générateurs de Marx de l'appareil d'électroporation existant pour les betteraves sucrières ont été conçus avec des électrodes fixes, pour plus de simplicité. La pression de l'azote gazeux est modifiée afin que la tension de déclenchement (et par conséquent l'amplitude de l'impulsion en sortie) reste constante malgré l'usure des électrodes. La poussière provoquée par l'usure de l'électrode est retirée de l'écoulement de gaz au moyen d'un filtre [33].

Dans le prototype industriel développé pour la betterave à sucre, les éclateurs ont été montés à l'intérieur d'un tube rempli avec de l'azote gazeux. Par rapport à l'air, l'azote a l'avantage de ne pas former de monoxyde d'azote lors de la décharge, du fait de l'absence d'oxygène. Le monoxyde d'azote est en effet toxique. Par ailleurs, le fonctionnement des éclateurs en atmosphère d'azote présente un jitter plus faible sur l'instant de commutation.

Afin d'éviter l'intrusion d'air par diffusion ou à cause de petites fuites, le gaz d'azote à l'intérieur du tube est légèrement sur-pressurisé. Pour que le gaz soit refroidi, il est mis en circulation par une soufflerie et traverse un échangeur de chaleur qui transfère la chaleur à un circuit d'eau refroidie par un radiateur [33].

### **3.3.2.3. Eclateurs à semi-conducteurs**

Les semi-conducteurs sont, aujourd'hui, largement utilisés pour réaliser la fonction de commutation. Si nous parlons des composants « classiques » (transistors, thyristors, IGBT), il faut noter qu'ils peuvent présenter des claquages locaux irréversibles et que leurs performances sont parfois insuffisantes pour les très fortes puissances. La principale limitation de la technologie des semi-conducteurs est due au fait qu'ils présentent des jonctions dont les propriétés peuvent être définitivement altérées par l'application de champs électriques élevés ou de forts courants.

La solution vers laquelle se dirige la technologie des semi-conducteurs, dédiés aux fortes puissances, est le matricage de composants. La disposition d'éléments en parallèle permet d'améliorer l'aptitude à véhiculer des courants importants et de diminuer les contraintes thermiques. La disposition en série permet des tenues en tension plus élevées [42].

Leurs domaines privilégiés correspondent à des applications à fronts lents / forte énergie (redressement) ou à des applications rapides / faibles énergies. On peut améliorer leur temps de montée en faisant fonctionner des composants classiques en régime d'avalanche.

D'autres « familles » de semi-conducteurs ont également été développées de façon à essayer de solutionner les problèmes liés à la commutation ultra rapide de très forte puissance. Il s'agit, principalement, des commutateurs à photoconducteurs (AsGa), des diodes DSRD (Drift Step Recovery Diodes) et de transistors spécialement conçus pour fonctionner en régime d'avalanche [43].

### **3.3.3. Chambre de traitement**

La conception de la chambre de traitement est l'un des facteurs clés dans le développement du traitement par CEP pour la technologie de pasteurisation non thermique, car elle devrait conférer un champ électrique uniforme aux aliments avec une augmentation minimale de la température et les électrodes devraient être conçues de manière à minimiser l'effet de l'électrolyse [22].

Le processus de traitement par CEP peut être statique ou continu. Tandis que dans le traitement statique, des portions discrètes de produit alimentaire fluide sont traitées comme une unité en soumettant tout le fluide à une chambre de traitement, dans laquelle un champ uniforme est appliqué à tous les éléments de denrée alimentaire à traiter.

Dans le traitement continu, la denrée alimentaire traitée circule dans le système de traitement par CEP et est émise dans un courant constant par une pompe [22].

Une répartition uniforme du champ électrique dans les chambres de traitement est souhaitable pour s'assurer que chaque cellule biologique ou microbienne dans une population reçoit le même traitement par CEP [16].

Les systèmes de traitement des fluides surveillent et contrôlent également le débit, la température et la pression pendant le traitement. Pour les unités CEP haut de gamme, le système est généralement formé par une tubulure en acier inoxydable et une pompe, fournissant un écoulement continu d'un produit à traiter.

Pour les systèmes CEP pilotes à l'échelle industrielle ou commerciale qui sont intégrés à un système d'emballage aseptique, le système de manipulation des fluides doit présenter une séquence de traitement souple et flexible et permettre le nettoyage et la stérilisation du système [16].

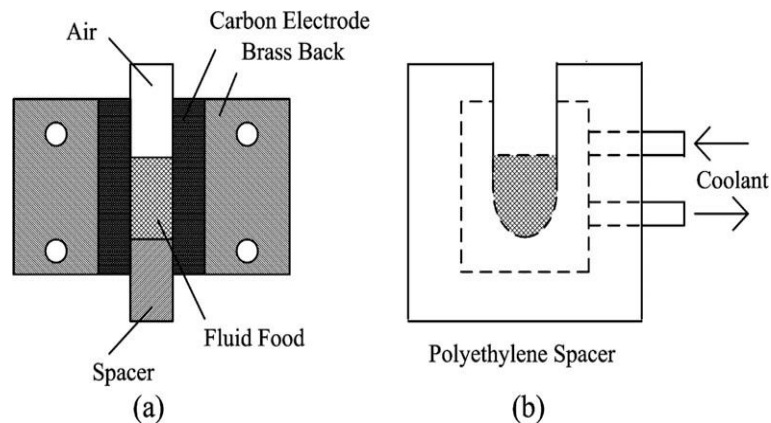
Les chambres statiques sont principalement adaptées à une utilisation en laboratoire, pour connaître les paramètres de facteurs pertinents, tandis que pour les opérations à grande échelle, les chambres continues sont plus efficaces [22].

### 3.3.3.1. Chambres de traitement statiques

Les chambres de traitement statiques sont généralement préférées dans les expériences en laboratoire [10]. On trouve des chambres statiques de différentes formes :

#### A) *Chambre de traitement statique en forme de U*

Les premières chambres, conçues dans les années 1960 pour traiter la nourriture dans un volume statique confiné, ont été étudiées pour l'inactivation du microorganisme dans une chambre de CEP statique, contenant deux électrodes en carbone soutenues par des blocs de laiton évidés (Figure 3.9). En utilisant cette chambre de traitement, l'élévation de température de la suspension était faible et n'a pas provoqué l'effet létal [22].

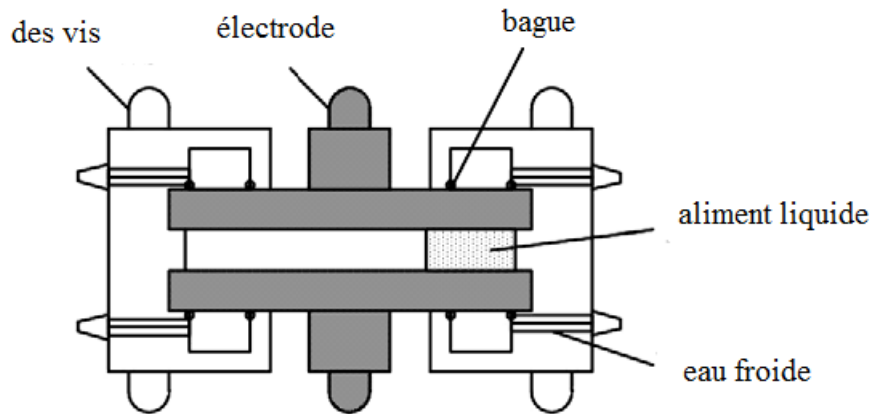


**Fig. 3.9 :** Chambre de traitement statique en forme de U

(a) Vue en coupe montrant l'alignement de trois parties. (b) Traverse en forme de U et raccord de liquide de refroidissement [22]

#### B) *Chambre de traitement statique à plaques parallèles*

Certains des premiers modèles conçus utilisent une géométrie de plaques parallèles des électrodes plates séparées par une entretoise isolante, où l'allure uniforme de champ électrique peut être accomplie par plaques-électrodes parallèles avec un écart suffisamment inférieur à la dimension de la surface de l'électrode. Un désavantage apparent dans cette conception, est sa limitation inhérente de la force de champ en raison de surface suivi sur le fluide ou l'isolant qui conduit à l'arc. Les chambres de traitement à électrodes-plaques parallèles (Figure 3.10) fournissent une répartition uniforme des champs électriques le long des axes d'écart et de l'électrode surfaces, mais créer un problème d'amélioration du champ au bord des électrodes [22].



**Fig. 3.10 :** Chambre de traitement statique à électrodes plaques parallèle [22]

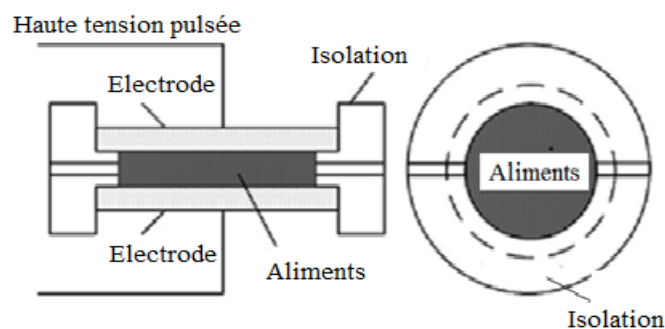
**C) Chambre de traitement statique en forme de disque**

Il est important que la chambre de traitement par CEP soit conçue pour fournir un champ électrique élevé, relativement uniforme dans la zone de traitement, tout en minimisant la capacité ou les conditions de claquage électrique et aussi que la surface de l'électrode soit conçue pour minimiser le champ. Cela augmente le champ électrique local et entraîne une panne électrique [22].

La Washington State University (WSU) a conçu une chambre statique en forme de disque (Figure 3.11), où deux électrodes en acier inoxydable en forme de disque à bords arrondis polies aux surfaces réfléchissantes étaient maintenues en position par une matière isolante qui formait également une enceinte contenant les aliments.

L'apparition d'une charge d'espace dans l'aliment modifierait le champ électrique de la situation idéale de non-espace-charge. En conséquence, l'espace entre les deux électrodes et le volume de la chambre étaient de 0,51 cm et de 13,8 ml ou 0,95 cm et 25,7 ml, et la force maximale du champ électrique atteignait 75 kV/cm.

Il y avait également un système de refroidissement dans cette chambre, qui était fourni par la circulation de l'eau à des températures présélectionnées à travers des chemises intégrées dans les électrodes [22].



**Fig .3.11 :** Schéma de la chambre de traitement statique en forme de disque [22]

#### D) *Chambre de traitement statique de cylindre-fil*

Un système d'électrode fil-cylindre (Figure 3.12) a été conçu, où le diamètre interne de l'électrode de cylindre était de 20 mm et le diamètre du fil de 1 mm et la longueur de la chambre de traitement de 110 mm qui pourrait contenir 38 cm<sup>3</sup> de liquide [22].

Le fil-électrode était tenu par un bouchon en plexiglas au sommet du centre du cylindre, avec cette chambre de traitement montée sur l'agitateur au fond du cylindre. Un agitateur a été utilisé pour favoriser l'agitation du liquide, de sorte qu'une fois que le liquide dans le cylindre a été efficacement agité, la survivabilité a diminué linéairement avec une augmentation de l'apport d'énergie, mais l'agitation du liquide engendrerait un autre problème : le champ électrique était essentiellement distribué à l'intérieur de l'électrode fil-cylindre parce que le champ électrique près de la paroi du cylindre était beaucoup plus faible que celui près de l'électrode de fil, les performances de destruction dans cette zone seraient faibles [22].

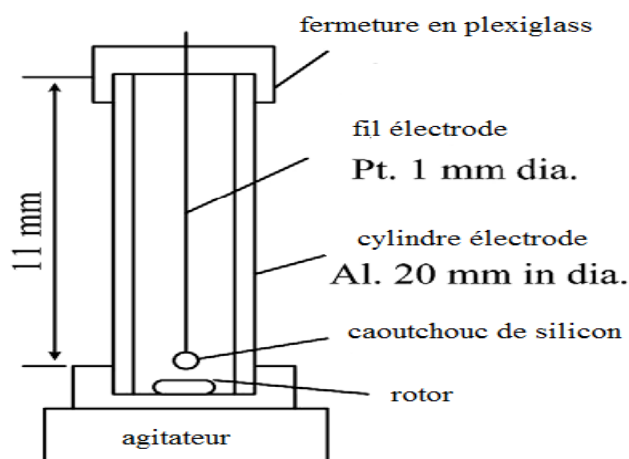


Fig.3.12 : Chambre de traitement statique fil-cylindre [22]

#### E) *Chambre de traitement statique tige-tige*

Une chambre de traitement tige-tige, dans laquelle une paire d'électrodes de tige ont été vissées à la chambre de téflon et maintenues au centre de la chambre (Figure 3.13), a été faite pour étudier la destruction cellulaire par une onde de choc intense de décharge d'arc.

Avec un diamètre de 4 mm pour chaque électrode de tige, et l'extrémité de tige en forme de demi-sphère, la distance entre les deux électrodes de tige était de 3 mm. Le film de nylon était éloigné du point de décharge de 15 mm, et le diamètre interne et la longueur du petit récipient pour le liquide échantillon étaient respectivement de 15 mm [22].

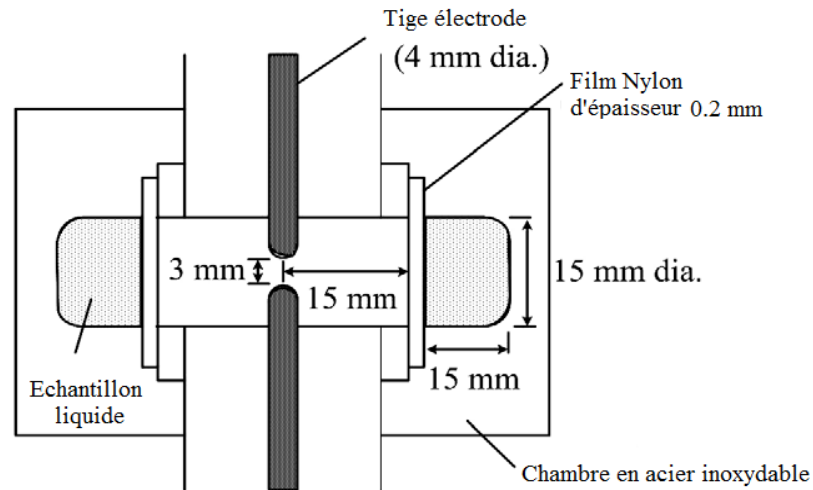


Fig.3.13 : Chambre de traitement statique tige-tige [22]

### 3.3.3.2. Chambres de traitement à flux continu (dynamique)

La chambre de traitement continu a été initialement inventée par Dunn et Pearlman (1987) [40]. Elle se composait de deux électrodes à plaques parallèles et d'un isolant diélectrique. Les électrodes ont été séparées des aliments par des membranes conductrices faites de polystyrène sulfoné et de copolymères d'acide acrylique [16].

Des chambres de traitement à flux continu ont été modifiées à partir de chambres de traitement statiques similaires, dans lesquelles les traitements CEP se sont révélés plus efficaces grâce à la grande uniformité du traitement dans les systèmes continus [23].

Un exemple d'une chambre de traitement d'un diamètre de 60 mm et d'une capacité de traitement maximale de 5t/h est représenté sur la figure 3.14 :



Fig.3.14 : Chambre de traitement continu industrielle d'un diamètre de 60 mm [37]

### A) *Chambres de traitement coaxiales*

Pour les volumes de taille moyenne, les chambres de traitement coaxiales peuvent être facilement fabriquées et donner une distribution de champ électrique bien définie. La force de champ entre les électrodes coaxiales est :

$$E = \frac{V}{r \ln(R2/R1)} \quad (3-2)$$

Avec :

r est le rayon auquel le champ électrique est mesuré. R1 et R2 sont le rayon de la surface d'électrode interne et externe, respectivement.

Bien que le champ électrique dans les chambres coaxiales ne soit pas complètement uniforme, ce type de chambre de traitement a reçu une attention considérable en raison de sa configuration simple et de son écoulement fluide homogène [22].

Généralement, la chambre de traitement coaxiale se composait de deux électrodes cylindriques en acier inoxydable, dont l'électrode interne était connectée à une alimentation haute tension et l'électrode extérieure à la terre, et l'espaceur entre les électrodes interne et externe permettait aux aliments liquides de traverser [22]. Les chambres de traitement coaxial sont actuellement largement utilisées en raison de leur simplicité de structure [16].

#### 3.3.3.3. **Système de refroidissement**

Le changement de température pendant le traitement par CEP doit être surveillé et contrôlé pour obtenir un fonctionnement non thermique, car la différence inévitable entre la température d'entrée et de sortie est due à la dissipation thermique du produit suite au chauffage ohmique [22].

Les impulsions haute tension produites par la décharge du condensateur contiennent une quantité d'énergie qui atteint la chambre de traitement. L'application répétée d'impulsions à haute tension provoque le chauffage du produit traité lorsque l'énergie est libérée dans le produit à traiter. Pour maintenir le fluide dans la plage de température pendant le traitement par CEP, un système de refroidissement est souhaitable, qui, par un échange thermique, est situé soit dans la chambre de traitement elle-même, soit entre les chambres de traitement habituellement utilisée [22].

Une attention particulière a été accordée à la conception d'un système de refroidissement approprié, afin de contrôler la température à l'intérieur de la chambre, et à l'étanchéité de la zone de traitement (Figure 3.15) :

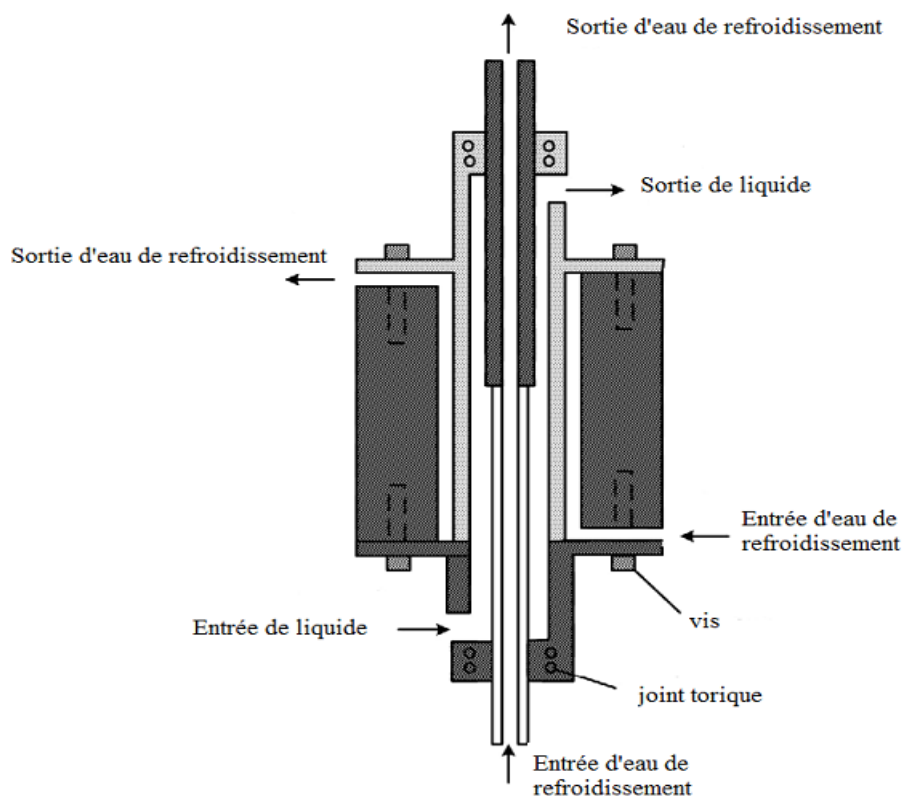


Fig.3.15 : Chambre de traitement avec système de refroidissement [22]

### 3.4. Les huiles essentielles

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.). Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante. Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante [44].

Une essence et une huile essentielle sont deux substances différentes tant en nature qu'en composition, notamment en raison de modifications biochimiques que subit l'essence au cours de sa distillation. Toutefois dans l'usage courant le terme « essence » est souvent utilisé pour parler d'une huile essentielle [45]. Il existe l'HE de citron et l'essence de citron. L'essence de citron est directement extraite par expression mécanique à froid et non pas par distillation à la vapeur d'eau [46].

L'hydrolat aromatique est l'eau distillée (vapeur d'eau recondensée) que l'on sépare de l'HE à la sortie de l'alambic. Elle est plus ou moins aromatisée selon les plantes distillées car elle se charge de molécules aromatiques hydrosolubles au cours de la distillation [44].



### **3.4.1. Intérêts économique et thérapeutique des huiles essentielles**

Elles sont utilisées dans certains médicaments, en parfumerie, en phytothérapie ou comme agent de saveur dans l'alimentation. Il faut distinguer l'activité de l'huile essentielle et celle de la plante infusée. Il existe souvent un seuil, au-delà duquel, elles peuvent devenir toxiques. L'utilisation des plantes et des huiles est contrôlée par le code de la santé publique [47].

Plusieurs huiles essentielles ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydants, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses. Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir [48].

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire [48].

L'industrie des cosmétiques, savonneries et parfums constitue le plus gros consommateur d'huiles essentielles. Il représente 60 % de la demande totale en substances naturelles. Ce secteur se caractérise par une très grande variété de produits, de quantité relativement faible et de prix souvent élevé [49].

Les huiles essentielles sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour rehausser le goût des aliments, et la conservation grâce aux effets antimicrobiens et antioxydants de certains de leurs constituants. Ces agents naturels viennent réduire ou remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques qui présentent des effets néfastes sur la santé.

Les huiles essentielles représentent un outil thérapeutique très efficace qui permet d'élargir le champ des traitements médicaux conventionnels. Les huiles essentielles peuvent être utilisées directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de principes actifs [49].

L'activité antioxydante des huiles essentielles est exploitée dans la lutte contre le stress oxydatif qui est défini comme un déséquilibre entre la production excessive de molécules oxydantes et/ou une diminution du taux d'antioxydants dans l'organisme [49].

Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires. Les huiles essentielles présentent également, des propriétés cytotoxiques. Elles sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers.

Les huiles essentielles sont considérées comme agents antimicrobiens à large spectre. L'usage excessif des médicaments de synthèse et la résistance des bactéries aux antibiotiques

ont conduit à reconsidérer favorablement l'utilisation des huiles essentielles en pratiques médicinales. Les huiles essentielles présentent des activités insecticides. Elles sont aussi utilisées dans la lutte biologique contre les ravageurs. En effet, ces biopesticides présentent un réel avantage par rapport aux produits phytosanitaires qui comportent des risques pour la santé humaine et pour l'environnement. Les biopesticides à partir des huiles essentielles sont caractérisés par leur faible rémanence, leur faible toxicité pour l'homme et par leur mode d'action sur les ravageurs. L'action des huiles essentielles sur les insectes et acariens affecte la croissance, la mue, la fécondité et le développement [49].

### **3.4.2. Principales techniques d'extraction des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles ce qui en fait des substances fragiles, rares, et précieuses. Ainsi, les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes [45].

De nombreuses techniques permettent d'extraire l'huile essentielle des plantes et de préserver leurs composés volatiles. Ces techniques d'extraction évoluent dans le but d'améliorer le rendement d'extraction ainsi que la qualité de l'huile essentielle obtenue. L'entraînement par la vapeur ou l'hydrodistillation de la plante fraîche ou sèche reste la technique la plus utilisée [44].

#### **3.4.2.1. Entraînement à la vapeur d'eau**

L'entraînement à la vapeur est l'un des procédés les plus anciens d'extraction des matières volatiles. Cette technique d'extraction est basée sur le fait que la plupart des composés odorants volatiles contenus dans les végétaux sont entraînaables par la vapeur d'eau. Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle » [48].

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [48].

Pour l'obtention à l'échelle industrielle, un courant de vapeur d'eau traverse l'alambic et sous l'effet d'une source de chaleur, l'eau se transforme en vapeur qui traverse alors la

cuve contenant les plantes aromatiques. La vapeur d'eau ayant volatilisé et entraîné l'HE se condense ensuite dans le serpentin du réfrigérant et retourne donc à l'état liquide pour se séparer dans l'essencier ou vase florentin [44].

#### **3.4.2.2. Hydrodistillation**

Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger [50].

Cette méthode est généralement indiquée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Cependant, l'inconvénient majeur de cette méthode est la non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de la couleur, de l'odeur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation [44].

#### **3.4.2.3. Hydrodiffusion**

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur, consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau à très faible pression (0,1 bar) à travers la masse végétale. Dans cette technique, la matière végétale n'est pas en contact direct avec l'eau en ébullition mais seulement avec sa vapeur qui est pleinement saturée et humide mais jamais super-chauffée.

Cette vapeur est générée par une réserve d'eau contenue dans un ballon qui est amené à ébullition à l'aide d'une mante chauffante. L'ensemble générateur de vapeur-hydro-diffuseur est rattaché à un réfrigérant qui condense le distillât. Ce dernier est recueilli de la même manière que précédemment soit en solution dans un solvant organique soit directement sous forme d'huile. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur [48].

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau [45].

#### **3.4.2.4. Extraction par le dioxyde de carbone supercritique**

L'extraction par le CO<sub>2</sub> fait partie des plus récents procédés d'extraction de substances naturelles. Cette technologie utilise le CO<sub>2</sub> à l'état liquide ou supercritique. Le CO<sub>2</sub> passe à l'état supercritique lorsqu'il est soumis à une pression supérieure à 73 bars et à une température supérieure à 31,4°C.

Dans ces conditions, il possède un bon pouvoir dissolvant plus ou moins sélectif selon la température, la pression et la nature des solutés, qui vont déterminer le rendement d'extraction et la composition de l'extrait. L'extraction par le CO<sub>2</sub> se caractérise par une absence de toxicité et de résidus qui permet d'obtenir des produits de meilleure qualité comparée aux procédés classiques d'extraction des huiles essentielles [48].

La principale limite de ce procédé d'extraction est liée au coût élevé de l'appareillage capable de travailler à des pressions élevées. Ce mode d'extraction est peu valorisable en milieu rural africain car il nécessite des procédés coûteux et difficiles à mettre en œuvre compte tenu des contraintes techniques et logistiques [48].

Le développement de cette technologie continue à s'appuyer sur des traitements et/ou des produits qui n'affectent pas l'environnement et les consommateurs. Le changement des températures et/ou des pressions réduites des fluides critiques offre une profusion d'opportunités, dont un excellent exemple est constitué par l'état critique relatif de l'eau [51].

#### **3.4.2.5. Extraction par ultrasons**

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons (20 – 100 kHz) est une technique émergente qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, trois fois plus rapide qu'une extraction simple par solvant. Elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie. En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps elle est soumise à l'action des ultrasons.

Cette technique peut être utilisée pour l'extraction des composés aromatique ou des essences de plantes, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique [51].

Les principaux avantages de ce procédé sont l'accélération de la cinétique d'extraction et l'amélioration du rendement [50].

#### **3.4.2.6. Extraction assistée par microondes**

L'hydrodistillation par micro-ondes est une méthode très rapide (temps de travail divisé par 5 à 10 par rapport à l'hydrodistillation traditionnelle), peu consommatrice d'énergie et

de qualité supérieure à l'hydrodistillation traditionnelle. Elle consiste à chauffer sélectivement une plante par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte où la pression est diminuée de façon séquentielle : l'HE est alors entraînée dans un mélange azéotrope formé par la vapeur d'eau de la plante traitée (sans ajout d'eau pour les produits traités en frais) [46]. Les fréquences utilisables par les applications industrielles des micro-ondes sont réglementées pour éviter le risque d'interférence avec la radiocommunication et les radars, qui sont les principales utilisations des micro-ondes. La fréquence de 2,45 GHz ( $\lambda = 12,2$  cm) est généralement utilisée [51].

En effet, contrairement à un chauffage classique, c'est le produit traité qui est la source de chaleur. Le dégagement de chaleur s'effectue de l'intérieur vers l'extérieur, tout le contraire d'un chauffage classique [50]. Ce procédé basé entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique consiste à placer une partie du montage d'hydrodistillation dans le four à micro-ondes. Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un ballon disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four. Les avantages cités par ces auteurs sont la rapidité et la similitude de la composition de l'huile par rapport à une hydrodistillation classique [51].

### **3.4.3. Critères déterminants la qualité des huiles essentielles**

Les huiles essentielles doivent répondre à des normes analytiques, établies par des commissions nationales et internationales d'experts et imposées par les pays importateurs ou exportateurs. Les points de contrôle à effectuer pour se prémunir de la falsification des huiles essentielles et éviter les confusions entre les différentes espèces concernent l'origine géographique, l'espèce botanique, l'organe producteur (feuilles, fleurs, fruits, écorces...) et les caractéristiques physico-chimiques (couleur, odeur, densité et indice de réfraction). Tout ceci permettra d'utiliser une appellation présente dans la nomenclature botanique et valable dans le monde entier [44]. L'objectif principal de ces contrôles est d'encadrer au mieux l'utilisation des matières premières pour la production des HE afin de garantir qualité et sécurité au consommateur [46]. Les facteurs influençant le rendement, la composition et la qualité des huiles essentielles :

- a) la sélection de la plante qui est tributaire du genre et de l'espèce botanique ;
- b) Le chémotype (chimiotype) représentant les différents panels de molécules chimiques que des plantes de la même espèce peuvent produire si elles sont placées dans des conditions de

cultures différentes. Le chémotype dépend de l'ensoleillement, de la température, de l'humidité, de la nature du sol, de la pression atmosphérique, de la photopériode... ;

c) la partie de la plante considérée pour l'extraction est déterminante pour la qualité de l'huile. En effet, les différentes parties d'une plante ne possèdent pas un équipement enzymatique uniforme, ce qui entraîne une différence de composition dans les constituants produits. Il est donc impératif de préciser la partie considérée lors de l'extraction de l'HE ;

d) la période de récolte : la récolte doit se faire au moment où les principes actifs les plus intéressants produits par la plante sont à leur concentration maximale ;

e) la conservation des huiles essentielles [52].

#### **3.4.3.1. Conservation et stockage des huiles essentielles**

L'huile essentielle se conserve parfaitement bien quelques années, à l'abri de la chaleur et de la lumière pour éviter leur oxydation et la polymérisation de leurs composants [52]. Des flacons en verre teinté sont nécessaires à la bonne conservation des huiles essentielles.

Après un an ou deux, on n'utilise plus les huiles essentielles en traitement interne. Elles peuvent toutefois servir dans les diffuseurs d'arômes, sans inconvénient. L'eau florale est très fragile et ne se conserve pas longtemps [53].

Des études ont montré l'influence des méthodes d'extraction sur la composition des huiles essentielles. Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles. Des études ont montré des pertes considérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur, mais peu d'évolution de la composition. Par ailleurs le temps de stockage des huiles essentielles après extraction tend aussi à modifier la composition de ces huiles [48].

#### **3.4.3.2. Caractérisation et normalisation**

Une normalisation concernant les huiles essentielles est indispensable, sachant que le produit extrait n'est pas toujours le même, s'il est issu d'une même plante et par la même procédure, vu les diverses modifications que peuvent subir les essences natives des plantes.

Parmi les normes qui étudient les caractéristiques des huiles essentielles, nous citons international standard organisation (I.S.O) ; l'Association Française de Normalisation (A.F.N.O.R) ; « l'American essential oil comite » (A.E.O.C) [53].

Ces normes concernent principalement :

- Les propriétés organoleptiques (couleur, aspect, odeur)

- Les caractéristiques chimiques : Indice d'acide, d'ester et les caractéristiques physiques telle la densité, le pouvoir rotatoire et l'indice de réfraction.

Une huile essentielle sera déclarée de bonne qualité si elle est conforme en tous points aux spécifications des normes. Une marge de variabilité est toutefois tolérable [53].

### 3.4.3.3. Méthodes d'identification des composés des huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles est une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques. Parmi les techniques performantes pour l'identification des huiles essentielles [48] :

#### A) *La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)*

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles. Elle réalise à la fois une analyse qualitative et quantitative [48].

#### B) *Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse / Spectrométrie de Masse (CPG/SM)*

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (CPG/SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe. Les systèmes actuels de CPG/SM sont très performants pour la séparation, la détection et l'identification des molécules [48].

#### C) *Le couplage de la CPG avec IRFT*

Le couplage de la CPG avec un spectromètre infrarouge par transformée de Fourier (CPG/IRFT) est une technique particulièrement intéressante lorsqu'il s'agit d'analyser des composés fonctionnalisés en permettant d'identifier des molécules dont les spectres de masse ne sont pas suffisamment différenciés [48].

#### D) *La Résonance Magnétique Nucléaire du carbone-13 (RMN- 13 C)*

Une alternative aux méthodes d'analyse décrites précédemment est la RMN du carbone 13 des mélanges, sans séparation préalable des constituants. Le principe consiste à attribuer les raies de résonance de chacun des carbones de chaque composé à partir du spectre unique du mélange et de les comparer à des produits de référence [48].

#### E) *Chromatographie liquide haute performance (HPLC)*

Elle permet l'identification, la séparation et le dosage de composés chimiques dans un mélange. Sa grande précision permet la recherche de traces et il est possible de la coupler à un spectromètre de masse.

#### **3.4.4. Marché mondial des huiles essentielles**

Les quantités d'huiles essentielles produites dans le monde sont très variables. La production annuelle de certaines huiles essentielles dépasse 35.000 tonnes, alors que celle des autres peut atteindre quelques kilogrammes [49].

En 2008, la production mondiale des huiles essentielles est dominée par le Brésil et l'Inde avec des productions respectives de 28.6 % et 25.6 %. Suivent ensuite pour un tiers du marché les Etats-Unis, la Chine et l'Argentine avec des productions atteignant respectivement 16.8 %, 9.0 % et 4.9 %. Neuf pays avec des productions internes entre 0.1 et 2 % (France: 1 %) pèsent pour 10 % dans le marché mondial. Enfin, les derniers 10 % se répartissent entre les autres pays du monde avec une production inférieure à 0.1 %.

Le flux des importations mondiales d'huiles essentielles de 1998 à 2001 est resté stable autour d'une valeur de 1.300 millions de dollars. Les cinq premiers pays importateurs d'huiles essentielles représentent 62 % des importations mondiales. On retrouve les Etats-Unis, la France, la Grande-Bretagne, le Japon et l'Allemagne [49].

#### **3.4.5. Marché Algérien des huiles essentielles**

Les huiles essentielles produites en l'Algérie provenaient soit des cultures familiales ou des plantes spontanées, tels que la menthe, le jasmin, le rosier, le géranium, la lavande, le romarin, l'origan, le thym, la sauge... [54]. Actuellement, la production d'huiles essentielles est limitée à quelques producteurs privés artisanaux qui ne subvient pas au marché national.

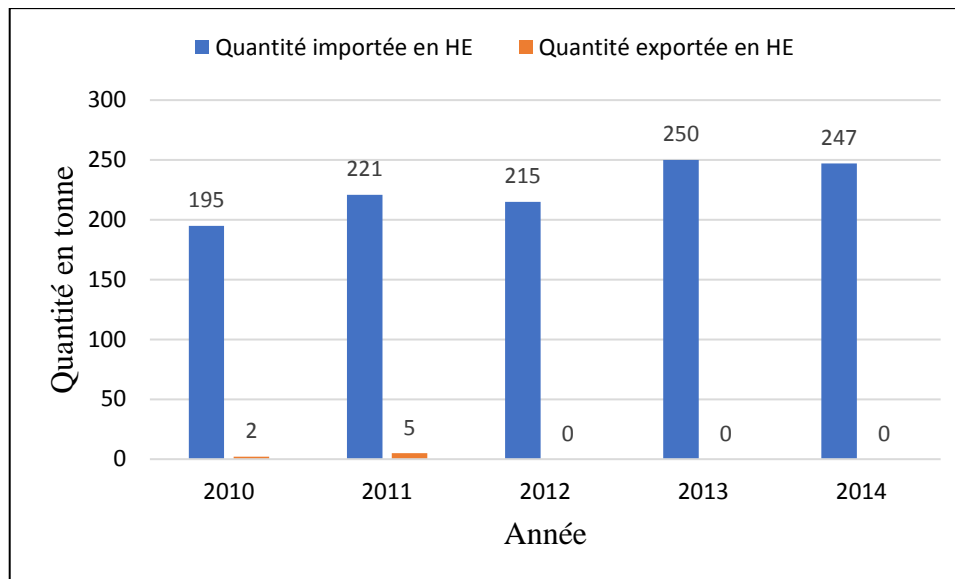
L'Algérie de par sa situation géographique, possède une flore riche et variée. Cette richesse s'explique par l'étendue de sa surface constituée par des éco systèmes de types méditerranéens, steppique et saharien. Plus de 3000 espèces sont décrites avec 168 espèces endémiques spécifiques de l'Algérie [54].

Les produits issus des plantes à parfum, aromatiques et médicinales font l'objet d'un commerce important au niveau mondial. Les importations suivies de réexportations, avec ou sans transformation, sont fréquentes. L'Algérie comme pour tous secteurs hors hydrocarbure participe massivement à ce marché à travers une activité d'importation des plus conséquentes, alors que l'activité d'exportation est peu présente [54].

En Algérie, le marché des huiles essentielles est très instable et le nombre d'usines est très faible. Ce secteur se développe très difficilement et il demeure modeste.

La balance commerciale est négative et le secteur n'a enregistré aucune activité d'exportation durant plusieurs années. A l'inverse, les importations sont en hausse (Figure 3.16) :





**Fig. 3.16 :** Evolution des importations et exportations des huiles essentielles en Algérie [54]

La valeur des importations d'huiles essentielles atteint 1 636 milliers d'euros en 2014. Les pays de la Méditerranée s'imposent sur ce marché (France, Italie, Espagne, Tunisie et Maroc). Ils proposent une offre croissante de production florale et deviennent, avec la Chine et l'Inde, les principaux fournisseurs d'huiles essentielles pour l'Algérie. L'implantation d'usines dans le bassin méditerranéen favorise et facilite les échanges entre l'Algérie et ses partenaires.

Pour l'année 2014, la croissance des importations du pays en huiles essentielles est supérieure à celle des exportations mondiales à l'exception de deux produits pour lesquels une forte demande interne a été observée : les résinoïdes et l'huile essentielle de menthe poivrée [54].

L'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie, 'INRAA' dans son rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture en 2006, signale plus de 626 espèces, sous espèces et variétés médicinales. Selon le même rapport sur les 1 600 espèces spontanées utiles et cultivées, l'Algérie n'en utilise que 1 %.

Le secteur de production des huiles essentielles représente des enjeux sociaux-économiques non négligeables. C'est un secteur porteur de croissance économique ; il a l'avantage d'être une activité nécessitant une main d'œuvre disponible créatrice d'emplois, une activité également qui génère des revenus rentables auprès des populations locales [54].

Dans le domaine de l'extraction des produits naturels et particulièrement des huiles essentielles, la distillation reste la méthode d'extraction la plus utilisée. Cette méthode traditionnelle, éprouvée et peu coûteuse, est consommatrice d'énergie et d'eau. Afin de permettre le maintien et le développement économique de cette filière, des progrès

substantiels ont été accomplis pour améliorer les techniques d'extraction ; optimisation des procédés existants, récupération de l'énergie libérée au cours du procédé, assistance aux procédés existants et innovation de procédé [55].

### **3.5. Conclusion**

Dans un premier temps, ce chapitre a permis de présenter les différents éléments constituant un système de traitement par champ électrique pulsé. Il est évident que les générateurs haute tension, les commutateurs et les chambres de traitement sont des éléments fondamentaux dans la conception des systèmes de CEP à l'échelle de laboratoire ou industrielle.

Les théories des générateurs de Marx et Graeinacher se trouvent dans le principe de fonctionnement de la plupart des générateurs commercialisés pour le traitement par CEP.

Présentés dans ce chapitre, divers modèles de chambres de traitement par CEP sont décrits en notant que les chambres statiques conviennent à une utilisation principalement en laboratoire, mais pour les opérations à l'échelle commerciale, les chambres continues sont plus efficaces.

Dans un second temps, nous avons présenté les techniques permettant l'extraction des huiles essentielles à partir des différentes plantes aromatiques et médicinales. Ainsi, quels que soient les paramètres d'extraction, plusieurs facteurs influent sur le rendement et la qualité des huiles extraites. A cet effet, nous avons présenté les moyens de contrôle, les conditions de stockage et les normes de commercialisation.

Au chapitre suivant, nous allons décrire l'application du CEP pour le prétraitement des plantes aromatiques en vue de l'extraction des huiles essentielles.

**APPLICATION DU CEP POUR  
L'EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE  
DU *MARRUBIUM VULGARE***

## 4.1. Introduction

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues [55-57]. Actuellement, près de 3000 huiles essentielles sont décrites, parmi lesquelles environ 300 présentent une importance commerciale dans l'industrie mondiale [58].

Les huiles essentielles sont des liquides aromatiques appelés aussi essences aromatiques, produits et emmagasinés dans certaines cellules de matières végétales, composés de molécules sécrétées par certains arbres et certaines plantes qui lui confèrent un parfum spécifique [59 ;60].

Il s'agit de substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs [61]. Elles sont produites par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages [62].

Beaucoup de végétaux renferment des HEs, mais seulement en toute petite quantité, ne permettant pas l'extraction ou en rendant le prix excessivement cher. Seules les plantes dites « aromatiques » produisent des quantités suffisantes de l'HE. La famille des plantes Lamiaceae « aromatiques » renferme de nombreuses espèces économiquement importantes soit par leurs huiles essentielles, soit pour leur usage condimentaire, elles appartiennent aux genres *Mentha* (la Menthe), *Lavandula* (la Lavande), *Marrubium* (le Marrube), *Nepeta* (l'herbe aux chats), *Ocimum* (le Basilic), *Origanum* (l'Origan), *Rosmarinus* (le Romarin), *Salvia* (la Sauge), *Satureja* (la Sarriette) et *Thymus* (le Thym) [63].

Le genre *Marrubium* comporte quelque 40 espèces, répandues principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasiatique et quelques pays d'Amérique Latine [64-66]. Elle est considérée par Jean-Emmanuel Gilibert (1741-1814, botaniste français) comme l'une des meilleures plantes d'Europe [67]. En Algérie, on retrouve 6 espèces différentes au sein de ce même genre : *Marrubium vulgare*, *Marrubium supinum*, *Marrubium peregrinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alyssoides* Pomel et *Marrubium deserti de Noé* [68]. Les noms donnés à la plante sont les suivants : en Algérie est connue par le nom *Marriouth* [68], *Merrîwt* au Maroc [69], *Marroubia* en Tunisie [70].

En Anglais : *Harehound*, en Italien : *Marrubbio*. Selon [65], le Marrube est composé de deux mots hébreux : mar, rob, suc amer.

Certaines espèces du genre *Marrubium* sont connues par l'élaboration des huiles essentielles comme *Marrubium globosum* [71], *Marrubium vulgare*, *Marrubium alternidens*

*Rech* [72], *Marrubium peregrinum* [73], *Marrubium Cuneatum Russell* [74], *Marrubium parviflorum*, *Marrubium velutinum* [75]. Les parties utilisées pour extraire l'huile essentielle de *Marrubium vulgare* sont les sommités fleuries et les feuilles. L'huile essentielle de *Marrubium vulgare* est d'une odeur forte et fétide avec une saveur aromatique, amère et âcre, c'est un antioxydant et spasmodiques [67 ; 76].

Le *Marrubium vulgare* était employé, dans l'Antiquité, contre les affections respiratoires. Le médecin grec Dioscoride (40-90 apr. J.-C.) le recommandait déjà en décoction pour soigner la tuberculose, l'asthme et les toux. Le *Marrubium vulgare* est un expectorant et un amer puissant, prescrit dans le traitement des difficultés respiratoires, des bronchites, des bronchectasies (dilatation pathologique des bronches), des bronchites asthmatiformes, des toux sèches et de la coqueluche. Il est apéritif et améliore le fonctionnement de l'estomac et régularise également le rythme cardiaque. L'infusion chaude aide à faire tomber la fièvre, lorsque la quinine est inefficace, il est proposé contre la malaria et en usage externe et interne contre eczéma et zona [77 ; 78]. Selon les populations anciennes, le *Marrubium* aurait une action hypoglycémiant [79 ; 80].

La distillation de l'huile essentielle nécessite un transfert de masse à partir du cœur de la surface de la plante. Différents prétraitements sont aujourd'hui appliqués pour désintégrer la structure tissulaire et améliorer la libération d'huile essentielle et sa séparation par l'eau de vapeur.

Le champ électrique pulsé (CEP) a été appliqué pour induire la perméabilisation par électroporation des membranes biologiques.

Il a été démontré [80] que le rendement d'extraction de différentes plantes telles que la pomme, la carotte ou la betterave peut être grandement amélioré en utilisant le CEP. Le mécanisme d'action est basé sur l'électroporation des membranes cellulaires par des impulsions de champ électrique de haute tension. Les paramètres de traitement typiques sont un champ électrique de 1-5 kV/cm et un apport d'énergie spécifique de 5-20 kJ/kg. À la suite de l'application de CEP, le contenu intracellulaire est libéré. Cela facilite les processus de diffusion dans le tissu et l'échange de masse avec l'environnement externe. En conséquence, des effets bénéfiques peuvent être obtenus au cours de divers processus utilisés dans la technologie alimentaire, tels que le séchage, l'extraction d'huile et la production de jus.

Le but de cette étude est d'étudier l'application de CEP pour l'extraction de l'huile essentielle de *Marrubium*, avec une attention particulière à l'amélioration du rendement et une réduction du temps de traitement. Dans ce contexte, le niveau de champ électrique et le nombre d'impulsions ont été considérés comme les principaux facteurs de CEP dans ce

travail. De plus, l'étude a été complétée par une analyse physico-chimique de l'huile essentielle réalisée avant et après traitement.

## 4.2. Présentation botanique de la plante étudiée *Marrubium Vulgare*

Le *Marrubium* est une Arbuste (Figure 4.1), d'aspect blanchâtre très rameux, à poils laineux appliqués [81], à odeur de *thym* au froissement, couverte d'un duvet blanc, à tiges dressées, portant souvent de nombreuses pousses courtes et stériles. Hauteur de 40 à 60 cm, feuilles ovales arrondies, souvent un peu cordées à la base, gaufrées et crénelées, feutrées à la face intérieure. C'est une plante à reproduction entomophile. Petites fleurs blanches (12-15 mm de long), corolle à 2 lèvres, l'inférieure trilobée, la supérieure à 2 lobes. Calice à 10 dents courtes, crochues. Placées en verticilles denses à l'aisselle des feuilles supérieures.

4 étamines sont cachées dans le tube de la corolle [67]. Il pousse principalement sur les friches. On récolte ses feuilles au printemps [78]. La composition et le rendement d'une HE varient selon la partie de la plante à partir de laquelle est extraite [81].



Fig.4.1 : Photo de la plante *Marrubium vulgare*

## 4.3. Localisation de la zone d'étude

Les échantillons de la partie aérienne (feuilles) de *Marrubium* ont été collectés en mars (2017) à Mascara. La région de Mascara (5941km<sup>2</sup>) est située dans le nord-ouest de l'Algérie (au N35°26, E02°11) avec un climat méditerranéen et des précipitations annuelles moyennes d'environ 450 mm [82]. La population de la région est estimée à 1.000.000 avec un taux de croissance moyen de 1.99%. La densité moyenne de la population est de 168 Hab/km<sup>2</sup>.

#### 4.4. Choix de la méthode d'extraction

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte [83].

##### 4.4.1. Protocole d'extraction par hydrodistillation

Suivant le protocole d'extraction par hydrodistillation (Figure 4.2) décrit par plusieurs auteurs [84-86], nous avons introduit 20 g de feuilles de *Marrubium* et 250 ml d'eau en présence de pierres ponce dans un ballon de 1L, surmonté d'une tête de distillation comportant un thermomètre et raccordée à un réfrigérant, on porte le tout à l'ébullition pour de durée bien déterminée. On ajoute peu à peu de l'eau par l'ampoule de coulée afin de maintenir le volume d'eau constant dans le ballon. La distillation est poursuivie jusqu'à l'obtention de distillat.

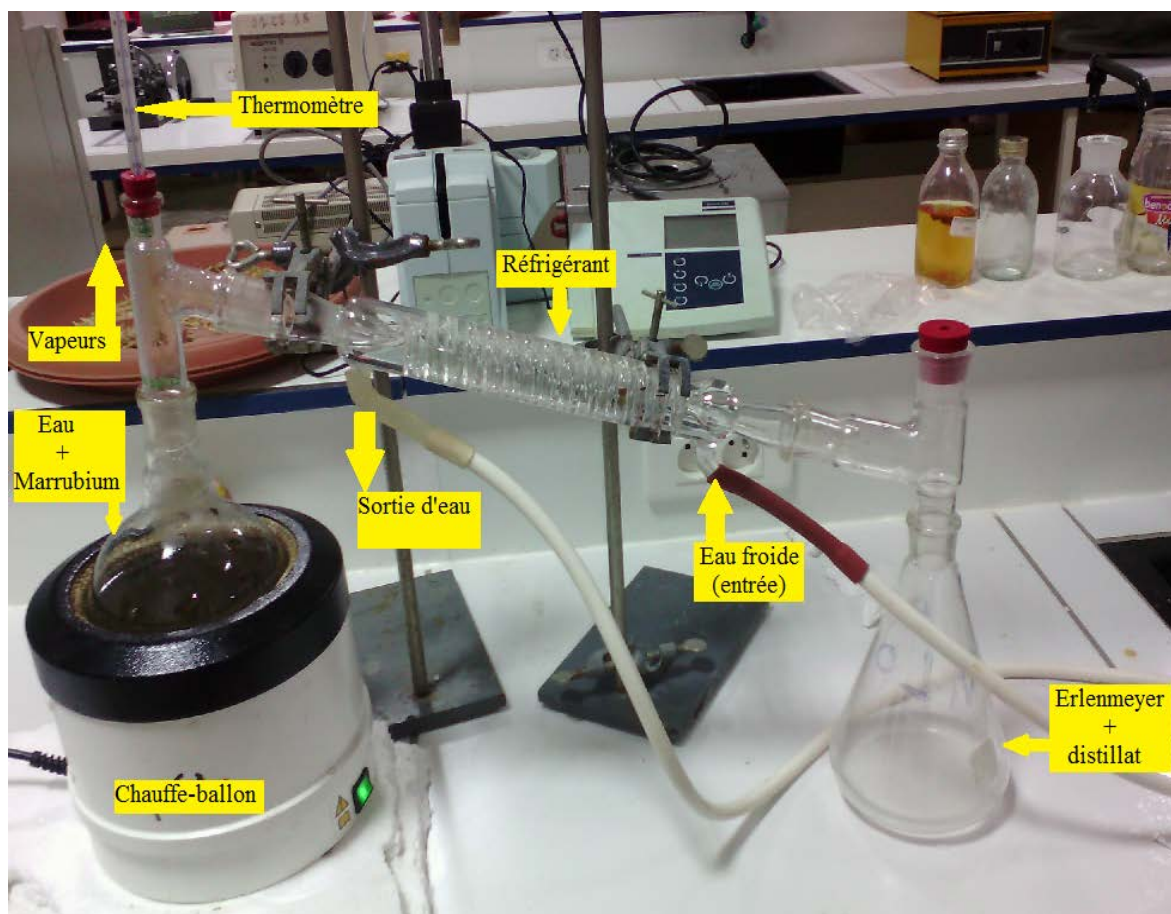


Fig.4.2 : Montage d'hydrodistillation (photo du laboratoire LRSBG- Mascara)

Ce dernier est un mélange de deux phases non miscibles (huile essentielle + eau) qui seront séparées par extraction liquide-liquide (décantation) (Figure 4.3), au moyen d'un solvant organique (diethyl ether dans notre cas). L'huile essentielle primaire récupérée est mélangée à diethyl ether (phase organique). Le séchage des phases organiques est effectué par le sulfate de sodium anhydre pour éliminer toute trace d'eau.



**Fig 4.3 :** Ampoule de décantation

Après filtration et évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif (Hahnvapor, HS-2005V-N, HAHN SHIN, figure 4.4), on récupère l'huile essentielle.



**Fig 4.4:** Évaporateur rotatif (HS-2005V-N, HAHN SHIN)



Les avantages du procédé d'extraction par hydrodistillation sont : rendement en huile essentielle très élevé, essence de bonne qualité et très concentrée et contact direct entre matière végétale-eau [87].

#### 4.4.2. Détermination du rendement en huile essentielle

On définit le rendement en huile essentielle ( $R_{HE}$ ) comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle ( $M_{HE}$ ) obtenu et la masse de matière végétale ( $M_{MV}$ ) [88]. Il est exprimé en pourcentage et donné par la relation suivante :

$$R_{HE} (\%) = \frac{M_{HE}}{M_{MV}} \cdot 100 \quad (4-1)$$

#### 4.5. Protocole de traitement par CEP

Les feuilles de la plante ont été séchées pendant une période de 48 h, puis coupées manuellement en utilisant des ciseaux en petits morceaux d'environ 1-2 cm. Pour chaque expérience, un échantillon de plante de 20 g de masse de *Marrubium* a été mélangé avec la même quantité d'eau distillée pour obtenir un échantillon humide.

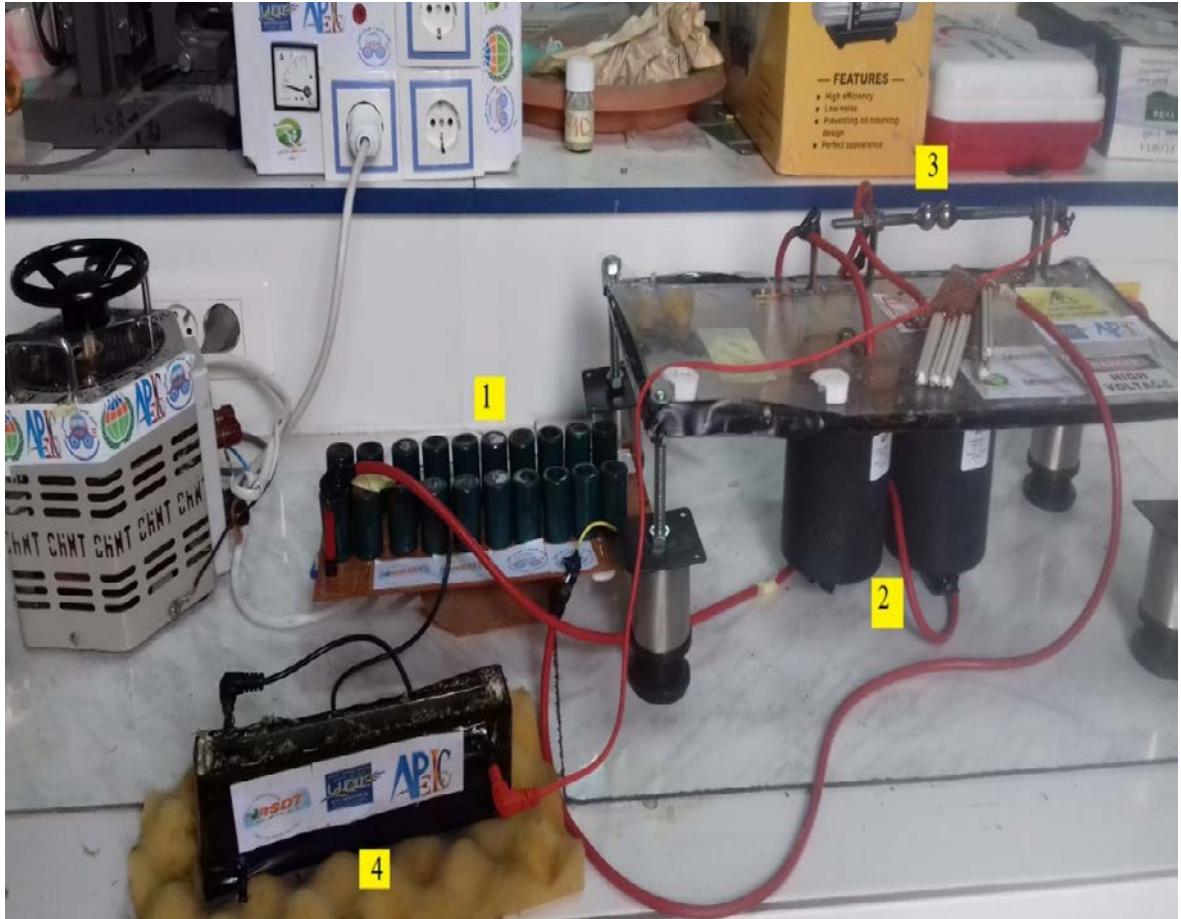
Le traitement par CEP a été effectué en utilisant une chambre de traitement comprenant deux électrodes parallèles en acier inoxydable séparées par un espace de 2,5 cm qui représente l'épaisseur de l'échantillon.

La configuration expérimentale utilisée dans le présent travail est composée de plusieurs composants, comprenant une source de tension continue élevée à base de cascade de Greinacher (1880-1974 physicien suisse), deux condensateurs de stockage d'énergie (Figure 4.5), un interrupteur à éclateur et une chambre de traitement.



Fig. 4.5: Condensateurs de stockage d'énergie et l'alimentation HT

L'alimentation haute tension continue charge l'ensemble des condensateurs d'une capacité totale de 2  $\mu$ F jusqu'à la rupture de l'éclateur, provoquant une tension brusque (choc) appliquée à la charge (chambre de traitement où l'échantillon est disposé). Le système de traitement par CEP est présenté par la figure 4.6.



**Fig.4.6 :** Système de traitement par CEP.

1-Alimentation HT DC, 2-Banc de condensateurs, 3- Eclateur à air, 4-Chambre de traitement

#### **4.6. Mesure de la conductivité électrique**

La conductivité électrique a été déterminée à l'aide d'un conductimètre de solution liquide (Multiline P4 WTW, figure 4.7). Après le traitement CEP, un échantillon de l'eau distillée est prélevé dans la chambre de traitement puis placé dans un tube de verre pour mesurer sa conductivité avec la sonde du conductimètre.



Fig.4.7 : Multiline P4 WTW

#### 4.7. Chromatographie en phase gazeuse/analyse par spectrométrie de masse

Les analyses par CG/SM ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse capillaire Shimadzu directement couplé au système de spectromètre de masse (modèle GC-2010 plus, GCMS-TQ8030, Shimadzu, figure 4.8) au laboratoire de chimie physique des macromolécules et des interfaces biologiques à l'université de Mascara.



Fig.4.8 : GC/MS-TQ8030

Une colonne capillaire (30 mx 0,25 mm, épaisseur de film de 0,25 pm) a été utilisée dans les conditions suivantes : Température du four à colonne : 60,0 °C, température d'injection : 230 °C, Mode d'injection : Split, Pression : 18,9 kPa, Débit total : 50,8 mL/min, Débit de la colonne : 1,54 mL/min, Vitesse linéaire : 45,3 cm/sec, Débit de purge : 3,0 mL/min et Rapport fractionné : 30,0.

La température de la colonne a été programmée de 60 à 220 °C à une vitesse de 5 °C/min. Les conditions du spectromètre de masse (SM) étaient les suivantes : température de la source d'ions : 200 °C, température d'interface : 250 °C, durée de coupe du solvant : 2,00 min et gain du détecteur : 1,14 kV. La gamme de masse de balayage était de 20-600 m / z, la durée totale de fonctionnement était de 32 minutes et la vitesse de balayage : 2000. Les produits chimiques authentiques sont identifiés par la base de données de chimie ouverte et la bibliothèque NSIT.

#### 4.8. Cinétique d'extraction de l'HE de *Marrubium* sans CEP

Pour notre étude, nous avons déterminé les valeurs de rendement de l'huile essentielle de *Marrubium* sans traitement par CEP avec des intervalles de temps de distillation allant de 30 min à 180 min (Figure 4.9). En augmentant le temps d'extraction, la quantité d'huile a augmenté et le maximum a été réalisée à 90 minutes d'extraction. Un accroissement plus ultérieur du processus d'extraction après 90 minutes n'a pas augmenté de manière significative le rendement d'huile essentielle. Les résultats de ce travail sont en accord avec la littérature [89].

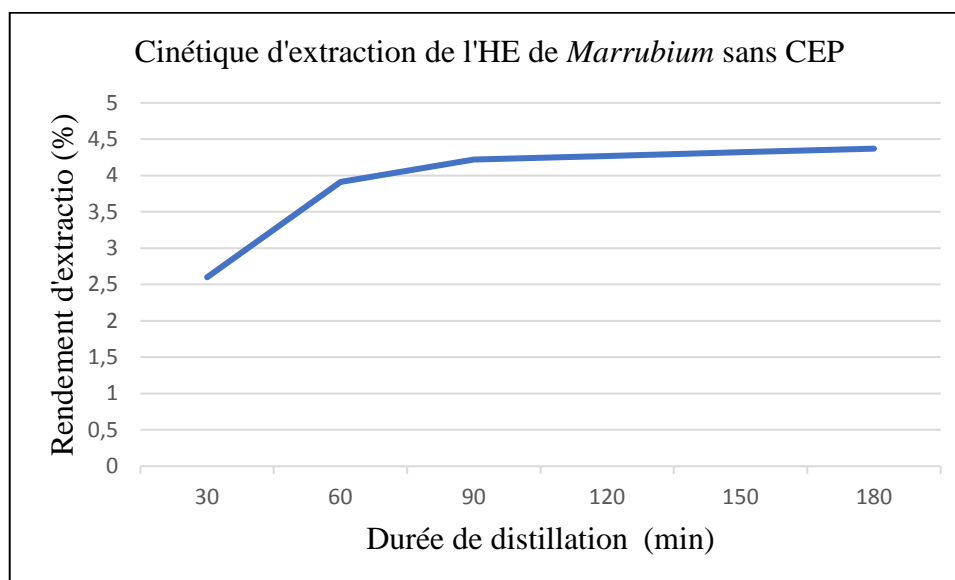
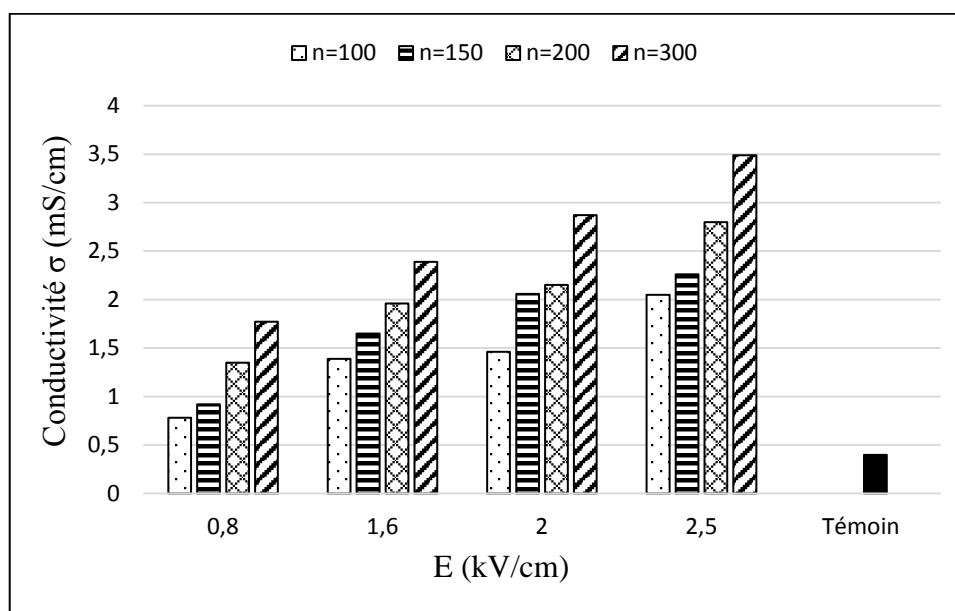


Fig.4.9 : Cinétique d'extraction de l'HE de *Marrubium* sans CEP

#### 4.9. Effet du CEP sur la conductivité électrique de *Marrubium*

Dans une première étape, la conductivité électrique  $\sigma$  (mS/cm) a été analysée après le traitement par CEP. Des échantillons humides des feuilles de *Marrubium* ont été introduits dans la chambre de traitement pour subir des impulsions, puis une quantité déterminée d'eau distillée a été prélevée pour la mesure de la conductivité  $\sigma$ . Les résultats obtenus sur la figure 4.9, représentant la variation de  $\sigma$  en fonction du champ électrique E et du nombre d'impulsions n, confirment le processus d'électroporation qui se produit lorsque l'installation est soumise à des impulsions électriques. Lorsque la membrane cellulaire est électroporée, le transfert de masse de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule provoque l'augmentation de la conductivité de la solution. Comme on le voit sur la figure 4.10, le taux d'augmentation devient plus important pour les valeurs plus élevées de E et n.



**Fig.4.10** : Effet du traitement par CEP sur la conductivité électrique du *Marrubium*

Le traitement par CEP entraîne la rupture des membranes cellulaires lorsqu'elles sont soumises à un champ électrique externe, augmentant la conductivité électrique et la perméabilité du matériau intracellulaire [90-92].

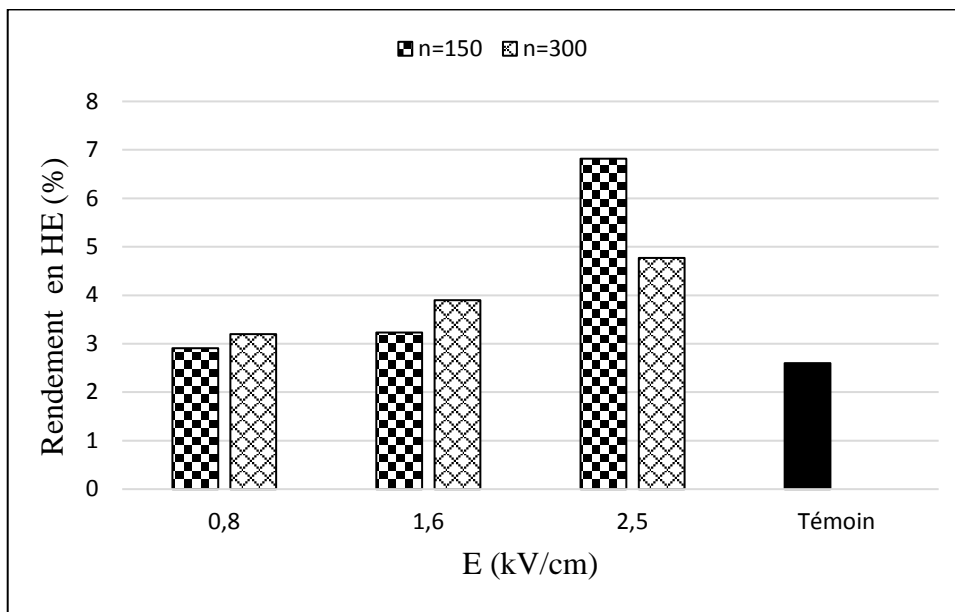
Pour l'extraction par champ électrique pulsé, il est souhaitable que le milieu d'extraction ait une conductivité électrique modérée, car une conductivité élevée entraînerait une annulation rapide du champ [39].

#### 4.10. Effet du traitement par CEP sur le rendement d'extraction

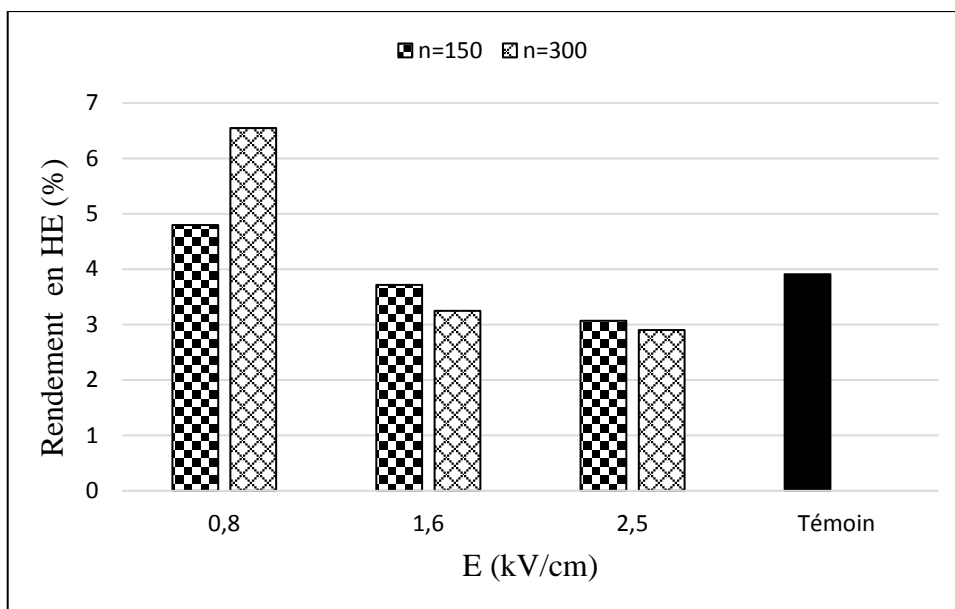
Des échantillons humides des feuilles de *Marrubium* d'une masse  $M = 20$  g ont été introduits dans la chambre de traitement par CEP pour subir des impulsions pour différentes

valeurs du champ électrique E (0,8 kV/cm ; 1,6 kV/cm ; 2,5 kV/cm) et le nombre d'impulsions n (150; 300).

Les résultats obtenus après extraction, représentés aux figures 4.11 et 4.12 pour  $\Delta t = 30$  min et  $\Delta t = 60$  min respectivement, indiquent que l'augmentation de l'intensité du champ électrique entraîne une amélioration significative du rendement d'extraction par rapport au témoin (échantillon) non traité pour la même durée de distillation.



**Fig.4.11 :** Effet du traitement par CEP sur l'efficacité d'extraction pour différentes valeurs du champ électrique et le nombre d'impulsions ( $\Delta t = 30$  min)



**Fig.4.12 :** Effet du traitement par CEP sur l'efficacité d'extraction pour différentes valeurs du champ électrique et le nombre d'impulsions ( $\Delta t = 60$  min)

En analysant les résultats présentés sur les figures 4.11 et 4.12, on remarque que l'effet du traitement par CEP devient significatif pour un temps de distillation  $\Delta t = 30$  min lorsque le champ E est maximum ( $E = 2,5$  kV/cm).

Cependant, la tendance est inversée pour  $\Delta t = 60$  min ; c'est-à-dire que l'extraction optimale est obtenue lorsque le champ E est minimal ( $E = 0,8$  kV/cm). Ainsi, le taux d'augmentation maximum  $\Delta e$  de l'extraction est estimé comme suit :

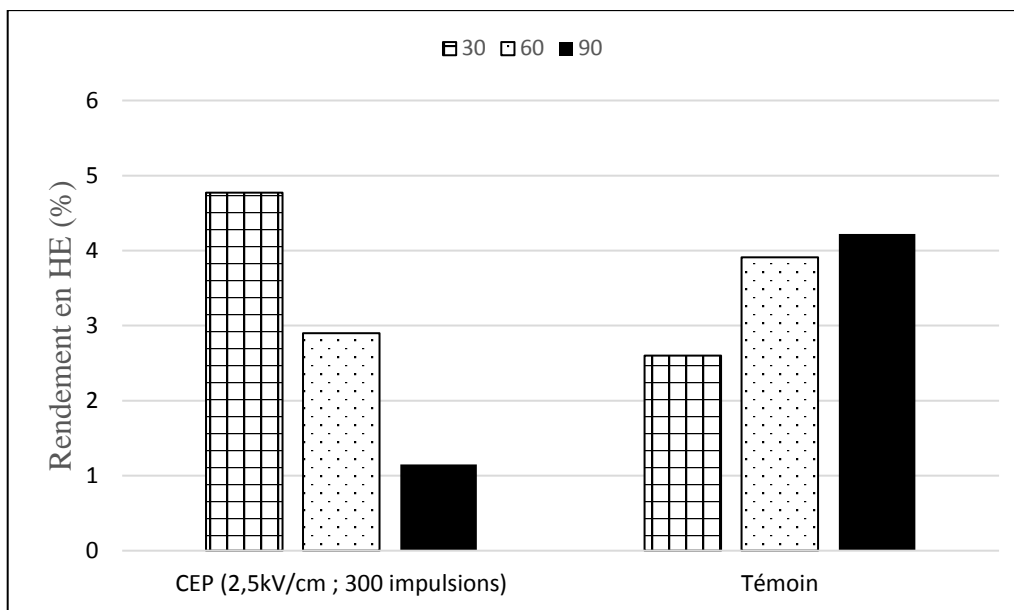
- Pour  $\Delta t = 30$  min ( $E=2.5$  kV/cm) :  $\Delta e=(6.82-2.6/2.6)*100=162.3$  %
- Pour  $\Delta t = 60$  min ( $E=0.8$  kV/cm) :  $\Delta e=(6.55-3.91/3.91)*100=67.5$  %

L'intensité du champ électrique a été ajustée en changeant la tension appliquée. Comme le montre la figure 4.11, le rendement en huile essentielle a été influencé par la force du champ électrique, évidemment.

Lorsque le champ électrique augmente de 0,8 kV/cm à 2,5 kV/cm, le rendement en huile augmente après 30 min de 2,9% à 6,8% ( $n = 150$ ) et de 3,2% à 4,7% ( $n = 300$ ). Cependant, après 60 min (Figure 4.11), l'intensité du champ électrique a augmenté continuellement de 0,8 kV/cm à 2,5 kV/cm, le rendement en huile a diminué de 4,8% à 3,1% ( $n = 150$ ) et de 6,5% à 2,9% ( $n = 300$ ). Le phénomène pourrait être expliqué que la différence de potentiel entre l'intérieur et l'extérieur de la membrane cellulaire est devenue plus grande avec les forces électrostatiques, entraînant la désintégration des organites et des structures cellulaires [93 ; 94], puis la libération de substances volatiles pourrait être améliorée. Mais l'intensité trop grande du champ électrique peut induire une influence négative. La tendance similaire a été rapportée précédemment [95].

En effet, après le traitement par CEP pour  $E = 2,5$  kV/cm, la membrane cellulaire est presque complètement perméabilisée et donc la quasi-totalité de l'huile est extraite après 30 min de la période de distillation. En revanche, comme presque toute l'huile essentielle est extraite après 30 min de distillation, le surplus d'énergie de distillation entraîne la diminution du rendement d'extraction. Ceci est encore confirmé par les résultats représentés sur la figure 4.12 représentant l'évolution du rendement d'extraction en fonction du temps de distillation.

Le prétraitement par CEP provoque l'extraction de plus d'huile après seulement 30 min de distillation par rapport à l'échantillon témoin qui donne moins d'huile après une durée de distillation de 90 min (Figure 4.13).



**Fig.4.13** : Variation du rendement d'extraction en fonction de la durée du processus de distillation ( $E = 2,5\text{kV/cm}$ ,  $n = 300$ )

Par contre, on remarque que le nombre d'impulsions  $n$  favorise une meilleure extraction pour les faibles valeurs du champ  $E$ . En effet, lorsque  $E$  atteint  $2,5\text{ kV/cm}$  (pour  $\Delta t = 30\text{ min}$ ) ou  $1,6\text{ kV/cm}$  (pour  $\Delta t = 60\text{ min}$ ), le rendement d'extraction diminue en raison de l'énergie excédentaire fournie à la cellule lorsque le nombre d'impulsions augmente.

Par conséquent, le traitement par CEP pour l'extraction de l'huile essentielle dépend non seulement de l'intensité du champ électrique mais aussi de la combinaison avec les deux autres paramètres, à savoir le nombre d'impulsions et la durée de la distillation.

L'influence de l'énergie et la température est complexe. L'énergie apportée par les impulsions provoque un échauffement du milieu, qui dépend du champ, ainsi que du nombre et de la forme des impulsions [39]. Cependant, l'énergie stockée dans les condensateurs et dissipée dans la chambre de traitement ne constitue pas non plus un paramètre déterminant [96]. Ainsi, la méthodologie de conception expérimentale a été utilisée ci-après pour modéliser et analyser l'interaction entre les facteurs.

#### 4.11. Modélisation du processus d'extraction par CEP

La méthodologie des modèles expérimentaux permet de déterminer le nombre d'expériences à réaliser selon un objectif bien défini, d'étudier simultanément plusieurs facteurs [97 ;98]. Dans ce chapitre, la conception factorielle complète [99], qui donne des modèles linéaires, a été adoptée. Il est possible de déterminer une relation entre la fonction de sortie pour optimiser (réponse) et les variables d'entrée  $u_i$  ( $i = 1, \dots, k$ ) (facteurs):



$$y = f(u_i) = c_0 + \sum c_i u_i + \sum c_{ij} u_i u_j \quad (4-2)$$

Sachant que  $\Delta u_i$  et  $u_{i0}$  sont respectivement l'étape de variation et la valeur centrale du facteur  $i$ , les valeurs centrées réduites des facteurs d'entrée peuvent être définies par la relation suivante :

$$x_i = (u_i - u_{i0}) / \Delta u_i \quad (4-3)$$

Avec ces nouvelles variables, la fonction de sortie devient :

$$y = f(x_i) = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j \quad (4-4)$$

Les coefficients peuvent être calculés ou estimés par un programme informatique, de manière à avoir une variance minimale entre le modèle mathématique prédictif et les résultats expérimentaux.

Le logiciel MODDE 5.0 (Umetrics AB, Umea, Suède) a été utilisé, qui est un programme Windows pour la création et l'évaluation des conceptions expérimentales (MODDE 5.0, 1999). Le programme assiste l'utilisateur pour l'interprétation des résultats et la prédiction des réponses. Il calcule les coefficients du modèle mathématique et identifie les meilleurs ajustements des facteurs pour optimiser le processus. De plus, le programme calcule deux critères statistiques significatifs qui permettent de valider ou non le modèle mathématique, symbolisé par  $R^2$  et  $Q^2$ .

Le premier est appelé la qualité de l'ajustement, et est une mesure de la façon dont le modèle peut être fait pour s'adapter aux données brutes ; il varie entre 0 et 1, où 1 indique un modèle parfait et 0 aucun modèle. Ce dernier s'appelle bonté de prédiction, et estime le pouvoir prédictif du modèle. Comme  $R^2$ ,  $Q^2$  a la limite supérieure 1, mais sa limite inférieure est moins l'infini.

Pour qu'un modèle réussisse le test de diagnostic, les deux paramètres doivent être élevés et, de préférence, ne pas être séparés par plus de 0,2-0,3.

#### 4.11.1. Limites de variation des facteurs

Dans ce travail, les expériences ont été réalisées en considérant les deux facteurs du CEP les plus importants qui sont l'intensité du champ électrique  $E$  et le nombre d'impulsions  $n$ , en association avec la durée du processus de distillation  $\Delta t$ .

Selon les résultats obtenus dans les expériences précédentes, les limites de variation des facteurs  $E$ ,  $n$  et  $\Delta t$  sont déterminées comme suit:

- Champ électrique :  $E_{\min} = 1.5 \text{ kV/cm}$  ;  $E_{\max} = 2.5 \text{ kV/cm}$
- Nombre d'impulsion :  $n_{\min} = 100$  ;  $n_{\max} = 300$
- Temps de distillation  $\Delta t$ :  $\Delta t_{\min} = 30 \text{ min}$ ;  $\Delta t_{\max} = 90 \text{ min}$

Le rendement d'extraction d'huile Y (%) et l'énergie de traitement du CEP W (J) ont été considérés comme significatifs pour l'évaluation du procédé.

#### 4.11.2. Détermination du point optimal

L'identification des valeurs optimales des facteurs a été réalisée en utilisant un plan factoriel complet ; les deux niveaux "min" et "max" sont les limites établies à partir des expériences préliminaires dans la section précédente pour chacune des trois variables ( $E_{\min}$ ,  $E_{\max}$ ), ( $n_{\min}$ ,  $n_{\max}$ ) et ( $\Delta t_{\min}$ ,  $\Delta t_{\max}$ ).

Le point central ( $E_c$ ,  $n_c$  et  $\Delta t_c$ ) étant calculé comme suit :

$$E_c = (E_{\min} + E_{\max}) / 2 = \frac{1,5+2,5}{2} = 2 \text{ kV/cm} \quad (4-5)$$

$$n_c = (n_{\min} + n_{\max}) / 2 = \frac{100+300}{2} = 200 \quad (4-6)$$

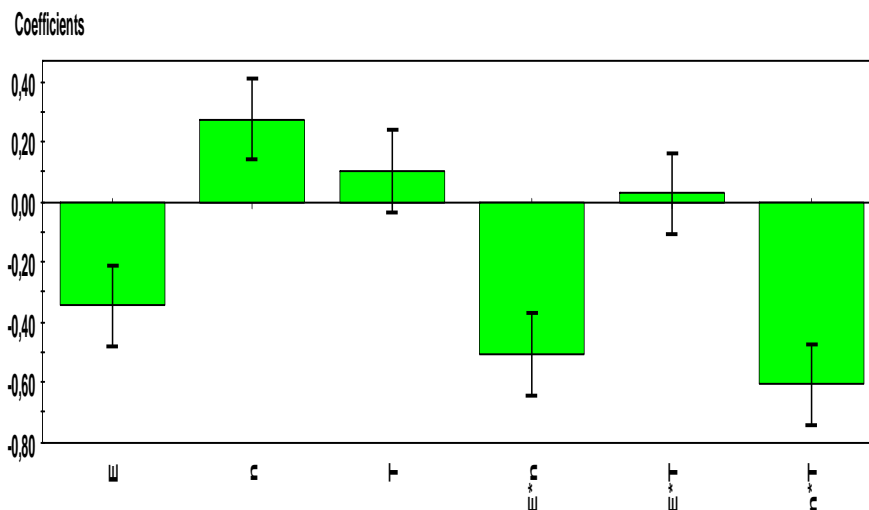
$$\Delta t_c = (\Delta t_{\min} + \Delta t_{\max}) / 2 = \frac{30+90}{2} = 60 \text{ min} \quad (4-7)$$

Les résultats des expériences de la conception expérimentale sont donnés dans le tableau 4-1.

**Tableau 4-1:** Résultats du plan d'expériences factoriel pour le *Marrubium*

Exp. N°	E(kV/cm)	n	Δt (min)	Y (%)	W(J)
1	1,5	100	30	1,00	1,4
2	2,5	100	30	1,35	3,9
3	1,5	300	30	3,87	4,2
4	2,5	300	30	2,02	11,7
5	1,5	100	90	2,45	1,4
6	2,5	100	90	2,75	3,9
7	1,5	300	90	2,72	4,2
8	2,5	300	90	1,15	11,7
9	2,0	200	60	2,27	5,0
10	2,0	200	60	2,01	5,0
11	2,0	200	60	1,98	5,0

Les modèles mathématiques du Rendement Y(%) et de l'énergie W (J) ont été obtenus avec MODDE 5.0 et tracés comme indiqué sur la figure 4.14. Puisque les critères statistiques  $R^2$  et  $Q^2$  étaient proches de l'unité,  $R^2 = 0,989$  et  $Q^2 = 0,889$  pour la réponse Y et  $R^2 = 0,998$  et  $Q^2 = 0,981$  pour W, les deux modèles ont été validés et ont été utilisés pour l'analyse de prédiction et d'optimisation.



**Fig.4.14** : Les coefficients tracés des effets et des interactions du rendement d'extraction Y

Comme il est montré sur la figure 4.14, à l'opposé de la durée du temps de distillation dont l'effet n'est pas significatif dans les limites de variation du domaine, les effets du champ électrique et du nombre d'impulsions sont plus significatifs sur le taux d'extraction.

Ainsi, on peut conclure qu'il est recommandé d'opter pour la plus faible durée  $\Delta t$  pour minimiser le temps de traitement. D'autre part, une attention particulière est accordée à l'interaction du nombre d'impulsions avec les autres facteurs ; l'interaction de  $n$  avec  $E$  et  $\Delta t$  est très significative et a tendance à faire diminuer le rendement. Par conséquent, en augmentant simultanément  $n$  et  $E$  (ou  $n$  et  $\Delta t$ ), l'énergie du processus augmente beaucoup plus provoquant la diminution de l'efficacité d'extraction.

Puisque les valeurs des effets de  $E$  et  $n$  sont respectivement négatives et positives, l'optimum du processus devrait être obtenu avec les valeurs minimale et maximale de  $E$  et  $n$  respectivement. Le logiciel permet d'autre part l'identification des valeurs optimales des facteurs qui devraient donner les valeurs les plus élevées du rendement d'extraction pour la plus petite consommation d'énergie.

Il dispose d'une routine d'optimisation capable de traiter simultanément plusieurs réponses, affectées par des coefficients de pondération différents, en maximisant le rendement d'extraction et en minimisant l'énergie.

Selon ce modèle, l'optimum du procédé (maximisation du rendement d'extraction et minimisation de l'énergie) doit être obtenu pour  $E = 1,5$  kV / cm,  $n = 292$  et  $\Delta t = 30$  min correspondant à  $Y = 3,7\%$  et  $W = 4,0$  J (Figure 4.15). "Iter" est le nombre d'itérations et "log (D)" est le Log de la distance globale à la cible ; la valeur de Log (D) est égale à zéro lorsque

toutes les réponses sont entre Target et Limit. Plus petite est la valeur Log (D), meilleur est le résultat. Le log (D) devient négatif lorsque les valeurs de toutes les réponses sont encore plus proches de la cible (Modde.05, 1999).

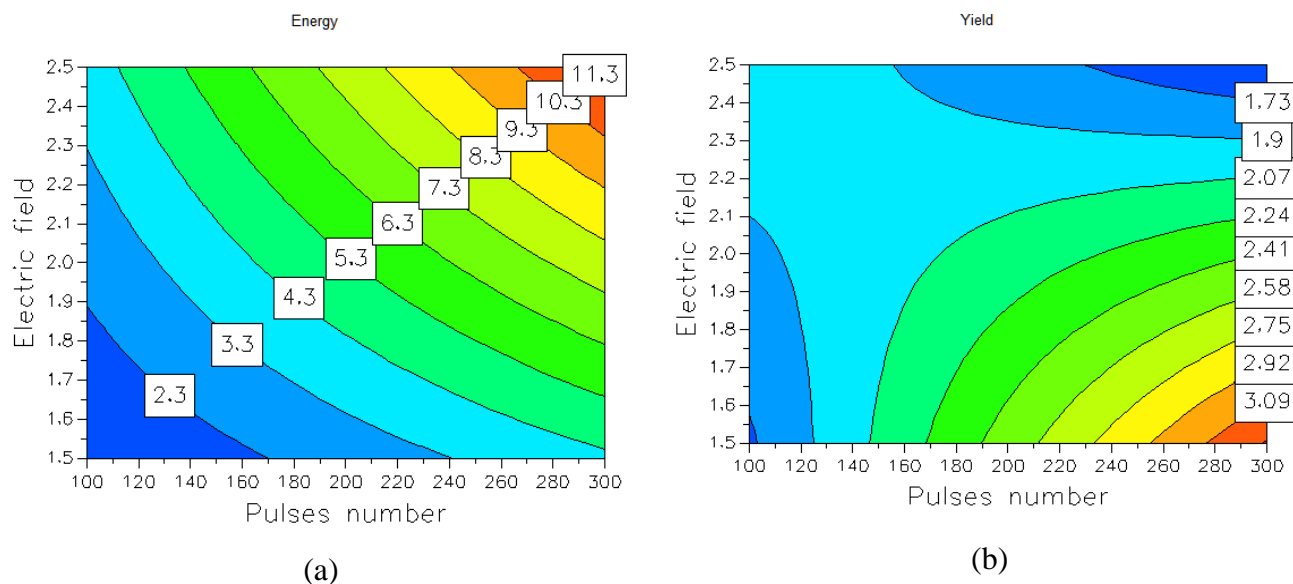
Response	Criteria	Weight	Min	Target	Max
Yield	Maximize	1	3,66835	3,9471	
Energy	Minimize	1		0,803182	1,83318

Iteration:	5001	Iteration slider:					
	1	2	3	4	5	6	7
	Electric field	Pulses number	Duration	Yield	Energy	iter	log(D)
1	1,6643	100	90	2,4506	1,729	4480	1,1707
2	1,6625	100	89,9999	2,4499	1,7245	5001	1,171
3	1,6626	100,001	90	2,4499	1,7247	5000	1,171
4	1,5	292,277	30,0005	3,7001	4,0101	3246	0,7193
5	1,5	128,404	90	2,4378	1,7159	5001	1,1776
6	1,5	128,447	90	2,4379	1,7164	4867	1,1775
7	1,6643	100	90	2,4506	1,729	4480	1,1707
8	1,5	292,277	30,0005	3,7001	4,0101	3246	0,7193

**Fig.4.15:** Résultats d'optimisation proposés par MODDE 5.0 pour la maximisation du rendement d'extraction et la minimisation de l'énergie

La figure 4.15 montre les contours d'iso-réponse obtenus avec le présent modèle. La réponse peut être représentée graphiquement comme des courbes de niveau qui aident à visualiser la forme de la surface de réponse. Les contours sont des courbes de réponse constante tracées en fonction de la variation de deux facteurs tout en gardant l'autre variable fixe. Chaque contour correspond à une hauteur particulière de la surface de réponse, comme le montre la figure 4.16. Bien que E et n soient tous deux significatifs sur le rendement Y et l'énergie W, l'effet du nombre d'impulsions est plus significatif.



**Fig.4.16 :** Tracés des contours iso-réponse du Rendement (a) et de l'énergie W (b)

#### 4.12. Effet du CEP sur la composition chimique de l'HE du *Marrubium*

Les résultats de l'analyse physicochimique obtenue avec des échantillons d'huiles essentielles témoins et traités par le CEP sont résumés dans le tableau (4-2). Parmi les 38 substances détectées par l'analyse, à l'exception du camphre, de l'*α-thuyone*, du *cubénène* et de l'*oxalamidrazone*, toutes les autres substances ont été retrouvées dans l'échantillon traité.

De plus, 7 substances absentes de l'échantillon témoin ont été retrouvées après le traitement (dernières lignes du tableau) ; la plupart de ces substances ont été trouvées dans la composition de l'huile essentielle analysée par d'autres auteurs [100 -104].

De plus, à l'exception de *camphor*, toutes les substances majoritaires dépassant 1% ont augmenté après le traitement, en particulier le *carvacrol*, le *γ-terpinène* et le *p-cymène* qui augmentaient avec un taux de variation compris entre 258 % et 658 %.

La variation chimique des huiles essentielles issus de différents endroits ou croissant dans le même habitat a été attribuée à la différence des facteurs environnementaux et génétiques. En outre, les facteurs écologiques, les caractéristiques climatiques, en particulier la lumière et la température, influent également sur la production des huiles essentielles ainsi que d'autres agents actifs dans les plantes [105 -107]. En Egypte, les principaux composés étaient le *carvacrol*, le *β-phellandrène* et l'*acétate de carvyle* [100], tandis qu'en Pologne, ils étaient *E-caryophyllène*, *germacrène D*, *bicyclogermacrène*, *δ-amorphène* et *carvacrol* [105].

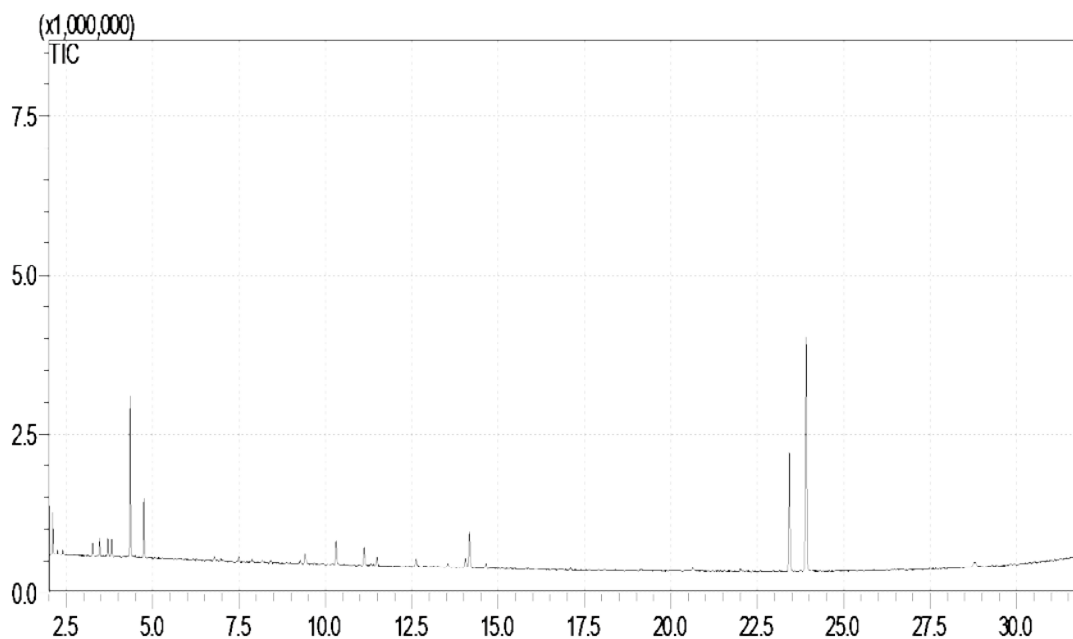
**Tableau (4-2) :** Composition en l'HE du *Marrubium* avant et après traitement par CEP [108]

Composé	Sans CEP	Avec CEP	Taux de variation
	%	%	%
<i>α</i> -Pinene	1,03	2,30	123,30 %
Toluene	0,49	0,49	0 %
Camphene	0,48	0,50	4,16 %
2-Isononenal	0,53	0,27	- 49,05 %
<i>β</i> -Pinene	0,42	0,66	57,14 %
7-Oxabicyclo[4.2.1]nona-2,4-dien-8-one	0,58	0,26	- 55,17 %
<i>β</i> -Myrcene	0,90	1,33	47,78 %
<i>α</i> -Terpinene	1,09	1,34	22,93 %
Terpinolen	0,92	1,30	41,30 %
Cineole	1,22	1,42	16,39 %
Nickel carbonyl	0,50	0,21	58 %
Hexenal	-	0,69	-
<i>β</i> -Ocimene	-	0,58	-
Octan-3-one	-	0,59	-
Isovaleraldehyde propylene glycol acetal	0,83	0,10	- 87,95 %
<i>γ</i> -Terpinene	<b>2,10</b>	<b>7,52</b>	<b>258,1 %</b>
<i>p</i> -Cymène	<b>1,59</b>	<b>12,06</b>	<b>658,49 %</b>
Glycine-D3	0,61	0,23	- 62,30 %
7-Hydroxynorlumiflavine	0,54	0,18	- 66,67 %
Diethyl Ketone	0,78	0,31	- 60,26 %
<i>γ</i> -Hexenol	0,61	0,86	40,98 %
Amyl ethyl carbinol	0,61	0,64	4,92 %
Oxalamidrazone	0,55	0,00	- 100 %
<i>α</i> -Thujone	0,84	-	-
Vinyl amyl carbinol	0,59	0,79	33,90 %
Sabinene hydrate isomer	-	0,89	-
<i>β</i> -Bourbonene	-	0,52	-
Cubenene	0,66	-	-
Camphor	1,01	-	-
<i>β</i> -Linalool	0,98	1,23	25,51 %
<i>β</i> -Caryophellene	0,82	1,65	101,22 %
Isothymol methyl ether	0,56	1,14	103,57 %
<i>β</i> -Sesquiphellanderene	0,52	1,20	130,77 %
Borneol	-	0,80	-
<i>β</i> -Bisabolene	0,55	0,82	49,1 %
Carvol	0,77	2,80	263,64 %
<i>β</i> -Aromadendrene	-	0,82	-
Carvacrol	<b>2,27</b>	<b>11,17</b>	<b>392,07 %</b>

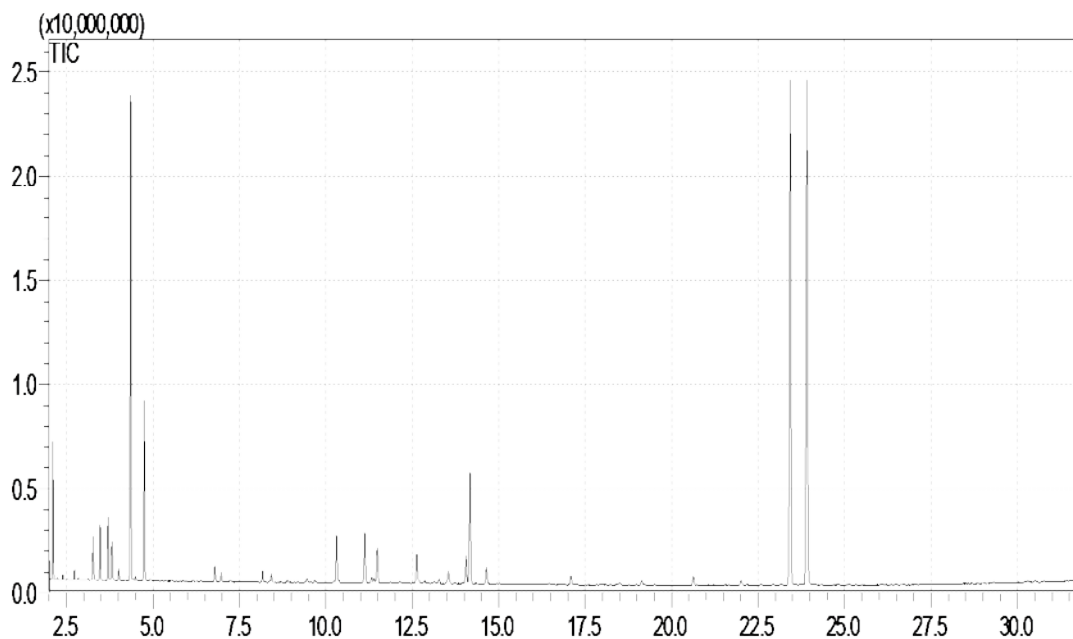
L'absence d'un composé est indiquée par « - »

De plus, les résultats reportés dans le tableau 4-2 sont en outre confirmés par les chromatogrammes obtenus représentés sur les figures 4.17 et 4.18, montrant une amélioration significative obtenue après le traitement par CEP.

Les résultats obtenus sont représentés par les chromatogrammes suivants :



**Fig.4.17** : Profil chromatographique de l'HE du *Marrubium* analysée par CG/SM (sans CEP)



**Fig.4.18** : Profil chromatographique de l' HE du *Marrubium* analysée par CG/SM (avec CEP)

L'influence du CEP sur les composants majoritaires de l'huile essentielle du *Marrubium vulgare* a été présenté sur la figure 4.19 :

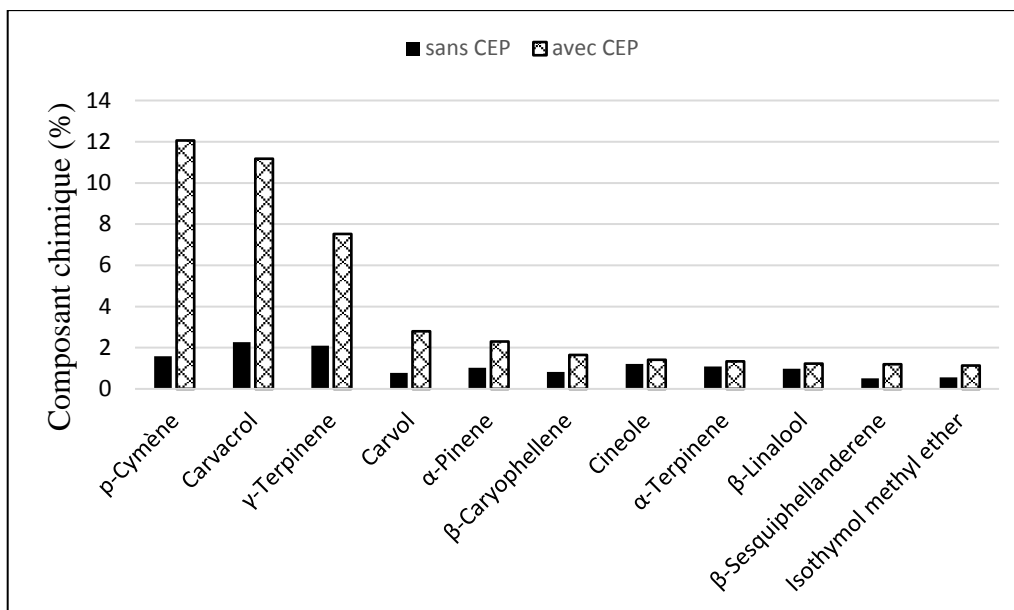


Fig.4.19: l'effet du CEP sur la composition chimique de l'HE du *Marrubium vulgare*

### 4.13. Conclusion

Nous avons montré dans ce chapitre que le traitement par CEP de la plante de *Marrubium* améliore significativement le taux d'extraction de l'huile essentielle.

De la recherche qui a été entreprise, il est possible de conclure que :

- La plante de *Marrubium* est sensible au prétraitement par CEP.
- Le CEP provoque en effet l'électroporation des membranes cellulaires comme le montre la variation de la conductivité électrique.
- Le processus d'extraction est significativement amélioré après traitement par CEP, la masse d'huile obtenue avec le traitement augmente jusqu'à trois fois.
- Un point optimal du processus de traitement par CEP a été identifié en utilisant la méthodologie des plans d'expériences.
- Selon l'analyse physico-chimique, presque toutes les substances ont été retrouvées et augmentées après traitement.



**EFFET COMBINE DU CEP ASSOCIE AUX MICRO-  
ONDES POUR L'EXTRACTION DE L'HUILE  
ESSENTIELLE D'ARTEMISIA HERBA ALBA**

## 5.1. Introduction

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées, avec plus de 350 espèces différentes qui se trouvent principalement dans les zones arides et semi arides d'Europe, d'Amérique, d'Afrique du Nord et d'Asie [109]. L'*Artemisia herba alba* (*Armoise blanche*) présente une vaste répartition géographique couvrant, en Algérie, environ 4 millions d'hectares et se développe dans les steppes argileuses et les sols tassés relativement peu perméables [110]. Les plantes de la famille des Astéracées, auquel appartient l'*Artemisia herba alba*, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs huiles essentielles [111].

L'*Artemisia herba alba* est très utilisé en médecine traditionnelle lors d'un désordre gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal [112].

Plusieurs études scientifiques ont également prouvé l'efficacité de l'*Artemisia herba alba* en tant qu'agent antidiabétique [113], antiparasitaire, antiviral, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique [114].

L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* nettement riche en composés non phénoliques est très intéressante d'un point de vue pharmaceutique en raison de leurs propriétés antimicrobiennes [115 ;116]. Plusieurs extraits et huiles essentielles montraient un certain nombre d'activités biologiques telles que : anti hyper glycémique [117], antimicrobien [118], antioxydant [119 ;120] et anti-inflammatoire [121]. Des espèces d'*Artemisia* sont fréquemment utilisées pour le traitement des maladies telles que la malaria, l'hépatite, le cancer, les inflammations et les infections [122 ; 123].

Le phénomène, connu sous le nom d'électroporation, est mis à profit depuis longtemps pour faire pénétrer des brins d'ADN dans une cellule ou pour faciliter la fusion de deux cellules. L'électroporation peut aussi faciliter l'extraction de constituants intracellulaires [20].

Les différents objectifs de ce chapitre consistent à améliorer la quantité et la qualité des huiles extraites tout en diminuant les durées d'extraction, en simplifiant aussi les protocoles opératoires et en élaborant une technique d'extraction d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* applicable aussi à tout type de végétaux. Par conséquent, un système de traitement par CEP et de distillation assistée par micro-ondes a été conçu et mise au point et comparé à la méthode d'hydrodistillation conventionnelle.

## 5.2. Présentation botanique de la plante étudiée

Les échantillons de la partie aérienne (feuilles+ tiges) d'*Artemisia herba alba* ont été collectés en juin (2017) à Mascara. L'*Armoise blanche* « *Artemisia herba alba* » (Figure 5.1), (Appellation locales Arabe : *Chih* ; Tamazight : *Ifsi*), est une plante herbacée à tiges ligneuses, ramifiées et tomenteuses de 30 à 50 cm de long. Les feuilles sont courtes, sessiles, pubescentes et argentées. Les capitules sont groupés en panicules de petite taille de 1,5 à 3 mm allongés et étroits contenant de 3 à 6 des fleurs jaunâtres. Les bractées externes de l'involucre sont orbiculaires et pubescentes [124]. La composition et le rendement d'une HE varient selon la partie de la plante à partir de laquelle est extraite [80].



Fig. 5.1 : Photo d'*Artemisia herba alba*

## 5.3. Protocole d'extraction de l'HE par hydrodistillation conventionnelle

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger [125], d'une capacité de 30 g de matière végétale sèche portée à ébullition durant 30 et 60 minutes. La matière végétale est mélangée avec 200 ml d'eau dans un ballon de 2 litres surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur et reliée à un réfrigérant (Figure 5.2).

Le rendement en huile essentielle a été déterminé par rapport à la matière sèche, puis stockée à 4 °C dans l'obscurité. Les avantages du procédé d'extraction par hydrodistillation sont : rendement en huile essentielle très élevé, essence de bonne qualité et très concentrée et contact direct entre matière végétale-eau [126].

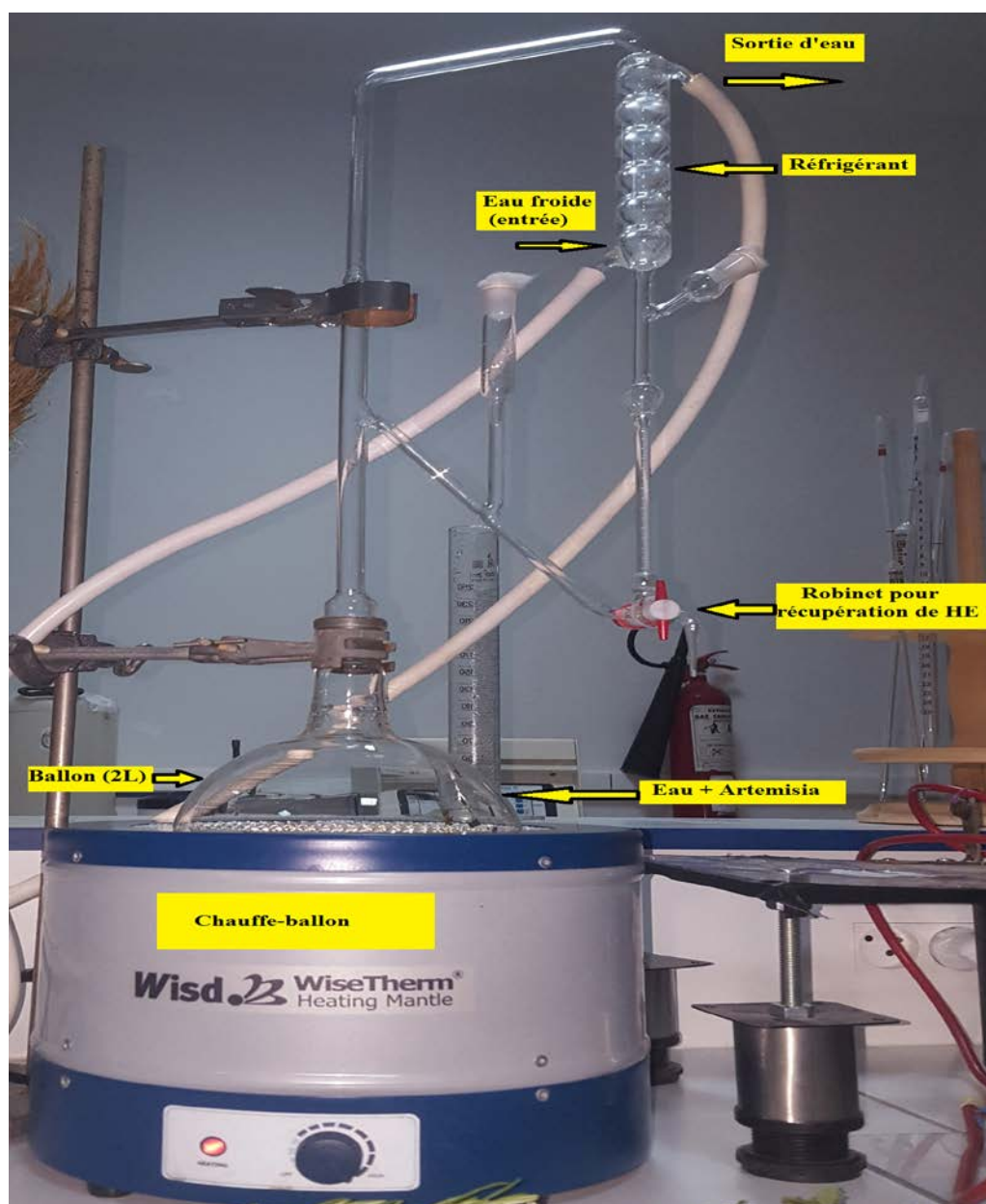
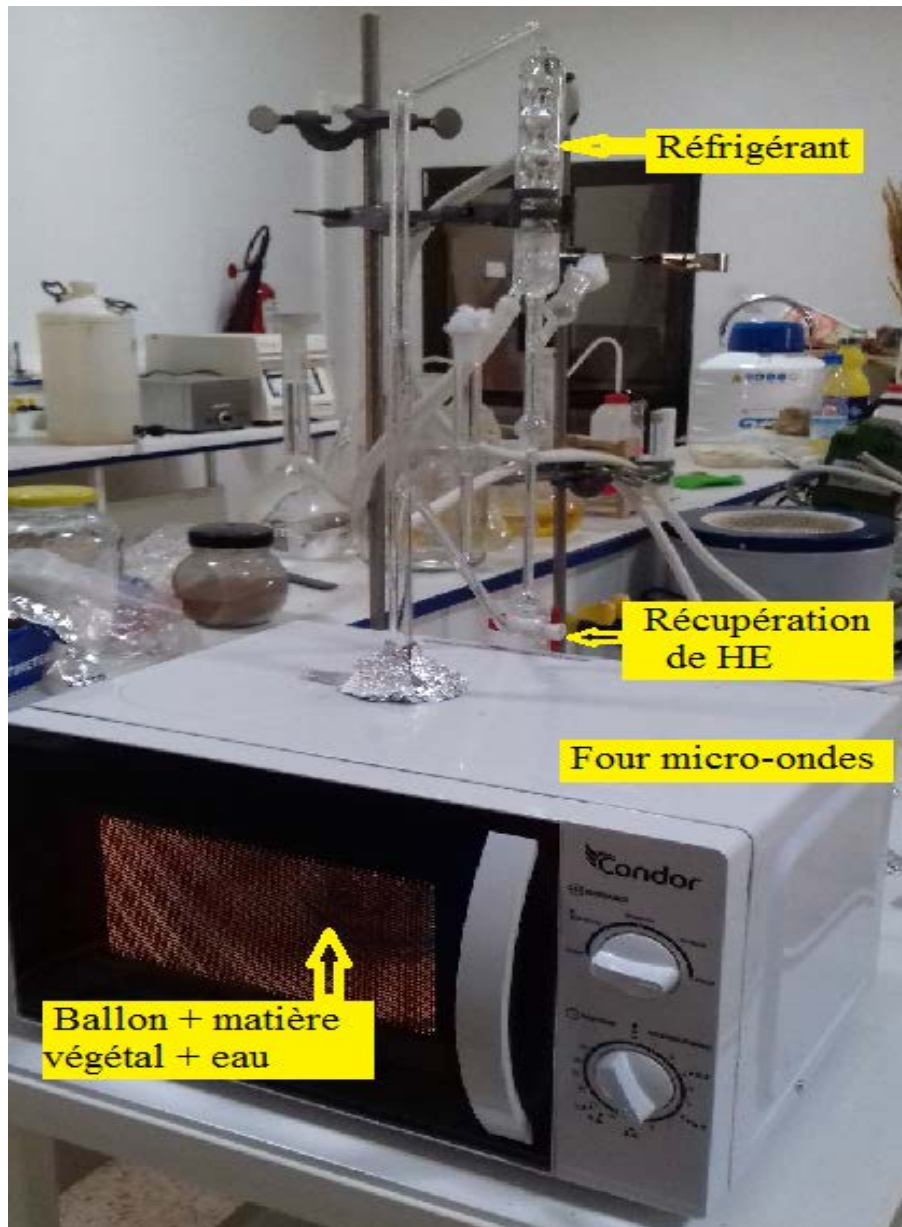


Fig 5.2: Appareil type Clevenger

#### 5.4. Protocole d'extraction de l'HE par micro-ondes

Ce procédé basé entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique consiste à placer une partie du montage d'hydrodistillation, contenant la matière végétale, dans le four à micro-ondes (Figure 5.3). La matière d'*Artemisia* sèche d'une masse de 30g est mélangée avec 180ml d'eau et introduite dans un ballon de 1 litre, l'ensemble étant placé ensuite à l'intérieur du four à micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération de l'huile essentielle sont situés à l'extérieur du four.

Les avantages cités sont la rapidité et l'affinité de la composition de l'huile par rapport à une hydrodistillation classique.



**Fig 5.3 :** Hydrodistillation type « Clevenger » assistée par micro-ondes

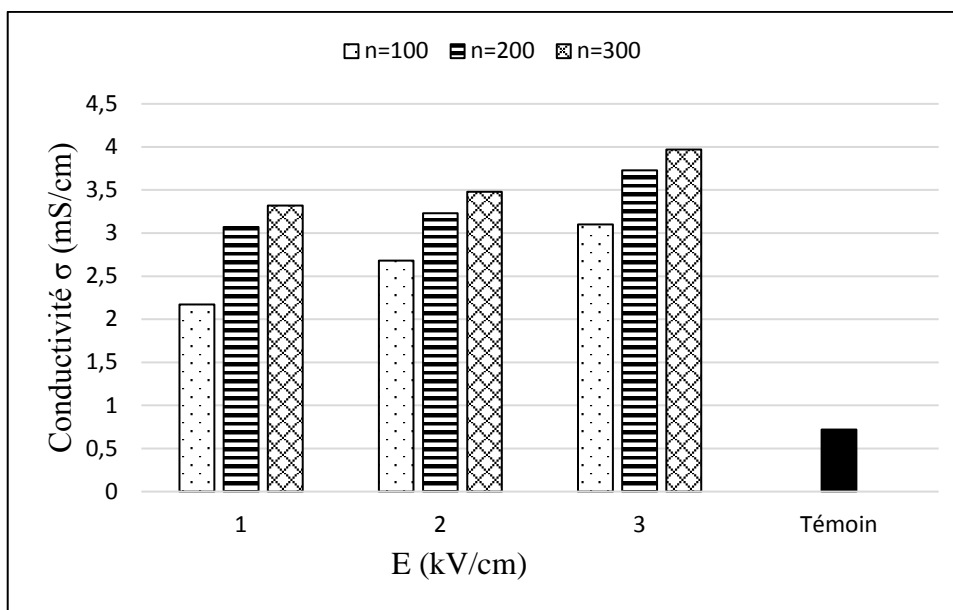
Le protocole et le montage de traitement par champ électrique pulsé ont été décrits dans le paragraphe 5 du chapitre 4 (pages : 85 ; 86).

L'extraction par hydrodistillation en utilisant le Clevenger a pour but d'éviter l'utilisation de solvant organique pour une récupération d'une huile essentielle pure. La quantité de l'*Artemisia* a été déterminée de manière à obtenir une quantité d'huile facile à séparer par une simple décantation. Nous avons appliqué aussi la puissance maximale du four micro-ondes fourni par le constructeur, pour toutes les expériences.

## 5.5. Résultats et discussion

### 5.5.1. Effet du CEP sur la conductivité électrique $\sigma$ (mS/cm)

Les résultats obtenus représentés sur la figure 5.4, représentant la variation de la conductivité  $\sigma$  d'*Artemisia* en fonction du champ électrique E et du nombre d'impulsions n, montrent qu'il existe effectivement une électroporation (également appelée électroperméabilisation) dans le tissu végétal. L'augmentation de la conductivité électrique avec l'intensité du CEP a été observée dans cette étude.



**Fig. 5.4 :** Effet du traitement par CEP sur la conductivité électrique d'*Artemisia*

Une fois que la membrane cellulaire est électroporée, la conductivité de la solution est augmentée en raison du transfert de masse du milieu intracellulaire au milieu extracellulaire; le taux d'augmentation est plus élevé pour les valeurs supérieures de E et n en raison de l'énergie pulsée élevée injectée dans l'échantillon.

L'application d'impulsions de champ électrique de haute intensité au tissu biologique induit des changements structurels dans la membrane cellulaire par la création de pores. La perméabilité de la membrane cellulaire provoquée par l'électroporation rend possible le mouvement des ions à travers la membrane. De plus, une augmentation prononcée de la conductivité est provoquée par l'augmentation de l'énergie fournie à la cellule suite à la croissance du champ électrique E et du nombre d'impulsions n.

Il paraît que le CEP peut également être lié à l'électrolyse entre les électrodes et la surface de tissu qui peut provoquer des quantités différentes de composés ioniques qui auraient comme conséquence une augmentation de la conductivité.

### 5.5.2. Effet du CEP sur le rendement de l'HE d'*Artemisia*

Des échantillons humides d'*Artemisia* de masse  $m = 30$  g ont été placés dans la chambre de traitement et traités pour différentes valeurs du champ électrique  $E$  (1 ; 2 ; 3 kV/cm) et nombre d'impulsions  $n$  (100 ; 200 ; 300). Ce travail expérimental a été réalisé pour deux valeurs différentes de la durée du processus de distillation  $\Delta t$  (30 min et 60 min). Les résultats du rendement d'extraction obtenus pour *Artemisia* sont tracés à la figure 5.5. Ils montrent que pour la même durée de distillation, une amélioration significative du rendement d'extraction a été observée par rapport à l'échantillon non traité.

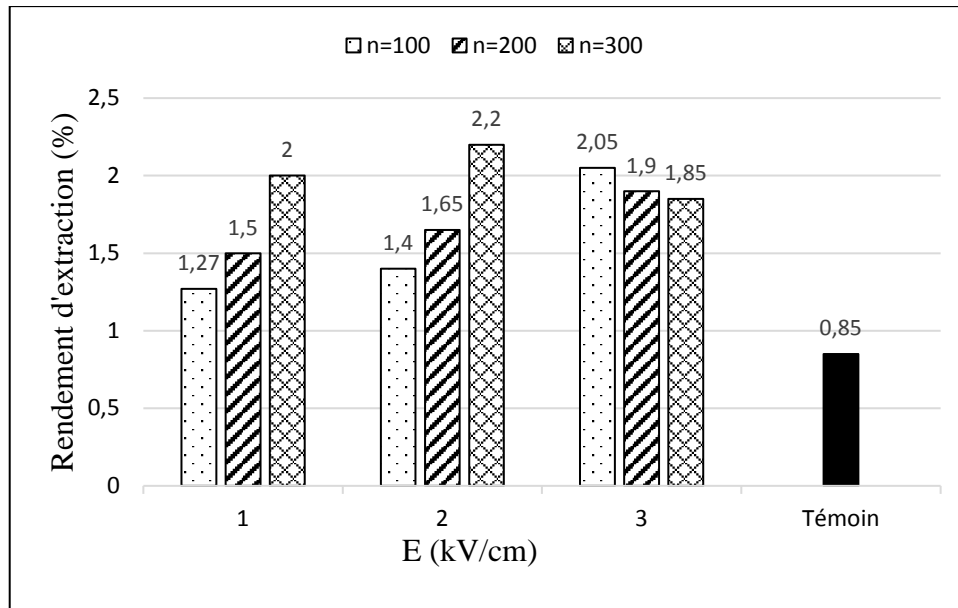
Le taux d'augmentation du rendement de distillation d'huile est de 158% (il passe de 0,85% sans CEP à 2,2% après traitement avec un champ électrique de 2 kV/cm, 300 impulsions et une durée de distillation de 30 minutes (Figure 5.5 a). Ceci suggère que le CEP devrait être la cause de l'amélioration de l'efficacité du processus d'extraction.

Dans ces conditions, le rendement d'extraction s'est amélioré de 49 % à 135 % quand la matière végétale d'*Artemisia* a été traitée avec un champ de 1 kV/cm et un nombre d'impulsions de 100 à 300 respectivement, pour la même durée de distillation de 30 minutes.

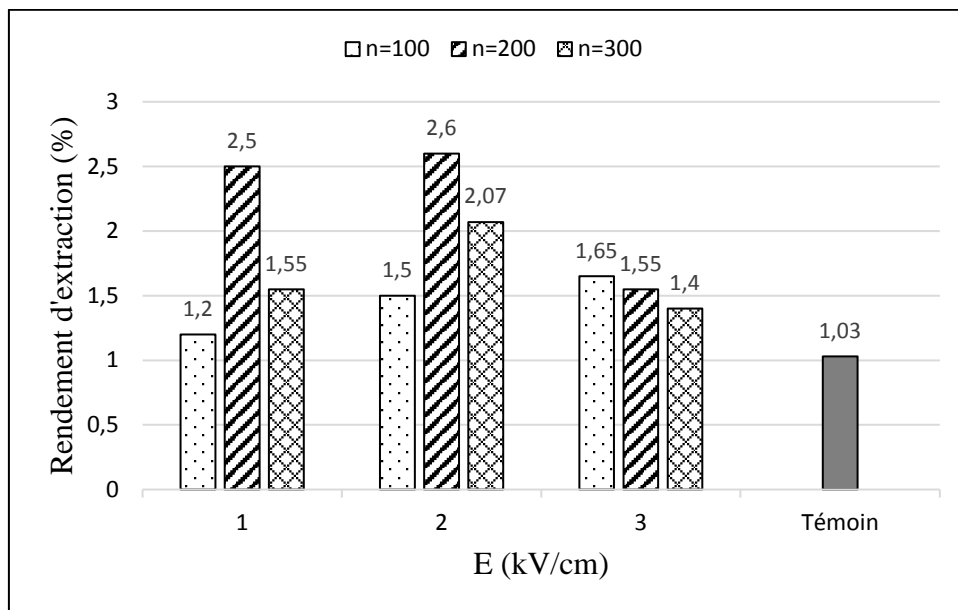
Cependant, le rendement d'extraction obtenu avec un champ de 3 kV/cm et un nombre d'impulsions égal à 100 était autour du 2,05 % avec une augmentation de 141% par rapport à la valeur obtenue sans traitement pendant 30 minutes de distillation.

Par conséquent, l'application d'un traitement par CEP de 3 kV/cm a permis une augmentation de 117 % du rendement d'extraction lorsque le nombre d'impulsions est de 100, mais une réduction de 9 % du rendement d'extraction a été signalé lorsque le nombre d'impulsions passe à 300 pour la même durée de distillation de 30 minutes. Le rendement maximal de 2,2% atteint avec 300 impulsions à un champ de 2 kV/cm et une durée de distillation de 30 minutes, cause une augmentation de 158% par rapport à la référence. D'un autre côté, un rendement maximal égal à 2,6 % pour une durée d'extraction de 01 heure a pu être atteint avec 200 impulsions ; 2 kV/cm, correspondant à une élévation de 152,42% par rapport à la référence.

Le taux d'extraction croit avec l'augmentation de l'intensité du CEP de 1 à 2 kV/cm et du nombre d'impulsions de 100 à 300, puis ralentit avec l'application de CEP de 3 kV/cm jusqu'à la fin du processus d'extraction.



a) Durée de distillation ( $\Delta t = 30$  min)



b) Durée de distillation ( $\Delta t = 60$  min)

**Fig. 5.5 :** Effet du traitement par CEP sur l'efficacité d'extraction de l'HE d'*Artemisia* pour différentes valeurs du champ électrique et du nombre d'impulsions : (a)  $\Delta t = 30$  min ; (b)  $\Delta t = 60$  min

En outre, nous remarquons que le traitement par CEP accélère le processus de distillation qui est une caractéristique importante dans le cas d'extraction à l'échelle industrielle. Selon les résultats représentés sur la figure 5.5, une période de distillation  $\Delta t = 30$  min est suffisante pour provoquer même plus d'extraction que  $\Delta t = 60$  min.

Le taux maximal d'augmentation de l'extraction pour *Artemisia* est estimé par :

$$\Delta_e = (Y_{\max} - Y_0) / Y_0 \quad (5-1)$$



Où :  $Y_{\max}$ : rendement d'extraction maximal de l'échantillon traité et  $Y_0$ : rendement d'extraction de l'échantillon non traité.

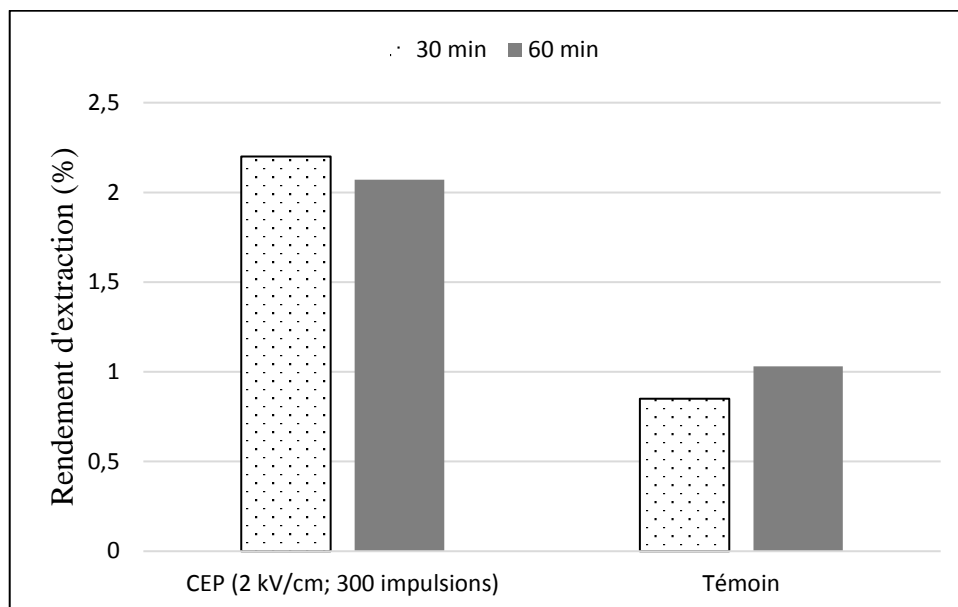
Pour  $\Delta t = 30$  min ( $E = 2$  kV/cm) :  $\Delta e = ((2.2 - 0.85) / 0.85) * 100 = 158.82\%$

Pour  $\Delta t = 60$  min ( $E = 2$  kV/cm) :  $\Delta e = ((2.6 - 1.03) / 1.03) * 100 = 152.42\%$

De plus, nous remarquons que le rendement d'extraction augmente avec le champ électrique pendant une durée de distillation de 30 min et vice versa pendant 60 min. La différence de potentiel entre l'intérieur et l'extérieur de la membrane cellulaire est devenue plus grande avec une force électrostatique plus élevée, entraînant la désintégration des organites et des structures cellulaires [87], et donc la libération de substances volatiles.

Mais l'intensité du champ électrique trop élevée induira une influence négative ; une tendance similaire a déjà été rapportée [93].

Lorsqu'un champ électrique intense est appliqué à l'échantillon ( $E = 2$  kV/cm), la membrane cellulaire est complètement perméabilisée et par conséquent, la presque totalité de la matière intracellulaire est extraite après seulement 30 min de distillation. Ainsi, pour une durée de procédé de distillation plus longue, le surplus d'énergie provoquera la diminution du rendement d'extraction. Ceci est encore confirmé par les résultats représentés sur la figure 5.6 représentant l'évolution du rendement d'extraction en fonction du temps de distillation pour ( $E = 2$  kV/cm et  $n = 300$ ). Le prétraitement CEP optimal pour  $\Delta t = 30$  min accélère significativement le processus d'extraction ; plus d'huile a été extraite avec l'échantillon traité par CEP après 30 min en comparaison avec l'échantillon non traité après 60 min [127].



**Fig. 5.6 :** Variation du rendement d'extraction en fonction de la durée du processus de distillation ( $E = 2$  kV/cm ;  $n = 300$ )

### 5.5.3. Effet du traitement par micro-ondes sur le rendement d'extraction

L'extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia* par hydrodistillation assistée par micro-ondes présente de nombreux avantages par rapport à la méthode conventionnelle généralement longue et laborieuse. La rapidité d'exécution, la simplicité de mise en œuvre sont les principaux atouts de l'extraction assistée par micro-ondes. Elle se déroule généralement en 5 à 10 minutes alors que l'hydrodistillation classique nécessite au minimum 30 à 60 minutes.

Compte tenu de ces durées longues, on remarque que le rendement d'extraction durant 15 minutes seulement par hydrodistillation assistée par micro-ondes a permis une augmentation de 69,41% par rapport à une distillation classique d'une durée de 30 minutes et 39,80 % par rapport à une distillation de 60 minutes (Figure 5.7).

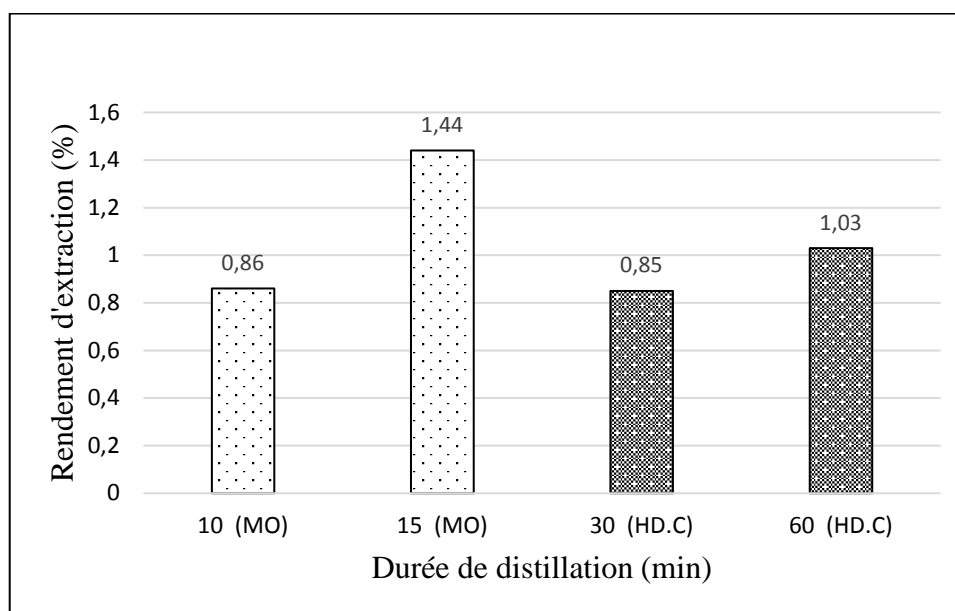


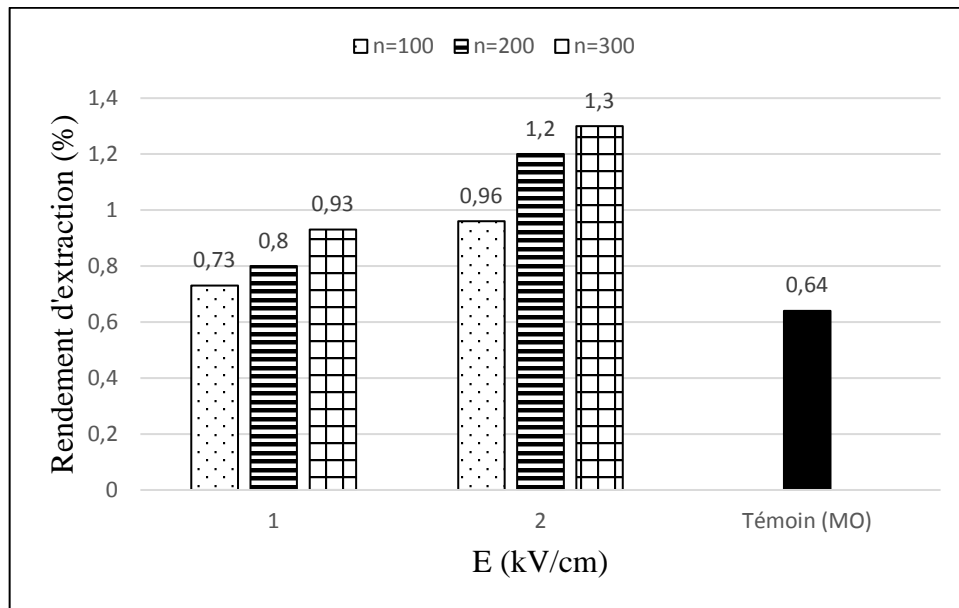
Fig. 5.7 : Variation du rendement d'extraction par hydrodistillation micro-ondes

### 5.5.4. Effet combiné du CEP associé aux micro-ondes

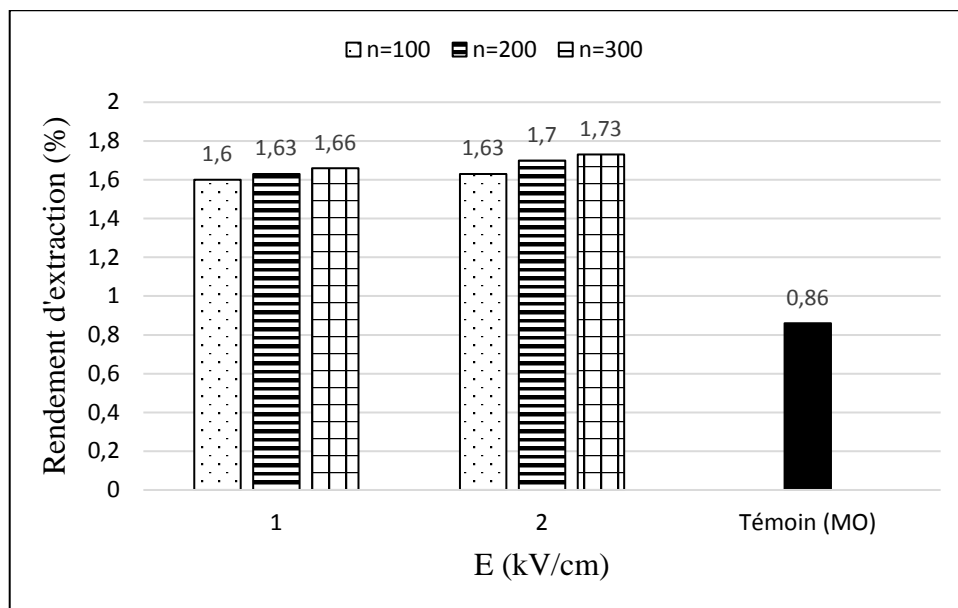
Lors de cette étude, un suivi cinétique a été réalisé sur l'extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia* par hydrodistillation assistée par micro-ondes après traitement par CEP. La figure 5.8 présente l'évolution du rendement d'extraction de l'huile essentielle avec les paramètres suivants :

- Intensité du champ E : 1kV/cm et 2 kV/cm,
- Nombre d'impulsions : n= 100, 200 et 300,
- Durée de distillation assistée par micro-ondes : 05 et 10 minutes

Le taux d'extraction a augmenté jusqu'à atteindre le maximum de 103,12 % par rapport à la référence après 05 minutes de distillation par micro-ondes pour la valeur du CEP de 2 kV/cm et un nombre d'impulsions égal à 300 (Figure 5.8 a).



a) Durée de distillation par MO ( $\Delta t = 05$  min)



b) Durée de distillation par MO ( $\Delta t = 10$  min)

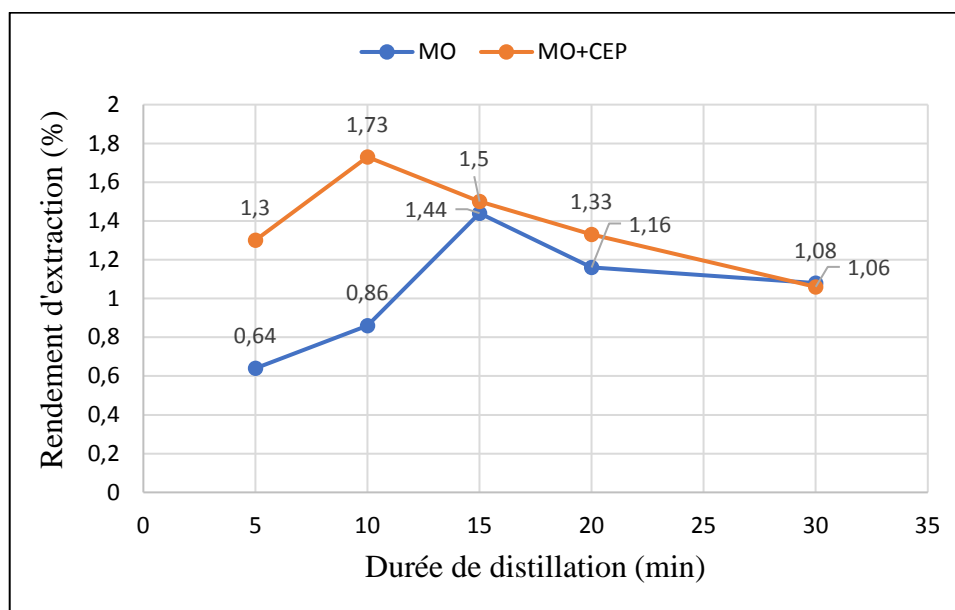
**Fig. 5.8 :** Effet du traitement par CEP + HD micro-ondes sur l'efficacité d'extraction de l'HE d'*Artemisia* pour différentes valeurs du champ électrique et des nombres d'impulsions :  
(a)  $\Delta t = 5$  min ; (b)  $\Delta t = 10$  min

En effet d'un point quantitatif, l'extraction assistée par micro-ondes après un traitement par CEP est nettement plus performante que l'hydrodistillation assistée par micro-ondes sans traitement par CEP. En 10 minutes par exemple, il est possible d'intensifier le

rendement d'extraction de 101,16 % lorsque le champ appliqué est de 2 kV/cm et le nombre d'impulsions égale 300.

De façon générale, quelle que soit la durée d'extraction par micro-ondes, c'est en utilisant uniquement le champ électrique pulsé que les rendements sont les plus élevés (Figure 5.9).

Les paramètres de CEP ont été fixés au point optimum soit 2 kV/cm et nombre d'impulsions égale à 300.



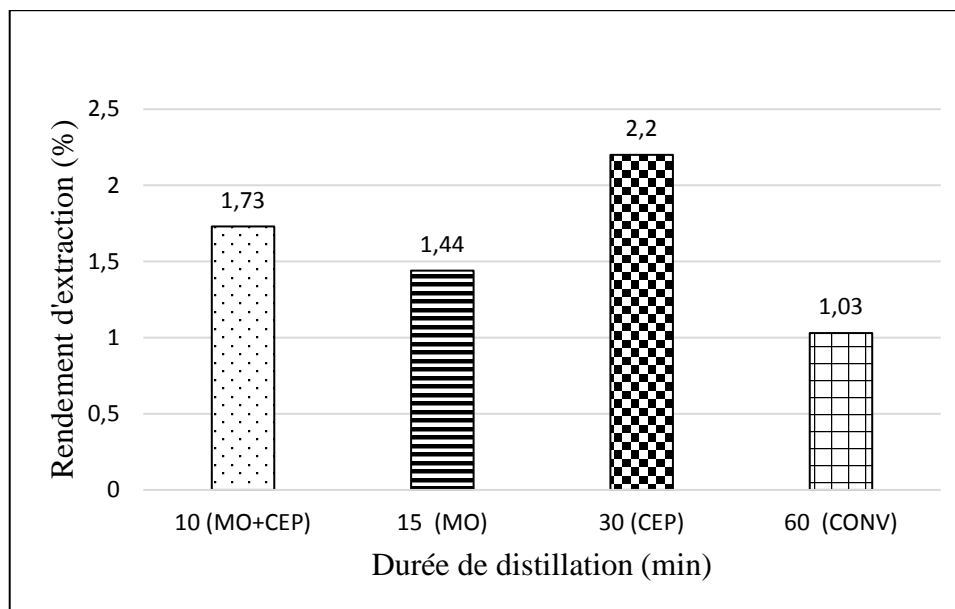
**Fig. 5.9 :** Cinétique d'extraction de l'HE d'*Artemisia* par CEP (2 kV/cm ; n= 300) + MO

Nous avons observé des différences significatives entre les cinétiques d'extraction CEP+MO et MO. Le rendement maximal a été obtenu en 10 minutes seulement. Par conséquent, le temps d'extraction de 15 minutes est le temps optimal d'extraction par micro-ondes sans traitement par CEP.

Bien que la durée d'extraction ait augmenté, nous n'avons pas remarqué un changement significatif de la quantité d'huile extraite. Le taux d'extraction a diminué à mesure que la durée de l'extraction augmentait en raison de la température élevée provoquée par le micro-ondes.

Quand la matière végétale d'*Artemisia* est traitée par un CEP de 2 kV/cm et un nombre d'impulsions de 300 et pour une hydrodistillation assistée par micro-ondes de 10 minutes, le rendement d'extraction a été amélioré de 20,13 % par rapport à une hydrodistillation de 15 minutes par micro-ondes sans traitement par CEP et de 67,96 % par rapport à 01 heure d'hydrodistillation conventionnelle.

Par conséquent, le traitement par CEP avec hydrodistillation classique de 30 minutes semble être plus efficace en termes d'extraction de l'huile essentielle avec un taux de 27,16% que l'application d'un traitement de CEP combiné à hydrodistillation assistée par micro-ondes. La figure 5.10 présente des résultats expérimentaux obtenus au point optimal pour le rendement d'extraction à différentes durées d'extraction en utilisant les 04 méthodes.



**Fig.5.10 :** Rendement de l'HE d'*Artemisia* par 04 différentes méthodes

### 5.5.5. Analyse physico-chimique des HEs d'*Artemisia* par GC-MS

Les analyses par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) (Figure 4.8 ;page 87 ;chapitre 4) des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* ont révélé la présence de plusieurs composés (Tableaux 5-1 à 5-7). Ces constituants représentent les analyses des huiles essentielles des 04 différents échantillons obtenus par :

- 1- Hydrodistillation conventionnelle : durée de distillation de 30 minutes,
- 2- Hydrodistillation après traitement par CEP : durée de distillation de 30 minutes
- 3- Hydrodistillation assistée par micro-ondes : durée de distillation de 10 minutes,
- 4- Hydrodistillation assistée par micro-ondes après traitement par CEP : durée de distillation de 10 minutes.

Nous n'avons retenu que ceux dont le taux est supérieur à 0,40% afin de faciliter l'étude comparative des résultats qui peuvent être considérés comme des indicateurs pour distinguer et étudier l'influence du CEP sur la composition physico-chimique de ces échantillons.

La plupart de ces composés comme le *Camphene*, le *Pinocarvone*, le *Borneol* et *Trans-Pinocarveol* ont été retrouvés dans la composition de l'huile essentielle analysée par d'autres auteurs [128-130].

L'huile essentielle obtenue par traitement de CEP suivi d'hydrodistillation assistée par micro-ondes est cependant nettement dominée par le *Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1r)* (23,74 %). Ce composé est toujours supérieur avec HD assistée par micro-ondes (16,20 %). Les autres composés majoritaires de cette huile essentielle sont présent en proportions voisines ( le *2-pinen-7-one* et le *Thujone*) avec un taux d'augmentation de 32,02% et 23,70 % respectivement après traitement par CEP.

Par contre, le traitement par CEP associé à l'HD assistée par micro-ondes à causer une diminution importante de 532,72 % de *Thujone* (Tableau 5-1). Une brusque augmentation de la concentration en *Cyclohexane, 1,1'-[1-(2,2-dimethylbutyl)-1,3-propanediyl]* (2,51 %) est observée dans l'huile essentielle traité par CEP associé au HD assistée par micro-ondes.

**Tableau 5-1 :** Principaux composés communs de l'HE d'*Artemisia*

Composés Majeurs (plus de 0,40%)	Conv.	MO	CEP	CEP+MO
<i>β-Cyclohomocitral</i>	0,47	0,28	0,62	0,28
<i>Terpinol</i>	0,50	0,33	0,37	0,17
<i>Chrysanthenone</i>	5,09	4,43	6,72	5,03
<i>Terpineol-4</i>	0,39	0,50	0,14	0,07
<i>Methyl heptenone</i>	0,12	0,53	0,24	0,34
<i>Alcanfor</i>	7,23	16,20	7,88	23,74
<i>Berbenol</i>	1,15	0,98	1,11	0,47
<i>Isovaleric acid</i>	0,39	0,59	0,74	0,66
<i>Camphene</i>	1,35	1,67	1,18	2,28
<i>1-Undecyldecahydronaphthalene</i>	0,61	0,02	0,07	2,51
<i>Ethyl acetonedicarboxylate</i>	0,12	0,19	0,64	0,17
<i>trans-Pinocarvone</i>	1,16	0,47	1,61	0,42
<i>α-Tricyclene</i>	0,58	0,51	0,59	0,79
<i>Thujone</i>	6,96	4,86	8,61	1,10

L'absence d'un composé est indiquée par « - »

### 5.5.5.1. Cas de l'hydrodistillation conventionnelle

Le *1,3-Cyclopentadiene*, *1,2,5,5-tetramethyl* et l'*Eucalyptol* sont les composés majoritaires de l'huile essentielle d'*Artemisia* obtenus uniquement par hydrodistillation conventionnelle (Tableau 5-2). L'application de CEP et l'hydrodistillation assistée par micro-ondes sont les causes principales des pertes de ces composés.

**Tableau 5-2** : principaux composés de l'HE d'*Artemisia* extraite par hydrodistillation conventionnelle

Composés Majeurs (plus de 0,40%)	Conv	MO	CEP	CEP+MO
<i>Santene</i>	0,51	-	-	-
<i>Eucalyptole</i>	1,35	-	-	-

L'absence d'un composé est indiquée par « - »

### 5.5.5.2. Effet de HDMO sur la composition physico-chimique d'*Artemisia*

A partir des valeurs présentées dans le tableau 5-3, on peut constater que l'extraction de ces composés : le *Benzene*, (*2-methylpropyl*), le *Bicyclo[3.1.1]heptan-2-one*, *6,6-dimethyl-(1r)*, le *Borneol* et le *Cis-salvene* dépend fortement de la durée d'extraction. Ainsi, cela signifie qu'ils possèdent le point d'ébullition le plus faible, du fait en partie de leur structure simple et plus légère.

**Tableau 5-3** : principaux composés de l'HE d'*Artemisia* extraite par micro-ondes

Composés Majeurs (plus de 0,40%)	Conv	MO	CEP	CEP+MO
<i>i-Butylbenzene</i>	-	0,50	-	-
<i>Nopinone</i>	-	0,53	-	-
<i>Camphor</i>	-	1,42	-	-
<i>salvene</i>	-	0,71	-	-
<i>α-Pinene</i>	-	1,02	-	0,85

L'absence d'un composé est indiquée par « - »

Le même phénomène est aussi observable pour des nombreux composés tels que le *1,4-Cyclohexadiene*, *1-methyl-4-(1-methylethyl)*, le *7-Propylidene-bicyclo [4.1.0] heptane*, le *Benzene* ou encore *Pinene <alpha->* n'apparaissent plus dans la composition de l'huile essentielle d'*Artemisia* obtenues par hydrodistillation assistée par micro-ondes quel que soit l'échantillon a été traité ou non par CEP (Tableau 5-4).

Les micro-ondes semblent détruire totalement certains composés de l'huile essentielle d'*Artemisia* alors que par un chauffage classique lors d'une hydrodistillation conventionnelle la matière végétale est moins détérioré.

**Tableau 5-4** : Principaux composés de l'HE d'*Artemisia* extraite par HD conventionnelle et traitement par CEP

Composés Majeurs (plus de 0,40%)	Conv	MO	CEP	CEP+MO
<i>γ-Terpinen</i>	0,72	-	0,51	-
<i>β-Pinene</i>	0,52	-	0,48	-
<i>Benzole</i>	0,22	-	0,63	-
<i>Pimaradiene</i>	0,69	-	0,63	-

L'absence d'un composé est indiquée par « - »

### 5.5.5.3. Effet de CEP

Dans l'huile essentielle d'*Artemisia* obtenue uniquement par CEP, quatre composés sont apparus par rapport aux huiles essentielles obtenues par les 03 autres techniques : le 5-[phenyldiazényl]-2,4,6(1*h*,3*h*,5*h*)-pyrimidinetrione, le Nonane, 1-chloro, Terpinene <alpha> et le (S)-(+)-5-methyl-1-heptanol (Tableau 5-5).

Par la suite, nous avons observé que l'application du CEP a pour conséquence l'absence de deux composés : le Benzene, 1,3,5-trimethyl- et le Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, (1*S*-endo).

**Tableau 5-5** : principaux composés de l'HE d'*Artemisia* extraite après traitement par CEP

Composés Majeurs (plus de 0,40%)	Conv	MO	CEP	CEP+MO
5-[phenyldiazényl]-2,4,6(1 <i>h</i> ,3 <i>h</i> ,5 <i>h</i> )-pyrimidinetrione	-	-	0,60	-
Nonyl chloride	-	-	0,58	-
<i>α</i> -Terpinene	-	-	0,73	-
Octanol	-	-	0,51	-
Tetrameen	0,01	-	0,51	0,01
<i>p</i> -Cimene	-	-	0,77	0,69
<i>α</i> -Limonene	-	-	0,55	0,67
Benzene	0,56	0,51	-	0,47
Bornyl acetate	0,76	0,41	-	0,32
<i>α</i> -Terpinene	0,83	0,57	-	-
Morfina	0,56	0,66	-	-

L'absence d'un composé est indiquée par « - »

### 5.5.5.4. Effet de CEP + MO sur la composition de l'HE d'*Artemisia*

L'application de CEP combiné à l'hydrodistillation assistée par micro-ondes peut être avantageux pour l'extraction des composés impossibles avec les trois autres méthodes comme : le 1,3-cyclopentadiene, 5,5-dimethyl-2-propyl, le 2-methylene-cyclopentanol, le 6-



*octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, le Orthole, le Pinene <beta> et le Trans-2,7-dimethyl-4,6-octadien-2-ol* (Tableau 5-6).

**Tableau 5-6** : principaux composés de l'HE d'*Artemisia* extraite après traitement par CEP +MO

Composés Majeurs (plus de 0,40%)	Conv	MO	CEP	CEP+MO
<i>Camphene</i>	-	-	-	0,51
<i>Hexenal</i>	-	-	-	0,54
<i>Cephreine</i>	-	-	-	0,54
<i>Orthole</i>	-	-	-	0,52
<i>β-Pinene</i>	-	-	-	0,58
<i>α-Terpineol</i>	-	-	-	0,75

L'absence d'un composé est indiquée par « - »

Inversement, l'application du CEP combiné avec micro-ondes peut causer la disparition de certains composés comme :

- le *7-Oxabicyclo[4.2.1] nona-2,4-dien-8-one*,
- le *Benzene, 1,2,3-trimethyl*,
- le *Bicyclo[3.1.0] hex-2-ene,4-methylene-1- (1-methylethyl)*,
- le *Bicyclo[3.1.1] heptane,6,6-dimethyl-2-methylene*,
- le *Sabinene*
- le *Trans-Pinocarveol*.

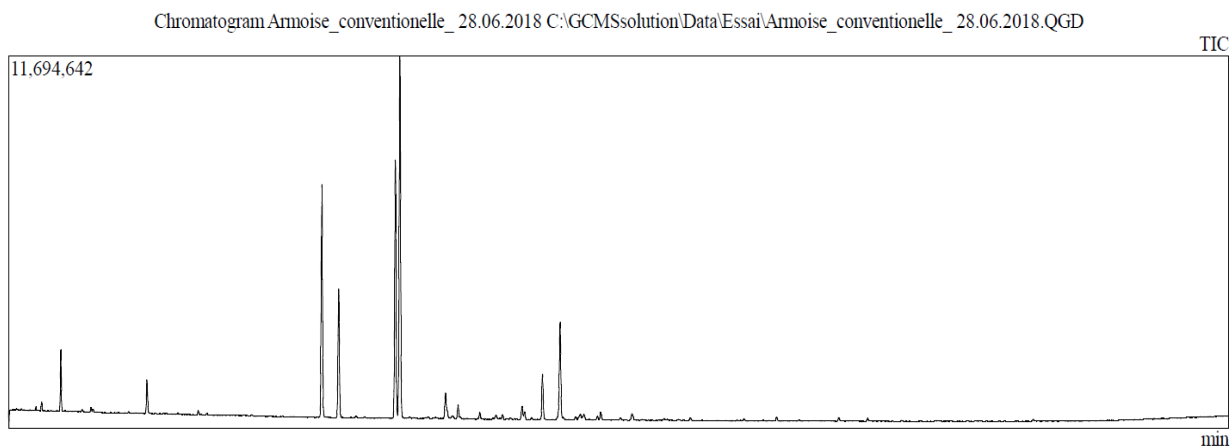
**Tableau 5-7** : principaux composés de l'HE d'*Artemisia* disparu après traitement par CEP +MO

Composés Majeurs (plus de 0,40%)	Conv	MO	CEP	CEP+MO
<i>Ascabin</i>	0,53	0,07	0,28	-
<i>Hemellitol</i>	0,45	0,40	0,55	-
<i>Dehydrosabinen</i>	0,55	0,35	0,53	-
<i>β-Pinene</i>	0,74	0,75	0,85	-
<i>Sabinene</i>	0,51	0,57	0,58	-
<i>L-Pinocarveol</i>	0,46	0,62	0,26	-

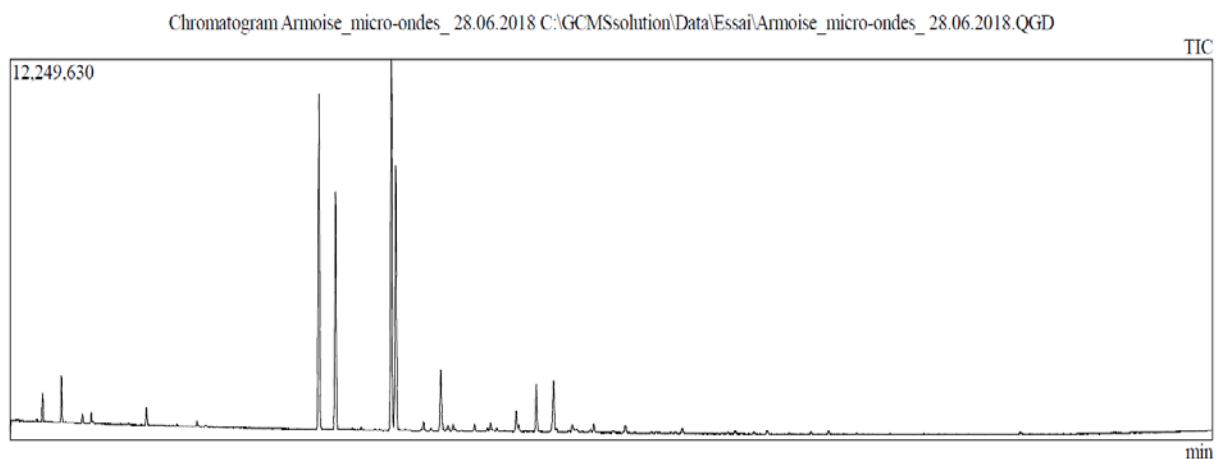
L'absence d'un composé est indiquée par « - »

L'explication de la différence de composition chimique entre les procédés d'extraction pourrait être causée principalement sur des phénomènes de solubilité. Les micro-ondes permettent de libérer plus rapidement l'huile essentielle contenue dans la plante grâce à l'ouverture quasi instantanée des glandes ou des poils sécréteurs [47].

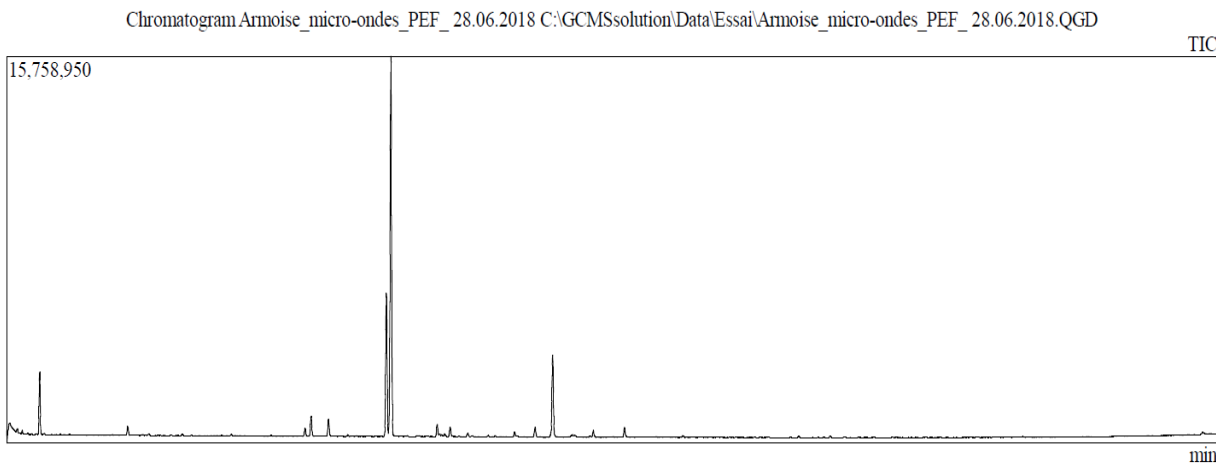
Les analyses par GC/MS des substances obtenues à partir de l'*Artemisia*, nous ont permis de déterminer les profils chromatographiques, d'identifier les différents constituants et de mesurer leurs concentrations dans la fraction volatile analysée. Les résultats obtenus avant et après le traitement par CEP sont représentés par les chromatogrammes des figures 5.11 ;5.12 ;5 ;13 ; et 5.14 respectivement :



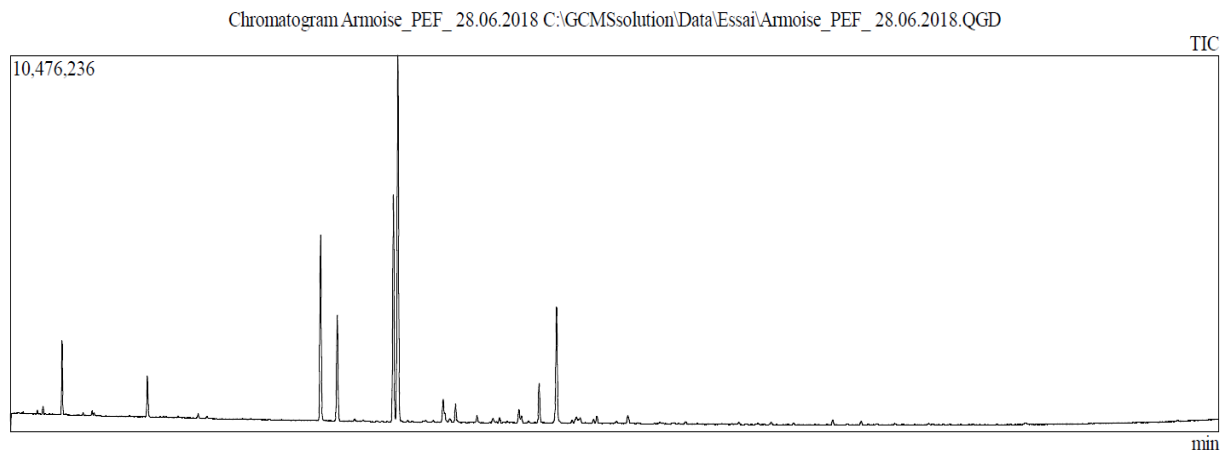
**Fig.5.11** : Profil chromatographique de l'HE d'*Artemisia* extraite par HD conventionnelle



**Fig.5.12** : Profil chromatographique de l'HE d'*Artemisia* extraite par HD micro-ondes



**Fig.5.13** : Profil chromatographique de l'HE d'*Artemisia* extraite par MO+CEP



**Fig.5.14** : Profil chromatographique de l'HE d'*Artemisia* extraite après traitement par CEP

## 5.6. Conclusion

L'extraction assistée par micro-ondes après traitement par champ électrique pulsé de l'huile essentielle d'*Artemisia* a été étudiée.

Dans le but d'étendre et d'optimiser la technique de traitement par CEP, un protocole expérimental a été élaboré afin d'extraire les huiles essentielles de tous les végétaux.

L'étude quantitative a mis en évidence l'efficacité de CEP combiné à hydrodistillation assistée par micro-ondes pour l'extraction des huiles essentielles en très courte durée.

Nous avons ainsi pu constater qu'il est possible d'extraire autant d'huile essentielle en 10 minutes par CEP +MO qu'en 60 minutes par hydrodistillation classique.

En revanche, pour l'extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia*, les rendements obtenus par hydrodistillation conventionnelle de 30 minutes après traitement par CEP de 2 kV/cm – 300 impulsions, sont nettement supérieurs à ceux obtenus par d'autres méthodes.

Afin de compléter les travaux, une étude cinétique de l'extraction de l'huile essentielle par micro-ondes avant et après traitement par a été réalisée. Une évolution particulière du rendement a été observée. L'étude qualitative a permis de remarquer des différences significatives dans la composition des huiles essentielles selon leur mode d'extraction qu'il s'agisse d'hydrodistillation conventionnelle, hydrodistillation assistée par micro-ondes, hydrodistillation après traitement par CEP ou hydrodistillation après traitement par CEP assistée par micro-ondes.

**CONCLUSION GENERALE  
ET PERSPECTIVES**

Le marché mondial des huiles essentielles observe une augmentation significative de sa taille, grâce à l'utilisation croissante de l'huile essentielle dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire.

Pour faire face à cette situation, les procédés industriels permettant l'obtention de l'HE sont soumis à un renforcement et amélioration continus de leurs performances. L'optimisation de ces procédés prend alors en compte les critères suivants : l'intensification du rendement et de la qualité des huiles ainsi que la réduction des coûts de production.

De plus, dans un contexte de développement durable et à l'échelle industrielle, la maîtrise de la technique de champ électrique pulsé est devenue une nécessité. En outre, une optimisation des paramètres de traitement est nécessaire pour la production d'huiles essentielles d'intérêt commerciale.

Pour atteindre cet objectif, nous avons étudié expérimentalement au laboratoire les techniques conventionnelles d'extraction par hydrodistillation classique, les résultats obtenus ont servi comme référence pour une comparaison avec ceux obtenus par CEP.

Pour chaque procédé, le protocole d'extraction par hydrodistillation avant et après le traitement par CEP est le même. L'effet des paramètres opératoires sur l'intensification de l'huile extraite a été étudié et afin de déterminer l'influence de l'intensité du champ électrique, les impulsions et la durée de distillation sur le procédé, deux espèces végétales ont été étudiées : *Marrubium Vulgare* et *Artemisia herba alba* (*Armoise blanche*).

Le choix de ces deux espèces est basé sur leur teneur en huile essentielle et de leur popularité comme étant deux plantes médicinales encore utilisées dans la médecine traditionnelle chez la population locale.

Les objectifs de ce travail ont consisté en l'application et l'optimisation d'un nouveau dispositif d'extraction des huiles essentielles assisté par champ électrique pulsé dont le but d'augmenter le rendement en HE et minimiser le temps de distillation. Le traitement par champ électrique pulsé de ces deux plantes a permis d'obtenir un bon rendement.

Les résultats obtenus ont été comparés tout au long de sa mise en application aux résultats obtenus par l'hydrodistillation conventionnelle.

Plusieurs étapes nous ont permis de parvenir à l'élaboration et à la validation de ce nouveau système d'extraction de l'HE par champ électrique pulsé. Les travaux ont permis de tester et d'ajuster le prototype d'extraction. Une méthodologie expérimentale a été appliquée dans le but d'évaluer l'impact des paramètres du CEP sur l'extraction et d'optimiser les paramètres d'utilisation. Alors que la méthode conventionnelle d'extraction nécessite par exemple 60 min pour un rendement de 3.9% pour le *Marrubium Vulgare*, le

traitement par CEP pour la même plante a permis de réaliser l'extraction des huiles essentielles en seulement 30 minutes pour un rendement de 6.8% lorsque le champ électrique a une valeur de 2,5 kV / cm et le nombre d'impulsion égale à 150. Pour *l'Artemisia herba alba* ; le rendement maximal de 2,2% atteint avec 300 impulsions à un champ de 2 kV/cm et une durée de distillation de 30 minutes, cause une augmentation de 158% par rapport à la méthode conventionnelle.

Ainsi, nous avons montré que pour les deux plantes, quels que soient les paramètres de traitement, le CEP améliore la quantité de l'huile essentielle obtenue et permet de réduire considérablement les temps d'extraction sans altérer la composition des extraits.

Dans ce contexte et en termes de qualité, les résultats obtenus par l'identification des compositions chimiques de *Marrubium* et d'*Artemisia* à l'aide de GC-MS (la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse) ont montré une qualité identique, voire meilleure, des produits obtenus par le traitement par CEP par rapport à ceux obtenus sans traitement.

De plus, à l'exception de *Camphor*, toutes les substances majoritaires dépassant 1% ont augmenté après le traitement, en particulier le *carvacrol*, le  $\gamma$ -*terpinène* et le *p-cymène* qui ont augmenté avec un taux de variation compris entre 258% et 658% pour l'huile essentielle de *Marrubium Vulgare*. Pour *l'Artemisia*, nous avons observé une augmentation de certains composés comme *Bicyclo[2.2.1]* (23.54% avant CEP ; 27.02 après CEP ), *Bicyclo[3.1.0]* (9.09% avant CEP ; 12.42% après CEP), *Thujone* ( 4.66% avant CEP ; 6.41% après CEP), *2-pinen-7-one* (6.19% avant CEP ; 6.91 après CEP).

Les résultats obtenus de l'analyse par CG-SM dans cette étude confirment bien l'efficacité de traitement par CEP pour l'extraction des huiles essentielles à partir d'une matière d'origine végétale.

Les inconvénients principaux de l'hydrodistillation résident dans sa lenteur. Le traitement par CEP est considéré comme une solution économique pour minimiser les coûts énergétiques en diminuant la durée de la distillation. La seule difficulté est qu'on doit avoir pour chaque plante étudiée son propre protocole de traitement par CEP.

Nous avons constaté par ailleurs, que la durée d'extraction avec le traitement par CEP était nettement réduite avec une augmentation considérable de rendement d'extraction à partir de 30 min de distillation. L'accélération de la cinétique d'extraction est essentiellement due au phénomène d'électroporation.

Aussi, ce travail de thèse présente un système de traitement par CEP à l'échelle de laboratoire avec un traitement statique de la plante et une examination des paramètres pour

optimiser le traitement par CEP. L'étude a été réalisée pour explorer la possibilité d'appliquer la technologie d'extraction des huiles essentielles assistée par CEP dans un système à échelle industrielle.

Le développement de ces procédés nous semble très important dans des domaines tels que les industries pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire, ce qui implique une nécessité d'élaborer des protocoles CEP individuels pour différentes opérations et plantes aromatiques.

Le traitement CEP à 2 kV/cm – 300 impulsions s'est avéré être efficace pour la perméabilisation pour l'extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia*. De plus, la combinaison du CEP et l'hydrodistillation assistée par micro-ondes s'est avérée améliorer l'efficacité de l'extraction en termes de durée d'extraction.

La technologie de traitement de CEP s'avère une technologie prometteuse pour l'extraction de l'huile essentielle due à ses avantages tels que le comportement non-thermal, moins longue, n'exige pas n'importe quels produits chimiques additionnels et évolutivité élevée pour la production massive.

## Perspectives...

L'Algérie est dotée d'une biodiversité végétale immense, qui reste à découvrir et une grande partie de cette flore est constituée par des espèces médicinales. Chaque plante aromatique se caractérise par un réservoir de l'huile essentielle avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par des recherches plus approfondies. Pour intégrer la technologie du CEP dans l'industrie des huiles essentielles, on propose les démarches suivantes :

- Recensement des plantes aromatiques et médicinales avec la précision de leurs noms vernaculaire et scientifique, la localisation géographique et la date de récolte ;
- Classement des plantes par leur intérêt industriel (plantes pour les arômes, plantes médicinales et plantes des huiles essentielles) ;
- L'implantation des ateliers pour l'extraction des produits naturels et particulièrement des huiles essentielles selon l'importance et la valeur économique de ces derniers ;
- Optimisation des procédés existants par l'intégration de la technique de CEP.
- Développement des générateurs haute tension avec une technologie de pointe
- Développement des commutateurs à base de semi-conducteurs
- Développement des chambres traitement à flux continu.

## **BIBLIOGRAPHIE**



- [1] **Zderic, A., Zondervan, E. & Meuldijk, J. (2013).** Breakage of Cellular Tissue by Pulsed Electric Field: Extraction of Polyphenols from Fresh Tea Leaves. *chemical engineering transactions* .vol :32.1795-1800
- [2] **Abenoza, M., Benito, M., Saldaña, G., Álvarez, I., Raso, J. & Sánchez-Gimeno, A. C.(2013).** Effects of Pulsed Electric Field on Yield Extraction and Quality of Olive Oil. *Food, Bioprocess Technol.* 6:1367–1373
- [3] **Puértolas, E. & Martínez de Marañón, I. (2015).** Olive oil pilot-production assisted by pulsed electric field: Impact on extraction yield, chemical parameters and sensory properties. *Food Chemistry.* 167: 497–502
- [4] **Schoenbach, K. H., Katsuki, S., Stark, R. H., Buescher, E. S. & Beebe, S. J. (2002).** Bioelectrics new applications for pulsed power technology, *IEEE Trans. Plasma Sci.* 30, p. 293-300.
- [5] **Sarkis, J.R., Boussetta, N., Tessaro, I. C., Marczak, L. D. F. & Vorobiev, E. (2015).** Application of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges for oil extraction from sesame seeds. *Journal of Food Engineering.* 153: 20–27
- [6] **Tajkarimi M.M, Ibrahim S.A. & Cliver D.O. (2010).** Antimicrobiol herb and spice compounds in food. *Food control.* Vol 21: 1199-1218.
- [7] **Ozenda, P. (2004).** Flore et végétation des sahara. Ed. CNRS. Paris. pp.399-402
- [8] **Sitzmann, W., Vorobiev, E. & Lebovka, N. (2016).** Applications of electricity and specifically pulsed electric fields in food processing: Historical backgrounds. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 37: 302–311
- [9] **Schultheiss, C., Bluhm, H.-J., Mayer, H. G. & Kern. M. (2002).** industrial-scale electroporation of plant material using high repetition rate marx generators. *IEEE.* 0-7803-71
- [10] **Savova, M. & Saykova, I. (2008).** Etude de l'effet des champs électriques pulsés sur l'extraction solide-liquide à partir des matières premières végétales. *Revue de génie industriel.* 2 : 33-40
- [11] **Johnstone, P. T. & Bodger, P. S. (1997).** High voltage disinfection of liquids. *IPENZ Transactions,* Vol. 24, No. 1/EMCh.
- [12] **Kohler, S. (2013).** Contribution au développement et à la dosimétrie multi-échelles de dispositifs pour l'exposition de cellules biologiques à des impulsions électriques nanosecondes et subnanosecondes de haute intensité. Thèse de doctorat. Université de Limoges (France)
- [13] **Klonowski, I., Heinz, V., Toepfl, S., Gunnarsson, G. & Porkelsson, G. (2006).** Applications of pulsed electric field technology for the foodindustry . *Icelandic Fisheries Laboratories.* IFL report: 06-06. project no : 1677.
- [14] **Fincan, M. & Dejmek, P. (2002).** In situ visualization of the effect of a pulsed electric field on plant tissue. *Journal of Food Engineering* 55: 223–230
- [15] **Portet, T. (2010).** Électroperméabilisation de systèmes modèles. Thèse de doctorat. Université Toulouse III - Paul Sabatier (France)
- [16] **Min, S., Evrendilek, G. A., & Zhang, H. Q. (2007).** Pulsed Electric Fields: Processing System, Microbial and Enzyme Inhibition et Shelf Life Extension of Foods. *IEEE transactions on plasma science,* VOL. 35, NO. 1

- [17] **Kirthy Reddy, M. & Panchalaraju, M.** (2014). Pulsed Electric Field Technology in Food Processing Industry-A Review. International Journal of Science and Research (IJSR). Volume 3 Issue 7
- [18] **Koners, U., Schmidt, W., Löffler, M., Heinz, V. & Knorr, D.** (2006). The effect of implemented pulsed electric field (PEF) treatment on the dehydrogenase activity of activated sludge. WIT Transactions on Ecology and the Environment, vol .95, p. 379-388.
- [19] **Kono, S., Ono, T., Hirayama, K., Matsushita, K., Katsuki, S. & Akiyama, H.** (2005). biological effects of pulsed electric field by several ways of applying voltage. Pulsed Power Conference, IEEE.
- [20] **Barsotti, L. & Cheftel, J.C.** (1999). Traitement des aliments par champs électriques pulsés - Aspects biologiques, sciences des aliments. 19 :3-33
- [21] **Barba, F., Parniakov, O., Pereira, S., Wiktor, A., Grimi ,N. Boussetta, B., Saraiva, J., Raso, J., Belloso ,O., Rajchert, D., Lebovka, N. & Vorobiev,E.** (2015). Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. Food Research International .77: 773–798
- [22] **Huang, K. & Wang, J.** (2009). Designs of pulsed electric fields treatment chambers for liquid foods pasteurization process: A review. Journal of Food Engineering. 95: 227–239
- [23] **Ivarez, I. A., Paga'n ,R., Condo'n, S. & Raso, J.** (2003). The influence of process parameters for the inactivation of *Listeria monocytogenes* by pulsed electric fields. International Journal of Food Microbiology. 87 : 87– 95
- [24] **Rocher, E. G., Palomares, R. A. & Sánchez, P. B.** (2010). A High Voltage Pulse Generator for Pulsed Electric Field Pasteurization. IEEE. 978-1-4244-5353
- [25] **Pourzaki, A. & Mirzaee, H.** (2009). New High Voltage Pulse Generators. Recent Patents on Electrical Engineering. 2 : 65-76
- [26] **Guermat, N.** (2016). Électronique des impulsions. [cours]. Université de M'sila.
- [27] **El amari, S.** (2011). Développement et caractérisation de générateur optoélectronique d'impulsions de champ électrique nanoseconde et subnanoseconde de forte intensité : application au domaine biomédical. Thèse de doctorat. Université de Limoges (France)
- [28] **Martínez, J., Luengo, E., Saldaña, G., Álvarez, I. & Raso, J.** (2016). C-phycoyanin extraction assisted by pulsed electric field from *Artrosphira platensis*. Food Research International. 0963-9969
- [29] **Akiyama, H., Sakugawa, T., Namihira, T., Takaki, K., Minamitani, Y. & Shimomura, N.** (2007). Industrial Applications of Pulsed Power Technology. IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation. Vol. 14, No. 5
- [30] **Levy, C.** (2010). Principaux facteurs influençant l'efficacité de la lumière pulsée pour la décontamination des microorganismes pathogènes et d'altération des denrées alimentaires. Thèse de doctorat. Université d'Avignon (France)
- [31] **Union des consommateurs.** (2006). Aliments irradiés : les enjeux pour les consommateurs. Rapport final du projet de recherche présenté au Bureau de la consommation d'Industrie Canada
- [32] **Rougier, C.** (2003). Etude des interactions entre la bactérie *Escherichia coli* et les micro-ondes appliquées en mode discontinu dans des conditions faiblement thermiques. Thèse de doctorat. Université de Limoges (France)

- [33] **Silve, A., Sack, M. & Frey, W. (2014)**. Applications Industrielles de l'Electroporation. Revue 3EI, n°75. Sciences et techniques industrielle. Ministère de l'éducation nationale. (France)
- [34] **Sepulveda, D.R., Go'ngora-Nieto, M.M., Guerrero, J.A. & Barbosa-Ca'novas, G.V. (2005)**. Production of extended-shelf life milk by processing pasteurized milk with pulsed electric fields. Journal of Food Engineering. 67 : 81–86
- [35] **Shorstkii, I., Mirshekarloo, M.S. & Koshevoi, E. (2015)**. Application of pulsed electric field for oil extraction from sunflower seeds: electrical parameter effects on oil yield. Journal of Food Process Engineering. ISSN 1745-4530
- [36] **Brianceau, S., Turk, M. & Vorobiev, E. (2013)**. Intensification de l'extraction des polyphénols du marc de raisin rouge par champs électriques pulsés. Récents Progrès en Génie des Procédés, Numéro 104
- [37] **Toepfl , S. & Heinz ,V. (2007)**. Pulsed Electric Field processing of foods. New Food magazine. Issue 3
- [38] **Barsotti. L, Merle. P, Cheftel .J.C. (1998)**. Traitement des aliments par champs électriques pulsée « aspects physiques ». Sciences des aliments, 583-601
- [39] **Schon, K. (2013)**. High Impulse Voltage and Current Measurement Techniques. eBook. Springer International Publishing Switzerland
- [40] **Kuffel, E., Zaengl, W.S. & Kuffel, J. (2000)**. High Voltage Engineering: Fundamentals. Second edition. British Library Cataloguing in Publication Data
- [41] **Tilmatine, A. (2008)**. Technique de la haute tension. [Cours]. Université de Dillali Liabes (Sidi Bel Abbes).
- [42] **Pecastaing, L. (2001)**. Conception et réalisation d'un système de génération d'impulsions haute tension ultra brèves :application aux radars larges bandes. Thèse de doctorat. Université de Pau (France)
- [43] **Bac, J. (2005)**. Contribution à l'étude et à la réalisation de commutateurs et de générateurs haute tension transitoire. Thèse de doctorat. Université de PAU (France)
- [44] **Lakhdar, L. (2015)**. Évaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* : étude in vitro. Thèse de doctorat. Université Mohammed V de rabat (Maroc)
- [45] **Belkhodja, H. (2016)**. Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara : Evaluation biochimique des marqueurs d'ostéoarticulation et de l'activité biologique. Thèse de doctorat. Université de Mascara.
- [46] **Hélène, V. (2015)**. Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments. Thèse de doctorat. Université d'Angers
- [47] **Benouali, D. (2016)**. Extraction et identification des huiles essentielles. [Cours]. Université des sciences et de la technologie d'Oran
- [48] **Lucchesi, M.E. (2005)**. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de LA REUNION (France)
- [49] **Bessah, R. & Benyoussef,E. (2015)**. La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques, Revue des Energies Renouvelables Vol. 18 N°3, 513 – 528

- [50] **Herzi, N. (2013)**. Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse de doctorat. Université de Toulouse (France)
- [51] **Bousbia, N. (2011)**. Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat. Université d'Avignon (France)
- [52] **Taleb-Toudert, K. (2015)**. Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur le bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de doctorat. Université de Tizi-Ouzou
- [53] **Bendriss, H. (2003)**. Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de *Ruta chalepensis* et *Marrubium vulgare*. Mémoire de magister. Université de Chlef
- [54] **Ilbert, H., Hoxha, V., Sahi, L., Courivaud, A. & Chailan, C. (2016)**. Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. Montpellier : CIHEAM / FranceAgriMer. 222 p. (Options Méditerranéennes, Série B : Études et Recherches, n.73).
- [55] **Paster, N., Juven, B.J., Shaaya, E., Menasherov, M., Nitzan, R., Weisslowicz, H. & Ravid, U. (1990)**. Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on molds and foodborne bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* 11: 33-37.
- [56] **Nielsen, P.V. & Rios, R. (2000)**. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food Microbiol.* 60: 219-229.
- [57] **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. & Idaomar, M. (2008)**. Biological effects oils. A review *Science Direct. Food and Chemical Toxicology* 46: 446-475.
- [58] **Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L. & Vlietinck, A.J. (2002)**. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacology*, 79, 213-220.
- [59] **Bruton, J. (1993)**. Photochimie, plantes médicinales, pharmacognosie. Deuxième édition, Paris.
- [60] **Belaiche, P. (1979)**. Traité de la phytothérapie et d'aromathérapie, Tome 1, l'aromatogramme, pp. 135-147
- [61] **Lardry, J.M. & Haberkorn, V. (2007)**. L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev.* 61: 14-7
- [62] **Csesk, J. & Kaufman, P.B. (1999)**. How and why these compounds are synthesized by plants. *Natural products from plants*. CRC Press, Boca Raton FL. 37-90
- [63] **Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg E.A. & Steven, P. (2002)**. Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. Ed. Paris et Bruxelles. pp. 369-384
- [64] **Rigano, D., Apostolides, A.N., Bruno, M., Formisano, C., Grassia, A., Piacente, S., Piozzi, F. & Senatore, F. (2006)**. Phenolic compounds of *Marrubium globosum* ssp. *Libanoticum* from Lebanon. *Biochemical Systematics and Ecology* 34: 256-260
- [65] **Meyre, S.C., Yunes, R.A., Schlemper, V., Campos-Buzzi, F. & Cechinel-Filho, V. (2005)**. Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae). *II Farmaco*. 60: 321-326

- [66] **Bonnier, G. (1909)**. La Végétation de la France, Flore Complète. Tome 09. Ed : Suisse et Belgique. Paris. pp. 25-26.
- [67] **Schlemper, V., Ribas, A., Nicolau, M. & Cechinel, V.F. (1996)**. Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues. *Phytomedicine* 3(2): 211 – 216
- [68] **Quezel, P. & Santa, S. (1963)**. La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS. Paris. pp. 360-361
- [69] **Bellakhdar, J. (1997)**. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. la pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed. IBS Press. pp. 340-341
- [70] **Boukef, M.K. (1986)**. Médecine Traditionnelle et Pharmacopée, Les plantes de la médecine traditionnelle tunisienne. Ed. Agence de Coopération Culturelle et Technique. Paris. France. pp. 163-164
- [71] **Anastasia, K., Heilmann, J. & Skaltsa, H. (2005)**. Labdane diterpenes from *Marrubium velutinum* and *Marrubium corymbosum*, *Phytochemistry*, 66 1060–1066
- [72] **Kurbatova, N. V., Muzychkina, R. A., Mukhitdinov, N. M. & Parshina, G. N. (2003)**. Comparative phytochemical investigation of the composition and content of biologically active substances in *Marrubium vulgare* and *M. alternifidens*, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 39, 5 501- 502.
- [73] **Hennebelle, T., Sahpaz, S., Skaltsounis, A.L. & Bailleul, F. (2007)**. Phenolic compounds and diterpenoids from *Marrubium peregrynium*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 35 ( ) 624-626.
- [74] **Graham-Solomons, T.W. (1994)**. Fundamentals organic chemistry United States of America, 915.
- [75] **Ikan, R. (1991)**. Natural products A laboratory guide, 2ème édition, Academic Press, New York, Boston, 127-153
- [76] **De Souza, M.M., De Jesus, R.A.P., Cechinel, V.F. & Schlemper, V. (1998)**. Analgesic profile of hydroalcoholic extract obtained from *Marrubium*. *Phytomedicine* 5(2): 103-107
- [77] **Weel, K. G. C., Venskutonis, P. R., Pukalskas, A., Gruzdiene, D. & Linssen, J. P. H. (1999)**. Antioxidant activity of Horehound (*Marrubium vulgare* L.) grown in Lithuania, *Fett/ Lipid* 101, 10, 395 – 400
- [78] **Paul, I., Michel, M., Restellini, J., Moulard, F., De La Roque, R., De La Roque, O., Vican, P., Ybert, E., Delesalle-Féat, T., Biaujeaud, M., Ringuet, J., Bloch, J. & Botrel, A. (2001)**. Encyclopédie des plantes médicinales, 2ème édition, Larousse. France, P 232
- [79] **Ramos, R., Alarcón-Aguilar, F., Lara-Lemus, A. & Flores-Saenz, J.L. (1992)**. Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. *Archives of Medical Research*. 23(1): 59-64
- [80] **Novaes, AP., Rossi, C., Poffo, C., Pretti Júnior, E., Oliveira, AE., Schlemper, V., Niero, R., Cechinel-Filho, V. & Bürger, C. (2001)**. Preliminary evaluation of the hypoglycemic effect of some Brazilian medicinal plants. *Thérapie*. 56(4) : 427-30.
- [81] **Roulier, G. (2000)**. Les huiles essentielles pour votre santé, Ed. Dangles, p.336.

- [82] **Benarba, B., Meddah, B. & Hamdani, H. (2014).** Cancer incidence in North West Algeria (Mascara)2000-2010: results from a population-based cancer registry. EXCLI J.13: 709–723.
- [83] **Fernandez, X.D. & Cabrol, B. (2007).** Analyse des arômes. Techniques de l'ingénieur ; REF: P3233 v1. p. 3233.
- [84] **Gourine, N., Bombarda, I., Yousfi, M., Gaydou,E.M. & Nadjemi, B. (2009).** Seasonal variation of chemical composition and antioxidant activity of essential oil from *Pistacia atlantica* Desf. leaves. J. Am. Oil Chem. Soc. 87:157–166
- [85] **Mesplede, J. (2004).** Chimie MP-PT. Ed. Bréal, 223p
- [86] **Rose, J. & Earle, S. (1996).** The word of aromatherapy. Ed. Frog Books, 368p
- [87] **Richard, H. & Multon, J.L. (1992).** Les arômes alimentaires. Ed. Technologie et documentation, Lavoisier, Paris, France, p. 400
- [88] **Carrée, P. (1953).** Précis de technologie et de chimie industrielle. Tome II. E,Ballière J. B. et fils. 432,1953.
- [89] **Silva, E. M., Rogez, H. & Larondelle, Y. (2007).** Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology, Separation and Purification Technology, vol. 55, pp. 381-387
- [90] **Angersbach, A., Heinz, V. & Knorr, D. (2000).** Effects of pulsed electric fields on cellmembranes in real food systems. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 1 (2), 135– 149
- [91] **Vorobiev, E. & Lebovka, N.I. (2011).** Pulse electric field-assisted extraction. Enhancing Extraction Processes in the Food Industry. CRC Press, pp. 25–84
- [92] **Zimmermann, U., Pilwat, G. & Riemann, F. (1974).** Dielectric breakdown of cell membranes. Biophys. J . 14 (11), 881–899
- [93] **Dobрева, A., Tintchev, F., Heinz, V., Schulz,H. & Toepfl ,S. (2010).** Effect of pulsed electric fields (PEF) on oil yield and quality during distillation of white oil-bearing rose (*Rosa alba* L.). Z Arznei- Gewurzpfla 15(3): 127–135.
- [94] **Harrison, S.L., Barbosa-Cánovas, G.V. & Swanson, B.G. (1997).** Saccharomyces cerevisiae structural changes induced by pulsed electric field treatment. Lwt-Food Sci Technol, 30: 236–240.
- [95] **Lin, S., Guo,Y., Liu, J., You, Q., Yin ,Y. & Cheng, S. (2011).**Optimized enzymatic hydrolysis and pulsed electric field treatment for production of antioxidant peptides from egg white protein. Afr. J. Biotechnol. 10(55): 11648–11657.
- [96] **Qin, B.L., Zhang, Q., Barbosa-Canovas, G.V., Swanson, B.G. & Pedrow, P.D. (1994).** Inactivation of microorganisms by pulsed electric fields of different voltage waveforms. IEEE Trans. Dielectrics and electrical Insulation, 1,1047-1057
- [97] **Frigon, N.L. & Mathews, D. (1996).** Practical Guide to Experimental Design. New York: John Wiley.
- [98] **Eriksson, L., Johansson, E., Kettaneh-Wold, N., Wikstöm, C. & Wold, S. (2000).** Design of Experiments: Principles and Applications. Umeaa, Sweden : Umetrics.
- [99] **Taguchi, G. (1987).** System of experimental design; engineering methods to optimize quality and minimize costs. UNIPUB/Kraus International Publications ; Dearborn, Mich. : American Supplier Institute

- [100] **Said-Al Ahl. H.A. H., Gendy. A. S. H., Mahmoud, A. A., Mohamed, H.F. Y. (2015).** Essential Oil Composition of *Marrubium vulgare* L. Cultivated in Egypt. *International Journal of Plant Science and Ecology*. Vol. 1, No. 4, pp. 138-141
- [101] **Kadri, A., Zarai, Z., Békir, A., Gharsallah ,N., Damak, M. & Gdoura, R. (2011).** Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(19), pp. 3908-3914
- [102] **Clark, R.J. & Menary, R.C. (1980).** Environmental effects on peppermint (*Mentha piperita* L.). II. Effects of temperature on photosynthesis, photorespiration and dark respiration in peppermint with reference to oil composition. *Funct Plant Biol* 7: 693–697.
- [103] **Staroscik , JA. & Wilson, AA. (1982).** Seasonal and regional variation in the quantitative composition of cold-pressed lemon oil from California and Arizona. *J Agric Food Chem* 30: 835–837.
- [104] **Hamdaoui, B., Wannas, W. A., Marrakchi, M., Ben Brahim, N. & Marzouk, B. (2013).** Essential Oil Composition of Two Tunisian Horehound Species: *Marrubium vulgare* L. and *Marrubium aschersonii* Magnus. *TEOP* 16 (5), pp 608 - 612
- [105] **Zawislak, G. (2015).** Comparison of chemical composition of the essential oil from *Marrubium vulgare* L. and *M. incanum* Desr. during the second year of cultivation. *Acta Agrobot* 68(1):59–62
- [106] **Bayira, B., Gündüza, H., Ustaa, T., Şahin, E, Özdemir, Z., Şena, Ö.K.Ö., Akşita, H., Elmastaşa, M. & Erenler, R. (2014).** Chemical Composition of Essential Oil from *Marrubium Vulgare* L. Leaves. *Journal of New Results in Science* 6. 44-50.
- [107] **Loziene, K. & Venskutonis, PR .(2005).** Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. *Biochem Syst Ecol* 33: 517–525.
- [108] **Miloudi, K., Hamimed, A., Benmimoun, Y., Bellebna, Y., Taibi, A. & Tilmatine, A. (2018).** Intensification of Essential Oil Extraction of the *Marrubium vulgare* Using Pulsed Electric Field, *Journal of Essential Oil Bearing Plants* *TEOP* 21 (3) 2018 pp 811 - 824
- [109] **Nikolova, M., Gussev, C.H. & Nguyen, T. (2010).** Evaluation of the Antioxidant action and flavonoid composition of *Artemisia* species extracts. *Biotechnol*, 21-23,110
- [110] **Ayad, N., Djennane, A., Ayache, H. & Hellal, B. (2013).** Contribution à l'étude de l'implantation de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba* Asso » dans la steppe du sud de Tlemcen". *Revue Ecologie- Environnement*. (9): 81-85 p,
- [111] **Da Silva, J. A. (2004).** Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 3 (12), 706-720 p
- [112] **Ghrabi, Z. & Sand, R.L. (2008).** *Artemisia herba alba* Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa. 49 – 49
- [113] **Tastekin, D., Atasever, M., Adigüzel, G., Keles, M. & Tastekin, A. (2006).** Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba-alba* in experimental hyperglycaemic rats". *Bull Vet Inst Pulawy*, 50: 235-238
- [114] **Yin, Y., Gong, F.Y., XinWu, X., Sun, Y., Li ,Y., Chen, T. & Xu, Q. (2008).** Antiinflammatory and immunosuppressive effect of flavones isolated from *Artemisia vestita*. *J thnopharmacol*, 120: 1–6

- [115] **Mighri, H., Hajlaoui, H., Akrou, A., Najjaa, H. & Neffati, M. (2010).** Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie* 13: 380–386
- [116] **Al-Khazraji, S.M., Al-Shamaony, L.A. & Twaij, H.A.A. (1993).** Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba alba*. I. Effect of different parts and influence of the solvent on hypoglycaemic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 40 : 163-166
- [117] **Darias, V., Bravo, L., Barquin, E., D. Martin-Herrera & C. Fraile.(2000).** Contribution to the ethnopharmacological study of the Canary Island, *J. Ethnopharmacol*, 15, 169–193, 1986
- [118] **Dhingra, V., Rao, K.V. & Narasu, M.L. (2000).** current status of artemisinin and its derivatives as antimalarial drugs. *Life Sci*, 66, 279–300
- [119] **El-Massry, K. F., El-Ghorab, A. H. & Farouk, A. (2003).** Antioxidant Activity and Volatile Components of Egyptian *Artemisia judaica* L. *Food Chemistry*, Vol. 79, No. 3, pp. 331-336
- [120] **Guardia, T., Juarez, A.O., Guerreiro, E., Guzman, J.A. & Pelzer, L.(2003).** Anti-inflammatory activity and effect on gastric acid secretion of dehydrooleucodin isolated from *Artemisia donglasiana*, *J.Ethopharmacol*. 88:195-198
- [121] **Kim, K.S., Lee, S., Lee, Y.S., Jung, S.H., Park, Y., Shin, K.H. & B. K. Kim.(2003).** Anti-oxidant activities of the extracts from the herbs of *Artemisia apiacea*. *J. Ethnopharmacol*.85: 69-72
- [122] **Willcox, M. (2009).** *Artemisia* species: from traditional medicines to modern antimalarials and back again. *Journal of alternative and complementary medicine*.15(2): 101–109
- [123] **Segal, R., Eden, L., Danin, A., Kaiser, M. & Duddeck, H.(1985).** Sesquiterpene lactones from *Artemisia herba alba*. *Phytochemistry*. 24:1381-1382
- [124] **Ozenda, P. (1983).** Flore du sahara. Edition CNRS, 2e édition, 416-442.
- [125] **Clevenger, JF.(1928).** Apparatus for volatile oil determination: description of New Type Clevenger. *Am Perf Ess Oil Review* ,467–503
- [126] **Goupy, J. (2013).** Introduction aux plans d'expériences. Dunod, Paris
- [127] **Miloudi, K., Hamimed, A., Benmimoun, Y., Bellebna, Y., Taibi, A. & Tilmatine, A. (2018).** Application of pulsed electric field for intensification of essential oil extraction, *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, Vol:10, N° 01, pp 104-110
- [128] **Houmani, M., Houmani, Z. & Skoula, M. (2004).** Intérêt de *Artemisia herba alba* Asso dans l'alimentation du bétail des steppes algériennes, *Acta Bot. Gallica*, 151 (2), 165-172.
- [129] **Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Isamili, M.R., Houti, H., El Monfalouti, H., Benchakroun, K.H., Aberchane, M., Harki, L., Boukir, A., Chaouch, A. & Charrouf, Z.(2010).** Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental), *Phytothérapie* 8: 295–301 , Springer-Verlag France
- [130] **Bezza, L., Mannarino, A., Fattarsi, K. , Mikail, C., Abou, L., Hadji-Minaglou, F. & Kaloustian J. (2010).** Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie), *Phytothérapie* 8: 277–281 , Springer-Verlag France.



## Résumé :

Le traitement par champ électrique pulsé haute tension présente une importance commerciale dans la conservation des aliments, la biotechnologie, le traitement de l'eau, la médecine et comme technique d'extraction solide-liquide à partir de la matière végétale. Dans ce contexte, ce travail de thèse a pour objectif d'étudier l'influence de traitement par champ électrique haute tension pulsé sur l'intensification du rendement de l'huile essentielle de deux plantes médicinales et aromatiques *Marrubium vulgare* et *Artemisia herba alba* très utilisées par la population locale dans la médecine traditionnelle algérienne. L'étude quantitative nous a permis de reconnaître une nette augmentation du rendement d'extraction (plus de 100%) et diminution du temps de distillation (moins 50%) par rapport aux méthodes conventionnelles. L'analyse qualitative par CG/SM, nous a permis de contrôler la qualité de l'huile essentielle obtenue. Ces analyses ont montré une meilleure qualité des produits obtenus par le traitement par CEP par rapport à ceux obtenus sans traitement. Cette technique a montré qu'elle pouvait être l'une des technologies les plus prometteuses dans l'industrie des huiles essentielles pour une augmentation du rendement d'extraction, de la qualité des produits obtenus ainsi que la diminution des coûts de production.

**Mots clés :** Champ électrique pulsé ; Haute tension ; CG/SM ; Huile essentielle ; Plantes médicinales et aromatiques.

## ملخص:

تعتبر المعالجة بالمجال الكهربائي النبضي ذا الجهد الكهربائي العالي ذات أهمية تجارية في حفظ الأغذية، والتكنولوجيا الحيوية، ومعالجة المياه، والطب وكتقنية استخلاص السوائل من المواد النباتية. في هذا السياق، تهدف هذه الدراسة إلى معرفة تأثير المعالجة بالمجال الكهربائي النبضي على تكثيف محصول الزيت الأساسي من نباتين طبيين المعروفين على نطاق واسع من قبل السكان المحليين لاستعمالهما في الطب التقليدي الجزائري *Marrubium Vulgare* و *Artemisia herba alba*. سمحت لنا الدراسة الكمية بالحصول على زيادة واضحة في مردود الزيت (أكثر من 100%) وانخفاض زمن التقطير (ناقص 50%) مقارنة بالطرق التقليدية. وسمح لنا التحليل النوعي بواسطة تقنية GC/MS، بالتحكم في جودة الزيت العطري الذي تم الحصول عليه. وأظهرت هذه التحليلات نوعية أفضل من المنتجات التي تم الحصول عليها عن طريق العلاج بالمجال الكهربائي النبضي مقارنة مع تلك التي تم الحصول عليها دون علاج.

**الكلمات المفتاحية:** المجال الكهربائي النبضي؛ الجهد العالي؛ CG/SM؛ الزيوت الأساسية؛ النباتات الطبية والعطرية.